



HiTrap 脱盐柱, 5 毫升

产品手册

1 产品说明

HiTrap 脱盐柱装有 Sephadex G-25 Superfine 填料。填料主要成分为交联葡聚糖,具有出色的分辨率和高流速的特点。该填料的分离范围是介于 Mr1000 和 5000 之间,排阻范围为大于 Mr5000,这确保可以对大于 Mr5000 的蛋白质等样品进行有效的组分分离。

HiTrap 脱盐柱可用于 pH 2 至 13 范围内的溶液,适用于所有常用缓冲液、尿素溶液 (8M)、盐酸胍 (6 M) 以及所有非离子和离子缓冲液。低浓度的醇类 (如甲醇、乙醇、丙醇) 可能会在缓冲液或样品中使用,但我们建议浓度保持在 25 v/v% 以下。应避免柱子长时间接触 pH 值低于 2 或高于 13 的溶液或氧化剂。

推荐的样品体积范围是 0.1 到 1.5 ml。分离不受流速影响,可以在 1 至 10 毫升/分钟。推荐的最大流速为 15 ml/min。

HiTrap 脱盐柱的特性如表 2 所示

Table 2. HiTrap Desalting characteristics

Matrix	Sephadex G-25 Superfine, cross-linked dextran
Separation mechanism	According to size
Void volume	1.5 ml
Recommended sample volume	0.1 to 1.5 ml
Sample dilution, syringe operation	1.3 to 4.0 × applied volume
Exclusion limit	M _r 5 000
Bead size	15 to 70 µm
Maximum flow rate ¹	15 ml/min
Recommended flow rate ¹	1 to 10 ml/min
Back pressure at 10 ml/min ¹	0.25 bar
Chemical stability	All commonly used buffers
pH stability, short and long term ²	2 to 13
Storage	20% ethanol at 4°C to 30°C

¹ room temperature, aqueous buffers

² *short term* refers to the pH interval for regeneration.

long term refers to the pH interval where the medium is stable over a long period of time without adverse effects on its subsequent chromatographic performance.

2 操作

缓冲液制备

对于含有带电基团的样品，洗脱液建议使用含有盐离子的缓冲液。盐离子浓度建议至少为 25 mM 来防止可能和填料产生的离子相互作用。氯化钠常用于此目的。当盐离子浓度高于 1.0 M 时，疏水性物质可能会被阻碍或结合到填料上。在更高的盐浓度 ($>1.5\text{M}(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) 时，柱填料可能会收缩。

样品制备

样品的浓度不影响分离，建议样品粘度和缓冲液的粘度相差不超过 factor of 1.5。这对应于当使用正常的水性缓冲液时，样品中蛋白的最大浓度为 70 mg/ml 或高分子量聚合物例如葡聚糖的浓度为 5 mg/ml。样品应完全溶解。在上样之前对样品进行离心或过滤 (0.45um 滤器) 以去除杂质。

使用方法

◆ 脱盐柱平衡

- 1 注射器或仪器管道充满缓冲液。取下柱子上面的堵头。为避免将空气引入脱盐柱，请以“液滴对液滴”的形式连接脱盐柱。
- 2 去除脱盐柱下端的接口。
- 3 用 25 ml 缓冲液以 5 ml/min 的速度平衡脱盐柱以完全去除乙醇。

注意： 5 毫升/分钟对应于约 120 滴/分钟，当使用 HiTrap 5 ml 脱盐柱。

如果脱盐柱里面有空气，用脱气缓冲液反向冲洗脱盐柱直到气泡消失。

◆ 方案一：用注射器操作

如果使用注射器进行脱盐柱操作，请使用产品附赠的接头将注射器连接脱盐柱。

- 1 平衡色谱柱，参见“脱盐柱平衡”。
- 2 使用 2 - 5 ml 上样。

推荐的最大样品体积为 1.5 ml。参见图 2 不同上样体积的影响。使用流速为

1 和 10 毫升/分钟。丢弃流出液。

3 更换缓冲液并继续加入到脱盐柱中。

如果样品体积小于 1.5 ml，则添加缓冲液直至总共有 1.5 ml 缓冲液流出。丢弃流出液。

4 洗脱高分子量组分所用的体积参见表 3，收集洗脱液。

Table 3. Recommended sample and elution volumes using a syringe. Examples of typical yields and remaining salt in the desalted sample.

Sample load (ml)	Elute and Add buffer (ml)	Collect (ml)	Remaining Yield (%)	Salt (%)	Dilution factor
0.25	1.25	1.0	> 95	0.0	4.0
0.50	1.0	1.5	> 95	< 0.1	3.0
1.00	0.5	2.0	> 95	< 0.2	2.0
1.50	0.0	2.0	> 95	< 0.2	1.3

注意：某些类型的分子，例如小杂环或同环芳香族化合物（嘌呤、嘧啶、染料物质）可以与 Sephadex 填料相互作用，因此可能洗脱的时间比预期要晚。

◆ 方案二：使用蠕动泵或者纯化系统操作

脱盐柱的 void volume 是 1.5 ml。高分子量组分在 1.5 到 4.5 ml 之间洗脱，具体取决于样品体积。

低分子量组分在 3.5 ml 之后开始洗脱。参见图 3 显示了不同体积样品上样效果。

1 平衡脱盐柱；参见“脱盐柱平衡”。

2 最多上样 1.5 毫升样品。查看 UV 曲线和电导曲线监测流出液。保持流速范围为 1 至 10 ml/min。收集各组分洗脱液。

3 用大约 10 ml 的缓冲液清洗柱子，收集洗脱液。

4 用缓冲液清洗 5 个柱体积，充满 20%乙醇保存。

Column: HiTrap Desalting
Sample: 2 mg/ml bovine serum albumin in 50 mM sodium phosphate buffer, 0.5 M sodium chloride, pH 7.0
Sample volume: 0.3 ml, 1.3 ml, 2.2 ml
Eluent: 50 mM sodium phosphate buffer, 0.15 M sodium chloride, pH 7.0
Flow rate: 5 ml/min
Detection: UV (280 nm, 5 mm cell) and conductivity
Sample Injection: Syringe

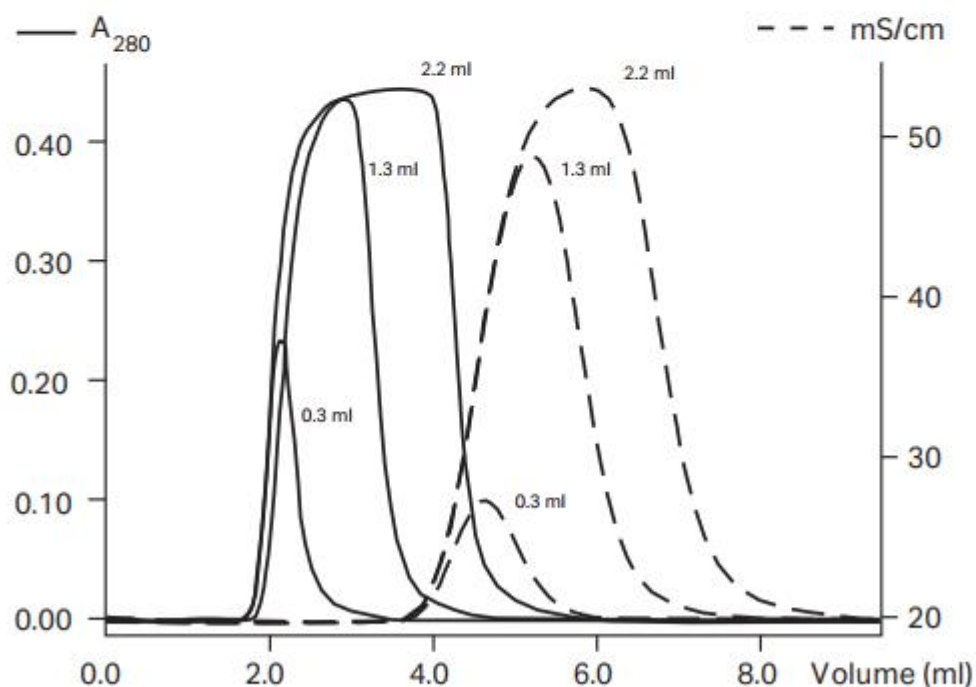


Fig 2. The effect of different sample volumes on the HiTrap Desalting column using a syringe for sample injection

Column:	HiTrap Desalting
Sample:	2 mg/ml bovine serum albumin in 50 mM sodium phosphate buffer, 0.5 M sodium chloride, pH 7.0
Sample volume:	0.5 ml, 1.1 ml, 2.1 ml
Eluent:	50 mM sodium phosphate buffer, 0.15 M sodium chloride, pH 7.0
Flow rate:	5 ml/min
Detection:	UV (280 nm, 5 mm cell) and conductivity
Sample injection:	Tubing loops

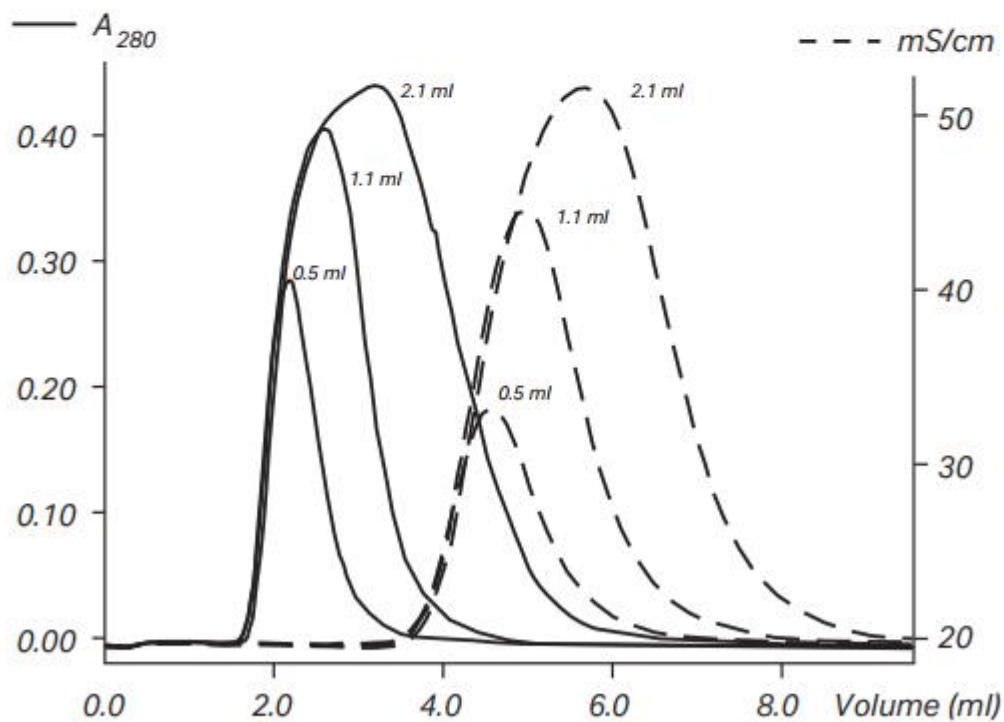


Fig 3. The effect of different sample volumes on the HiTrap Desalting column using tubing loops for sample injection.

3 大规模纯化

对于 1.5 ml 以上的样品体积的脱盐，或者想增加高分子量和低分子量组分之间的分辨率，可以考虑将最多五个 HiTrap 脱盐柱进行首尾相连的串联。对于注射器操作，表 3 中建议的体积应按比例增加并保持推荐的流速。样品的稀释取决于样品体积和串联脱盐柱的数量。更低的稀释度参见表 3，但洗脱体积需要优化。也可以考虑使用 HiPrep™ 26/10 脱盐柱（17508701），单根最大上样量为 15ml，串联 4 根上样量扩大为 60ml。

4 存储

用 25ml 20% 的乙醇充满 HiTrap 脱盐柱进行储存。建议储存温度为 4℃ 至 30℃。

5 订购信息

Product	No. Supplied	Code No.
HiTrap Desalting	1 × 5 ml	29-0486-84
	5 × 5 ml	17-1408-01
	100 × 5 ml ¹	11-0003-29
Related products	No. Supplied	Code No.
PD-10 Desalting Column	30	17-0851-01
HiPrep 26/10 Desalting	1 × 53 ml	17-5087-01
HiPrep 26/10 Desalting	4 × 53 ml	17-5087-02

Accessories	Quantity	Code No.
1/16" male/luer female <i>(For connection of syringe to top of HiTrap column)</i>	2	18-1112-51
Tubing connector flangeless/M6 female <i>(For connection of tubing to bottom of HiTrap column)</i>	2	18-1003-68
Tubing connector flangeless/M6 male <i>(For connection of tubing to top of HiTrap column)</i>	2	18-1017-98
Union 1/16" female/M6 male <i>(For connection to original FPLC System through bottom of HiTrap column)</i>	6	18-1112-57
Union M6 female /1/16" male <i>(For connection to original FPLC System through top of HiTrap column)</i>	5	18-3858-01
Union luerlock female/M6 female	2	18-1027-12
HiTrap/HiPrep, 1/16" male connector for ÄKTA design	8	28-4010-81
Stop plug female, 1/16" <i>(For sealing bottom of HiTrap column)</i>	5	11-0004-64
Fingertight stop plug, 1/16"	5	11-0003-55

