

使用条件及质量标准

OPERATING CONDITIONS and SPECIFICATIONS

TSKgel® Chelate-5PW / TSKgel® Chelate-5PW Glass

分析柱					连接方式/ 连接部件	对应的保护柱		
货号	产品名	色谱柱尺寸 内径 (mm) × 长度 (cm)	粒径 (μm)	柱身材质		货号	产品名	保护柱尺寸 内径 (mm) × 长度 (cm)
0008645	TSKgel Chelate-5PW	7.5 × 7.5	10	不锈钢	Ferrule 方式 1/16 英寸管路	0008647	TSKgel guardgel Chelate-5PW kit	6.0 × 1
0008646		21.5 × 15	13			-	-	-
0014440	TSKgel Chelate-5PW Glass	5.0 × 5	10	玻璃	Flange 方式 1/4 英寸-28UNF	-	-	-
0014441		8.0 × 7.5				-	-	-

该 OCS 表记载了色谱柱简易使用条件及方法。详细的使用方法请参阅使用说明书。

A. 使用条件及方法

- 出厂溶剂 10mmol/L 醋酸盐缓冲溶液 (pH4.5)
- 最大压降、最大流速、推荐流速及溶剂替换流速

货号	产品名	色谱柱尺寸 内径 (mm) × 长度 (cm)	最大压降 (MPa)	最大流速 (mL/min)	推荐流速 (mL/min)	溶剂替换流速 (mL/min)
0008645	TSKgel Chelate-5PW	7.5 × 7.5	1.0	1.2	0.5 ~ 1.0	≤ 0.3
0008646		21.5 × 15	1.5	8	4 ~ 6	≤ 2
0014440	TSKgel Chelate-5PW Glass	5.0 × 5	2.0	1.0	0.5 ~ 0.8	≤ 0.3
0014441		8.0 × 7.5	1.5	1.2	0.5 ~ 1.0	

注 柱压根据流动相的种类 (缓冲溶液、盐浓度以及有机溶剂浓度)、柱温以及梯度条件不同而不同。
如果超过最大压降, 请降低流速。特别是玻璃色谱柱, 请务必降低流速, 否则可能会破裂。

3. 流动相

- 水、盐溶液以及缓冲溶液
- 含 20% 以下水溶性有机溶剂的溶液
- pH 2.0 ~ 12.0

注 1 建议使用超纯水或同等级别的水。建议使用特级或 HPLC 级别的有机溶剂或试剂。

注 2 先用水替换出厂溶剂, 再用流动相替换水。

注 3 使用含有机溶剂的溶液时, 请注意盐析。

4. 使用温度范围

4 ~ 45 °C

5. 使用方法

- 添加金属离子
 - 替换成初始流动相, 即金属离子与蛋白质易结合的中性缓冲溶液 (pH7.0~8.0)。
典型的初始流动相如下所示:

例 1 20mmol/L Tris-HCl 缓冲溶液 + 0.5mol/L 氯化钠 (pH8.0)

例 2 20mmol/L 磷酸盐缓冲溶液 + 0.5mol/L 氯化钠 (pH7.0)

- 注入金属离子 (Cu²⁺、Zn²⁺、Ni²⁺、Co²⁺ 等) 溶液。

注 1 金属离子的结合量为每 1 mL 色谱柱体积约 20 μmol。

注 2 结合金属离子时, 请不要使用 EDTA 以及柠檬酸等螯合剂。另外, 如果使用 Cu²⁺ 和 Zn²⁺, 为了防止离子交换作用, 请在流动相中添加 0.5 ~ 1.0mol/L 的氯化钠。

- 吸附蛋白质

注入样品, 吸附蛋白质。

- 洗脱蛋白质

- 利用浓度梯度进行洗脱

可以利用甘氨酸、组胺、咪唑或氯化铵等浓度梯度进行洗脱。

典型的洗脱用流动相如下所示, 洗脱的最佳条件根据蛋白质样品性质不同而不同。

例 1 20mmol/L Tris-HCl 缓冲溶液 + 0.5mol/L 氯化钠 + 0.2 ~ 0.5 mol/L 甘氨酸 (pH8.0)

例 2 20mmol/L 磷酸盐缓冲溶液 + 0.5mol/L 氯化钠 + 20mmol/L 咪唑 (pH7.0)

- 利用 pH 梯度进行洗脱

在酸性条件下, 金属离子与蛋白质的结合力会下降。因此, 可以通过流动相的 pH 值从中性变化为酸性的 pH 梯度 (代表性例子, 如从 pH 7.0 变化成 pH 3.0) 进行洗脱。

- 利用螯合剂进行洗脱

用含有 EDTA 以及 EGTA 等螯合剂的流动相进行洗脱。此条件下, 蛋白质与金属离子结合在一起被洗脱, 因此不论是哪一种, 都会被洗脱。

- 替换金属离子

去除结合的金属离子, 以及替换结合的金属离子种类时实施此方法。

注入 10 ~ 20 mL 含 50mmol/L EDTA 和 0.5mol/L 氯化钠的水溶液 (21.5mm × 15cm 色谱柱时, 130 ~ 150mL) 清洗色谱柱。

6. 保存

- 步骤:

1) 使用盐溶液作为流动相时, 请用水替换。

2) 先用出厂溶剂替换色谱柱内溶剂后, 从仪器上卸下色谱柱, 用保护塞密封色谱柱两端, 然后进行保存。

注 请注意溶剂替换流速。

- 保存温度: 15 ~ 30 °C

7. 清洗 请先使用方法（1）和（2）进行清洗，然后确认色谱柱性能，如果没有恢复，请使用方法（3）和（4）进行清洗。另外，由于尿素或中性表面活性剂可能会残留在色谱柱上，请先按照方法（1）～（3）清洗，如果色谱柱性能仍不能恢复，可考虑采用方法（4）。
- （1）去除离子性杂质
高盐浓度的流动相或酸性水溶液清洗。如果含有有机溶剂，请注意盐析。
- （2）去除疏水性杂质
含有机溶剂的溶液清洗。请注意盐析。
- （3）使用方法（1）和（2）清洗后，色谱柱性能无法恢复时的清洗方法
请采用进样的方式注入 0.1~0.2 mol/L 的氢氧化钠水溶液或 20~40 % 的醋酸水溶液反复清洗。
- （4）去除难溶性蛋白质
含 6~8 mol/L 尿素或 0.2~0.3 % 中性表面活性剂（Triton、Tween、Brij 等）的溶液清洗。
- 注 1 根据杂质的性质，即使清洗色谱柱后，也有可能不能恢复其性能。
注 2 清洗色谱柱时的流速与溶剂替换流速一致。
8. 保护柱 如果分析柱有对应的保护柱，为了保护分析柱，请尽量使用保护柱。
9. 废弃注意事项 填料为可燃性乙烯基共聚物。
废弃时，请参阅使用说明书中记载的注意事项。

Triton 是 Union Carbide Corporation 的注册商标。

Tween 是 Croda International Plc 的注册商标。

Brij 是 Croda Americas LLC 的注册商标。

TSKgel 是东曹株式会社在中国、日本、美国、欧盟等的注册商标。

B. 质量标准

该色谱柱的质量标准如下：检测条件和检测结果，记载在柱盒内的 INSPECTION DATA SHEET 中。

货号	产品名	色谱柱尺寸	理论塔板数	不对称因子
		内径 (mm) × 长度 (cm)		
0008645	TSKgel Chelate-5PW	7.5 × 7.5	≥ 1300	0.8 ~ 1.6
0008646		21.5 × 15	≥ 2500	
0014440	TSKgel Chelate-5PW Glass	5.0 × 5	≥ 500	0.7 ~ 1.6
0014441		8.0 × 7.5	≥ 1300	

