



*Sepax Technologies*

## FAQs

### **Welche Reinigungsschritte werden für die Sepax SEC-Säulen empfohlen?**

Der allgemeine Ablauf für die Säulen-Reinigung ist wie folgt:

1. Trennen Sie die Säule vom Detektor.
2. Reinigen Sie die Säule in entgegengesetzter Flussrichtung.
3. Lassen Sie die Säule bei weniger als 50% der maximal empfohlenen Flussrate laufen. Behalten Sie den Rückdruck im Auge. Falls dieser sich deutlich gegenüber der normalen Verwendung der Säule erhöht, müssen Sie entweder die Flussrate verlangsamen oder den Waschpuffer wechseln. Die Reinigungslösungen haben gegebenenfalls unterschiedliche Viskositäten und erzeugen unter Umständen höhere Gegendrucke.
4. Üblicherweise ist die Verwendung von 10-15 Säulenvolumina der Reinigungslösung ausreichend. Zwischen den Waschrufen sollten Sie mit 3-5 Säulenvolumina Nanopure Wasser gut durchspülen.

Salzlösungen mit niedrigem pH-Wert helfen basische Proteine zu entfernen. Organische Lösemittel sind hilfreich, um hydrophobe Proteine zu entfernen. Chaotrophe Salze helfen stark gebundene Materialien (wie z.B. über Wasserstoffbrücken) zu entfernen. Diese Salze sollten allerdings nur verwendet werden, wenn neutrale Salze oder organische Lösemittel die Trennung noch nicht verbessern konnten.

Die folgenden zwei Reinigungslösungen werden für die allgemeine Reinigung empfohlen:

1. Konzentriertes neutrales Salz (z.B. 0.5 M Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) bei einem niedrigen pH-Wert (z.B. pH 3.0)
2. Wasserlösliche Organische Lösemittel (MeOH, ACN, EtOH, 10 %-20 %) in wässriger Puffer-Lösung (z.B. 50 mM Phosphat-Puffer, pH 7.0)

Sollte diese Reinigungsprozedur keinen Erfolg bringen, dann bleibt noch die Möglichkeit das Protokoll mit Urea zu verwenden:

1. Säule bei empfohlener Flussrate mit 2 Säulenvolumina Nanopure Wasser waschen.
2. Mit 2 Säulenvolumina 6 M Urea bei halber empfohlener Flussrate waschen.
3. Mit 20 Säulenvolumina Nanopure Wasser bei halber empfohlener Flussrate waschen.
4. Mit 7 Säulenvolumina 150 mM Natriumphosphat-Puffer bei empfohlener Flussrate waschen.

## Was kann der Grund für ein Peak-Tailing bei SEC-Säulen sein?

Sekundäre elektrostatische, hydrophile oder hydrophobe Interaktionen zwischen der mobilen Phase und der stationären Phase sind die häufigsten Gründe für Peak-Tailing, da sie die Zahl der verfügbaren Interaktionsstellen verringern.

Um derartige sekundäre Interaktionen zu verhindern, empfiehlt Sepax einen 150 mM Natriumphosphat-Puffer (pH 7,0) zu verwenden.

## Wie kann ich die Trennschärfe meiner SRT oder Zenix Säulen verbessern?

1. Die Vorteile bei der Verwendung kleinerer Partikelgrößen sind höhere Effizienz und höhere Auflösung. Wenn die Partikelgröße auf 3 µm (Zenix) von 5 µm (SRT) verringert wird, wird die Effizienz der Säule beinahe verdoppelt.
2. Wenn Sie die Säule überladen, wird dies zu einem Verlust der Trennschärfe führen. Versuchen Sie, eine kleinere Menge der Probe auf die Säule zu geben.
3. Die Trennschärfe kann auch verbessert werden, indem Sie zwei Säulen in Reihe schalten. Gerade bei der SEC ist die Länge der Säule für eine erfolgreiche Trennung wichtig.

## Sind Sepax SRT und Zenix SEC-Säulen kompatibel mit organischen Lösemitteln?

Alle Sepax SEC-Säulen sind stabil gegenüber organischen Lösemitteln wie zum Beispiel Methanol, Ethanol, THF, DMF und DMSO. Das Gleiche gilt für Gemische aus Wasser und organischen Lösemitteln. Grundsätzlich gilt, dass hier organische Lösemittel mit Wasser gut mischbar sind.

## Können Sepax SRT und Zenix SEC-Säulen mit Tensiden verwendet werden?

Falls Sie ein Tensid in der mobilen Phase und/oder in der Probenlösung verwenden, empfiehlt Sepax, diese Säule ausschließlich für diese Applikation zu nutzen.

## Sollte man eine Vorsäule zu einer analytischen SEC-Säule verwenden?

Die beste Möglichkeit, um die analytische Säule zu schützen ist, eine Vorsäule einzubauen. In den meisten Fällen kann ein Vorsäulenfilter Partikel-Rückstände entfernen. Trotzdem ist eine richtige Vorsäule sehr zu empfehlen, da sie effektiver hochadsorbierende Substanzen und Partikel-Rückstände aus der Probe, der mobilen Phase oder dem HPLC-System entfernen kann.

## Was ist der Unterschied zwischen Zenix und Zenix-C oder SRT und SRT-C?

In Zenix-C und SRT-C SEC Phasen wird ein kollabierter Mono-Layer auf vollporösem Silika verwendet. Hingegen bei Zenix und SRT ist es ein stehender Mono-Layer (siehe Bild unten). Die SEC C-Linie bietet die ideale Phasenchemie für hydrophobe Proben wie Insulin, Membranproteine und monoklonale Antikörper, die mit Polymerverzweigungen (Polypeptid oder PEG) derivatisiert sind.

Gerne stehen wir für weitere Fragen zur Verfügung.

Ihr dichrom-Team



dichrom GmbH  
Reiherhorst 8  
D-45721 Haltern am See  
info@dichrom.com

Tel. +49(0)2364-95294-25  
Fax +49(0)2364-95294-28  
[www.dichrom.com](http://www.dichrom.com)  
[www.dichrom-shop.com](http://www.dichrom-shop.com)