

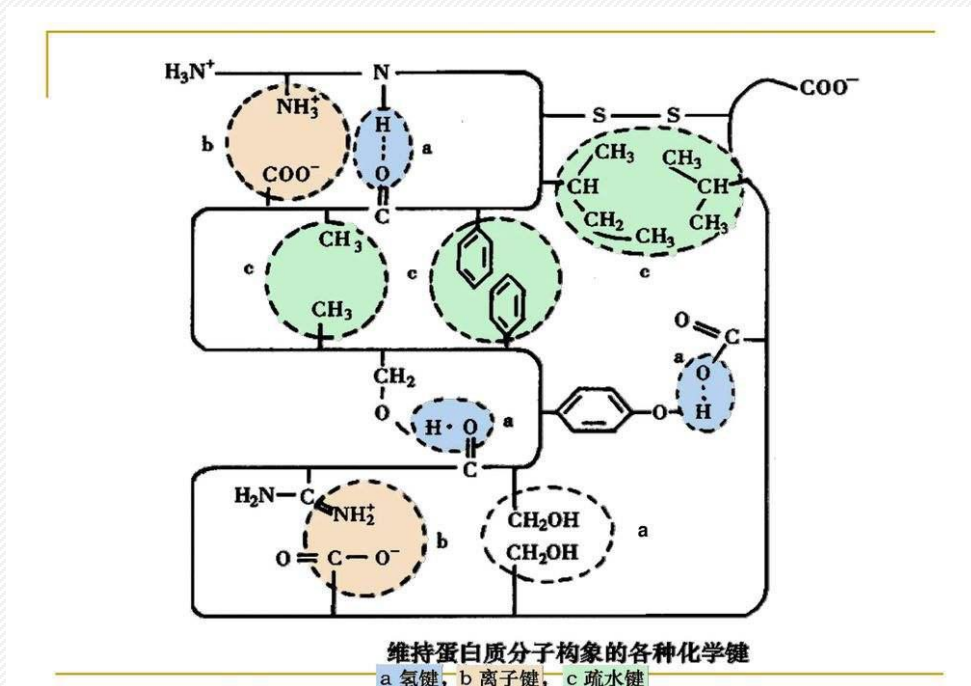
离子交换层析技术

常州天地人和生物科技有限公司

smart-lifesciences

一、离子交换层析

1、离子键

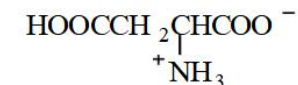


酸性氨基酸 (带负电荷)

天冬氨酸 (α -氨基丁二酸)

天

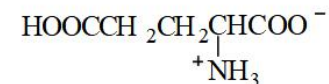
Asp D



谷氨酸 (α -氨基戊二酸)

谷

Glu E

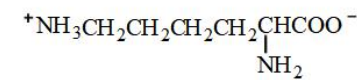


碱性氨基酸 (带正电荷)

赖氨酸 (α, ω -二氨基己酸)*

赖

Lys K

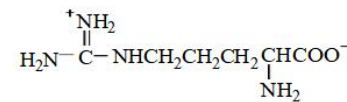


Lysine

精氨酸 (α -氨基- δ -胍基戊酸)

精

Arg R

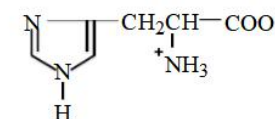


Arginine

组氨酸 [α -氨基- β -(4-咪唑基)丙酸]

组

His H

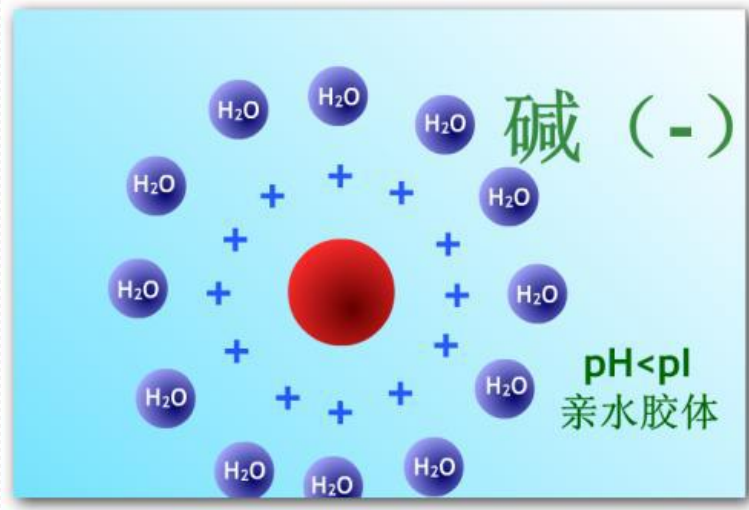


Histidine

* 为必需氨基酸

一、离子交换层析

2、等电点



<https://web.expasy.org/protparam/>

Number of amino acids: 163

Molecular weight: 18329.13

Theoretical pI: 4.37

Ext. coefficient 3105 Abs 0.1% (=1 g/l) 0.169,
 assuming all pairs of Cys residues form
 cystines Ext.

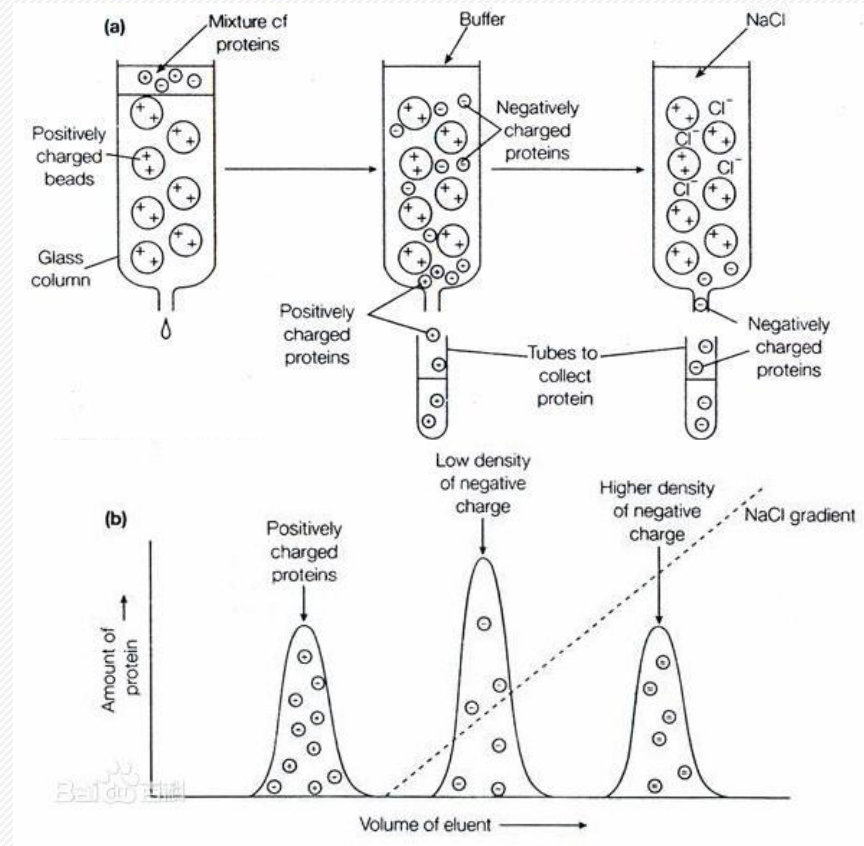
coefficient 2980 Abs 0.1% (=1 g/l) 0.163,
 assuming all Cys residues are reduced

Grand average of hydropathicity (GRAVY): -
 0.709

一、离子交换层析

3、离子交换原理

被分离物质所带电荷可与离子交换介质所带的相反电荷结合，这种带电分子与固定相之间的结合作用是可逆的，在改变pH或者用逐渐增加离子强度的缓冲液洗脱时，介质上结合的物质与洗脱液中离子发生交换而被洗脱到溶液中。

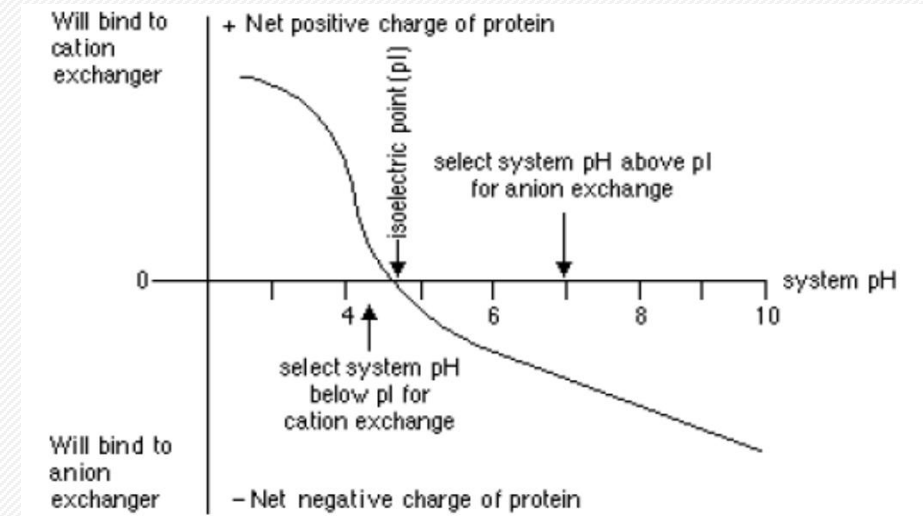
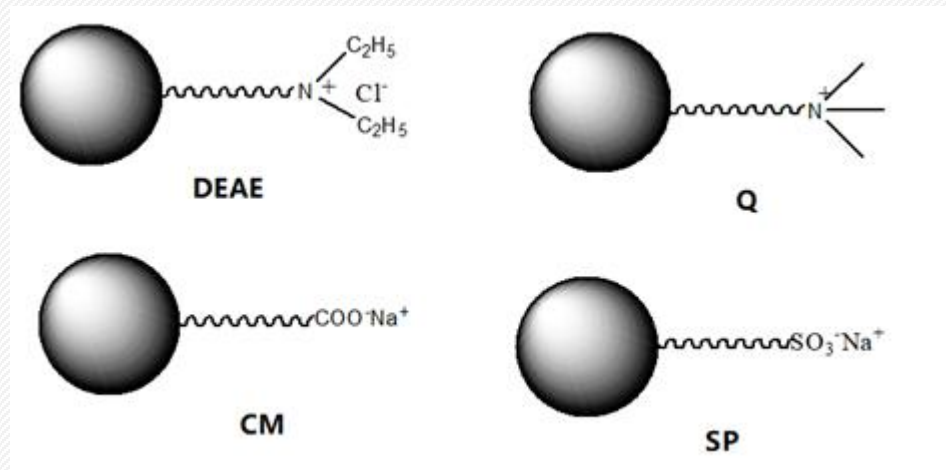


二、离子交换种类和应用

1、按照介质种类分

基础介质	应用	厂家及相关产品
交联琼脂糖	蛋白质纯化	Smartarose, SP/CM/Q/DEAE Beads, GE Sepharose
琼脂糖微球, 葡聚糖修饰	蛋白质纯化, 高流速、高载量	天地人和: SMAC; GE: Capto;
纤维素	蛋白和多肽的分离纯化	Whatman: DE51/CM52 cellulose
聚丙烯酰胺	制备型蛋白纯化介质, 结合容量高	Bio-Rad: UNOsphere Q/S
聚苯乙烯	废水处理、金属离子、色素去除等	争光、三星、蓝晓、苏青等, D301, 732, D254等
亲水修饰聚苯乙烯	高分辨率蛋白纯化	GE: Source, monobeads,
聚甲基丙烯酸酯	耐压性能好	Tosoh: Toyopearl, Merck: Fractogel EMD

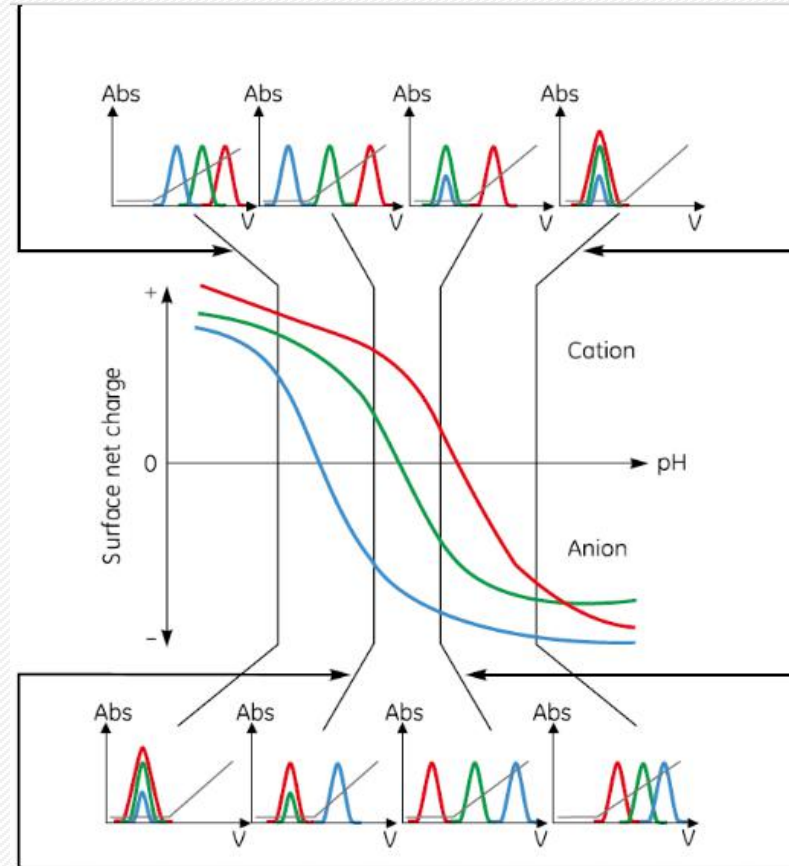
2、按照配体种类分



- 一般情况下，都推荐使用强阴/阳离子交换，因其在很宽的pH范围内带电荷且带电荷几乎相同；平衡很快，也很容易平衡。
- 弱阴/阳离子交换剂：当强离子交换剂的选择性不满意时，考虑用弱离子交换剂。但是需要注意弱离子交换剂的载量随着pH而变化。

二、离子交换种类和应用

3、纯化介质的选择

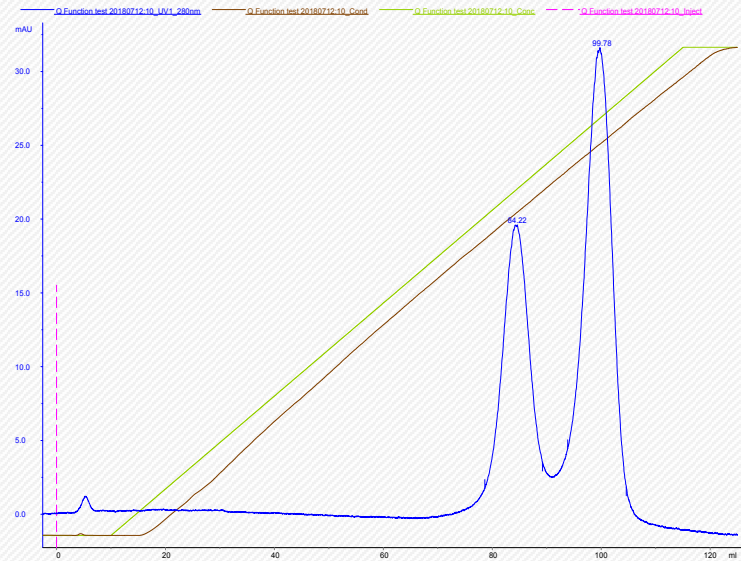


三、离子交换层析案例



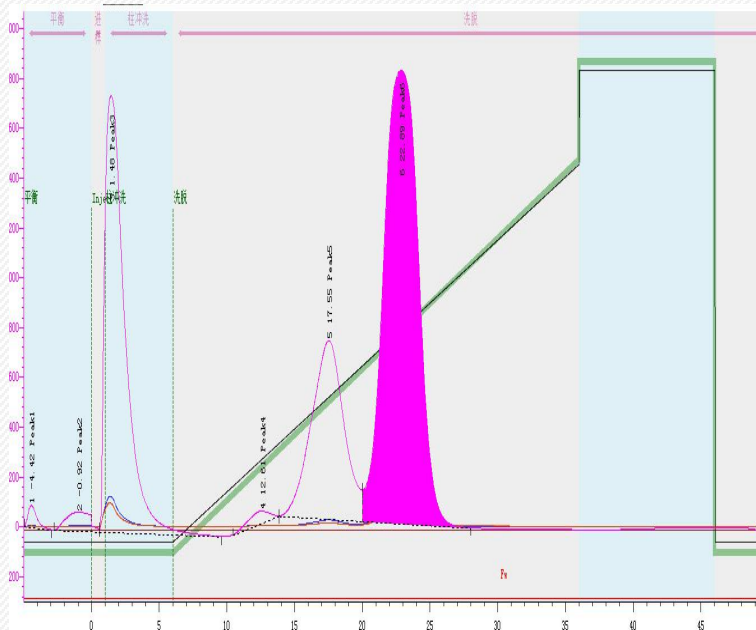
三、离子交换层析案例

功能测试

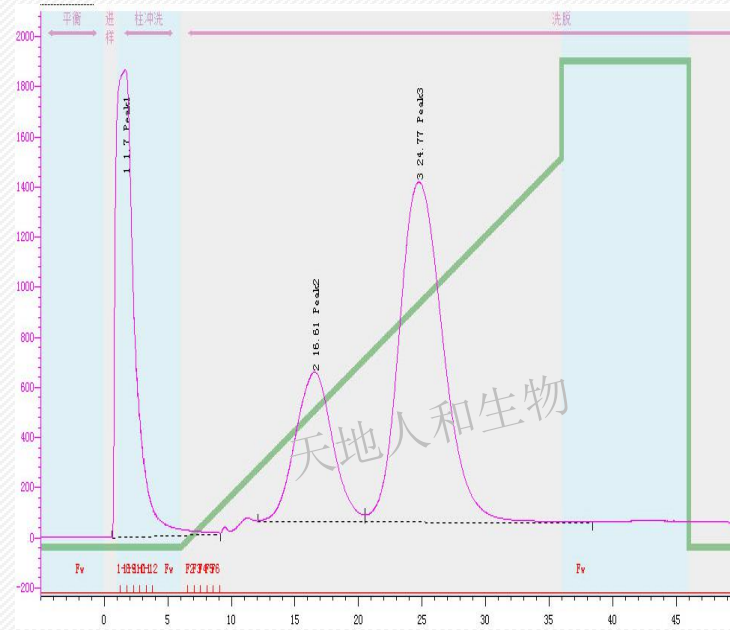


	N(N/m)	As	β -Lactoglobulin A(ml)	β -Lactoglobulin B(ml)
检测标准	> 3000	0.8-1.5	73-89	60-74
结果	4564	1.07	82.14	69.85

三、离子交换层析案例



SP Sepharose Fast Flow



Smart-Lifesciences SP Beads 6FF

三、离子交换问题总结

样品纯度不高

- 1、选择合适的离子交换填料及粒径
- 2、目的蛋白与杂蛋白等电点差异较大，调节起始缓冲液pH和盐浓度，增加目标蛋白与填料之间的静电结合。
- 3、填料充分平衡，梯度洗脱。
- 4、降低洗脱流速。

三、离子交换问题总结

样本不结合或回收率低

- 1、调整样本pH或盐浓度，使样本缓冲液与平衡缓冲液保持一致。
- 2、改变洗脱方式，将线性洗脱换成阶段性洗脱。
- 3、如果是pH洗脱换成盐浓度洗脱。
- 4、更换合适的填料。

谢谢!



SMART
LIFESCIENCES

