



蛋白质的 Zeta 电位

Zeta 电位是表征蛋白质表面电荷的一个重要物理参数。尽管对于蛋白质 Zeta 电位的测量研究已经很多年，但是由于各种原因，包括使用光散射技术会造成蛋白质在样品池的电极上变性，使得测量仍然非常困难。此篇应用案例介绍了在 SZ-100 上使用碳涂层样品池测量蛋白质的 Zeta 电位。

引言

蛋白质的表面电荷是一个非常重要的物理参数，可以影响蛋白质聚集时的状态和加工过程中的行为变化，而 Zeta 电位是当前测量表面电荷的一个有效手段，可作为其稳定性的指标。因此蛋白质 Zeta 电位的变化可用于表征：

- 是否聚集
- 蛋白质结构的构象变化
- 表面改性
- 蛋白质的变性/多肽链的展开



Zeta 电位可说明分散介质中相邻/相似蛋白质之间的排斥程度。根据普遍胶体化学原理，当 Zeta 电位的降幅小于约 $\pm 30\text{mV}$ 时，可认为分散体系失去了稳定性。因此，当体系的条件处于零电势(等电势点，IEP)附近的某些范围内时，体系尤其不稳定。在这些不稳定的范围内，蛋白质可能发生聚集，使得测量的尺寸增大。因此，确定一批蛋白质的等电势点是一个常见的 Zeta 电位应用。

测量 Zeta 电位是描述蛋白质表面电荷的首选方式，尽管对于分析的实际考虑一定程度上阻碍了这一技术的广泛采用。因为在 Zeta 电位样品池中采用经典的金镀层电极通常在一次测量后就会由于产生的焦耳热导致电极表面变黑，从而失效。这种热量不仅会破坏样品和样品池，还会由于电极表面所附的变性蛋白质(如图 1 所示)导致电场改变，从而使数据质量降级。

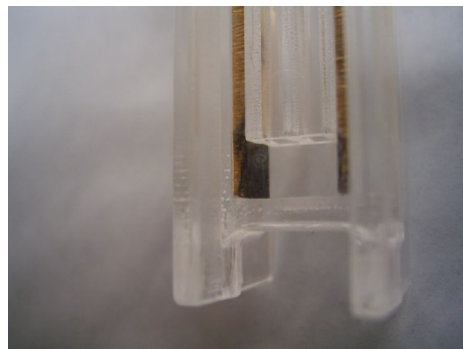


图 1: 变黑的金电极表面，说明电极被损坏

HORIBA 率先在塑料 Zeta 电位样品池中使用碳涂层电极(如图 2 所示)，以解决此类困难样品的测量问题，如蛋白质。本应用案例中所描述的实验都均用碳涂层电极的 Zeta 电位样品池。



图 2: 碳涂层电极的 Zeta 电位样品池

实验

原料:

冻干牛血清白蛋白粉(BSA): Fisher Scientific (CAS: 9048-46-8);

冻干溶菌酶粉: Sigma Aldrich (L6876);

pH 滴定试剂: 0.1N HCl, 0.1N NaOH。

仪器:

滴定: 手动，不采用 LY-701 自动滴定是由于与蛋白质相关的样品量较小；



pH 计: HORIBA twinpH 简约型 pH 计;

Zeta 电位和粒径测量: HORIBA SZ-100Z DLS 装置(如图 3 所示)。



图 3: SZ-100 DLS 装置

取以上蛋白质粉溶于超纯去离子水中, 浓度为 100 mg/ml。由于在实验过程中, pH 滴定会稀释样品, 因此制备溶液时可以将浓度配置得高于仪器的灵敏度极限。

首先在 pH 滴定之前进行蛋白质粒径大小的测量, 使用玻璃样品池, 90° 散射角。Zeta 电位的测量均使用同一塑料碳涂层电极样品池, 该样品池已用于 800 次乳液的 Zeta 电位测量(详见 TN167-Zeta 电位样品池寿命)。

BSA 的起始 pH 为 3, 以 1pH 的增幅逐渐增加至 pH9.5; 溶菌酶的起始 pH 为 4, 同样以 1pH 的增幅逐渐增加至 13。每个 pH 点均测量三次, 并记录平均值, 数值结果如图 4 和图 5 所示。

结果与讨论

BSA 样品的粒径在 pH 滴定之前为 8.4nm。

Zeta 电位与 pH 值的关系曲线如图 4 所示。等电势点(IEP)为 4.6, 与文献值相近。

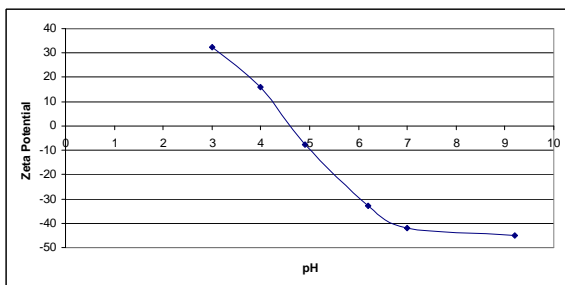


图 4 BSA 的等电势点

溶菌酶样品的粒径在 pH 滴定之前为 4.2nm。

Zeta 电位与 pH 值的关系曲线如图 5 所示。等电势点(IEP)为 11.5, 与文献值相近。

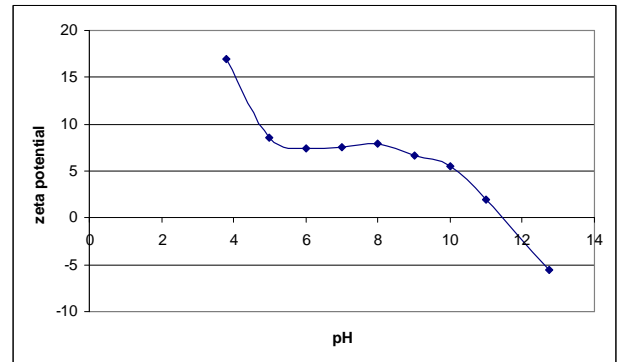


图 5 溶菌酶的等电势点

结论

BSA 和溶菌酶的 Zeta 电位和 pH 关系曲线与预期相符。等电势点的滴定过程简单易行, 每个实验仅需 1 小时。用于实验的塑料碳涂层电极样品池没有任何降解的迹象, 仍可用于后续更多的实验。

碳涂层电极的创新性使用标志着蛋白质 Zeta 电位的测量转变为一个任何人都可以操作的简单实验。

注意: 盐浓度或其他样品性质可能会降低 Zeta 电位样品池的使用寿命, 少于本应用案例中所报道的数值。

Copyright 2011, HORIBA Instruments, Inc.
如需了解我们产品的更多信息或详细资料, 请联系:

堀场贸易(上海)有限公司
上海市南京西路 1468 号中欣大厦 1701 室
Tel: 021-6289-6060 Fax: 021-6289-5553

<http://www.horiba.com.cn>