

亲和色谱柱

TSKgel Protein A-5PW

使用说明书





东曹株式会社

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。

■ 请确认化合物的安全性

请确认分离和提纯后的化合物和溶剂安全可靠。

■ 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。

注意事项：出厂溶剂

急救	吸入	<ul style="list-style-type: none">• 请将患者转移到空气清新的区域，并用清水反复清洗口部。• 请立即就医。
	皮肤接触	<ul style="list-style-type: none">• 请用肥皂水和清水反复冲洗接触位置。
	眼睛接触	<ul style="list-style-type: none">• 请尽量睁大眼睛，并用清水冲洗至少十五分钟。• 请立即就医。
	食入	<ul style="list-style-type: none">• 用清水反复清洗口部，并立即就医。
操作和保存	保存温度	<ul style="list-style-type: none">• 请避免将本产品保存在温度过低 ($\leq 0\text{ }^{\circ}\text{C}$) 的环境下，防止产品冷冻。
	柱子操作	<ul style="list-style-type: none">• 野蛮操作可能会损坏柱子。
	佩戴适当的护具	<ul style="list-style-type: none">• 使用本产品时，请佩戴护目镜。
处理废弃物	处理方法	<ul style="list-style-type: none">• 请用足量的水进行稀释。请根据所有适用的法规焚烧和处理废弃物。
	一般注意事项	<ul style="list-style-type: none">• 请务必遵守与本产品的操作和保存相关的所有安全注意事项。

出厂溶剂：含 20 %乙醇的水溶液。

注意事项：填料

急救	吸入	<ul style="list-style-type: none">• 请将患者转移到空气清新的区域，并用清水反复清洗口部。• 请立即就医。
	皮肤接触	<ul style="list-style-type: none">• 请用肥皂水和清水反复冲洗接触位置。
	眼睛接触	<ul style="list-style-type: none">• 请尽量睁大眼睛，并用清水冲洗至少十五分钟。• 请立即就医。
	食入	<ul style="list-style-type: none">• 请用清水反复清洗口部，并立即就医。
操作和保存	通风	<ul style="list-style-type: none">• 请确保通风良好。
	佩戴适当的护具	<ul style="list-style-type: none">• 使用本产品时，请佩戴护目镜和防毒面具。
处理废弃物	处理方法	<ul style="list-style-type: none">• 可焚烧本产品进行简单的废弃处理。
	一般注意事项	<ul style="list-style-type: none">• 请务必遵守与本产品的操作和保存相关的所有安全注意事项。

填料：聚甲基丙烯酸树脂。

目 录

1. 简介	1
2. 打开包装	1
3. 色谱柱部件	1
4. 安装及安全注意事项	1
5. 保存色谱柱	2
6. 溶剂	3
7. 洗脱条件	4
8. 流速	5
9. 使用温度	5
10. 准备样品溶液	6
11. 测定柱效	6
12. 故障排除	7
13. 质量标准和质量保证	8

1. 简介

TSKgel Protein A-5PW 是一款高性能亲和色谱柱，适用于分析抗体样品。本说明书详细记载了有关如何正确保存和使用这类色谱柱的重要信息，以便充分发挥产品的性能。

2. 打开包装

请先确认包装外观及色谱柱是否完整。然后确认色谱柱配有以下文件：

使用说明书	1 份
检测报告（Inspection Data）	1 份

3. 色谱柱部件

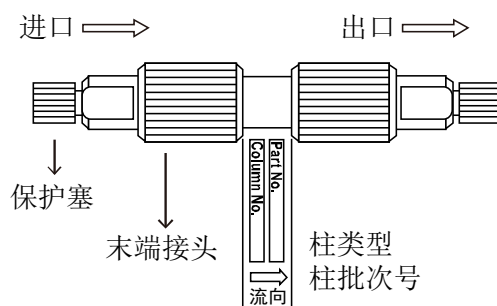


图 1 色谱柱部件

4. 安装及安全注意事项

4-1 连接

可以使用内锁型接头和 1/16 英寸的不锈钢管路或 PEEK 管路连接本色谱柱。

4-2 进液方向

请按图 1 中柱标牌所示的箭头方向使用色谱柱。长时间反向使用色谱柱会降低色谱柱的性能。

4-3 防止气泡

在设备上安装或取下色谱柱时，注意不要在色谱柱内混入气泡。安装色谱柱之前，请务必清除所有管路中的气泡。如果在色谱柱中混入了气泡，则会形成沟槽而降低色谱柱的性能。

4-4 安装

取下保护塞，确认色谱柱进口侧的末端接头上有溶剂漏出。确认漏出后，请将色谱柱连接到设备。没有确认到溶剂漏出时，请将色谱柱反向连接到设备。然后，以正常流速一半以下的流速注入溶剂，防止降低柱效。确认漏出的溶剂中没有气泡后，请按正确的方向连接色谱柱。

4-5 避免脉动式进液

本款色谱柱很容易受到溶剂脉动式进液的影响。请使用没有脉冲的泵。如果必须使用脉动式泵，请在泵的出口侧连接脉冲阻尼器（抵抗管），抵消脉动。所用阻尼器必须具有较高的耐腐蚀性。

4-6 测定

避免压力和进液流速剧烈变化，防止柱效降低。在高于室温的条件下进行测定时，请勿在测定后立刻停泵。请继续注入溶剂，直至柱温降至室温为止。如果在柱温较高时停泵，则可能会由于溶剂收缩，导致空气被吸入色谱柱。

4-7 长期保存

如果短期内不再使用色谱柱，请用含 20%乙醇的水溶液替换色谱柱中的溶剂。溶剂的体积应大于色谱柱和整个流路的总体积。然后请从设备上取下色谱柱，并使用保护塞封住色谱柱的末端。

5. 保存色谱柱

5-6 保存方法

请参阅 4-7 节。

5-2 保存温度

将色谱柱保存在 2~8 °C 的冰箱。请勿将色谱柱保存在 0 °C 以下环境中，以免冷冻色谱柱，降低柱效。

5-3 暴露于阳光直射

请勿将色谱柱直接暴露在阳光下。

5-4 腐蚀性气体

色谱柱的保存位置应避免腐蚀性气体。

6. 溶剂

6-1 替换溶剂

色谱柱的出厂溶剂是含 20 %乙醇的水溶液。请先用超纯水清洗色谱柱，然后使用其他溶剂替换超纯水。TSKgel Protein A-5PW 是基质上键合 Protein A 蛋白质配基的色谱柱，所以替换溶液时，请避免使用含有超过 20 %有机溶剂的水溶液。

6-2 pH 值范围

请在 pH 值 2.5~7.5 之间使用。

6-3 粘度

使用高粘度溶剂时，压降会升高，容易导致色谱柱、泵和管路等发生故障。

6-4 杂质

请尽量使用纯净的溶剂，溶剂中存在的杂质可能会导致鬼峰。

6-5 过滤

分析前，请使用 HPLC 专用溶剂或使用约 0.5 μm 的过滤器过滤溶剂，防止堵塞，并延长色谱柱寿命。真空过滤或超声处理可以有效去除溶剂中溶解的气体，防止色谱柱混入气泡。

6-6 有机溶剂水溶液

请避免使用浓度超过 20 % 的有机溶剂水溶液。

6-7 脱气

替换溶剂时可能会产生气泡。使用前，应将溶剂充分脱气，防止形成气泡。

7. 洗脱条件

7-1 选择溶液和 pH 值

使用超纯水清洗色谱柱后，进样前，请使用至少 5 倍色谱柱体积的平衡溶液平衡色谱柱。大部分抗体会在中性 pH 值（7.0~7.5）条件下与 Protein A 色谱柱结合，在低 pH 值（2.5~3.5）条件下洗脱。磷酸缓冲溶液经常用作平衡溶液和洗脱溶液。但是，由于磷酸缓冲溶液容易滋生细菌，请避免长时间用磷酸缓冲溶液保存色谱柱。低 pH 值的柠檬酸缓冲溶液也可以用于洗脱。

7-2 洗脱方法

可使用阶梯梯度洗脱方法洗脱吸附在 Protein A 色谱柱上的抗体。以下为典型的分析条件。根据抗体样品的性质，可优化缓冲溶液条件。

(A) 平衡溶液：20 mmol/L 磷酸钠缓冲溶液，pH 7.4

洗脱溶液：20 mmol/L 磷酸钠缓冲溶液，pH 2.5

(B) 平衡溶液：20 mmol/L 磷酸钠缓冲溶液，10 % 乙醇，pH 7.4

洗脱溶液：20 mmol/L 磷酸钠缓冲溶液，10 % 乙醇，pH 2.5

(C) 平衡溶液：20 mmol/L 磷酸钠缓冲溶液，pH 7.4

洗脱溶液：20 mmol/L 柠檬酸钠缓冲溶液，pH 2.5

注：可以在缓冲溶液中添加较高浓度的盐，如 0.15 mol/L 的 NaCl。但是，有时高浓度的盐可能会导致抗体的非特异性吸附。

8. 流速

8-1 选择流速

选择流速时，应充分考虑分析时间以及色谱柱的寿命。流速越高，分析时间越短。相反，较低的流速更有利于延长色谱柱的寿命，防止柱头塌陷。

8-2 推荐流速

如表 1 所示，请使用推荐的流速。使用色谱柱时，请勿超过表 1 中的最大流速和压降。

8-3 选择粘度

溶剂的粘度越低，可以使用的流速就越高。如果使用的溶剂粘度较高，请降低流速。

表 1 推荐流速

产品名称	货号	色谱柱尺寸 mm (I.D.) × cm (L)	推荐流速 (mL/min)	最大流速 (mL/min)	最大压降 (MPa)
TSKgel Protein A-5PW	0023483	4.6×3.5	1.5~2.0	4.0	2.0

注：以上是超纯水的粘度为基准设置的流速。

9. 使用温度

9-1 最佳使用温度

本色谱柱的最佳使用温度为 4~30 °C。

9-2 低温条件下测定

低温下，由于溶剂或样品的粘度增大，因此使用流速需要低于室温下的操作流速。

10. 准备样品溶液

10-1 样品前处理

请使用离心过滤法或推荐的微孔过滤法预处理样品溶液。即使在样品溶液中看不到任何杂质，也可能存在不溶物质。

10-2 样品溶液的成分

请将样品溶液的 pH 值以及盐和有机溶剂的浓度尽可能配制得与平衡溶液一致。如果进样量低于 100 μL ，则样品溶液中可以含有较高浓度的盐（如，0.15 mol/L 的 NaCl）。样品溶液的进样量较大时，最好将样品稀释或者溶于平衡溶液。如果样品与流动相混合时产生不溶物，则不能使用平衡溶液来稀释或溶解样品。

11. 测定柱效

理论塔板数 (N)，不对称因子 (As) 及其色谱分析条件，如检测报告所示。

11-1 理论塔板数的计算方法

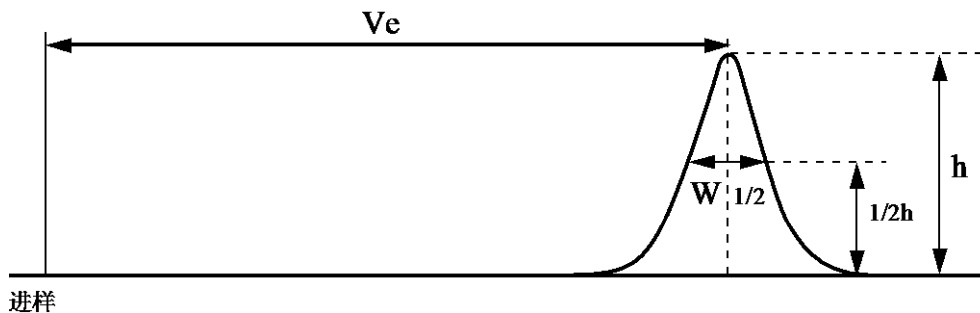


图 2 理论塔板数的计算方法

如图 2 中所示，通过半峰宽法计算色谱柱的理论塔板数 (N)。

$$N = 5.54 \left(V_e / W_{1/2} \right)^2$$

V_e : 洗脱时间

$W_{1/2}$: 半峰宽

h : 峰高

11-2 不对称因子的计算方法

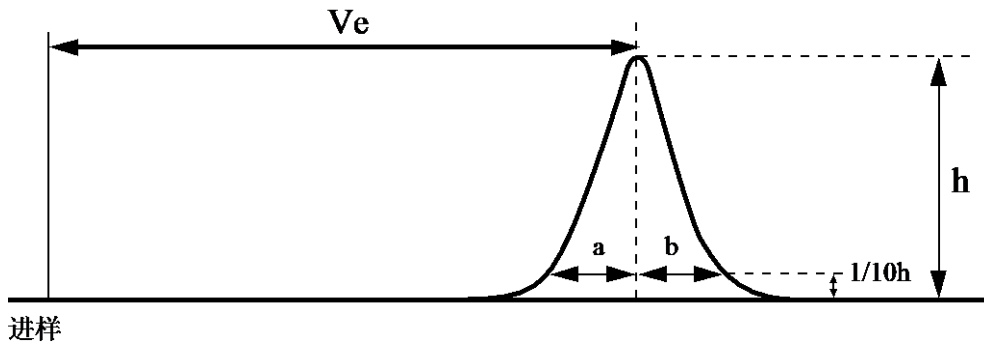


图 3 不对称因子的计算方法

通过 $1/10 h$ 法计算色谱柱的不对称因子 (A_s)。

$$A_s = b/a$$

11-3 死体积

如果仪器的死体积或样品的进样量过大，则理论塔板数可能会降低。

12. 故障排除

使用 TSKgel 色谱柱时，按照以下说明可以避免某些问题的发生。但是，有些问题（如由色谱柱寿命、吸附物质、产生的气泡、填料干燥或溶剂凝固等引发的问题）一旦发生就无法清除，因此使用色谱柱时应非常小心。

12-1 溶剂泄漏

请使用扳手拧紧色谱柱上的末端接头和螺母。

12-2 末端接头堵塞

如果压降增加，请从色谱柱逆向进液清洗末端接头。如果无法清除堵塞，则必须替换新的接头。请使用新的末端接头替换旧的接头，注意替换时请勿碰到下方的填料。然后，请参照 4-4 节清除进口侧的空气。替换后，请确认理论塔板数和不对称因子。

12-3 清洗色谱柱

长时间重复使用色谱柱后，洗脱时间有时会发生剧烈变化。此时，请使用 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液清洗色谱柱。请使用多次进样清洗方法清洗色谱柱，进样总量为 0.5~2 mL 的 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液。

13. 质量标准和质量保证

13-1 检测报告

有关检测条件和检测结果的内容，请参见检测报告。其中，理论塔板数是指单根色谱柱的柱效。

13-2 质量标准

色谱柱的出厂规格如表 2 所示。

表 2 规格

产品名称	货号	色谱柱尺寸 mm (I.D.) × cm (L)	理论塔板数 (TP/Column)	不对称因子
TSKgel Protein A-5PW	0023483	4.6×3.5	280	0.6~1.5

13-3 质量保证

收到产品后，请立即根据检测报告中的方法确认色谱柱的外观并检查其性能。如果产品无法达到表 2 中所记载的性能，请在两周内联系东曹销售代表或相关代理店。

注：色谱柱的寿命不属于保修范围。

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。