

生物小分子 分离体积排阻色谱

Zenix SEC-80

Zenix-C SEC-80

(3 μm , 80 \AA)



赛分科技
Sepax Technologies

目录

引言	1
Zenix™ SEC-80 和 Zenix™-C SEC-80 的技术参数	2
Zenix™ SEC-80 7.8 x 300 mm 的质量控制测试	3
Zenix™-C SEC-80 7.8 x 300 mm 的质量控制测试	4
Zenix™ SEC-80 和 Zenix™-C SEC-80 固定相的差异性	5
Zenix™ SEC-80 和 Zenix™-C SEC-80 固定相的相似性	5
Zenix™ SEC-80 在不同流动相条件下分析胰岛素的对比	6
Zenix™-C SEC-80 在不同流动相条件下分析胰岛素的对比	6
Zenix™ SEC-80 7.8 x 300 mm 样品分析叠加图	7
Zenix™-C SEC-80 7.8 x 300 mm 样品分析叠加图	7
Zenix™ 和 Zenix™-C SEC-80 的校准曲线	8
采用 Zenix™ SEC-80 2.1 x 50 mm 进行质谱联用快速分析	8
不同比例有机添加剂对 Zenix™ SEC-80 分离多肽的影响	9
Zenix™ SEC-80 7.8 x 300 mm 分离两种多肽	9
Zenix™ SEC-80 分析大肠杆菌胰蛋白酶水解物	10
Zenix™ SEC-80 7.8 x 300 mm 的柱寿命测试	10
经 20% 乙腈保存的 Zenix™ SEC-80 对抑肽酶的分析	11
Zenix™ 和 Zenix™-C SEC-80 7.8 x 300 mm 的色谱柱安装及操作规程	12
Zenix™ SEC-80 和 Zenix™-C SEC-80 7.8 x 300 mm 的故障排除	13
订购信息	15

引言

Zenix™ SEC phase

Zenix™ SEC固定相是采用创新的表面修饰技术，通过在高纯度具有良好机械稳定性的硅胶基质上，键合一层均匀的纳米厚度亲水薄膜而制备得到。Zenix™ SEC固定相的表面化学结构为在有孔硅胶上键合一层直立状单分子层，为基于尺寸大小的高效分离提供了理想的表面化学。3 μm粒径的Zenix™为凡基于尺寸大小分离生物分子，提供了稳定、可重现、以及最高分辨率的强大工具。

Zenix™-C SEC phase

Zenix™-C SEC固定相是采用创新的表面修饰技术，通过在高纯度具有良好机械稳定性的硅胶基质上，键合一层均匀的纳米厚度亲水薄膜而制备得到。Zenix™-C SEC固定相的表面化学结构为在有孔硅胶上键合一层单层平铺状单分子层，为基于尺寸大小的高效分离提供了理想的表面化学。3 μm粒径的Zenix™-C为凡基于尺寸大小分离生物分子，提供了稳定、可重现、以及最高分辨率的强大工具。

固定相化学结构示意图

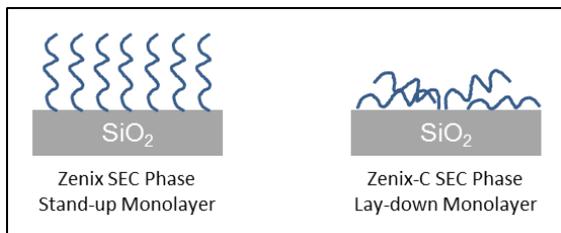


图 1. Zenix™ SEC 和 Zenix™-C SEC 的固定相表面结构

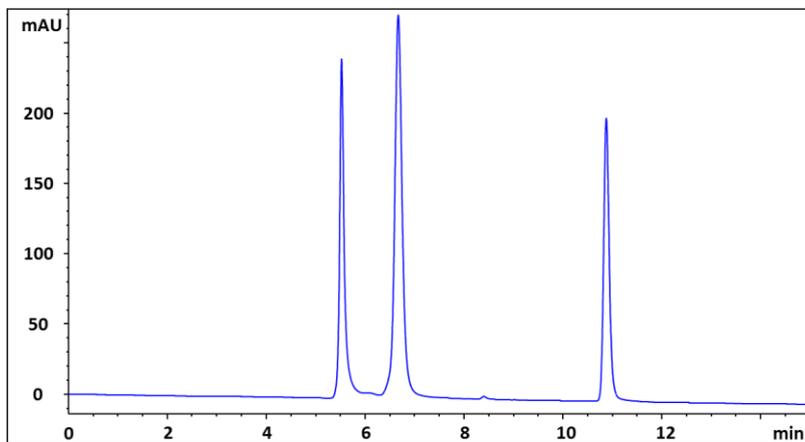
Zenix™和 Zenix™-C 固定相的主要特征

特征	Zenix™ SEC-80	Zenix™-C SEC-80
粒径	3 μm	3 μm
孔径(Å)	80	80
表面结构	单层直立状 化学键合层	单层平铺状 化学键合层

Zenix™ SEC-80 和 Zenix™-C SEC-80 的技术参数

固定相	Zenix™ SEC-80	Zenix™-C SEC-80
材料	中性亲水涂层 键合在硅胶表面	中性亲水涂层 键合在硅胶表面
粒径	3 μm	3 μm
孔径(Å)	~ 80	~ 80
pH 稳定性	2 – 8.5 (短时可耐 pH 8.5- 9.5)	2 – 8.5 (短时可耐 pH 8.5- 9.5)
最大耐受反压	~ 4,500 psi	~ 4,500 psi
最高耐受温度(°C)	~ 80	~ 80
流动相兼容性	水相及有机相溶剂	水相及有机相溶剂
分子量范围(天然)	100 - 50,000 Da	100 - 50,000 Da

Zenix™ SEC-80 7.8 x 300 mm 的质量控制测试



化合物名称	保留时间 (min)	峰面积	塔板数	拖尾因子	分离度
BSA	5.52	1676	22493	1.49	---
核糖核酸酶 A	6.67	3056	10253	1.05	5.57
尿嘧啶	10.87	1630	46129	1.19	18.03

图 2. Zenix™ SEC-80 7.8 x 300 mm 的标准质量控制测试

流动相：150 mM 磷酸钠缓冲液, pH 7.0

流速：1.0 mL/min

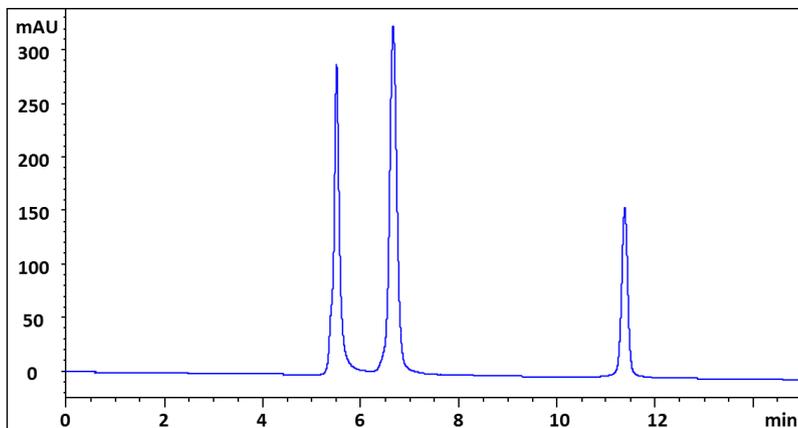
检测波长：UV 214 nm

压力：101 bar

样品：1) BSA ; 2) 核糖核酸酶 A ; 3) 尿嘧啶

进样量：5 μ L 样品(每种蛋白质 1 mg/mL)

Zenix™ -C SEC-80 7.8 x 300 mm 的质量控制测试



化合物名称	保留时间 (min)	峰面积	塔板数	拖尾因子	分离度
BSA	5.51	2546	15999	1.12	---
核糖核酸酶 A	6.66	3572	10452	0.95	5.29
尿嘧啶	11.38	1441	43021	0.97	19.64

图 3. Zenix™ -C SEC-80 7.8 x 300 mm 的标准质量控制测试

流动相：150 mM 磷酸钠缓冲液, pH 7.0

流速：1.0 mL/min

检测波长：UV 214 nm

样品：1) BSA；2) 核糖核酸酶 A；3) 尿嘧啶

进样量：5 μ L 样品(每种蛋白质 1 mg/mL)

Zenix™ SEC-80 和 Zenix™-C SEC-80 固定相的差异性

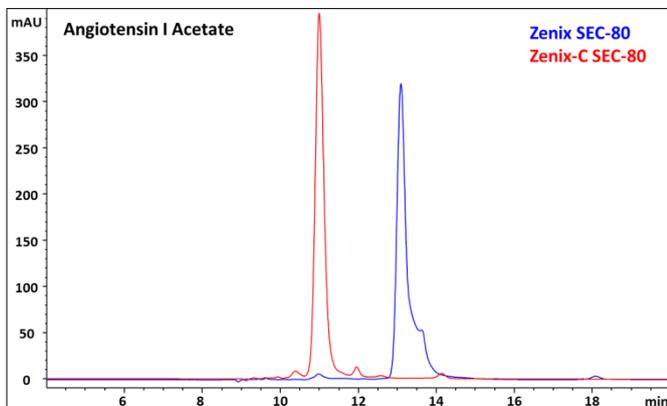


图 4. Zenix™ SEC-80 和 Zenix™-C SEC-80 7.8 x 300 mm 分析醋酸血管紧张素 I 的叠加图

流动相：150 mM 磷酸钠缓冲液, pH 7.0; 流速：1.0 mL/min;

检测波长：UV 214 nm; 进样量：5 μ L 醋酸血管紧张素 I (1 mg/mL; 1,297 Da)

Zenix™ SEC-80 和 Zenix™-C SEC-80 固定相的相似性

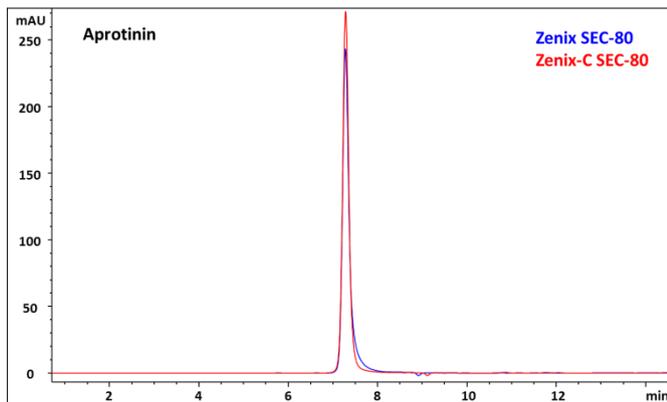


图 5. Zenix™ SEC-80 和 Zenix™-C SEC-80 7.8 x 300 mm 分析抑肽酶的叠加图

流动相：150 mM 磷酸钠缓冲液, pH 7.0; 流速：1.0 mL/min;

检测波长：UV 214 nm; 进样量：5 μ L 抑肽酶 (1 mg/mL; 6,500 Da)

Zenix™ SEC-80 在不同流动相条件下分析胰岛素的对比

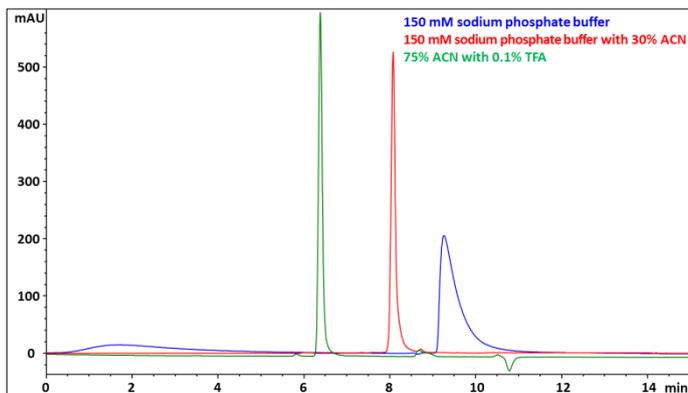


图 6. Zenix™ SEC-80 7.8 x 300 mm 在不同流动相条件下分析胰岛素的叠加图

流动相：150 mM 磷酸钠缓冲液, pH 7.0; 150 mM 磷酸钠缓冲液 + 30% 乙腈 ; 75% 乙腈 + 0.1% 三氟乙酸 ; 流速 : 1.0 mL/min; 检测波长 : UV 214 nm; 进样量 : 5 μ L 胰岛素 (1 mg/mL; 5,778 Da)

Zenix™-C SEC-80 在不同流动相条件下分析胰岛素的对比

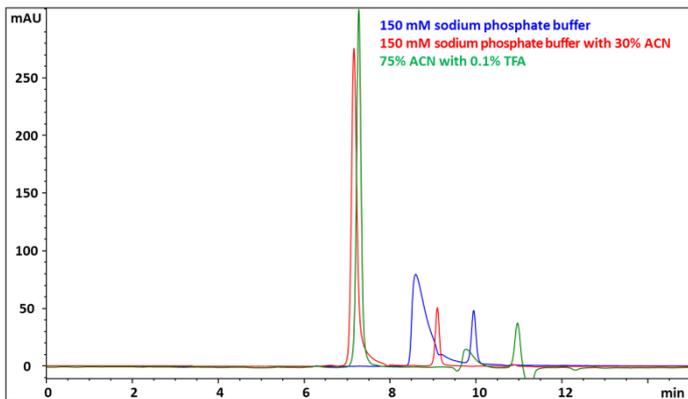


图 7. Zenix™-C SEC-80 7.8 x 300 mm 在不同流动相条件下分析胰岛素的叠加图

流动相：150 mM 磷酸钠缓冲液, pH 7.0; 150 mM 磷酸钠缓冲液 + 30% 乙腈 ; 75% 乙腈 + 0.1% 三氟乙酸 ; 流速 : 1.0 mL/min; 检测波长 : UV 214 nm; 进样量 : 5 μ L 胰岛素 (1 mg/mL; 5,778 Da)

Zenix™ SEC-80 7.8 x 300 mm 样品分析叠加图

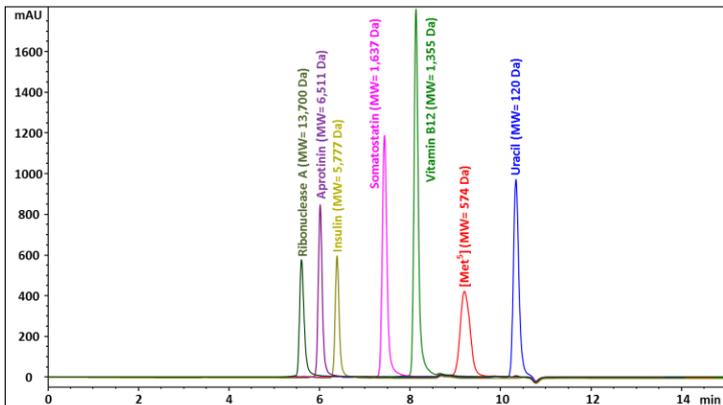


图 8. Zenix™ SEC-80 7.8 x 300 mm 不同样品进样叠加图

流动相：75% 乙腈 + 0.1% 三氟乙酸；流速：1.0 mL/min;

检测波长：UV 214 nm；进样量：5 μ L 样品 (1 mg/mL)

Zenix™-C SEC-80 7.8 x 300 mm 样品分析叠加图

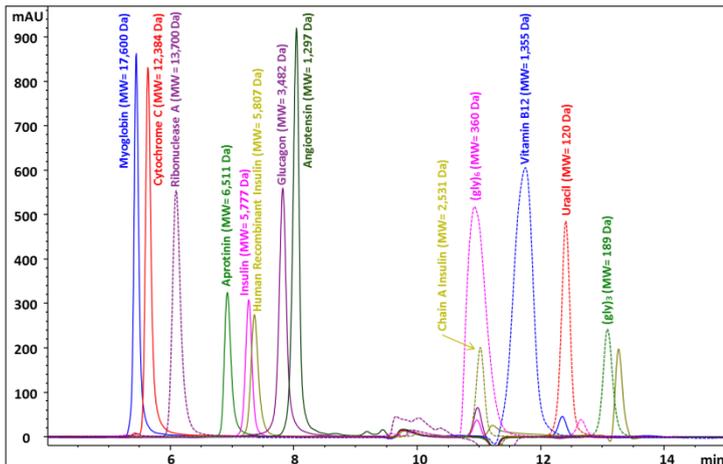


图 9. Zenix™-C SEC-80 7.8 x 300 mm 不同样品进样叠加图

流动相：75% 乙腈 + 0.1% 三氟乙酸；流速：1.0 mL/min;

检测波长：UV 214 nm；进样量：5 μ L 样品 (1 mg/mL)

Zenix™和 Zenix™-C SEC-80 的校准曲线

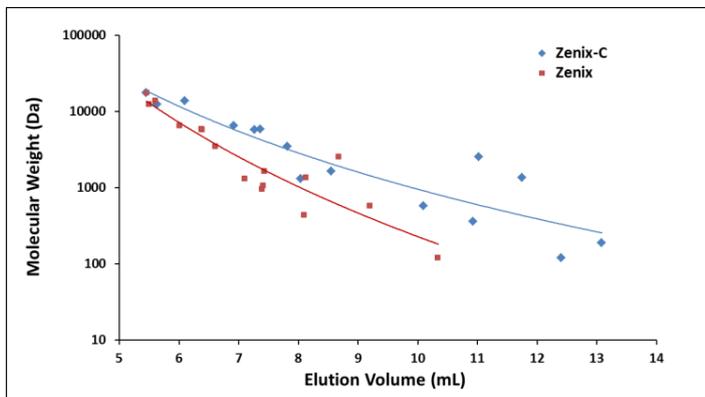


图 10. Zenix™ SEC-80 和 Zenix™-C SEC-80 7.8 x 300 mm 的校准曲线

流动相：75% 乙腈 + 0.1% 三氟乙酸；流速：1.0 mL/min;

检测波长：UV 214 nm；进样量：5 μ L 样品 (1 mg/mL)

采用 Zenix™ SEC-80 2.1 x 50 mm 进行质谱联用快速分析

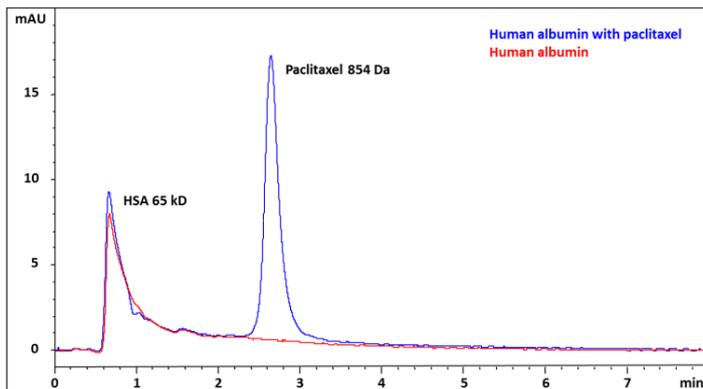


图 11. 采用 Zenix™ SEC-80 2.1 x 50 mm 进行质谱联用快速分析

流动相：50 mM 醋酸铵 + 30% 乙腈；流速：0.2 mL/min;

检测波长：UV 228 nm；进样量：0.1 μ L 样品

不同比例有机添加剂对 Zenix™ SEC-80 分离多肽的影响

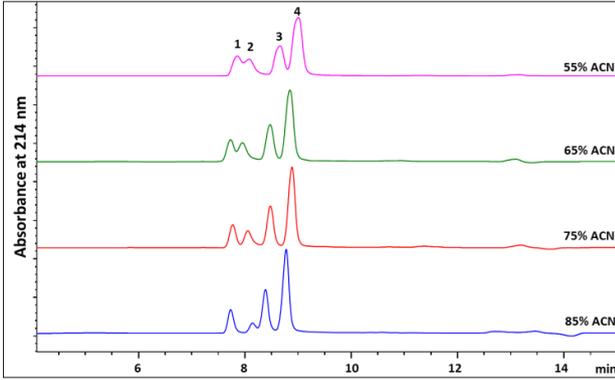
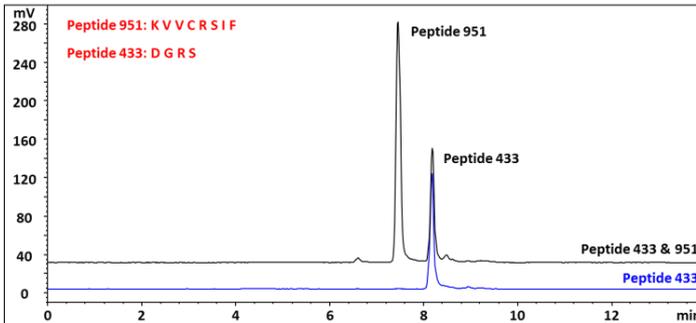


图 12. 流动相中添加不同比例乙腈下 Zenix™ SEC-80 7.8 x 300 mm 分离多肽混合物的叠加图

流动相：图示不同比例的乙腈+ 0.1%三氟乙酸；流速：0.8 mL/min；检测波长：UV 214 nm；进样量：5 μ L 样品(每种蛋白质 0.5 mg/mL)；样品：1) 胰岛素(5,778 Da)；2) 胰高血糖素(3,483 Da)；3) 醋酸血管紧张素 I(1,297 Da)；4) 缓激肽(1,060 Da)

Zenix™ SEC-80 7.8 x 300 mm 分离两种多肽



Name	Retention Time (min)	Area	Resolution	Tailing	Plate Count
Peptide 951	7.460	1373189		1.121	30778
Peptide 433	8.187	741998	4.4	1.062	43397

图 13. Zenix™ SEC-80 7.8 x 300 mm 分离两种多肽

流动相：75% 乙腈 + 0.1%三氟乙酸；流速：1.0 mL/min；检测：ELSD (65 °C；气体流速为 2 L/min；增益为 1)；进样量：10 μ L 样品(每种蛋白质 0.5 mg/mL)；样品：1) 多肽 951(951 Da)；2) 多肽 433(433 Da)

Zenix™ SEC-80 分析大肠杆菌胰蛋白酶水解物

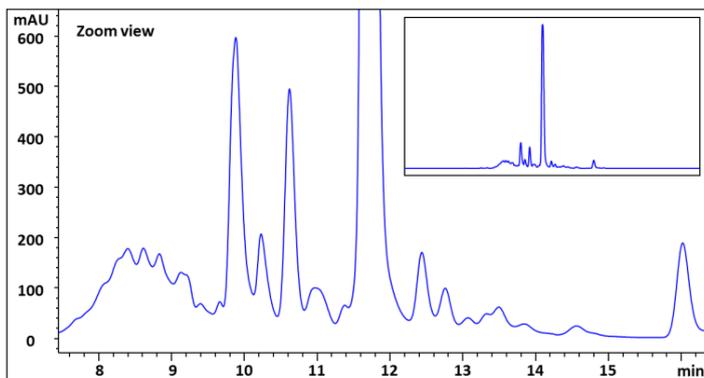


图 14. Zenix™ SEC-80 7.8 x 300 mm 分析大肠杆菌胰蛋白酶水解物

流动相：25 mM 醋酸钠 + 300 mM 氯化钠，pH 4.5；流速：0.8 mL/min；

检测波长：UV 214 nm；进样量：40 μ L 抑肽酶 (20 μ g 的水解后蛋白)

Zenix™ SEC-80 7.8 x 300 mm 的柱寿命测试

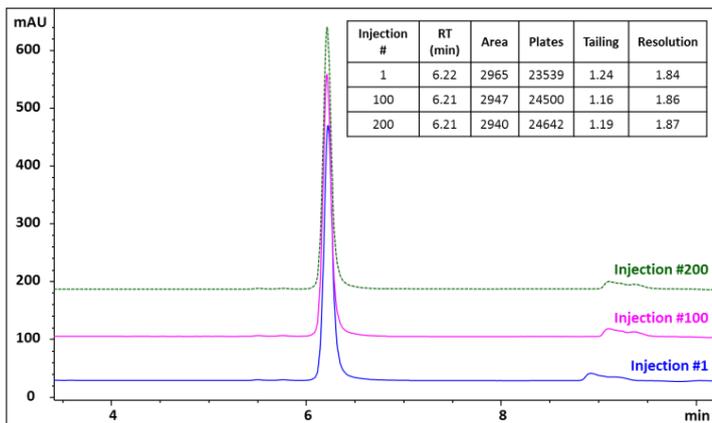


图 15. Zenix™ SEC-80 7.8 x 300 mm 分析不同进样序数抑肽酶的叠加图

流动相：75% 乙腈 + 0.1% 三氟乙酸；流速：1.0 mL/min；

检测波长：UV 214 nm；进样量：5 μ L 抑肽酶 (1 mg/mL; 6,500 Da)

经 20%乙腈保存的 Zenix™ SEC-80 对抑肽酶的分析

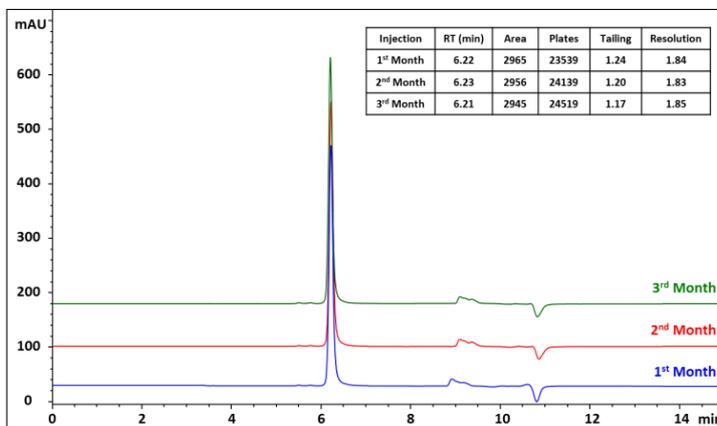


图 16. 在 Zenix™ SEC-80 7.8 x 300 mm 上对抑肽酶的每个月分析叠加图

流动相：75% 乙腈 + 0.1% 三氟乙酸；流速：1.0 mL/min；

检测波长：UV 214 nm；进样量：5 μ L 抑肽酶 (1 mg/mL; 6,500 Da)

Zenix™ SEC-80 和 Zenix™-C SEC-80 7.8 x 300 mm 的色谱柱

安装及操作规程

1. 所有样品和流动相在使用前都必须用 0.45 μm 或 0.2 μm 滤膜过滤；
2. 请按照柱上的标记方向将色谱柱接入到 HPLC 系统中；
3. 新色谱柱的运输溶剂是 150 mM 磷酸钠缓冲液 (pH 7.0)，使用前推荐用 10-20 倍柱体积的 150 mM 磷酸钠缓冲液 (pH 7.0) 进行冲洗以活化色谱柱。然后用合适的流动相平衡色谱柱直至检测器基线稳定为止；
4. 在合适的流速及合适的进样量下运行色谱柱；
5. 当色谱柱长时间不用时，请将其保存在 150 mM 磷酸钠缓冲液 (pH 7.0) 中。

注意： 流动相兼容性

Zenix™ SEC 和 Zenix™-C SEC 色谱柱能与大多数水相缓冲液兼容，如磷酸盐、醋酸盐、Tris 等；能和水与有机溶剂的混合物兼容，如甲醇、乙醇、异丙醇、乙腈、四氢呋喃等。当从水相缓冲液切换成有机溶剂时，先用 2 倍柱体积的纯水冲洗色谱柱，然后用 20 倍柱体积的乙醇冲洗；当从有机溶剂切换成水相缓冲液时，先用至少 30 倍柱体积的乙醇冲洗色谱柱，然后用 2 倍柱体积的纯水冲洗，最后则是 20 倍柱体积的水相缓冲液。清洗后，推荐将色谱柱储存在水相缓冲液中 48 小时使其完全平衡以达到最佳性能。

Zenix™ SEC-80 和 Zenix™-C SEC-80 的故障排查

建议选择最优的进样量和运行条件以达到 Zenix™ SEC-80 和 Zenix™-C SEC-80 色谱柱的最佳使用效果。下面信息是为您的实验故障排查提供的参考。

高反压

反压突然增加预示着色谱柱入口端筛板有可能发生了堵塞，在这种情况下我们建议用适宜的流动相反冲柱子。为了预防这种堵塞，可通过过滤去除样品和流动相中残留的颗粒。

低分离度

1. 色谱柱过载，减少进样量。
2. 确保样品分子量范围在色谱柱的分离范围内。孔径为 80Å 的色谱柱适用分离蛋白分子量范围为 100 Da~50,000 Da。
3. 采用串联色谱柱的方式分离分子量相近的蛋白质。

峰拖尾

产生本状况说明样品和色谱柱基质之间发生了次级疏水作用。可通过增强流动相离子强度或添加有机溶剂（如需保持天然蛋白质构象则应添加低比例有机溶剂）来减小这种作用。

含表面活性剂的样品

表面活性剂与色谱柱基质之间会发生不可逆结合，从而改变基质表面性质。这将会导致色谱柱性能改变，如保留时间漂移、流动相中无去污剂的蛋白质峰形改变。色谱柱应专门用于同一表面活性剂的应用。

色谱柱清洗及再生

Zenix™ SEC 和 Zenix™-C SEC 色谱柱被强吸附性样品污染后，会导致色谱柱性能下降。通常表现为柱压升高及峰变宽，此时需要按照下面的步骤清洗色谱柱：

1. 将色谱柱与检测器断开；
2. 反方向冲洗色谱柱；
3. 在小于推荐最大流速的 50% 下冲洗色谱柱，并监测柱压变化；
4. 通常清洗 10-15 倍柱体积即足够，在切换溶剂时用 2 倍柱体积的纯水过渡。

我们推荐以下清洗方案：

1. 用低 pH 值的高浓度中性盐溶液（如 0.5 M 硫酸钠溶液，pH 3.0）洗去碱性蛋白。
2. 用含有机溶剂（如 10%-20% 的甲醇、乙腈、乙醇等）的缓冲液（如 50 mM 磷酸盐缓冲液，pH 7.0）洗去疏水蛋白。
3. 如果以上方法未能达到清洗效果，请使用 6 M 尿素（使用前需过滤）。
 - a. 2cv 6 M 尿素以 0.5 mL/min 流速过柱；
 - b. 2cv 纯水以 0.5 mL/min 流速过柱；
 - c. 7-10cv 流动相以 1 mL/min 流速过柱；

更多流动相优化信息，请参考公司网站 FAQ 部分。

色谱柱的保护

除了需要过滤样品和流动相外，保护色谱柱的最佳方法是在色谱柱前连接保护柱或过滤预柱。大多数情况下过滤预柱可以去除样品或流动相中的残留颗粒，或者从 HPLC 系统，如泵或进样器垫圈上脱离下来的颗粒。不过还是强烈建议使用保护柱，因为它可更有效地去除样品、流动相中或来自 HPLC 系统的强吸附性样品组分和残留颗粒。

订购信息

Zenix™ SEC-80 (3 μm, 80 Å)

型号	内径 x 长度 (mm)
213080-4605	4.6 x 50 (保护柱)
213080-4615	4.6 x 150
213080-4625	4.6 x 250
213080-4630	4.6 x 300
213080-7805	7.8 x 50 (保护柱)
213080-7815	7.8 x 150
213080-7825	7.8 x 250
213080-7830	7.8 x 300
213080-10005	10 x 50 (保护柱)
213080-10015	10 x 150
213080-10025	10 x 250
213080-10030	10 x 300
213080-21205	21.2 x 50 (保护柱)
213080-21215	21.2 x 150
213080-21225	21.2 x 250
213080-21230	21.2 x 300

Zenix™-C SEC-80 (3 μm, 80 Å)

型号	内径 x 长度(mm)
233080-4605	4.6 x 50 (保护柱)
233080-4615	4.6 x 150
233080-4625	4.6 x 250
233080-4630	4.6 x 300
233080-7805	7.8 x 50 (保护柱)
233080-7815	7.8 x 150
233080-7825	7.8 x 250
233080-7830	7.8 x 300
233080-10005	10 x 50 (保护柱)
233080-10015	10 x 150
233080-10025	10 x 250
233080-10030	10 x 300
233080-21205	21.2 x 50 (保护柱)
233080-21215	21.2 x 150
233080-21225	21.2 x 250
233080-21230	21.2 x 300

苏州赛分科技有限公司

苏州工业园区星湖街218号生物纳米科技园C11楼401室

电话：0512-69369056

传真：0512-69369025

邮政编码：215123

www.sepax-tech.com.cn

Sepax Technologies, Inc.

5 Innovation Way, Newark, Delaware, USA

Tel: (302) 366-1101

Fax: (302) 366-1151

Toll free: 1-877-SEPAX-US

www.sepax-tech.com

服务热线：400-636-8880