

2008--12 volume 15

TOSOH TSK-GEL 凝胶色谱柱





凝胶过滤色谱,又称凝胶渗透色谱。一般来说,在生物化学界中常用的名称是凝胶过滤色谱 (GFC),在高分子化学界中常用的名称是凝胶渗透色谱(简称 GPC)。

TOSOH 公司始建于 1935 年,原名东洋曹达工业株式会社 (TOYO SODA),其产品优异的产品性能,在生物制药,生物技术等领域享有盛誉。

TSK 凝胶柱广泛应用于制药和生物工程中蛋白质,多肽,多糖,寡糖,DNA,RNA等生物高聚物的分离,纯化或分子量的测定。

TSK-GEL SEC 分析柱的分类

分析柱 类型	柱内填 料种类	分析样品类型	产品系列	产品特征
SW 型	硅胶	生物大分子	SW	最适合亲水性高的蛋白质分离
		(蛋白质,DNA)	SW_{XL}	分离度高
			SuperSW	分离度高,省溶剂(半微量 SEC 分析柱)
PW 型	亲水型	水溶性合成高分	PW	适用于亲水性合成高分子的测定
	聚合物	子.多糖,生物大	PW_{XL}	使用于亲水性合成高分子的测定,分离度高
		分子(蛋白	PW _{xl} -CP	适用于阳离子型聚合物的测定
		质,DNA)		
Alpha	亲水性		Alpha	适用于水溶性及油溶性的高分子的测定,
SuperAW 型	聚合物		SuperAW	吸附模式
				适用于水溶性及油溶性高分子的测定
				快速,省溶剂,分离度高(半微量 SEC 分析柱)
				吸附模式
H型	笨乙烯类	溶于有机溶剂的	H _{XL}	常规分析,低吸附
	聚合物	合成高分子	H_{HR}	适合于各种有机溶剂体系
			SuperH	快速,省溶剂,分离度高,低吸附(半微量 SEC
			SuperHZ	分析柱)
			SuperMultiporeHZ	校正曲线的线性优异

注:本期详细介绍 TOSOH TSK-GEL SW 型凝胶色谱柱,以后各期将陆续介绍 TOSOH 公司其他款凝胶柱。更多精彩内容不容错过哦!



2008--12 volume 15

TSK-GEL SW 系列色谱柱

TSK-GEL SW 系列色谱柱的填料以刚性的球型硅胶为基质,在其表面通过共价键化学键合亲水基团而成。 其 pH 适用范围为 2.5-7.5,可以使用与水完全互溶的有机溶剂,如乙腈、丙酮、甲醇或乙醇等。适合分析 分离蛋白质和多肽类样品。

TSK-GEL SW 系列色谱柱的选择指南

未知分子量的样品

- TSKgel G3000SW_{XL}是理想的摸索条件的色谱柱。
- 如果感兴趣的蛋白质的洗脱接近排除体积,下一步应该尝试使用G4000SW_{XL}。相反,如果感兴趣的蛋白质洗脱接近色谱末端,尝试使用G2000SW_{XL}。

蛋白质(一般情况)

● 通过校正曲线或者评估蛋白质的分子量选择恰当的孔尺寸,继而可以选择出 TSK-GEL SWxl 系列色谱柱中的一款使用。

单克隆抗体

- TSKgel G3000SW_{XL}通常用于质量控制。
- 样品量有限或者低浓度时,可以使用 TSK gel SuperSW 3000。

多肽

- TSKgel G2000SW_{XL}是多肽分析的首选。
- 样品量有限或者低浓度时,可以使用 TSK gel SuperSW 2000。

常用 TSK-GEL SW 型色谱柱性能和分离范围

填料	部件号	描述	可分析样品的分子量		
			球蛋白	葡萄糖	聚乙二醇
G2000SW	05788	30cm*7.5mmID,10u,125A	5,000-100,000	1,000-30,000	500-15,000
	05102	60cm*7.5mmID,10u,125A			
G2000SW _{XL}	08540	30cm*7.8mmID,5u,125A	5,000-100,000	1,000-30,000	500-15,000
G3000SW	05789	30cm*7.5mmID,10u,250A	10,000-500,000	2,000-70,000	1,000-35,000
	05103	60cm*7.5mmID,10u,250A			
G3000SW _{XL}	05841	30cm*7.8mmID,5u, 250A	10,000-500,000	2,000-70,000	1,000-35,000
G4000SW	05790	30cm*7.5mmID,13u,450A	20,000-700,000	4,000-500,000	2,000-250,000
	05104	60cm*7.5mmID,13u,450A			
G4000SW _{XL}	08542	30cm*7.8mmID,10u,450A	20,000-10,000,000	4,000-500,000	2,000-250,000
SuperSW2000	18674	30cm*4.6mmID,4u,125A	5,000-150,000	1,000-30,000	500-15,000
SuperSW3000	18675	30cm*4.6mmID,4u,250A	10,000-500,000	2,000-70,000	1,000-35,000

^{*}欢迎来电咨询 SW 色谱家族其他款色谱柱信息及技术参数.

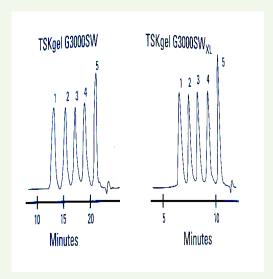
^{*}TSK-GEL G2000SWxL 色谱柱为分离胸腺肽素专用色谱柱,请在订购时说明,以便提供专用批次型号色谱柱.



2008 -12 volume 15

Applications of TSK-GEL SW-type Gel Filtration columns

Higher resolution with 5um TSK-GEL SW_{XL} compared with 10um TSK-GEL SW columns



Column: Left: TSK-GEL SW, two 10um,

7.5mm ID *30cm columns in series Right: TSK-GEL SW_{XL} ,one 5um,

7.8mm ID * 30cm column

Sample: 1. glutamate dehydrogenase (55,000Da)

2. lactate dehydrogenase (36,500Da)

3. enolase (67,000Da)

4. adenylate kinase (6,000Da)

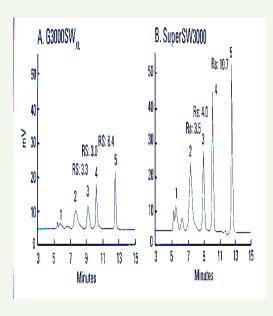
5. cytochrome C (12,400Da)

Elution: 0.3 mol/L NaCL in 0.05 mol/L phosphate

buffer ,ph 6.9

Flow Rate: 1.0 ml/min Detection: UV220nm

Comparison of TSKgel SuperSW3000 and TSK gel G3000SW_{XL} for the separation of proteins



Column: A .TSK gel G3000SW_{XL},7.8mmID*30cm

B. TSK gel SuperSW3000,4.6mmID *30cm

Sample: 5ul of a mixture of

1.thyroglobulin ,0.5mg/Ml (660,000Da); 2. y —globulin,1.0 mg/mL;(150,000Da); 3. ovalbumin, 1.0mg/Ml (43,000Da)

4. ribonuclease A ,1.5mg/mL(12,600Da);5. p-aminobenzoic acid,0.01mg/ml (137Da)

Elution: 0.1mol/L NaSO₄ in 0.1mol/L in phosphate

bufferwith 0.05% NaN₃, pH6.7

Flow Rate: 1.0ml/min for G3000SW_{XL};

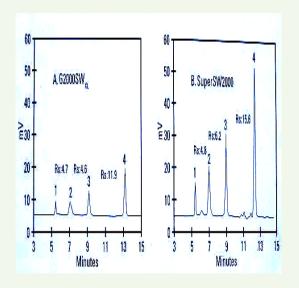
0.35ml/min for SuperSW3000

Detection: UV @220nm Temp: 25°C



2008 -12 volume 15

Comparison of TSKgel SuperSW2000 and TSKgel G2000SW_{XL} for the separation of proteins



Column: A.TSKgel G2000SW_{XL},7.8mmID*30cm

B.TSKgel SuperSW2000,4.6mmID*30cm

Sample: 1. thyroglobulin(0.2mg/ml);

albumin(1.0mg/ml);

3. ribonuclease A (1.0mg/mL);

4. p-aminobenzoic acid (0.01mg/mL)

Inj. Volume: 5UI

Elution: 0.1mol/L phosphate buffer + 0.1mol/L

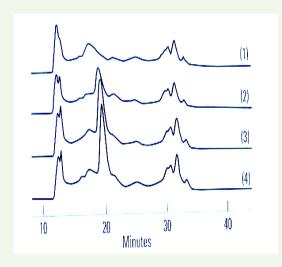
Na₂SO₄+0.05%NaN₃(ph6.7)

Flow Rate: 0.35ml/min for SuperSW2000;

1.0ml/min for G2000SW_{XL}.

Detection: UV @ 280nm Temp: 25 ℃

Separation of membrane protein by SEC with different surfactant concentration in the eluent



Column: TSKgel G3000SW ,7.5mm ID*60cm

Sample: Membrane protein from a crude extract from

rat liver microsome

Elution: (0.2mol/l sodium chloride +20% glycerol +

octaethyleneglycol dodecylether) in 50mmol/l phosphate buffer,ph 7.0. Note: concentration of surfactant: (1) 0.005%,(2) 0.01%,(3) 0.025%,

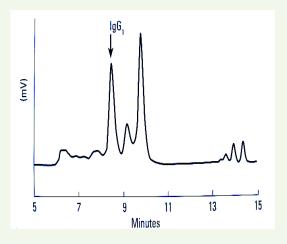
(4) 0.05%

Flow Rate: 1.0ml/min Detection: UV@280nm



2008 -12 volume 15

The separation of monoclonal antibody (IgG₁) from mouse ascites fluid



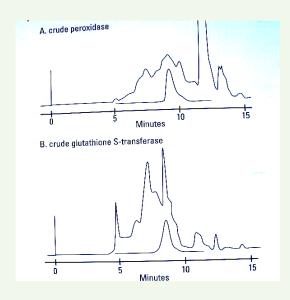
Column: TSK gel SuperSW3000,4.6mm ID*30cm

Sample: 5um of lgG ,from mouse ascites Elution: 0.2mol/L phosphate buffer ,ph 6.7

Flow Rate: 0.35ml /min

Detection: UV@280nm micro flow cell

Separation of crude protein samples on TSKgel G3000SW_{xl}.



Column : TSK gel G3000SW_{XL},5um,7.8mm ID *30cm

Sample: A. crude peroxidase from Japanese radish,

0.15mg in 0.1ml

B. crude glutathione S-transferase from guinea pig liver extract ,0.7mg in 0.1ml

Elution: 0.3 mol/l NaCL in 0.05 mol/l phosphate

buffer,ph 7

Flow Rate; 1.0ml/min

Detection: UV@220nm (solid line) and assay

Tests (dashed line)

Recovery: enzymatic activity recovered was

98% in A and 89% in B



2008 -12 volume 15

注 意 事 项

安装说明

流向

安装使用时注意色谱柱上标明的流向箭头,安装反了会降低色谱柱柱效。

去处气泡

从仪器上安装和拆卸色谱柱时一定要注意不要让气泡进入,安装时要去除管路中的气泡。

安装

当进样端螺母拧下,有溶剂从接口溢出,可将色谱柱小心的与仪器连接,这样做可以保证没有气泡进入柱子。如果没有党课从接处流出,将柱子反接,用低于 0.5ml/min 的低流速走柱,赶走气体。确定当脱气的溶剂从色谱柱进样口流出后,按流向箭头所示接柱。

正确使用

柱子安装完成后,进行工作时要注意避免高压力和大流速,同时压力的快速变化也要避免。

保存说明

目常使用

如果柱子每天都使用,不需要将它从仪器上取下,流动相可在柱子中保留过夜。

短期保存

将色谱柱从仪器上取下, 封紧保护螺帽。保存4-30温度度, 不得低于4度。

长期保存

用水溶液或含 0.05%的叠氮化钠缓冲液保存。保存温度 4-30 度,不得低于 4 度。不能受阳光直射。

溶剂

替换溶剂

色谱柱中原厂保存的溶剂是 0.1M 的磷酸缓冲液含 0.05%的叠氮化钠和 0.1M 的硫酸钠。若流动相要改变,可用低于 0.5ml/min 的流速走柱。若要用有机溶剂替换,先用蒸馏水过渡,再用有机溶剂走柱,注意浓度梯度,有机溶剂浓度的快速变化会使柱效降低。

PH 范围

SW 系列色谱柱的溶剂 PH 范围在 2.5-7.5。

溶剂范围

SW 系列所用的溶剂除了水溶液和缓冲液,还可以使用亲水性的有机溶剂,包括甲醇,乙腈以及它们的水溶液。

清洗溶液

PH 较低(如: PH 3.0), 浓度较高的盐溶液(如: 0.5M Na₂SO₄);

添加水溶性有机物(MeOH,ACN,EtOH,10%-20%)的极性缓冲液;

SDS(0.1%), 尿素(8M)或胍(6M)的缓冲溶液。注意: 这些试剂很难被去除。它们需要使用 20-40 个柱体积的 20%ACN 进行冲洗。因此,只有当先前的清洗方法无效时才选择使用本方法。

流速

推荐流速

SW 色谱柱的推荐流速在 0.5-1.0ml/min, 最大流速是 1.2 ml/min, 柱子流速不能超过最大流速。



2008--12 volume 15

学习园地

四种最常见的色谱柱性能变差的原因以及为了防止这些问题的出现而建议您采取的预防措施。

※色谱柱入口处出现空隙或死体积,或者柱内填充物中形成沟流

*突然出现的压力波动或使用高于推荐的流速可能会压塌柱内填充物,从而导致空隙或沟流的发生,特别是对于大孔径色谱柱(例如:TSKgelG4000SW,TSKgelG4000SW_{XL}),更容易发生这种情况。我们推荐使用进样器,这样可以确保在进样过程中流动相的连续性,也就是说即使流动相突然受阻也不会导致压力的波动;也可以安装一个脉冲减震器以抑制快速回流泵可能会遇到的突然出现的压力波动。

*可以使用散装的填料重新填补一些分析或半制备色谱柱中所出现的空隙。我们极力推荐使用保护柱来保护你的分析色谱柱,以避免其受到压力波动的冲击或防止吸附性污染物进入分析色谱柱。如果样品溶剂的 PH 值与流动相的 PH 值不同时,保护柱也有利于中和样品溶剂的 PH 值。样品随着流动相到达分析色谱柱之前,样品的 PH 值就已经被平衡了。这一点对于硅胶基质的 SW 系列色谱柱来说尤为重要,因为这种类型的硅胶色谱柱一般不宜在 PH 值高于 7.5 的情况下使用。

※色谱柱中的空气

*不使用色谱柱时,要将柱子两头的柱栓拧紧以防止空气进入色谱柱内。在流动相进入色谱柱之前要将溶解在流动相内的空气除去(脱气).这一点对于聚合物基质的色谱柱来说尤为重要。采用氦气喷射,流动相过滤或者其它的脱气程序均能够进行空气的去除工作。如果有空气进入色谱柱内,需要对色谱柱进行再水化程序进行空气的排除。

※色谱柱受到污染或者样品没有能够完全回收

*与色谱柱一起交付的操作条件和规格说明书中给出了各种类型的色谱柱清洗条件,您可以根据柱子和样品的种类进行选择。一般来说,低 PH 值的盐溶液能够清洗碱性蛋白;有机溶剂能够清洗疏水性蛋白;尿素,界面活性剂等能够清洗强吸附物质。

※滤片堵塞和柱压过高

*上样前,溶剂和样品要经过至少 0.45um 的过滤器进行过滤以防止色谱柱滤片的堵塞。当滤片出现部分堵塞时,可能会出现峰的劈裂或柱压过高的现象。当出现这种情况时,可以把整个柱子的柱端连接件拆卸下来,在 6M 的硝酸液中进行超声波处理。一定要注意不要损坏柱内的填充物,并且要将清洗之后的柱端连接件进行彻底冲洗。另外,也可以更换柱端连接件。我们还建议在进样器前安装一个膜过滤器以防止由泵密封圈磨损后而产生的颗粒进入色谱分析柱.

北京总公司:

地址:北京回龙观西大街龙冠大厦 719 室

邮编: 102208

热线: (10)-51528296, 51528297, 51528298,

51528348

传真: (10)-51528299

邮箱: sales@prep-hplc.com 网站: www.prep-hplc.com 上海办事处:

地址: 上海张江益丰路 55 弄春港丽园 67 号 201 室

邮编: 201203

电话: 021-58950178 传真: 021-58950178

更多产品信息欢迎来电咨询!!!