碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
订货热线：400-1683301或800-8283301
订货e-mail：order@beyotime.com
技术咨询：info@beyotime.com
网址：http://www.beyotime.com

碧云天网站 微信公众号

BeyoMag™ Concanavalin A Magnetic Beads (刀豆素A磁珠)

产品编号	产品名称	包装
P2156-200μl	BeyoMag™ Concanavalin A Magnetic Beads (刀豆素A磁珠)	200μl
P2156-1ml	BeyoMag™ Concanavalin A Magnetic Beads (刀豆素A磁珠)	1ml
P2156-5ml	BeyoMag™ Concanavalin A Magnetic Beads (刀豆素A磁珠)	5ml

产品简介：

- 碧云天的BeyoMag™ Concanavalin A Magnetic Beads (刀豆素A磁珠)，也称Concanavalin A磁珠、ConA磁珠、刀豆凝集素A磁珠、刀豆凝集素磁珠、伴刀豆球蛋白A磁珠或伴刀豆球蛋白磁珠，由高质量的刀豆素A (Concanavalin A, ConA)与超顺磁性纳米级磁珠共价偶联而成，能够快速、高效、灵敏、特异性地与糖蛋白、糖脂、多糖等带有糖基化修饰分子结合，主要用于分离细胞或用于分离细胞或组织裂解液或血清中的糖蛋白等糖基化修饰分子等实验，特别可以用于染色质的核酸酶靶向切割和释放(CUT&RUN)。
- Concanavalin A，简称ConA或Con A，中文名为刀豆素A，又叫伴刀豆球蛋白A、刀豆蛋白A或刀豆凝集素A，是一种从Jack beans (*Canavalia ensiformis*)分离的甘露糖/葡萄糖结合凝集素(Lectin)，是使用最广泛的凝集素之一，CAS号为11028-71-0，其单体的分子量约为25.5kDa，可结合一个Ca^{2+}和一个Mn^{2+}，含一个糖基结合部位，对末端α-D-甘露糖基和α-D-葡糖基残基具有高亲和力。刀豆素A是一种T细胞有丝分裂原，可以激活免疫系统，募集淋巴细胞并诱导细胞因子的产生。除了促有丝分裂活性外，刀豆素A还可以通过特定分子机制诱导程序性细胞死亡。据报道刀豆素A还可以激活NFAT(Nuclear factor of activated T cells)，而NFAT是转录因子家族，在免疫系统的发育和发挥免疫功能中起重要作用。当pH在5.8-7.0之间时，刀豆素A以四聚体形式存在，在pH6.5或更低的条件下解离为二聚体，pH高于7.0时可形成更大的聚合体 [1]。
- ConA磁珠在免疫学、生物化学及医学等领域内应用广泛，如分离细胞，分离细胞或组织裂解液或血清中的糖蛋白等糖基化分子，包括在用于染色质分析的新技术CUT&RUN (Cleavage Under Targets & Release Using Nuclease)等中，ConA磁珠起到了非常关键的作用。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，同时ConA磁珠也可以用于收集和固定细胞核[2-4]。ConA磁珠用于纯化糖蛋白的实验流程参考图1，分离或固定细胞或细胞核等的流程相似。

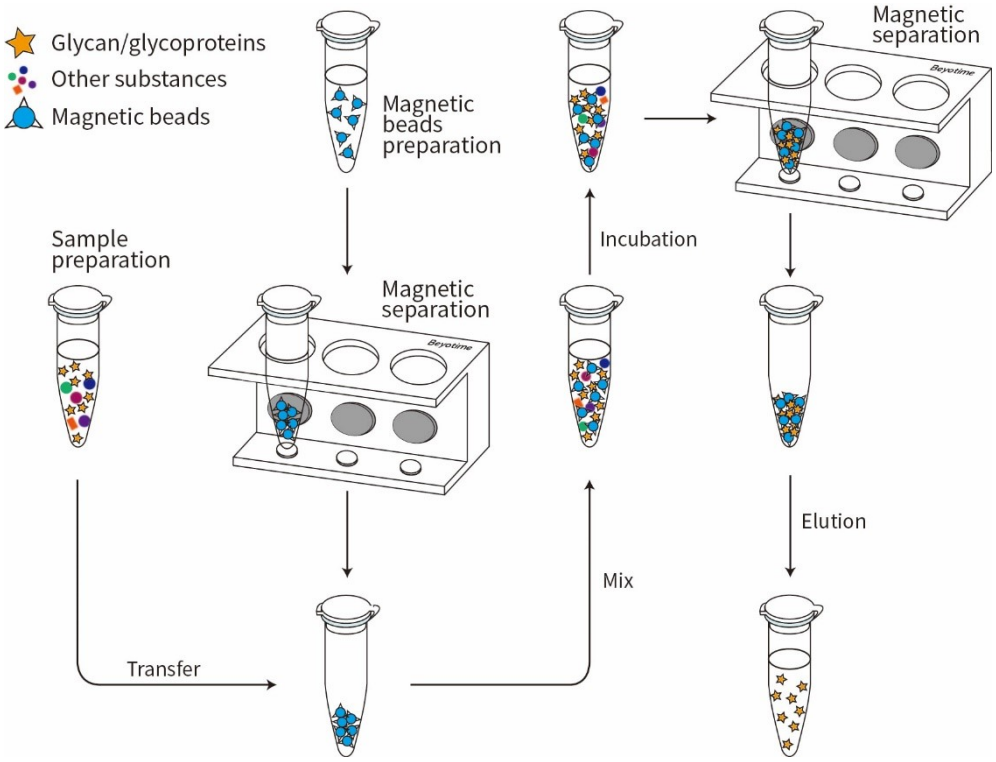

图1. 碧云天BeyoMag™ Concanavalin A Magnetic Beads (刀豆素A磁珠)用于纯化糖蛋白的实验流程图。

- **本产品结合特异性强。**本产品对糖类具有高度专一的识别能力，可以特异性结合糖类，可分离细胞、细胞核或糖蛋白等含有适当糖基化修饰的分子，可以直接用于CUT&RUN等实验，获得的糖基化蛋白可以用于Western、质谱等的分析检测。
- **本产品结合量高。**与同类产品相比，本产品对糖类蛋白的结合量高，而且磁珠粒径小，不易产生非特异吸附。本产品每毫

升磁珠悬浊液含有≥1mg ConA，每个ConA蛋白具有4个糖基结合部位，每毫升磁珠悬浊液可结合≥1mg糖蛋白，可高效地进行细胞或糖蛋白等的分离纯化等实验。

- **本产品结合糖蛋白速度快，吸附时间短，可以高效结合糖基。**本产品所使用的纳米级磁珠(~200nm)具有超大比表面积，有效缩短了ConA与糖类结合所需的时间。缩短操作时间可以避免在长时间操作过程中糖蛋白的降解，有效保证了糖蛋白的活性及完整性。使用本磁珠和国外同类产品Competitor C公司磁珠分离细胞的效果参考图2。

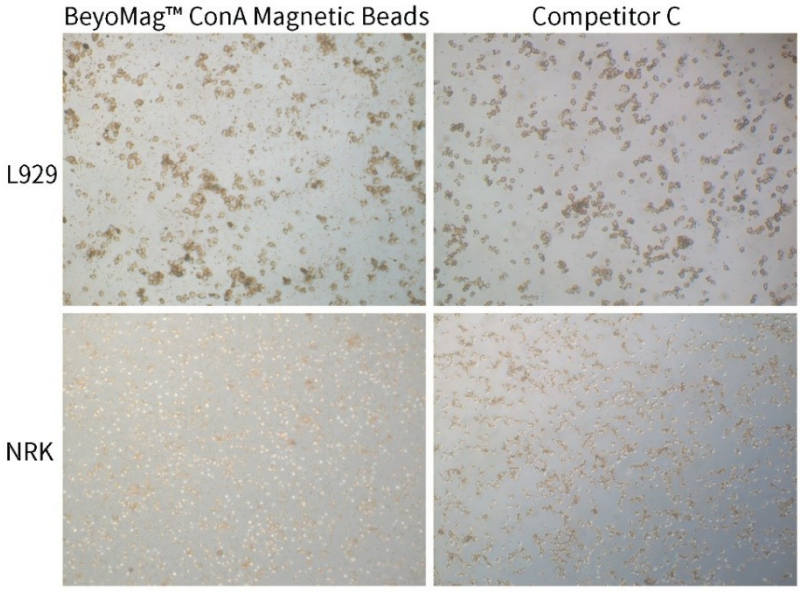

图2. 碧云天BeyoMag™ Concanavalin A Magnetic Beads (刀豆素A磁珠)分离细胞的效果图。使用本产品(BeyoMag™ ConA Magnetic Beads)与国外C公司同类产品(Competitor C)分别用于分离L929 (小鼠上皮成纤维细胞)和NRK (大鼠肾细胞)(C7827)，然后培养2小时后拍照。实际结果会因实验条件、细胞类型、细胞状态等的不同而存在差异，图中数据仅供参考。

- **本产品使用便捷。**本产品储存在特殊保护液中，不含甘油，磁性分离，无需离心。本产品不仅适用于少量样本的检测，也适用于高通量筛选(High-throughput screening)的自动化操作系统，不同操作方法之间一致性高。
- 本产品的主要指标如下表：

Characteristics	Description
Product content	10mg/ml magnetic beads in specific protective buffer
Beads size	~200nm
Magnetization	Superparamagnetic
Coupled protein	Concanavalin A
M.W. of protein	~102kDa (tetramer)
Protein concentration	≥1mg Concanavalin A per ml beads
Binding capacity	≥1mg glycan/glycoproteins per ml beads
Specificity	Glycan and glycoconjugates
Application	Isolating cells or glycoproteins, CUT&RUN

- 如果每个样品使用10μl磁珠，每毫升本产品可以用于100个样品。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
P2156-200μl	BeyoMag™ Concanavalin A Magnetic Beads (刀豆素A磁珠)	200μl
P2156-1ml	BeyoMag™ Concanavalin A Magnetic Beads (刀豆素A磁珠)	1ml
P2156-5ml	BeyoMag™ Concanavalin A Magnetic Beads (刀豆素A磁珠)	5ml
—	说明书	1份

保存条件：

4ºC保存，两年有效。

注意事项：

- 本产品需维持pH为6-8，避免高速离心、干燥或冻存；请勿长时间将磁珠置于磁场中，否则可能会引起磁珠聚团。
- 本产品使用前要适当充分重悬，即颠倒若干次使磁珠混合均匀，混匀操作须轻柔，不宜剧烈涡旋震荡等，避免ConA变性等。
- 在用于沉淀或纯化时，建议设置适当的阳性和阴性对照组。
- 待结合分子的类型、大小等都会影响结合效率，建议通过稀释法来确定每种具体应用的磁珠用量，同时可以考虑加大磁珠用量至待结合分子2-3倍摩尔数量以确保结合充分。

- ConA需要Ca^{2+}和Mn^{2+}离子存在才能有活性，所以实验过程中应避免使用含有EDTA或其它金属离子螯合剂的试剂。
- 糖蛋白样品收集后宜尽快完成纯化工作，并应始终放置在4ºC或冰浴，以减缓糖蛋白降解。为有效抑制蛋白降解，可以在蛋白样品中添加适量的蛋白酶抑制剂混合物，例如碧云天的P1005/P1006 蛋白酶抑制剂混合物(通用型)、P1048/P1049 蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(通用型, 质谱兼容, 50X)、P1010/P1011 蛋白酶抑制剂混合物(哺乳动物样品抽提用, 100X)、P1050/P1051 蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(哺乳动物样品抽提用, 50X)等，但各个蛋白酶抑制剂混合物中的EDTA不能添加。
- 如果使用真空泵等仪器吸取上清液，须注意真空泵的吸液强度，以免吸力过大而吸取到磁珠。
- 与细胞孵育时ConA磁珠可能会发生聚集，属于正常现象，不影响磁珠的正常使用。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

以下以纯化糖蛋白或分离细胞为例，CUT&RUN实验需按照CUT&RUN的实验方法准备细胞和后续实验。

1. 缓冲液的准备。

Buffer	Components
Binding Buffer	20mM Hepes (pH7.4), 150mM NaCl (optional), 1mM $MgCl_2$, 1mM $MnCl_2$, 1mM $CaCl_2$
Wash Buffer	20mM Hepes (pH7.4), 150mM NaCl (optional), 1mM $MgCl_2$, 1mM $MnCl_2$, 1mM $CaCl_2$, 0.1% Tween-20
Elution Buffer	5mM Tris (pH8.0), 150mM NaCl, 1M Glucose

注1：使用PBS缓冲液可能会产生沉淀，建议使用Hepes缓冲液。使用前，所有溶液平衡至室温。Binding Buffer和Wash Buffer中的150mM NaCl都是可以选择性添加的，如果用于CUT&RUN等对于细胞活力关系不大的实验，不推荐添加150mM NaCl；如果分离获得的细胞后续用于细胞培养或细胞功能研究，建议添加150mM NaCl。不添加150mM NaCl时细胞结合和沉淀的效率更高，添加150mMNaCl时能更好维持细胞的渗透压，使细胞处于更好的状态。

注2：Elution Buffer需要根据糖蛋白的类型或糖蛋白与ConA磁珠的结合程度进行一定的优化。

注3：由于细胞与ConA磁珠结合的非常紧密，分离的细胞不建议使用本洗脱液进行洗脱。

2. 样品的准备(其中细胞以哺乳动物细胞为例)。

a. 对于贴壁细胞：去除培养液，用20mM Hepes (pH7.5), 150mM NaCl洗涤细胞两遍。按照6孔板每孔100-200μl胰酶的比例加入胰酶(C0201/C0202/C0203/C0204)消化细胞。1-2分钟后，加入20mM Hepes (pH7.5), 150mM NaCl重悬洗涤，400-500×g室温离心5分钟收集细胞。

b. 对于悬浮细胞：400-500×g室温离心5分钟收集细胞，吸除细胞培养液，然后用20mM Hepes (pH7.5), 150mM NaCl重悬洗涤，400-500×g室温离心5分钟收集细胞。

c. 细胞样品的重悬：上述细胞样品去除上清后，加入适量Binding Buffer重悬一次，取少量细胞悬液在显微镜下计数。每个样品的细胞数为10,000-100,000，体积为500μl。根据计数计算每个样品所需细胞悬液的体积，并用Binding Buffer对细胞悬液进行稀释。

d. 对于细胞或组织裂解液或血清样品：用Binding Buffer(结合缓冲液)进行一定的稀释，并根据实际结果进行适当的稀释度调整。

3. ConA磁珠准备。

a. **洗涤。**由于ConA磁珠储存在特殊保护液中，所以需要在加入样品前用适量10倍体积的Binding Buffer洗涤2次。

(a) 用移液器轻轻吹打重悬ConA磁珠，按照每200-500μl样品使用10μl ConA磁珠悬浊液的比例，取适量ConA磁珠至一洁净离心管中(FTUB306)，加入10倍体积的Binding Buffer。

(b) 用移液器轻轻吹打重悬ConA磁珠。置于磁力架上分离10秒，去除上清。重复上述洗涤步骤一次。

b. **活化。**按照ConA磁珠初始体积的量，用Binding Buffer重悬ConA磁珠。

注1：多个样品时，取总磁珠量，合并洗涤处理后再平分到各个样品中。

注2：活化好的磁珠应当天使用。

4. 样品的结合、磁分离和洗涤。

a. 孵育。加入适量样品，用移液器轻轻吹打重悬磁珠，置于旋转混合仪上，室温孵育10-30分钟或4ºC孵育4-16小时。

注1：孵育过程中，若ConA磁珠发生聚团或呈片状属正常现象，不会影响实验结果。

注2：为了保证样品完全结合到磁珠上，可加大ConA磁珠用量，并延长孵育时间。

b. 磁性分离。将离心管置于磁力架上分离1分钟，去除上清。

c. 洗涤。取0.5ml的Wash Buffer(洗涤液)加入分离得到的磁珠中，用移液器轻轻吹打重悬磁珠，置于旋转混合仪上洗涤5分钟。将离心管置于磁力架上分离1分钟，去除上清。重复洗涤3-4次。

5. 糖蛋白的洗脱。

a. 每个样品加入50-250μl Elution Buffer(洗脱液)，混匀后置于旋转混合仪上，室温孵育10-30分钟。如果洗脱效果不佳，可重复洗脱一次，合并两次洗脱液，或者增加孵育时间。

b. 孵育完毕后，置于磁力架上分离10秒，将上清转移到新的离心管中，所得上清为通过ConA磁珠分类纯化获得的糖蛋白。

c. 如果用于SDS-PAGE电泳或Western检测，建议加入适量5X SDS-PAGE上样缓冲液，95ºC加热5分钟，然后置于磁力架上分离10秒，取上清进行后续检测。

注1：需根据糖蛋白的类型或糖蛋白与ConA磁珠的结合程度对洗脱液进行一定的优化[5]，或使用PNGase F酶进行糖基的切除，从而使糖蛋白从磁珠上解离下来。

6. 细胞的洗脱。

对于细胞，由于磁珠本身比较小，基本不会对细胞造成机械性压力，不影响细胞的生长和活性，理论上可以不洗脱。

参考文献：

1. Dwyer JM, Johnson C. Clin Exp Immunol. 1981.46(2):237-249.
2. Hainer SJ, Fazzio TG. Curr Protoc Mol Biol. 2019. 126(1):e85.
3. Skene PJ, Henikoff S. Elife. 2017. 16(6):e21856.
4. Skene P, Henikoff J, Henikoff S. Nat Protoc. 2018. 13(1006-1019).
5. Soper AS, Aird SD. J Chromatogr A. 2007. 1154(1-2):308-18.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
D0043S	BeyoMag™磁珠法DNA凝胶回收试剂盒	50次
D0043M	BeyoMag™磁珠法DNA凝胶回收试剂盒	200次
D0041S	BeyoMag™磁珠法PCR/DNA纯化试剂盒	50次
D0041M	BeyoMag™磁珠法PCR/DNA纯化试剂盒	200次
D0075S	BeyoMag™磁珠法质粒小量抽提试剂盒	50次
D0075M	BeyoMag™磁珠法质粒小量抽提试剂盒	200次
D0075L	BeyoMag™磁珠法质粒小量抽提试剂盒	1000次
P2102-1ml	BeyoMag™ Protein A磁珠	1ml
P2102-5ml	BeyoMag™ Protein A磁珠	5ml
P2105-1ml	BeyoMag™ Protein G磁珠	1ml
P2105-5ml	BeyoMag™ Protein G磁珠	5ml
P2106-1ml	BeyoMag™ Protein G Plus磁珠	1ml
P2106-5ml	BeyoMag™ Protein G Plus磁珠	5ml
P2108-1ml	BeyoMag™ Protein A+G磁珠	1ml
P2108-5ml	BeyoMag™ Protein A+G磁珠	5ml
P2115-0.5ml	BeyoMag™ Anti-Flag Magnetic Beads (Anti-Flag磁珠)	0.5ml
P2115-2ml	BeyoMag™ Anti-Flag Magnetic Beads (Anti-Flag磁珠)	2ml
P2118-0.5ml	BeyoMag™ Anti-Myc Magnetic Beads (Anti-Myc磁珠)	0.5ml
P2118-2ml	BeyoMag™ Anti-Myc Magnetic Beads (Anti-Myc磁珠)	2ml
P2118-10ml	BeyoMag™ Anti-Myc Magnetic Beads (Anti-Myc磁珠)	10ml
P2121-0.5ml	BeyoMag™ Anti-HA Magnetic Beads (Anti-HA磁珠)	0.5ml
P2121-2ml	BeyoMag™ Anti-HA Magnetic Beads (Anti-HA磁珠)	2ml
P2132-0.5ml	BeyoMag™ Anti-GFP Magnetic Beads (Anti-GFP磁珠)	0.5ml
P2132-2ml	BeyoMag™ Anti-GFP Magnetic Beads (Anti-GFP磁珠)	2ml
P2135-0.5ml	BeyoMag™ Anti-His Magnetic Beads (Anti-His磁珠)	0.5ml
P2135-2ml	BeyoMag™ Anti-His Magnetic Beads (Anti-His磁珠)	2ml
P2138-0.5ml	BeyoMag™ Anti-GST Magnetic Beads (Anti-GST磁珠)	0.5ml
P2138-2ml	BeyoMag™ Anti-GST Magnetic Beads (Anti-GST磁珠)	2ml
P2141-0.5ml	BeyoMag™ Anti-V5 Magnetic Beads (Anti-V5磁珠)	0.5ml
P2141-2ml	BeyoMag™ Anti-V5 Magnetic Beads (Anti-V5磁珠)	2ml
P2151-200μl	BeyoMag™ Streptavidin Magnetic Beads (链霉亲和素磁珠)	200μl
P2151-1ml	BeyoMag™ Streptavidin Magnetic Beads (链霉亲和素磁珠)	1ml
P2151-5ml	BeyoMag™ Streptavidin Magnetic Beads (链霉亲和素磁珠)	5ml
P2171-1ml	BeyoMag™ Mouse IgG Magnetic Beads (小鼠IgG磁珠)	1ml
P2171-5ml	BeyoMag™ Mouse IgG Magnetic Beads (小鼠IgG磁珠)	5ml
P2173-1ml	BeyoMag™ Rabbit IgG Magnetic Beads (兔IgG磁珠)	1ml
P2173-5ml	BeyoMag™ Rabbit IgG Magnetic Beads (兔IgG磁珠)	5ml
P2175S	免疫沉淀试剂盒(Protein A磁珠法)	20-100次
P2175M	免疫沉淀试剂盒(Protein A磁珠法)	100-500次
P2177S	免疫沉淀试剂盒(Protein G磁珠法)	20-100次
P2177M	免疫沉淀试剂盒(Protein G磁珠法)	100-500次
P2179S	免疫沉淀试剂盒(Protein A+G磁珠法)	20-100次

P2179M	免疫沉淀试剂盒(Protein A+G磁珠法)	100-500次
P2181S	Flag标签蛋白免疫沉淀试剂盒（磁珠法）	20-100次
P2181M	Flag标签蛋白免疫沉淀试剂盒（磁珠法）	100-500次
P2183S	Myc标签蛋白免疫沉淀试剂盒（磁珠法）	20-100次
P2183M	Myc标签蛋白免疫沉淀试剂盒（磁珠法）	100-500次
P2185S	HA标签蛋白免疫沉淀试剂盒（磁珠法）	20-100次
P2185M	HA标签蛋白免疫沉淀试剂盒（磁珠法）	100-500次
P2187S	V5标签蛋白免疫沉淀试剂盒（磁珠法）	20-100次
P2187M	V5标签蛋白免疫沉淀试剂盒（磁珠法）	100-500次

Version 2022.02.18