

分子尺寸排阻填料
TOYOPEARL HW 系列

使用说明书





东曹株式会社

TOSOH

安全注意事项

为防止财产损失、确保个人安全，请在使用本产品之前，仔细通读本说明书。

[注意标签]

标签	说明
 警告	警告用户可能存在严重受伤或死亡的危险。
 注意	警告用户可能存在设备损坏或受伤的危险。

警告

■ 远离火源

使用易燃溶剂时，请务必小心。否则可能会导致火灾、爆炸或中毒。

注意

■ 使用环境必须通风良好

如果通风不良，易燃或有毒溶剂可能会导致火灾、爆炸或中毒。

■ 请勿喷洒溶剂

溶剂发生喷洒或泄漏可能会导致火灾、触电、中毒、受伤以及腐蚀。

清除漏出的溶剂时，请佩戴合适的护具。

■ 请佩戴护目镜和防护手套

有机溶剂和酸属于有害物质，切勿直接接触皮肤。

■ 请小心处理包装

处理不当可能会导致产品破裂或溶剂飞溅。

■ 请勿将本产品用于其他目的

本产品仅可用于分离和提纯，请勿用于其他用途。

■ 请用适当的压力装填层析柱

压力过大可能会导致层析柱破裂或填料飞溅。装柱时，请佩戴适当的护具。

■ 请确认化合物的安全性

请确认分离纯化后的化合物和溶液安全可靠。

■ 正确废弃

请根据当地法律法规正确废弃。

注

请妥善保管本说明书，以便日后参阅。

目 录

1. 简介	1
1-1. TOYOPEARL HW 系列填料装填注意事项.....	1
1-2. 层析柱.....	2
2. 小颗粒去除及匀浆液准备.....	2
2-1. 小颗粒去除	2
2-2. 匀浆液准备	3
3. 使用蠕动泵装填.....	4
3-1. 恒流速装填法	4
3-2. 半恒压装填法	7
4. 重力沉降装填	10
4-1. 使用储罐装填.....	10
4-2. 简易装填法	12

1. 简介

TOYOPEARL 填料是弥补糖基质软胶和 HPLC 填料的中间领域产品，其粒径、机械强度以及其他基本属性等皆进行了优化设计。TOYOPEARL 填料适用于各种层析柱装填法，无论最简单的重力沉降还是加压装填法，是一种非常易于操作的填料。

为了更好的装填层析柱，本书说明了 TOYOPEARL HW 系列填料的装填方法以及装填时的注意事项。表 1 显示各种装填方法的优点和缺点以及必要的设备，便于用户选择最佳的装填方法。

1-1. TOYOPEARL HW 系列填料装填注意事项

- (1) TOYOPEARL HW 系列填料的装填压力为 0.05~0.3 MPa，最好使用蠕动泵进行装填。与 HPLC 填料不同，TOYOPEARL HW 系列填料不可使用高压进行装填 (< 0.5 MPa)。
- (2) 尽管 TOYOPEARL 填料可以通过最简单的重力沉降法进行装填，但是如果有条件尽量提高装柱压力，装填效果会更好。另外，使用对溶液加温的方法来减小装填溶液的粘度或提高装填速度，可有效缩短装填时间。
- (3) 浆液中存在的小颗粒会阻塞筛板或烧结板，最终会导致整个柱子的压力增大，降低装填速度。请按照 2.1 节中所描述的悬浮法去除小颗粒。

表 1 各种装填方法

		使用蠕动泵装填		重力沉降法装填	
		1. 恒流速法	2. 半恒压法	3. 使用储罐	4. 简易法（加热）
特 点	装填速度	○ 快	○ 比（1）快	× 慢	× 比（3）慢
	操作流速	○ 高流速	○ 高流速	× 仅限低流速	× 仅限低流速
	重复性	○ 好	○ 很好	○ 好	○ 好
设 备	泵	× 必要	× 必要	○ 不必要	○ 不必要
	储罐	× 必要	× 必要	× 必要	○ 不必要
	压力计	△ 最好使用压力计	× 必要	○ 不必要	○ 不必要

○：优点 ×：缺点

1-2. 层析柱

- (1) 建议选用比较耐压的层析柱（0.3 MPa 或更耐压）。但是一般的玻璃层析柱也完全适用。
- (2) 如果柱径过小，可能会干扰分离。请不要使用柱径小于 1.5 cm 的层析柱。

2. 小颗粒去除及匀浆液准备

2-1. 小颗粒去除（以 500 mL 填料为例）

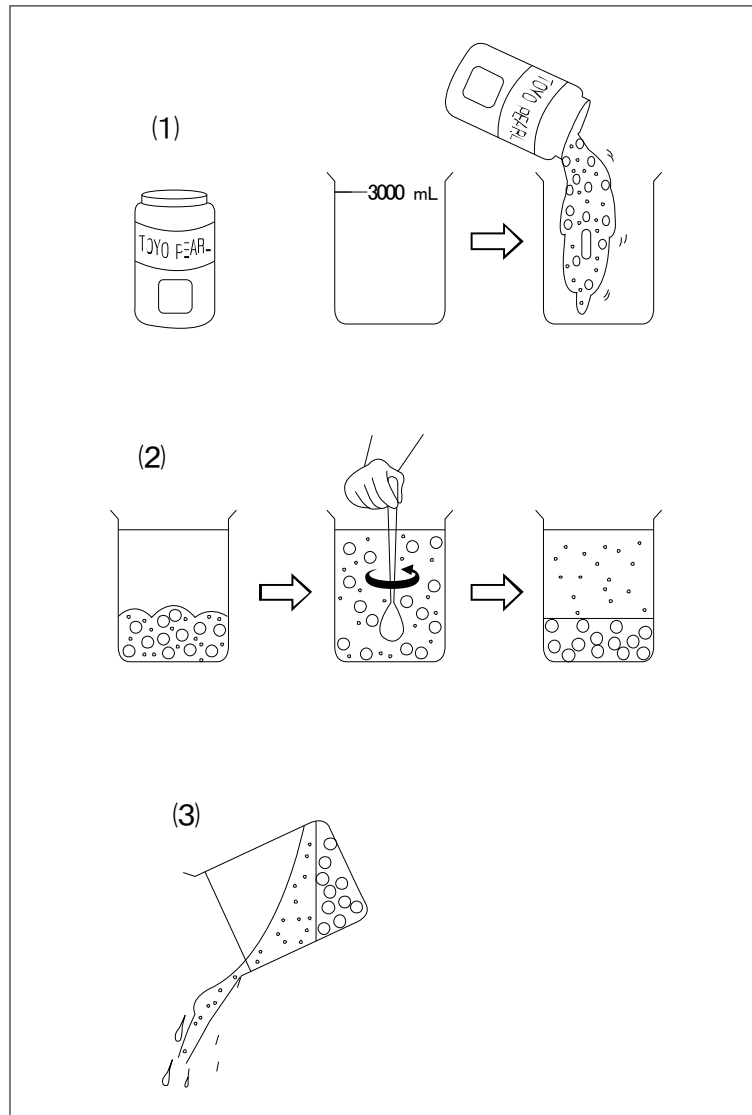
- (1) 将 500 mL 的填料注入 3 L 烧杯中。
- (2) 添加 1.5 L 的纯水，搅拌并静置。

注：TOYOPEARL HW 系列填料的级别（粒径）不同，所需的静置时间也不同。

如 HW-55，其静置时间如下：

Corse C 级（粗糙级别）	: 15~30 min
Fine F 级（精细级别）	: 30~45 min
Superfine S 级（超精细级别）	: 60~90 min

- (3) 一旦填料静置完成后，小心倒出表面的悬浮液（含小颗粒）。
- (4) 将步骤（2）和（3）重复 3 次或以上。



小颗粒去除

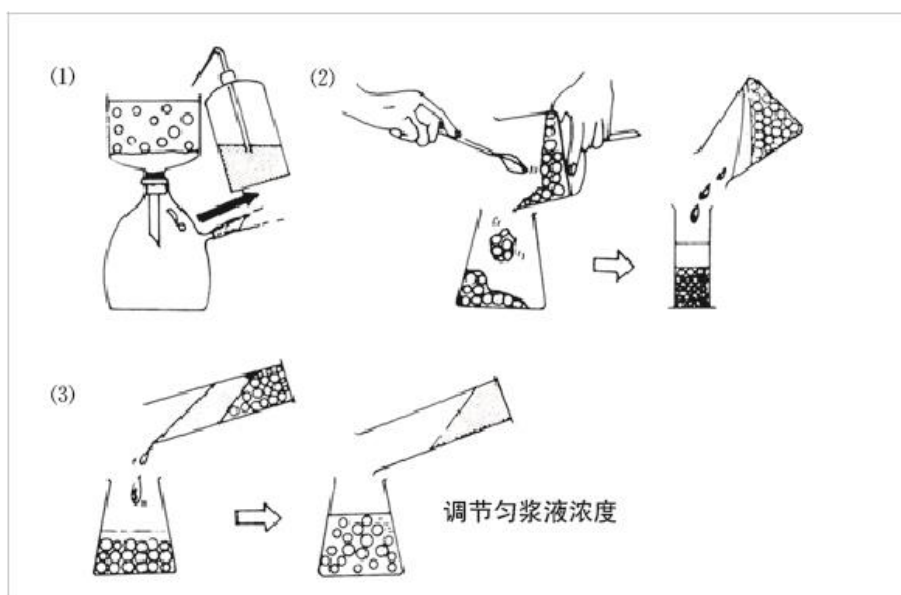
2-2. 匀浆液准备

- (1) 按上述方法清除填料中的小颗粒后，请使用填料体积 3 倍的装填溶液清洗填料两次。
- (2) 使用量筒从清洗后的填料中量出 1.2 倍层析柱体积的填料。

标准尺寸层析柱的装填所需的填料体积如下所示。

层析柱尺寸 cm (I.D) × cm (L)	所需填料体积 (mL)
1.5×80	170
2.2×80	360
4.4×30	550
4.4×60	1100

(3) 量好的填料中添加装填溶液，将匀浆液浓度调节成 30%~50%。



准备匀浆液

3. 使用蠕动泵装填

TOYOPEARL HW 系列填料的类型和级别不同，装填条件也不同。

3-1. 恒流速装填法

优点：· 快速装填。

· 可以实现高流速操作。

缺点：· 必须使用蠕动泵。

· 必须使用储罐。

装填步骤

(1) 如图所示固定层析柱，并堵住层析柱的出口。

注：可以使用内径相同，比层析柱柱长更长的延长柱当做储罐。

(2) 如图所示，顺时针拧紧泵的螺丝。

(3) 打开泵，然后旋转流速控制旋钮，选择适合的装填流速。

表 2 罗列了适用于精细级别填料的装填流速。

超精细级别填料适用的装填流速大约为表中所列流速的一半，而粗糙级别填料适用的流速约为表中所列流速的两倍。

表 2 TOYOPEARL HW 系列填料推荐的装填流速

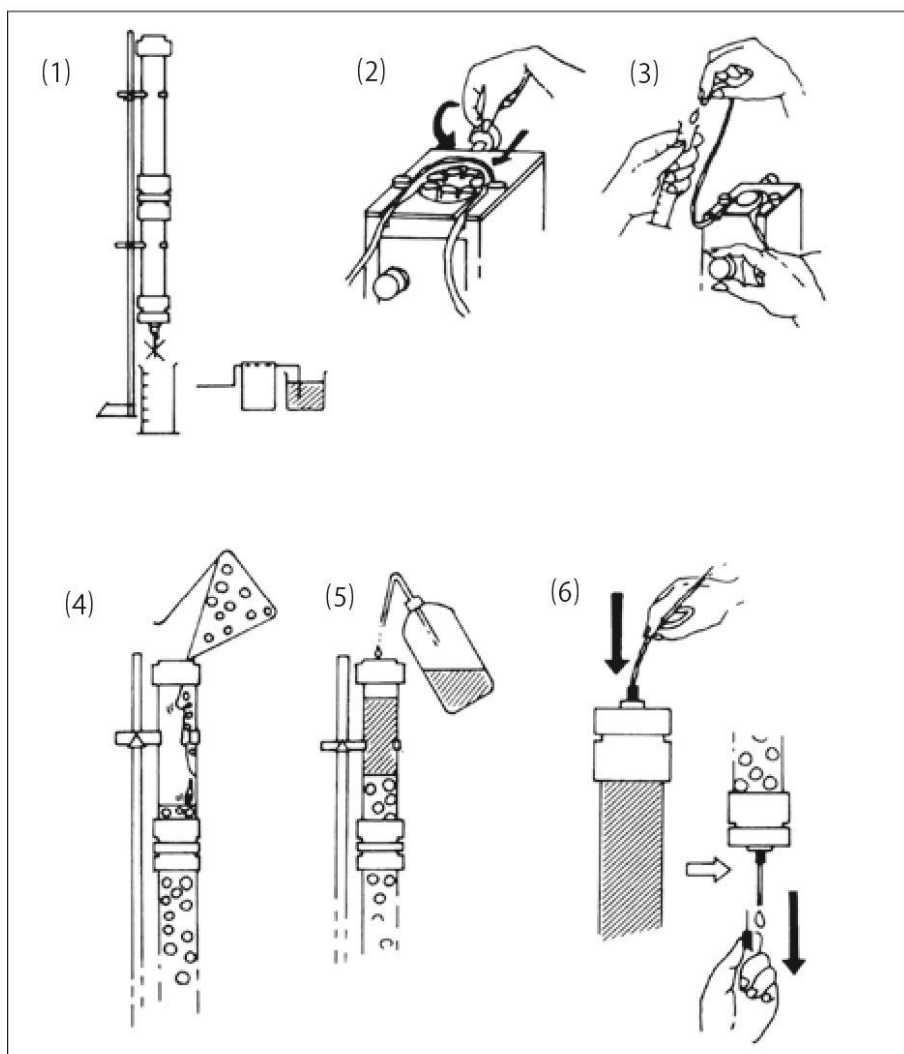
产品	层析柱尺寸 cm (I.D) × cm (L)	流速	
		体积流速	线性流速
		mL/min	cm/h
HW-40F	1.0×60	1.0~ 1.4	70~110
	1.6×60	2.4~ 3.0	70~ 90
	2.2×60	4.0~ 5.0	60~ 80
	4.4×60	10.0~14.0	40~ 60
HW-55F	1.6×60	2.0~ 3.0	60~ 85
HW-50F	3.2×60	6.0~ 9.0	45~ 65
HW-60F	4.4×60	1.0~ 6.0	45~ 65
	2.2×30	6.0~ 8.0	95~130
	2.2×45	4.0~ 6.0	65~ 90
	2.2×60	3.0~ 5.0	50~ 70
	2.2×90	2.4~ 3.0	35~ 55
HW-65F	2.2×60	2.5~10.0	40~150
HW-75F	2.2×60	2.5~10.0	40~150

(4) 充分搅拌均匀浆液，请一次性小心地将其倒入储罐。

(5) 填满装填溶液，然后用盖子盖住入口。

(6) 将泵管连接到储罐，打开泵，同时快速打开层析柱底部的出口。即使进液速度变慢，请继续泵入溶液。

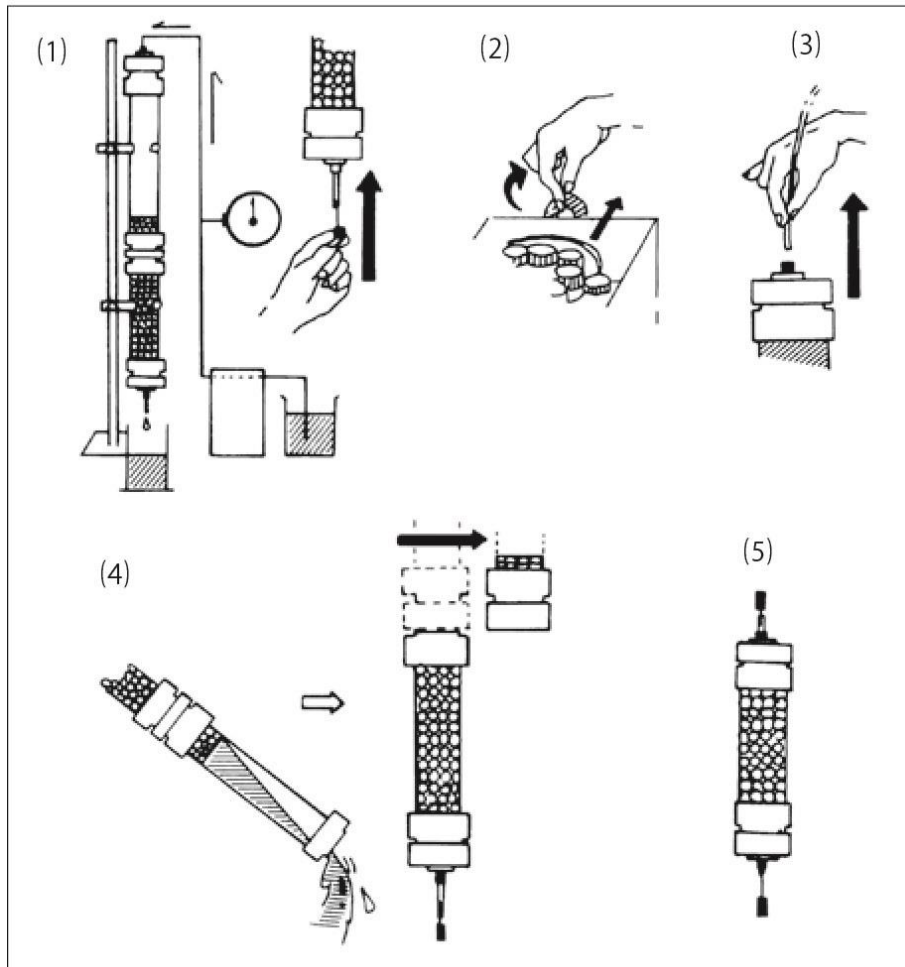
(7) 如果填料不够导致装填失败，请倒掉上清液，然后向储罐再注入匀浆液进行装填。请至少注入柱体积三倍的溶液进行装填。



恒流速装填法（装填步骤）

装填结束后

- (1) 堵住层析柱的底部出口。
- (2) 同时关闭泵，然后如图所示拧松螺丝。
- (3) 从储罐上断开泵管。
- (4) 清除储罐中剩余的溶液，并从层析柱上拆下储罐。清除溶液时，注意不要将储罐中剩余的填料一起清除。
- (5) 拧紧层析柱的盖子，并堵住层析柱入口。



恒流速填料法（装填结束后）

3-2. 半恒压装填法

优点：· 比恒流速装填法更快速。

- 可以实现高流速操作。
- 装填重复性好。
- 适用的流速范围更大，对填料类型的依赖性较低。

缺点：· 必须使用蠕动泵。

- 必须使用压力计。
- 必须使用储罐。

装填步骤

(1) 如图所示固定层析柱，并堵住层析柱的出口。

注：可以使用内径相同，比层析柱柱长更长的延长柱当做储罐。

(2) 如图所示，拧紧蠕动泵的螺丝，然后将流速控制旋钮拧至最大。

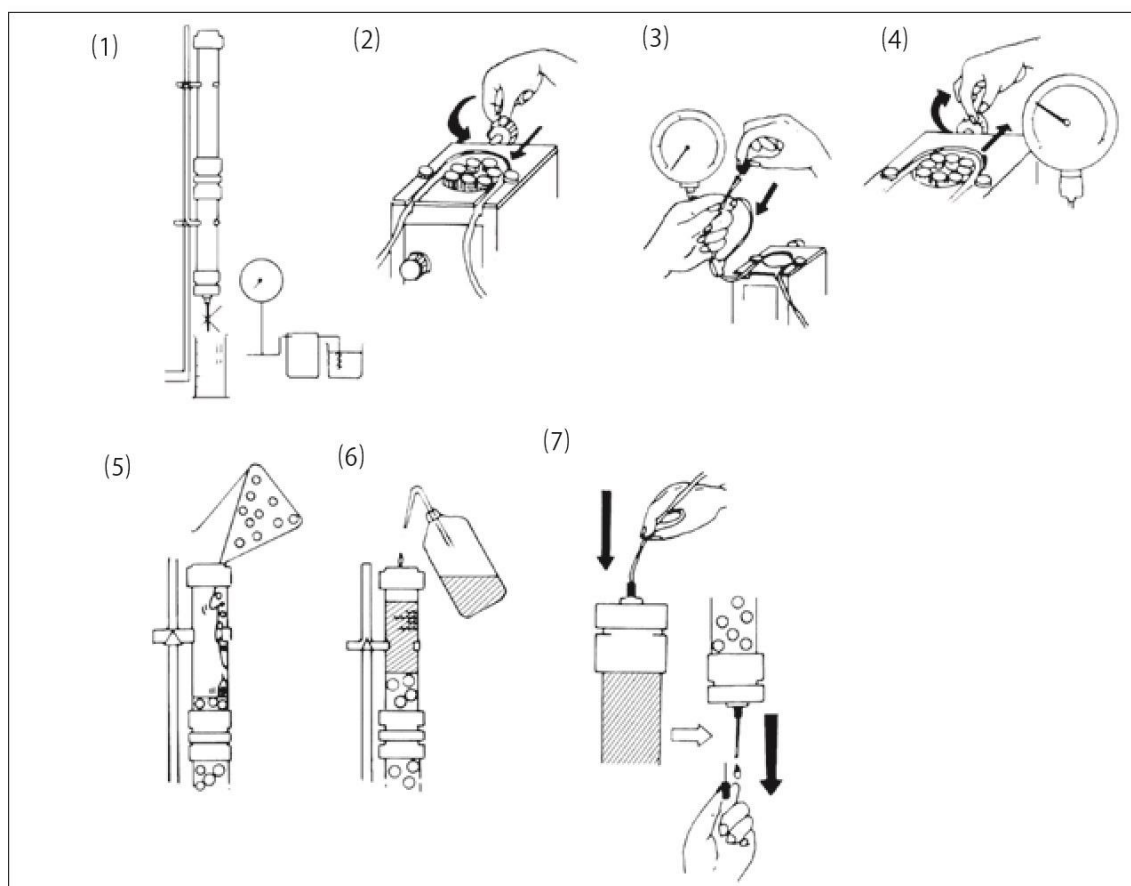
(3) 堵住泵管后，打开泵。

(4) 慢慢拧松泵的螺丝，将输出压调整为 0.15~0.20 MPa。

(5) 充分搅拌匀浆液后，请一次性小心地将其倒入储罐中。

(6) 填满装填溶液，然后用盖子盖住入口。

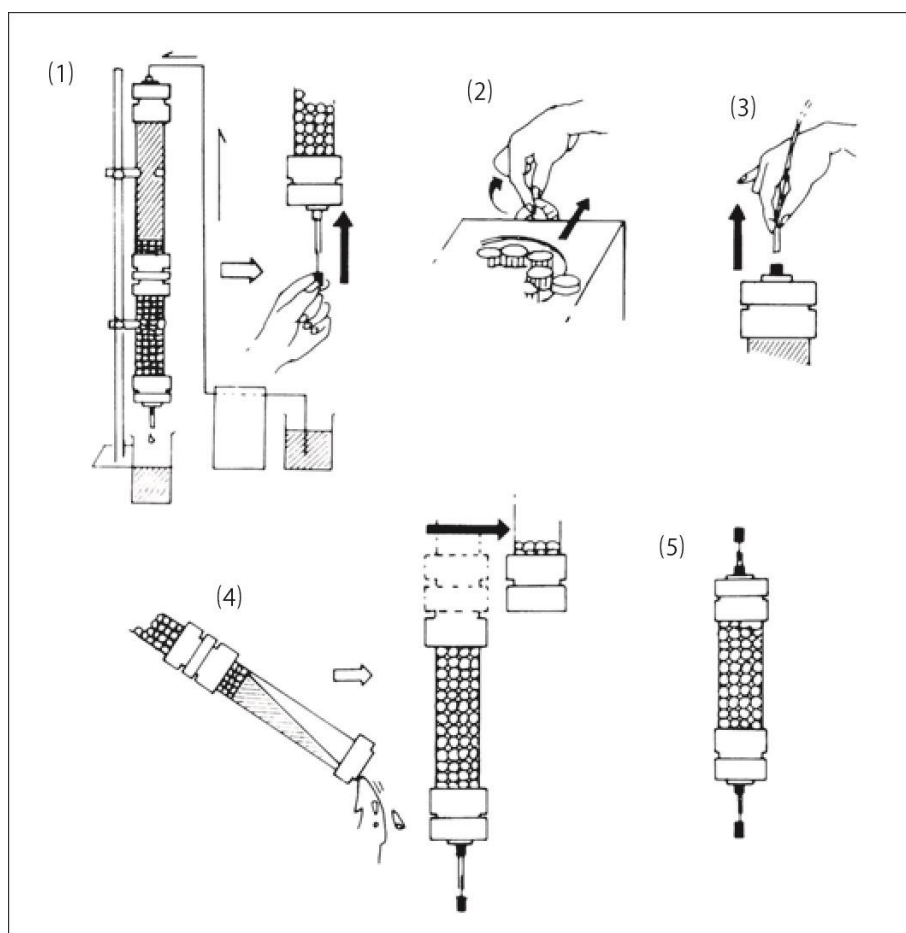
(7) 将泵管连接到储罐，打开泵，同时快速打开层析柱底部的出口。请至少注入柱体积三倍的溶液进行装填。



半恒压填料法（装填步骤）

装填结束后

- (1) 堵住层析柱的底部出口。
- (2) 同时关闭泵，然后按图所示，逆时针拧松螺丝，将压力调为 0。
- (3) 从储罐上断开泵管。
- (4) 清除储罐中剩余的溶液，并从层析柱上拆下储罐。清除溶剂时，注意不要将储罐中剩余的填料一起清除。
- (5) 拧紧层析柱的盖子，并堵住层析柱入口。



半恒压填料法（装填结束后）

4. 重力沉降装填

4-1. 使用储罐装填

优点：· 不需要使用泵。

· 不需要使用压力计。

缺点：· 装填速度慢。

· 操作流速有限。

装填步骤

(1) 如图所示固定层析柱，并堵住层析柱出口和装填溶液槽的管路。

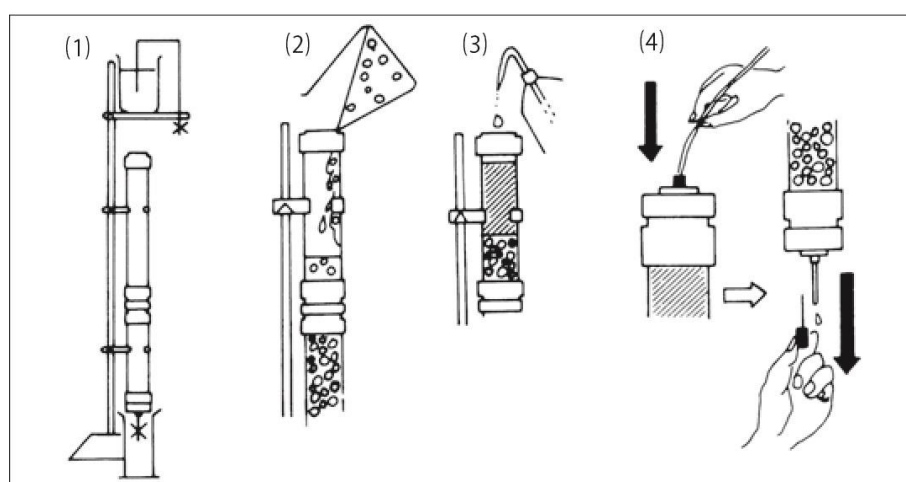
注：· 装填溶液槽的位置越高，装填效果越好。

· 可以使用内径相同，比层析柱柱长更长的延长柱当做储罐。

(2) 充分搅拌均匀浆液后，请一次性小心地将其倒入储罐中。

(3) 填满装填溶液，然后用盖子盖住入口。

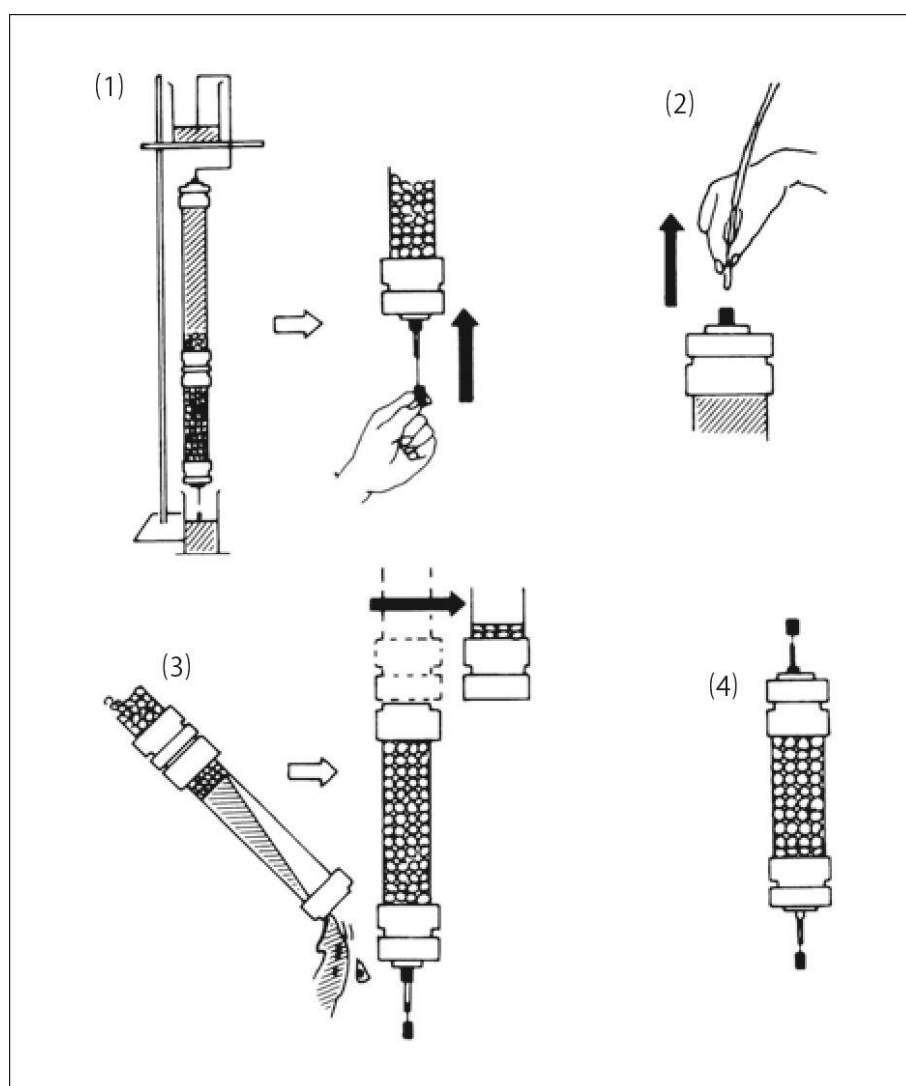
(4) 将装填溶液槽中的管路连接到储罐，然后快速打开层析柱底部的出口。请至少注入柱体积三倍的溶液进行装填。



使用储罐的重力沉降法（装填步骤）

装填结束后

- (1) 堵住层析柱的底部出口。
- (2) 从储罐上断开装填溶液槽管路。
- (3) 清除储罐中剩余的溶液，并从层析柱上拆下储罐。清除溶剂时，注意不要将储罐中剩余的填料一起清除。
- (4) 拧紧层析柱的盖子，并堵住层析柱上端。



使用储罐的重力沉降法（装填结束后）

4-2. 简易装填法

优点：· 不需要使用泵。

· 不需要使用压力计。

· 不需要使用储罐。

缺点：· 装填速度慢。

· 操作流速有限。

装填步骤

(1) 如图所示固定层析柱，并堵住层析柱出口。

注：· 漏斗的位置越高，装填效果越好。

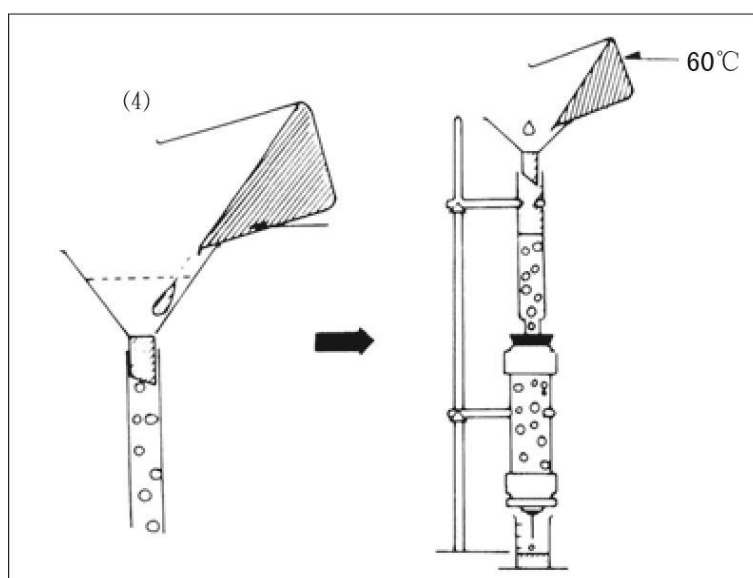
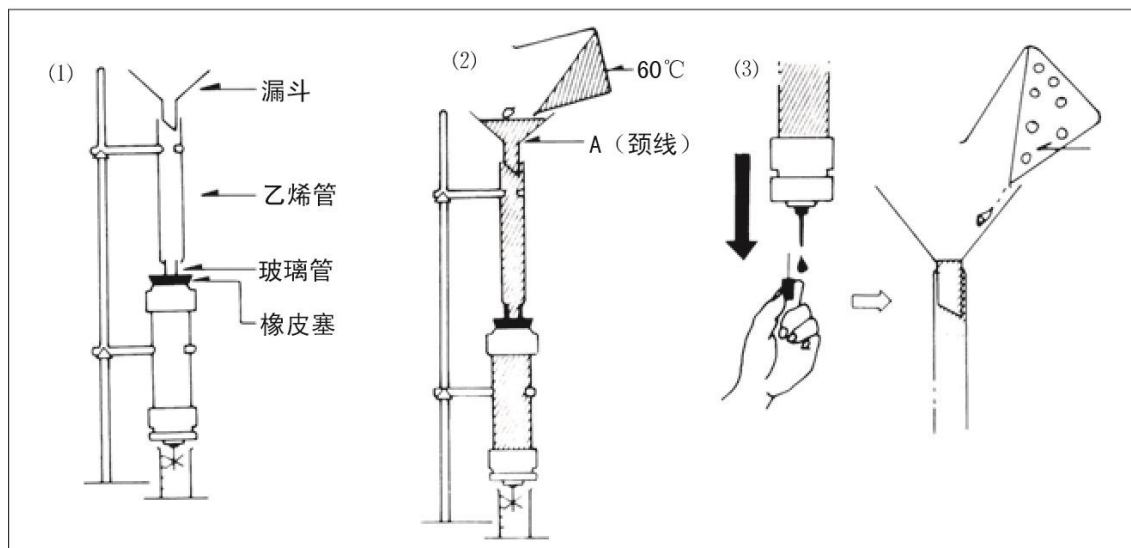
· 玻璃管的 I.D. 最好不小于 1.5 cm，长度为橡皮塞的长度再加 2~3 cm。

(2) 将加热到 60 °C 的溶液注入漏斗中，注入后溶液的高度应在漏斗颈线 A 以上。

(3) 打开柱出口，溶液高度跌到 A 以下时，请向漏斗中注入加热到 60 °C 并充分搅拌的匀浆液。

(4) 当注入的匀浆液的高度跌到 A 时，请向漏斗中注入装填溶液。向漏斗中注入溶液时，需要确保漏斗中的溶液量在装填结束之前，始终不会跌到 A 以下。至少注入柱体积四倍的溶液进行装填。

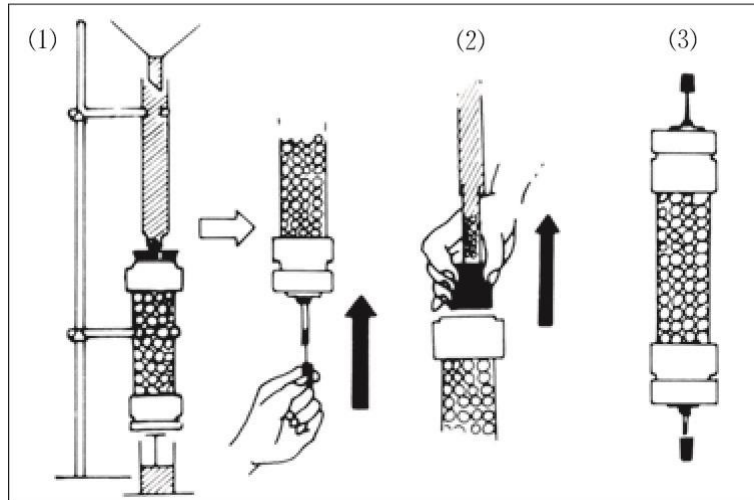
注：如果装填时，填料堵住了乙烯管或玻璃管，降低了装填流速，请清除堵塞的填料后继续注入溶液。



简易重力沉降法（装填步骤）

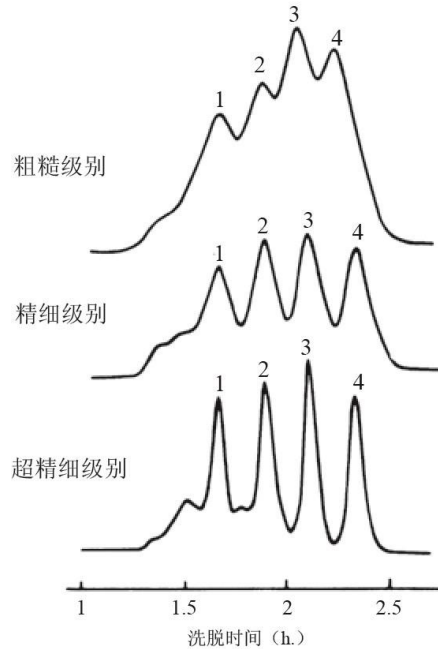
装填结束后

- (1) 堵住层析柱的底部出口。
- (2) 从层析柱上拔出橡皮塞，注意不要让玻璃管内的填料掉下。
- (3) 拧紧层析柱的盖子，并堵住层析柱入口。



简易重力沉降法（装填结束后）

如下所示，填料粒径越小，分离效果越好。
超精细级别的填料适用于精制阶段的纯化。



不同粒径填料的分离效果对比

填料 : TOYOPEARL HW-55
 柱尺寸 : 2.6 cm × 70 cm
 流动相 : 含有 0.2 mol/L NaCl (pH7.0) 的 1/30 mol/L 磷酸盐缓冲溶液
 流速 : 106 mL/h (20 cm/h)
 温度 : 25 °C
 样品 : 1 mL

- | | | |
|------------------|------|-----------------------|
| 1. 甲状腺球蛋白 (0.3%) | M. W | 670 × 10 ³ |
| 2. γ-球蛋白 (0.3%) | M. W | 160 × 10 ³ |
| 3. β-乳球蛋白 (0.3%) | M. W | 37 × 10 ³ |
| 4. 细胞色素-C (0.1%) | M. W | 12 × 10 ³ |

检测 : UV 280 nm

东曹（上海）生物科技有限公司
上海市徐汇区虹梅路 1801 号 A 区

凯科国际大厦 1001 室

电话：021-3461-0856

传真：021-3461-0858

E-mail: info@tosoh.com.cn

网址: <http://www.separations.asia.tosohbioscience.com/home-cn>

TSKgel, TSKgel SuperMultipore, TSKgel STAT, BioAssist, Lipopropak, TOYOPEARL, ToyoScreen, TOYOPEARL GigaCap, TOYOPEARL

MegaCap, TOYOPAK 以及 EcoSEC 是东曹株式会社在日本, 中国, 美国, 欧盟等的注册商标。

HLC 是东曹株式会社在日本和中国的注册商标。

未经东曹株式会社的书面许可, 禁止影印或复印本书的全部或部分内容。

本书中的内容如有更改, 恕不另行通知。