

慧德易电子期刊

H&E Electronic Journal

第七十三期

超高效液相尺寸排阻色谱柱

——TSKgel UP-SW3000



2015-7

超高效液相尺寸排阻色谱柱——TSKgel UP-SW3000

抗体药物中使用的单克隆抗体，在生产、贮藏或运输过程中可能会形成二聚体等凝聚物，存在引发不良反应的风险因素，故在质量控制中采用体积排阻色谱法（SEC）对单克隆抗体进行分离分析。现有的 TSKgel G3000SWXL 色谱柱常用于此用途，但仍需要更高分离度以及更短分析时间的 SEC 分析技术。现在 2 μm 粒径的高性能 SEC 色谱柱 TSKgel UP-SW3000 已实现了商品化，给您带来更高效更快捷的分离体验！



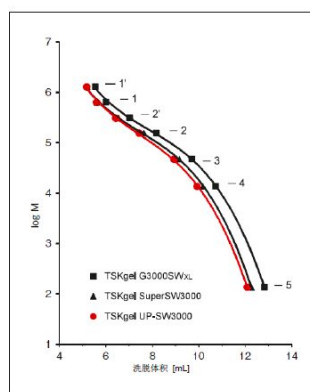
TSKgel UP-SW3000 色谱柱，采用粒径为 2 μm ，键合了二醇基的硅胶颗粒充填，用于生物大分子分离用的尺寸排阻色谱分析柱。

超高效液相尺寸排阻色谱柱

TSKgel UP-SW3000 填料特性

| | |
|--------|------------------|
| 名称 | TSKgel UP-SW3000 |
| 基质 | 硅胶 |
| 官能团 | 二醇基 |
| 粒径 | 2 μm |
| 孔径 | 25nm |
| 分子量排阻限 | 800 kDa |
| 分离范围 | 10-500 kDa |

采用标准蛋白质制成的校正曲线对比



(检测条件)

色谱柱: TSKgel UP-SW3000
(2 μm , 4.6 mm I.D. \times 30 cm)
TSKgel SuperSW3000
(4 μm , 4.6 mm I.D. \times 30 cm)
TSKgel G3000SWXL
(5 μm , 7.8 mm I.D. \times 30 cm)

洗脱液: 100 mmol/L 磷酸缓冲液 (pH 6.7)
+ 100 mmol/L 硫酸钠
+ 0.05% 叠氮化钠

流速: A, B) 0.35 mL/min, C) 1.0 mL/min
温度: 25 $^{\circ}\text{C}$

检测波长:

UV 280 nm

进样量: A, B) 微型比色皿, C) 标准比色皿

10 μL

样品:

1. 甲状腺球蛋白, 640,000 Da
(1° 甲状腺球蛋白的二聚体)
2. γ -球蛋白, 155,000 Da
(2° γ -球蛋白的二聚体)
3. 卵清蛋白, 47,000 Da
4. 核糖核酸酶 A, 13,700 Da
5. 对氨基苯甲酸, 137 Da

超高效液相尺寸排阻色谱柱

TSKgel UP-SW3000 色谱柱特点

1. 填料粒径 $2\mu\text{m}$ ，针对蛋白质、抗体、酶等生物大分子进行快速分析（15cm 规格柱）以及高分辨率分析（30cm 规格柱）。
2. 与 TSKgel SW 系列色谱柱具有相同的填料表面特性。
3. 填料的特性（孔隙容量、校正曲线的斜率等）与 TSKgel G3000SWXL 相同，所以非常适合用来分离抗体（IgG）二聚体、单体、抗体片段。
4. UHPLC 和常规 HPLC 系统都可兼容。

为了充分发挥色谱柱的性能，建议使用死体积小（管路体积、检测池体积小）的分析系统。



超高效液相尺寸排阻色谱柱

TSKgel UP-SW3000 主要分析对象和用途

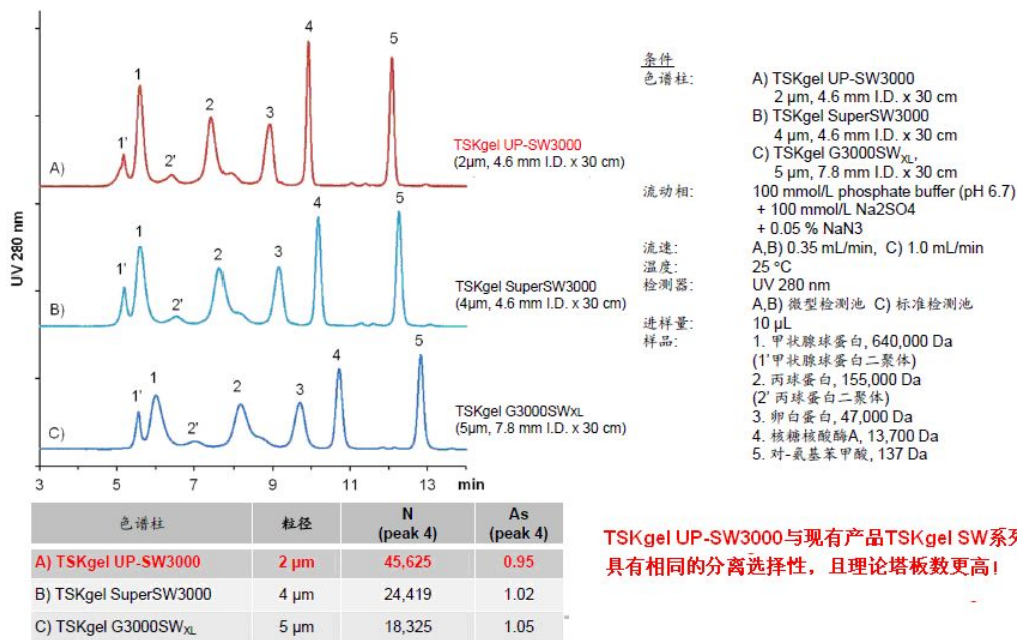
1. 蛋白质（抗体、酶）；
2. 蛋白质的多聚体、片段；
3. 重组蛋白的多聚体、片段的分离；
4. 纯度检验；
5. 快速分析；
6. 质量控制；



超高效液相尺寸排阻色谱柱

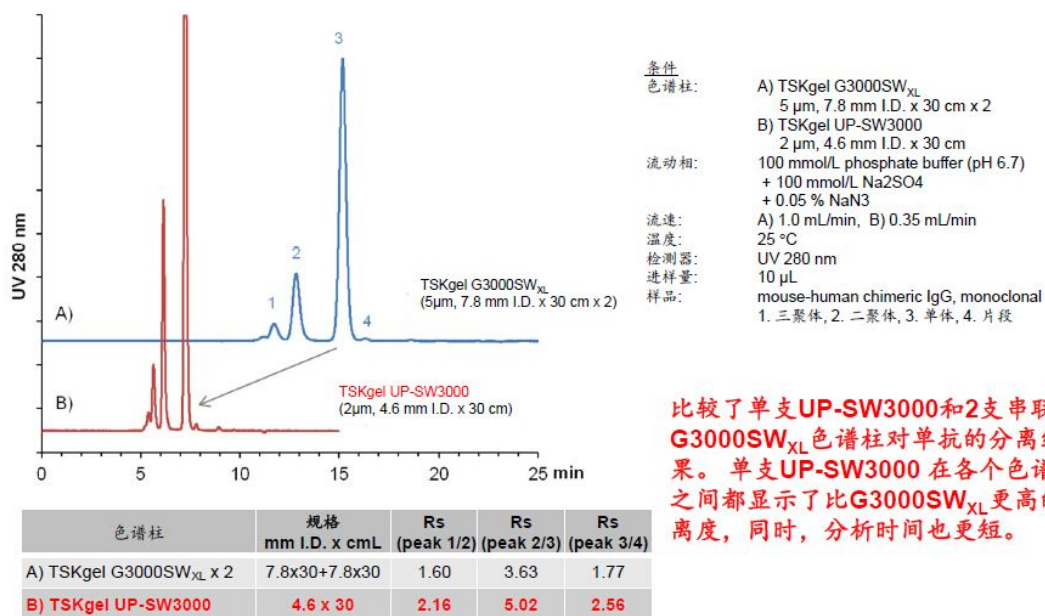
TSKgel UP-SW3000 应用实例

1. 对标准蛋白质的分离（与现有产品 SW 系列色谱柱的比较）



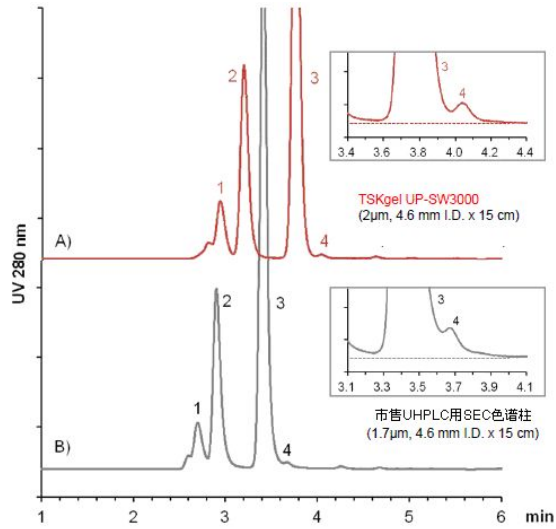
TSKgel UP-SW3000与现有产品TSKgel SW系列色谱柱具有相同的分离选择性，且理论塔板数更高！

2. 与 G3000SWXL 的对比（治疗性抗体的分离）



比较了单支UP-SW3000和2支串联G3000SW_{XL}色谱柱对单抗的分离结果。单支UP-SW3000在各个色谱峰之间都显示了比G3000SW_{XL}更高的分离度，同时，分析时间也更短。

3. 对单克隆抗体的分离（与市售色谱柱比较）



色 谱 柱: A) TSKgel UP-SW3000 (2 μ m, 4.6 mm I.D. X 15 cm)
 B) 市售UHPLC用SEC色谱柱 (1.7 μ m, 4.6 mm I.D. X 15 cm)

淋 洗 液: 100 mmol/L磷酸缓冲液 (pH 6.7) + 100 mmol/L 硫酸钠 + 0.05%叠氮钠

流 速: 0.35 mL/min

温 度: 25 $^{\circ}$ C

检 测 器: UV (280 nm)

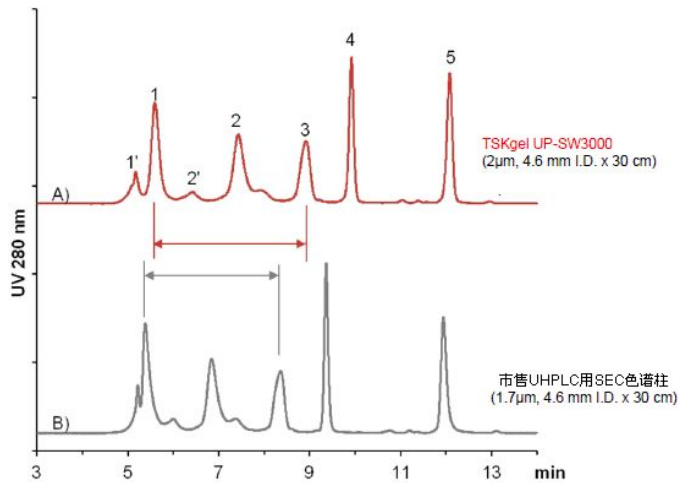
进 样 量: 5 μ L

样 品: 鼠-人 嵌合抗体
 1. 三聚体 2. 二聚体 3. 单体 4. 片段

**TSKgel UP-SW3000对单抗的三聚体/二聚体/单体的分离效果更优异。
对单体/片段也表现出良好的分离性能。**

| 色谱柱 | Rs (peak 1/2) | Rs (peak 2/3) |
|-------------------------|------------------|------------------|
| A) TSKgel UP-SW3000 | 1.52 | 3.56 |
| B) commercial UHPLC-SEC | 1.25 | 3.47 |

4. 对标准蛋白质的分离（与市售色谱柱比较）



条 件

色 谱 柱: A) TSKgel UP-SW3000, 2 μ m
 B) 市售UHPLC用SEC色谱柱

色 谱 柱 尺 寸: 4.6 mm I.D. x 30 cm

流 动 相: 100 mmol/L phosphate buffer (pH 6.7)
 + 100 mmol/L Na₂SO₄
 + 0.05 % NaN₃

流 速: 0.35 mL/min

温 度: 25 $^{\circ}$ C

检 测 器: UV 280 nm, 微型检测池

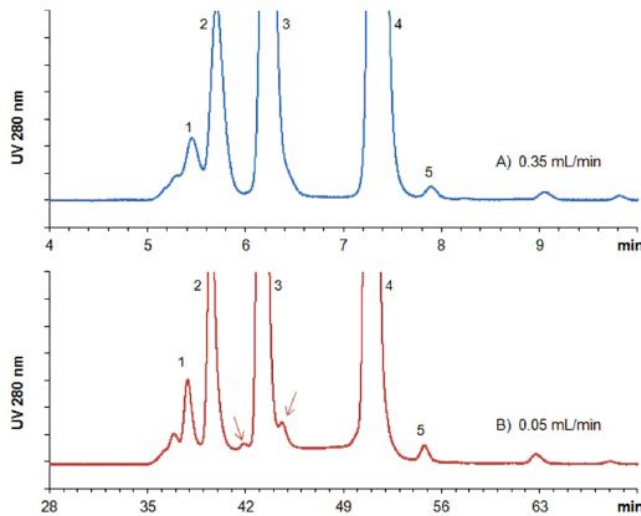
进 样 量: 10 μ L, 通过Rheodyne Model 8125进样

样 品: 1. 甲状腺球蛋白, 640,000 Da
 (1' 甲状腺球蛋白二聚体)
 2. 丙球蛋白, 155,000 Da
 (2' 丙球蛋白二聚体)
 3. 卵白蛋白, 47,000 Da
 4. 核糖核酸酶 A, 13,700 Da
 5. 对-氨基苯甲酸, 137 Da

UP-SW3000色谱柱在甲状腺球蛋白, 1号峰和丙球蛋白, 2号峰上显示出更高的分离度, 同时, 也显示出更高的排阻极限。

| 色谱柱 | N (peak 4) | As (peak 4) | 压力 |
|-------------------------|---------------|----------------|--------|
| A) TSKgel UP-SW3000 | 48,896 | 1.14 | 30 MPa |
| B) commercial UHPLC-SEC | 57,668 | 1.15 | 33 MPa |

5. 低流速下的高分辨率



条件
 色谱柱: TSKgel UP-SW3000
 2 μ m, 4.6 mm I.D. x 30 cm
 流动相: 100 mmol/L phosphate buffer (pH 6.7)
 + 100 mmol/L Na₂SO₄
 + 0.05 % NaN₃
 流速: A) 0.35 mL/min, B) 0.05 mL/min
 温度: 25 °C
 检测器: UV 280 nm, 微型检测池
 进样量: 10 μ L, (Rheodyne Model 8125)
 样品: mouse-human chimeric IgG, monoclonal
 1. 四聚体
 2. 三聚体
 3. 二聚体
 4. 单体
 5. 片段

- 将流速降低至0.05 mL/min 时, 从四聚体到单体和片段都获得了更好的分离度。
- 出现了五聚体峰, 在二聚体之前和之后也分别分离出小峰。

| 流速 | R _s (peak 1/2) | R _s (peak 2/3) | R _s (peak 3/4) | R _s (peak 4/5) |
|----------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| A) 0.35 mL/min | 0.88 | 2.20 | 5.07 | 2.52 |
| B) 0.05 mL/min | 1.49 | 3.51 | 7.00 | 3.34 |

超高效液相尺寸排阻色谱柱

TSKgel UP-SW3000 订购信息

| 货号 | 描述 |
|--------|---|
| 分析柱 | |
| 023449 | TSKgel UP-SW3000, 2 μ m, 4.6 \times 150mm |
| 023448 | TSKgel UP-SW3000, 2 μ m, 4.6 \times 300mm |
| 保护柱 | |
| 023450 | TSKgel guardcolumn UP-SW, 4.6 \times 20mm |
| 023451 | TSKgel guardcolumn UP-SW DC*, 4.6 \times 20mm |

注: * UP-SW DC 可以不用连接管路, 直接与分析柱相连。

* 两种保护柱均可搭配任意一款分析柱使用

北京慧德易作为东曹 (TOSOH) 公司产品的一级代理, 竭诚为您服务! 可提供东曹公司聚合物基质层析填料的小包装试用, 欢迎索取!

北京慧德易携手深圳华创精科生物技术有限责任公司,为客户提供从中试服务到全套层析设备的选型、设计全方位层析一站式解决方案。华创精科的前身为北京慧德易科技有限责任公司层析设备工程部,是在北京慧德易多年来在色谱层析方面的经验技术基础上,经过重组、增资、引入自运化控制理论和精密制造技术核心技术团队后重新组建的专业的层析和生物下游分离技术的研发和生产企业。

经过短短几年的时间,在层析相关核心技术取得突破性进展,获得多项国家专利,一跃成为国内此领域的领军企业,产品已经销售给国内几十家著名生物制药企业,同时出口日本、印度等海外市场。



如需试用或者更详细的资料,请联系我们!

北京慧德易科技有限责任公司

咨询电话: 010-59812370/1/2/3

服务热线: 4008-111-326

公司官网: www.prep-hplc.com

微信公众号: 北京慧德易

