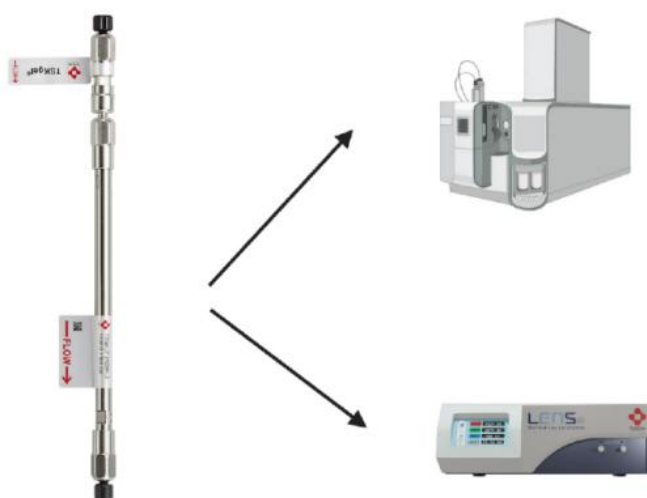


慧德易电子期刊

H&E Electronic Journal

第 155 期 专为光散射及质谱检测应用而设计的尺寸排阻

UHPLC 色谱柱----TSKgel UP-SW3000-LS



第 155 期 专为光散射及质谱检测应用而设计的尺寸排阻

UHPLC 色谱柱----TSKgel UP-SW3000-LS

尺寸排阻色谱法（SEC）是在非变性条件下分析蛋白质、单克隆抗体，包括：片段、单体及聚集体的公认方法。数十年来，TSKgel SW 系列色谱柱一直是业内生物治疗药物 SEC 分析的主力产品。TSKgel UP-SW3000-LS 色谱柱是这一著名色谱柱系列中的新成员。

TSKgel UP-SW3000-LS 色谱柱分辨率高、峰形锐利，开发的方法高效、稳健、重现性强，且易于在 UHPLC 和 HPLC 系统方法间转移。在与高级检测器联用时，该 UHPLC 色谱柱可显著降低噪音水平、缩短平衡时间及提高数据质量。

TSKgel UP-SW3000-LS	
分离原理	尺寸排阻（SEC）
基材	二醇基键合硅胶
粒径	2 μ m
孔径	250 \AA
色谱柱材质	不锈钢
色谱柱尺寸	4.6 \times 300mm 和 4.6 \times 150mm，有配套保护柱
分离范围	10kDa~500kDa（下图 2）
应用范围	生物治疗药物的 MALS 和 MS 分析（下图 1）

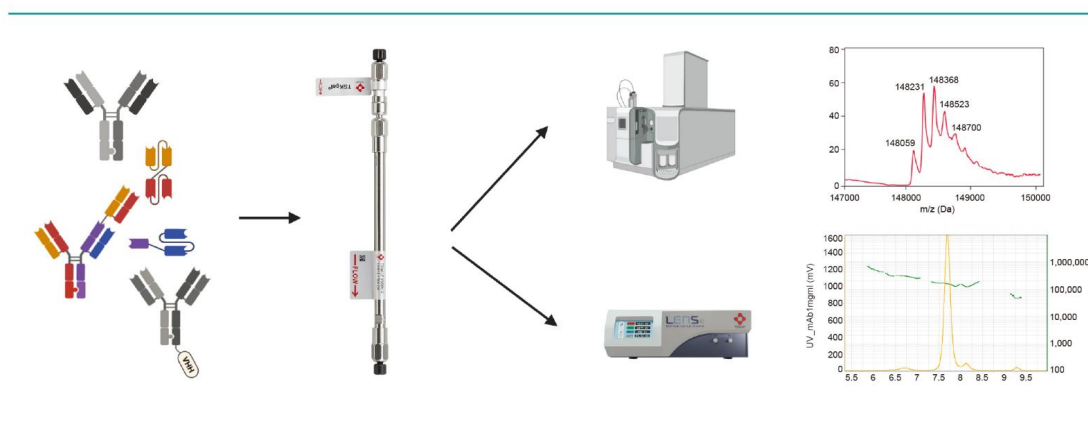
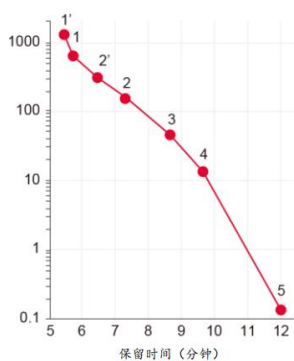


图 1 TSKgel UP-SW3000-LS 色谱柱与高级检测器 SEC 联用分析



色谱柱: TSKgel UP-SW3000-LS 4.6 mm ID × 30 cm
 流动相: 100 mmol/L 磷酸盐缓冲溶液 pH 6.7 + 100 mmol/L 硫酸钠
 流速: 0.35 mL/min
 样品: 1 & 1'· 甲状腺球蛋白单体 (640 kDa) 和二聚体 (1280 kDa)
 2 & 2'· γ -球蛋白 (155 kDa) 和二聚体 (310 kDa)
 3· 卵清蛋白 (47 kDa)
 4· 核糖核酸酶 A (13.7 kDa)
 5· 对氨基苯甲酸 (137 Da)

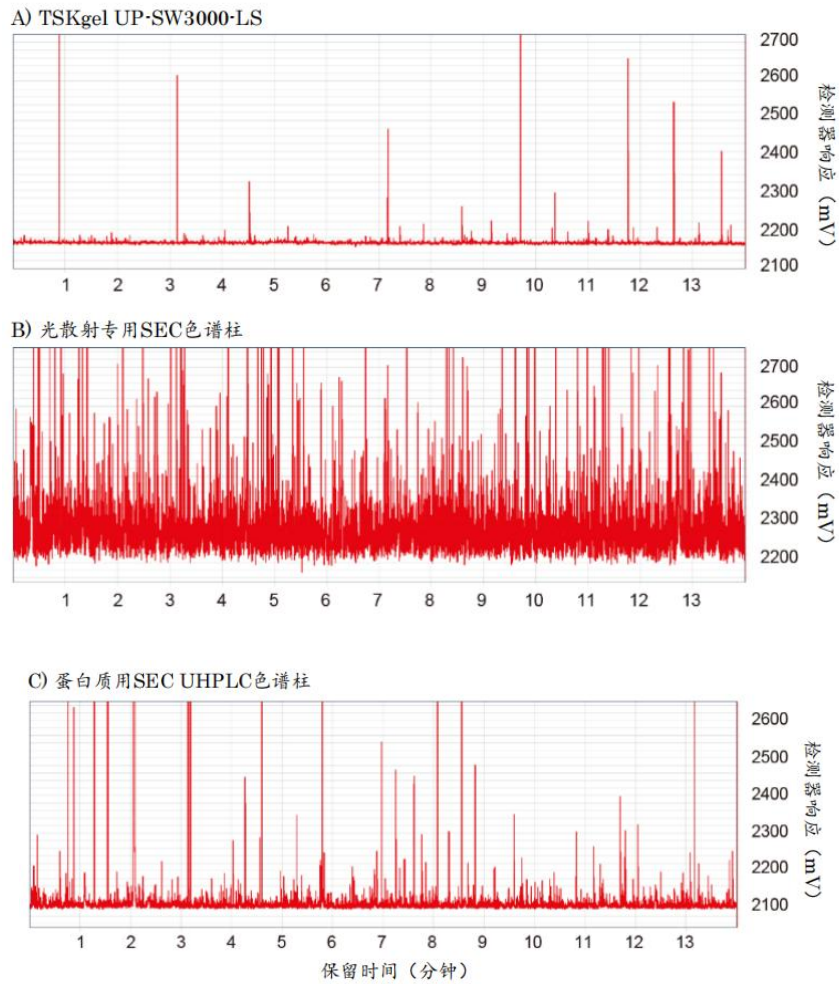
图 2 TSKgel UP-SW3000-LS 的校准曲线

近来，单克隆抗体衍生的双特异性或多特异性生物分子受到越来越多的关注。由于低分子量杂质和高分子量杂质的增加，使这些生物分子可能变得更加复杂。因此，需要更高级的检测方法，如：MALS 或质谱法来表征这些复杂的样品。TSKgel UP-SW3000-LS 色谱柱正是为与高级检测器联用分析而设计的 UHPLC 色谱柱。针对多角度光散射（MALS）应用时，低噪音水平意味着高信噪比和检测灵敏度提升。针对质谱应用时，低柱流失可增加电喷雾离子化效率，增强整体 MS 的性能和设备正常运行时间。

TSKgel UP-SW3000-LS 如何在 MALS 和 MS 应用中实现低噪音

TSKgel UP-SW3000-LS 色谱柱的主要特点是噪音更低，如图 3A 所示。LenS3 多角度光散射检测器采集的小角度信号数据显示该色谱柱柱流失水平非常低。

为了便于比较，将流动相进样到三种不同的色谱柱，TSKgel UP-SW3000-LS 色谱柱（图 3A）、竞品光散射专用色谱柱（图 3B）和生物制药分析用 UHPLC 色谱柱（非 Tosoh 产品，图 3C）。结果表明，TSKgel UP-SW3000-LS 色谱柱尖峰最少、噪音水平最低。

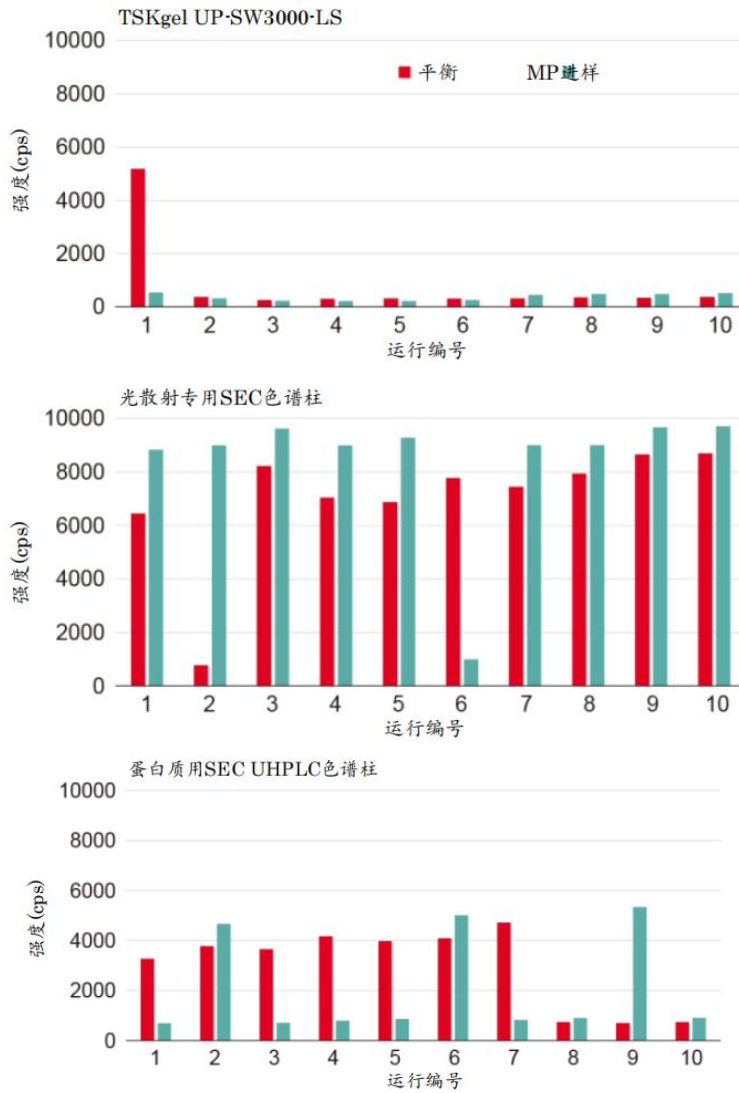


以上是多角度光散射应用时 HPLC 和 UHPLC 色谱柱的比较结果。LenS₃ 多角度光散射检测器检测到了小角度光散射信号 (LALS)。每种色谱柱，仅显示第 3 次进样的分析结果。

色谱柱： 均为 4.6 mm ID × 30 cm L
 流动相： 100 mmol/L 磷酸盐缓冲溶液 pH 6.7 + 100 mmol/L 硫酸钠
 流速： 0.35 mL/min
 运行时间： 15 分钟
 进样量： 10 μL

图 3 MALS 应用下 HPLC 和 UHPLC 色谱柱的比较

图 4 所示为质谱应用时柱流失情况。图中显示的平衡期间和进样流动相后的累积强度 代表柱流失情况。TSKgel UP SW3000-LS 柱“流失” 信号最低，结果取自 20 分钟一次的平衡周期。



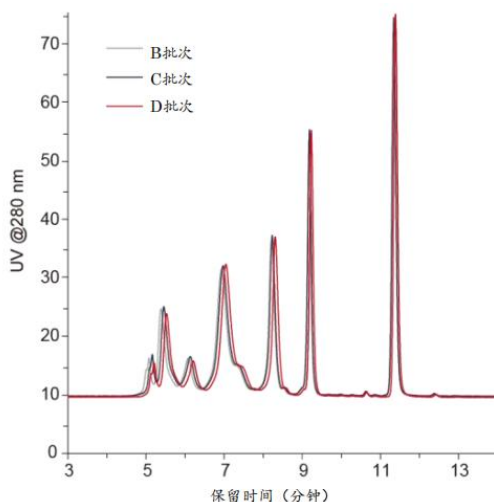
以上是 ESI-MS 检测三种不同色谱柱可见柱流失离子比较结果。显示了平衡期间（无进样）以及进样流动相期间 12 分钟的累积强度。

色谱柱： 均为 4.6 mm ID × 30 cm L
 流动相： 100 mmol/L 甲酸铵，pH 6.8
 流速： 0.2 mL/min
 进样量： 10 μL

图4 ESI-MS 应用下 HPLC 和 UHPLC 色谱柱的比较

批间重复性和柱寿命

如图 5 所示，TSKgel UP-SW3000-LS 色谱柱不仅能够同时兼容 MALS 和 MS 检测，而且批间重复性高。如表 1 所示，柱寿命>500 次进样（测试期间歇性停泵）进一步证实了这一点。这些特点使该色谱柱成为复杂生物治疗分子高效、可靠分析的选择。



三种不同批次色谱柱对蛋白质标准的分离结果。

色谱柱: TSKgel UP-SW3000-LS 4.6 mm ID × 30 cm L
 流动相: 100 mmol/L 磷酸盐缓冲溶液 pH 6.7 + 100 mmol/L 硫酸钠
 流速: 0.35 mL/min
 样品: 蛋白质标准品: 甲状腺球蛋白 (640 kDa)
 γ-球蛋白 (155 kDa)
 卵清蛋白 (47 kDa)
 核糖核酸酶 A (13.7 kDa)
 对氨基苯甲酸 (137 Da)

图 5 TSKgel UP-SW3000-LS 的批间重复性

进样	洗脱时间 (min)	洗脱时间变化 (%)	理论塔板数 (%)	TP 变化 (%)
1	12.464	100.0	55748	100.0
101	12.448	99.9	56343	101.1
201	12.455	99.9	56064	100.6
301	12.460	100.0	56055	100.6
401	12.443	99.8	55792	100.1
500	12.443	99.8	55792	100.1

表 1 色谱柱寿命

上表是单根 TSKgel UP-SW3000-LS 色谱柱上重复进样抗体，进样 100 次后，停泵 6 小时。继续进样抗体前，采用对氨基苯甲酸作为样品来测试色谱柱柱效（洗脱时间和理论塔板数）。

订购信息

货号	描述
023546	TSKgel UP-SW3000-LS 2μm 4.6×300mm
023547	TSKgel UP-SW3000-LS 2μm 4.6×150mm
023548	TSKgel guardcolumn UP-SW-LS 4.6×20mm
023549	TSKgel guardcolumn UP-SW-LS DC 4.6×20mm

* 如果需要更详细的资料，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

公司官网：www.prep-hplc.com

邮 箱：sales@prep-hplc.com

微信公众号：北京慧德易