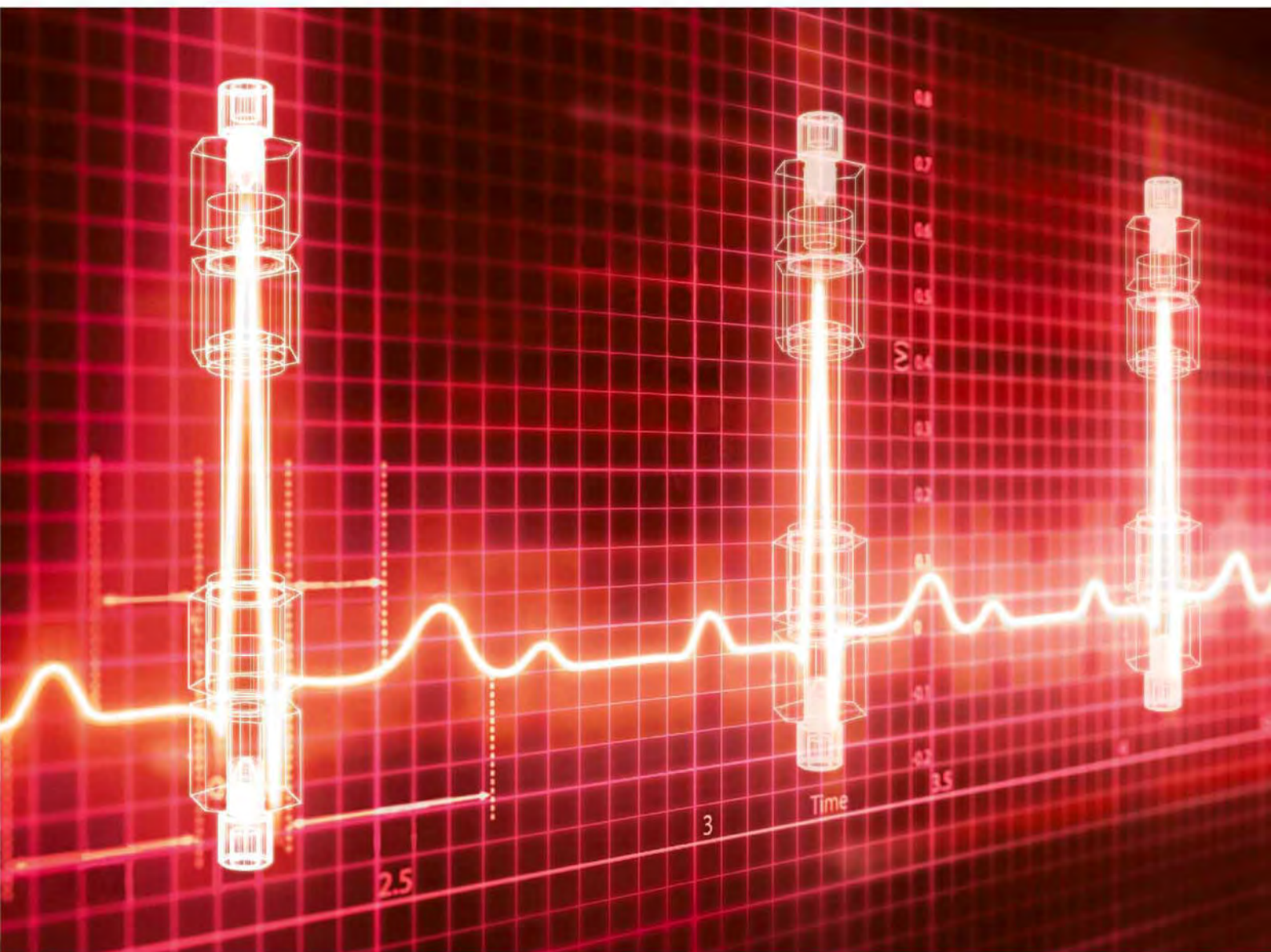




TOSOH

TSK-GEL₊HPLC Columns



离子交换&亲和&疏水相互作用色谱柱

TOSOH BIOSCIENCE



目 录

| | |
|---------------------------|-----------|
| 离子交换色谱柱 | 1 |
| 产品介绍 | 1 |
| 订购信息 | 33 |
| 亲和色谱柱 | 35 |
| 产品介绍 | 35 |
| 订购信息 | 42 |
| Protein A色谱柱 | 43 |
| 产品介绍 | 43 |
| 订购信息 | 46 |
| 疏水相互作用色谱柱 | 47 |
| 产品介绍 | 47 |
| 订购信息 | 54 |

TSKgel 阴离子、阳离子交换色谱柱

东曹生命科学提供多种高效离子交换色谱柱用于生物大分子的分离和分析。TSKgel阴离子、阳离子交换色谱柱的基质有聚甲基丙烯酸酯、硅胶、亲水性聚合物和聚苯乙烯。表1和表2列出了各种不同基质的色谱柱，表3总结了TSKgel离子交换色谱柱的特点和优势。

• TSKgel STAT 系列离子交换色谱柱：

此类色谱柱为无孔聚合物基质色谱柱，具有较高的表面官能团密度：阴离子交换柱为季铵基（Q-和DNA-STAT），阳离子交换柱为羧甲基（CM-STAT）和磺丙基（SP-STAT）。

TSKgel STAT系列离子交换色谱柱的粒径和尺寸经过了优化，可实现高通量、高分辨率分析。

TSKgel STAT系列色谱柱的应用范围包括：蛋白质、蛋白质多聚体、单克隆抗体的电荷同分异构体、PEG化蛋白、DNA片段、核酸、寡糖DNA和siRNA的分离。

• TSKgel DEAE-5PW, SP-5PW, CM-5PW, SuperQ-5PW 离子交换色谱柱：

此类色谱柱填料为聚甲基丙烯酸酯树脂（TSKgel 5PW），粒径 10 μm，孔径约为 100 nm。与二乙氨基（DEAE）、磺丙基（SP）或羧甲基（CM）官能团衍生化形成弱阴离子、强阳离子和弱阳离子交换剂。

TSKgel SuperQ-5PW基质上键合了多胺官能团，形成了高容量的强阴离子交换剂，其有效孔径比TSKgel DEAE-5PW更小。

聚甲基丙烯酸酯基质的TSKgel离子交换色谱柱的典型应用包括：蛋白质、多肽、DNA和RNA衍生的寡核苷酸、和其他核酸片段的分离。

• TSKgel BioAssist 系列离子交换色谱柱：

此类色谱柱也是采用了聚甲基丙烯酸酯树脂为填料。TSKgel BioAssist Q 系列色谱柱的颗粒孔隙非常大（~400 nm），多胺基团键合在这些颗粒上形成独特的网状结构。TSKgel BioAssist Q 系列色谱柱的容量较高，适于分离宽分子量范围的样品（高达 1.0×10^6 Da）。

TSKgel BioAssist S系列色谱柱的填料粒径为130 nm，并键合有磺丙基官能团。

TSKgel BioAssist系列色谱柱为PEEK材质外壳。

• TSKgel DEAE-NPR, DNA-NPR和SP-NPR 离子交换色谱柱：

此类色谱柱装填有粒径2.5 μm，聚甲基丙烯酸酯基质的无孔树脂填料。高柱效加上低样品容量限制了此类色谱柱在快速分析和微量级制备分离中的应用。此类无孔填料的色谱柱具有极高的蛋白回收率。

• TSKgel DEAE-2SW, DEAE-3SW, SP-2SW, CM-2SW, CM-3SW 离子交换色谱柱：

此类色谱柱基质是硅胶，具有二乙氨基（DEAE）、磺丙基（SP）、三甲氨基（QAE）和羧甲基（CM）官能团，可用于分析分子量较小的样品，例如，核苷酸、候选药物、儿茶酚胺以及小肽或蛋白质。

此类色谱柱对于小到中等分子量的蛋白质的结合量是 TSKgel 5PW 填料的两倍，这是因为其孔径较小，表面积较大。

• 特制柱TSKgel聚苯乙烯基质离子交换色谱柱：

此类色谱柱可用于分析单糖、二糖、有机酸和糖醇。

表1: TSKgel 阳离子交换色谱柱的特点和优势

| 色谱柱类型 | 类型、基质 | 优势 |
|-------------------------------|--|---|
| CM-STAT, SP-STAT | 强阳离子 (SP-STAT), 弱阳离子 (CM-STAT); 聚合物基质 | 无孔聚合物填料, 具有较高的表面官能团 (CM 和 SP) 密度。 |
| CM-5PW, SP-5PW | 强阳离子 (SP-5PW), 弱阳离子 (CM-5PW); 聚甲基丙烯酸酯 | 聚甲基丙烯酸酯填料键合有 CM 和 SP 官能团。 |
| BioAssist S | 强阳离子; 聚甲基丙烯酸酯 | 孔径较大 (130 nm), 结合能力高, 活性回收率高, 可用于分析较大蛋白质 (>100kDa)。PEEK 材质外壳。 |
| SP-NPR | 强阳离子; 聚甲基丙烯酸酯 | 无孔填料, 粒径 2.5 μm, 适合快速分析蛋白质, 且蛋白回收率极高。 |
| CM-2SW, CM-3SW, SP-2SW | 强阳离子 (SP-2SW), 弱阳离子 (CM-2SW, CM-3SW); 硅胶基质 | 硅胶基质填料键合有 CM 和 SP 官能团。 |
| SCX, OApak-A | 强阳离子 (SCX), 弱阳离子 (OApak-A); 聚甲基丙烯酸酯 | 分析有机酸、糖类和醇类的专用色谱柱。 |

表2: TSKgel 阴离子交换色谱柱的特点和优势

| 色谱柱类型 | 类型、基质 | 优势 |
|------------------------------------|---|--|
| Q-STAT, DNA-STAT | 强阴离子 (Q-STAT), 弱阴离子 (DNA-STAT); 聚合物基质 | 无孔聚合物填料, 具有较高的表面官能团 (季铵基) 密度。 |
| DEAE-5PW, SuperQ-5PW | 强阴离子 (SuperQ-5PW), 弱阴离子 (DEAE-5PW); 聚甲基丙烯酸酯 | 聚甲基丙烯酸酯填料键合有 DEAE 和 SuperQ 官能团。 |
| BioAssist Q | 强阴离子; 聚甲基丙烯酸酯 | 孔径非常大 (400 nm), 结合能力高, 活性回收率高, 可用于分析较大蛋白质 (>100kDa)。PEEK 材质外壳。 |
| DEAE-NPR, DNA-NPR | 弱阴离子; 聚甲基丙烯酸酯 | 无孔填料, 粒径 2.5 μm, 适合快速分析蛋白质, 且蛋白回收率极高。 |
| DEAE-2SW, DEAE-3SW, QAE-2SW | 强阴离子 (QAE-2SW), 弱阴离子 (DEAE-2SW, DEAE-3SW); 硅胶基质 | 硅胶基质填料键合有 DEAE 和 QAE 官能团。 |
| Sugar AXG, Sugar AXI, SAX | 强阴离子; 聚苯乙烯 | 分析单糖、二糖以及有机酸、糖醇的专用色谱柱。 |

TSKgel BioAssist Q 阴离子交换色谱柱

TSKgel BioAssist Q阴离子交换色谱柱专为生物大分子的分离分析（例如抗体）而设计，其颗粒孔隙非常大，可在温和的柱背压下提供较高的容量和优异的分辨率。BioAssist Q色谱柱的阴离子交换功能是通过一种特殊的接枝聚合技术，在大颗粒孔隙中引入高密度的离子交换基团来实现。

TSKgel BioAssist Q阴离子交换色谱柱的尺寸为4.6 mm ID x 5 cm，和尺寸为10 mm ID x 10 cm的半制备柱。两种色谱柱外壳均为PEEK材质，以减少蛋白质吸附。

属性及应用：

表4列出了TSKgel BioAssist Q色谱柱的产品属性。此类色谱柱的容量较高，适用于分离较宽分子量范围（高达 1.0×10^6 Da）的样品，也适合于高通量分析。

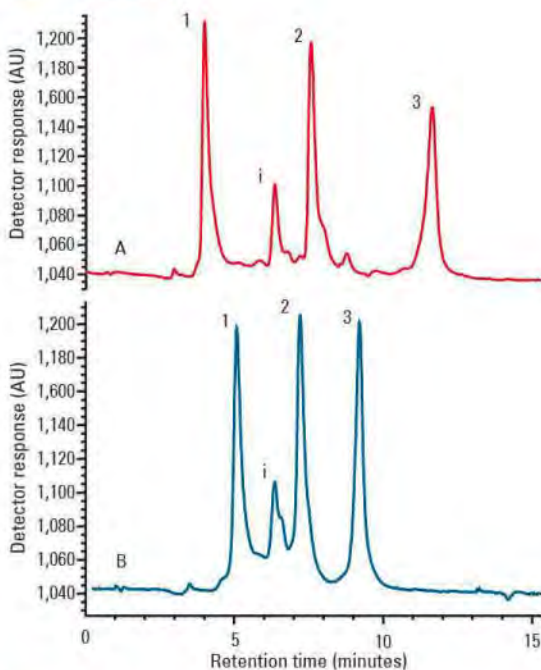
表4：产品属性与规格

| 属性 | 参数 |
|-----------------|------------------------------------|
| 基质 | 聚甲基丙烯酸酯 |
| 粒径（平均值） | 10 μm 和13 μm |
| 孔径（平均值） | 400 nm |
| 官能团 | 多胺 |
| 抗衡离子 | Cl^- |
| pH值范围 | 2.0 - 12.0 |
| 蛋白容量（mg BSA/mL） | 70 |
| 离子交换容量 | 0.1 eq/L |
| pKa | 9.4 |

在FPLC（快速蛋白液相色谱）系统中的分离性能

图2所示为在FPLC系统上运行时，TSKgel BioAssist Q色谱柱与竞争产品相比，分离优势更为明显。

图2：性能增强

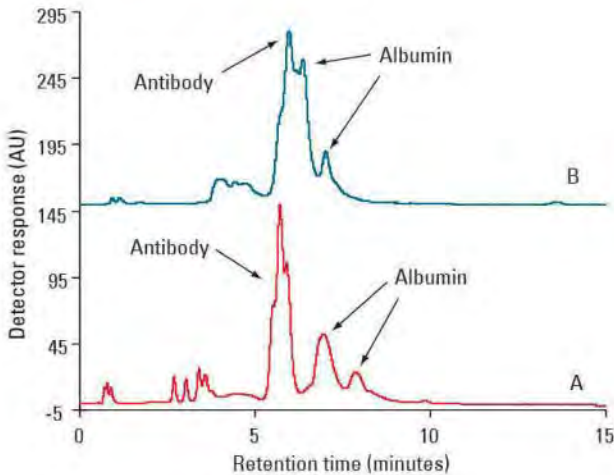


色 谱 柱: **A: TSKgel BioAssist Q (10 μm , 4.6 mm x 5 cm)**
B: 竞争产品Q, 5.0 mm ID x 5 cm
 流 动 相: 30分钟内20 mmol/L 磷酸钠中NaCl从0线性梯度增加到1 mol/L, pH 8.0
 流 速: 1.0 mL/min
 检 测: UV (280 nm)
 样 品: 1. 伴清蛋白
 i. 卵清蛋白杂质
 2. 卵清蛋白
 3. 胰蛋白酶抑制剂

小鼠腹水

图3为分析小鼠腹水的色谱图。与其他市售品牌的色谱柱相比，TSKgel BioAssist Q色谱柱出色地分离了抗体和白蛋白。

图3: 小鼠腹水的分离



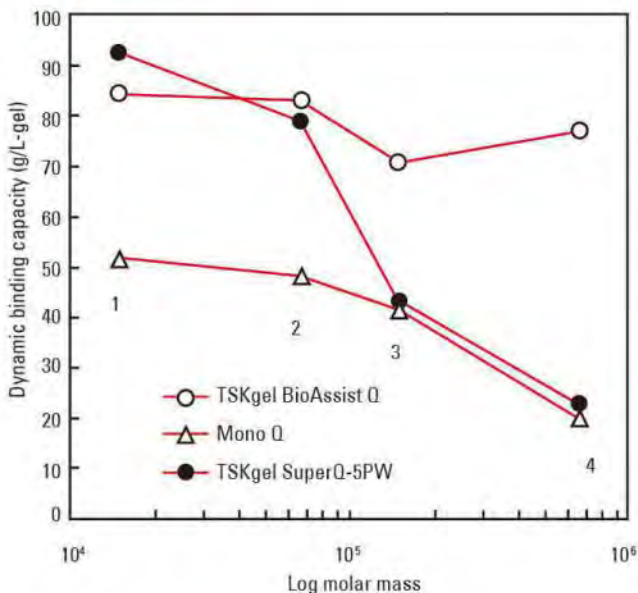
色谱柱: **A: TSKgel BioAssist Q (10 μ m, 4.6 mm ID x 5 cm)**
 B: 其他市售品牌Q型色谱柱A (5.0 mm ID x 5 cm)
 流动相: 15分钟内20 mmol/L Tris-HCl缓冲液中NaCl从0线性梯度增加到1.0 mol/L, pH 8.0
 流速: 1.0 mL/min
 检测: UV (280 nm)
 温度: 25 $^{\circ}$ C
 进样量: 5 μ L
 样品: 小鼠腹水 (使用初始洗脱液进行3倍稀释)

动态结合量

TSKgel BioAssist Q色谱柱和两种市售色谱柱的动态结合量如图4所示。对比四种分子量不同的蛋白质 (从 2.0×10^4 Da到 6.7×10^5 Da) 绘制出动态容量, 该动态容量是通过不断向色谱柱进样蛋白样品, 并计算吸附在穿透曲线10%高度处的蛋白质数量来测定的。

TSKgel BioAssist Q色谱柱对所有蛋白的结合量都通常较高, 而Mono Q型 (孔径80 nm) 和TSKgel SuperQ-5PW色谱柱 (孔径100 nm) 对较大蛋白的结合量明显较低。显然, 这两种色谱柱都不适合用来分析分子量为 1.5×10^5 Da的单克隆抗体。抗体是血液成分, 本身在pH 7.35时最为稳定, 它们在酸性条件下会变得不稳定。由于抗体带有过量的正电荷, 对其进行色谱分析应选择阴离子交换色谱法。

图4: 动态结合量



色谱柱: **TSKgel BioAssist Q (10 μ m, 4.6 mm ID x 1 cm)**
 常规Q型色谱柱A, 5.0 mm ID x 1 cm
 TSKgel SuperQ-5PW, 4.6 mm ID x 1 cm
 流动相: 20 mmol/L Tris-HCl缓冲液, pH 8.0
 流速: 0.38 mL/min
 检测: UV (280 nm)
 温度: 25 $^{\circ}$ C
 样品: 1. 胰蛋白酶抑制剂, 10 g/L
 2. 人血清白蛋白, 10 g/L
 3. IgG, 2.3 g/L
 4. 甲状腺球蛋白, 5 g/L

TSKgel DEAE-2SW、DEAE-3SW 和 QAE-2SW 阴离子交换色谱柱

TSKgel DEAE-2SW、DEAE-3SW 和 QAE-2SW 色谱柱的填料为球形多孔硅胶颗粒，该颗粒采用弱阴离子交换基团进行化学改性。此类色谱柱用于分析分子量较小的样品，例如核苷酸、候选药物、儿茶酚胺、小肽或蛋白质。

属性及应用：

表5列出了TSKgel DEAE-2SW，DEAE-3SW和QAE-2SW色谱柱的产品属性和规格。

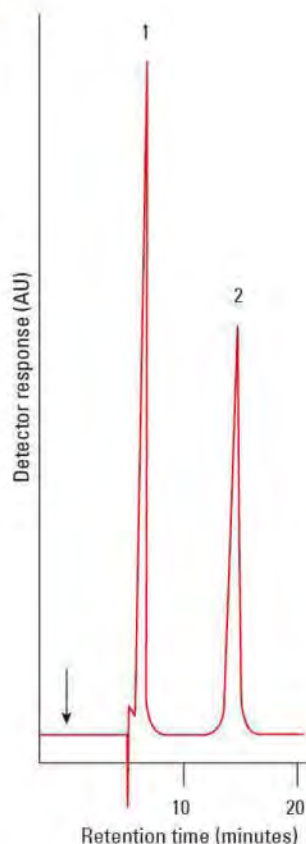
表5：产品属性与规格

| TSKgel色谱柱 | DEAE-2SW | DEAE-3SW | QAE-2SW |
|-----------|--|--|---|
| 基质 | 硅胶 | | |
| 粒径（平均值） | 5 μm | 10 μm | 5 μm |
| 孔径（平均值） | 12.5 nm | 25 nm | 12.5 nm |
| 官能团 | CH ₂ CH ₂ N ⁺ (C ₂ H ₅) ₃ | CH ₂ CH ₂ N ⁺ (C ₂ H ₅) ₃ | 三甲氨基 |
| 抗衡离子 | H ₂ PO ₄ ⁻ | Cl ⁻ | H ₂ PO ₄ ⁻ |
| pH值范围 | 2.0 – 7.5 | | |
| 离子交换容量 | >0.3 eq/L | | |
| pKa | 11.2 | | |

脱氧核糖核酸

图5为使用TSKgel DEAE-3SW色谱柱对三磷酸腺苷（ATP）和脱氧核糖核酸（DNA）的分离谱图。

图5：ATP和DNA的分离



色谱柱：TSKgel DEAE-3SW (10 μm, 6 mm ID x 15 cm)

流动相：ACN/0.6 mol/L 甲酸铵缓冲液 pH 7.0= 20/80

梯度：流动相 B：0→100%（60 分钟内）

流速：0.7 mL/min

检测：UV（260 nm）

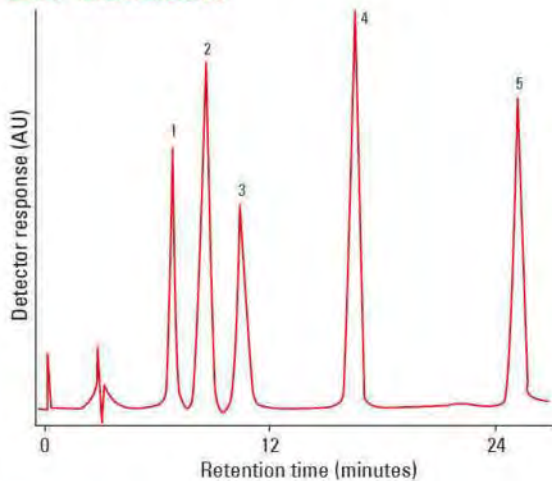
温度：23 °C

样品：1. 三磷酸腺苷（ATP）
2. 脱氧核糖核酸（DNA）
（d-TCGAGCATAATA）

核苷酸

分析分子量较小的阴离子物质最好使用小孔径硅胶基质阴离子交换色谱柱，比如TSKgel DEAE-2SW。图6为使用该色谱柱分离核苷酸的谱图。

图6: 核苷酸的分离

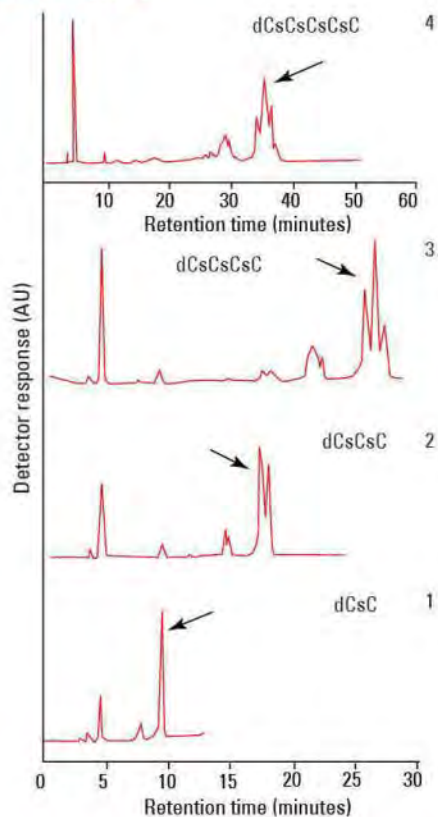


色 谱 柱: TSKgel DEAE-2SW (5 μ m, 4.6 mm ID x 25 cm)
 流 动 相: A: 0.1 mol/L 磷酸盐, 含有 CH₃CN, pH 3.0, 20/80
 B: 0.5 mol/L 磷酸盐, 含有 CH₃CN, pH 3.0, 20/80
 梯 度: 缓冲液 A \rightarrow 缓冲液 B (30 分钟内)
 流 速: 1.0 mL/min
 检 测: UV (260 nm)
 样 品: 1. AMP (单磷酸腺苷)
 2. IMP (肌苷酸)
 3. GMP (鸟苷酸)
 4. ADP (二磷酸腺苷)
 5. ATP (三磷酸腺苷)

寡核苷酸

主链修饰的寡核苷酸被越来越多地用于反义治疗。这些新型寡核苷酸的优点在于: 由于其对内生核酸酶的抗性, 半衰期更长。硫代磷酸酯是主链修饰的寡核苷酸的一种常见类型, 在硫代磷酸酯中, 磷酸二酯键中两个桥接氧原子中的一个被硫原子所取代。图7是使用TSKgel DEAE-2SW色谱柱对几种硫代磷酸酯的分离谱图。

图7: 硫代磷酸酯的分离



色 谱 柱: TSKgel DEAE-2SW (5 μ m, 4.6 mm ID x 25 cm)
 流 动 相: A: 50 mmol/L 乙酸铵
 B: 1.5 mol/L 乙酸铵
 梯 度: 流动相 B: 0 \rightarrow 100% (60 分钟内)
 流 速: 1 mL/min
 检 测: UV (254 nm)
 温 度: 25 $^{\circ}$ C
 样 品: 1. 2 碱基硫代磷酸酯寡核苷酸
 2. 3 碱基硫代磷酸酯寡核苷酸
 3. 4 碱基硫代磷酸酯寡核苷酸
 4. 5 碱基硫代磷酸酯寡核苷酸

TSKgel DEAE-5PW 和 SuperQ-5PW 阴离子交换色谱柱

此类色谱柱采用了聚甲基丙烯酸酯树脂 (TSKgel 5PW)，填料粒径为10 μm，孔径为100 nm。填料与二乙氨基 (DEAE) 官能团结合形成弱阴离子交换色谱柱 TSKgel DEAE-5PW，与多胺官能团结合形成强阴离子交换色谱柱 TSKgel SuperQ-5PW。TSKgel SuperQ-5PW 色谱柱具有更高的容量，而且其有效孔径也比 TSKgel DEAE-5PW 色谱柱更小。

TSKgel SuperQ-5PW 色谱柱用于分离蛋白质、寡核苷酸和其他生物分子。此类色谱柱的尺寸为7.5 mm ID x 7.5 cm (不锈钢外壳)、21.5 mm ID x 15 cm、8 mm ID x 7.5 cm (玻璃外壳)。

TSKgel DEAE-5PW 色谱柱也适用于蛋白质以及核苷酸、核苷和其它生物分子的分离分析。此类色谱柱的内径从2 mm 到55 mm不等，色谱柱外壳为玻璃或不锈钢材质。

属性及应用：

表6列出了 TSKgel SuperQ-5PW 和 DEAE-5PW 色谱柱的产品属性和规格。这类色谱柱是分离生物活性分子的最佳选择。

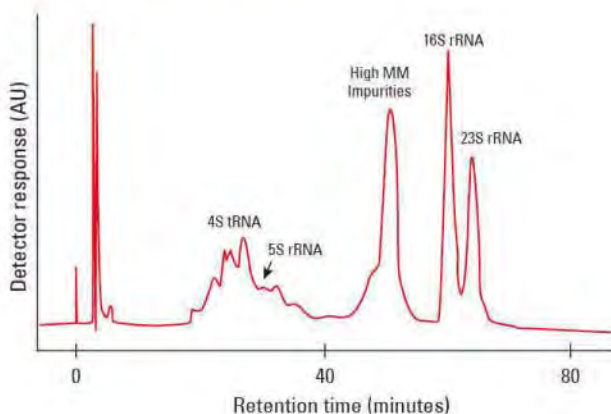
表6：产品属性与规格

| TSKgel 色谱柱 | SuperQ-5PW | DEAE-5PW |
|------------------|-----------------|--|
| 基质 | 聚甲基丙烯酸酯 | |
| 粒径 (平均值) | 10 μm 和 13 μm | 10 μm, 13 μm 和 20 μm |
| 孔径 (平均值) | 100 nm | |
| 官能团 | 三甲氨基 | CH ₂ CH ₂ N ⁺ (C ₂ H ₅) ₃ |
| 抗衡离子 | Cl ⁻ | |
| pH 值范围 | 2.0 - 12.0 | |
| 蛋白容量 (mg BSA/mL) | 100 | 30 |
| 离子交换容量 | >0.13 eq/L | 0.1 eq/L |
| pKa | 12.2 | 11.5 |

大肠杆菌 RNA

图8所示为 TSKgel DEAE-5PW 分离高分子量的大肠杆菌 RNA 的谱图。

图8：高分子量 RNA 的分析

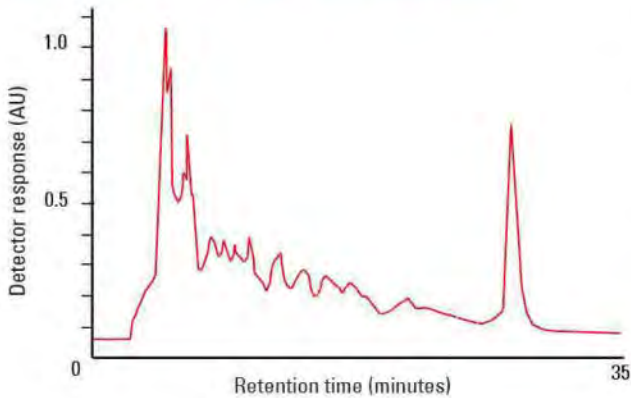


色谱柱：TSKgel DEAE-5PW (10 μm, 6 mm ID x 15 cm)
 流动相：300分钟内0.1 mol/L Tris-HCl 中 NaCl 从0.3 mol/L 线性梯度增加到1.0 mol/L, pH 7.6
 流速：1.0 mL/min
 检测：UV (260 nm)
 样品：总大肠杆菌 RNA

质粒

图9所示为TSKgel DEAE-5PW色谱柱对pBR322质粒粗样进行分离，并在一小时内实现了质粒纯化，而对于非常规Cs-Cl密度梯度超速离心法，所需时间长达三天。

图9: HIV-1 PCR扩增的130bp靶位的检测



色谱柱: TSKgel DEAE-5PW (10 μ m, 7.5 mm ID x 7.5 cm)

流动相: A: 25 mmol/L Tris-HCl, 1 mmol/L EDTA, pH 8.0

B: 25 mmol/L Tris-HCl, 1 mmol/L EDTA, pH 8.0

和 1 mol/L NaCl

梯度: 流动相 B 从 25→60% (30 分钟内)

流速: 1 mL/min

检测: UV (260 nm)

温度: 25 °C

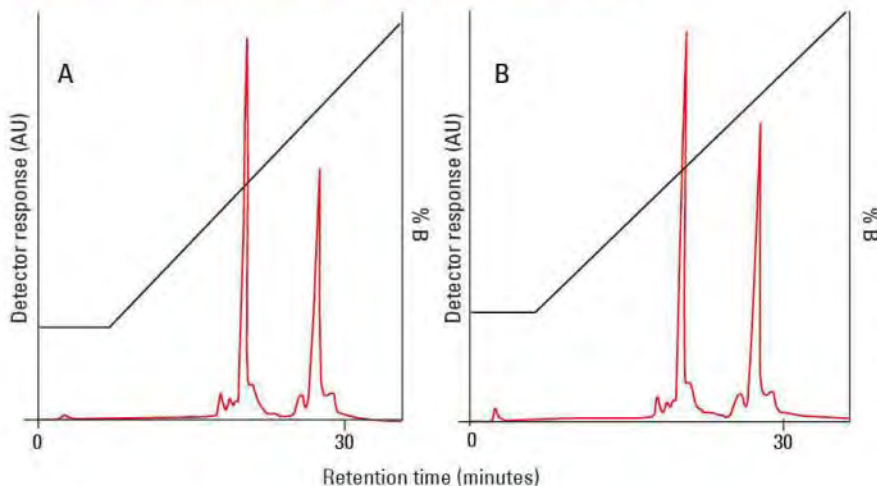
样品: pBR322 质粒

样品载量: 2.5 mg/1 mL

色谱柱稳定性测试

图10A和10B显示了TSKgel SuperQ-SPW色谱柱的稳定性。首先，将卵清蛋白和胰蛋白酶抑制剂进样到TSKgel SuperQ-5PW色谱柱中（图10A）。然后，使用0.5 mol/L NaOH溶液对该色谱柱进行在位清洗（CIP）。清洗步骤每天重复一次，一共重复15天。可以看到进行清洗后得到的分辨率与初次进样时的分辨率无明显区别（图10B）。

图10A和10B: TSKgel SuperQ-SPW色谱柱的稳定性



色谱柱: TSKgel SuperQ-5PW
(10 μ m, 7.5 mm ID x 7.5 cm)

流动相: A: 50 mmol/L Tris-HCl, pH 8.6

B: 50 mmol/L Tris-HCl +
0.5 mmol/L 对比用氯化钠,
pH 8.6

梯度: A-B (60min)

流速: 1.0 mL/min

检测: UV (280 nm)

温度: 25 °C

进样量: 100 μ L

样品载量: 每种 1 mg

样品: 1. 卵清蛋白

2. 胰蛋白酶抑制剂

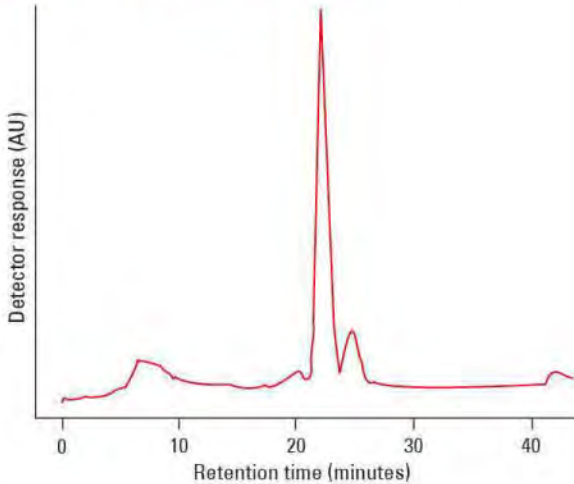
备注: A: CIP 之前

B: 15 次之后 (15 天)

寡核苷酸

图11所示为TSKgel SuperQ-5PW色谱柱在10 mmol/L NaOH流动相中使用NaCl梯度对16个碱基的吗啉寡核苷酸进行分析。

图11: 16个碱基的寡核苷酸的分析



色 谱 柱: TSKgel SuperQ-5PW (10 μ m, 7.5 mm ID x 7.5 cm)

流 动 相: A: 10 mmol/L NaOH

B: 含有 10 mmol/L NaOH 的 1 mol/L NaCl

梯 度: 0 min (0%B) 40 min (50%B)

41 min(100%B) 46 min (100%B)

流 速: 1 mL/min

检 测: UV (254 nm)

样 品: 16 个碱基的吗啉寡核苷酸,

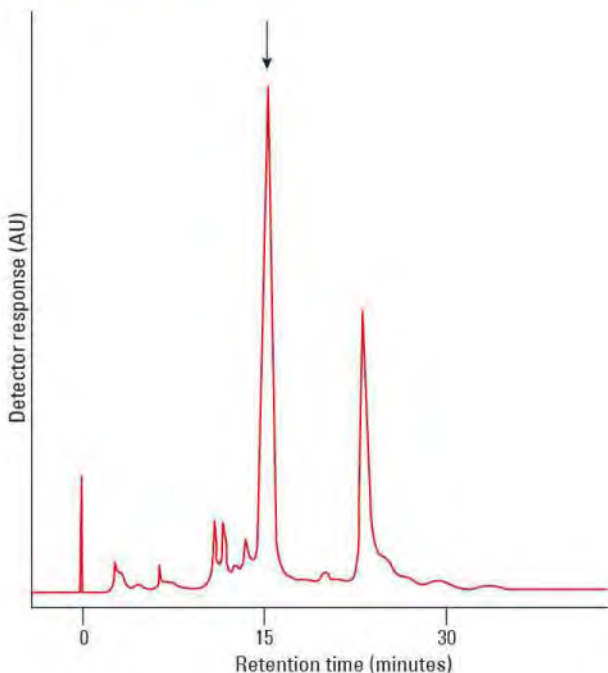
AAG AAG AAG AGG GG A G

样品载量: 0.5 O.D (光密度)

单克隆抗体

图12所示为TSKgel DEAE-5PW色谱柱对从小鼠腹水中获得的单克隆抗体 (IgG) 进行分离的谱图。IgG洗脱时间大约为15分钟, 转铁蛋白 (约11分钟) 和白蛋白 (约22分钟) 也从杂质中被很好地分离出来。

图12: 单克隆抗体的分离



色 谱 柱: TSKgel DEAE-5PW (10 μ m, 7.5 mm ID x 7.5 cm)

流 动 相: A: 20mmol/L Tris-HCl, pH 8.5

B: A + 0.5 mol/L NaCl

A→B 线性梯度 (60 min)

流 速: 1.0 mL/min

检 测: UV (280 nm)

温 度: 25 °C

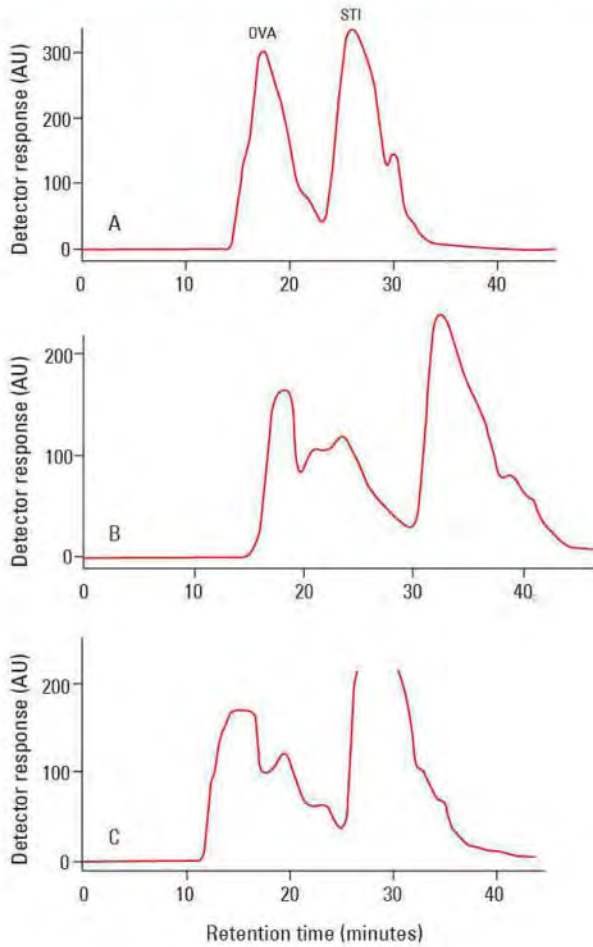
样 品: 抗人白蛋白 (IgG₁),

小鼠腹水稀释液 (168 μ g/40 μ L)

性能数据

图13中，在高载量的情况下对各种阴离子交换色谱柱的分离性能进行了比较。将20 mg蛋白质样品加入到1 mL柱体积时，仅TSKgel SuperQ-5PW色谱柱的图谱中的峰形“正常”。其它阴离子交换色谱柱因为过载均显示出多个杂峰。TSKgel SuperQ-5PW色谱柱（7.5 mm ID x 7.5 cm）提供了充分的保留性和分辨率。因此，如要使用分析柱对蛋白质进行半制备分离时，可使用TSKgel SuperQ-5PW。

图13: 高载量下各种阴离子交换色谱柱的分离性能比较



色谱柱: **A: TSKgel SuperQ-SPW (10 μ m, 5 mm ID x 5cm)**

B: 公司A, Q型色谱柱 (5 mm ID x 5 cm)

C: 公司A, 灌注Q型色谱柱 (6.4mm ID x 3cm)

所有柱体积均为1.0 mL

流动相: A: 50 mmol/L Tris-HCl缓冲液, pH 8.3

B: A+ 0.5 mol/L NaCl

A→B 线性梯度 (60 min)

流速: 0.8 mL/min

检测: UV (280 nm)

温度: 25 °C

进样量: 2 mL

样品: 卵清蛋白, 20 mg

胰蛋白酶抑制剂, 20 mg

TSKgel DEAE-NPR 和 DNA-NPR 阴离子交换色谱柱

此类色谱柱装填有粒径2.5 μm，聚甲基丙烯酸酯基质的无孔树脂（NPR）填料。高柱效加上低样品容量限制了此类色谱柱在快速分析和微量级制备分离中的应用。由于使用无孔填料，TSKgel DEAE-NPR和DNA-NPR色谱柱具有极高的蛋白回收率。

TSKgel DNA-NPR色谱柱填充有亲水聚合物颗粒，其表面采用弱阴离子交换基团改性。因为该色谱柱为无孔颗粒填料，相比具有相同官能度的多孔型色谱柱，其结合量较低。对该色谱柱的尺寸进行了优化，可实现DNA片段、PCR产物、或质粒的高效分离。

TSKgel DEAE-NPR色谱柱的亲水聚合物颗粒表面也采用弱阴离子交换基团改性。此类色谱柱用于蛋白以及聚核苷酸和寡核苷酸的高速分离和分析。TSKgel DEAE-NPR色谱柱特别适合对DNA消化物进行高分辨率分离。

属性及应用：

表7列出了TSKgel DNA-NPR和DEAE-NPR色谱柱的产品属性。

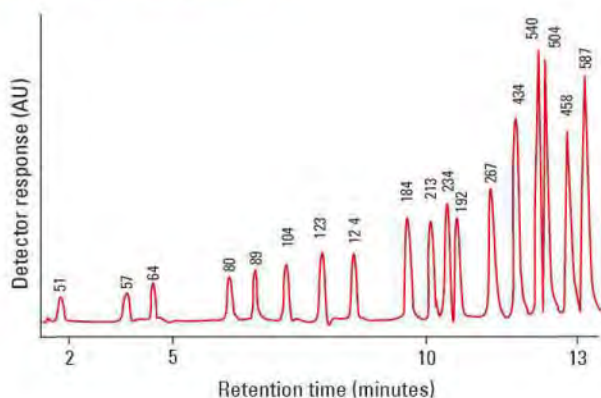
表7：产品属性与规格

| TSKgel色谱柱 | DEAE-NPR | DNA-NPR |
|-----------------|--|-------------------------------|
| 基质 | 聚甲基丙烯酸酯 | |
| 粒径（平均值） | 2.5 μm | |
| 孔径（平均值） | 无孔 | |
| 官能团 | CH ₂ CH ₂ N ⁺ (C ₂ H ₅) ₃ | 独有 |
| 抗衡离子 | Cl ⁻ | ClO ₄ ⁻ |
| pH值范围 | 2.0 - 12.0 | |
| 蛋白容量（mg BSA/mL） | 5 | |
| 离子交换容量 | >0.1 eq/L | |
| pKa | 11.2 | |

DNA消化物

TSKgel DEAE-NPR无孔色谱柱由于其粒径较小（2.5 μm）在对DNA消化物中多核苷酸的快速分离上表现出色。图14所示为pBR322质粒DNA消化物的分离谱图。

图14：DNA消化物的分析



色谱柱：TSKgel DEAE-NPR (25 μm, 4.6 mm ID x 3.5cm)

配有保护柱（4.6 mm ID x 0.5 cm）

流动相：A：0.02mol/L Tris-HCl, pH 9.0

B：流动相A + 1.0 mol/L NaCl

梯度：流动相B：48%→65%（15分钟内）

流速：1.5 mL/min

检测：UV（260 nm）

压力：14 MPa

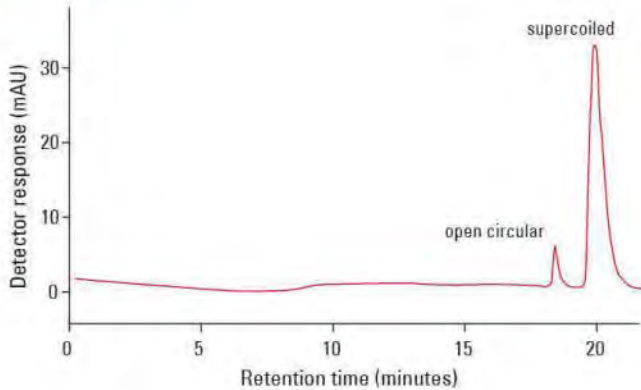
温度：40 °C

样品：HaeIII消化的pBR322 DNA（显示每个峰对应的碱基对数量）

质粒

基因治疗实验中质粒纯度的检测方法之一是用于测量开环环装质粒和超螺旋质粒的相对量。图15为TSKgel DNA-NPR型色谱柱对此类分析的应用示例。

图15: 质粒分析



色谱柱: TSKgel DNA-NPR (2.5 μ m, 4.6 mm ID x 7.5 cm)

流动相: A: 20 mmol/L Tris, pH 9.0

B: 20 mmol/L Tris + 1 mol/L NaCl, pH 9.0

梯度: B: 50%→65% (10个柱体积内)

流速: 1 mL/min

检测: UV (260 nm)

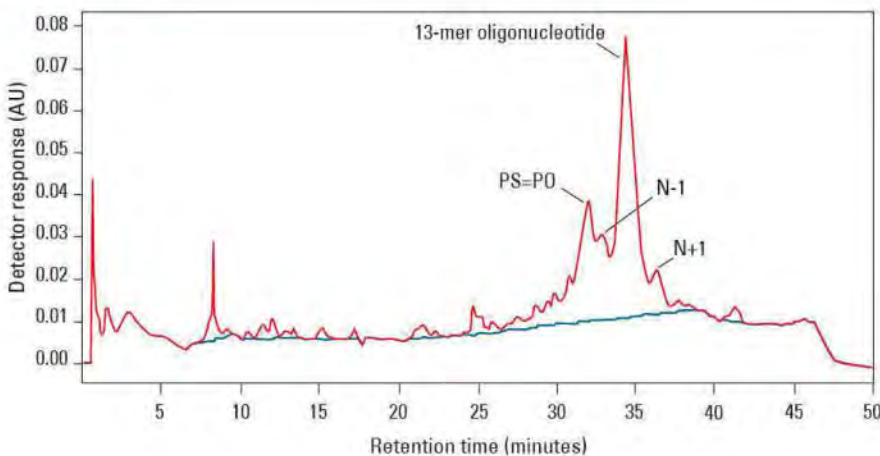
样品: PUC19 质粒

寡核苷酸

图16为TSKgel DNA-NPR色谱柱对脱保护的13个碱基的寡核苷酸粗样进行色谱分析。0-5分钟之间的早期洗脱峰显示了220-230 nm的最大 λ 值范围,这表示在合成中存在保护基。通过质谱法确认到N-1峰在主要物质峰之前被洗脱。PS=PO峰在N-1前洗脱。在结构上,N-1类似物完全硫醇化,但缺少一个核苷酸。结果,N-1化合物比PS=PO类似物更加硫醇化且更具疏水性。通过质谱法验证到背面峰是N+1杂质。

该方法的条件是为了优化所有杂质峰的分辨率和抑制任何聚集、二级结构形成和PS=PO转换而设计。具体来说,溴化钠用作洗脱剂,而二乙胺提供了缓冲量,并同时产生温和的离液作用。分步梯度的设计是为了在洗脱杂质类似物之前从色谱柱中除去所有的保护基。

图16: 质粒分析



色谱柱: TSKgel DNA-NPR

(2.5 μ m, 4.6 mm ID x 7.5 cm)

流动相: A: 10 mmol/L 溴化钠,
20 mmol/L NaOH,
pH 12, 1% 二乙胺

B: 1 mol/L 溴化钠,
20 mmol/L NaOH,
pH 12, 1% 二乙胺

梯度: 3.5 min (20%B)

12min (20%B)

45 min (55%B)

流速: 1 mL/min

温度: 60 °C (色谱柱),

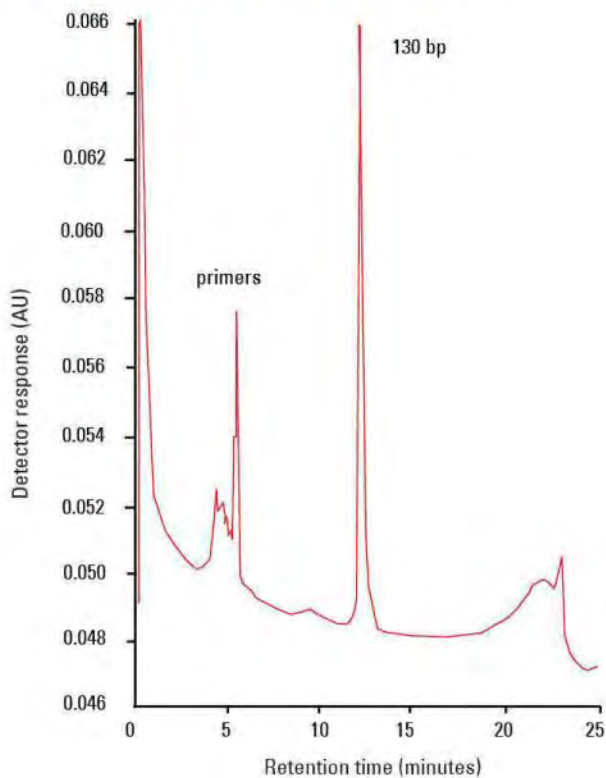
4 °C (样品室)

样品: 脱保护的13个碱基的寡核苷酸粗样

HIV-1 PCR扩增的130 bp靶位

图17所示为TSKgel DEAE-NPR色谱柱对HIV衍生的130bp靶位的检测。

图17: HIV-1 PCR扩增的130 bp靶位的检测



色谱柱: TSKgel DEAE-NPR (2.5 μ m, 4.6 mm ID x 3.5 cm)

流动相: A: 20 mmol/L Tris-HCl + 0.25 mol/L NaCl, pH 7.7

B: 20 mmol/L Tris-HCl + 1 mol/L NaCl, pH 7.7

流速: 1 mL/min

检测: UV (260 nm)

温度: 环境温度

样品: HIV-1 PCR 扩增的 130bp 靶位

样品载量: 20 μ L

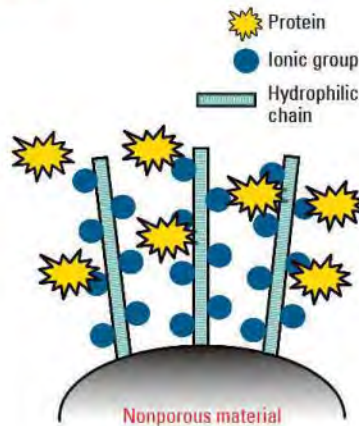
TSKgel Q-STAT 和 DNA-STAT 阴离子交换色谱柱

TSKgel Q-STAT和DNA-STAT色谱柱充填有亲水性无孔树脂填料，其表面由开放型网络的多层次阴离子交换基团组成（见图18）。创新的化学键合方法加上无孔色谱柱较大的粒径，使色谱柱可以承受相当大的负荷容量和较低的操作压力。

TSKgel Q-STAT色谱柱填料粒径为7 μm或10 μm。此类色谱柱的应用包括蛋白质、肽、低分子量核酸、单克隆抗体的聚集体和电荷同分异构体、聚乙二醇化蛋白质、寡糖DNA，和siRNA的分离。

TSKgel DNA-STAT色谱柱填料粒径为5 μm，用于分离DNA片段、核酸和核苷酸。

图18: TSKgel STAT色谱柱填料的结构示意图



属性及应用:

表8列出了TSKgel Q-STAT和DNA-STAT色谱柱的产品属性。此类色谱柱是蛋白质和DNA高分辨率分离的最佳选择。TSKgel Q-STAT和DNA-STAT色谱柱配有不锈钢（SS）外壳以及不锈钢接头和PEEK筛板。

表8: 产品属性与规格

| TSKgel色谱柱 | Q-STAT | DNA-STAT |
|------------------------|---------------------------|------------|
| 基质 | 亲水性聚合物 | |
| 粒径（平均值） | 7 μm和10 μm | 5 μm |
| 孔径（平均值） | 无孔 | |
| 官能团 | 季铵 | |
| 抗衡离子 | Cl ⁻ | |
| pH稳定性 | 3.0-10.0 | |
| 静态结合力 (mg BSA/g干凝胶) | 约25 (7 μm) 约20 (10 μm) | 约35 (5 μm) |
| 离子交换容量 | 270 μeq/g干凝胶 | |
| pKa | 10.5 | |

结合力

如表9所示，尽管填料的比表面积随着粒径的增大而减小，但是TSKgel Q-STAT和TSKgel DNA-STAT要比使用小颗粒填料的TSKgel NPR系列色谱柱具有更高的结合力。这是因为TSKgel STAT树脂的制备中使用的新型化学键合方式大大增加了其静态结合力，抵消了大颗粒填料的较低的比表面积。

表9: TSKgel STAT阴离子交换色谱柱的结合力

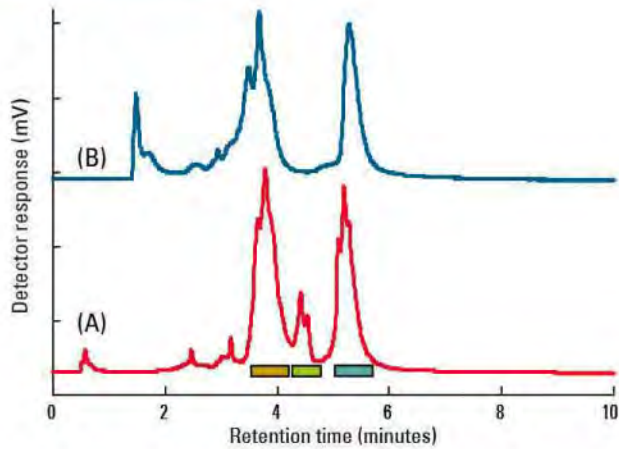
| 特性 | TSKgel NPR色谱柱 | TSKgel DNA-STAT | TSKgel Q-STAT | |
|------|-------------------|-----------------|-----------------|------------------|
| 粒径 | 2.5 μm | 5 μm | 7 μm | 10 μm |
| 结合力* | 9.1 | 38.6 | 27.0 | 20.9 |

* 静态结合力是指每毫克干凝胶中的牛血清蛋白。

免疫球蛋白G (IgG)

免疫球蛋白G (IgG) 是一种单体免疫球蛋白，由两条重链和两条轻链组成。每个IgG具有两个抗原结合位点。它是最丰富的免疫球蛋白，大致相等地分布在血液和组织液中，占人类血清免疫球蛋白的75%。使用胃蛋白酶消化IgG，并使用TSKgel Q-STAT色谱柱和其他市售品牌的无孔WAX-10色谱柱对其进行分离。如图19所示，三个峰从TSKgel Q-STAT色谱柱上被分离出来，并通过SDS-PAGE检测表明分别为F(ab')₂，pFc和完整IgG。而WAX-10色谱柱得到的峰和SDS-PAGE结果之间则没有相关性。

图19: IgG的分析



色谱柱: **A: TSKgel Q-STAT (7 μm , 4.6 mm ID x 10 cm)**

B: ProPac® WAX-10 (10 μm , 4 mm ID x 25 cm)

流动相: A: 20 mmol/L Tris-HCl, pH 8.5

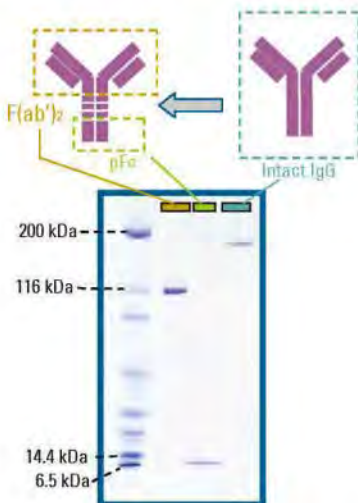
B: 含有 0.5 mol/L NaCl 的缓冲液 A

梯度: 0 min (0%B) 10 min (100%B)

流速: 1.0 mL/min

检测: UV (280 nm)

样品: 胃蛋白酶酶解 mAb

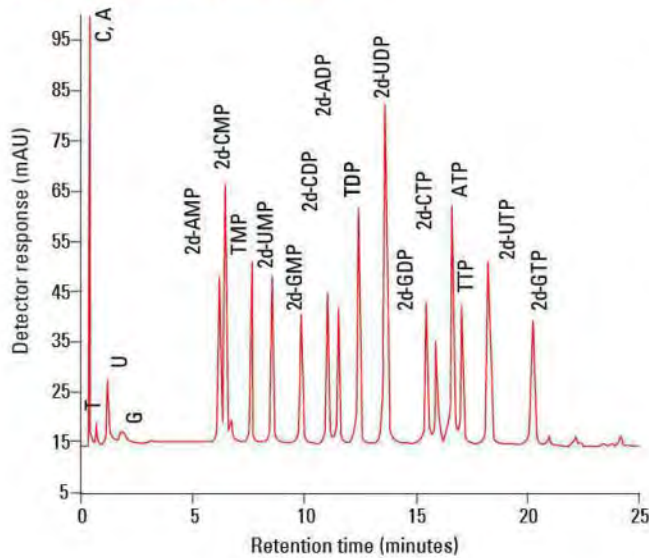


Non-reduced SDS - PAGE

DNA片段

使用TSKgel DNA-STAT色谱柱分离单核苷酸、双核苷酸和三核苷酸，可得到极佳的峰形。如图20所示，对称的窄峰证明这款新一代无孔填料的色谱柱不存在任何微小的空隙。TSKgel DNA-STA色谱柱是分析大型核酸片段的首选。

图20: 大型DNA片段的分离

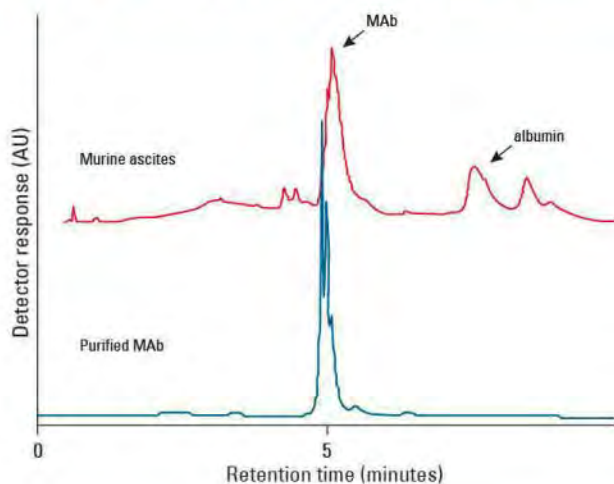


色谱柱: TSKgel DNA-STAT (5 μ m, 4.6 mm ID x 10 cm)
 流动相: A: 20 mmol/L Tris-HCl, pH 8.5
 B: 含有 0.75 mol/L NaCl 的缓冲液 A
 梯度: 0 min (50%B) 25 min (75%B)
 流速: 0.8 mL/min
 检测: UV (260 nm)

小鼠腹水液

图21所示为使用TSKgel Q-STAT色谱柱分离含有单克隆抗体和部分纯化的单克隆抗体的小鼠腹水液。顶部色谱图清晰地表明，抗体与白蛋白组分得到了较好的分离。底部色谱图显示出部分纯化的单克隆样品中存在多个峰。

图21: 对含有单克隆抗体和纯化的单克隆抗体的小鼠腹水液进行分离



色谱柱: TSKgel Q-STAT (7 μ m, 4.6 mm ID x 10 cm)
 流动相: A: 20mmol/L Tris-HCl 缓冲液, pH 8.5
 B: 含有 0.5 mol/L NaCl 的 20 mmol/L Tris-HCl 缓冲液, pH 8.5
 梯度: A→B 线性梯度 (10 min)
 流速: 1.0 mL/min
 检测: UV (280 nm)
 温度: 25 °C
 进样量: 10 μ L
 样品: 顶部: 含有 mAb 的小鼠腹水的 1/10 稀释物
 底部: 纯化的小鼠 mAb
 使用洗脱液 A 对样品进行 10 倍稀释。

TSKgel Sugar AXG, Sugar AXI 和 SAX 阴离子交换色谱柱

TSKgel Sugar AXG和Sugar AXI色谱柱是用于分析单糖、二糖以及糖醇的特制柱。两种色谱柱填料均为多孔球形聚合物颗粒，填料表面采用强阴离子交换基团改性。

TSKgel Sugar AXG色谱柱粒径为10 μm，用于梯度分离和分析单糖、二糖和糖醇，而TSKgel Sugar AXI色谱柱粒径为8 μm，用于等度分离碳水化合物，并可产生较低的恒定背压。

TSKgel SAX色谱柱填充有5 μm多孔球形聚合物颗粒，填料表面由强阴离子交换基团改性。此类色谱柱用于分离异构化糖、醇和低分子量的有机酸。

属性及应用：

表10列出了TSKgel Sugar AXG, Sugar AXI和SAX色谱柱的产品属性。

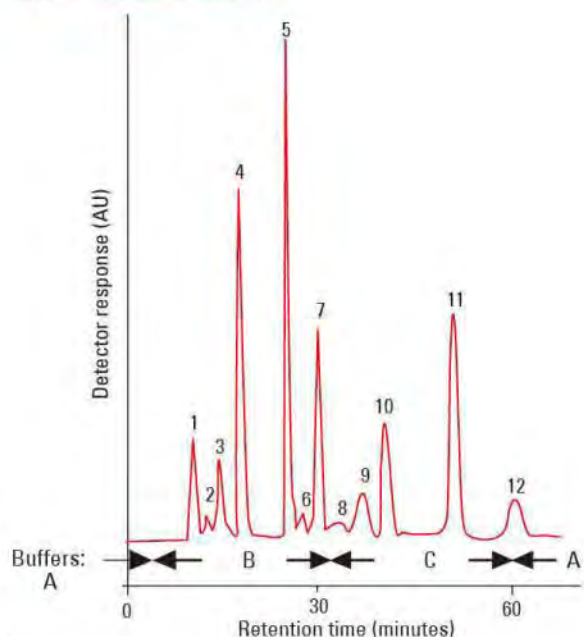
表10: 产品属性与规格

| TSKgel色谱柱 | Sugar AXG | Sugar AXI | SAX |
|-----------|-------------------------------|-------------------------------|-----------------|
| 基质 | PS-DVB聚合物 | | |
| 粒径 (平均值) | 5 μm | 8 μm | 5 μm |
| 孔径 (平均值) | | 6 nm | 12.5 nm |
| 官能团 | | 三甲氨基 | 三甲氨基 |
| 抗衡离子 | HBO ₃ ⁻ | HBO ₃ ⁻ | Cl ⁻ |
| pH值范围 | | 1.0-14.0 | |
| 离子交换容量 | >1.2 eq/L | >1.2 eq/L | >1.0 eq/L |
| pKa | | 12.5 | |

糖类混合物的分析

在碱性pH条件下，糖类和硼酸反应形成带负电荷的络合物后，会保留在TSKgel Sugar AX色谱柱上。图22为TSKgel Sugar AXG色谱柱对12种单糖和二糖的分离谱图。

图22: 糖类混合物的分离



色谱柱: TSKgel Sugar AXG (10 μm, 4.6 mm 10 x 15 cm)

流动相: 分步梯度: 6分钟缓冲液 A, 0.6 mol/L 硼酸, pH 7.7;

27分钟缓冲液 B, 0.7 mol/L 硼酸, pH 7.25;

30分钟缓冲液 C, 0.7 mol/L 硼酸, pH 8.7

流速: 0.4 mL/min (色谱柱和色谱柱后试剂溶液)

检测: 荧光; Ex: 331 nm, Em: 383 nm

压力: 16kg/cm³

温度: 70 °C (色谱柱), 100 °C (p 色谱柱后反应器)

PC 试剂: 2.5% 2- 氨基乙酰胺溶液

样品: 二糖, 25 nm; 单糖, 50 nm;

1.纤维二糖 2.麦芽糖 3.乳糖 4.鼠李糖 5.来苏糖

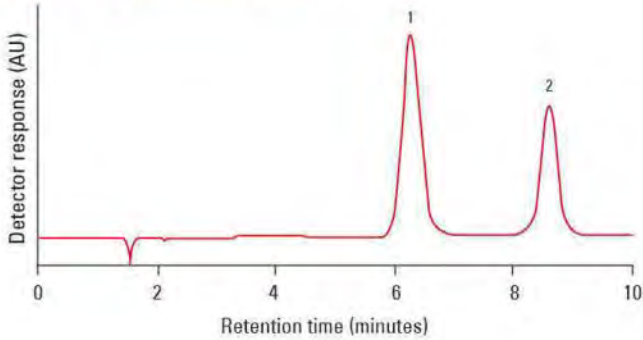
6.核糖 7.甘露糖 8.果糖 9.树胶醛糖 10.半乳糖

11.木糖 12.葡萄糖

糖醇

异麦芽酮糖醇是一种用作低热量和食品防腐剂的糖醇。它可以通过还原异麦芽酮糖获得，由两种异构体（6-O- α -D-吡喃葡萄糖基-D-山梨醇和1-O- α -D-吡喃葡萄糖基-D-甘露醇）构成。如图23所示，TSKgel Sugar AXG色谱柱可分离异构体。

图23: 异麦芽酮糖醇的分析



色谱柱: TSKgel Sugar AXG (10 μ m, 4.6 mmID x 15 cm)

流动相: 0.7 mol/L 硼酸盐缓冲剂, pH 8.6

流速: 0.8 mL/min

检测: RI

温度: 65 $^{\circ}$ C

进样量: 10 μ L

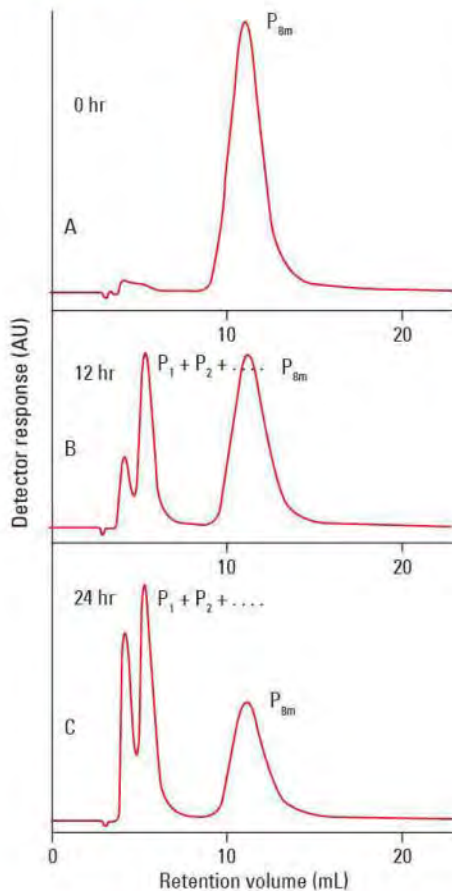
样品: 1. α -D-吡喃葡萄糖基-1,6-山梨醇 (GPS)

2. α -D-吡喃葡萄糖基-1,6-甘露醇 (GPM)

聚磷酸盐

TSKgel SAX色谱柱的稳定性使其在较宽的pH值范围内分离聚磷酸盐。图24所示为在流动相pH 10.2的条件下对环辛磷酸盐水解产物进行历时24小时的监测。

图24: 环辛磷酸盐水解产物的监测



色谱柱: TSKgel SAX (5 μ m, 4 mm ID x 25 cm)

流动相: 0.4 mol/L KCl, 0.1% EDTA, pH 10.2

样品: 环辛磷酸盐水解产物

A. 0 小时

B. 12 小时

C. 24 小时

TSKgel BioAssist S 阳离子交换色谱柱

TSKgel BioAssist S阳离子交换色谱柱专门为分离抗体等生物大分子而设计，其孔径较大，保证了较高的容量和分辨率以及较低的柱压降。不同于其它离子交换色谱柱，TSKgel BioAssist S色谱柱是通过聚合反应技术在填料颗粒中掺入等密度的离子交换基团，而不减小孔径。所以即使是大分子蛋白质，也能进入到TSKgel BioAssist S色谱柱的孔内部，这为纯化提供了更高的色谱效率和结合力。

TSKgel BioAssist S阳离子交换色谱柱的尺寸为4.6 mm ID x 5 cm，还有尺寸为10 mm ID x 10 cm的半制备柱。两种色谱柱外壳都是PEEK材质，以减少蛋白质的吸附。

属性及应用：

表11列出了TSKgel BioAssist S色谱柱的产品属性。

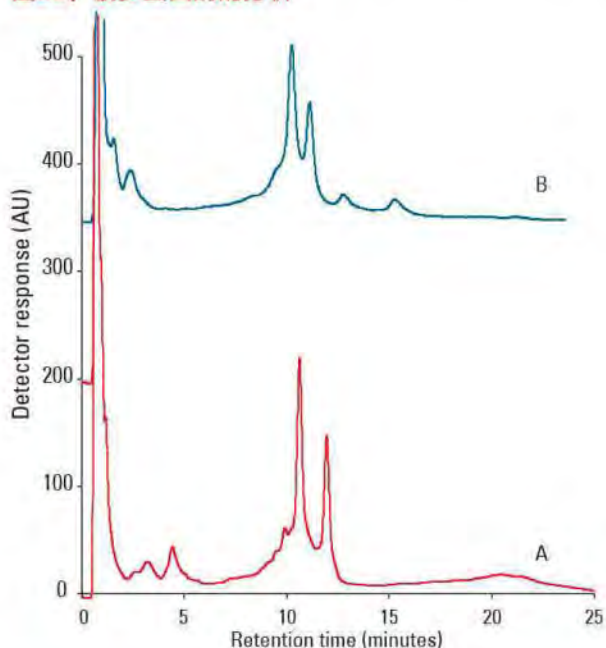
表11：产品属性与规格

| 属性 | 参数 |
|-----------|-----------------|
| 基质 | 聚甲基丙烯酸酯 |
| 粒径（平均值） | 7 μm和13 μm |
| 孔径（平均值） | 130 nm |
| 官能团 | 磺丙基 |
| 抗衡离子 | Na ⁺ |
| pH值范围 | 2.0-12.0 |
| 容量（γ-球蛋白） | 70 |
| 离子交换容量 | 0.1 eq/L |
| pKa | 2.4 |

菠萝蛋白酶

图25是使用TSKgel BioAssist S色谱柱和其他市售品牌色谱柱对菠萝蛋白酶的分析。菠萝蛋白酶是一种用作营养补充剂的蛋白水解酶。菠萝蛋白酶是一种碱性糖蛋白，分子量为33 kDa，等电点为9.55。

图25：菠萝蛋白酶的分析



色 谱 柱： **A: TSKgel BioAssist Q (10 μm, 4.6 mm ID x 5 cm)**

B: 其他市售品牌色谱柱S (5 mm ID x 5 cm)

流 动 相： 20分钟内 (TSKgel) 或者30分钟内 (其他品牌色谱柱S) 将20 mmol/L磷酸钠缓冲液中NaCl从0 mmol/L线性梯度增加到0.5 mmol/L

流 速： TSKgel: 0.8 mL/min; 其他品牌色谱柱S: 1.0 mL/min

检 测： UV (280 nm)

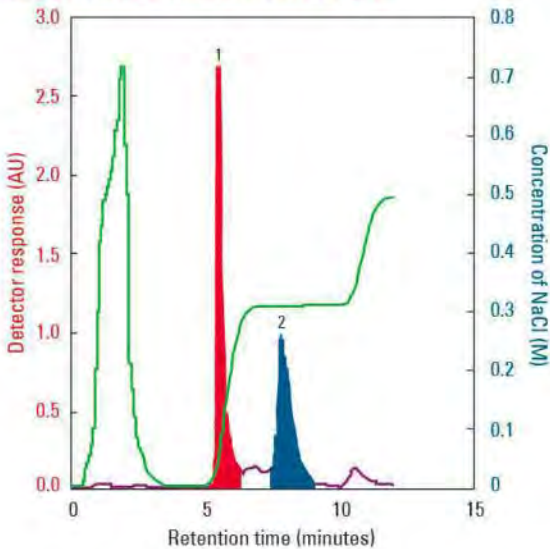
温 度： 25 °C

样 品： 菠萝蛋白酶粗品 (C4882, Sigma), 用量: 1mg/100 L

免疫球蛋白 M(IgM)

众所周知，相对于其他免疫球蛋白类型，IgM具有独特的有益特性。IgM是一种由五个IgG亚基构成的大分子蛋白质，这使其相对不稳定，难以得到纯化。不同于单链抗体，IgM因其空间位阻而不能使用Protein A（一种亲和物质，通常因其较高的结合力和优良的选择性而用于抗体的纯化）进行纯化。其他可替代的亲和方法比如采用嗜疏性吸附剂，但这些方法往往会导致结合力较低。

图26：阳离子交换色谱法分离IgM



东曹生命科学已经研发出一种可替代的纯化方法。基于离子交换色谱法使用TSKgel BioAssist S色谱柱对IgM进行分离。如图26所示，洗脱白蛋白之后，分布梯度使用0.3 mol/L NaCl可从其他污染物中实现IgM的基线分离。

色谱柱：**TSKgel BioAssist S (7 μm, 4.6 mm ID x 5 cm)**

流动相：20 mmol/L 磷酸钠缓冲液, pH 6.0

梯度：0 mol/L–0.3 mol/L NaCl (5 min)
0.3 mol/L–0.5 mol/L NaCl (10 min)

流速：1 mL/min

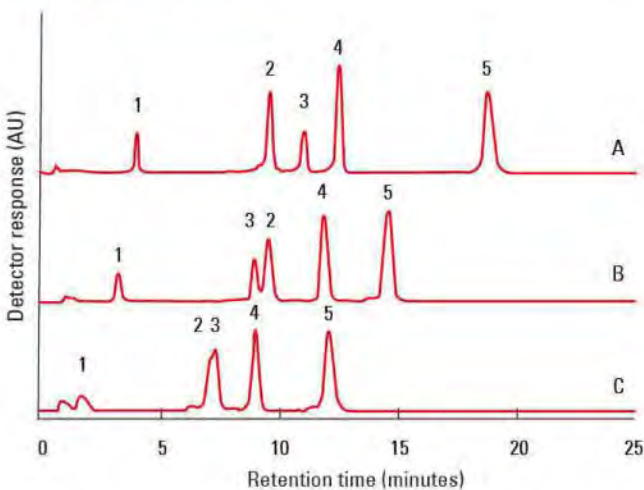
检测：UV (280 nm)

样品：小鼠腹水液 (含有500 μL的9.5 mg/mL IgM) ;
阴影峰分别代表白蛋白和IgM

蛋白质标准品

图27中比较了TSKgel BioAssist S色谱柱和其他常规离子交换色谱柱对标准蛋白的分离情况。显然，TSKgel BioAssist S色谱柱对蛋白样品有更好的保留和更高的分辨率。

图27：蛋白标准品的分析



色谱柱：**A: TSKgel BioAssist S (7 μm, 4.6 mm ID x 5 cm)**

B: 常规 S 型产品 C (5.0 mm ID x 5 cm)

C: 常规 S 型产品 D (4.6 mm ID x 5 cm)

流动相：A: 20 mmol/L 磷酸钠缓冲液, pH 6.5

B: 20 mmol/L 磷酸钠缓冲液 + 1.0 mol/L NaCl,
pH 6.5

梯度：32 min(A-B)

流速：0.8 mL/min

检测：UV (280 nm)

温度：10°C

进样量：20 μL

样品：1. 肌红蛋白, 1 g/L

2. α-胰凝乳蛋白酶原 A, 2 g/L

3. 核糖核酸酶 A, 4g/L

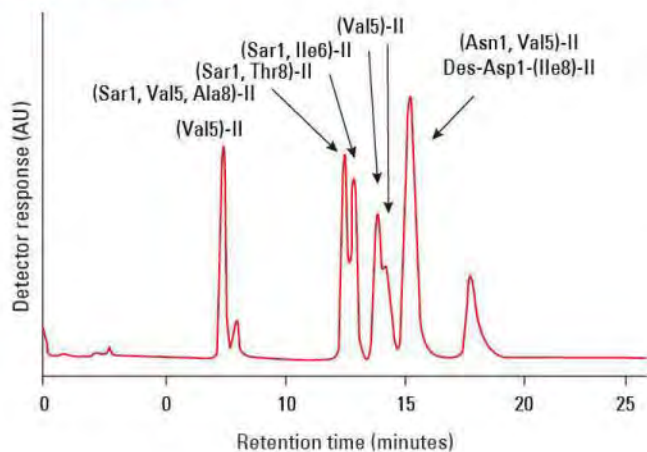
4. 细胞色素 C, 2g/L

5. 溶菌酶, 2 g/L

肽

图28所示为TSKgel BioAssist S色谱柱分析肽的色谱图。众所周知，由于和疏水性填料的次级相互作用，使用苯乙烯基质的色谱柱分析肽，很难实现精确的量化。然而，TSKgel BioAssist S色谱柱的填料具有亲水性，所以能够用来分析此类肽（例如血管紧张肽）而无需在流动相中添加有机溶剂。

图28: 肽的分析



色谱柱: TSKgel BioAssist S (7 μ m, 4.6 mm ID x 5 cm)

流动相: A: 20 mmol/L 乙酸钠缓冲液, pH 5.0

B: 20 mmol/L 乙酸钠缓冲液 + 1.0 mol/L NaCl,
pH 5.0

梯度: A→B 线性梯度 (20 min)

检测: UV (280 nm)

温度: 25°C

TSKgel SP-2SW、CM-2SW 和 CM-3SW 阳离子交换色谱柱

TSKgel SP-2SW、TSKgel CM-2SW和TSKgel CM-3SW色谱柱填料为硅胶基质，与磺丙基（SP）和羧甲基（CM）官能团衍生化分别形成强阳离子和弱阳离子交换色谱柱。这类色谱柱适用于分离和分析小分子蛋白质、肽和其它生物活性分子。TSKgel CM-2SW比TSKgel CM-3SW的孔径更小。

属性及应用：

表12中列出了TSKgel SP-2SW、TSKgel CM-2SW和TSKgel CM-3SW色谱柱的产品属性。此类色谱柱通常用来分析分子量较小的样品，例如，核苷酸、候选药物、儿茶酚胺、小肽或蛋白质。

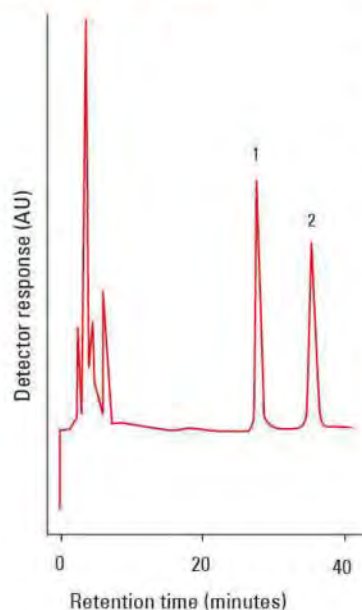
表12：产品属性与规格

| TSKgel色谱柱 | SP-2SW | CM-2SW | CM-3SW |
|--------------|-----------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| 基质 | 硅胶 | | |
| 粒径（平均值） | 5 μm | 5 μm | 10 μm |
| 孔径（平均值） | 12.5 nm | 12.5 nm | 25 nm |
| 官能团 | 磺丙基 | -CH ₂ COO ⁻ | -CH ₂ COO ⁻ |
| 抗衡离子 | Na ⁺ | | |
| pH值范围 | 2.0-7.5 | | |
| 容量（mg Hb/mL） | 未测 | 110 | ND |
| 离子交换容量 | 0.3 eq/L | >0.3 eq/L | >0.3 eq/L |
| pKa | 2.2 | 4.2 | 4.2 |

除草剂

图29所示为TSKgel SP-2SW色谱柱对尿液中的除草剂——百草枯和敌草快的快速分析。

图29：快速分析除草剂——百草枯和敌草快

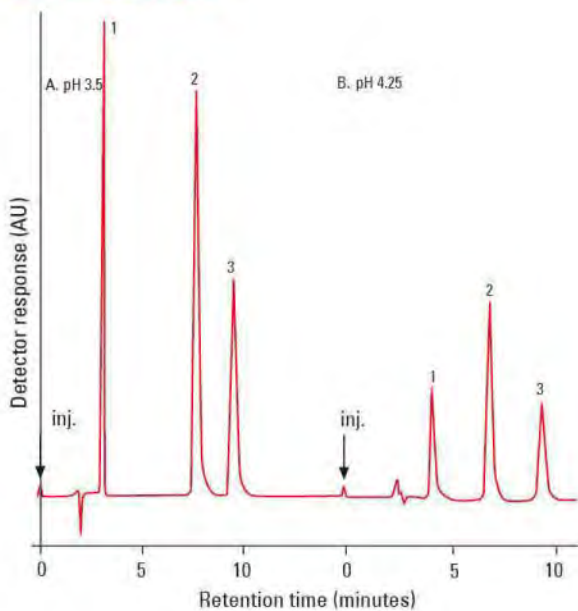


色谱柱：TSKgel SP-2SW (5 μm, 4.6 mm ID x 25 cm)
 流动相：0.2 mol/L 磷酸盐 + 20%CH₃CN, pH 3.0
 流速：1.0 mL/min
 检测：UV (290 nm)
 样品：1. 百草枯 5 g/mL
 2. 敌草快 5 g/mL

核苷

硅胶基质的阳离子交换色谱柱通常用于分离低分子量化合物，例如药品、核苷酸和小肽。图30所示为TSKgel SP-2SW 色谱柱对核苷的分离谱图。

图30: 核苷的分离



色谱柱: **TSKgel SP-2SW (5 μ m, 4.6 mm ID x 25cm)**
流动相: A: 0.1 mol/L 柠檬酸钠 - 磷酸缓冲液, pH 3.5
 B: 0.1 mol/L 柠檬酸钠 - 乙酸缓冲液, pH 4.25
流速: 0.75 mL/min
检测: UV (260 nm)
温度: 23 °C
样品: 核苷标准品: 1. 鸟苷 2. 胞苷 3. 腺苷

TSKgel SP-5PW 和 CM-5PW 阳离子交换色谱柱

此类色谱柱采用聚甲基丙烯酸酯基质的树脂填料 (TSKgel 5PW)，粒径为10 μm，孔径为100 nm。

TSKgel SP-5PW是一款强阳离子交换色谱柱，填料表面键合了磺丙基 (SP) 官能团。TSKgel CM-5PW为弱阳离子交换色谱柱，填料表面键合有羧甲基 (CM) 官能团。

TSKgel CM-5PW色谱柱用于蛋白质、肽和其它生物活性分子的分离和分析。柱尺寸为7.5 mm ID x 7.5 cm (不锈钢外壳) 和20 mm ID x 15 cm (玻璃外壳)。

TSKgel SP-5PW色谱柱也可用于蛋白质、肽和其它生物活性分子的分离和分析。此类色谱柱的内径从2 mm到55 mm不等，柱身材质为玻璃或不锈钢材质。

属性及应用:

表13列出了TSKgel SP-5PW和CM-5PW色谱柱的产品属性。此类色谱柱是分析生物活性分子的最佳选择。

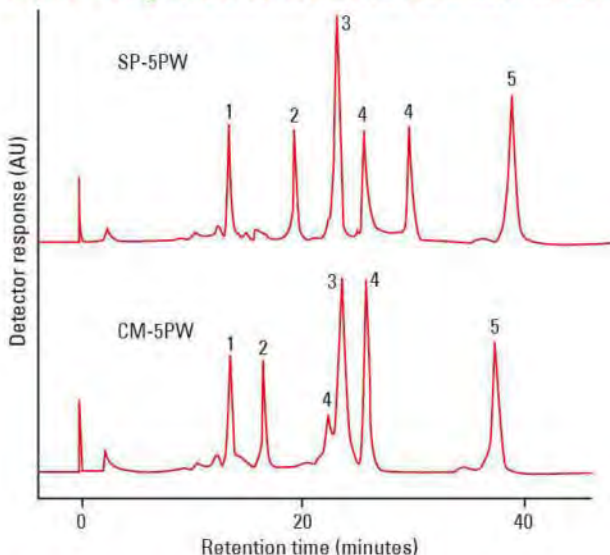
表13: 产品属性与规格

| TSKgel色谱柱 | DEAE-NPR | DNA-NPR |
|--------------|---------------------------------|----------------------------|
| 基质 | 聚甲基丙烯酸酯 | |
| 粒径 (平均值) | 10 μm, 13 μm 和 20 μm | 10 μm 和 13 μm |
| 孔径 (平均值) | 100 nm | |
| 官能团 | $-(\text{CH}_2)_3\text{SO}_3^-$ | $-\text{CH}_2\text{COO}^-$ |
| 抗衡离子 | Na^+ | |
| pH值范围 | 2.0-12.0 | |
| 容量 (mgHb/mL) | 40 | 45 |
| 离子交换容量 | >0.1 eq/L | |
| pKa | 2.3 | 4.2 |

选择性差异

强阳离子交换色谱柱 (TSKgel SP-5PW) 和弱阳离子交换色谱柱 (TSKgel CM-5PW) 分离球状蛋白的谱图，以及两款色谱柱之间的分离选择性差异如图31所示。

图31: TSKgel强阳离子和弱阳离子交换色谱柱的选择性



色谱柱: TSKgel SP-5PW, TSKgel CM-5PW (10 μm, 7.5 mm ID x 7.5 cm)

流动相: 60分钟内0.02 mol/L磷酸盐中NaCl从0线性梯度增加到0.5 mol/L, pH 7.0

流速: 1.0 mL/min

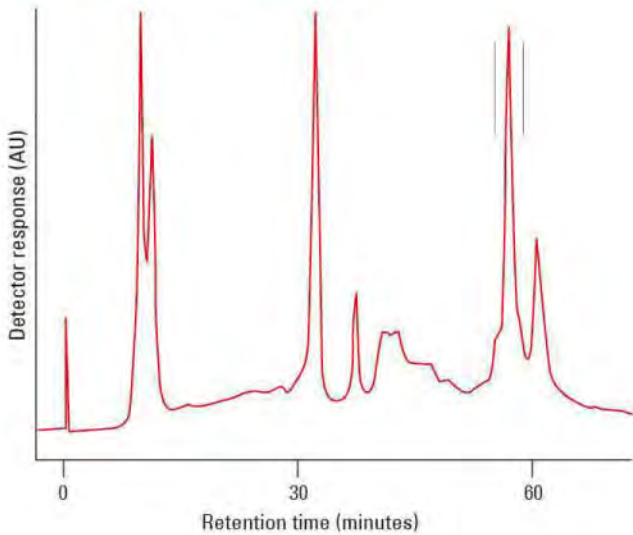
检测: UV (280 nm)

样品: 1. 胰蛋白酶原
2. 核糖核酸酶A
3. α-胰凝乳蛋白酶原
4. 细胞色素C
5. 溶菌酶

脂肪氧合酶

图32所示为21.5 mm内径的TSKgel SP-5PW色谱柱对200 mg脂肪氧合酶粗样进行纯化。只有当色谱柱粒径从10 μm (7.5 mm ID) 变更为13 μm (21.5 mm ID) 或20 μm (55 mm ID) 时, 才能简化扩大试验。

图32: 脂肪氧合酶的半制备纯化



色 谱 柱: **TSKgel SP-5PW (13 μm, 21.5 mm ID x 15 cm)**

流 动 相: 120 分钟内 0.02 mol/L 乙酸盐中 Na₂SO₄ 从 0 mol/L 线性梯度增加到 0.5 mol/L, pH 4.5

流 速: 4.0 mL/min

检 测: UV (280 nm)

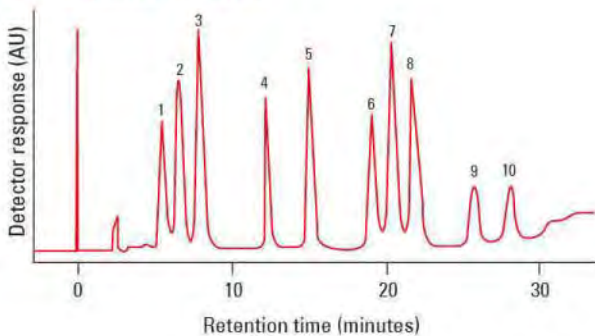
回 收: 两条垂直线之间收集的脂肪氧合酶的活性为 84%

样 品: 脂肪氧合酶粗样, 200 mg

肽

阳离子交换色谱是分析和分离肽的一种最常见的HPLC方法。图33所示为使用TSKgel SP-5PW对肽进行有效的分离。

图33: 肽混合物的分离



色 谱 柱: **TSKgel SP-5PW (10 μm, 7.5 mm ID x 7.5 cm)**

流 动 相: 30 分钟内 30% 乙腈中盐酸盐从 0.02 mol/L 线性梯度增加到 0.5 mol/L, pH 3.0

流 速: 1.0 mL/min

检 测: UV (220 nm)

进 样 量: 50 μL

样 品: 以下每种 2 μg:

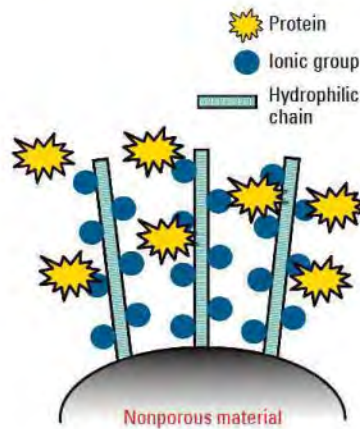
1. 催产素
2. 甲硫氨酸脑啡肽
3. TRH
4. α-MSH
5. LH-RH (1 μg)
6. 神经降压素
7. α-MSH
8. 血管紧张素 II
9. P 物质
10. P-内啡肽

TSKgel SP-STAT 和 CM-STAT 阳离子交换色谱柱

TSKgel CM-STAT和SP-STAT色谱柱的填料是亲水性无孔树脂填料，粒径为7 μm和10 μm，颗粒表面由开放型网络的多层次弱阳离子交换基团组成（见图34）。创新的化学键合方法结合较大的填料粒径，使色谱柱可以承受相当大的负荷容量，较低的操作压力，可实现快速分析。

TSKgel CM-STAT和SP-STAT色谱柱的应用范围包括蛋白质、蛋白质聚集体、单克隆抗体的电荷异构体、PEG化蛋白质和肽消化物的分离。

图34: TSKgel STAT色谱柱填料的结构示意图



属性及应用:

表14列出了TSKgel CM-STAT和SP-STAT色谱柱的产品属性。此类色谱柱是蛋白质高通量分析的最佳选择。无孔 TSKgel CM-STAT和SP-STAT色谱柱配有不锈钢（SS）外壳以及SS接头和PEEK筛板。

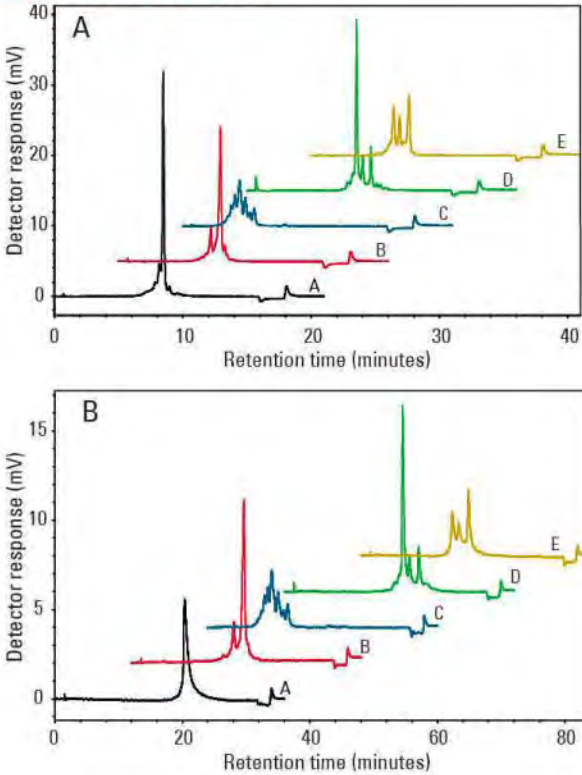
表14: 产品属性与规格

| TSKgel色谱柱 | TSKgel CM-STAT | TSKgel SP-STAT |
|------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 粒径（平均值） | 7 μm和10 μm | |
| 孔径（平均值） | 无孔 | |
| 官能团 | 羧甲基 | 磺丙基 |
| 抗衡离子 | Na ⁺ | |
| pH值范围 | 3.0-10.0 | |
| 静态结合力 (mg 溶菌酶/g干凝胶) | 约20 (7 μm) 约15 (10 μm) | 约15 (7 μm) 约10 (10 μm) |
| 离子交换容量 | 100 μeq/g干凝胶 | 23 μeq/g干凝胶 |
| pKa | 4.9 | 2.6 |

抗体分析

将TSKgel CM-STAT色谱柱和其他市售品牌的WCX-10色谱柱分离五种抗体得到的谱图进行了对比，TSKgel CM-STAT色谱柱只需一半的分析时间即可获得相似或更高分辨率的色谱图。

图35A和35B：抗体分析

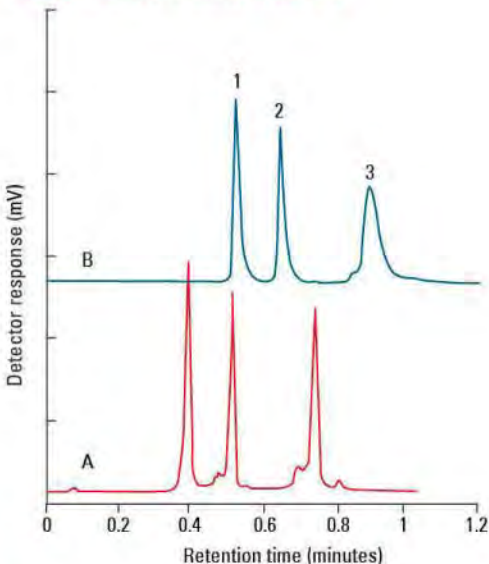


色谱柱: **A: TSKgel CM-STAT (7 μ m, 4.6 mm ID x 10 cm)**
B: ProPac WCX-10 (10 μ m, 4 mm ID x 25 cm)
 流动相: **A: 20 mmol/L MES (脂肪酸甲酯磺酸盐), pH 6.0**
B: 20 mmol/L MES + 0.5 mol/L NaCl, pH 6.0
 梯度: **A: 0 min (10%B) 15 min (30%B) 15 min (100%B)**
17 min (0%B) 17 min (10%B) 21min (10%B)
B: 0 min(10%B) 30 min(30%B) 30 min(100%B)
32 min(100%B) 32 min(10%B) 36 min(10%B)
 流速: **A: 1.0 mL/min B: 2.0ml/min**
 检测: UV (280 nm)
 温度: 25 °C
 进样量: 20 μ L
 样品: 单克隆抗体 (mAb A-E)

蛋白标准品

图36是使用TSKgel SP-STAT短柱快速分离蛋白标准品的谱图。与其他市售品牌的monolithic SP色谱柱相比，TSKgel SP-STAT色谱柱具有更优异的分辨率，更佳的峰形和更短的分析时间 (<60秒)。

图36：蛋白标准品的快速分离

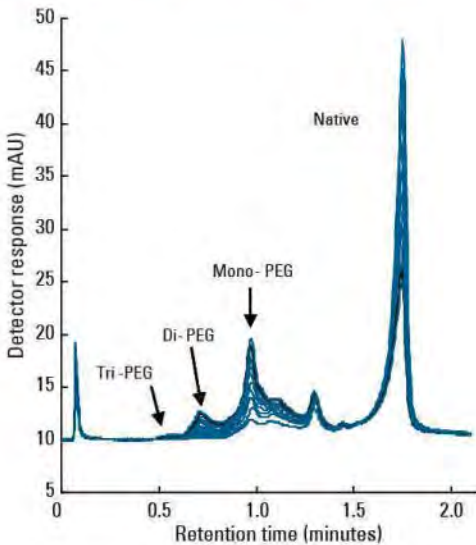


色谱柱: **A: TSKgel SP-STAT (10 μ m, 3.0 mm ID x 3.5 cm)**
B: ProSwift[®] SCX-1S Monolith, 4.6 mm ID x 5 cm
 流动相: **A: 20 mmol/L 乙酸钠, pH 5.0**
B: 色谱柱 A 使用含有 1.0 mol/L NaCl 的流动相 A,
pH 5.0, 色谱柱 B 使用含有 1.5 mol/L NaCl 的
流动相 A, pH 5.0
 梯度: **0 min (0%B) 1 min (100%B)**
 流速: **A: 2.0 mL/min**
B: 4.73 mL/min
 检测: UV (280 nm)
 样品: **1. α -胰凝乳蛋白酶原 A**
2. 细胞色素 C
3. 溶菌酶

反应产物监测

在磷酸盐缓冲液 (pH6.5) 中, β -乳球蛋白样品 (5 mg/mL) 与聚乙二醇 (5 kDa) 发生反应。使用 TSKgel SP-STAT 色谱柱 (3.5 cm) 每隔 5 分钟检测形成的聚乙二醇化蛋白质反应产物。如图 37 所示, 单聚乙二醇化、二聚乙二醇化和三聚乙二醇化 β -乳球蛋白的峰面积随着反应时间的推移而增加, 而未反应的 β -乳球蛋白的面积则减少。

图 37: 对反应产物的监测



色谱柱: **A: TSKgel SP-STAT (10 μ m, 3mm ID x 3.5 cm)**

流动相: A: 20 mmol/L 乙酸钠缓冲液, pH 5.0

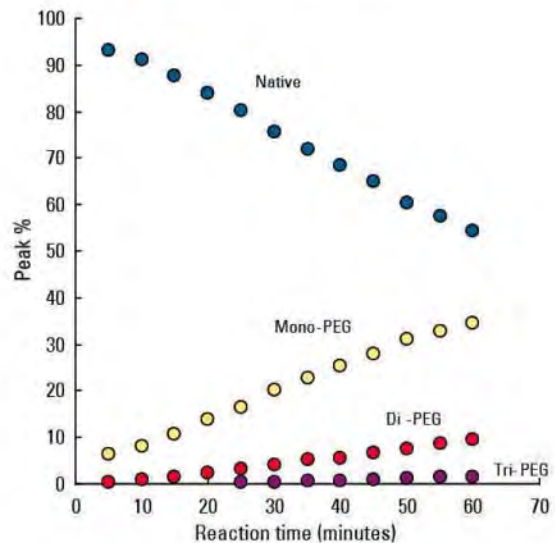
B: 流动相 A + 1.0 mol/L NaCl, pH 5.0

梯度: 0 min (0%B) 2 min (100%B)

流速: 2.0 mL/min

检测: UV (280 nm)

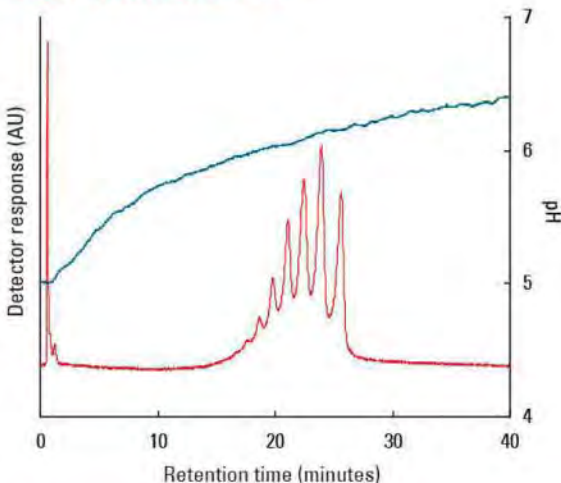
样品: 聚乙二醇化 β -乳球蛋白



电荷异构体

如图 38 所示, TSKgel CM-STAT 色谱柱也可通过 pH 梯度分离纯化后的单克隆抗体电荷异构体。

图 38: 电荷异构体的分离



色谱柱: **TSKgel CM-STAT (7 μ m, 4.6mm ID x 10cm)**

B: ProSwift[®] SCX-1S Monolith, 4.6 mm ID x 5 cm

流动相: A: 50 mmol/L 乙酸钠缓冲液, pH 5.0

B: 30 mmol/L 乙酸钠缓冲液 (pH 未作调整)

使用流动相 A 平衡色谱柱, 进样, 然后逐步洗脱样品直到使用 100% 的流动相 B

流速: 1.0 mL/min

检测: UV (280 nm)

温度: 25 °C

进样量: 10 μ L

样品: 纯化的 mAb

样品浓度: 1 g/L

TSKgel SCX 和 OApak-A 阳离子交换色谱柱

TSKgel SCX色谱柱填充有多孔聚苯乙烯二乙烯基苯聚合物颗粒，填料表面键合有Na⁺作为抗衡离子的强阳离子交换基团。该色谱柱用于分离分析有机酸、糖类和醇。TSKgel SCX色谱柱也有H⁺型，用于分离异构化糖、醇、和小分子的有机酸。

TSKgel OApak-A色谱柱填充有多孔亲水聚合物颗粒，填料表面键合有弱阳离子交换基团。该色谱柱是利用了离子排斥机理来分离和分析有机酸。应用范围包括果汁、葡萄酒、啤酒、咖啡和盐溶液中有机的分析。

TSKgel OApak-A色谱柱需要与带有强阳离子交换基团的TSKgel OApak-P保护柱配合使用，用于在0.75 mmol/L H₂SO₄的等度流动相条件下去除解离的强酸。

属性及应用：

表15列出了TSKgel SCX和TSKgel OApak-A色谱柱的产品属性和规格。

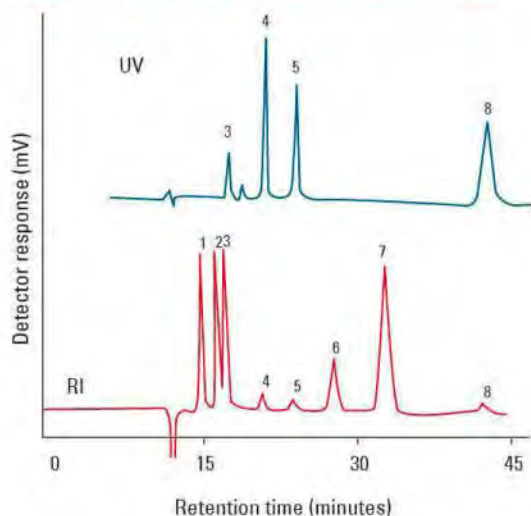
表15：产品属性与规格

| TSKgel色谱柱 | SCX | OApak-A |
|-----------|---------------------------------|----------------|
| 基质 | PS-DVB | 亲水聚合物 |
| 粒径（平均值） | 5 μm | |
| 孔径（平均值） | 6 nm | 未测 |
| 官能团 | 磺酸 | 独有的 |
| 抗衡离子 | H ⁺ 和Na ⁺ | H ⁺ |
| pH值范围 | 2.0-12.0 | |
| 离子交换容量 | >1.5 eq/L | |

糖类、有机酸和醇的混合物

离子排斥色谱法可作为一种有效分离醇的方法。图39所示为在两根串联的TSKgel SCX (H⁺)色谱柱上分离糖类，有机酸和醇的应用实例。

图39：糖类、有机酸、和醇的混合物的分离



色谱柱：TSKgel SCX (H⁺) (5 μm, 7.8 mmID x 30 cm x 2)

流动相：0.05 mol/L HClO₄

流速：0.8 mL/min

检测：UV (210 nm, RI)

样品：1. 麦芽糖

2. 葡萄糖

3. 果糖

4. 乳酸

5. 乙酸

6. 甲醇

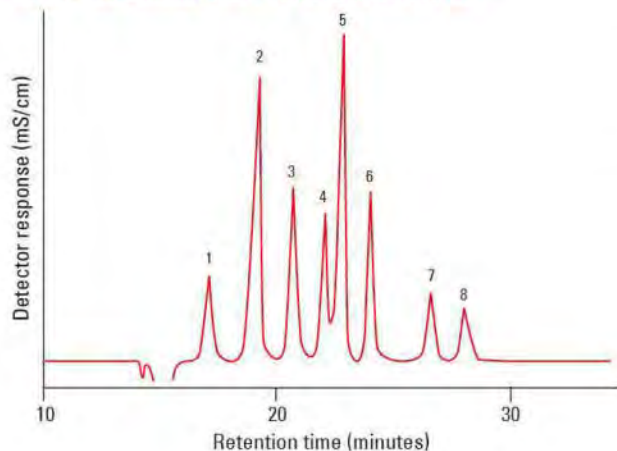
7. 乙醇

8. 丁酸

葡萄酒和啤酒中的有机酸

图40所示为使用TSKgel OApak-A色谱柱对葡萄酒和啤酒中常见的有机酸进行分离。

图40: 啤酒和葡萄酒中常见有机酸的分离



色谱柱: TSKgel OApak-A (5 μ m, 7.8 mm ID x 30 cm)
TSKgel OApak-P guard (6 mm ID x 4 cm)

流动相: 0.75 mmol/L 硫酸

流速: 0.8 mL/min

检测: 电导检测

温度: 60 $^{\circ}$ C

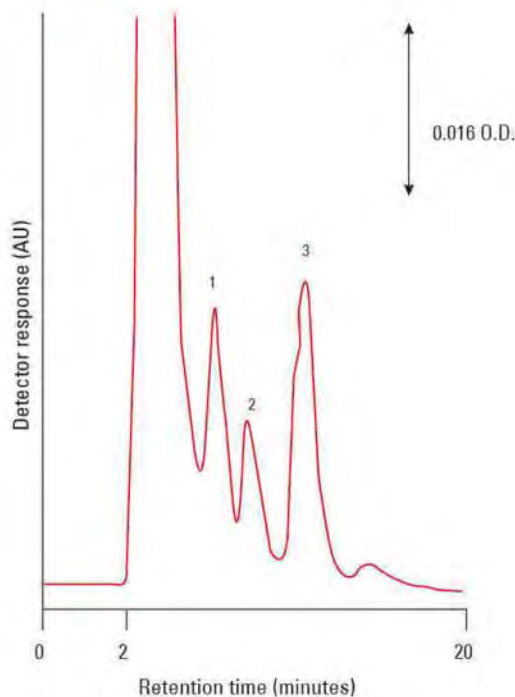
进样量: 20 μ L

样品: 1. 丙酮酸 (50 ppm)
2. 酒石酸 (500 ppm)
3. 柠檬酸 (500 ppm)
4. 苹果酸 (500 ppm)
5. 焦谷氨酸 (500 ppm)
6. 乳酸 (1,000 ppm)
7. 乙酸 (2,000 ppm)
8. 琥珀酸 (1,000 ppm)

色谱柱稳定性

图41显示了TSKgel SCX色谱柱的稳定性, 其中使用1 mol/L NaOH作为流动相来分离有机酸。

图41: 酸的分离



色谱柱: TSKgel SCX 5 μ m (8 mm ID x 10 cm)

流动相: 1 mol/L NaOH

流速: 0.8 mL/min

检测: UV (210 nm)

样品: 1. 甲酸 (50 ppm)
2. 乙酸 (50 ppm)
3. 丙酸 (100 ppm)

TSKgel SP-NPR 阳离子交换色谱柱

TSKgel SP-NPR色谱柱填充有无孔（NPR）亲水性聚合物填料，填料表面键合了强阳离子交换基团。无孔填料色谱柱由于其粒径较小（2.5 μm），可实现快速分离。高柱效加上低样品容量限制了此类色谱柱在快速分析和微量级制备分离中的应用。

TSKgel SP-NPR色谱柱用于蛋白质和肽的分离分析。该色谱柱尤其适合分析腺相关病毒和其他生物大分子。由于使用无孔填料，TSKgel SP-NPR色谱柱的蛋白回收率一般较高。

属性及应用：

表16列出了TSKgel SP-NPR色谱柱的产品属性和规格。

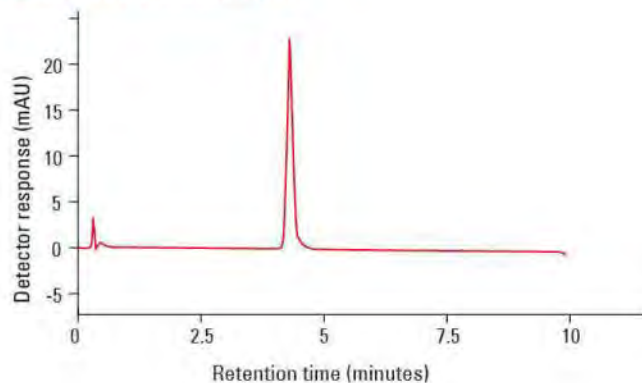
表16：产品属性与规格

| 属性 | 参数 |
|--------------|-----------------|
| 基质 | 羟基化的甲基丙烯酸酯聚合物 |
| 粒径（平均值） | 2.5 μm |
| 孔径（平均值） | 无孔 |
| 官能团 | 磺丙基 |
| 抗衡离子 | Na ⁺ |
| pH值范围 | 2.0-12.0 |
| 容量（mg Hb/mL） | 5 |
| 离子交换容量 | >0.1 eq/L |
| pKa | 2.3 |

纯化的腺相关病毒

图42为使用TSKgel SP-NPR色谱柱对一种常用于基因治疗研究的腺相关病毒（AAV）进行纯度检测。这种HPLC法耗时仅10分钟，取代了现有耗时两天的检测方式。

图42：纯化的AAV的分析



色谱柱：**TSKgel SP-NPR (2.5 μm, 4.6 mm ID x 3.5 cm)**

流动相：A. 50 mmol/L HEPES, 1 mmol/L EDTA, 5 mmol/L MgCl, pH 7.5

B. 50 mmol/L HEPES, 1 mmol/L EDTA, 5 mmol/L MgCl, pH 7.5, 和0.5mol/L NaCl;
10个柱体积中B从20%线性梯度增加到100%

梯度：0 min (0%B) 2min (100%B)

流速：1 mL/min

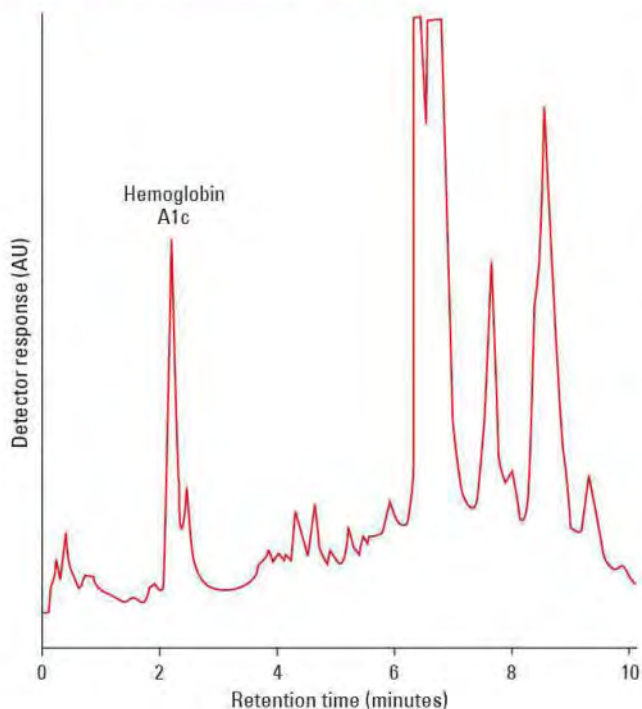
检测：UV (280 nm)

样品：纯化的腺相关病毒

糖化血红蛋白

通过分析血液中糖化血红蛋白的水平可监测糖尿病患者的血糖水平。图43显示了在线性pH梯度下，TSKgel SP-NPR色谱柱可在10分钟内将糖化血红蛋白从其他人血红蛋白变体中分离出来。

图43: 糖化血红蛋白的pH梯度分析



色谱柱: **TSKgel SP-NPR (2.5 μ m, 4.6 mm ID x 3.5 cm)**
流动相: A: 0.02 mol/L MES + 0.02 mol/L HEPES-NaOH, pH 6.0
 B: 0.02 mol/L MES + 0.02 mol/L HEPES-NaOH, pH 8.0
梯度: 10 分钟内缓冲液 B 从 32% 线性梯度增加到 75% (pH 值从 6.66 增加到 pH 7.43)
流速: 1.5 mL/min
检测: VIS (415 nm)
样品: 血红蛋白标准品

产品一览表

TSKgel 阴离子交换色谱柱

| 货号 | 产品描述 | 基质 | 柱身材质 | 内径 (mm) | 长度 (cm) |
|-------|--|-----|------|---------|---------|
| 19685 | TSKgel BioAssist Q, 10 μ m, 400 nm | 聚合物 | PEEK | 4.6 | 5 |
| 21410 | TSKgel BioAssist Q, 13 μ m, 400 nm | 聚合物 | PEEK | 10 | 10 |
| 18761 | TSKgel DEAE-2SW, 5 μ m, 12.5 nm | 硅胶 | 不锈钢 | 2 | 25 |
| 07168 | TSKgel DEAE-2SW, 5 μ m, 12.5 nm | 硅胶 | 不锈钢 | 4.6 | 25 |
| 42154 | 保护柱 (用于内径2 mm的TSKgel DEAE-2SW 分析柱, 3 μ k, 5 μ m) | 硅胶 | 不锈钢 | 2 | 1 |
| 19308 | 保护柱套 (用于2 mm ID的保护柱) | | 不锈钢 | 2 | 1 |
| 07163 | TSKgel DEAE-3SW, 10 μ m, 25 nm | 硅胶 | 不锈钢 | 7.5 | 7.5 |
| 13061 | TSKgel DEAE-5PW 玻璃, 10 μ m, 100 nm | 聚合物 | 玻璃 | 5 | 5 |
| 08802 | TSKgel DEAE-5PW 玻璃, 10 μ m, 100 nm | 聚合物 | 玻璃 | 8 | 7.5 |
| 14016 | TSKgel DEAE-5PW 玻璃, 13 μ m, 100 nm | 聚合物 | 玻璃 | 20 | 15 |
| 18757 | TSKgel DEAE-5PW, 10 μ m, 100 nm | 聚合物 | 不锈钢 | 2 | 7.5 |
| 07164 | TSKgel DEAE-5PW, 10 μ m, 100 nm | 聚合物 | 不锈钢 | 7.5 | 7.5 |
| 07574 | TSKgel DEAE-5PW, 13 μ m, 100 nm | 聚合物 | 不锈钢 | 21.5 | 15 |
| 07930 | TSKgel DEAE-5PW, 20 μ m, 100 nm | 聚合物 | 不锈钢 | 55 | 20 |
| 14466 | 保护柱 (用于内径20 mm的TSKgel DEAE-5PW分析柱, 玻璃, 13 μ m) | 聚合物 | 玻璃 | 20 | 2 |
| 42152 | 保护柱柱芯 (用于内径2 mm的TSKgel DEAE-5PW分析柱, 3 μ k, 10 μ m) | 聚合物 | 不锈钢 | 2 | 1 |
| 19308 | 保护柱套 (用于内径2 mm的保护柱柱芯) | | 不锈钢 | 2 | 1 |
| 07928 | 保护柱 (用于内径55 mm的TSKgel DEAE-5PW 分析柱, 20 μ m) | 聚合物 | 不锈钢 | 45 | 5 |
| 13075 | TSKgel DEAE-NPR, 2.5 μ m, 无孔 | 聚合物 | 不锈钢 | 4.6 | 3.5 |
| 17088 | 保护柱 (用于内径4.6 mm的TSKgel DEAE-NPR 分析柱, 5 μ m) | 聚合物 | 不锈钢 | 4.6 | 0.5 |
| 18249 | TSKgel DNA-NPR, 2.5 μ m, 无孔 | 聚合物 | 不锈钢 | 4.6 | 7.5 |
| 18253 | 保护柱 (用于内径4.6 mm的TSKgel DNA-NPR 分析柱, 5 μ m) | 聚合物 | 不锈钢 | 4.6 | 0.5 |
| 21962 | TSKgel DNA-STAT, 5 μ m, 无孔 | 聚合物 | 不锈钢 | 4.6 | 10 |
| 07166 | TSKgel QAE-2SW, 5 μ m, 12.5 nm | 硅胶 | 不锈钢 | 4.6 | 25 |
| 21960 | TSKgel Q-STAT, 10 μ m, 无孔 | 聚合物 | 不锈钢 | 3 | 3.5 |
| 21961 | TSKgel Q-STAT, 7 μ m, 无孔 | 聚合物 | 不锈钢 | 4.6 | 10 |
| 07157 | TSKgel SAX, 5 μ m, 6 nm | 聚合物 | 不锈钢 | 6 | 15 |
| 08640 | TSKgel Sugar AXG, 10 μ m, 6 nm | 聚合物 | 不锈钢 | 4.6 | 15 |
| 08639 | TSKgel Sugar AXI, 8 μ m, 6 nm | 聚合物 | 不锈钢 | 4.6 | 15 |
| 18386 | TSKgel SuperQ-5PW 玻璃, 10 μ m, 100 nm | 聚合物 | 玻璃 | 8 | 7.5 |
| 18257 | TSKgel SuperQ-5PW, 10 μ m, 100 nm | 聚合物 | 不锈钢 | 7.5 | 7.5 |
| 18387 | TSKgel SuperQ-5PW, 13 μ m, 100 nm | 聚合物 | 不锈钢 | 21.5 | 15 |

产品一览表

TSKgel 阳离子交换色谱柱

| 货号 | 产品描述 | 基质 | 柱身材质 | 内径 (mm) | 长度 (cm) |
|-------|---|-----|------|---------|---------|
| 19686 | TSKgel BioAssist S, 7 μ m, 130 nm | 聚合物 | PEEK | 4.6 | 5 |
| 21411 | TSKgel BioAssist S, 13 μ m, 130 nm | 聚合物 | PEEK | 10 | 10 |
| 07167 | TSKgel CM-2SW, 5 μ m, 12.5 nm | 硅胶 | 不锈钢 | 4.6 | 25 |
| 07162 | TSKgel CM-3SW, 10 μ m, 25 nm | 硅胶 | 不锈钢 | 7.5 | 7.5 |
| 14012 | TSKgel CM-5PW 玻璃, 13 μ m, 100 nm | 聚合物 | 不锈钢 | 20 | 15 |
| 13068 | TSKgel CM-5PW, 10 μ m, 100 nm | 聚合物 | 不锈钢 | 7.5 | 7.5 |
| 21965 | TSKgel CM-STAT, 10 μ m, 无孔 | 聚合物 | 不锈钢 | 3 | 3.5 |
| 21966 | TSKgel CM-STAT, 7 μ m, 无孔 | 聚合物 | 不锈钢 | 4.6 | 10 |
| 16653 | TSKgel OApak-A, 5 μ m, 100 nm | 聚合物 | 不锈钢 | 7.8 | 30 |
| 16654 | 保护柱 (用于TSKgel OApak-P分析柱, 10 μ m) | 聚合物 | 不锈钢 | 6 | 4 |
| 07156 | TSKgel SCX, 强阳离子交换, 5 μ m (Na ⁺), 6 nm | 聚合物 | 不锈钢 | 6 | 15 |
| 07158 | TSKgel SCX, 强阳离子交换, 5 μ m (H ⁺), 6 nm | 聚合物 | 不锈钢 | 7.8 | 30 |
| 07165 | TSKgel SP-2SW, 5 μ m, 12.5 nm | 硅胶 | 不锈钢 | 4.6 | 25 |
| 13062 | TSKgel SP-5PW 玻璃, 10 μ m, 100 nm | 聚合物 | 玻璃 | 5 | 5 |
| 08803 | TSKgel SP-5PW 玻璃, 10 μ m, 100 nm | 聚合物 | 玻璃 | 8 | 7.5 |
| 14017 | TSKgel SP-5PW 玻璃, 13 μ m, 100 nm | 聚合物 | 玻璃 | 20 | 15 |
| 18758 | TSKgel SP-5PW, 10 μ m, 100 nm | 聚合物 | 不锈钢 | 2 | 7.5 |
| 07161 | TSKgel SP-5PW, 10 μ m, 100 nm | 聚合物 | 不锈钢 | 7.5 | 7.5 |
| 07575 | TSKgel SP-5PW, 13 μ m, 100 nm | 聚合物 | 不锈钢 | 21.5 | 15 |
| 07934 | TSKgel SP-5PW, 20 μ m, 100 nm | 聚合物 | 不锈钢 | 55 | 20 |
| 42153 | 保护柱柱芯 (用于内径2 mm的TSKgel SP-5PW 分析柱, 3 μ m, 10 μ m) | 聚合物 | 不锈钢 | 2 | 1 |
| 19308 | 保护柱套 (用于内径2 mm的保护柱柱芯) | | 不锈钢 | 2 | 1 |
| 07932 | 保护柱 (用于内径55 mm的TSKgel SP-5PW 分析柱, 20 μ m) | 聚合物 | 不锈钢 | 45 | 5 |
| 13076 | TSKgel SP-NPR, 2.5 μ m, 无孔 | 聚合物 | 不锈钢 | 4.6 | 3.5 |
| 21963 | TSKgel SP-STAT, 10 μ m, 无孔 | 聚合物 | 不锈钢 | 3 | 3.5 |
| 21964 | TSKgel SP-STAT, 7 μ m, 无孔 | 聚合物 | 不锈钢 | 4.6 | 10 |

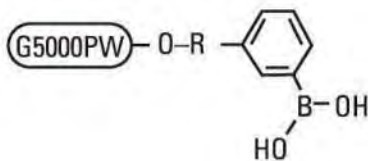
TSKgel 亲和色谱柱

TSKgel亲和色谱柱系列包括三种特异性基团的固定相（Boronate-5PW, Chelate-5PW和Heparin-5PW），以及一种化学活性官能团的固定相（Tresyl-5PW）。所有分析型TSKgel亲和色谱柱都是以TSKgel G5000PW刚性树脂为基体，颗粒粒径10 μm。该树脂是一种亲水性介质，孔径为100 nm，蛋白质排阻界限值估计为一百万道尔顿，并在pH 2-9的范围内具有优异的稳定性的。

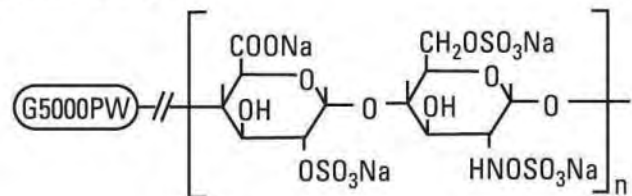
官能团的结构如图1所示。特异性配体的选择是通过样品和键合相之间的预期相互作用决定的。表1列出了每种TSKgel亲和色谱柱的典型应用。

图1：TSKgel亲和色谱柱官能团的结构

TSKgel Boronate-5PW

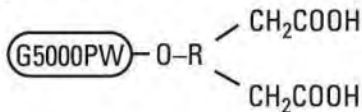


TSKgel Heparin-5PW



Approximate Ligand Density: 5 g/L

TSKgel Chelate-5PW



TSKgel Tresyl-5PW

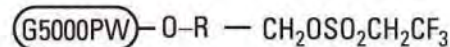


表1：TSKgel亲和色谱柱的应用

| 特异性基团官能团 | 应用 |
|---------------------|---|
| TSKgel Boronate-5PW | 碳水化合物，核酸，核苷，核苷酸，儿茶酚胺 |
| TSKgel Chelate-5PW | 免疫球蛋白，转铁蛋白凝集素，乳蛋白，膜蛋白，肽 |
| TSKgel Heparin-5PWa | 凝血因子：抗凝血酶III，因子VII，因子IX，等， 抗肝素蛋白质：糖蛋白，内切糖苷酶，透明质酸酶， 脂肪酶，生长因子，RNA聚合酶，其他核酸结合蛋白 |
| 活性官能团 | 应用 |
| TSKgel Tresyl-5PW | 糖蛋白，抗原 |

TSKgel Boronate-5PW 亲和色谱柱

TSKgel Boronate-5PW 色谱柱是将间氨基苯硼酸酯耦合到 TSKgel G5000PW 聚合物基质上制备而成的。这种耦合使官能团能够在碱性 pH 条件下形成四面体硼酸盐阴离子。该种阴离子结构可与在碳水化合物、含碳水化合物的化合物、儿茶酚胺等中发现的 1,2 顺式二醇基团相结合。硼酸根阴离子和 1,2 顺式二醇基团之间的相互作用在镁离子的存在下增强，并受到含胺缓冲液的抑制。TSKgel Boronate-5PW 基质的吸附发生在碱性缓冲液中，例如 HEPES 和吗啉，而解吸发生在碳水化合物或含胺流动相中，例如山梨糖醇或三羟甲基氨基甲烷。

属性及应用：

表2列出了TSKgel Boronate-5PW色谱柱的属性和规格。TSKgel Boronate-5PW色谱柱的应用包括核酸、核苷、核苷酸、儿茶酚胺和含有1,2顺式二醇官能团的其它生物分子的分析。

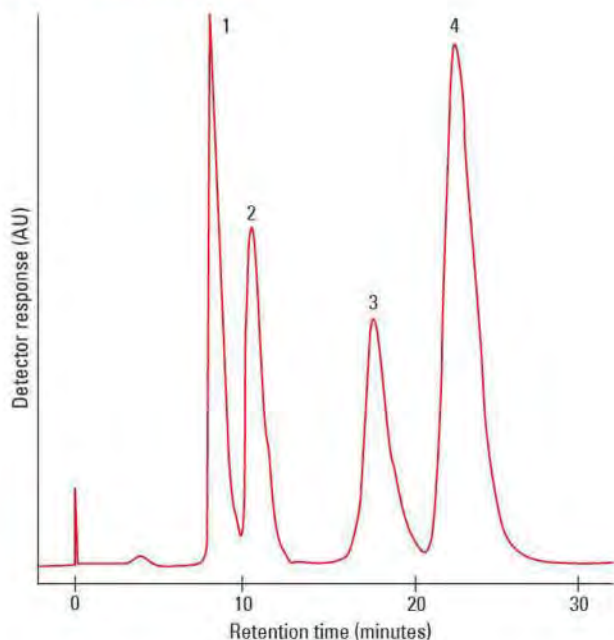
表2: 产品属性与规格

| 属性 | 参数 |
|------------|--------------------------------|
| 孔径(平均值) | 100 nm |
| 排阻界限 (估计值) | < 1.0 x 10 ⁷ Da球状蛋白 |
| 吸附容量 | 40 mmol/L (山梨糖醇) |
| 粒径 | 10 μm |
| pH值范围 | 2.0-9.0 |
| 官能团 | 间-氨基苯硼酸 |

核苷

核苷是由 β-糖苷键与核糖或脱氧核糖结合而成的核碱基（通常简称为碱基）构成的糖基胺。核苷包括胞苷、尿苷、腺苷、鸟苷、胸苷和肌苷。图2显示了TSKgel Boronate-5PW色谱柱使用等度流动相对核苷进行选择分离。

图2: 核苷的等度分离



色谱柱: TSKgel Boronate-5PW (10 μm, 7.5 mm ID x 7.5 cm)

流动相: 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 8.0

流速: 1.0 mL/min

检测: UV (280 nm)

样品: 1. 胞苷

2. 尿苷

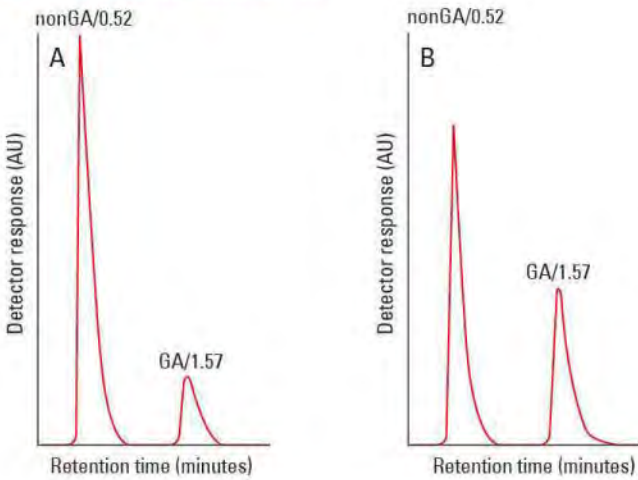
3. 鸟苷

4. 腺苷

糖化血清白蛋白

使用TSKgel Boronate-5PW色谱柱在4分钟内快速分析人血清中的糖化（糖基化的）和非糖化（非糖基化）的蛋白质。糖化血清白蛋白数量为糖尿病患者短期血糖控制提供了有用的信息。图3分别为正常成人和糖尿病患者的混合血清样品的色谱图。非糖化的和糖化的白蛋白在0.52和1.57分钟洗脱得到了尖峰，并得到了很好的分离。

图3：糖化血清白蛋白的分析



色 谱 柱: TSKgel Boronate-5PW (10 μ m, 4.6 mm ID x 10 cm)

流 动 相: 50 mmol/L 甘氨酸-NaOH 缓冲液, pH 7.5,
200 mmol/L 氯化镁和 0.05%叠氮化钠与山梨糖醇
从 0 分步梯度增加到 200 mmol/L

流 速: 0.8 mL/min

温 度: 37 °C

进 样 量: 1 使用起始洗脱液平衡 2min 后, 进样 1 μ L。

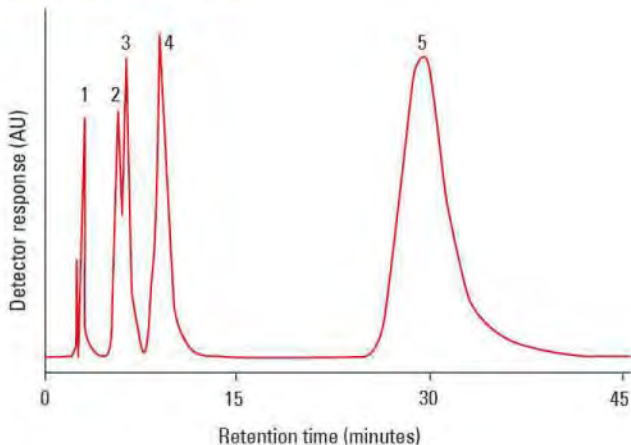
送入起始洗脱液 1min 洗脱未结合的未糖化的蛋白质。然后送入含有山梨糖醇的洗脱液 1 分钟以洗脱结合在色谱柱上的糖化蛋白质。

样 品: 混合血清; A. 正常成人 B. 糖尿病患者

儿茶酚胺

儿茶酚胺是应急激素，由肾上腺释放应对压力。它们被称为儿茶酚胺，是因为它们含有儿茶酚基团并且从氨基酸酪氨酸衍生。图4中使用TSKgel Boronate-5PW色谱柱对儿茶酚胺的分析谱图。

图4：儿茶酚胺的分析



色 谱 柱: TSKgel Boronate-5PW (10 μ m, 7.5 mm ID x 7.5 cm)

流 动 相: 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 6.5

流 速: 1.0 mL/min

检 测: UV (280 nm)

样 品: 1. 酪氨酸

2. 去甲变肾上腺素

3. 变肾上腺素

4. 多巴

5. 肾上腺素

TSKgel Chelate-5PW 亲和色谱柱

TSKgel Chelate-5PW 色谱柱是将亚氨基二乙酸 (IDA) 基团共价键合到 G5000PW 聚合物基质上。在亲和色谱法之前，将金属离子例如 Zn^{2+} 、 Ni^{2+} 或 Cu^{2+} ，螯合到 IDA 基团上。所选择的金属离子结合在 IDA 基团上的三个配位点。因此，目标分子可以紧密地结合在金属离子的三个游离结合位点。由于结合的金属离子浓度很高 (每 mL 凝胶为 20 μmol 金属离子)，TSKgel Chelate-5PW 色谱柱对于目标分子有很高的结合力。

肽和蛋白质中的组氨酸残基在中性 pH 条件下通常会吸附到这些螯合离子上。使用含有咪唑或甘氨酸的缓冲液进行蛋白质解吸。成功利用这种保留机制的关键是选择合适的金属离子和洗脱缓冲液。 Cu^{2+} 与蛋白质的相互作用更加强烈， Zn^{2+} 通常能提高分辨率。使用 Zn^{2+} 时，色谱柱为饱和载量，而结合较强的 Cu^{2+} 的载量大约为总量的一半。蛋白质的洗脱通常通过梯度增加咪唑或甘氨酸浓度或梯度降低 pH 值来进行。甘氨酸 (HEPES 缓冲液中) 是一种强洗脱液，也可以解吸金属离子，因此有必要在每次分析结束后对色谱柱进行再生。咪唑 (磷酸盐缓冲液中) 是一种弱洗脱液，有必要在色谱柱运行多次以后再生。

属性及应用:

表3列出了TSKgel Chelate-5PW色谱柱的属性和规格。TSKgel Chelate-5PW色谱柱的应用包括外源凝集素、血清蛋白 (如免疫球蛋白和转铁蛋白)、乳蛋白、膜蛋白和肽的分析。

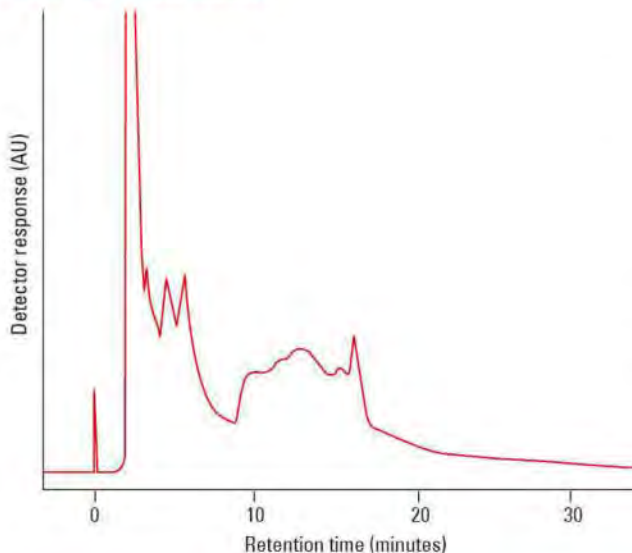
表3: 产品属性与规格

| 属性 | 参数 |
|-----------|------------------------------------|
| 孔径(平均值) | 100 nm |
| 排阻界限(估计值) | $< 1.0 \times 10^7$ Da球状蛋白 |
| 配体浓度 | 20 mmol树脂 |
| 粒径 | 10 μm 和13 μm |
| pH值范围 | 2.0-12.0 |
| 官能团 | 亚氨基二乙酸 |

单克隆抗体

图5为使用螯合有 Zn^{2+} 的TSKgel Chelate-5PW色谱柱纯化培养上清液中的单克隆抗体 (mAb)。该图显示，通过pH梯度洗脱，mAb (IgG₁)在32分钟左右被洗脱并很好地与其他杂质分离。

图5: 单克隆抗体的纯化



色 谱 柱: **TSKgel Chelate-5PW (Zn^{2+})**,
(10 μm , 7.5 mm ID X 7.5 cm)

流 动 相: A: 20 mmol/L Tris-HCl, pH 8.0, + 0.5 mol/L NaCl
B: A + 200 mmol/L 甘氨酸

梯 度: 30 min (A→B), 线性

流 速: 1.0 mL/min

检 测: UV (280 nm)

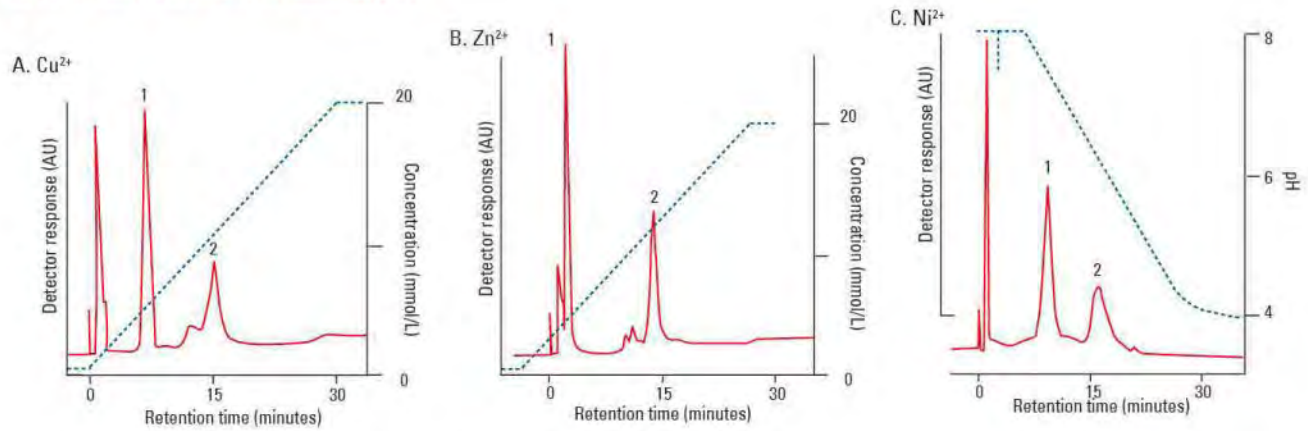
温 度: 25 °C

样 品: 抗 HLA-A, B, C (IgG₁),
NS-1 培养上清液

标准蛋白质

图6比较了整合有Zn²⁺、Cu²⁺和Ni²⁺的TSKgel Chelate-5PW色谱柱对两种球状蛋白的保留行为和峰形。

图6: 核糖核酸酶A和转铁蛋白的分析



色谱柱: TSKgel Chelate-5PW (10 μm, 5 mm ID x 5 cm, 玻璃)

金属离子: A: Cu²⁺ B: Zn²⁺ C: Ni²⁺, 均为饱和状态

流动相: A和B: 30 min 内含有 0.5 mol/L NaCl 的 20 mmol/L HEPES-NaOH 缓冲液中咪唑从 1 mmol/L 线性梯度增加到 20 mmol/L, pH 8.0

C: 30min 内在 0.5 mol/L NaCl 中 pH 8.0 的 20 mmol/L HEPES-MES- 乙酸线性 pH 梯度减少为 pH 4.0 的 20 mmol/L HEPES-MES- 乙酸

流速: 0.8 mL/min

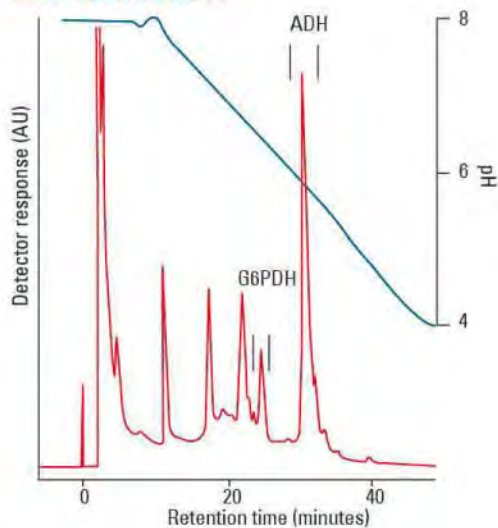
检测: UV (280 nm)

样品: 1. 核糖核酸酶 A (牛) 2. 转铁蛋白 (人)

酵母酶

在图7中, 使用TSKgel Chelate-5PW色谱柱回收酵母酶得到了较高的活性和回收率。

图7: 酵母酶的分析



色谱柱: TSKgel Chelate-5PW (10 μm, 8 mm ID x 7.5 cm, 玻璃)

金属离子: 饱和 Zn²⁺

流动相: 40 min 内在 0.5 mol/L NaCl 中从 pH 8.0 的 20 mmol/L HEPES-MES- 乙酸线性 pH 梯度改变为 pH 4.0 的 20 mmol/L HEPES-MES- 乙酸

流速: 1.0 mL/min

检测: UV (280 nm)

回收: G6PDH*: 90%, 以及 ADH*: 97% 的酶活性酶活性

样品: 浓缩酵母酶

纯化: G6PDH: 8.7 倍, 以及 ADH: 3.9 倍

*G6PDH: 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶

*ADH: 乙醇脱氢酶

TSKgel Heparin-5PW 亲和色谱柱

TSKgel Heparin-5PW 色谱柱是通过将来自猪肠粘膜的肝素固定到 G5000PW 聚合物基质上。肝素是分子量为 1.6×10^4 Da 的多糖，由 D- 葡糖胺和 D- 葡糖醛酸通过 $\alpha-1, 4-$ 糖苷键连接构成的多聚体。结合的肝素与蛋白质通过以下两种方式相互作用：

- 在一个位点，O- 硫酸根和 N- 硫酸基的酸性使 TSKgel Heparin-5PW 变成具有与 TSKgel SP-5PW 强阳离子交换树脂的洗脱强度相似的阳离子交换树脂，但对碱性蛋白具有不同的选择性。肝素将该色谱柱的有效 pH 值范围降到了 5.5-9.0 之间。
- 在另一个位点，肝素作为特异性亲和配体发生相互作用，例如作为组织中的抗凝血剂，肝素通过与凝血酶原和纤维蛋白原相互作用而防止凝血酶和纤维蛋白的形成。

属性及应用：

表4列出了TSKgel Heparin-5PW色谱柱的属性。TSKgel Heparin-5PW色谱柱的典型应用包括凝血因子（例如抗凝血酶III，因子VII，因子IX等），和抗肝素蛋白（例如糖蛋白，内切糖苷酶，透明质酸酶）的分离。TSKgel Heparin-5PW 色谱柱也用于分离脂肪酶、生长因子、RNA聚合酶和其他核酸结合蛋白。

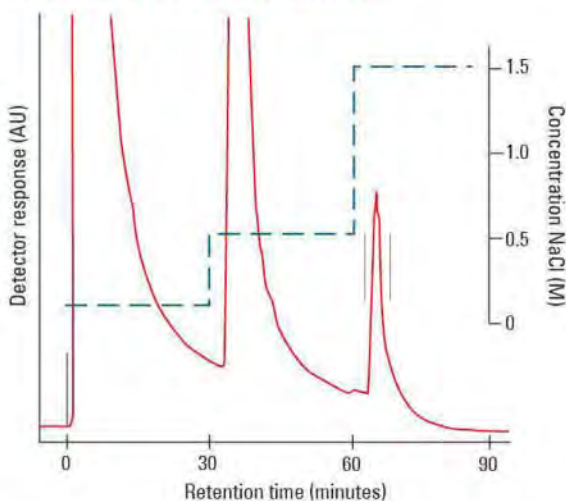
表4: 产品属性与规格

| 属性 | 参数 |
|---------------|----------------------------|
| 孔径(平均值) | 100 nm |
| 排阻界限(估值) | $< 1.0 \times 10^7$ Da球状蛋白 |
| 对抗凝血酶III的吸附容量 | 大于1.8 g/L |
| 粒径 | 10 μ m |
| pH值范围 | 5.5-9.0 |
| 官能团 | 肝素 |

人血浆中的抗凝血酶III

肝素与抗凝血酶结合后引起抗凝血酶构象改变，通过增加其反应位点环的柔性可使其活化。活化抗凝血酶然后使凝血酶和其他参与血液凝固的蛋白酶（最显著的是因子Xa）失活。图8所示为人血浆中抗凝血酶的分步梯度纯化，显示了 TSKgel Heparin-5PW 色谱柱的亲合特性。

图8: 人血浆中抗凝血酶III的分离



色 谱 柱: TSKgel Heparin-5PW (10 μ m, 7.5 mm ID x 7.5 cm)

流 动 相: 0.15 mol/L NaCl + 0.02 mol/L Tris-HCl, pH 7.5, 然后在 30 min 内以分步梯度的方式增加 0.5 mol/L NaCl, 最后在 60 min 内以分步梯度的方式增加 1.5 mol/L NaCl

流 速: 1.0 mL/min

检 测: UV (280 nm)

回 收: 从垂直线之间收集的馏分定量回收抗凝血酶 III 活性

样 品: 人血浆, 0.5 mL

TSKgel Tresyl-5PW 亲和色谱柱

不同于其他 TSKgel 亲和色谱柱，TSKgel Tresyl-5PW 色谱柱键合有 2,2,2-三氟乙烷磺酰基活性基团，并且需要用户选择含有氨基、硫醇、苯酚、或咪唑基团的配体活化。得到的结构实际上是一种定制的亲亲和配体，其具有优异的 pH 稳定性和最小的配体脱落。TSKgel Tresyl-5PW 容易与氨基或巯基反应形成稳定的共价烷基胺或硫醚。

TSKgel Tresyl-5PW 色谱柱的主要应用包括根据要纯化的抗原选择合适的抗体耦合到固定相上。pH 值大于 7.5 条件下的抗体耦合率在 90% 以上，并且 pH 值为 7.5 时发生最大结合。当抗体浓度每升亲和树脂小于 2-3 g 时，抗原最有效地吸附到抗体配体。为了提高结合能力，应该为耦合反应添加更多抗体。然而，较高浓度的抗体会导致空间位阻，从而降低色谱柱的结合能力。一般情况下，抗体附着到 TSKgel Tresyl-5PW 色谱柱所需的时间与抗体浓度成正比。少量抗体需要大约 2 个小时完成交联反应，而在 10 g/L 的浓度下，完全附着抗体则可能需要 6-7 小时。

属性及应用：

表5列出了TSKgel Tresyl-5PW色谱柱的属性。TSKgel Tresyl-5PW色谱柱的应用实例包括对伴刀豆球蛋白A（一种结合到糖蛋白的脂蛋白凝集素），大量抗体，和酶等配体的结合。

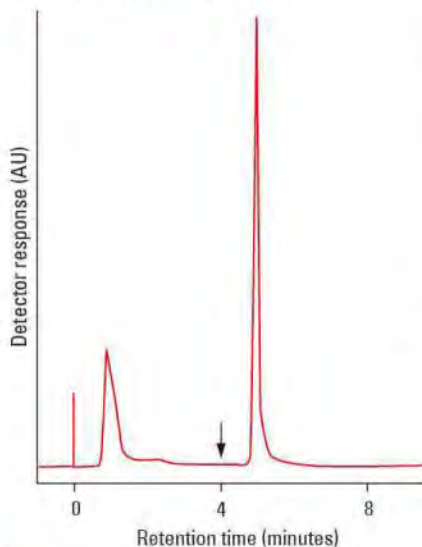
表5：产品属性与规格

| 属性 | 参数 |
|----------|--------------------------------|
| 孔径(平均值) | 100 nm |
| 粒径(平均值) | 10 μm |
| pH值范围 | 2.0 - 12.0 |
| 配体浓度 | 每升树脂约为20 mmol |
| 吸附容量 | 大于60 mg/L (与大豆胰蛋白酶抑制剂的耦合能力) |
| 排阻界限(估值) | <1.0 × 10 ⁷ Da 球状蛋白 |
| 活性基团 | 三氟乙基磺酰 |

伴刀豆球蛋白 A 上的过氧化物酶

伴刀豆球蛋白A是一种结合到过氧化物酶等糖蛋白上的脂蛋白凝集素。TSKgel Tresyl-5PW是通过将伴刀豆球蛋白A结合到树脂上来活化。图9是使用耦合有伴刀豆球蛋白A配体的TSKgel Tresyl-5PW色谱柱纯化过氧化物酶的色谱图。

图9：过氧化物酶的纯化

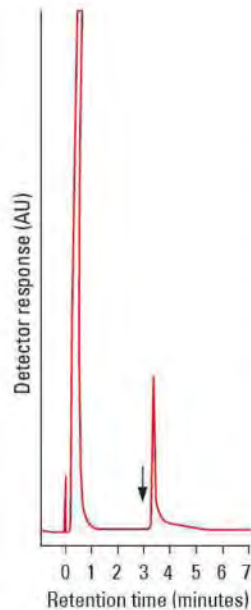


色 谱 柱：TSKgel Tresyl-5PW (10 μm, 6 mm ID x 4 cm) 采用伴刀豆球蛋白 A 修饰
结 合：0.05 mol/L 醋酸缓冲液 (pH 5.0) + 0.5 mol/L NaCl, 以及 CaCl₂、MnCl₂ 和 MgCl₂ 各为 1 mmol/L
流 动 相：4 min 内 (见图箭头) 结合缓冲液中 α-甲基-D-葡萄糖苷分步梯度形式增加到 25 mmol/L
流 速：1.0 mL/min
检 测：UV (403 nm)
样 品：过氧化物酶粗品, 0.5 mg
清洗步骤：使用溶解水清洗 TSKgel Tresyl-5PW
配体溶液：将 40 mg 伴刀豆球蛋白 A 溶解于含有 0.5 mol/L NaCl 的 10 mL 0.1 mol/L NaHCO₃ (pH 8.0) 中
耦合步骤：在 25°C 以 0.2 mL/min 的流速使用色谱柱在夜间回收配体溶液
阻断步骤：在 25°C 以 1.0 mL/min 的流速使用 0.1 mol/L Tris-HCl (pH 8.0) 阻断三氟乙基磺酰残基

人转铁蛋白

人转铁蛋白是一种用于运输铁离子的血浆蛋白。当载有铁的人转铁蛋白遇到细胞表面上的转铁蛋白受体时，便与其结合，然后被送到囊泡的细胞中。该细胞将会酸化囊泡，使人转铁蛋白（TF）释放出它的铁离子。图10为使用固定了抗人转铁蛋白抗体的TSKgel Tresyl-5PW色谱柱对人转铁蛋白进行纯化。

图10: 人转铁蛋白的纯化



色谱柱: TSKgel Tresyl-5PW (10 μ m, 6 mm ID x 10 cm)

流动相: 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 7.4, 脉冲法洗脱采用 0.1 mol/L 柠檬酸盐缓冲液, pH 1.6

流速: 1.0 mL/min

检测: UV (280 nm)

进样量: 20 μ L

样品: 人血清转铁蛋白

产品一览表

TSKgel 亲和色谱柱

| 货号 | 产品描述 | 基质 | 柱身材质 | 内径 (mm) | 长度 (cm) |
|-------|---|-----|------|---------|---------|
| 14449 | TSKgel Boronate-5PW, 玻璃, 10 μ m, 100 nm | 聚合物 | 玻璃 | 5 | 5 |
| 13066 | TSKgel Boronate-5PW, 10 μ m, 100 nm | 聚合物 | 不锈钢 | 7.5 | 7.5 |
| 14440 | TSKgel Chelate-5PW, 玻璃, 10 μ m, 100 nm | 聚合物 | 玻璃 | 5 | 5 |
| 08645 | TSKgel Chelate-5PW, 10 μ m, 100 nm | 聚合物 | 不锈钢 | 7.5 | 7.5 |
| 08646 | TSKgel Chelate-5PW, 13 μ m, 100 nm | 聚合物 | 不锈钢 | 21.5 | 21.5 |
| 14443 | TSKgel Heparin-5PW, 玻璃, 10 μ m, 100 nm | 聚合物 | 玻璃 | 5 | 5 |
| 14444 | TSKgel Heparin-5PW, 玻璃, 10 μ m, 100 nm | 聚合物 | 玻璃 | 8 | 8 |
| 13064 | TSKgel Heparin-5PW, 10 μ m, 100 nm | 聚合物 | 不锈钢 | 7.5 | 7.5 |
| 14455 | TSKgel Tresyl-5PW, 10 μ m, 100 nm | 聚合物 | 不锈钢 | 6 | 6 |
| 14456 | TSKgel Tresyl-5PW, 10 μ m, 100 nm | 聚合物 | 不锈钢 | 7.5 | 7.5 |
| 16208 | TSKgel Tresyl-5PW, 补充胶, 10 μ m, 2 g | 聚合物 | — | — | — |

TSKgel Protein A-5PW 亲和色谱柱

TSKgel Protein A-5PW 是一款粒径 20 μm，4.6 mm ID X 3.5 cm 规格的高性能亲和色谱柱。这款色谱柱专为快速分离和定量各种抗体而设计，能够在 2 分钟内对细胞培养上清液中的单克隆抗体进行捕获并精确定量。

TSKgel Protein A-5PW 色谱柱具有高交联度的羟甲基化聚甲基丙烯酸树脂为基质，即使在高流速下，仍然可以保持优异的分辨率和色谱峰型。rProtein A 配基多点结合于 TSKgel 5PW 基体上，在 0.1 mol/L 的 NaOH 下具有良好的耐碱性。该色谱柱使用寿命长，连续进样 2000 针而无需再生或清洗，可保持峰型不变。

TSKgel Protein A-5PW 色谱柱定量范围宽，可用于精确定量在不同工艺阶段细胞培养液中的 mAb 滴度。由于 Protein A 的 leaching 较低，所以 TSKgel Protein A-5PW 也非常适用于单克隆抗体 (mAbs) 的小规模纯化。

表1：产品属性与规格

| 属性 | 参数 |
|----------|-------------|
| 孔径(平均值) | 100 nm |
| 粒径(平均值) | 20 μm |
| pH值范围 | 2.5 - 7.5 |
| 排阻界限(估值) | 1000 kDa |
| 配基 | 重组protein A |

对多种抗体的亲和力

TSKgel Protein A-5PW色谱柱的重组Protein A配基是一种经修饰的C区域的六聚体，所以相比天然Protein A和其他种类的重组Protein A配基，该色谱柱可以结合更多种类的抗体。例如，如表2中所示，其对于来自大鼠和山羊的不同亚型的抗体具有高亲和力，而天然的Protein A对此则没有。

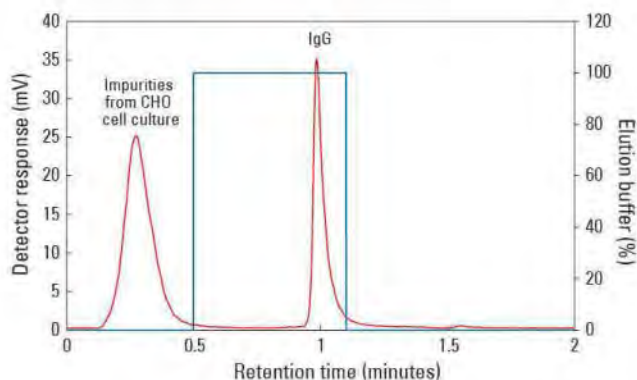
表1：产品属性与规格

| 种类 | IgG亚型 | Protein A-5PW 的配基 | 天然的Protein A 配基 |
|---------|-------------------|-------------------|-----------------|
| Human | IgG ₁ | +++++ | ++++ |
| | IgG ₂ | +++++ | ++++ |
| | IgG ₃ | - | - |
| | IgG ₄ | +++++ | ++++ |
| Mouse | IgG ₁ | ++++ | + |
| | IgG _{2a} | +++++ | ++++ |
| | IgG _{2b} | +++++ | +++ |
| | IgG ₃ | ++++ | ++ |
| Rat | IgG ₁ | ++++ | - |
| | IgG _{2a} | - | - |
| | IgG _{2b} | +++ | - |
| | IgG _{2c} | ++++ | - |
| Goat | IgG _s | ++++ | - |
| Chicken | IgY | - | - |
| Rabbit | IgG | +++++ | ++++ |

单克隆抗体滴度分析

图1中显示了使用TSKgel Protein A-5PW快速捕获mAb（人IgG）。收集CHO细胞培养上清液后，将其短暂离心以去除细胞碎片并浓缩样品，然后将其注入Protein A色谱柱用于滴度分析。在2分钟内完成分析，包括结合、洗涤、洗脱和再平衡步骤。色谱柱不吸附上清液中的宿主细胞蛋白，因此洗脱为流穿峰。仅IgG被捕获，然后以大约1分钟的保留时间从色谱柱中洗脱出。随后，使用TSKgel UP-SW3000尺寸排阻色谱柱对IgG的峰组分进行处理，对多聚体和单体进行分析。该分析结果表明所收集的IgG中98%以上都为单体（数据未显示）。

图1：快速捕获CHO细胞上清液中的IgG



色谱柱：TSKgel Protein A-5PW (20 μ m, 4.6 mm ID x 3.5 cm)

流动相：A: 20 mmol/L 磷酸钠缓冲液, pH 7.4

B: 20 mmol/L 磷酸钠缓冲液, pH 2.5

流动相切换：0-0.5 分钟 流动相 A

0.5-1.1 分钟 流动相 B

1.1-2.0 分钟 流动相 A (再平衡)

流速：2.0 mL/min

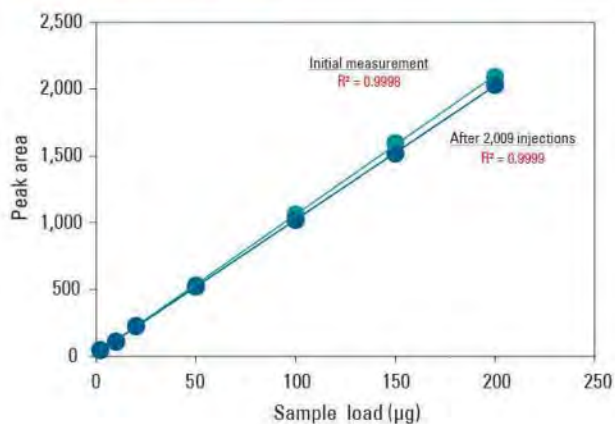
检测：UV (280 nm)

样品：加入 20 μ m 含有多克隆 IgG (0.5 mg/mL) 的 CHO 细胞培养上清液

色谱柱耐用性和动态载量

图2中对该色谱柱进行线性分析试验，表明了TSKgel Protein A-5PW色谱柱的耐用性和较宽的动态载量范围。将纯化的IgG注入色谱柱，随后注入不同体积的IgG，连续进样2009次而不清洗色谱柱，随后重复线性分析试验。可以观察到IgG的标准曲线并没有显著变化，色谱柱仍然保持其高载能力及优异的线性关系 ($R^2=0.9999$)。

图2：耐用性和动态范围

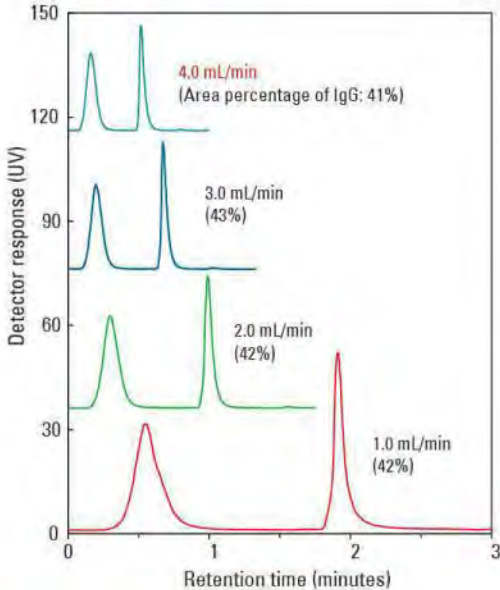


高流速下的高通量分析

图3中通过四种不同的流速（1, 2, 3 和 4 mL/min）来证明TSKgel Protein A-5PW色谱柱在高流速下的分离性能。图中表明流速对色谱柱结合与吸附IgG的影响极小。在不同流速下，流穿的蛋白质峰与结合IgG的相对峰面积百分比保持不变。

当流速为4.0 mL/min时可在一分钟以内完成分析，峰形也无明显差异。图4显示了在4.0 mL/min 流速下，TSKgel Protein A-5PW对IgG具有较宽的动态范围（2~200 µg）且呈现良好的线性关系（ $R^2=1.0000$ ）。

图3: 流速对分离效果的影响

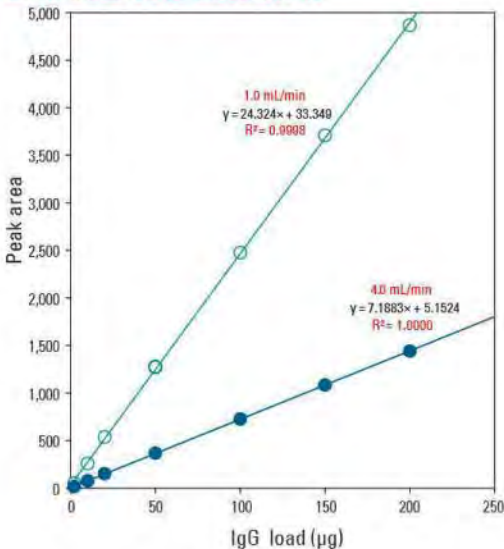


梯度条件

| 流速 (mL/min) | 结合缓冲液 (min) | 洗脱缓冲液 (min) | 结合缓冲液 (min) |
|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 4.0 | 0-0.25 | 0.25-0.55 | 0.55-1.00 |
| 3.0 | 0-0.33 | 0.33-0.73 | 0.73-1.33 |
| 2.0 | 0-0.50 | 0.50-1.10 | 1.10-2.00 |
| 1.0 | 0-1.00 | 1.00-2.20 | 2.20-4.00 |

含有多克隆抗体（0.5 mg/mL）的20 µL CHO细胞培养上清液

图4: 流速对校准曲线的影响



色谱柱: TSKgel Protein A-5PW (20 µm, 4.6 mm ID x 3.5 cm)

流动相: A: 20 mmol/L 磷酸钠缓冲液, pH 7.4

B: 20 mmol/L 磷酸钠缓冲液, pH 2.5

流动相切换: 0-0.5 分钟 流动相 A

0.5-1.1 分钟 流动相 B

1.1-2.0 分钟 流动相 A (再平衡)

流速: 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 mL/min

检测: UV (280 nm)

样品: 含有 0.5 g/L IgG 的 CHO 细胞培养上清液

产品一览表

TSKgel Protein A 色谱柱

| 货号 | 产品描述 | 基质 | 柱身材质 | 内径 (mm) | 长度 (cm) |
|-------|--|-----|------|---------|---------|
| 23483 | TSKgel Protein A-5PW, 20 μ m, 100 nm | 聚合物 | PEEK | 4.6 | 3.5 |



TSKgel 疏水相互作用色谱柱

TSKgel 疏水相互作用 (HIC) 色谱柱的基质为聚甲基丙烯酸酯, 有三种配基选择 (丁基、乙醚和苯基), 所述配基分别具有从低到高不同的疏水性 (表 1)。TSKgel HIC 色谱柱的填料的基质都是 TSKgel G5000PW 聚合物树脂。该树脂与低聚乙二醇 (Ether-5PW) 或苯基 (Phenyl-5PW) 基团发生衍生化。TSKgel Butyl-NPR 色谱柱的基质与 TSKgel Phenyl-5PW 和 Ether-5PW 色谱柱的基质具有相同的化学成分, 但两种填料的区别在于 TSKgel G5000PW 填料是多孔球形颗粒, 而 TSKgel Butyl-NPR 色谱柱的基质是 2.5 μm 粒径的无孔颗粒。无孔树脂 (NPR) 通常适用于快速分析。

TSKgel HIC 色谱柱填料与浓度低于 50% 的水溶性有机溶剂相容 (TSKgel Butyl-NPR 则是低于 20%)。图 1 是 TSKgel HIC 色谱柱填料的结构示意图。表 2 中列出了每种类型的 TSKgel HIC 色谱柱的应用范围。

图1: TSKgel HIC色谱柱填料的结构示意图

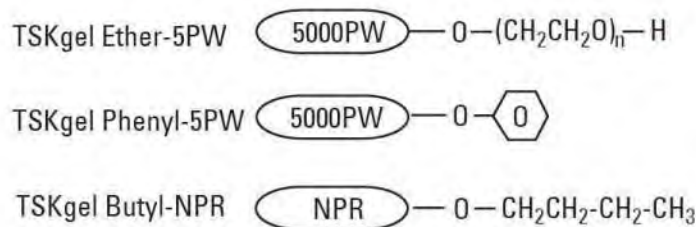


表1: TSKgel HIC色谱柱的比较

| TSKgel色谱柱 | 疏水性 | 优点 |
|------------|-------|-----------------------------------|
| Phenyl-5PW | 疏水性最强 | 需要适度的盐浓度来保留蛋白质。疏水性适用范围最广的最热门的色谱柱。 |
| Ether-5PW | 疏水性较低 | 分离膜蛋白或单克隆抗体等疏水性蛋白质的最佳选择。 |
| Butyl-NPR | 疏水性最低 | 是快速分析的最佳选择, 由于填料为无孔颗粒, 回收率通常较高。 |

表2: TSKgel HIC色谱柱的选择

| 样品 | 分子量范围 (Da) | TSKgel色谱柱 |
|---------------|---------------------|--------------------------------------|
| 肽 | $< 1.0 \times 10^4$ | Butyl-NPR |
| 中到大型蛋白质 | $> 1.0 \times 10^4$ | Phenyl-5PW Ether-5PW Butyl-NPR |
| DNA、RNA和PCR产物 | $> 5.0 \times 10^5$ | Phenyl-5PW Butyl-NPR |
| 寡核苷酸 | $> 1.0 \times 10^4$ | Phenyl-5PW Butyl-NPR |

TSKgel Butyl-NPR 疏水色谱柱

TSKgel Butyl-NPR 色谱柱基质为聚甲基丙烯酸酯亲水性聚合物填料，粒径 2.5 μm 的无孔颗粒，表面与丁基键合。在疏水性方面，TSKgel Butyl-NPR 的疏水性是 TSKgel HIC 色谱柱中最低的，需要较高的盐浓度来结合。对于疏水性更强的样品，此款色谱柱具有极佳的回收率，是快速分离分析的最佳选择。

在其他液相色谱模式中，粒径越小分辨率越高。使用无孔填料的短柱可以使常规分析缩短至 10 分钟以内。由于结合动力学仅发生在填料颗粒表面，所以无孔填料相比相同尺寸的多孔填料具有更高的分离效率。生物大分子在多孔填料色谱柱上会产生孔隙扩散效应，所以在高流速条件下无孔填料可以实现更高的分辨率。无孔填料（NPR）的另一个优点是具有优异的回收率，这使定量可以达到纳克级水平。因为无孔填料的表面积较低，所以分离时需要调整样品的浓度和进样量来保证最佳柱效。

在样品量有限，或是对 QC 分析有严格时间要求的情况下，超高效的 TSKgel Butyl-NPR 色谱柱是此类应用的首选。

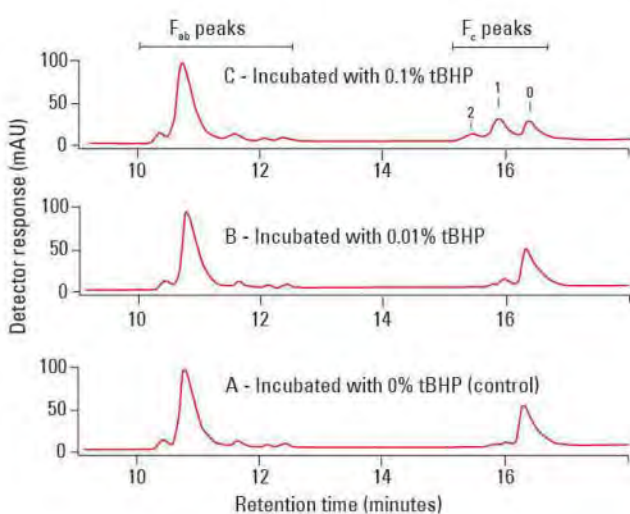
产品属性与规格

| 属性 | 参数 |
|---------|----------|
| 孔径（平均值） | 无孔 |
| 粒径（平均值） | 2.5 μm |
| pH值范围 | 2.0-12.0 |
| 官能团 | 丁基 |

抗体片段

图2所示为 TSKgel Butyl-NPR 色谱柱对抗体的 Fab 和 Fc 片段进行分离。额外的 Fc 碎片峰的出现的原因在于蛋氨酸残基被 0.10% 叔丁基过氧化氢（tBHP）氧化。上述 Fc 峰的编号对应于各片段氧化残基的编号。

图2: Fab和Fc片段的分离



色谱柱: TSKgel Butyl-NPR (2.5 μm, 4.6 mm ID x 3.5 cm)

流动相: A: 2mol/L (NH₄)₂SO₄, 20mmol/L Tris, pH 7.0

B: 20 mmol/L Tris, pH 7.0

梯度: 0 min (10% B) 34 min(100% B)

流速: 1.0 mL/min

温度: 30 °C

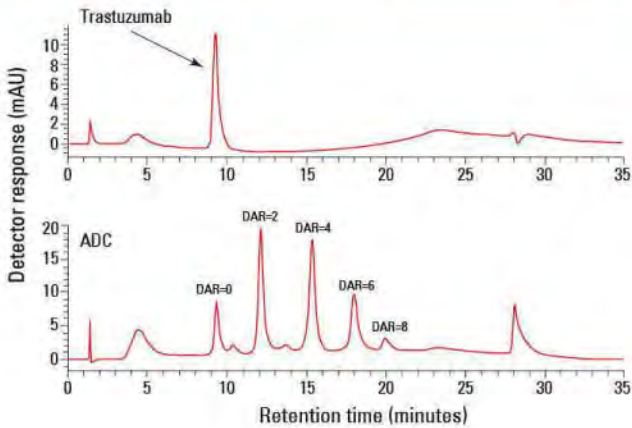
药物抗体偶联比 (DAR)

将未偶联的单克隆抗体 (曲妥珠单抗) 和ADC药物 (曲妥珠单抗-vcMMAE) 样品分别注入到TSKgel Butyl-NPR色谱柱中后, 用有机溶剂2-丙醇洗脱, 与实验条件中所述的低浓度的磷酸钠缓冲液混合。

如图3中所示, 未偶联的曲妥珠单抗样品约在9.5分钟时表现为一个洗脱单峰。该单峰表明该未偶联的曲妥珠单抗主要由均一的分子组成。ADC药物的色谱图表现为多个不同保留时间的峰, 色谱峰分离度良好, 均达到基线分离。这些峰考虑是具有不同的药物-抗体结合比例 (DAR=0、2、4、6、8)。该样品的不均一性是由于添加了不同的药物结合量, 从而导致不同的出峰保留时间; 结合较低的量药物峰最先被洗脱, 较高的量的药物峰在后面洗脱出来。

出峰时间在9.5分钟的ADC峰与未偶联的曲妥珠单抗的保留时间相同 (比较图3中的下图与上图)。两个峰相似的保留时间表明ADC含有一组非偶联的曲妥珠单抗。将这个峰标记为DAR=0。当曲妥珠单抗与2个细胞杀伤药物偶联时, 其比未偶联的曲妥珠单抗晚一点洗脱出来, 其峰标记为DAR=2。其余的峰根据它们的保留时间不同, 分别标记为DAR=4、6和8。

图3: TSKgel Butyl-NPR分析未偶联的曲妥珠单抗 (上图) 和ADC药物 (下图)



色谱柱: TSKgel Butyl-NPR (2.5 μ m, 4.6 mm ID x 10cm)

流动相: A: 25 mmol/L 磷酸盐缓冲液, pH 7.0 + 1.5 mol/L 硫酸铵

B: 25 mmol/L 磷酸盐缓冲液, pH 7.0 + 2-丙醇-{80:20}

梯度: 0 - 100% B (20分钟)

流速: 0.5 mL/min

检测: UV (280 nm)

进样量: 10 μ L

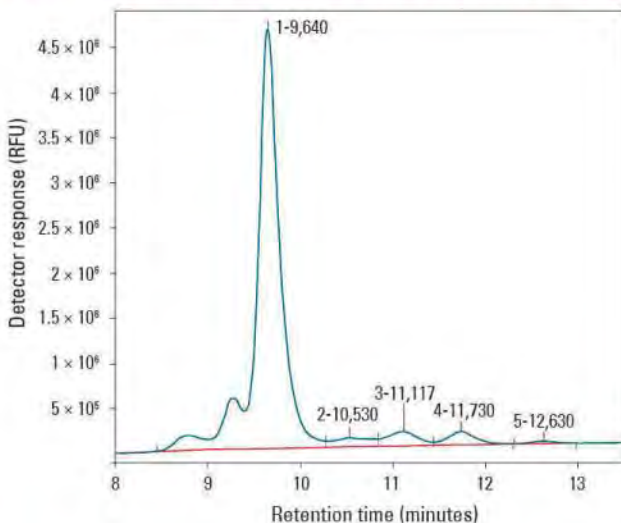
样品: 曲妥珠单抗, 0.24 g/L

ADC (曲妥珠单抗-vcMMAE), 2.2 g/L

蛋白质

图4所示为使用TSKgel Butyl-NPR色谱柱对单克隆抗体及其大分子多聚体进行尺寸排阻分离的谱图。由于TSKgel Butyl-NPR色谱柱无孔填料的高分辨率, 仅需很少的样品量即可分析聚合物。

图4: TSKgel Butyl-NPR色谱柱对单克隆抗体和聚合物的分析



色谱柱: TSKgel Butyl-NPR (25 μ m, 4.6 mm ID x 3.5 cm)

流动相: A: 3 mol/L NaCl

B: H₂O

梯度: 10min, 0-100% B

流速: 1.0 mL/min

检测: 荧光 Ex: 280 nm, Em: 348 nm

进样量: 5 μ g

样品: 1gG₁

TSKgel Ether-5PW 和 TSKgel Phenyl-5PW 疏水色谱柱

在三种 TSKgel HIC 色谱柱中，TSKgel Ether-5PW 是一款中等疏水性的色谱柱，在酸性或碱性清洗时较为稳定，在低扩散条件下可以很好的与大分子结合。

TSKgel Ether-5PW 色谱柱是分离疏水性物质（包括膜蛋白、IgG 或 IgM 等单克隆抗体）理想的选择。

TSKgel Phenyl-5PW 色谱柱是首个商品化的聚合物基质的高性能疏水色谱柱。此类色谱柱在推动生物大分子的分析、制备以及生产规模分离的技术普及上起到了重要作用。同时，由于 TSKgel Phenyl-5PW 填料具有较高的孔隙率，这使得非常大的蛋白质也能进入到孔内部，从而保证了高载样量。在三种 TSKgel HIC 色谱柱中，TSKgel Phenyl-5PW 色谱柱的疏水性最强，在生物分子的保留、选择性和回收率方面有独特的分离优势。

产品属性与规格
TSKgel Ether-5PW

| 属性 | 参数 |
|---------|----------|
| 孔径（平均值） | 100 nm |
| 粒径（平均值） | 10 μm |
| pH值范围 | 2.0-12.0 |
| 官能团 | 乙醚 |

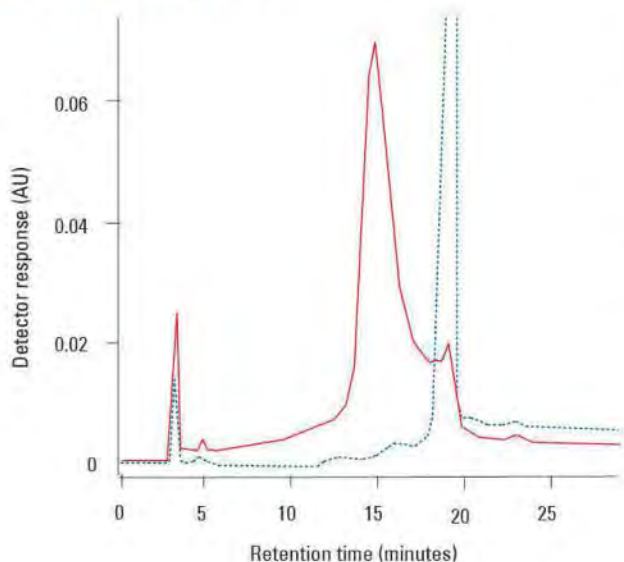
产品属性与规格
TSKgel Phenyl-5PW

| 属性 | 参数 |
|---------|---------------------|
| 孔径（平均值） | 100 nm |
| 粒径（平均值） | 10 μm, 13 μm及 20 μm |
| pH值范围 | 2.0 -12.0 |
| 官能团 | 苯基 |

抗生素

图5所示为TSKgel Ether-5PW色谱柱用于检测抗生素成分C-1027和C-1027-AG的相对纯度。抗生素C-1027由一个包含许多疏水性羟基氨基酸的蛋白质和一个非蛋白发色团组成。抗生素C-1027-AG是由疏水性羟基氨基酸组成，不含发色团。

图5: 抗肿瘤抗生素的纯化

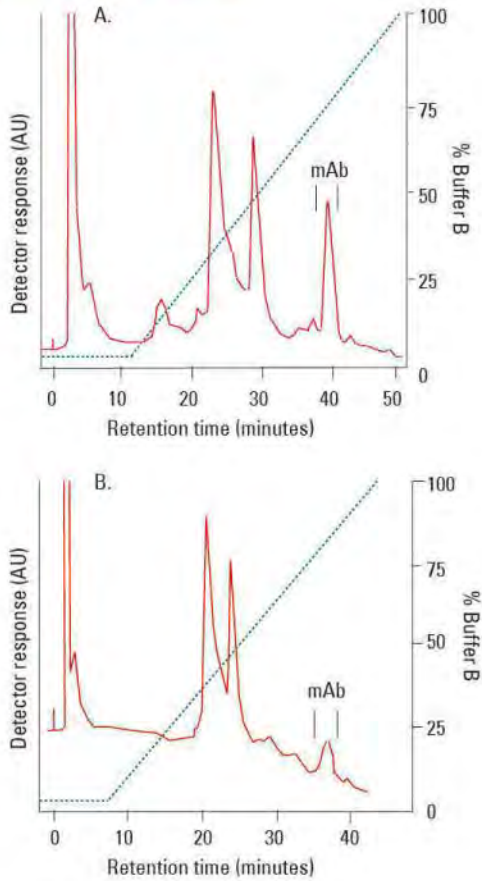


色 谱 柱: **TSKgel Ether-5PW (10 μm, 7.5 mm ID x 7.5 cm)**
 流 动 相: 线性梯度洗脱, 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液中 (NH₄)₂SO₄ 从 1.5 mol/L 线性减少到 0 mol/L, pH 7.0
 流 速: 0.8 mL/min
 检 测: UV (220 nm)
 进 样 量: 20 μL
 样 品: C-1027 ——— C-1027-AG - - - - -
 浓 度: 1 g/L

单克隆抗体

单克隆抗体 (mAb) 在许多癌症的研究、诊断和治疗应用中起着非常重要的作用。单克隆抗体通常是腹水液和细胞培养上清液中疏水性最强的蛋白质。图6显示了使用TSKgel Ether-5PW色谱柱筛选两种单克隆抗体的典型色谱图。

图6: 小鼠单克隆抗体的筛选



色谱柱: TSKgel Ether-5PW (10 μ m, 8.0mm ID x 7.5 cm)

流动相: 从 A 到 B 的线性梯度如下所示:

A: 0.05 mol/L 磷酸钠, pH 7.0+2.0 mol/L 硫酸铵
+1.0 mol/L 甘氨酸

B: 0.05 mol/L 磷酸钠, pH 7.0+1.0 mol/L 甘氨酸

流速: 10 mL/min

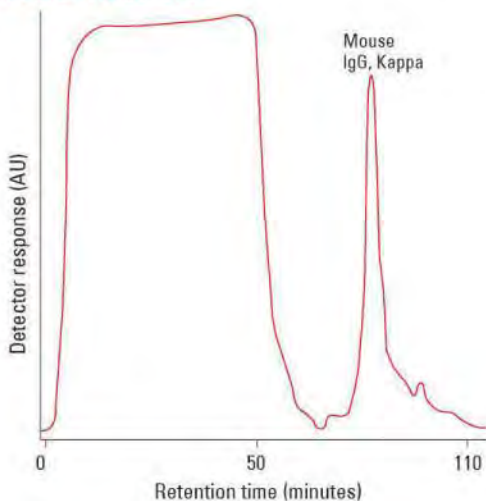
检测: UV (280 nm)

样品: A: 20 μ L 未平衡的小鼠 IgG_{2b} K 腹水

B: 20 μ L 未平衡的小鼠 IgM K 腹水

TSKgel Ether-5PW色谱柱已被成功地用于膜结合蛋白的纯化, 例如免疫球蛋白。图7为使用TSKgel Ether-5PW (玻璃材质) 纯化50 ml小鼠的IgG_{1k}单克隆抗体的分析实例。

图7: 单克隆抗体的纯化



色谱柱: TSKgel Ether-5PW (10 μ m, 8.0 mm ID x 7.5 cm)

流动相: 67.5分钟等度载入和洗涤, 使用含有 1 mol/L (NH₄)₂SO₄ 的 1 mol/L 甘氨酸, 0.5 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH7.0, 其次为 37.5分钟内 1.0 mol/L 甘氨酸中 (NH₄)₂SO₄ 从 1.0 mol/L 线性减少到 0 mol/L, 0.05 mol/L 磷酸盐, pH7.0

流速: 1.0 mL/min

检测: UV (280 nm), 3.0AUFS

进样量: 50 mL

样品: 25 mL 细胞培养上清原液

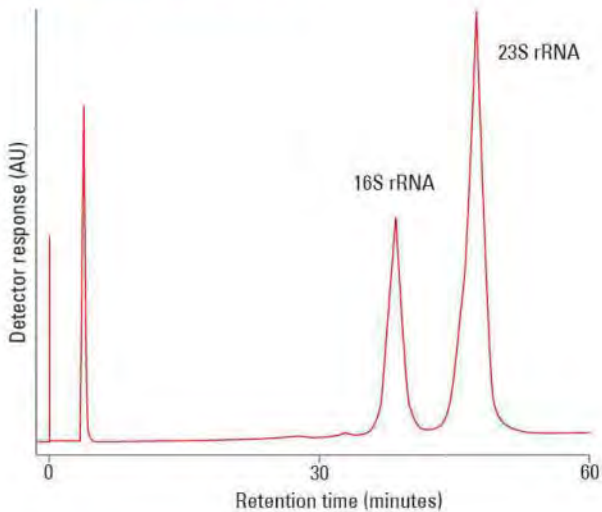
- 200 mg 总蛋白

- 使用初始洗脱缓冲液将 15 mg 总抗体稀释到 50 mL

RNA

图8中，使用TSKgel Phenyl-5PW色谱柱对16S和23S核糖体RNA进行分离。这些RNA近似的分子量分别为 5.6×10^5 和 1.1×10^6 Da。

图8: 核糖体 RNA的分析



色谱柱: TSKgel Phenyl-5PW (10 μ m, 7.5 mm ID x 7.5 cm)

流动相: 60分钟内 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液中 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 从 2 mol/L 线性减少到 0 mol/L, pH 7.0

流速: 0.5 mL/min

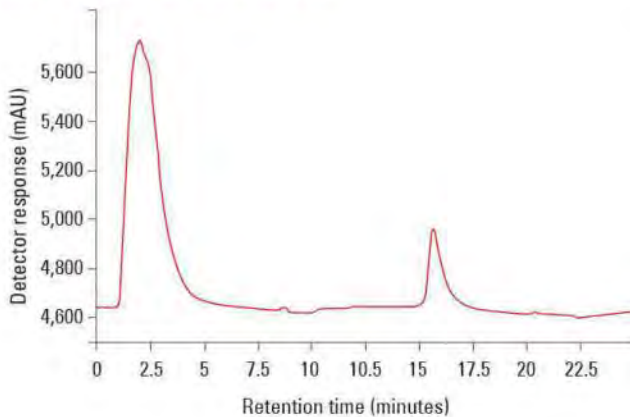
检测: UV (280 nm)

样品: 大肠杆菌的 16S 和 23S 核糖体 RNA, 0.1 mL 含有 0.05 mg

钙结合蛋白

钙结合蛋白参与信号传导的过程。豆蔻酰化频蛋白是钙结合蛋白中的一种，其在有钙存在的条件下具有突出的肉豆蔻酰基。利用这个特性可以通过疏水相互作用色谱法来纯化该蛋白。如图 9 所示，在 TSKgel Phenyl-5PW 色谱柱上（玻璃材质）采用分布梯度以纯化大肠杆菌裂解物粗样中的豆蔻酰化频蛋白。

图9: 豆蔻酰化频蛋白的纯化



色谱柱: TSKgel Phenyl-5PW (10 μ m, 5 mm ID x 5 cm)

流动相: 均衡使用 50 mmol/L HEPES, 100 mmol/L KCl, 1 mmol/L DTT, 1 mmol/L MgCl_2 , 1 mmol/L CaCl_2 , pH 7.5, 12.5 分钟内分步梯度采用 50 mmol/L HEPES, 1 mmol/L DTTI, 1 mmol/L MgCl_2 , 2 mmol/L EGTA, pH 7.5

流速: 1.0 mL/min

检测: UV (280 nm)

温度: 环境温度

样品: 含有豆蔻酰化频蛋白的大肠杆菌裂解物, 100 μ L

蛋白质：扩大至制备分离

图10比较了分析型和制备型TSKgel Phenyl-5PW色谱柱对标准蛋白的分辨率。两种不同粒径和尺寸的色谱柱分别采用不同的流速，结果表明两种色谱柱均获得了较高的分辨率。

图10：扩大至制备分离

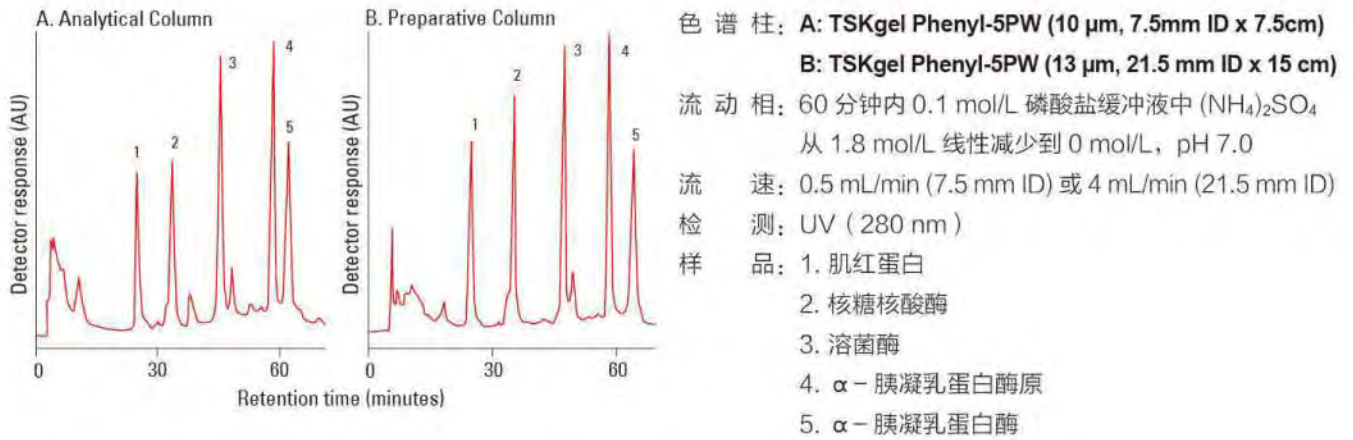
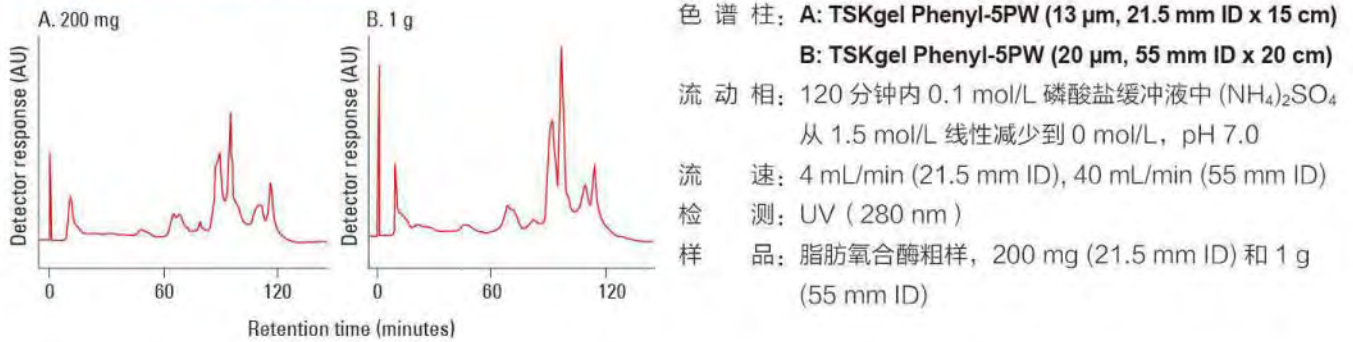


图11中，将200 mg和1 g脂肪氧化酶粗样分别注入尺寸为21.5 mm ID x 15 cm 的TSKgel Phenyl-5PW色谱柱和55 mm ID x 20 cm尺寸的色谱柱，并比较两者的分辨率。结果表明，尽管样品载量只扩大了5倍，色谱柱粒径从13 μm增加到20 μm并不影响分离效果。

图11：纯化不同进样量的蛋白质



产品一览表

TSKgel 亲和色谱柱

| 货号 | 产品描述 | 基质 | 柱身材质 | 内径 (mm) | 长度 (cm) |
|-------|---|-----|------|---------|---------|
| 14947 | TSKgel Butyl-NPR, 2.5 μm, 无孔 | 聚合物 | 不锈钢 | 4.6 | 3.5 |
| 42168 | TSKgel Butyl-NPR, 2.5 μm, 无孔 | 聚合物 | 不锈钢 | 4.6 | 10 |
| 14013 | TSKgel Ether-5PW 玻璃, 10 μm, 100 nm | 聚合物 | 玻璃 | 5 | 5 |
| 14014 | TSKgel Ether-5PW 玻璃, 10 μm, 100 nm | 聚合物 | 玻璃 | 8 | 7.5 |
| 18760 | TSKgel Ether-5PW, 10 μm, 100 nm | 聚合物 | 不锈钢 | 2 | 7.5 |
| 08641 | TSKgel Ether-5PW, 10 μm, 100 nm | 聚合物 | 不锈钢 | 7.5 | 7.5 |
| 42156 | 保护柱芯 (用于内径2 mm的TSKgel Ether-5PW分析柱, 3 pk, 10 μm) | — | — | — | — |
| 19308 | 保护柱套 (用于2 mm ID的保护柱) | — | 不锈钢 | 2 | 1 |
| 13063 | TSKgel Phenyl-5PW 玻璃, 10 μm, 100 nm | 聚合物 | 玻璃 | 5 | 5 |
| 08804 | TSKgel Phenyl-5PW 玻璃, 10 μm, 100 nm | 聚合物 | 玻璃 | 8 | 7.5 |
| 18759 | TSKgel Phenyl-5PW, 10 μm, 100 nm | 聚合物 | 不锈钢 | 2 | 7.5 |
| 07573 | TSKgel Phenyl-5PW, 10 μm, 100 nm | 聚合物 | 不锈钢 | 7.5 | 7.5 |
| 07656 | TSKgel Phenyl-5PW, 13 μm, 100 nm | 聚合物 | 不锈钢 | 21.5 | 15 |
| 42155 | 保护柱芯 (用于内径2 mm的TSKgel Phenyl-5PW分析柱, 3 pk, 10 μm) | 聚合物 | 不锈钢 | 2 | 1 |
| 19308 | 保护柱套 (用于2 mm ID的保护柱) | — | 不锈钢 | 2 | 1 |



TOSOH

**TOSOH CORPORATION
BIOSCIENCE DIVISION**

Address: Shiba-Koen First Bldg. 3-8-2 Shiba,
Minato-Ku, Tokyo 105-8623, Japan
TEL: +81-3-5427-5180 FAX: +81-3-5427-5220
E-mail: hlc@tosoh.co.jp
Website: www.separations.asia.tosohbioscience.com

TOSOH BIOSCIENCE LLC

Address: 3604 Horizon Drive, Suite 100 King of Prussia, PA 19406, USA
TEL: +1-484-805-1219 FAX: +1-610-272-3028
E-mail: info.tbl@tosoh.com
Website: www.tosohbioscience.com

TOSOH BIOSCIENCE GmbH

Address: Zettachring 6, 70567 Stuttgart, Germany
TEL: +49-711-13257-0 FAX: +49-711-13257-89
E-mail: Info.sep.eu@tosohbioscience.com
Website: www.tosohbioscience.com

TOSOH ASIA PTE. LTD

Address: 63 Market Street #10-03 Singapore 048942
TEL: +65-6226-5106 FAX: +65-6226-5215
E-mail: Info.tsas@tosoh.com
Website: www.separations.asia.tosohbioscience.com

东曹（上海）生物科技有限公司

地址：上海市虹梅路1801号A区凯科国际大厦10楼01室
电话：+86-21-3461-0856 传真：+86-21-3461-0858
电邮：info@tosoh.com.cn
网址：www.separations.asia.tosohbioscience.com

HLC、TSK-GEL、TSKgel、BioAssist、EcoSEC、Enantio、Enviropak、TOYOPEARL、TOYOPEARL MegaCap、ToyoScreen、TOYOPEARLPAK 和 TOYOPAK 均是 TOSOH 公司的注册商标。

未经 TOSOH 公司书面同意，本产品目录中的内容不得全部或部分使用或复制。
产品目录的内容可能会随时发生更改，恕不另行通知。

TOSOH 公司版权所有

