

## Q Agarose HP (Q 强阴离子交换层析填料 HP)

### 产品信息

产品名称	产品编号	规格
Q Agarose HP (Q 强阴离子交换层析填料 HP)	20460ES25	25 mL
	20460ES60	100 mL

### 产品描述

离子交换树脂主要包括强酸性阳离子交换树脂、弱酸性阳离子交换树脂、强碱性阴离子交换树脂和弱碱性阴离子交换树脂 4 种，广泛用于生物制药和生物工程下游蛋白质、核酸及多肽的分离纯化。

本品 Q 强阴离子交换树脂以高度交联的 6% 琼脂糖为介质，可耐受较高的流速及更高的化学稳定性，适合实验室及工业大规模纯化。本品离子交换基团-N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>。

### 产品性质

基质 (Matrix)	高度交联的 6% 琼脂糖微球
粒径 (Bead size)	25-45 μm
离子交换类型 (Type)	强阴离子
载量 (Capacity)	0.14-0.20 mmol Cl <sup>-</sup> /mL 介质
流速 (Flow Rate)	≥150 cm/h
pH 范围 (pH Range)	2-12 (长期) / 2-14 (短期)
储存缓冲液 (Buffer)	20% 乙醇

### 运输和保存方法

冰袋运输。2-8°C 保存，有效期 5 年。

### 使用方法

#### 1 缓冲液的准备

所用水和 Buffer 在使用前最好用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤，下表为常用的阴离子交换缓冲液。

表 1：阴离子交换缓冲液

pH 范围	缓冲盐	浓度 (mM)	平衡离子	pKa(25°C)
4.3-5.3	N-Methylpiperazine	20	Cl <sup>-</sup>	4.75
4.8-5.8	Piperazine	20	Cl <sup>-</sup> 或 HCOO <sup>-</sup>	5.33
5.5-6.5	L-Histidine	20	Cl <sup>-</sup>	6.04
6.0-7.0	bis-Tris	20	Cl <sup>-</sup>	6.48
6.2-7.2	bis-Tris propane	20	Cl <sup>-</sup>	6.65
7.3-8.3	Triethanolamine	20	Cl <sup>-</sup> 或 CH <sub>3</sub> COO <sup>-</sup>	7.76
7.6-8.6	Tris	20	Cl <sup>-</sup>	8.07
8.0-9.0	N-Methyl-diethanolamine	20	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	8.52
8.0-9.0	N-Methyl-diethanolamine	50	Cl <sup>-</sup> 或 CH <sub>3</sub> COO <sup>-</sup>	8.52
8.4-9.4	Diethanolamine	50	Cl <sup>-</sup>	8.88
8.4-9.4	Propane 1,3-Diamino	20	Cl <sup>-</sup>	8.88
8.6-9.6	bis-Tris propane	20	Cl <sup>-</sup>	9.10
9.0-10.0	Ethanolamine	20	Cl <sup>-</sup>	9.50

9.2-10.2	Piperazine	20	Cl <sup>-</sup>	9.73
10.0-11.0	Propane 1,3-Diamino	20	Cl <sup>-</sup>	10.55
10.6-11.6	Piperidine	20	Cl <sup>-</sup>	11.12

## 2 样品准备

样品在使用前最好用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤，减少杂质，提高蛋白纯化效率和防止堵塞柱子。

## 3 样品纯化

- 1) 将介质装入合适的层析柱，层析用 5 倍柱体积的结合 Buffer 进行平衡，使填料处于与目的蛋白相同的缓冲体系下，起到保护蛋白的作用。
- 2) 将样品加到平衡好的 Q Agarose HP 中（保证目的蛋白与填料充分接触，提高目的蛋白的回收率），收集流出液。
- 3) 用 10-15 倍柱体积的洗杂 Buffer 进行清洗，去除非特异性吸附的杂蛋白，收集洗杂液。
- 4) 使用 5-10 倍柱体积的洗脱 Buffer，收集洗脱液，即目的蛋白组分。
- 5) 依次使用 3 倍柱体积的结合 Buffer 和 5 倍柱体积的去离子水平衡填料，最后再用 5 倍柱体积的 20% 的乙醇平衡，然后保存在等体积的 20% 的乙醇中，置于 4 度保存，防止填料被细菌污染。

## 4 填料清洗

离子交换树脂每次使用后可以用 1M NaCl 甚至更高离子强度溶液或高 pH 溶液清洗，然后用至少 5 倍柱体积的 Buffer 进行平衡至离子强度或 pH 值稳定。

### CIP (Cleaning In Place) 清洗

离子交换树脂可以重复使用而无需再生，但随着非特异性结合的蛋白的增多和蛋白的聚集，往往造成流速和结合载量都下降，这时可按照下面方法对树脂进行清洗。

#### 1) 去除一些沉淀或变性物质

用 2 倍柱体积的 1M NaOH 溶液进行清洗，然后立即用 5 倍柱体积的 PBS, pH7.4 清洗。

#### 2) 去除一些疏水性吸附造成的非特异性吸附物质

用 3-4 倍柱体积的 70% 乙醇或 3-4 倍柱体积的 1% Triton™ X-100 清洗，然后立即用 5 倍柱体积的 PBS, pH7.4 清洗。

#### 3) 去除一些离子键结合物质

用 3-4 倍柱体积的 2M NaCl 清洗，然后立即用 5 倍柱体积的 PBS, pH 7.4 清洗。

## 注意事项

- 1) 请勿冷冻保存本产品。
- 2) 填料使用前一定要充分颠倒若干次，使琼脂糖珠混合均匀。
- 3) 所有操作过程中，样本需要在 4°C 或冰上操作。
- 4) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 5) 本产品仅作科研用途！

## 附表 问题及解决方案

问题	可能原因	推荐解决方案
柱子反压过高	填料被堵塞	按照【填料清洗】部分对树脂进行清洗。
		样品中含有微小的固体颗粒，建议使用前用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤。
洗脱样品较杂	树脂重复多次使用	按照【填料清洗】部分对树脂进行清洗或更换新树脂。
	平衡不充分	增加平衡液体积，确保树脂充分平衡/洗杂。