

耐盐型阴离子交换层析介质 TOYOPEARL NH<sub>2</sub>-750F

细胞培养基由类似于生理离子强度的0.1-0.15mol/L的NaCl构成。在这种离子强度条件下，样品很难被离子交换填料吸附，所以样品一般要通过脱盐处理后才能上样。如果有一种离子交换填料能够在0.1 mol/L NaCl以上的盐浓度条件下也可以吸附样品的话，样品将无需脱盐直接上样进行分离，从而大幅简化操作和成本。

这样的填料被称为“耐盐型”离子交换填料，在某种意义上类似于混合模式的填料。

TOYOPEARL NH<sub>2</sub>-750F

## 产品规格参数

项目	参数
产品名	TOYOPEARL NH <sub>2</sub> -750F
配基	伯胺基
离子交换容量 (meq/L)	0.07~0.13
粒径分布 (μm)	30~60
静态吸附载量 (IgG, g/L)	≥70
菌体数 (CFU/ml)	≤100
内毒素 (EU/ml)	≤10
异物	≤6
可溶性物质	≤0.2%

层析柱: 6mm I.D. × 40mm

缓冲液: 0.02mol/L Bis-Tris-HCl (pH 6.0) + 0.15mol/L NaCl

样品: BSA (2g/L),

柱留时间: 1min

TOYOPEARL NH<sub>2</sub>-750F

## 混合模式填料的特点

1. 同时具有离子交换和疏水作用基团。
2. 在盐浓度较高的缓冲液中仍能吸附蛋白——盐耐性。
3. 阴离子型混合模式填料。一般情况下，疏水模式的结合占主导地位，但是TOYOPEARL NH<sub>2</sub>-750F这款填料，阴离子交换模式的结合占主导地位。
4. 阳离子型混合模式填料。离子交换模式的结合占主导地位，TOYOPEARL MX-Trp-650M 混合模式填料具有很高的吸附载量。

## TOYOPEARL NH<sub>2</sub>-750F

### 耐盐型/混合模式填料的作用机制

官能团：伯胺基

1. 聚胺结构使其具有耐盐性
2. 键合用手臂的空间有利于疏水相互作用的发挥
3. 类似于混合模式（离子交换+疏水）

## TOYOPEARL NH<sub>2</sub>-750F

### 产品应用

1. 耐盐型的纯化分离（单克隆抗体、其他）
  - NaCl浓度超过0.15 mol/L的缓冲液中，仍然可以吸附蛋白样品。
  - 样品原液可以直接上样，无需稀释。
  - 通过穿透法或者梯度洗脱法去除多聚体。
  - 匹配IgG和生物大分子样品的大孔径层析介质。
2. 层析条件
  - 缓冲液的pH值要低于目标蛋白的pI（等电点）。
  - 缓冲液中加入盐可能会增加吸附载量。
  - 上样缓冲液的pH值越高，缓冲液的最高盐浓度可达0.3 mol/L。
  - 不同于普通阴离子交换填料的吸附力和选择性。

## TOYOPEARL NH<sub>2</sub>-750F

### 动态吸附载量

缓冲液	动态吸附载量 (BSA, g/L)	
	Toyopearl Q-600C AR	Toyopearl NH <sub>2</sub> -750F
20 mmol/L Tris-HCl (pH 8.0)	90	NA
20 mmol/L Tris-HCl (pH 8.0)+0.15mol/L NaCl	27	46
20 mmol/L Tris-HCl (pH 7.5)+0.15mol/L NaCl	16	42
20 mmol/L Tris-HCl (pH 6.0)+0.15mol/L NaCl	11	38

TOYOPEARL NH<sub>2</sub>-750F在盐浓度低于0.15mol/L NaCl的缓冲液中，对BSA的动态吸附载量有所降低。

## TOYOPEARL NH<sub>2</sub>-750F

### 混合模式填料和传统的高载量离子交换填料的区别

1. 传统的高载量离子交换填料TOYOPEARL GigaCap系列，在低盐浓度下，TOYOPEARL GigaCap系列具有非常高的吸附载量。

传统的离子交换填料，粒径越小，分辨率越高（Superfine级：35 μm。TOYOPEARL GigaCapS-650S, GigaCapQ-650S, TOYOPEARL DEAE-650S, SuperQ-650S, SP-650S, CM-650S）

2. 混合模式填料需要优化分离条件。上样和洗脱缓冲液需要对溶液中的盐浓度和pH值进行优化。在0.1~0.3 mol/L NaCl溶液中能够吸附蛋白是比较理想的条件。需要利用盐和pH梯度进行更有效的洗脱。相较于传统的离子交换填料，清洗条件更为苛刻。优化层析条件可以提供更好的分离选择性以去除杂质。

## TOYOPEARL NH<sub>2</sub>-750F

### 蛋白回收率

Protein	Recovery (%)
Ovalbumin	93
Bovine serum albumin	97
Mab	94
β-Lactoglobulin	95
Transferrin	100

层析条件:

层析柱尺寸: 5mm I.D. × 50mm (1mL)

缓冲液A: 20 mmol/L Tris-HCl (pH 8.0)

缓冲液B: 缓冲液A+2.0 mol/L NaCl (pH 8.0)

洗脱: 20min的线性梯度由缓冲液100%A过渡到100%B, 然后用100%B洗脱5min。

流速: 1.0ml/min

上样量: 1mg

## TOYOPEARL NH<sub>2</sub>-750F

### 分离及性能谱图

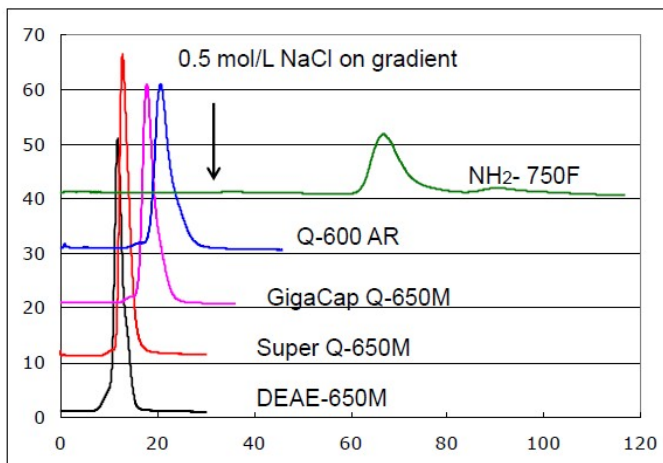


图1 不同阴离子交换填料对BSA的保留比较

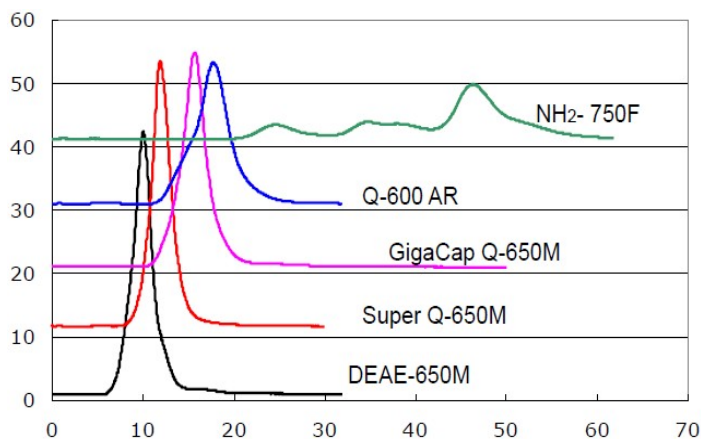


图2 不同阴离子交换填料对卵清蛋白的保留比较

层析条件:

层析柱尺寸: 5 mm I.D. × 50 mm

缓冲液A: 20 mmol/L Tris-HCl (pH 8.0)

缓冲液B: 缓冲液A + 2.0 mol/L NaCl (pH 8.0)

洗脱: 120min的线性梯度从100% A到100% B

流速: 1.0 mL/min; 检测: UV (280 nm); 样

品: BSA 1 mg

层析条件:

层析柱尺寸: 5 mm I.D. × 50 mm

缓冲液A: 20 mmol/L Tris-HCl (pH 8.0)

缓冲液B: 缓冲液A + 2.0 mol/L NaCl (pH 8.0)

洗脱: 120min的线性梯度从100% A到100% B

流速: 1.0 mL/min; 检测: UV (280 nm); 样品: 卵清蛋白 1 mg

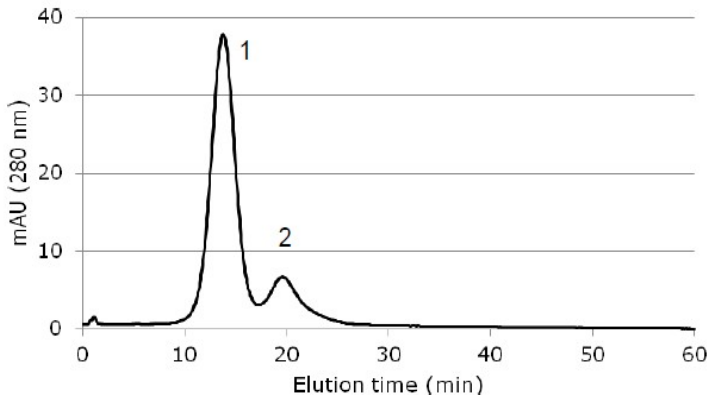


图3 TOYOPEARL NH<sub>2</sub>-750F 去除单抗 (IgG1) 中的多聚体

层析条件: 层析柱: TOYOPEARL NH<sub>2</sub>-750F (5 mm I.D. X 5 cm)

洗脱缓冲液: 20 mmol/L Tris-HCl (pH 8.0)

60min 线性梯度从 0 到 1 mol/L NaCl

流速: 1.0 mL/min; 检测: UV (280 nm)

样品: mAb (IgG1, 0.5 mg) 第 2 个峰中包含了二聚体。

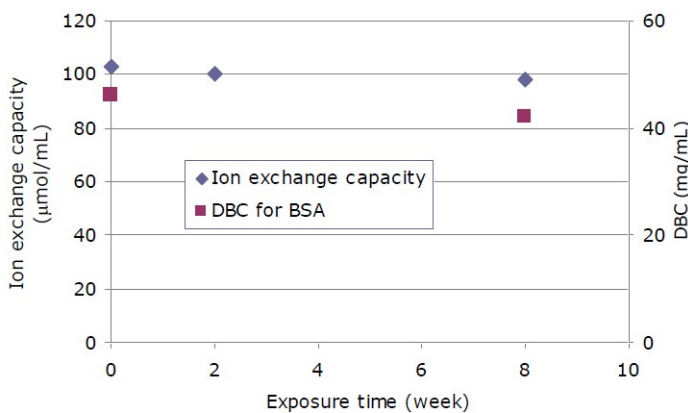


图4 TOYOPEARL NH<sub>2</sub>-750F填料的耐碱性数据

耐碱性测试条件: TOYOPEARL NH<sub>2</sub>-750F 浸泡在 0.5 mol/L NaOH 溶液中 (25°C)。

## TOYOPEARL NH<sub>2</sub>-750F

### 结论

1. TOYOPEARL NH<sub>2</sub>-750F耐盐型离子交换填料, 在0.15 mol/L NaCl甚至更高的盐浓度下都表现出了相当高的吸附载量。
2. 酸性蛋白在低于等电点的酸性条件下依然能被吸附。
3. 这款填料可以使用线性梯度或者穿透模式来去除抗体中的多聚体。
4. 在0.5 mol/L NaOH下稳定。
5. 避免使用多价阴离子或低盐浓度的缓冲液上样。

## TOYOPEARL NH<sub>2</sub>-750F

### 订货信息

货号	产品名称	包装
023438	TOYOPEARL NH <sub>2</sub> -750F	100 mL
023439	TOYOPEARL NH <sub>2</sub> -750F	250 mL
023440	TOYOPEARL NH <sub>2</sub> -750F	1 L
023441	TOYOPEARL NH <sub>2</sub> -750F	5 L
023442	TOYOPEARL NH <sub>2</sub> -750F	50 L
023443	TOYOPEARL NH <sub>2</sub> -750F	1 ml*6
023444	TOYOPEARL NH <sub>2</sub> -750F	5 ml*6
021400	TOYOSCREEN Holder	-
020028	TF Union (M6, 10-32)	连接件