

亲和色谱柱

**TSKgel® FcR-III A-NPR**

**TSKgel® FcR-III 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
 <b>警告</b>	表示潜在的危險事項，如不可避免，可能会导致死亡或严重受伤。
 <b>注意</b>	表示潜在的危險事項，如不可避免，可能会导致轻度或中度受伤。

### 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

溶剂发生喷洒或泄露可能会导致火灾、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"><li>• 请将患者转移到空气清新的区域，并用清水反复清洗口部。</li><li>• 请立即就医。</li></ul>
	皮肤接触	<ul style="list-style-type: none"><li>• 请用肥皂水和清水反复冲洗接触位置。</li></ul>
	眼睛接触	<ul style="list-style-type: none"><li>• 请尽量睁大眼睛，并用清水冲洗至少十五分钟。</li><li>• 请立即就医。</li></ul>
	食入	<ul style="list-style-type: none"><li>• 请立即用清水反复漱口，并立即就医。</li></ul>
操作和保存	保存温度	<ul style="list-style-type: none"><li>• 请避免将本产品保存在温度过低（<math>\sim 0\text{ }^{\circ}\text{C}</math>）的环境下，防止冷冻。</li></ul>
	柱子操作	<ul style="list-style-type: none"><li>• 野蛮操作可能会损坏柱子。</li></ul>
	佩戴适当的护具	<ul style="list-style-type: none"><li>• 使用本产品时，请佩戴护目镜。</li></ul>
处理废弃物	处理方法	<ul style="list-style-type: none"><li>• 请使用大量的水进行稀释。请根据当地法律法规正确废弃。</li></ul>
	一般注意事项	<ul style="list-style-type: none"><li>• 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。</li></ul>

出厂溶剂：含 0.025 % ProClin<sup>®</sup> 300 的 0.65 mmol/L 柠檬酸，9.35 mmol/L 柠檬酸三钠溶液（pH 6.5）。

ProClin 是 Rohm and Haas 公司的注册商标。

## 注意事项：填料

急救	吸入	<ul style="list-style-type: none"><li>• 请将患者转移到空气清新的区域，并用清水反复清洗口部。</li><li>• 请立即就医。</li></ul>
	皮肤接触	<ul style="list-style-type: none"><li>• 请用肥皂水和清水反复冲洗接触位置。</li></ul>
	眼睛接触	<ul style="list-style-type: none"><li>• 请尽量睁大眼睛，并用清水冲洗至少十五分钟。</li><li>• 请立即就医。</li></ul>
	食入	<ul style="list-style-type: none"><li>• 请立即用清水反复漱口，并立即就医。</li></ul>
操作和保存	通风	<ul style="list-style-type: none"><li>• 请保证充分通风。</li></ul>
	佩戴适当的护具	<ul style="list-style-type: none"><li>• 使用本产品时，请佩戴防护目镜和防毒面具。</li></ul>
处理废弃物	处理方法	<ul style="list-style-type: none"><li>• 可焚烧本产品进行简单的废弃处理。</li></ul>
	一般注意事项	<ul style="list-style-type: none"><li>• 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。</li></ul>

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 .....	2
5. 保存色谱柱 .....	3
6. 溶剂 .....	4
7. 洗脱条件 .....	5
8. 流速 .....	5
9. 使用温度 .....	6
10. 准备样品溶液 .....	6
11. 测定柱效 .....	7
12. 故障排除 .....	8
13. 质量标准和质量保证 .....	9

## 1. 简介

TSKgel FcR-III A-NPR 和 TSKgel FcR-III A-5PW 均为高性能亲和色谱柱,适用于分析含 Fc 段抗体样品,如单克隆抗体、多克隆抗体和 Fc 融合蛋白。本说明书介绍了如何正确维护和使用该色谱柱的重要信息,使用前请仔细阅读,以便充分发挥产品的性能。

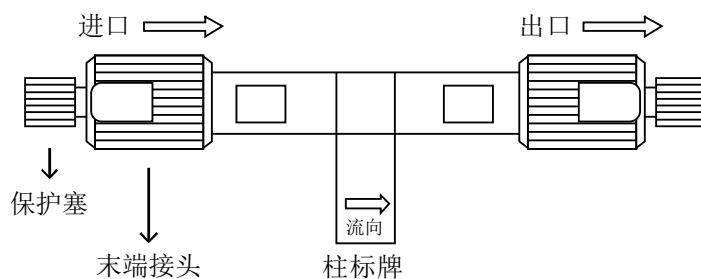
## 2. 打开包装

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	1 份
分析报告	1 份

## 3. 色谱柱部件

TSKgel FcR-III A-NPR



TSKgel FcR-III A-5PW

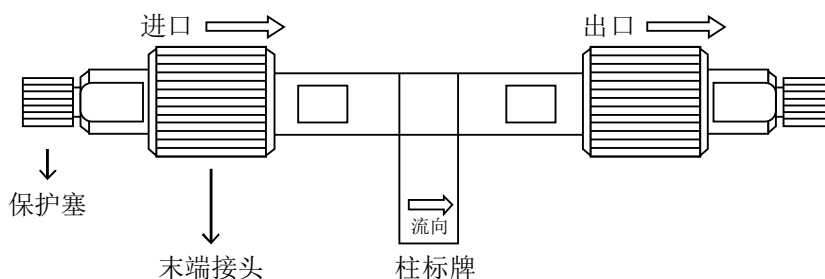


图 1 色谱柱部件

## 4. 安装及安全注意事项

### 4-1 连接

本款色谱柱可以使用内锁型接头和 1/16 英寸不锈钢管路或 PEEK 管路进行连接。

### 4-2 进液方向

请按图 1 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，确认色谱柱进口侧末端接头是否有溶剂流出。确认有溶剂流出后，请将色谱柱连接到设备。未确认到溶剂流出时，请将色谱柱反向连接到设备。然后，以低于常规流速一半的流速注入溶剂，防止降低色谱柱性能。确认流出的溶剂中没有气泡后，请按正确的进液方向连接色谱柱。

### 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。必须使用没有脉冲的泵。如果使用了脉动式泵，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

压力上升过快或溶剂的进液速度过快，可能会降低色谱柱的性能。如果测定温度高于室温，请勿在测定完成后立即停泵。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

需要长期保存色谱柱时，请使用含 0.025 % ProClin<sup>®</sup> 300 的 0.65 mmol/L 柠檬酸，9.35 mmol/L 柠檬酸三钠溶液（pH 6.5）替换色谱柱中的溶剂。

注：3 %的 ProClin 300 是一种皮肤致敏剂，请勿接触皮肤。如果接触皮肤，请立即使用肥皂和清水冲洗，防止引起皮肤瘙痒。请佩戴适当的防护手套。请阅读 ProClin 300 的安全数据表(Safety data sheet)。处理 ProClinton 300 时，请务必小心。

注入的保存溶液的体积应大于色谱柱和流路的总体积。然后，请从设备上拆下色谱柱，并用保护塞封住色谱柱的两端。

## 5. 保存色谱柱

### 5-1 保存方法

请参阅 4-7 节。

### 5-2 保存温度

请在 2~8℃下保存色谱柱。

如果在 0℃以下保存色谱柱，可能会引起色谱柱冷冻而降低柱效。

### 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 0.025 % ProClin® 300 的 0.65 mmol/L 柠檬酸，9.35 mmol/L 柠檬酸三钠溶液（pH 6.5）。TSKgel FcR-III A-NPR 和 TSKgel FcR III A-5PW 的基质上均键合蛋白质配体，因此请勿使用任何有机溶剂和变性剂，如十二烷基硫酸钠，尿素或盐酸胍。

### 6-2 pH 值范围

本款色谱柱适用的 pH 值范围为 4.0~8.0。

### 6-3 粘度

使用高粘度溶剂时，压力会升高，容易导致色谱柱、泵和管路等发生故障，也会影响色谱柱寿命。

### 6-4 溶剂纯度

仅可使用纯净的溶剂，否则溶剂中存在的杂质可能会导致鬼峰。

### 6-5 过滤

请使用 HPLC 级专用溶剂或使用约 0.5  $\mu\text{m}$  的过滤器过滤溶剂。这有助于防止柱头堵塞，延长色谱柱寿命。使用真空过滤器或超声波处理可以有效清除溶解的气体，防止色谱柱混入气泡。

### 6-6 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 选择缓冲溶液和 pH 值

进样前，请至少使用 5 倍柱体积的平衡溶液平衡色谱柱。大部分人抗体（IgG2 除外）会在中性 pH 6.0~8.0 条件下结合 TSKgel FcR-III A-NPR 或 TSKgel FcR-III A-5PW 色谱柱，并在低 pH 4.0~5.0 条件下从 TSKgel FcR-III A-NPR 或 TSKgel FcR-III A-5PW 色谱柱中洗脱。柠檬酸盐缓冲溶液是比较常用的平衡溶液和洗脱溶液。但是，如果柠檬酸盐缓冲溶液不含 ProClin 300，请勿长期使用或保存，避免细菌滋生。低 pH 柠檬酸盐缓冲溶液也可实现有效洗脱。

### 7-2 洗脱方法

在 TSKgel FcR-III A-NPR 或 TSKgel FcR-III A-5PW 色谱柱上分离抗体时，通常使用 pH 线性梯度洗脱法。常用的缓冲溶液如下所示。但是抗体样品不同，最佳的缓冲溶液也不同。因此，需要根据不同的抗体样品优化相应的方法。

#### 推荐的缓冲溶液

平衡溶液：50 mmol/L 柠檬酸钠缓冲溶液，pH 6.0 至 pH 6.5

洗脱溶液：50 mmol/L 柠檬酸钠缓冲溶液，pH 4.0 至 pH 4.5

注：缓冲溶液中可以添加高浓度的盐，如 0.15 mol/L NaCl。但是，盐浓度可能会影响某些抗体的吸附力。

## 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，较低的流速有利于延长色谱柱的寿命，防止柱头塌陷。另外，流速也会影响分辨率。

### 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 溶剂粘度

溶剂粘度较低时，可以使用高流速进行分析。溶剂粘度较高时，请降低流速。

表 1 推荐流速

型号	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 FcR-IIIA-NPR	0023513	4.6 × 7.5	1.0	1.0	9.0
TSKgel FcR-IIIA-5PW	0023532	7.8 × 7.5	0.3	1.2	1.0

注：上述流速以蒸馏水的粘度为基准测得。

## 9. 使用温度

### 9-1 最佳使用温度

色谱柱的最佳使用温度为 15~25℃。

### 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

请使用离心分离法或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置得与平衡溶液一致。如果样品溶液的进样体积较大，最好将样品稀释或溶解于平衡溶液。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. 计算柱效

理论塔板数 (N)、对称因子 (S) 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

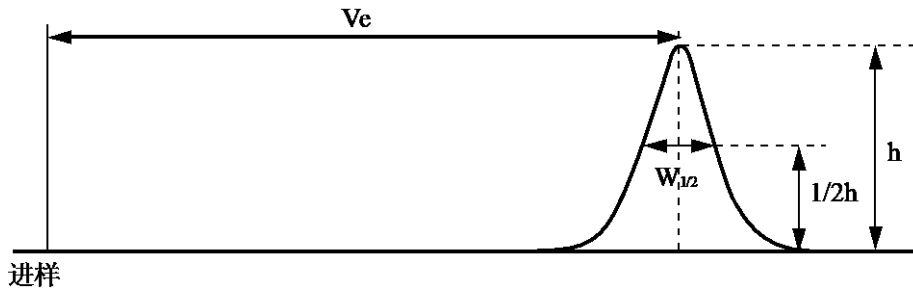


图 2 理论塔板数的计算方法

如图 2 中所示, 通过半峰宽法计算色谱柱的理论塔板数 (N)。

$$N = 5.54 (Ve/W_{1/2})^2$$

Ve : 洗脱体积

$W_{1/2}$  : 半峰宽

h : 峰高

### 11-2 不对称因子的计算方法

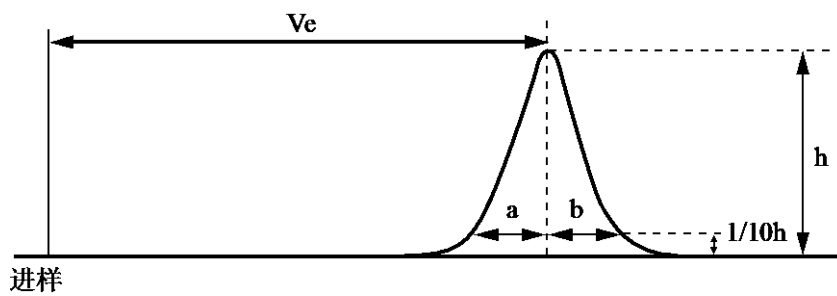


图 3 不对称因子的计算方法

通过 1/10 h 法计算不对称因子 (As)。

$$As = b/a$$

### 11-3 对称因子的计算方法

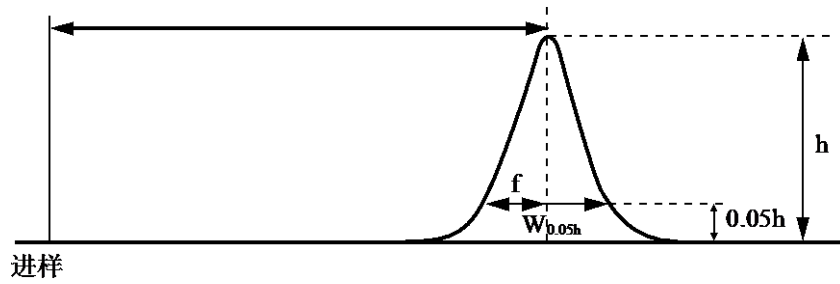


图 4 对称因子的计算方法

通过  $1/20 h$  法计算对称因子 (S)。

$$S = W_{0.05}/2f$$

### 11-4 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，按照以下说明可避免大部分问题。但是，有些问题（如，由于色谱柱寿命、吸附物质、产生的气泡、填料干燥或溶剂凝固等引起的问题）一旦发生就无法修复，因此使用色谱柱时，请务必小心操作。

### 12-1 溶剂泄露

请使用扳手拧紧末端接头和螺母。

### 12-2 末端接头堵塞

如果压降增加，请将色谱柱反向进液清洗末端接头。

### 12-3 清洗色谱柱

长时间重复使用色谱柱后，洗脱时间有时候会发生剧烈变化。此时，使用含 0.5 mol/L NaCl 或 20 % 乙醇的缓冲溶液清洗色谱柱。请多次进样的方法清洗色谱柱，注入体积为 0.5~2 mL 的清洗溶液。

## 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

该色谱柱的出厂规格见表 2。

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 (As) / 对称因子 (S)
TSKgel FcR-IIIA-NPR	0023513	4.6 × 7.5	≥ 170	As 1.0 - 1.8
TSKgel FcR-IIIA-5PW	0023532	7.8 × 7.5	≥ 2,100	S 0.8 - 1.6

### 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。色谱柱的规格如因改进而发生更改，恕不另行通知。

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.tbs@tosoh.com.cn

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

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

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

NPR 和 TOYOPAK 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內容。

本书中的內容如有更改, 恕不另行通知。