



# TSKgel离子交换色谱柱产品目录



**TOSOH BIOSCIENCE**

# TSKgel离子交换色谱柱

## 离子交换色谱法

离子交换色谱法（IEC）是生物大分子分离和纯化最常用的色谱模式之一。它是一种非变性分析技术，可用于各个阶段和不同规模的纯化：从微观规模的纯化到工业规模的下游工艺。

东曹生命科学（Tosoh Bioscience）不仅拥有分析型和半制备型离子交换HPLC色谱柱，同时还提供生物分子大规模纯化用的离子交换层析填料。

TSKgel HPLC色谱柱填充了硅胶或聚合物基质的表面多孔颗粒或无孔颗粒，广泛应用于研发、质控或反应监测等各个方面。

有关TSKgel和TOYOPEARL中低压层析填料的详细信息，请参阅我司的《TOYOPEARL层析填料综合目录》。



## IEC 工作原理

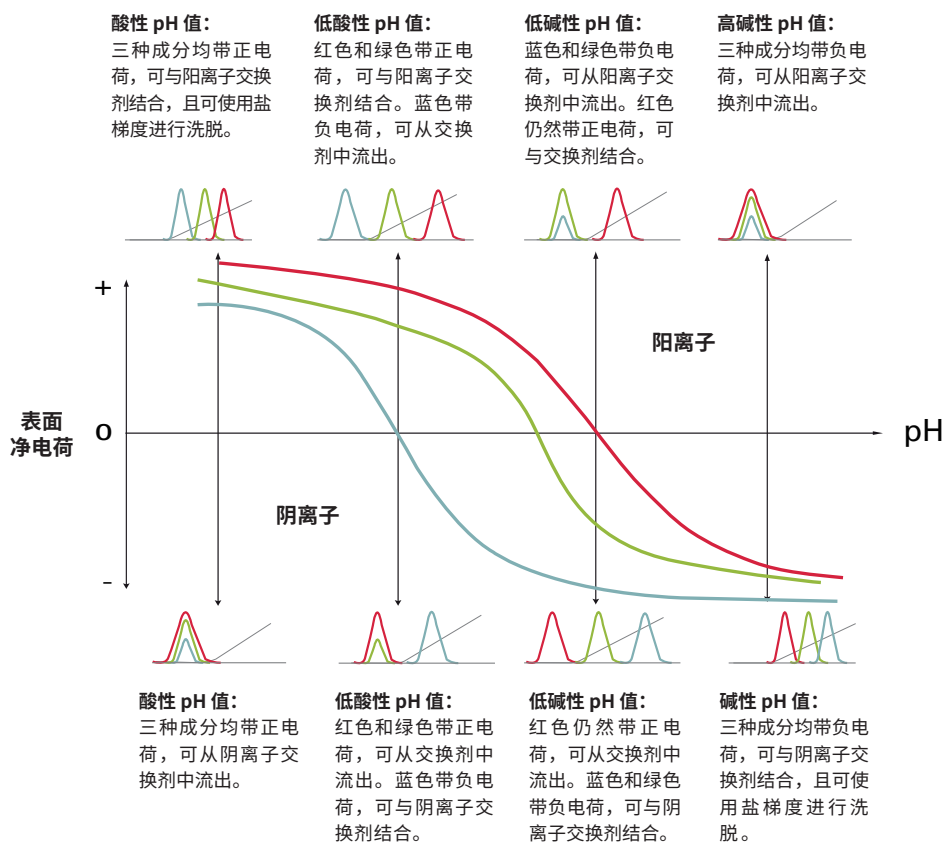
IEC是基于离子相互作用对分子进行保留。固定相表面的离子官能团与带相反电荷的分析物离子相互作用。IEC可进一步分为阳离子交换色谱和阴离子交换色谱。

阴离子交换介质拥有带正电荷的基团，可吸引带负电荷的阴离子。阳离子交换树脂拥有带负电荷的基团，可吸引带正电荷的阳离子。带电目标分子保留在固定相上，可以通过增加相似带电离子的浓度，从固定相上置换出分析物或目标离子实现洗脱。

蛋白质具有各种带正电荷或负电荷的官能团。IEC基于蛋白质的表面净电荷来分离蛋白质，而表面净电荷取决于流动相的pH值和离子强度。根据总电荷和表面电荷分布的差异，蛋白质可以通过IEC分离。

IEC的分离原理是，某一特定蛋白质其表面净电荷与pH之间的关系具有唯一性。pH值等于等电点时，蛋白质不带净电荷，不会与带电的固定相相互作用。pH值高于pI时，蛋白质带负电荷，会与带正电荷的阴离子交换剂结合。pH值低于pI时，蛋白质带正电荷，会与带负电荷的阳离子交换剂相互作用。调节流动相的pH值或盐浓度，可以优化分离结果。进样时，所选pH值和离子强度应使目标分子或分析物与固定相结合（图1）。

图1.



## TSKgel 离子交换色谱柱介绍

常用的洗脱方法主要是使用盐梯度改变流动相的离子强度来进行洗脱。随着流动相的盐浓度增加，盐离子会与所结合的分子争夺固定相的官能团。分子的净电荷越高，洗脱所需的盐浓度也越高。洗脱结束时，使用超高盐浓度的缓冲液执行清洗步骤，可清除结合异常紧密的化合物。

离子交换树脂分为弱离子交换树脂和强离子交换树脂。强和弱并非指树脂的性能或树脂与目标物之间相互作用的强度。“强”和“弱”是指离子交换容量随pH值变化的程度。强离子交换基团具有陡峭的滴定曲线。其电离状态不随pH值变化，且在较宽的pH值范围内保持完整电荷。

典型的强阴离子交换基团是季胺基（Q和QAE型），典型的强阳离子交换基团是磺基或磺丙基（S和SP型）。羧甲基（CM，阳离子）和二乙氨基乙基（DEAE，阴离子）是弱离子交换基团。图2所示为配体的pKa值。

图2.

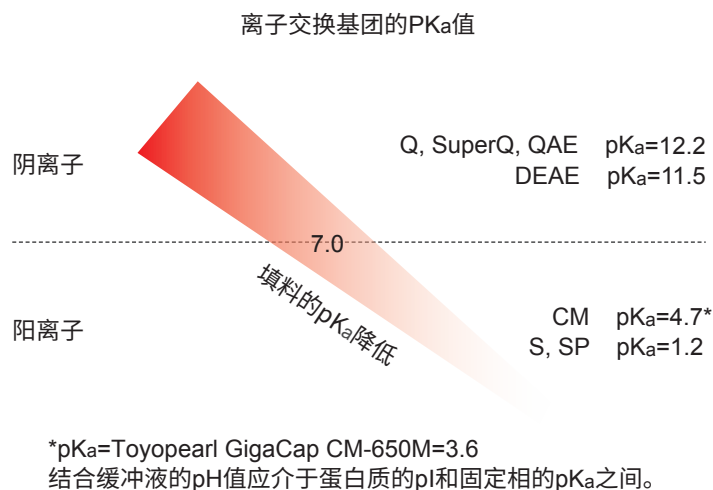


表1.

阳离子交换基团		结构
羧甲基 (CM)	弱	-O-CH <sub>2</sub> COO
磺丙基 (SP)	强	-O-R-O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -SO <sub>3</sub>
阴离子交换基团		
二乙氨基乙基 (DEAE)	弱	-O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -N <sup>+</sup> -(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub>
季铵 (Q)	强	-O-R-N <sup>+</sup> -(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>
季氨基乙基 (QAE)	强	-O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -N <sup>+</sup> H-(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>

## TSKgel 离子交换色谱柱介绍

东曹生命科学提供多种高性能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、硅胶和聚苯乙烯。填料粒径范围为2.5 μm（快速分析用）到20 μm（制备用）。TSKgel IEC色谱柱常用于分离分析蛋白质、肽、寡核苷酸和核酸等样品。

### TSKgel 阳离子交换色谱柱

色谱柱名称	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2.5μm，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。

### TSKgel 阴离子交换色谱柱

色谱柱名称	类型、基质	优势
Q-STAT DNA-STAT	强阴离子 (Q-STAT) 强阴离子 (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2.5μm，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离子交换色谱柱

## 色谱柱性能参数

### TSKgel 阴离子交换色谱柱

类型	基质	粒径 (µm)	孔径 (nm)	官能团	抗衡离子	排阻限 PEG**(Da)	蛋白容量 (mg BSA/mL)	离子交换容量 Meq/mL	pKa	柱身材质***
BioAssist Q	pMA	10、13	~400	多胺	Cl <sup>-</sup>	>5000000	70	0.1	9.4	PEEK
SuperQ-5PW	pMA	10、13	100	三甲氨基	Cl <sup>-</sup>	1000000	100	>0.13	12.2	S, G
DEAE-5PW	pMA	10、13、20	100	DEAE	Cl <sup>-</sup>	1000000	30	0.1	11.5	S, G
Q-STAT	pMA	7、10	无孔	三甲氨基	Cl <sup>-</sup>	500	20	0.27	10.5	S
DNA-STAT	pMA	5	无孔	三甲氨基	Cl <sup>-</sup>	500	35	0.27	10.5	S
DEAE-NPR	pMA	2.5	无孔	DEAE	Cl <sup>-</sup>	500	5	>0.1	11.2	S
DNA-NPR	pMA	2.5	无孔	专有	ClO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	500	5	>0.1	11.2	S
DEAE-2SW	硅胶	5	12.5	DEAE	H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	10000	ND	>0.3	11.2	S
DEAE-3SW	硅胶	10	25	DEAE	Cl <sup>-</sup>	30000	ND	>0.3	11.2	S
Sugar AXI	PS-DVB	8	6	三甲氨基	HBO <sub>3</sub> <sup>-</sup>		ND	>1.2	12.5	S
Sugar AXG	PS-DVB	10	6	三甲氨基	HBO <sub>3</sub> <sup>-</sup>		ND	>1.2	12.5	S
SAX	PS-DVB	5	6	三甲氨基	Cl <sup>-</sup>		ND	>1.0	12.5	S

### TSKgel 阳离子交换色谱柱

类型	基质	粒径 (µm)	孔径 (nm)	官能团	抗衡离子	排阻限 PEG**(Da)	蛋白容量 (mg BSA/mL)	离子交换容量 Meq/mL	pKa	柱身材质***
BioAssist S	pMA	7、13	~130	磺丙基	Na <sup>+</sup>	~4000000	70	0.1	2.4	S, G
SP-5PW	pMA	10、13、20	100	磺丙基	Na <sup>+</sup>	1000000	40	>0.1	2.3	S, G
CM-5PW	pMA	10、13	100	羧甲基	Na <sup>+</sup>	1000000	45	>0.1	4.2	S
SP-STAT	pMA	7、10	无孔	磺丙基	Na <sup>+</sup>	500	10	>0.023	4.0	S
CM-STAT	pMA	7、10	无孔	羧甲基	Na <sup>+</sup>	500	15	>0.1	4.9	S
SP-NPR	pMA	2.5	无孔	磺丙基	Na <sup>+</sup>	500	5	>0.1	2.3	S
SP-2SW	硅胶	5	12.5	磺丙基	Na <sup>+</sup>	10000	ND	0.3	2.2	S
CM-2SW	硅胶	5	12.5	羧甲基	Na <sup>+</sup>	10000	110	>0.3	4.2	S
CM-3SW	硅胶	10	25	羧甲基	Na <sup>+</sup>	30000	ND	>0.3	4.2	S
SCX	PS-DVB	5	6	磺酸	Na <sup>+</sup> 、H <sup>+</sup>		ND	>1.5		S

\* pMA=聚甲基丙烯酸酯; PS-DVB=聚苯乙烯-二乙烯基苯      \*\*PEG=聚乙二醇

\*\*\*PEEK=聚醚醚酮, S=不锈钢, G=玻璃 (1) γ球蛋白; (2) 血红蛋白; (3) 溶菌酶

## 色谱柱的选择

样品类型	MW范围 (Da)	适用的TSKgel色谱柱	pH范围
<b>氨基酸、肽和蛋白质</b>			
氨基酸	< 2,000	SAX SCX	1.0 - 14.0 1.0 - 14.0
肽和小分子蛋白质	< 10,000	Q-STAT SP-STAT CM-STAT SCX SP-2SW CM-2SW DEAE-2SW	3.0 - 10.0 3.0 - 10.0 3.0 - 10.0 1.0 - 14.0 2.0 - 7.5 2.0 - 7.5 2.0 - 7.5
蛋白质	< 10,000 ~ 5,000,000	BioAssist S BioAssist Q Q-STAT SP-5PW DEAE-5PW CM-5PW SP-STAT CM-STAT SP-NPR DEAE-NPR SuperQ-5PW	2.0 - 12.0 2.0 - 12.0 3.0 - 10.0 2.0 - 12.0 2.0 - 12.0 2.0 - 12.0 3.0 - 10.0 3.0 - 10.0 2.0 - 12.0 2.0 - 12.0 2.0 - 12.0
<b>核酸</b>			
嘌呤和嘧啶		DEAE-2SW SP-2SW	2.0 - 7.5 2.0 - 7.5
核苷		SP-2SW DEAE-2SW	2.0 - 7.5 2.0 - 7.5
核苷酸		Q-/DNA-STAT DEAE-2SW	3.0 - 10.0 2.0 - 7.5
寡核苷酸		Q-/DNA-STAT DEAE-5PW DEAE-NPR DNA-NPR SuperQ-5PW	3.0 - 10.0 2.0 - 12.0 2.0 - 12.0 2.0 - 12.0 2.0 - 12.0
<b>DNA、RNA和PCR产物</b>			
		Q-/DNA-STAT DNA-NPR DEAE-NPR DEAE-5PW DEAE-3SW	3.0 - 10.0 2.0 - 12.0 2.0 - 12.0 2.0 - 12.0 2.0 - 7.5
<b>其他分子</b>			
单糖和双糖		Sugar AXI, AXG SCX SAX	1.0 - 14.0 1.0 - 14.0 1.0 - 14.0

## TSKgel STAT 系列色谱柱

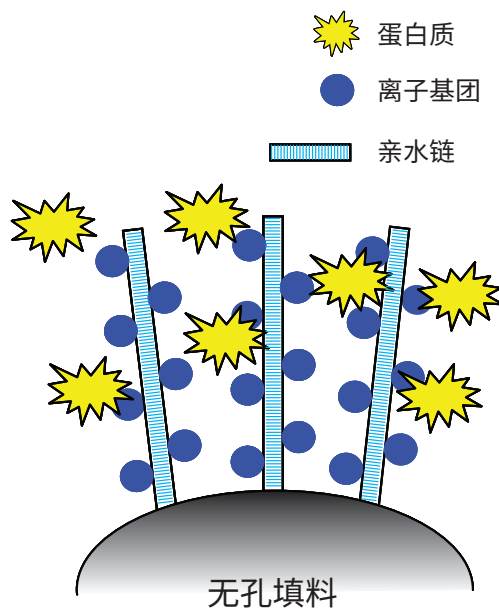
TSKgel STAT系列色谱柱主要用于分离生物分子和小分子化合物，性能卓越，分析时间更短。STAT色谱柱有多种规格以及粒径（5、7和10 μm）以满足特定的应用需求。

亲水性无孔颗粒的表面由开放式网络的多层离子交换基团构成（羧甲基、磺丙基或季胺基团，图3）。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。

使用粒径为10 μm的短柱（3 mmID×3.5 cm L）可实现快速和超快速的IEC分析，非常适合用于快速筛选候选药物或过程监控。粒径为7 μm，4.6 mmID×10 cm L的长色谱柱主要用于高分辨率IEC分析。此类色谱柱适合分析核酸、mAb异构体、蛋白质多聚体或PEG化蛋白。DNA-STAT色谱柱的填料为5 μm Q型离子交换树脂，该色谱柱针对核酸分析进行了专门优化。

图3.

TSKgel STAT色谱柱填料的结构示意图



### TSKgel STAT系列色谱柱的优势

- 新型的化学键合方式且无任何微细孔隙，可实现高效、快速的色谱分析
- HPLC和UHPLC系统下分析生物分子更快、分辨率更高
- 相较于小粒径的TSKgel NPR色谱柱，吸附容量更高、压力更低
- 阴离子交换分析柱TSKgel Q-STAT（7 μm或10 μm）、TSKgel DNA-STAT（5 μm）
- 阳离子交换分析柱TSKgel SP-STAT、TSKgel CM-STAT（7 μm或10 μm）

# TSKgel STAT 系列色谱柱

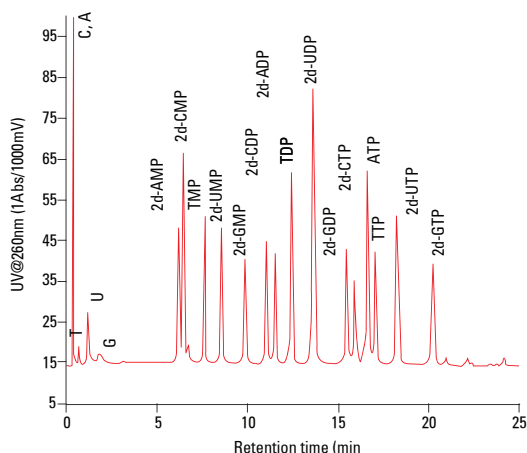
## TSKgel STAT阴离子交换色谱柱的应用

### 核苷酸的分离

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4所示，对称的窄峰表明此款无孔填料色谱柱不存在任何微小的孔隙。TSKgel DNA-STAT是分析大型核酸片段的首选色谱柱。

图4.

### 核苷酸的高分辨率分析



#### 色谱柱:

TSKgel DNA-STAT (5  $\mu$ m, 4.6 mmID $\times$ 10 cm L)

#### 流动相:

A: 20 mmol/L Tris-HCL(pH 8.5)  
B: 含0.75 mol/L NaCl的缓冲溶液A

梯度: 50% B (0 min) , 75% B (25 min)

流速: 0.8 mL/min

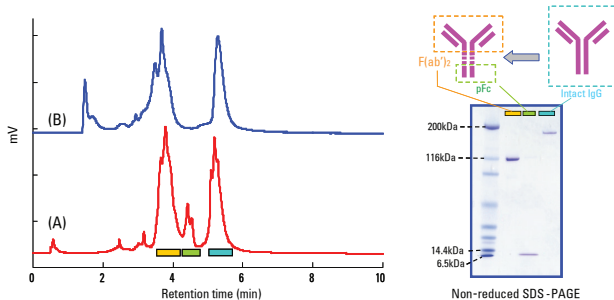
检测: UV@260 nm

### 单克隆抗体的分离

单克隆抗体经胃蛋白酶消化后，使用TSKgel Q-STAT色谱柱和市售其他品牌的无孔色谱柱WAX对其进行分离。如图5所示，TSKgel Q-STAT色谱柱分离出了三个峰，然后通过SDS-PAGE检测表明分别为F(ab')<sub>2</sub>、pFc和完整IgG。而WAX色谱柱得到的峰和SDS-PAGE结果之间没有相关性。

图5.

### IgG片段的分析



#### 色谱柱:

A: TSKgel DNA-STAT (7  $\mu$ m, 4.6 mmID $\times$ 10 cm L)  
B: 市售其他品牌色谱柱WAX (10  $\mu$ m, 4 mmID $\times$ 25 cm L)

#### 流动相:

A: 20 mmol/L Tris-HCL(pH 8.5)  
B: 含0.5 mol/L NaCl的缓冲溶液A

梯度: 0% B (0 min) , 100% B (10 min)

流速: 1.0 mL/min

检测: UV@280 nm

样品: 胃蛋白酶消化的mAb

## TSKgel STAT 系列色谱柱

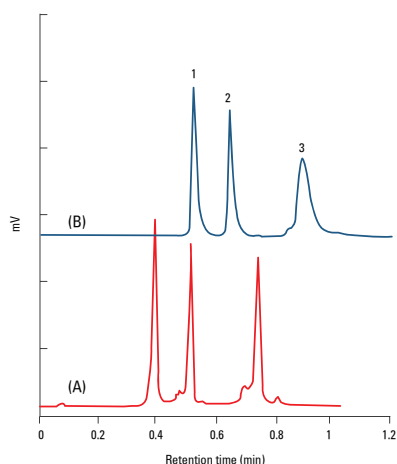
### TSKgel STAT阳离子交换色谱柱的应用

#### 快速分离

图6是使用阳离子交换短柱TSKgel SP-STAT快速分离蛋白标准品的谱图。与市售其他品牌的S型色谱柱相比，TSKgel SP-STAT色谱柱的分辨率更高、峰形更好、分析时间更短（<60秒）。

图6.

蛋白标准品的快速分离



#### 色谱柱:

A: TSKgel SP-STAT (10  $\mu$ m, 3.0 mmID $\times$ 3.5 cm L)  
B: 市售其他品牌色谱柱 (4.6 mmID $\times$ 5.0 cm L)

#### 流动相:

A: 20 mmol/L 醋酸钠(pH 5.0)  
B: 色谱柱A使用含1.0 mol/L NaCl的缓冲溶液A(pH 5.0);  
色谱柱B使用含1.5 mol/L NaCl的缓冲溶液A(pH 5.0)

梯度: 0% B (0 min), 100% B(1 min)

流速: A: 2.0 mL/min, B: 4.73 mL/min

检测: UV@280 nm

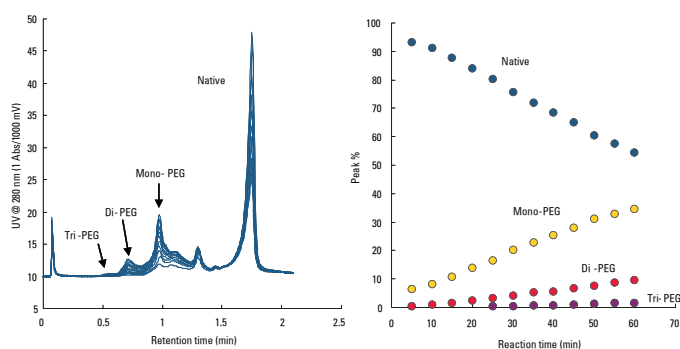
样品: 1.  $\alpha$ -糜蛋白酶原A 2. 细胞色素C 3. 溶菌酶

#### 反应产物的监测

将 $\beta$ -乳球蛋白 (5 mg/mL) 样品与聚乙二醇 (5 kDa) 置于pH 6.5的磷酸盐缓冲液中进行反应。使用3.5 cm的TSKgel SP-STAT色谱柱每5分钟监测一次聚乙二醇化蛋白质反应产物。如图7所示，单聚乙二醇化、二聚乙二醇化和三聚乙二醇化 $\beta$ -乳球蛋白的峰面积随反应时间的推移而增加，同时未反应的 $\beta$ -乳球蛋白的面积随之减小。

图7.

对PEG化监控



#### 色谱柱:

TSKgel SP-STAT (10  $\mu$ m, 3.0 mmID $\times$ 3.5 cm L)

#### 流动相:

A: 20 mmol/L 醋酸钠(pH 5.0)  
B: 含1.0 mol/L NaCl的缓冲溶液A(pH 5.0)

梯度: 0% B (0 min), 100% B(2 min)

流速: 2.0 mL/min

检测: UV@280 nm

样品: 聚乙二醇化 $\beta$ -乳球蛋白

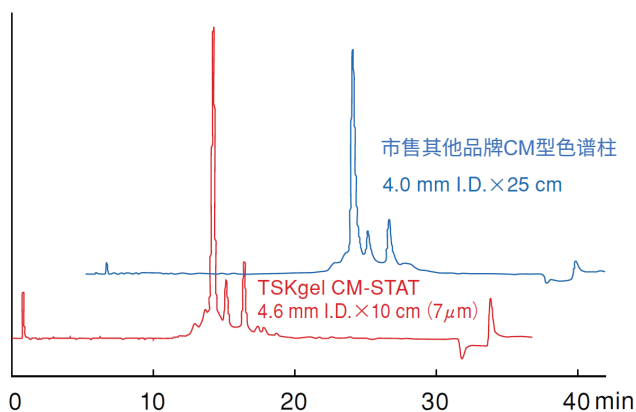
# TSKgel STAT 系列色谱柱

## 单克隆抗体的分离比较

图8是使用TSKgel CM-STAT色谱柱和市售其他品牌的CM型色谱柱对单克隆抗体的分离比较。从谱图中可以看出，CM-STAT色谱柱分析抗体异构体时分辨率更高、峰形更尖锐。

图8.

单克隆抗体的分析



色谱柱:

TSKgel CM-STAT (7 μm, 4.6 mmID×10 cm L)  
市售CM型色谱柱 (4.0 mmID×25 cm L)

流动相:

A: 20 mmol/L MES缓冲液 (pH 6.0)  
B: 20 mmol/L MES缓冲液+0.5 mol/L NaCl (pH 6.0)

梯度:

10% B(0 min)→30% B(30 min)→100% B(30 min),  
100% B(32 min) 线性梯度

流速: 1.0 mL/min

温度: 25°C

检测: UV@280 nm

进样量: 20 μL

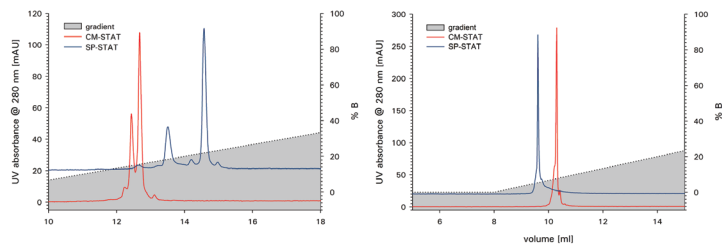
样品: 抗体药物 (0.5 g/L)

## 抗体分析的色谱柱选择

分别使用TSKgel CM-STAT和SP-STAT色谱柱在pH 7条件下分析不同的抗体。如图9所示，色谱柱的分辨率高低主要取决于抗体。强阳离子交换色谱柱TSKgel SP-STAT可以更好地分离mAb A的电荷异构体（上半部分谱图），而弱阳离子交换色谱柱CM-STAT更适合分离mAb B主峰的基本异构体。

图9.

CM-STAT和SP-STAT色谱柱的比较



色谱柱:

TSKgel SP-STAT(7 μm, 4.6 mmID×10 cm L) ;  
TSKgel CM-STAT(7 μm, 4.6 mmID×10 cm L)

流动相:

A: 10 mmol/L 磷酸钠缓冲液(pH 7.0)  
B: 100 mmol/L 磷酸钠 pH 7.0+500 mmol/L NaCl

梯度: 30分钟内从0到100%B;

流速: 1.0 mL/min

检测: UV@280 nm

进样量: 10 μL

样品: mAb A(2 g/L); mAb B(2 g/L)

## TSKgel BioAssist 系列色谱柱

TSKgel BioAssist系列色谱柱采用了聚甲基丙烯酸酯树脂填料。TSKgel BioAssist Q色谱柱的颗粒孔隙非常大（约400 nm），多胺基团键合在这些颗粒上形成独特的网状结构。该色谱柱的容量较高，适合分离宽分子量范围的样品（高达 $1 \times 10^6$  Da）。TSKgel BioAssist S色谱柱填料颗粒的孔径为130 nm，并键合了磺丙基官能团。

TSKgel BioAssist Q和S分析柱的尺寸为4.6 mmID×5 cm，填料粒径为7 μm或10 μm，色谱柱外壳为PEEK材质。

TSKgel BioAssist半制备柱的尺寸为10 mmID×10 cm，填料粒径为13。半制备柱的柱长更长，弥补了粒径增大对分离的影响，可实现与分析柱相似的分辨率。

TSKgel BioAssist色谱柱的超大孔径专为分离生物大分子而设计，可在较低的柱背压下实现较高的容量和优异的分辨率。该系列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，且不减小孔径。

### TSKgel BioAssist系列色谱柱的优势

- TSKgel BioAssist Q和S色谱柱的孔隙结构及键合官能团的化学特性使色谱柱具有较高的容量，适合分离分子量从小到大的各种蛋白质与核酸。
- TSKgel BioAssist Q和S色谱柱适用于HPLC、实验室或半制备应用的系统。
- TSKgel BioAssist色谱柱的内径为4.6 mm或10 mm，PEEK材质外壳。

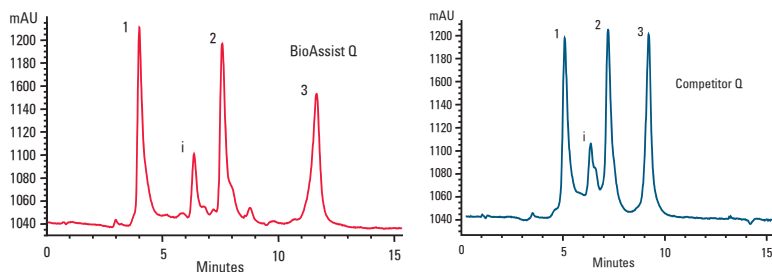
### TSKgel BioAssist阴离子交换色谱柱的应用

#### FPLC系统中的分离性能

TSKgel BioAssist Q色谱柱适用于专为实验室或半制备应用设计的系统。如图10所示，再FPLC系统上运行时，TSKgel BioAssist Q与市售其他品牌色谱柱相比，分离优势更为明显。

图10.

FPLC系统的性能提升



色谱柱:

A: TSKgel BioAssist Q (4.6 mmID×5 cm L)  
B: 市售其他品牌色谱柱 (5.0 mmID×5 cm L)

流动相:

30分钟内20 mmol/L磷酸钠中的NaCl从0增加到1 mol/L，线性梯度 (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

#### 动态结合能力的比较

表2所示为，BioAssist Q和两种市售其他品牌色谱柱的动态结合能力对比。

## TSKgel BioAssist 系列色谱柱

**表2.**

动态结合能力的比较

蛋白质	结合能力 (mg / mL)			
	BioAssist Q	SuperQ -5PW	Conv. Q type prod.A	Conv. Q type prod.B
甲状腺球蛋白	77.4	22.9	20.2	1.8
单克隆IgG1	57.8	43.3	46.7	47.7
人血清白蛋白	83.1	78.9	48.2	48.8
胰蛋白酶抑制剂	84.3	92.8	51.8	57.8

**色谱柱:** TSKgel BioAssist Q和TSKgel SuperQ-5PW (4.6 mmID×1 cm) 常规Q型色谱柱A和B (4.6 mm ID×1 cm)

**流动相:** 20 mmol/L Tris-HCl 缓冲溶液 (pH 8.0)

**流速:** 0.38 mL/min

**检测:** UV @ 280 nm

\*容量基于突破曲线10%高度确定; UV 280 nm。

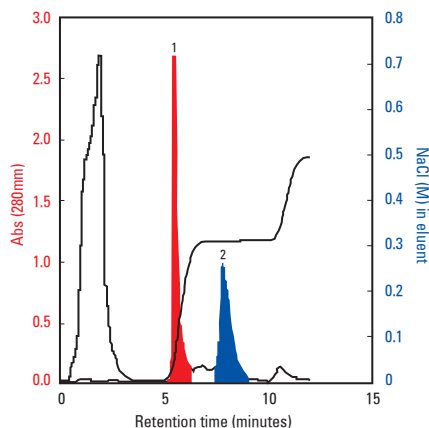
### IgM的分析

相对于其他免疫球蛋白类型, IgM具有独特、有益的特性。IgM是一种由5个IgG亚基构成的大分子蛋白质, 这使其相对不稳定且难以纯化。不同于单链抗体, IgM因其空间位阻而无法使用Protein A进行纯化。其他可用来替代亲和法的比如嗜硫性吸附剂, 但这些方法的结合力较低。

东曹生命科学开发出了使用TSKgel BioAssist S色谱柱通过离子交换色谱法纯化IgM的替代方法。图11所示, 白蛋白洗脱后, 分步梯度使用0.3 mol/L NaCl可从其他污染物中实现IgM的基线分离。

**图11.**

IgM的分析



**色谱柱:**

TSKgel BioAssist S (4.6 mmID×5 cm L)

**流动相:**

20 mmol/L 磷酸钠缓冲溶液 (pH 6.0)

**梯度:** 0-0.3 mol/L NaCl (5分钟), 0.3-0.5 mol/L NaCl (10分钟)

**流速:** 1 mL/min

**检测:** UV@280 nm

**样品:** 小鼠腹水中500 uL的9.5 mg/mL IgM;

阴影峰分别代表白蛋白和IgM

## TSKgel 5PW 系列色谱柱

TSKgel 5PW系列色谱柱的填料基质聚甲基丙烯酸树脂G5000PW 是一种球形颗粒，平均孔径为100 nm。与DEAE、SP和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基质上建和了多胺官能团，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，结合容量更高。

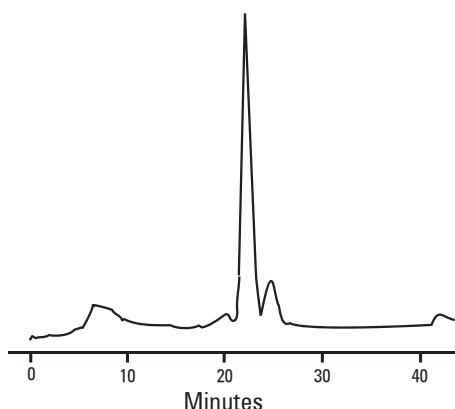
### TSKgel 5PW阴离子交换色谱柱的应用

#### 合成寡核苷酸的分析

图12为在TSKgel SuperQ-5PW色谱柱上以10 mmol/L氢氧化钠为流动相，使用NaCl梯度分析16个碱基的吗啉寡核苷酸的分析结果。

图12.

使用TSKgel SuperQ-5PW分析合成寡核苷酸



#### 色谱柱:

TSKgel SuperQ-5PW(7.5 mmID×7.5 cm L)

#### 流动相:

A: 10 mmol/L NaOH

B: 含1 mol/L NaCl 的10 mmol/L NaOH

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 GGA G

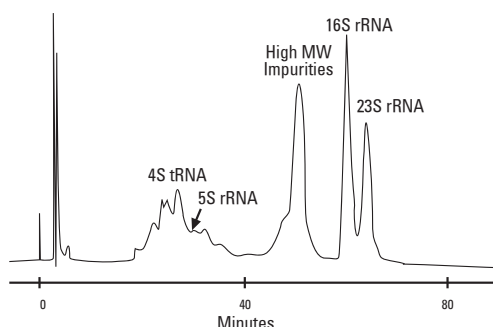
样品载量: 0.5 O.D.(光密度)

#### 大肠杆菌RNA的分析

图13为使用TSKgel DEAE-5PW色谱柱分离高分子量的大肠杆菌RNA的谱图。

图13.

高分子量RNA的分析



#### 色谱柱:

TSKgel DEAE-5PW (6 mmID×15 cm L)

#### 流动相:

0.1 mol/L Tris-HCl中NaCl从0.3 mol/L增加到1.0 mol/L (300分钟线性梯度), pH 7.6

流速: 1.0 mL/min

检测: UV@260 nm

样品: 总大肠杆菌RNA

# TSKgel BioAssist 系列色谱柱

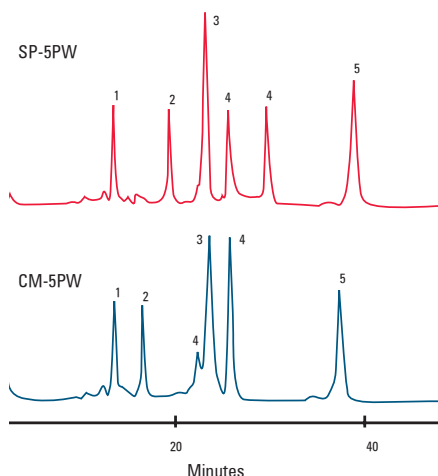
## TSKgel 5PW阳离子交换色谱柱的应用

### 强弱阳离子交换色谱柱的比较

图14显示了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这两款色谱柱之间的分离选择性差异。

图14.

TSKgel 强弱阳离子交换色谱柱的选择性



#### 色谱柱:

TSKgel SP-5PW和TSKgel CM-5PW (7.5 mmID×7.5 cm L)

#### 流动相:

0.02 mol/L磷酸盐中的NaCl从0增加到0.5 mol/L (60分钟线性梯度) pH 7.0

流速: 1.0 mL/min

检测: UV@280 nm

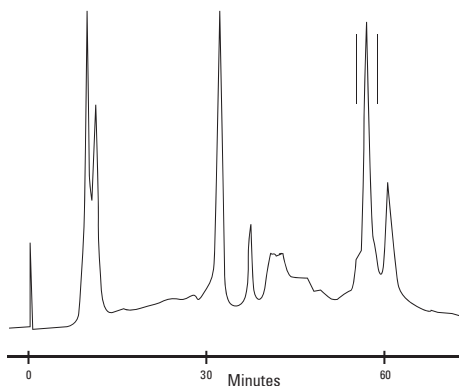
样品: 1. 胰蛋白酶原 2. 核糖核酸酶A 3. α-胰凝乳蛋白酶原  
4. 细胞色素C 5. 溶菌酶

### 脂氧化酶的半制备纯化

图15所示为使用21.5 mm内径的TSKgel SP-5PW色谱柱对200 mg粗脂氧化酶的纯化结果。试验放大时只需将色谱柱粒径从10 μm (7.5 mmID) 变为13 μm (21.5 mmID) 或20 μm (55 mmID) 即可。

图15.

脂氧化酶的半制备纯化



色谱柱: TSKgel SP-5PW (21.5 mmID×15 cm L)

流动相: 0.02 mol/L醋酸盐中Na2SO4从0增加到0.5 mol/L (120分钟线性梯度) 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氧化酶的活性为84%

样品: 粗脂氧化酶, 200mg

## TSKgel NPR 系列色谱柱

TSKgel DEAE-NPR、DNA-NPR和SP-NPR色谱柱装填有2.5  $\mu\text{m}$ 粒径的聚甲基丙烯酸酯无孔树脂。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。

DNA-NPR色谱柱是DEAE-NPR色谱柱的加长版，可对寡核苷酸（包括PCR扩增的寡核苷酸）进行高分辨率分析。小型保护柱可以很好地保护DNA-NPR和DEAE-NPR色谱柱。

### TSKgel NPR离子交换色谱柱的应用

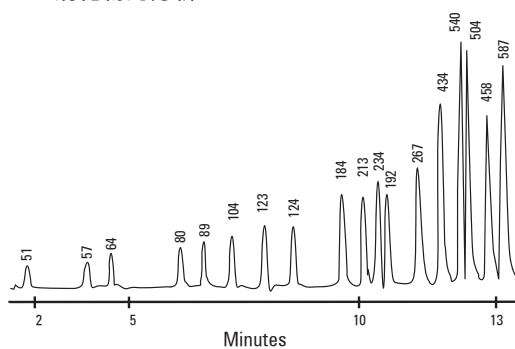
#### DNA消化物的分析

TSKgel DEAE-NPR无孔色谱柱由于其粒径小在快速分离生物大分子方面表现出色。图16所示为使用TSKgel DEAE-NPR（带保护柱）对pBR322 DNA消化物的分离谱图。

分析PCR片段时，为获得更好的分离度，建议使用TSKgel DNA-NPR色谱柱。该色谱柱长7.5 cm，宽4.6 mm，色谱柱长度越长，分离效果也越好。

图16.

DNA消化物的分析



#### 色谱柱:

TSKgel DEAE-NPR (4.6 mmID $\times$ 3.5 cm L), 保护柱(4.6 mmID $\times$ 0.5 cm L)

#### 流动相:

A: 0.02 mol/L Tris-HCl (pH 9.0) B: 缓冲液A+1.0 mol/L NaCl

梯度: 缓冲液B48% $\rightarrow$ 65% (15分钟线性梯度)

流速: 1.5 mL/min

压力: 14 MPa

温度: 40 $^{\circ}$ C

检测: UV@260 nm

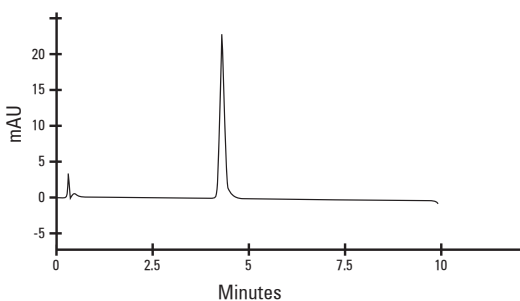
样品: pBR322 DNA的HaeIII消化物 (显示每个峰对应的碱基对数量)

#### 腺相关病毒的纯化

TSKgel SP-NPR色谱柱填料是小粒径的球形颗粒，能够实现快速分离。图17是使用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方法仅需10分钟，取代了目前耗时两天的检测方法。

图17.

纯化的AAV的分析



#### 色谱柱:

TSKgel SP-NPR (4.6 mmID $\times$ 3.5 cm L)

#### 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, 含0.5 mol/L NaCl的5 mmol/L MgCl (pH 7.5)

梯度: 0 min (0%B), 2 min (100%B), 10倍柱体积

流速: 1 mL/min

检测: UV@280 nm

样品: 纯化后的腺相关病毒

## TSKgel SW 系列色谱柱

硅胶基质的离子交换色谱柱常用于分离分子量较小的样品，例如，核苷酸、候选药物或小肽。硅胶颗粒的孔径为125 nm (2SW)和250 nm(3SW)，有二乙氨基(DEAE)或羧甲基(CM)官能团。TSKgel DEAE-3SW相较于DEAE-5PW孔径更小、表面积更大，因此对中小型蛋白质的结合能力约是其两倍。

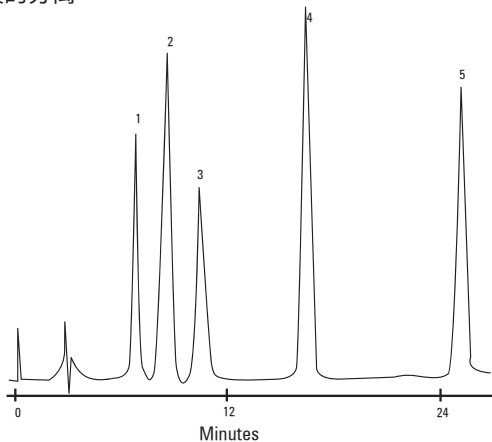
pH值高于7.5时，硅胶骨架的溶解度会增加，限制了硅胶基质离子交换色谱柱在酸性或中性流动相中的使用。

### 核苷酸的分析

分离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18是使用该色谱柱分离核苷酸的谱图。TSKgel DEAE-3SW色谱柱 (250 nm孔径) 适用于分离肽、小分子蛋白和DNA片段。

图18.

核苷酸的分离



#### 色谱柱:

TSKgel DEAE-2SW (4.6 mmID×25 cm L)

#### 流动相:

A: 含ACN的0.1 mol/L磷酸盐 (pH 3.0) 20/80

B: 含ACN的0.5 mol/L磷酸盐 (pH 3.0) 20/80

梯度: 流动相A→B (30分钟线性梯度)

流速: 1 mL/min

检测: UV@260 nm

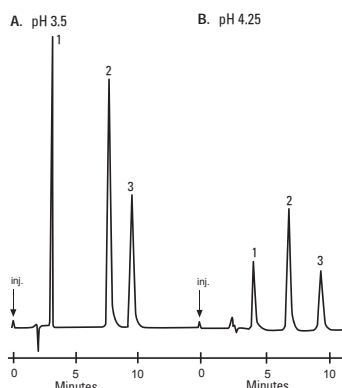
样品: 1. AMP 2. IMP 3. GMP 4. ADP 5. ATP

### 核苷的分析

硅胶基质的阳离子交换色谱柱通常用于分离小分子化合物，例如，药物、核苷酸、儿茶酚胺和小肽。图19是使用TSKgel SP-2SW色谱柱对核苷的分离谱图。

图19.

核苷酸的分离



#### 色谱柱:

TSKgel SP-2SW (4.6 mmID×25 cm L)

#### 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-醋酸缓冲液 (pH 4.25)

流速: 0.75 mL/min

温度: 23°C

检测: UV@260 nm

样品: 核苷标准品: 1. 鸟苷 2. 胞苷 3. 腺苷

## TSKgel 阴离子交换色谱柱订购信息

### ► 订购信息

货号#	产品名称	内径 (mm)	长度 (cm)	粒径 ( $\mu\text{m}$ )	理论塔 板数	流速范围 (mL/min)	最大压力 (MPa)
<b>玻璃色谱柱：聚合物基质</b>							
0013061	DEAE-5PW Glass, 100 nm	5.0	5.0	10	$\geq 700$	0.5 - 0.8	1.5
0008802	DEAE-5PW Glass, 100 nm	8.0	7.5	10	$\geq 1,300$	0.5 - 1.0	1.0
0014016	DEAE-5PW Glass, 100 nm	20.0	15.0	13	$\geq 3,000$	4.0 - 6.0	1.5
0018386	SuperQ-5PW Glass, 100 nm	8.0	7.5	10	$\geq 1,300$	0.5 - 1.0	2.0
<b>PEEK色谱柱：聚合物基质</b>							
0019685	BioAssist Q, 400 nm	4.6	5.0	10	$\geq 500$	0.3 - 1.0	2.5
0021410	BioAssist Q, 400 nm	10.0	10.0	13	$\geq 500$	1.0 - 5.0	2.5
<b>不锈钢色谱柱：聚合物基质</b>							
0021960	Q-STAT, 无孔	3.0	3.5	10	$> 200$	1.0 - 2.0	10.0
0021961	Q-STAT, 无孔	4.6	10.0	7	$> 4,000$	0.5 - 1.4	10.0
0021962	DNA-STAT, 无孔	4.6	10.0	5	$> 4,000$	0.3 - 0.6	15.0
0013075	DEAE-NPR, 无孔	4.6	3.5	2.5	$\geq 1,300$	1.0 - 1.5	20.0
0018249	DNA-NPR, 无孔	4.6	7.5	2.5	$\geq 6,000$	0.5 - 1.0	30.0
0018757	DEAE-5PW, 100 nm	2.0	7.5	10	$\geq 1,300$	0.05 - 0.10	1.5
0007164	DEAE-5PW, 100 nm	7.5	7.5	10	$\geq 1,300$	0.5 - 1.0	1.5
0007574	DEAE-5PW, 100 nm	21.5	15.0	13	$\geq 3,000$	4.0 - 6.0	2.5
0007930	DEAE-5PW, 100 nm	55.0	20.0	20	$\geq 1,500$	20.0 - 40.0	0.4
0018257	SuperQ-5PW, 100 nm	7.5	7.5	10	$\geq 1,300$	0.5 - 1.0	2.0
0018387	SuperQ-5PW, 100 nm	21.5	15.0	13	$\geq 3,000$	4.0 - 6.0	2.0
0008639	Sugar AXI, 6 nm	4.6	15.0	8	$\geq 3,700$	0.2 - 0.4	3.0
0008640	Sugar AXG, 6 nm	4.6	15.0	10	$\geq 2,700$	0.2 - 0.5	2.0
0007157	SAX, 6 nm	6.0	15.0	5	$\geq 2,000$	0.5 - 1.0	15.0
<b>PEEK色谱柱：硅胶基质</b>							
0018761	DEAE-2SW, 12.5 nm	2.0	25.0	5	$\geq 5,000$	0.12 - 0.17	13.0
0007168	DEAE-2SW, 12.5 nm	4.6	25.0	5	$\geq 5,000$	0.6 - 0.8	15.0
0007163	DEAE-3SW, 25 nm	7.5	7.5	10	$\geq 1,300$	0.5 - 1.0	2.0
<b>保护柱：</b>							
0017088	DEAE-NPR Guard column	4.6	0.5	5	用于 P/N 0013075		
0018253	DNA-NPR Guard column	4.6	0.5	2.5	用于 P/N 0018249		
0018388	SuperQ-5PW Guardgel Kit			20	用于 P/N 0018257		
0007210	DEAE-5PW Guardgel Kit			20	用于 P/N 0007164		
0008806	DEAE-5PW Guardgel Kit, Glass			20	用于 P/Ns 0013061 和 0008802		
0014466	DEAE-5PW Guardcol., Glass	20.0	2.0	13	用于 P/N 0014016		
0016092	DEAE-5PW Prep Guardgel Kit			20	用于 P/N 0007574		
0007928	DEAE-5PW Guard column	45.0	5.0	20	用于 P/N 0007930		
0007648	DEAE-SW Guardgel Kit			10	用于 P/Ns 0007168 和 0007163		
0019308	Guard cartridge holder	2.0	1.5		用于2mm ID的保护柱柱芯		

## TSKgel 阳离子交换色谱柱订购信息

### ► 订购信息

货号#	产品名称	内径 (mm)	长度 (cm)	粒径 ( $\mu\text{m}$ )	理论塔 板数	流速范围 (mL/min)	最大压力 (MPa)
<b>玻璃色谱柱：聚合物基质</b>							
0014012	CM-5PW Glass, 100 nm	20.0	15.0	13	$\geq 2,500$	4.0 - 6.0	1.5
0013062	SP-5PW Glass, 100 nm	5.0	5.0	10	$\geq 700$	0.5 - 0.8	1.5
0008803	SP-5PW Glass, 100 nm	8.0	7.5	10	$\geq 1,300$	0.5 - 1.0	1.0
0014017	SP-5PW Glass, 100 nm	20.0	15.0	13	$\geq 3,000$	4.0 - 6.0	1.5
<b>PEEK色谱柱：聚合物基质</b>							
0019686	BioAssist S, 130 nm	4.6	5.0	7	$\geq 1,500$	0.3 - 0.8	2.5
0021411	BioAssist S, 130 nm	10.0	10.0	13	$\geq 3,000$	1.0 - 5.0	2.5
<b>不锈钢色谱柱：聚合物基质</b>							
0021965	CM-STAT, 无孔	3.0	3.5	10	$\geq 200$	1.0 - 2.0	10.0
0021966	CM-STAT, 无孔	4.6	10.0	7	$\geq 2,000$	0.5 - 1.0	10.0
0021963	SP-STAT, 无孔	3.0	3.5	10	$\geq 200$	1.0 - 2.0	10.0
0021964	SP-STAT, 无孔	4.6	10.0	7	$\geq 200$	0.5 - 1.4	10.0
0013068	CM-5PW, 100 nm	7.5	7.5	10	$\geq 1,300$	0.5 - 1.0	1.5
0018758	SP-5PW, 100 nm	2.0	7.5	10	$\geq 1,300$	0.05 - 0.10	1.0
0007161	SP-5PW, 100 nm	7.5	7.5	10	$\geq 1,300$	0.5 - 1.0	1.5
0007575	SP-5PW, 100 nm	21.5	15.0	13	$\geq 3,000$	4.0 - 6.0	2.5
0007934	SP-5PW, 100 nm	55.0	20.0	20	$\geq 1,500$	20.0 - 40.0	0.4
0013076	SP-NPR, 无孔	4.6	3.5	2.5	$\geq 1,300$	1.0 - 1.5	20.0
0007156	SCX (Na <sup>+</sup> ), 6 nm	6.0	15.0	5	$\geq 2,000$	0.5 - 1.0	15.0
0007158	SCX (H <sup>+</sup> ) 6 nm	7.8	30.0	5	$\geq 12,000$	0.5 - 1.0	5.0
<b>PEEK色谱柱：硅胶基质</b>							
0007165	SP-2SW, 12.5 nm	4.6	25.0	5	$\geq 5,000$	0.6 - 0.8	15.0
0007167	CM-2SW, 12.5 nm	4.6	25.0	5	$\geq 5,000$	0.6 - 0.8	15.0
0007162	CM-3SW, 25 nm	7.5	7.5	10	$\geq 1,300$	0.5 - 1.0	2.0
<b>保护柱：</b>							
0013069	CM-5PW Guardgel Kit			10	用于 P/N 0013068		
0007211	SP-5PW Guardgel Kit			20	用于 P/N 0007161		
0008807	SP-5PW Guardgel Kit, Glass			20	用于 P/Ns 0013062 和 0008803		
0016093	SP-5PW Prep Guardgel Kit			20	用于 P/N 0007575		
0007932	SP-5PW Guard column	45.0	5.0	20	用于 P/N 0007934		
0007650	CM-SW Guardgel Kit			20	用于 P/Ns 0007167 和 0007162		



## 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

邮箱：[info.tbs@tosoh.com.cn](mailto:info.tbs@tosoh.com.cn)

网址：[www.separations.asia.tosohbioscience.com](http://www.separations.asia.tosohbioscience.com)



欢迎关注东曹生物微信公众号，获取更多产品资讯

TSKgel是 TOSOH 公司的注册商标。

TOSOH公司版权所有，未经TOSOH公司书面同意，本数据集中的内容不得全部或部分使用或复制。

本数据集的内容可能会随公司产品而变化而发生更改，恕不另行通知。