

Superdex 200 制备级-无与伦比的分辨率和速度

自从 Sephadex™ 应用以来，凝胶过滤一直在生物分子纯化方面占据重要的地位。凝胶过滤中，溶液中生物分子通过填充凝胶基质的层析柱，由于分子大小不同而分开。凝胶过滤是一种温和的分离技术，根据特定生物分子的要求，在非常宽泛的条件下进行操作。

在设计凝胶过滤基质时，一个内在问题在于如何将可控的孔径范围以及化学物理稳定性和惰性进行有效地结合。

Sephadex 已经成为许多新型凝胶过滤介质比较的标准。Sephadex 由于其孔径分布的缘故，具有物化惰性和卓越的选择性，然而物理强度不够。

Superdex™ 采用葡聚糖和琼脂糖混合物作为基质，将 Sephadex 陡峭的选择曲线特点和高度交联琼脂糖的物理和化学稳定性相结合，见图 1。正因为这些性质，Superdex 200 制备级即使在高流速的情况下也能获得极高的分辨率，这一点在下文中有明显的说明。Superdex 200 制备级的颗粒大小分布范围很窄（平均 34 μm ），最适合用于制备型的凝胶过滤。

与 Sephadex G-200 相比，Superdex 200 制备级的分辨率

将小鼠单克隆细胞上清，IgG₁ 分别加载于填充有 Superdex 200 制备级和 Sephadex G-200 的层析柱中。两根柱都在该介质推荐的最大流速下进行运作。收集各成分，并通过 SDS-PAGE 对其纯度进行分析。

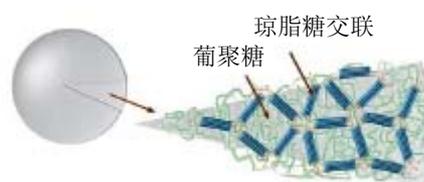


图 1. Superdex 200 制备级上某个基质球形表面的假想图。

与 Sephadex 相比，Superdex 具有更高的分辨率，这一点通过色谱图和 SDS-PAGE 得到证实，见图 2 和 3。

节省时间

由于刚性基质比柔软基质可在更高的流速下使用，因此 Superdex 200 制备级层析柱运作只需要不到两小时，而 Sephadex G-200 的典型运作则需要过夜，见图 2。

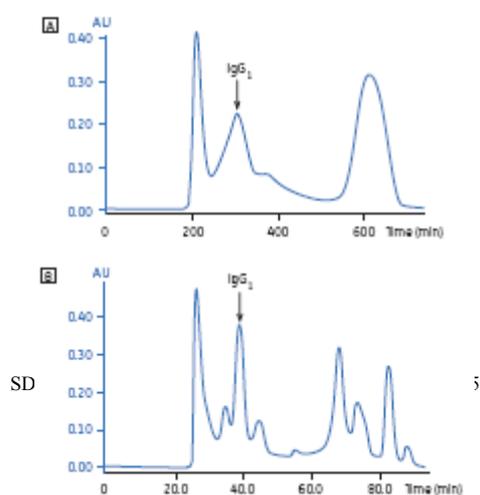
除了样品制备外，在 Sephadex 上进行样品分离所需的时间还包括了介质的装填（膨胀，除气，填充，平衡和柱床检查）。所需时间的差别在表 1 和图 4 中列出。使用 Superdex 预装柱时，纯化的样品可在 3 小时零 20 分钟得到，而使用填充 Sephadex G-200 的 XK 16/70 层析柱则需要 56 个小时。如此差别何等显著。

放大

Superdex 200 制备级可在保证性能的同时轻松地放大，如图 5A 和 5B 中所示。

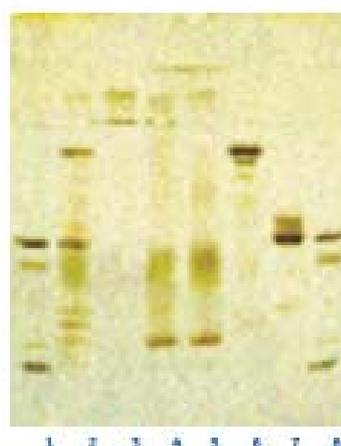
层析柱: A) 填充 Sephadex G-200 的 XK 16/70 层析柱
 B) HiLoad 16/60 Superdex 200 pg
 柱体积, CV: 大约 120 ml
 样品: 小鼠单克隆细胞上清, IgG₁
 样品预处理: 通过 Amincon™浓缩细胞 PM10 过滤器进行浓缩, 约 40 倍
 样品体积: 1.2 ml (1%的柱体积)
 缓冲液: 50 mM 的磷酸二氢钠, 0.15 M 的氯化钠, pH 7.0
 流速: A) 0.2 ml/min (6 cm/h)
 B) 1.6 ml/min (50 cm/h)
 系统: 带 FPLCdirector™软件的 FPLC™系统

缓冲液: phastGel 缓冲 SDS 条
 样品体积: 1 μl
 标准: LMW-SDS Marker 剂盒
 染色: 银染, 根据生厂商提供的方案进行
 系统: PhastSystem™



SD

5



泳道 1: LMW 分子标准
 泳道 2: 初始物质, 含小鼠 IgG₁ 的细胞培养上清
 泳道 3: 成分 9
 泳道 4: 成分 14
 泳道 5: 成分 22
 泳道 6: 成分 29
 泳道 7: 成分 38
 泳道 8: LMW 分子标准

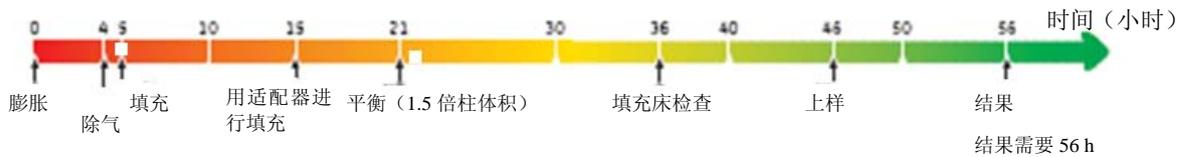
图 3. SDS-PAGE 和银染对 Superdex 200 制备级收集的各成分进行纯度检测 (图 2B)。

图 2. 采用 A) Sephadex G-200 和 B) Superdex 200 制备级对小鼠单克隆细胞上清中 IgG₁ 进行纯化的色谱图。进行纯化的色谱图。

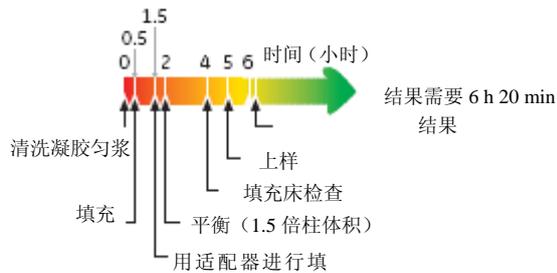
表 1. 采用 Sephadex G-200 和 Superdex 200 制备级进行纯化的时间表。表中的数据代表纯化方案中每一步所需的时间, 以小时为单位。

	填充 Sephadex G -200 的 XK 16/70 (小时)	填充 superdex 200 制备级的 XK 16/70 (小时)	HiLoad 16/60 Superdex 200 (小 pg, 预填充柱 (小时))
膨胀	4	不需要	不需要
除气	1	0.5	不需要
填充	16	1.5	不需要
平衡	15	2	2
填充床检查	10	1	不需要
上样和洗脱	10	1.3	1.3
总时间	56	6.3	3.3

填充 Sephadex G -200 的 XK 16/70



填充 superdex 200 制备级的 XK 16/70



HiLoad 16/60 Superdex 200 pg

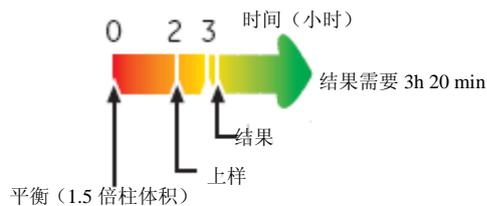
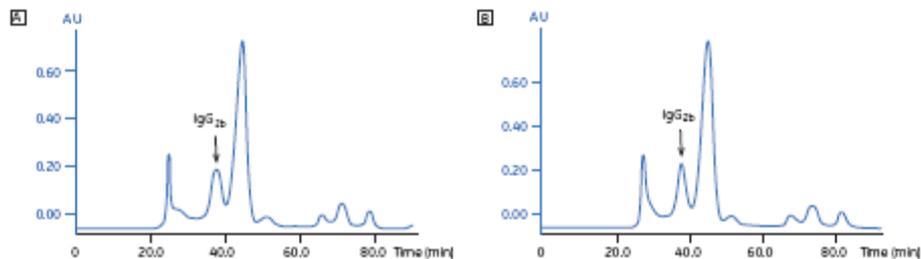


图 4.通过 Sephadex G -200, superdex 200 制备级以及 HiLoad 16/60 Superdex 200 凝胶过滤进行组分分离的时间轴。

层析柱:	HiLoad Superdex 200 pg
柱体积, CV:	A) 大约 120 ml (16/60) B) 大约 320 ml (26/60)
样品:	小鼠单克隆细胞上清, IgG _{2b} , 含 1% 的胎牛血清
样品预处理:	通过 Amicon 浓缩细胞进行浓缩约 40 倍
样品体积:	A) 1.2 ml B) 3.2 ml
缓冲液:	50 mM 的磷酸二氢钠, 0.15 M 的氯化钠, pH 7.0
流速:	A) 1.6 ml/min (50 cm/h) (最大推荐流速) B) 4.4 ml/min (50 cm/h) (最大推荐流速)
系统:	带 FPLCdirector 软件的 FPLC 系统



结论

Superdex 200 制备级比 Sephadex G-200 具有更高的分辨率和更快的处理速度。若使用预填充 HiLoad™ 柱可以节省更多的时间，并可以保证最佳的填充和运作效率。

Superdex 具有很宽的选择性和颗粒大小规格，可适用于不同分离范围下的工作以及从分析级到全生产规模的工艺放大。Superdex 200 制备级的分离范围在 10000 到 600000 之间，非常适合于包括单克隆抗体在内的大蛋白的分离。

总而言之，这些属性使得 Superdex 200 制备级在所有应用，无论是实验室还是工艺级别的应用中，成为凝胶过滤介质的首选。

订货信息

Products	Quantity	Code no.
Prepacked columns		
HiLoad 16/60 Superdex 200 pg	1 × 120 ml	17-1069-01
HiLoad 26/60 Superdex 200 pg	1 × 320 ml	17-1071-01
Bulk media		
Superdex 200 prep grade	150 ml	17-1043-01
Superdex 200 prep grade	25 ml	17-1043-10
Empty lab-scale columns		
XK 16/70 column	1	18-8775-01
XK 26/70 column	1	18-8769-01
XK 16/40 column	1	18-8774-01