

# 使用条件及质量标准

## OPERATING CONDITIONS and SPECIFICATIONS

### TSKgel BioAssist® Chelate

分析柱					连接方式/连接部件
货号	产品名	色谱柱尺寸 内径 (mm) × 长度 (cm)	粒径 ( $\mu\text{m}$ )	柱身材质	
0020022	TSKgel BioAssist Chelate	7.8 × 5	10	PEEK <sup>a)</sup>	Ferrule 方式 1/16 英寸管路
注 <sup>a)</sup> PEEK ··· 聚醚醚酮					

该 OCS 表记载了色谱柱简易使用条件及方法。详细的使用方法请参阅使用说明书。

#### A. 使用条件及方法

- 出厂溶剂 10 mmol/L 醋酸盐缓冲溶液 (pH 4.5)
- 最大压降、最大流速、推荐流速及溶剂替换流速

货号	产品名	色谱柱尺寸 内径 (mm) × 长度 (cm)	最大压降 (MPa)	最大流速 (mL/min)	推荐流速 (mL/min)	溶剂替换流速 (mL/min)
0020022	TSKgel BioAssist Chelate	7.8 × 5	1.0	1.2	0.5~1.0	≤0.3
注 柱压根据流动相的种类 (缓冲溶液、盐浓度以及有机溶剂浓度)、柱温以及梯度条件不同而不同。如果超过最大压降, 请降低流速。						

- 流动相
    - 水、盐溶液以及缓冲溶液
    - 含 20% 以下水溶性有机溶剂的溶液
    - pH 2.0~12.0

注 1 建议使用超纯水或同等级别的水。建议使用特级或 HPLC 级别的有机溶剂或试剂。  
注 2 先用水替换出厂溶剂, 再用流动相替换水。  
注 3 使用含有机溶剂的溶液时, 请注意盐析。
  - 使用温度范围 4~45 °C
  - 使用方法
    - 添加金属离子
      - 替换成初始流动相, 即金属离子与蛋白质易结合的中性缓冲溶液 (pH 7.0~8.0)。典型的初始流动相如下所示:
        - 例 1 20 mmol/L Tris-HCl 缓冲溶液 + 0.5 mol/L 氯化钠 (pH 8.0)
        - 例 2 20 mmol/L 磷酸盐缓冲溶液 + 0.5 mol/L 氯化钠 (pH 7.0)
      - 注入金属离子 ( $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Ni}^{2+}$ 、 $\text{Co}^{2+}$  等) 溶液。

注 1 金属离子的结合量为每 1 mL 色谱柱体积约 20  $\mu\text{mol}$ 。  
注 2 结合金属离子时, 请不要使用 EDTA 以及柠檬酸等螯合剂。另外, 如果使用  $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$ , 为了防止离子交换作用, 请在流动相中添加 0.5~1.0 mol/L 的氯化钠。
    - 吸附蛋白质  
注入样品, 吸附蛋白质。
    - 洗脱蛋白质
      - 利用浓度梯度进行洗脱  
可以利用甘氨酸、组胺、咪唑或氯化铵等浓度梯度进行洗脱。  
典型的洗脱用流动相如下所示, 洗脱的最佳条件根据蛋白质样品性质不同而不同。
        - 例 1 20 mmol/L Tris-HCl 缓冲溶液 + 0.5 mol/L 氯化钠 + 0.2~0.5 mol/L 甘氨酸 (pH 8.0)
        - 例 2 20 mmol/L 磷酸盐缓冲溶液 + 0.5 mol/L 氯化钠 + 20 mmol/L 咪唑 (pH 7.0)
      - 利用 pH 梯度进行洗脱  
在酸性条件下, 金属离子与蛋白质的结合力会下降。因此, 可以通过流动相的 pH 值从中性变化为酸性的 pH 梯度 (代表性例子, 如从 pH 7.0 变化成 pH 3.0) 进行洗脱。
      - 利用螯合剂进行洗脱  
用含有 EDTA 以及 EGTA 等螯合剂的流动相进行洗脱。此条件下, 蛋白质与金属离子结合在一起被洗脱, 因此不论是哪一种, 都会被洗脱。
    - 替换金属离子  
去除结合的金属离子, 以及替换结合的金属离子种类时实施此方法。  
注入 10~20 mL 含 50 mmol/L EDTA 和 0.5 mol/L 氯化钠的水溶液清洗色谱柱。
- 保存
  - 步骤:
    - 使用盐溶液作为流动相时, 请用水替换。
    - 先用出厂溶剂替换色谱柱内溶剂后, 从仪器上卸下色谱柱, 用保护塞密封色谱柱两端, 然后进行保存。

注 请注意溶剂替换流速。
  - 保存温度: 15~30 °C

7. 清洗 请先使用方法（1）和（2）进行清洗，然后确认色谱柱性能，如果没有恢复，请使用方法（3）和（4）进行清洗。另外，由于尿素或中性表面活性剂可能会残留在色谱柱上，请先按照方法（1）～（3）清洗，如果色谱柱性能仍不能恢复，可考虑采用方法（4）。
- （1）去除离子性杂质  
高盐浓度的流动相或酸性水溶液清洗。如果含有有机溶剂，请注意盐析。
- （2）去除疏水性杂质  
含有机溶剂的溶液清洗。请注意盐析。
- （3）使用方法（1）和（2）清洗后，色谱柱性能无法恢复时的清洗方法  
请采用进样的方式注入 0.1~0.2 mol/L 的氢氧化钠水溶液或 20~40 % 的醋酸水溶液反复清洗。
- （4）去除难溶性蛋白质  
含 6~8 mol/L 尿素或 0.2~0.3 % 中性表面活性剂（Triton、Tween、Brij 等）的溶液清洗。
- 注 1 根据杂质的性质，即使清洗色谱柱后，也有可能不能恢复其性能。  
注 2 清洗色谱柱时的流速与溶剂替换流速一致。
8. 废弃注意事项 填料为可燃性乙烯基共聚物。  
废弃时，请参阅使用说明书中记载的注意事项。

Triton 是 Union Carbide Corporation 的注册商标。  
Tween 是 Croda International Plc 的注册商标。  
Brij 是 Croda Americas LLC 的注册商标。  
TSKgel 是东曹株式会社在中国、日本、美国、欧盟等的注册商标。

## B. 质量标准

该色谱柱的质量标准如下：检测条件和检测结果，记载在柱盒内的 INSPECTION DATA SHEET 中。

货号	产品名	色谱柱尺寸		理论塔板数	不对称因子
		内径 (mm) × 长度 (cm)			
0020022	TSKgel BioAssist Chelate	7.8 × 5		≥ 800	0.8~1.6

