



TSK-GEL柱 (亲和/凝胶过滤) (东洋曹达)

TSK-GEL HPLC 柱广泛用于生物高分子（特别是肽和蛋白质）的分析、提纯和离析。

亲和柱

高效、树脂基 TSK-GEL 亲和柱（10 μ m 颗粒），用于分离或提纯多种酶和其它蛋白质。

表 1 叙述了所提供柱的特性。

TSK-GEL 柱	固定化配体	吸附容量 (每 ml 凝胶)	典型应用
ABA-5PW	对氨基苯甲醚	3-4mg 胰蛋白酶	胰蛋白酶, 牛凝血酶, 尿激酶, 肠激酶, 纤溶酶原, 纤溶酶原激活物
Boronate-5PW	间-氨基苯硼酸	40 μ mol 山梨醇	糖蛋白, 核酸酶, 核苷酶, 儿茶酚胺, 糖酶, 转移核糖核酸
Chelate-5PW	亚氨基二乙酸	~20 μ mol Ca ²⁺ 或 Zn ²⁺	血清蛋白, 干扰素, 胶原酶, 颗粒蛋白, 溶酶原激活物, 乳酸铁
Heparin-5PW	肝素	2-3mg 抗凝血酶 111	聚沉因子, DNA 和 RNA 聚合酶, 脂蛋白和脂蛋白脂肪酶, 其它酶
Tresyl-5PW	-CH ₂ OSO ₂ CH ₂ CF ₃		活化载体, 通过与氨基或硫醇基反应的固定化配体

表 1: TSK-GEL 亲和柱特性

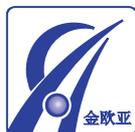
凝胶过滤

TSK-GEL SW 和 SW_{XL} 柱含硅胶基亲水键合相填料与蛋白质相互作用最小。普及型 TSK-GEL SW 和 SW_{XL} 柱的性质列于表 2。

TSK-GEL 柱	颗粒尺寸 (μ m)	孔尺寸 (Å)	样品分子量 (球状蛋白质)
G2000 SW _{XL}	5	125	5-150 X 10 ³
G2000 SW	10	125	5-100 X 10 ³
G3000 SW _{XL}	5	250	10-500 X 10 ³
G3000 SW	10	250	10-500 X 10 ³
G4000 SW _{XL}	8	450	20-10,000 X 10 ³
G4000 SW	13	450	20-10,000 X 10 ³

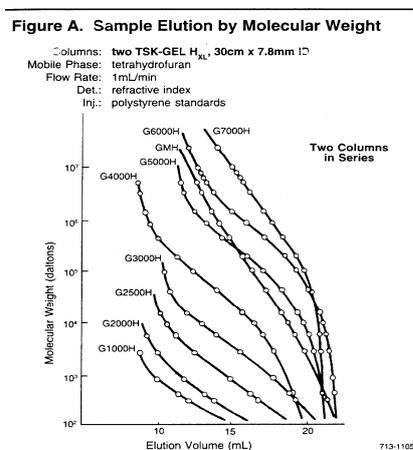
表 2: TSK-GEL SW 和 SW_{XL} 柱的特性

(流动相: 在 0.1M 磷酸盐缓冲剂 (PH0.7) 中 0.03M NaCl 水溶液。)



一根 30 cm TSK-GEL SW_{XL} 柱和一根 60cm TSK-GEL SW 柱提供类似的分辨，但是 SW_{XL} 柱只需一半时间。样的容量随柱长按比例增加。

图 A，在 TSK-GEL 和 TSK-GEL SW_{XL} 柱上具有相当的分辨。因为 TSK-GEL SW_{XL} 柱和 TSK-GEL SW 柱是硅胶基质，绝不能超出推荐的 PH: 2.5-7.5 范围之外的操作。详细操作条件随柱资料中说明。我们建议用适当的 SW_{XL} 柱和 SW 保护柱保护这些柱子。



TSK-GEL QC-PAK柱尤其在质量控制应用中提供快速、高分辨分析。15cm玻璃或不锈钢柱用 5 μ m SW_{XL} 载体填充。

TSK-GEL PW 和 TSK-GEL PW_{XL} 柱 用于工业水溶性聚合物和低聚糖的高性能凝胶过滤分离。这些柱的特性列于表 3 (略)。

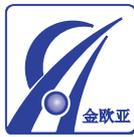
亲水聚合物基质具有极好的化学和机械稳定性。虽然，通常使用含水溶剂，但该聚合物可与多达 50% 有机溶剂相溶。亲水 PW 型树脂的亲水性不如多糖凝胶，因此，加入有机改性剂或有时需要减少盐浓度以降低疏水相互作用。除 G-Oligo-PW 和 G2000PW 之外，TSK 型树脂具有少量剩余负电荷。

TSKgel GMPW 和 TSKgel GMPW_{XL} 柱是在宽分子量范围内呈线性校正曲线的混合床柱。因为混合床柱的孔尺寸与窄孔尺寸柱相同，校正曲线的斜率要陡的多，这样就限制了分辨。当样品的分子量组成未知时，混合床柱对于其初步研究是理想的。当样品的分子量分布非常宽时，将选择具有某一孔尺寸（或孔尺寸范围）的第二根柱（或一系列柱）串接，以提供最佳分辨。TSKgel G-Oligo-PW 柱专门用于分离不带电的或阳离子低聚物。少量残存正电荷使得 G-Oligo-PW 和 G2000PW 柱不适于分析阴离子低聚物。

另一种专用柱 TSKgel G-DNA-PW 柱与 G6000PW 柱的区别在于其颗粒尺寸更小，具有更高柱效，适于核酸分离。对于 G2500PW 到 G6000PW 和 GMPW 柱建议使用一根 TSKgel PWH 保护柱。对于所有 PW_{XL} 柱和 G-NDA-PW 柱应使用 TSK gel PW_{XL} 保护柱，使用 Oligo 保护柱保护 G-Oligo-PW 和 G2000PW 柱。可订购散装填料重新填充 PW 一型柱和保护柱。

疏水作用

疏水作用色谱法 (HIC) 和反相液相色谱法 (RPLC) 都是基于蛋白质的疏水性进行分离，并允许蛋白质选择性结合和吸附。但是 HIC 在相当低的结合能下分离并使用含水流动相。这些特性提供了不大可能干扰蛋白质构象的柔和分离方法。因此，HIC 通常更好的保持物质活性。TSK -GEL Ether (醚) -5PW, phenyl (苯基) -5PW 和 Butyl (丁基) -NPR 树脂基柱为色谱条件优化提供了一个疏水性范围。通过使用完全疏水的填料（如丁基）可使硫酸铵浓度降至最低。纯化完全疏水的蛋白质建议使用 Ether-5PW 柱。



Ether-5PW 和 phenyl-5PW 填料基质为 TSKgel G5000PW 树脂，因此，10 μ m 颗粒具有的孔径为 1000 \AA 。Butyl-NPR 填料是由 2.5 μ m 无孔颗粒制备，允许快速分析。这三种柱型都可用 0.2M NaOH 清洗。通过使用相应的 Toyopearl 散装树脂可以实现放大（参见低压部分疏水作用）

羟基磷灰石

TSKgel HA-1000 羟基磷灰石柱（粒径 5 μ m）分离蛋白质或核酸（如来自单链 DNA 的双链 DNA）。这些柱力学性能稳定并提供高度可重复分离。蛋白质回收率典型值为 90% 或更高，这部分归因于其大的孔体积（1000 \AA ）。

样品通过离子相互作用吸附和蛋白质或核酸同羟基磷灰石结晶结构的空位匹配而得到分离。向流动相中加入 0.1mM CaCl₂ 将最大限度延长柱寿命，而不影响蛋白质或核酸的分离。通常，用于蛋白质分离的柱也可用于核酸分离。来自蛋白质样品的少量脱氧核糖核酸酶和核糖核酸酶污染会使核酸降解。

离子交换

TSK-GEL 系列包含各种离子交换柱，适用于蛋白质、肽和小分子量有机离子的实验室规模样品纯化和分析。TSK-GEL 柱具有高柱效并兼作样品提纯而具有极好的回收率。现有多孔聚合物基质和硅胶基质的阴离子和阳离子交换剂以及无孔树脂（NPR）柱。各种柱型的说明列于表 4。TSK-GEL 5PW 和 NPR 离子交换柱在 pH 2-12 间稳定；TSK-GEL SW 柱可用于 pH: 2-7.5。TSK-GEL 2SW 离子交换柱（125 \AA 孔）最适于分离小分子量溶质，如核苷酸。较大生物分子，包括肽和小的蛋白质，可以在 TSK-GEL 3SW 离子交换柱（250 \AA 孔径）上分析。**宽孔径（1000 \AA ）聚合物基 5PW 柱适用于分析和提纯大的蛋白质和核酸。**7.5 cm X 7.5 mm 5PW 离子交换柱的样品容量约 1mg。在无孔 TSK-GEL NPR 柱上分析蛋白质和核酸时间缩短 3-5 倍。但是，蛋白质在这些柱上的样品容量小 50~100 倍。TSKgel DEAE-NPR 柱通常用于分离脱氧核糖核酸碎片，对于由聚合酶链反应得到的 DNA 碎片更为适宜。当分析聚合酶链反应碎片时，极力推荐 DEAE-NPR 保护柱以保护分析柱。在血红蛋白 AIC 筛选中，SP-NPR 柱可提供快速的结果。TSK-GEL NPR 柱的颗粒尺寸小（2.5 μ m）必须使用含 0.5 μ m 烧结物的预柱过滤器（Rheodyne 在线过滤器或 Sigma-Aldrich 预柱过滤器）保护 TSK-GEL NPR 柱。



表 4: TSK-GEL 离子交换柱

特性	DEAE-5PW	DEAE-3SW	DEAE-2SW	DEAE-NPR
阴离子交换柱				
基质	亲水树脂	SiO ₂	SiO ₂	亲水树脂
孔径尺寸 (Å)	10 1000	10 250	5 125	2.5 无孔
官能团	-CH ₂ CH ₂ N ⁺ (C ₂ H ₅) ₂	-CH ₂ CH ₂ N ⁺ (C ₂ H ₅) ₂	-CH ₂ CH ₂ N ⁺ (C ₂ H ₅) ₂	-CH ₂ CH ₂ N ⁺ (C ₂ H ₅) ₂
反离子	CL ⁻	CL ⁻	CL ⁻	CL ⁻
PH 范围	2-12	2-7.5	2-7.5	2-12
排阻限 (PEG, 道尔顿)	1,000,000	30,000	10,000	500
容量 (mg BSA/ml)	30	120	—	5
小离子容量	>0.1 毫克当量/毫升	>0.3 毫克当量/克	>0.3 毫克当量/毫升	>0.15 毫克当量/毫升
pKa	11.2	11.2	11.2	11.2

特性	SP-5PW	SP-NPR	CM-5PW	CM-2SW	CM-35W
阳离子交换柱					
基质	亲水树脂	亲水树脂	亲水树脂	SiO ₂	SiO ₂
颗粒尺寸 (μm)	10	2.5	10	5	10
孔径尺寸 (Å)	1000	无孔	1000	125	250
官能团	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ SO ₃	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ SO ₃	-CH ₂ COO ⁻	-CH ₂ COO ⁻	-CH ₂ COO ⁻
反离子	Na ⁺	Na ⁺	Na ⁺	Na ⁺	Na ⁺
PH 范围	2-12	2-12	2-12	2-7.5	2-7.5
排阻限 (PEG, 道尔顿)	1,000,000	500	1,000,000	10,000	30,000
容量 (mg BSA/ml)	40	5	45	—	110
小离子容量	>0.1 毫克当量/毫升	>0.1 毫克当量/克	>0.1 毫克当量/ 毫升	>0.3 毫克当量/ 毫升	>0.3 毫克当量/ 毫升
pKa	2.3	2.3	4.2	4.2	4.2

TSK-GEL 柱

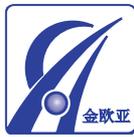
凝胶渗透色谱: H_{HR}柱

TSK-GEL H_{HR} 凝胶渗透柱适用的溶剂极性范围广。

TSK-GEL H_{HR} 柱填料在多种溶剂中稳定

溶剂	溶胀比*	
	G2000 H _{HR}	G2000 H _{XL}
甲苯	1.01	1.06
苯	1.00	-
四氢呋喃	1	1
丙酮	0.99	0.86
二甲基甲酰胺	0.99	0.86
甲醇	0.98	-
甲醇/水 (50: 50)	0.93	-
水	0.86	0.52

(*在所列溶剂中的体积除以在 THF 中的体积)



表中数据表明溶剂从甲苯直至变为甲醇，凝胶颗粒并未溶胀或收缩。但是，这些柱溶剂不能换为极性溶剂，如水或水/甲醇混合物。这些柱含 5 μ m 球形聚苯乙烯/二乙烯基苯颗粒，每支 30cm x 7.8mm 内径柱最低柱效为 16,000 塔板数。现有 8 种孔尺寸（图 A）排阻范围从 G1000 H_{HR} 柱约 2000 道尔顿到 G7000 H_{HR} 柱大于 10,000,000 道尔顿。图 A 也表示出 4 根混合床柱（H, L, M, N）扩展了分子量测定的线性范围，适于样品筛选或更多形式的分析。

TSK-GEL H_{XL} 型柱是球形苯乙烯-二乙烯基苯凝胶渗透柱，为有机可溶工业聚合物提供高分辨、稳定和可重复的体积排阻。如图 A 所示，这些柱可得到七种孔径的填料。小分子量化合物（如单体）可在 G1000 H_{XL} 型柱上分析，而 G7000 H_{XL} 排阻限大大超过 10,000,000 分子量。可按用户配置将宽范围的特定孔径柱串接以使特殊样品达到最佳分辨。小颗粒尺寸的 H_{XL} 柱适用于绝大多数要求的分离。混合床适于样品筛选，也可得到更经济，较低柱效的 H6 和 H8 柱。

溶剂相容性

TSK-GEL H 型柱发货时含有四氢呋喃（THF），只有 GMH_{XL}-HT 柱含邻二氯苯。发货时，THF 溶剂可以被苯、氯仿、二氯乙烷、二氯甲烷、甲苯或二甲苯取代。在任何 H_{XL} 柱中不能使用二氯乙烷和二氯甲烷。当改变溶剂时，使用 2%/分的线性速率梯度和 0.5 毫升/分流速。如需要，也可供应含丙酮、氯仿、邻一二氯苯或二甲基甲酰胺的柱。