

慧德易电子期刊

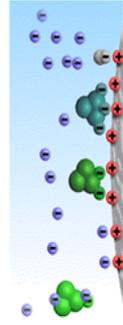
H&E Electronic Journal

第一百期

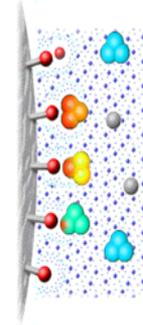
层析填料选择技巧



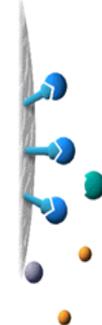
尺寸排阻



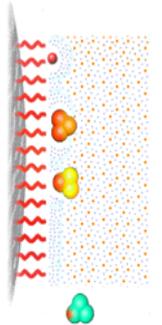
离子交换



疏水层析



亲和层析



反相层析

2017年10月

第一百期 层析填料选择技巧

如何选择层析填料

- 五大类层析方法
 1. 尺寸排阻 (SEC)
 2. 离子交换 (IEX)
 3. 亲和层析 (AFC)
 4. 疏水层析 (HIC)
 5. 反相层析 (RPC)
- 介质—颗粒越细、大小越均匀，分辨率越高，但反压亦较高。
- 物理稳定性—能承受高流速，同时保持柱床体积和结构稳定，省去了每次重新装柱的流程，提高重复性。
- 化学稳定性—能承受极端 pH，高盐，利于开发分离条件和在线清洗 (CIP)，大大延长介质寿命和提高重复性。

选择层析方法

若对目标蛋白或者样品不大了解，可以尝试以下方法：

- 使用分离范围宽广的凝胶过滤介质，依据分子量将样品分成不同组分。
- 用含专一配体或抗体的亲和层析介质结合目标蛋白，一步即可得到高纯度样品；也可以用各种活化偶联介质偶联目标蛋白的底物、受体等自制亲和介质。
- 体积大的样品，往往使用离子交换层析来浓缩和粗纯化；高盐洗脱的样品再用疏水层析纯化。
- 疏水层析用高盐吸附、低盐洗脱的原理，洗脱的样品又可直接上离子交换介质；两种方法常被交替使用。

线性流速

对体积不同的柱子来说，体积流速不能直接用作比较，一般都换算成线性流速，再做比较：

$$\text{线性流速 (cm/hr)} = \frac{\text{体积流速 (ml/min)} \times 60}{\text{柱子横切面积 (cm}^2\text{)}}$$

$$\text{体积流速 (ml/min)} = \frac{\text{线性流速 (cm/hr)} \times \text{柱子横切面积 (cm}^2\text{)}}{60}$$

装柱检测

检测装柱效果一般用 <0.5% (~30 μ m 介质) 或 <2% (~90 μ m 介质) 柱体积的 1% 丙酮测试柱效和峰形。

$$\text{柱效 HETP} = L/N \quad L: \text{柱床高度} \quad N: \text{理论塔板数}$$

$$N/m = 5.54 \times (V_e/W_{1/2})^2 \times (100/L) \quad \text{每米理论塔板数}$$

$$V_e: \text{保留体积} \quad W_{1/2}: \text{半峰高峰宽}$$



北京慧德易科技有限责任公司

咨询电话：010-59812370/1/2/3

公司官网：www.prep-hplc.com

邮箱：sales@prep-hplc.com

微信公众号：北京慧德易