

Antibodix 离子交换色谱柱

使用手册

色谱柱信息

Antibodix 离子交换色谱柱采用专利的设计，具有高分辨率、高柱效、高回收率的特点。填料基质是均匀的球状颗粒、高交联度的刚性无孔PS/DVB材质。粒径有1.7, 3, 5和10 μm 颗粒的选择。PS/DVB表面附有一层纳米级厚度、高亲水性的中性聚合物薄膜。疏水性PS/DVB薄膜表面完全被亲水涂层覆盖，消除了与抗体蛋白的非特异性结合，使具备了高效和高回收率的分离特性。亲水涂层的顶端键合有一层具有特殊化学性质的弱阳离子交换基团，通过专利化学技术合成了密集、均匀的离子交换层。

稳定性和性能

Antibodix 离子交换色谱柱是以PS/DVB涂层为基础，所有的表面涂层都通过化学修饰粘合在PS/DVB涂层表面，这使它具备卓越的稳定性。

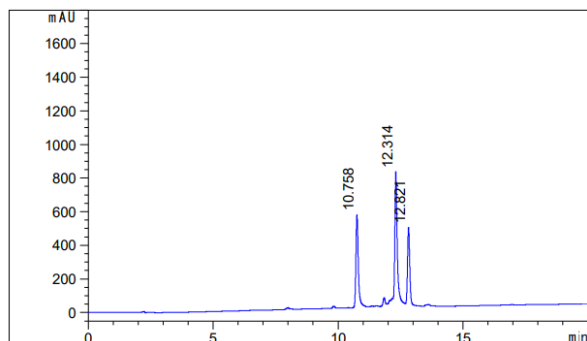


图1. Antibodix色谱柱分离三种标准蛋白混合物

色谱柱: Antibodix-NP5 (5 μm , 4.6 \times 250 mm)

流动相: A: 10 mM Phosphate Buffer (pH 6.0); B: A+1.0 M NaCl

流速: 0.8 mL/min

温度: Ambient

检测器: UV 214 nm

进样体积: 5.0 μL

样品: 1.Aprotinin(1.0mg/mL) 2.Lysozyme(1.0mg/mL)

3.Ribonuclease A(1.0mg/mL)

安全注意事项

Antibodix 离子交换色谱柱通常在高压下运行。如果管路连接不紧，将会导致缓冲溶剂和注入样品的泄漏，从而对操作人员的健康产生影响。一旦发生泄漏，应佩戴

适当的手套进行处理。另外当打开色谱柱时还应采取适当的保护措施，以防止微小的聚合物颗粒进入呼吸道。

色谱柱安装及操作

色谱柱在没有使用时，它的两端应用堵头进行密封。当将色谱柱接入色谱仪器系统时，首先移去两端的堵头。除非出于特殊考虑，例如为了清除堵在色谱柱入口端的堵塞物等而需要将色谱柱反接以进行冲洗时，建议用户在接上色谱柱时一定要遵循柱上标记的方向。由于色谱柱的连接是整个色谱操作过程的一部分，如果密封卡套过紧，或安装不合适，或者密封卡套与色谱柱端口不匹配，都有可能导致溶液的泄漏。请按照下面步骤将色谱柱与密封卡套相连接，从而将色谱柱接入 HPLC 系统：

(a) 请依次将管线接头和密封卡套装在外径 1/16”的管线上。确保密封卡套的宽口端应朝向管线接头。

(b) 将管线紧紧插入色谱柱的接口，向前滑动密封卡套和管线接头，并使管线接头的螺纹与色谱柱端口的螺纹相互衔接，然后拧紧管线接头。

(c) 在用力将管线压入柱端接口之后，用 1/4” 扳手将已拧紧的螺帽再进一步紧固。

(d) 对色谱柱的另一端采用上述方法进行操作。

产品参数

色谱柱	弱阳离子交换器
表层结构	高度交联的 PS/DVB 涂层表面粘合了一个密集纳米亲水涂层，并通过化学修饰结合了均匀的离子交换层。
粒径	1.7, 3, 5 和 10 μm
孔结构	无孔
pH 值稳定性	2-12
操作温度限制	80°C
操作压力限制	10 μm —— 4,000 psi 5 μm —— 6,000 psi 3 μm —— 8,000 psi 1.7 μm —— 10,000 psi
流动相兼容性	与水溶液、水和乙腈、丙酮或甲醇的混合液兼容。典型缓冲液：磷酸盐、tris 和乙酸盐
流动相	4.6 mm 内径经典色谱柱，缓冲液流速在 0.1-1.0 mL/min

样品与流动相

为了避免色谱柱的堵塞，所有样品和溶剂都必须在使用前用0.45 μm 或0.2 μm 的滤膜过滤。建议使用柱前过滤器（0.5 μm frit）或保护柱来保护色谱柱。Antibodix 离子交换色谱柱可以使用水或有机溶剂和水的混合物，如甲醇（或乙腈）的水溶液等作为流动相。典型的洗脱剂包括钠盐、钾盐、磷酸盐、氯化物、乙酸盐或Tris。流动相在使用前需要使用在线脱气机脱气。常用脱气方法是将流动相超声处理5 min。

Antibodix 色谱柱与非离子型和两性离子型洗涤剂兼容。Antibodix 色谱柱与阳离子洗涤剂不兼容。

色谱柱的使用及维护

运输溶剂 Antibodix 新色谱柱的运输溶剂是 pH 值 6.0 的 10 mM 磷酸盐缓冲液。

初次使用 在储存和运输过程中，包装可能会变干。建议用 10-20 倍柱体积的流动相来激活色谱柱。用流动相冲洗柱子，流速从 0.1 mL/min 逐渐增加至一般操作条件，直到基线稳定。如果色谱柱背压和基线有波动，可能是由于系统中残留的气泡。需要断开色谱柱，并用更高的流速冲洗色谱柱 2-5 分钟，如 10 μm 4.6 \times 250 mm 色谱柱在 1.0 mL/min 流速冲洗。如果流动相或色谱柱中缓冲液的 pH 值差异较大，建议用新的 10CV 流动相冲洗柱子。

*请首先按照色谱柱出厂 QC 方法对色谱柱进行检测，理论塔板数和拖尾因子等应与 QC 报告相符。（因为仪器和实验条件的差异，实际检测结果与 QC 报告可能存在偏差，如偏差超过 $\pm 20\%$ 请及时与厂家或色谱柱供应商联系）。

样品制备 建议采用流动相溶解样品，以免出现溶剂效应。保证待测样品与流动相有很好的溶解性，以免样品析出导致柱压升高和系统污染，如出现此情况，可对色谱柱进行低流速反向冲洗，以除去堵塞柱头的杂质。

pH 为了获得最佳的分离效果、延长柱的使用寿命，请尽量使用 pH 在 2-12 范围内的流动相。

压力 无孔 Antibodix 离子交换色谱柱 1.7, 3, 5 和 10 μm 粒径可以在 10,000、8,000、6,000、4,000 psi 的高压下运行，但正常操作通常需要在 5,000 psi 的压力下（8,000 psi 在 1.7 μm 粒径）。在高压下连续使用可能会缩短色谱柱的使用寿命。由于压力来源于流速，因此最大流速将受制于系统所能承受的压力。一般而言，柱压会随着色谱柱使用时间的增加而逐渐增加。

温度 最高操作温度为 80°C。为了获得最长的使用时间，

最佳操作温度在 10-50°C。长时间在高温（ $>80^\circ\text{C}$ ）下操作也会损坏色谱柱，特别是在 pH 值（ >12 or <2.0 ）极端的情况下。

流速范围 使用 4.6 mm 内径色谱柱时，正常操作流速范围在 0.1-1.0 mL/min。

储存 当色谱柱长时间不使用时，应将 Antibodix 色谱柱储存 pH 值 6.0，10 mM 磷酸盐缓冲溶液中，用储存缓冲液冲洗色谱柱至少 15 CV，然后用可拆卸的端塞密封两端，防止柱床干燥。

色谱柱清洗 （1）如果在分离色谱柱前使用了柱前过滤器或保护柱，请先用洗脱液反向冲洗柱前过滤器或保护柱 15-30 分钟，如果清洗不能提升色谱柱的性能，则需要更换柱前过滤器或保护柱。洗脱液是在 1.0 M NaCl 中 pH 值为 10 的 50 mM 磷酸盐缓冲液

（2）如果样品被吸附在色谱柱入口端的筛板或填料上，当吸附物累计到一定程度时，通常表现为压力增加，峰变宽。当这种情况发生时，需要清洁色谱柱。色谱柱清洁的一般准则如下：

1. 断开色谱柱与检测器的连接。
2. 将色谱柱反接后冲洗。
3. 以不超过最大推荐流速的 50% 运行色谱柱，监测压力，如果压力差远远高于正常的操作条件，你需要降低流速或更换用于清洗的缓冲液，因为不同清洗液的粘性不同。

4. 通常情况下，10-15 CV 的清洗液即可。这里推荐一些选择清洗液的一般准则，较低 pH 值的盐溶液有助于去除碱性蛋白质；高 pH 值的盐溶液有助于去除酸性蛋白质；有机物有助于去除疏水性蛋白质。对于一般清洗，建议 pH 值为 10 时 50 mM 磷酸盐在 1.0 M 的 NaCl 缓冲液。

色谱柱的保养

为了延长色谱柱寿命，可以每次用 0.2 μm 的过滤器过滤样品和流动相，尤其是对 2 μm 以下的 IEX 色谱柱。为了进一步减少样品或流动相的颗粒残留进入色谱柱，建议采取以下两种附加措施之一：

第一个建议是安装一个 2.0 \times 10 mm 或 4.0 \times 10 mm 的保护柱。这将会帮助更加有效的在流动相或 HPLC 系统中捕获高吸附性样品成分和样品残余的颗粒物。在使用保护柱后的一段时间，建议每次用 1 M 的 NaCl 高盐溶液对保护柱反向冲洗 10 次。

第二个建议是安装一个切口 $\leq 0.3 \mu\text{m}$ 的柱前过滤器。一旦出现背压增大或色谱柱性能下降的情况，就需要

更换过滤器。同时建议每次清洗或更换柱前过滤器时，用1 M 的 NaCl 高盐溶液对保护柱反向冲洗柱子 10 次。

Antibodix 产品规格

产品	内径×长度 mm×mm	粒径 μm	货号
Antibodix	4.6×50	1.7	602NP2-4605
Antibodix	2.1×50	1.7	602NP2-2105
Antibodix	4.6×150	3	602NP3-4615
Antibodix	4.6×250	3	602NP3-4625
Antibodix	4.6×150	5	602NP5P-4615
Antibodix	4.6×250	5	602NP5P-4625
Antibodix	21.2×250	5	602NP5-21225
Antibodix	4.6×150	10	602NP10P-4615
Antibodix	4.6×250	10	602NP5P-4625
Antibodix	21.2×250	10	602NP10-21225

*其他规格色谱柱产品及任何问题可致电：400-636-8880
或联系 marketing@sepax-tech.com.cn。