

TweenTrap 色谱柱使用手册

色谱柱信息

TweenTrap 色谱柱是专为去除水性样品中的表面活性剂(如：吐温)而设计的。填料是由刚性、球状、高交联度、粒径为5 μm的PS/DVB制成。将专有的表面涂层共价键合到PS/DVB载体上，从而实现极高的稳定性及对目标化合物的最小非特异性结合。共价结合的两亲官能团能够吸附脂溶性和水溶性的去污剂(如：吐温)。色谱柱兼容于大多数水相缓冲液，比如醋酸盐、磷酸盐、Tris和其他。

TweenTrap 色谱柱可以与SEC色谱柱串联运行水性样品，并且专门设计用于收集和去除表面活性剂，比如干扰蛋白质SEC定量分析的吐温80/吐温20。为了获得最佳结果，建议TweenTrap运行水基流动相，不添加有机溶剂。图1图2中显示了TweenTrap色谱柱在分析二聚体与单体的关系时，将Tween的干扰降到最低，是一种可在市场上购买的重组单克隆抗体 (mAb)。

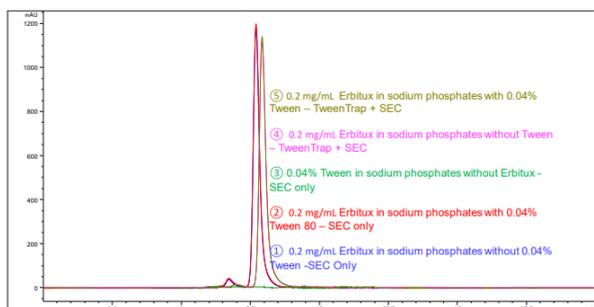


图1. TweenTrap 色谱柱在西妥昔单抗 (Erbitux) 的SEC分析中的影响

流动相：150 mM磷酸钠；pH：7.0；检测波长：214 nm；流速：1 mL/min.；柱温：常温；样品：如图所示；注射量：100 μm。

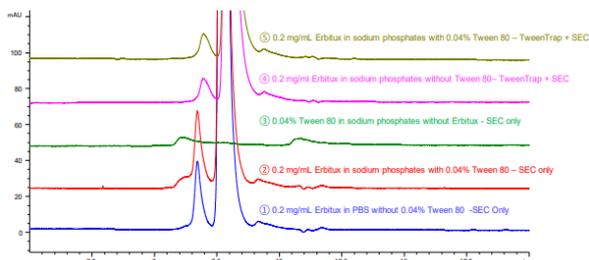


图2. 图1的放大交错视图

线1显示了单独西妥昔单抗的SEC分析(不含吐温)。单体前可以看见清晰的聚集峰。线2显示了0.04%吐温80中西

妥昔单抗的SEC分析(未串联TweenTrap色谱柱)。根据只含吐温80的色谱图(线3)，聚集峰的左边肩前应该是吐温80。这表明吐温80可能会干扰西妥昔单抗的定量分析。线5显示了吐温80干扰最小化的曲线，这是由于串联了赛分 TweenTrap 色谱柱。以同样色谱柱条件再运行一遍仅含西妥昔单抗、不含吐温80的样品，进一步证明这点(线4)。

因此，图1和图2中的色谱叠加图有助于证明西妥昔单抗样品中吐温80是如何被截留在赛分 TweenTrap 色谱柱上，同时仍然可以有有效的分辨和积分聚集峰。可以看到西妥昔单抗聚集体在所有线上的峰型略有不同，这可能归因于 TweenTrap 色谱柱上西妥昔单抗聚集体的相互作用，或者是因为增加了色谱柱死体积，需要对这种效果采取预防措施。

产品参数

填料	高度交联的 PS/DVB 树脂载体化学键合致密的纳米级厚度两亲涂层
孔结构	无孔
粒径	5 μm
操作温度限制	80°C
pH 值稳定范围	2-13
操作压力限制	5,000 psi
流动相兼容性	典型缓冲液：磷酸盐、Tris 和乙酸盐。有机添加剂会洗掉 Tween 和其他表面活性剂
流速	色谱柱内径为 4.6mm 时通常为 0.1-1.0 mL/min

默认 4.6 × 35 mm 色谱柱柱容量

吐温 80 浓度	进样体积	达到注射量之前的进样
0.01%	100 μL	20
0.04%	100 μL	5

安全注意事项

TweenTrap 色谱柱通常在高压下运行。如果管路连接不紧，将会导致缓冲溶剂和注入样品的泄漏，从而对操作人员的健康产生影响。一旦发生泄漏，应佩戴适当的手套进行处理。另外当打开色谱柱时还应采取适当的保护措施，以防止微小的聚合物颗粒进入呼吸道。

色谱柱安装及操作

色谱柱在没有使用时，它的两端应用堵头进行密封。当将色谱柱接入色谱仪器系统时，首先移去两端的堵头。除非出于特殊考虑，例如为了清除堵在色谱柱入口端的堵塞物等而需要将色谱柱反接以进行冲洗时，建议用户在接上色谱柱时一定要遵循柱上标记的方向。由于色谱柱的连接是整个色谱操作过程的一部分，如果密封卡套过紧，或安装不合适，或者密封卡套与色谱柱端口不匹配，都有可能造成溶液的泄漏。请按照下面步骤将色谱柱与密封卡套相连接，从而将色谱柱接入 HPLC 系统：

(a) 请依次将管线接头和密封卡套装在外径 1/16" 的管线上。确保密封卡套的宽口端应朝向管线接头。

(b) 将管线紧紧插入色谱柱的接口，向前滑动密封卡套和管线接头，并使管线接头的螺纹与色谱柱端口的螺纹相互衔接，然后拧紧管线接头。

(c) 在用力将管线压入柱端接口之后，用 1/4" 扳手将已拧紧的螺帽再进一步紧固。

(d) 对色谱柱的另一端采用上述方法进行操作。

样品与流动相

为了避免色谱柱堵塞，所有样品和溶剂都必须在使用前用 0.45 μm 或 0.2 μm 的滤膜过滤。建议使用柱前过滤器 (0.5 μm 熔块) 或保护柱来保护色谱柱。Tweentrap 色谱柱与水基流动相兼容。它们可以与体积排阻色谱 (SEC) 柱联机运行。需要注意，含有机添加剂的水基 SEC 流动相不建议在 Tweentrap 色谱柱上运行。使用前要使用在线脱气器对流动相进行脱气。简单的脱气方法是真空下超声处理 5 分钟。

色谱柱的保养

运输溶剂 Tweentrap 新色谱柱通常在 pH 值为 7.0 的 100 mM 磷酸盐缓冲液中运输。

初次使用 在储存和运输过程中，包装可能会变干。建议用 10-20 CV 的有机溶剂来激活色谱柱。用流动相冲洗柱子，流速从 0.1 mL/min 逐渐增加至一般操作条件，直到基线稳定。如果流动相或 pH 值与色谱柱中的缓冲液有很大不同，建议用 10 CV 新的流动相清洗色谱柱。

pH 为延长 Tweentrap 色谱柱的使用寿命，最佳性能和操作 pH 值为 2-13。

压力 Tweentrap 色谱柱可以在压力 5,000 psi 的条件下对 5 μm 粒径进行操作，正常操作通常在 3,500 psi 以下。在高压下连续使用可能会损坏色谱柱和泵。压力由流速产生，

最大流速受到背压的限制。背压会随使用逐渐增加，如果背压突然增加表明色谱柱入口的熔块可能被堵塞。这种情况下，建议用适当溶剂反向流动冲洗色谱柱，等到压力下降到零时再将色谱柱从测试仪器上断开。

温度 最高工作温度为 80°C，最佳操作温度是 10-50°C。在更高的温度下 (>80°C) 连续使用会损坏色谱柱，特别是在极端 pH 值 (>13 或 <2.0)。

流速范围 对于 4.6 mm 内径的柱子，一般操作条件是 0.1-1.0 mL/min。

储存 当长时间不使用时，建议将色谱柱储存在 100 mM pH 7.0 的磷酸盐缓冲液或 0.02% NaN_3 溶液中。用至少 15 CV 缓冲液冲洗色谱柱后，用提供的可拆卸端塞封住两端，防止柱床的干燥。

色谱柱清理 Tweentrap 色谱柱与 SEC 色谱柱的连接。如果使用有机溶剂清洗色谱柱，请确保 Tweentrap 色谱柱已被至少 10 CV 水洗，以去除残留的缓冲盐。固定的表面活性剂可以用以下两种方法之一来清洗：

有机溶剂，如 15% 的 IPA，在与 SEC 色谱柱断开连接后，需以 0.35 mL/min 的流速反向清洗 Tweentrap 色谱柱 15min，然后水洗 10 min。用缓冲液平衡色谱柱后继续进行

操作。或 0.5M NaOH 溶液，在断开与 SEC 色谱柱的连接后，可用 0.5M NaOH 钠溶液去除表面活性剂。Tweentrap 色谱柱在 0.35 mL/min 的流速下反向冲洗 15min，再水洗 30min。用缓冲液平衡色谱柱后继续进行

Tweentrap 产品规格

产品	内径×长度 mm×mm	粒径 μm	货号
Tweentrap	4.6×35	5	010054-4603

*其他规格色谱柱产品及任何问题可致电：400-636-8880 或联系 marketing@sepax-tech.com.cn。