

Concanavalin A-Coated Magnetic Beads

伴刀豆球蛋白 A 磁珠

产品简介

伴刀豆球蛋白 A 磁珠是表面共价偶联了伴刀豆球蛋白 A (ConA) 的超顺磁性聚合物微球, 具有单分散和磁反应性强等特点。ConA 磁珠在 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 存在的情况下, 通过伴刀豆球蛋白 A 与末端 α -D-甘露糖基和 α -D-葡萄糖基的亲合作用, 快速高效地分离纯化多糖、糖蛋白和糖脂等生物分子, 而且使用 ConA 磁珠分离或固定细胞非常便捷, 并在后续清洗过程中最大程度减少细胞丢失, 也可以用于收集和固定细胞核, 也可以直接用于 CUT & Run 和 CUT & Tag (ChIP-seq 实验的革新性技术) 等实验。

产品信息

货号	19810ES03 / 19810ES08 / 19810ES20
规格	1 mL / 5 mL / 20 mL

产品性质

基质	磁性聚合物微球
配体	伴刀豆球蛋白 A (ConA)
载量	10^5 个细胞/ μL 磁珠
粒径	1 μm
磁珠浓度	10 mg/mL
应用	分离细胞/细胞核, 纯化糖蛋白, Cut-Run, Cut-Tag
储存缓冲液	PBS (pH7.4), 0.01% Tween-20, 0.05% Proclin-300

储存条件

2~8°C 保存, 有效期 2 年。

使用说明

以捕获细胞和纯化糖蛋白为例, 用于 Cut-Tag 具体操作见 12598ES 试剂盒。

1. 缓冲液配置

1) 自备试剂

试剂名称	组分
结合液	20 mM HEPES (pH7.5), 10 mM KCl, 1 mM CaCl_2 , 1 mM MnCl_2
清洗液	20 mM HEPES (pH7.5), 150 mM NaCl, 0.5 mM Spermidine, 1×Protease inhibitors cocktail
洗脱液	5mM Tris (pH8.0), 150 mM NaCl, 1M Glucose

2) 自备设备和耗材: 磁性分离架, 旋转混合仪, PCR 管, 微量移液器及吸头 (RNase-free)。

3) 将磁珠恢复至室温, 且均匀重悬。

2. 样品准备 (以哺乳动物细胞为例)

- 1) 准备哺乳动物细胞($1.0 \times 10^4 \sim 1.0 \times 10^5$ 个), 离心收集(4°C , $600 \times g$, 3~5min), 小心吸弃上清;
- 2) 加入 140 μL 结合缓冲液, 充分混匀重悬细胞, 离心收集(4°C , $600 \times g$, 3~5min), 小心吸弃上清;
- 3) 加入 90 μL 结合缓冲液, 充分混匀重悬细胞。

【注】: 贴壁较紧的细胞可使用胰蛋白酶等部分消化获得, 对于动物组织、植物或真菌细胞可通过特殊处理获得分散的细胞或原生质体进行实验。

3. 磁珠准备

- 1) 吸取 10 μL 均匀重悬的 Con A 磁珠, 加入 40 μL 磁珠结合液, 吹吸混合, 磁吸弃上清。
- 2) 加入 10 μL 磁珠结合液, 吹吸混合。

4. 细胞捕获

- 1) 将重悬在结合液中的 ConA 磁珠 (步骤 3) 轻轻滴加在细胞悬液 (步骤 2) 中, 颠倒 5 次混匀后, 置于旋转仪上混匀, 室温孵育 30 min 或者 4°C 过夜。
- 2) 离心管在磁力架上放置 1 min, 吸弃上清。
- 3) 取 500ul 清洗液加入磁珠中, 用移液器轻柔吹打, 重悬磁珠, 再置于磁力架 1 min, 吸弃上清。
- 4) 重复步骤 3) 洗涤 3-4 次。

5. 洗脱

- 1) 糖蛋白的洗脱: 加入 50~250 μL 洗脱液, 置于翻转混合仪上室温孵育 10~30 min, 接着在磁力架上静置 1 min, 收集上清得到糖蛋白, 可用于 SDS-PAGE 电泳或 Western 检测

【注】: 也可使用 PNGase F 酶切除糖基进行洗脱。

- 2) 细胞的洗脱: 磁珠粒径小, 对细胞的生长和活性影响较小, 也可以选择洗脱。

注意事项

1. 磁珠应避免冷冻, 否则可能会导致磁珠碎裂, 性能下降。
2. 磁珠取用前应恢复至室温, 且充分混匀; 但不要剧烈震荡, 否则容易产生气泡。
3. 建议样本细胞活性不低于 80% (细胞活性可以用台盼蓝染色来鉴定)。
4. ConA 在 Ca^{2+} 和 Mn^{2+} 离子存在时才有活性, 实验中应用的溶液不能含有 EDTA 等螯合剂, 否则会导致结合效率降低。
5. 水平旋转时定时轻弹底部混匀, 细胞量较多时易聚集干结。
6. 枪头吸吹时要缓慢, 避免产生过多气泡; 避免用 10 μL 小枪头吹吸细胞;
7. 吸除管内液体时, 枪头远离磁珠一端, 避免枪头粘连带出磁珠。
8. 针对特定细胞类型和细胞量, 可能需要增减磁珠用量以达到最优效果。
9. 本产品仅作科研用途!
10. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。