

抗体分析 液相色谱方法包

**Zenix™ SEC-300 &
Antibodix™ WCX NP5**



服务热线：400-636-8880



Sepax Technologies

目录

引言.....	1
Zenix™ SEC-300 和 Antibodix™ WCX NP5 的技术参数.....	2
Zenix™ SEC-300 4.6 x 300 mm 的质量控制测试.....	3
Antibodix™ WCX NP5 4.6 x 250 mm 的质量控制测试.....	4
Zenix™ SEC-300 4.6 x 300 mm 柱上的单克隆抗体及片段分离应用篇.....	5
Zenix™ SEC-300 4.6 x 300 mm 柱上分析完整 MAb.....	6
Zenix™ SEC-300 4.6 x 300 mm 柱上分析降解后的 MAb.....	6
降解后的 MAb 重链和轻链的分离.....	7
TFA 浓度对 Zenix™ SEC-300 4.6 x 300 mm 柱分离降解后的 MAb 的影响.....	7
TFA 和甲酸浓度对 Zenix™ SEC-300 4.6 x 300 mm 柱分离降解后的 MAb 的影响.....	8
Zenix™ SEC-300 4.6 x 300 mm 柱上分离 Fab/Fc.....	8
TFA 和甲酸浓度对分离 Fab/Fc 的影响.....	9
使用不同流动相分离 Fab/Fc.....	9
乙腈浓度对 Zenix™ SEC-300 4.6 x 300 mm 柱上分离 Fab/Fc 的影响.....	10
Zenix™ SEC-300 4.6 x 300 mm 柱上样品载量测试图谱.....	10
Zenix™ SEC-300 4.6 x 300 mm 柱上分离 MAb 321- F(ab') ₂	11
TFA 和甲酸浓度对分离 F(ab') ₂ 的影响.....	11
Antibodix™ WCX NP5 4.6 x 250 mm 柱上的单克隆抗体分离应用篇.....	12
Antibodix™ WCX NP5 柱上氯化锂盐溶液梯度洗脱分离 MAb.....	13
Antibodix™ WCX NP5 柱上氯化钠盐溶液、pH 梯度洗脱分离 MAb.....	13
Antibodix™ WCX NP5 柱上分离 MAb 的稳定性测试.....	14
Antibodix™ WCX NP5 柱上分离木瓜蛋白酶酶切 MAb.....	14
不同进样量 Fab/Fc 在 Antibodix™ WCX NP5 柱上的分离.....	15
Antibodix™ WCX NP5 柱上分离 Fab/Fc.....	15
Antibodix™ WCX NP5 柱上分离 F(ab') ₂	16
Zenix™ SEC-300 4.6 x 300 mm 的色谱柱安装及操作规程.....	17
Antibodix™ WCX NP5 4.6 x 250 mm 的色谱柱安装及操作规程.....	17
Zenix™ SEC-300 的故障排除.....	18
Antibodix™ WCX NP5 的故障排除.....	20
订购信息.....	21

引言

Zenix™ SEC 固定相

Zenix™ SEC固定相是采用创新的表面修饰技术，通过在高纯度具有良好机械稳定性的硅胶基质上，键合一层均匀的纳米厚度亲水薄膜而制备得到。Zenix™ SEC固定相的表面化学结构为在有孔硅胶上键合一层直立状单分子层，为基于尺寸大小的高效分离提供了理想的表面化学。3 μm粒径的Zenix™为凡基于尺寸大小对生物分子进行的分离，提供了稳定、可重现、以及最高分辨率的强大方案。

Antibodix™ WCX 固定相

Antibodix™ WCX固定相由刚性、球形、高交联度的无孔聚苯乙烯-二乙烯基苯 (PS/DVB)颗粒构成。PS/DVB树脂表面键合有一层高度亲水、纳米厚度的中性聚合物薄层。疏水的PS/DVB树脂表面被亲水层完全覆盖，从而消除了其对抗体蛋白的非特异性结合，保证了其具有高分离效率和高回收率。采用独有的化学键合技术，在亲水层表面键合有一层弱阳离子交换基团，具有高离子交换容量。

固定相化学结构示意图



图 1. Zenix™ SEC-300 和 Antibodix™ WCX 的固定相表面结构

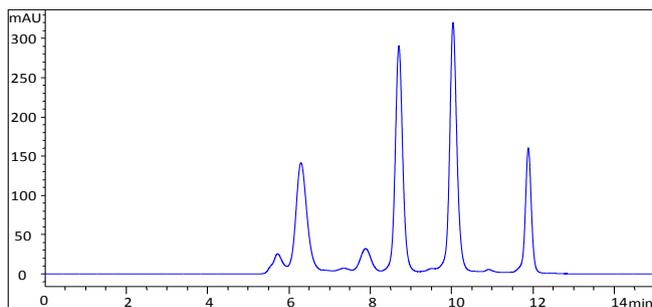
Zenix 和 Antibodix 固定相的主要特征

特征	Zenix™	Antibodix™
粒径	3 μm	5 μm
孔径(Å)	300	无孔
表面结构	单层直立状 化学键合层	弱阳离子交换 功能基团

Zenix™ SEC-300 和 Antibodix™ WCX NP5 的技术参数

固定相	Zenix™ SEC-300	Antibodix™ WCX NP5
尺寸	4.6 x 300 mm	4.6 x 250 mm
材料	中性亲水涂层 键合在硅胶表面	弱阳离子交换基团键合在 PS/DVB 树脂亲水层表面
粒径	3 μm	5 μm
孔径 (Å)	~300	无孔
pH 稳定性	2-8.5, 短时可耐 pH 8.5- 9.5	2-12
流速	0.35 mL/min	0.80 mL/min
反压	~ 1,100 psi	~ 2,500 psi
最大耐受反压	~ 3,500 psi	~6,000 psi
最高耐受温度 (°C)	~ 80	~ 80
流动相兼容性	水相及有机相溶剂	水溶液或水与乙腈、丙酮或甲 醇的混合水与乙腈、丙酮或甲 醇的混合物

Zenix™ SEC-300 4.6 x 300 mm 的质量控制测试



化合物名称	保留时间 (min)	峰面积	塔板数	拖尾因子	分离度
甲状腺球蛋白 聚集体	5.72	407	2783	0.92	-
甲状腺球蛋白	6.30	2643	2656	1.08	1.26
BSA 二聚体	7.89	477	4558	1.00	3.33
BSA	8.71	3668	11546	1.06	2.08
核糖核酸酶 A	10.03	3865	17198	1.08	4.17
尿嘧啶	11.89	1628	33656	0.94	6.56

图 2. Zenix™ SEC-300 4.6 x 300 mm 的标准质量控制测试

流动相：150 mM 磷酸钠缓冲液, pH 7.0

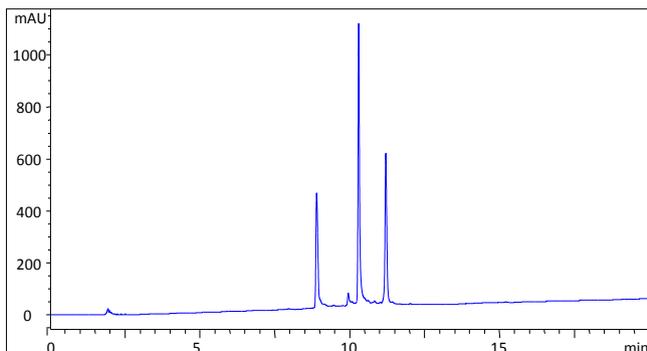
流速：0.35 mL/min

检测波长：UV 214 nm

样品：1) 甲状腺球蛋白聚集体；2) 甲状腺球蛋白；3) BSA 二聚体；4) BSA
5) 核糖核酸酶 A；6) 尿嘧啶

进样量：3 μ L 样品(每种蛋白质 1 mg/mL)

Antibodix™ WCX NP5 4.6 x 250 mm 的质量控制测试



化合物名称	保留时间 (min)	峰面积	塔板数	拖尾因子	分离度
抑肽酶	8.91	1820	87584	1.30	-
溶菌酶	10.29	3811	234544	1.34	13.43
核糖核酸酶 A	11.20	2277	192966	1.12	9.72

图 3. Antibodix™ WCX NP5 4.6 x 250 mm 的标准质量控制测试

流动相 A: 10 mM 磷酸钠缓冲液, pH 6.0 B: A + 1.0 M 氯化钠

梯度条件: 10-100% B, 25 分钟

流速: 0.8 mL/min

检测波长: UV 214 nm

样品: 1) 抑肽酶; 2) 溶菌酶; 3) 核糖核酸酶 A

进样量: 5 μ L 样品(每种蛋白质 1 mg/mL)

Zenix™ SEC-300 4.6 x 300 mm

单克隆抗体分析应用篇

Zenix™ SEC-300 4.6 x 300 mm 柱上分析完整 MAb

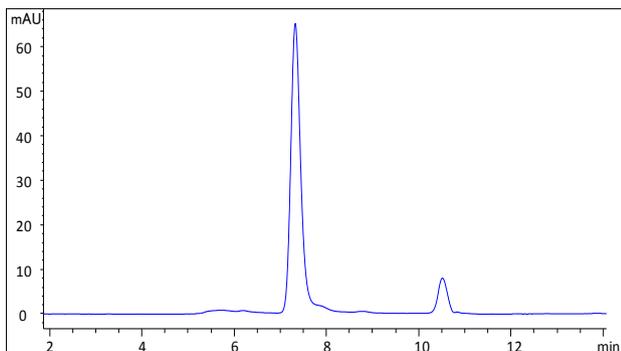


图 4. Zenix™ SEC-300, 4.6 x 300 mm 柱上分析 MAb 321

流动相: 150 mM 磷酸钠缓冲液, pH 7.0; 流速: 0.35 mL/min

检测波长: UV 280 nm; 进样量: 2 μg 完整 MAb 321

Zenix™ SEC-300 4.6 x 300 mm 柱上分析降解后的 MAb

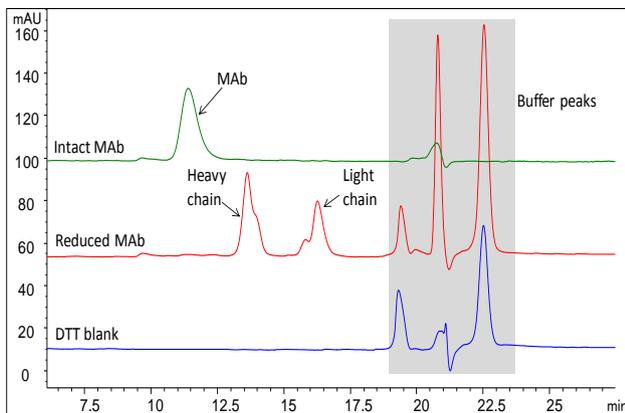


图 5. 降解后的 MAb 321 重链和轻链在 Zenix™ SEC-300, 4.6 x 300 mm 柱上的分离

流动相: 0.1%TFA, 0.1%甲酸, 20%乙腈; 流速: 0.2 mL/min

检测波长: UV 280 nm; 进样量: 5 μg 完整 MAb 321; 20 μg DTT 降解后的 MAb 321

降解后的 MAb 重链和轻链的分离

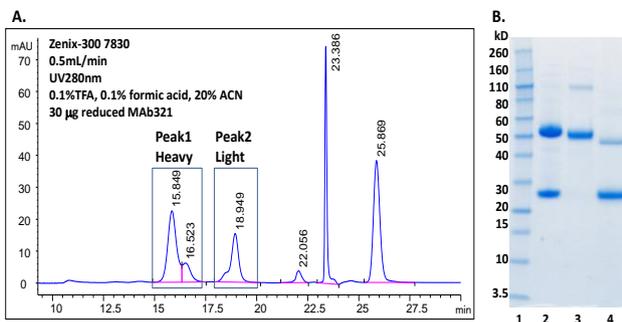


图 6. A 图是降解后的 MAb 321 在 Zenix™ SEC-300, 7.8 x 300 mm 柱上的分离图谱
峰 1 和峰 2 分别收集后经过真空快速干燥, 干燥后的样品溶解在 Invitrogen 生产的 LDS 样品缓冲液中

B 图是降解后的 MAb 样品在 4-12% Bis-Tris 凝胶上的电泳图

第一列: 标记蛋白; 第二列: 降解后的 MAb 混合样; 第三列: 峰 1/重链; 第四列: 峰 2/轻链

TFA 浓度对 Zenix™ SEC-300 4.6 x 300 mm 柱分离降解后 MAb 的影响

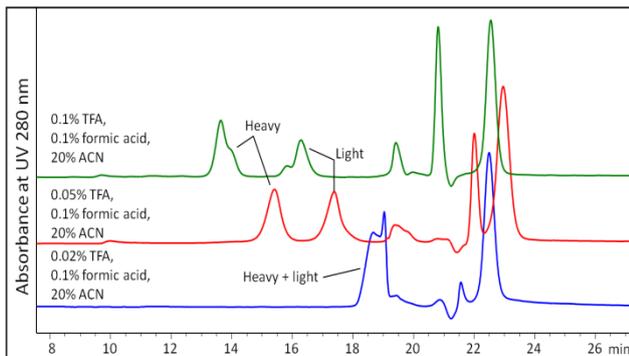


图 7. 不同 TFA 浓度对 Zenix™ SEC-300, 4.6 x 300 mm 色谱柱分离重链和轻链的影响

流速: 0.2 mL/min; 检测波长: UV 280 nm; 进样量: 20 µg 降解后的 MAb 321

当 0.05%TFA 时, 重链和轻链达到基线分离; 然而, 当 0.02%TFA 时, 重链和轻链没有分开。

TFA 和甲酸浓度对 Zenix™ SEC-300 4.6 x 300 mm 柱分离降解后的 MAb 的影响

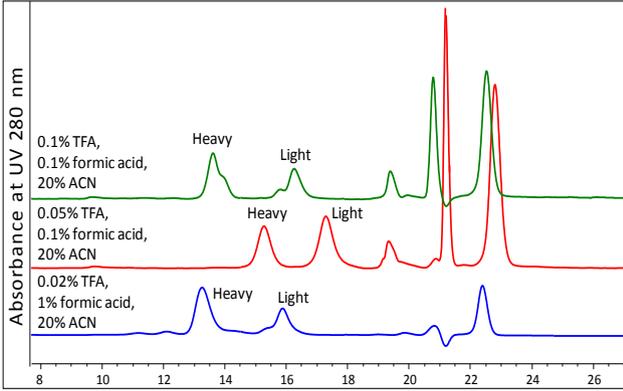


图 8. 不同 TFA 和甲酸浓度对 Zenix™ SEC-300, 4.6 x 300 mm 色谱柱分离重链和轻链的影响
流速：0.2 mL/min；检测波长：UV 280 nm
色谱图显示了 20 µg 降解后的 MAb 在图示不同流动相下分离情况的重叠图。

Zenix™ SEC-300 4.6 x 300 mm 柱上分离 Fab/Fc

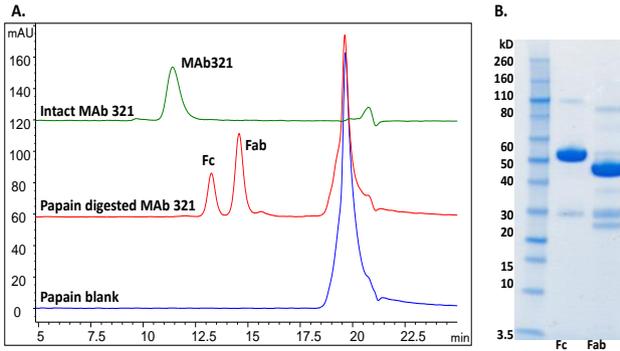


图 9. A 图是木瓜蛋白酶酶切后的 MAb 321 (3.5h 反应时间) - Fab/Fc 在 Zenix™ SEC-300, 4.6 x 300 mm 上的分离图谱

流动相：0.1%TFA，0.1%甲酸，20%乙腈；流速：0.2 mL/min

检测波长：UV 280 nm；进样量：5 µg 完整 MAb 321；5 µg 木瓜蛋白酶酶切后的 MAb 321

B 图是 Fab 和 Fc 片段在 4-12% Bis-Tris 凝胶上的电泳图

Fab 和 Fc 片段是采用 Zenix™ SEC-300, 7.8 x 300 mm 色谱柱，以 0.5 mL/min 流速分离后收集，色谱图未显示。

TFA 和甲酸浓度对分离 Fab/Fc 的影响

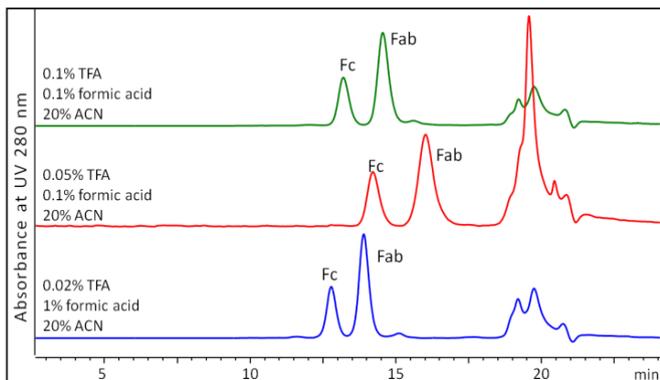


图 10. 不同浓度 TFA 和甲酸对 Zenix™ SEC-300, 4.6 x 300 mm 色谱柱分离 Fab/ Fc 的影响

流速：0.2 mL/min；检测波长：UV 280 nm

色谱图显示了 5 μg 木瓜蛋白酶酶切后的 MAb 321 在图示不同流动相下分离情况的重叠图。

使用不同流动相分离 Fab/Fc

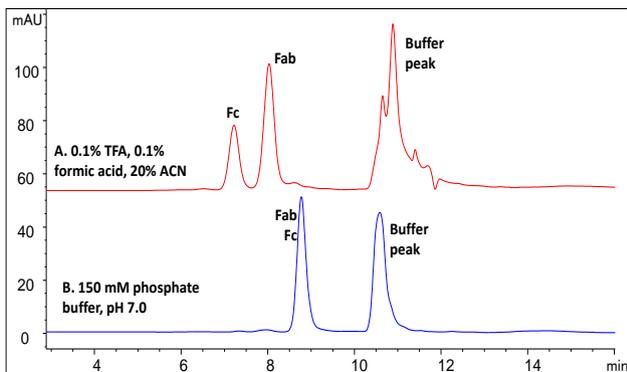


图 11. 有机流动相与盐溶液流动相的对比：Zenix™ SEC-300, 4.6 x 300 mm 柱分离 Fab/Fc

流速：0.35 mL/min；检测波长：UV 280 nm；进样量：5 μg 木瓜蛋白酶酶切后的 MAb 321 (两者均是)

谱图 A 在 0.1%TFA, 0.1%甲酸, 20%乙腈条件下测得；谱图 B 在 150 mM 磷酸钠缓冲液, pH 7.0 条件下测得。

乙腈浓度对 Zenix™ SEC-300 4.6 x 300 mm 柱上分离 Fab/Fc 的影响

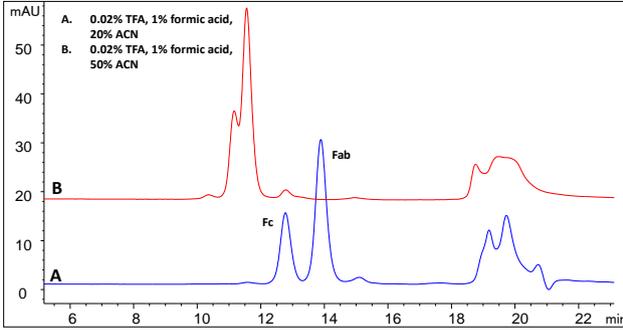


图 12. 乙腈浓度对 Zenix™ SEC-300 4.6 x 300 mm 柱上分离 Fab/Fc 的影响
 流速：0.2 mL/min；进样量：5 μ g 木瓜蛋白酶酶切后的 MAb 321（两者均是）
 谱图 A 是在 20%乙腈条件下测得；谱图 B 是 50%乙腈条件下测得。

Zenix™ SEC-300 4.6 x 300 mm 柱上样品载量测试图谱

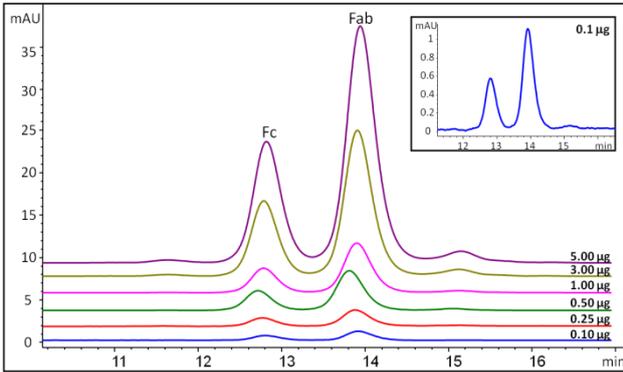


图 13. 木瓜蛋白酶酶切 MAb 不同进样量（从 0.1 μ g 到 5 μ g）在 Zenix™ SEC-300, 4.6 x 300 mm 色谱柱上分离情况重叠图

流动相：0.02%TFA，1%甲酸，20%乙腈；流速：0.2 mL/min；检测波长：UV 280 nm
 嵌入的色谱图是 0.1 μ g 载量下的分离图谱，此时，Fab 和 Fc 维持基线分离。

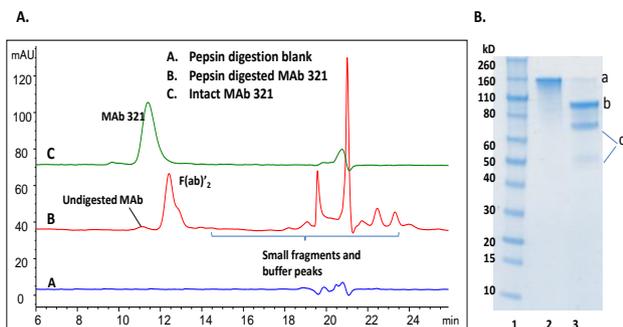
Zenix™ SEC-300 4.6 x 300 mm 柱上分离 MAb 321-F(ab')₂

图 14. A 图 Zenix™ SEC-300, 4.6 x 300 mm 分离胃蛋白酶切 MAb 321-F(ab')₂

流动相：0.02%TFA, 1%甲酸, 20%乙腈； 流速：0.2 mL/min； 检测波长：UV 280 nm

进样量：5 μg 完整 MAb 321；15 μg 胃蛋白酶酶切后的 MAb 321

B 图是 5 μg 进样量下 4-12% Bis-Tris 凝胶上的电泳图

第一列：标记蛋白； 第二列：完整 MAb 321； 第三列：胃蛋白酶酶切后的 MAb 321

条带 a：完整 MAb 321； 条带 b：F(ab')₂； 条带 c：酶切后的小碎片

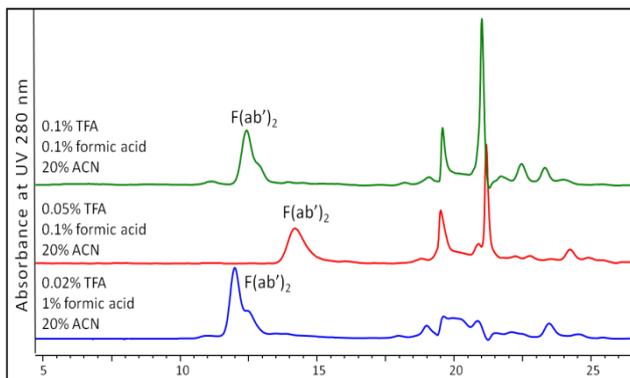
TFA 和甲酸对分离 F(ab')₂ 的影响

图 15. 在 20%乙腈条件下，不同浓度的 TFA 和甲酸对 Zenix™ SEC-300, 4.6 x 300 mm 柱分离

F(ab')₂ 的影响

流速：0.2 mL/min； 检测波长：UV 280 nm；

色谱图显示了 15 μg 胃蛋白酶酶切后的 MAb 321 在图示不同流动相下分离情况的重叠图。

Antibodix™ WCX NP5 4.6 x 250 mm

单克隆抗体及片段分离应用篇

Antibodix™ WCX NP5 柱上氯化锂盐溶液梯度洗脱分离 MAb321

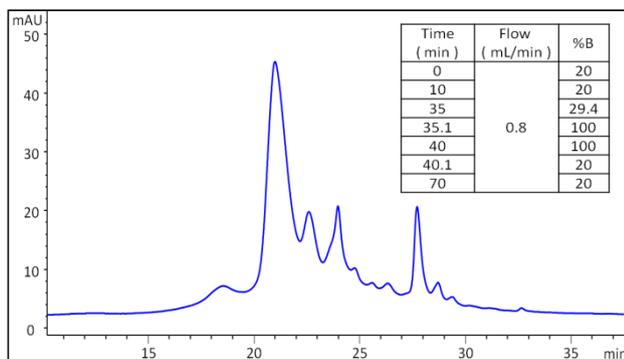


图 16. Antibodix™ WCX NP5 4.6 x 250 mm 柱上氯化锂盐溶液梯度洗脱分离单克隆抗体

流动相 A: 20 mM 醋酸钠盐缓冲液, pH 5.15; B: A + 1M 氯化锂

柱温: 30 °C; 流速: 0.8 mL/min; 检测波长: UV 280 nm

样品: 5 mg/mL MAb; 进样量: 5 μ L

Antibodix™ WCX NP5 柱上氯化钠盐溶液、pH 梯度洗脱分离 MAb321

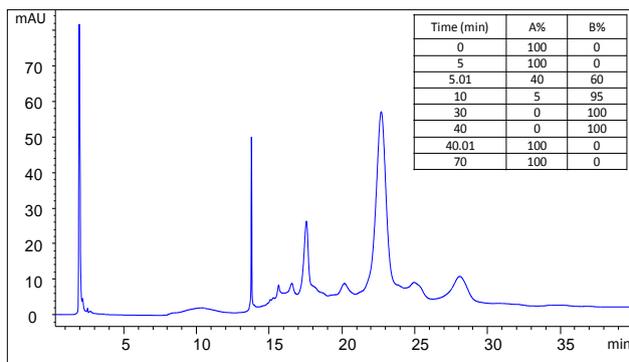


图 17. Antibodix™ WCX NP5 4.6 x 250 mm 柱上氯化钠盐溶液、pH 梯度洗脱分离单克隆抗体

流动相 A: 20 mM 硫酸钠盐缓冲液, pH 5; B: A + 10m M 氯化钠, pH 7.5

柱温: 30 °C; 流速: 0.8 mL/min; 检测波长: UV 280 nm

样品: 5 mg/mL MAb; 进样量: 20 μ L

Antibodix™ WCX NP5 柱上分离 MAb321 的稳定性测试

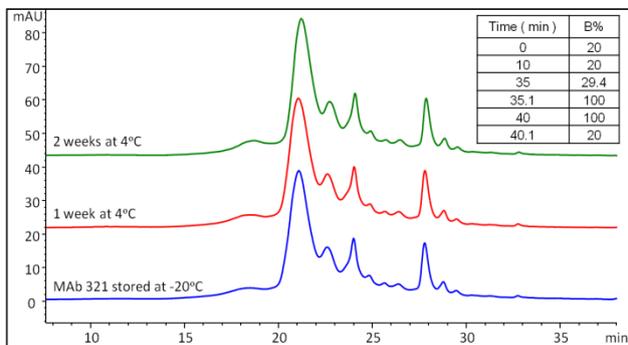


图 18. Antibodix™ WCX NP5 4.6 x 250 mm 色谱柱上分离单克隆抗体的稳定性测试

流动相 A: 20 mM 醋酸钠盐缓冲液, pH 5.15; B: A + 1 M 氯化锂

样品: 5.0 mg/mL MAb 溶于复合 Tris 缓冲液中 (样品从 -20 °C 新解冻, 分别已在 4 °C 条件下放置一周和两周)
柱温: 30 °C; 流速: 0.8 mL/min; 检测波长: UV 280 nm; 进样量: 20 μL

Antibodix™ WCX NP5 柱上分离木瓜蛋白酶酶切 MAb

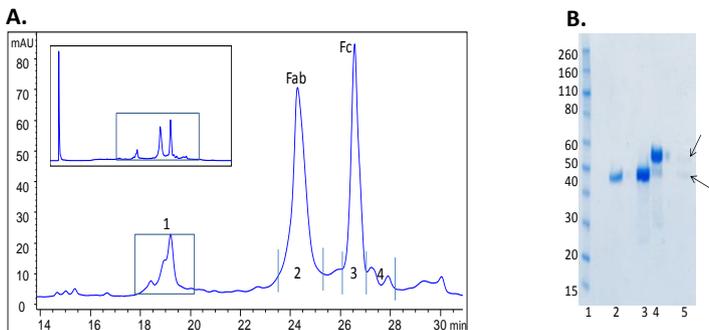


图 19. A 图是木瓜蛋白酶酶切后的 MAb 在 Antibodix™ WCX NP5 4.6 x 250 mm 上的分离图谱

流动相 A: 20 mM 醋酸 + 50 mM 氯化钠, pH 3.5; B: 20 mM 琥珀酸钠 + 50 mM 氯化钠, pH 6.0

梯度条件: 5 min 30%B, 0.8 mL/min; 25 min 85%-100%B, 0.65 mL/min

检测波长: UV 280 nm; 进样量: 100 μg 酶切后的 MAb

木瓜蛋白酶酶切反应: 1 mg/mL MAb (单抗和蛋白酶的比例为 100:1) 在 2 mM EDTA, 5 mM 半胱氨酸和 100 mM Tris-HCl 缓冲液 (pH 7.6) 中, 37 °C 的条件下反应 3.5 小时。

B 图是 Fab 和 Fc 片段在 4-12% Bis-Tris 凝胶上的电泳图

第一列: 标记; 第二列: 峰 1/Fab; 第三列: 峰 2/Fab; 第四列: 峰 3/Fc; 第五列: 峰 4/Fc

不同进样量 Fab/Fc 在 Antibodix™ WCX NP5 柱上的分离

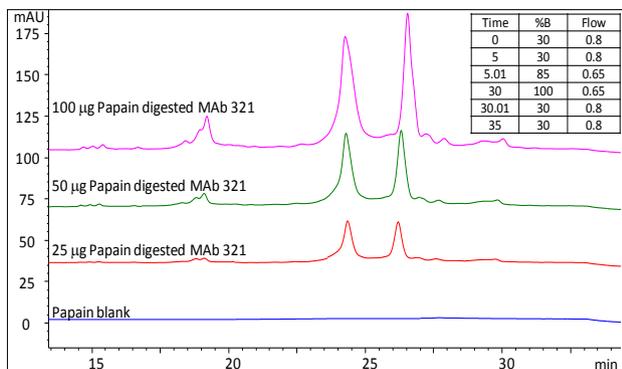


图 20. 木瓜蛋白酶酶切后的 MAb 在 Antibodix™ WCX NP5 4.6 x 250 mm 柱上的分离图谱

流动相 A: 20 mM 醋酸 + 50 mM 氯化钠, pH 3.5 ; B: 20 mM 琥珀酸钠 + 50 mM 氯化钠, pH 6.0

木瓜蛋白酶酶切反应: 1 mg/mL MAb (单抗和蛋白酶的比例为 100:1) 在 2 mM EDTA, 5 mM 半胱氨酸和 100 mM Tris-HCl 缓冲液 (pH 7.6) 中, 37 °C 的条件下反应 3.5 小时。

检测波长: UV 280 nm

Antibodix™ WCX NP5 柱上分离 Fab/Fc

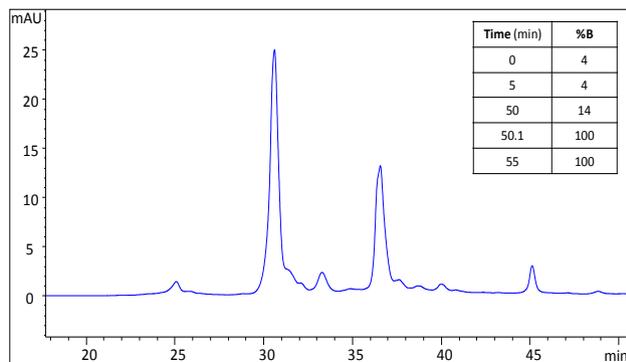


图 21. 木瓜蛋白酶酶切后的 MAb 在 Antibodix™ WCX NP5 4.6 x 250 mm 柱上的分离图谱

流动相 A: 20 mM 磷酸缓冲液, pH 5.5 ; B: A + 1 M 氯化钠

流速: 0.8 mL/min ; 检测波长: UV 280 nm ; 进样量: 25µg 酶切后的 MAb

木瓜蛋白酶酶切反应: 1 mg/mL MAb (单抗和蛋白酶的比例为 100:1) 在 2 mM EDTA, 5 mM 半胱氨酸和 100 mM Tris-HCl 缓冲液 (pH 7.6) 中, 37 °C 的条件下反应 3.5 小时。

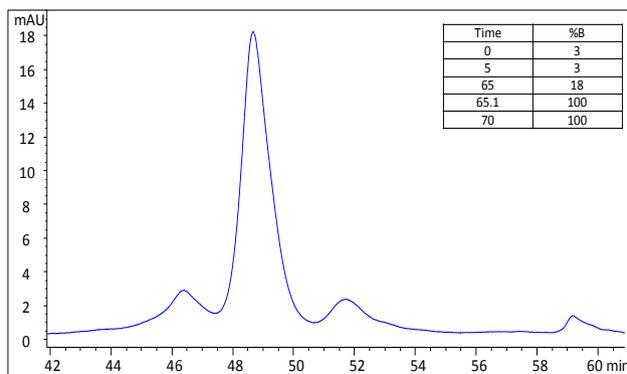
Antibodix™ WCX NP5 柱上分离 F(ab')₂

图 22. 胃蛋白酶酶切后的 MAb 在 Antibodix™ WCX NP5 4.6 x 250 mm 柱上的分离图谱

流动相 A: 20 mM 磷酸缓冲液, pH 5.5 ; B: A + 1 M 氯化钠

流速: 0.8 mL/min ; 检测波长: UV 280 nm ; 进样量: 50 μg 酶切后的 MAb

胃蛋白酶酶切反应: 1 mg/mL MAb (单抗和蛋白酶的比例为 40:1) 在 2 mM 醋酸钠 (pH 4.0) , 37 °C 的条件下反应 15.5 小时, 以 25 μL 2 M Tris 终止反应。

Zenix™ SEC-300 4.6 x 300 mm 的色谱柱安装及操作规程

1. 所有样品和流动相都必须在使用前用 0.45 μm 或 0.2 μm 滤膜过滤；
2. 请按照柱上的标记方向将色谱柱接入到 HPLC 系统中；
3. 新色谱柱的运输溶剂是 150mM 磷酸钠缓冲液 (pH 7.0)，使用前推荐用 10-20 倍柱体积的 150 mM 磷酸钠缓冲液 (pH 7.0) 进行冲洗以活化色谱柱。然后用合适的流动相平衡色谱柱直至检测器基线稳定为止；
4. 在合适的流速及合适的进样量下运行色谱柱；
5. 当色谱柱长时间不用时，请将其保存在添加 0.02%叠氮化钠的 50 mM 磷酸钠缓冲液 (pH 7.0) 中。

注意：流动相兼容性

Zenix™ SEC 色谱柱能与大多数水相缓冲液兼容，如磷酸盐、醋酸盐、Tris 等；能和水与有机溶剂的混合物兼容，如甲醇、乙醇、异丙醇、乙腈、四氢呋喃等。当从水相缓冲液切换成有机溶剂时，先用至少 30 倍柱体积的纯水冲洗色谱柱，然后用 20 倍柱体积的乙醇冲洗；当从有机溶剂切换成水相缓冲液时，先用至少 30 倍柱体积的乙醇冲洗色谱柱，然后用 20 倍柱体积的纯水冲洗，最后则是 20 倍柱体积的水相缓冲液。清洗后，推荐将色谱柱储存在水相缓冲液中 48 小时使其完全平衡以达到最佳性能。

Antibodix™ WCX NP5 4.6 x 250 mm 的色谱柱安装及操作规程

1. 所有样品和流动相都必须在使用前用 0.45 μm 或 0.2 μm 滤膜过滤；
2. 请按照柱上的标记方向将色谱柱接入到 HPLC 系统中；
3. 新色谱柱的运输溶剂是 20 mM 磷酸钠缓冲液 (pH 6.0)，使用前推荐用 10-20 倍柱体积的 20 mM 磷酸钠缓冲液 (pH 6.0) 进行冲洗以活化色谱柱。然后用合适的流动相平衡色谱柱直至检测器基线稳定为止；
4. 在合适的流速及合适的进样量下运行色谱柱；
5. 当色谱柱长时间不用时，请将其保存在 20 mM 磷酸钠缓冲液 (pH 6.0) 中。

注意：流动相兼容性

Antibodix™色谱柱与水溶液、水与乙腈或甲醇等有机溶剂的混合物相容。典型的流动相中含有磷酸、盐酸、醋酸或 Tris 的钠盐或钾盐。流动相需采用在线脱气机或在使用前进行预脱气，一个简单的脱气方法是将流动相在由水泵形成的真空中超声 5 分钟。Antibodix™色谱柱与非离子及两性离子洗涤剂相容，但是与阳离子洗涤剂不相容。

在使用离子交换色谱时需要考虑：每一种蛋白质的表面净电荷与流动相 pH 值都有着特定的关系。当流动相 pH 值与蛋白质等电点 pI 相等时，蛋白质表面净电荷为零，与带电固定相之间不发生相互作用；当流动相 pH 低于 pI 时，蛋白质会吸附到带负电的固定相（阳离子交换相）上。当使用阳离子交换相时，推荐采用低于蛋白质等电点 0.5-1 个单位的缓冲液作为起始缓冲液，并以较高 pH 或低盐浓度的缓冲液作为洗脱溶剂。

Zenix™ SEC-300 的故障排查

建议选择最优的进样量和运行条件以达到 Zenix™ SEC-300 色谱柱的最佳使用效果。下面信息是为您的实验故障排查提供的参考。

高反压

反压突然增加预示着色谱柱入口端筛板有可能发生了堵塞，在这种情况下我们建议用适宜的流动相反冲柱子。为了预防这种堵塞，可通过过滤去除样品和流动相中残留的颗粒。

低分离度

1. 色谱柱过载，减少进样量。
2. 确保样品分子量范围在色谱柱的分离范围内。孔径为 300Å 的色谱柱适用分离蛋白分子量范围为 5,000 Da ~1,250,000 Da。
3. 采用串联色谱柱的方式分离分子量相近的蛋白质。

峰拖尾

产生本状况说明样品和色谱柱基质之间发生了次级疏水作用。可通过增强流动相离子强度或添加有机溶剂（添加低比例有机溶剂不会造成蛋白质构象改变）来减小这种作用。

含表面活性剂的样品

表面活性剂与色谱柱基质之间会发生不可逆结合，从而改变基质表面性质。这将会导致色谱柱性能改变，如保留时间漂移、流动相中无去污剂的蛋白质峰形改变。色谱柱应专门用于同一表面活性剂的应用。

色谱柱清洗及再生

Zenix™ SEC-300 色谱柱被强吸附性样品污染后，会导致色谱柱性能下降。通常表现为柱压升高及峰变宽，此时需要按照下面的步骤清洗色谱柱：

1. 将色谱柱与检测器断开；
2. 反方向冲洗色谱柱；
3. 在小于推荐最大流速的 50% 下冲洗色谱柱，并监测柱压变化；
4. 通常清洗 10-15 倍柱体积即足够，在切换溶剂时用 3-5 倍柱体积的纯水过渡。

我们推荐以下清洗方案：

1. 用低 pH 值的高浓度中性盐溶液（如 0.5 M 硫酸钠溶液, pH 3.0）洗去碱性蛋白。
2. 用含有机溶剂（如 10%-20% 的甲醇、乙腈、乙醇等）的缓冲液（如 50 mM 磷酸盐缓冲液, pH 7.0）洗去疏水蛋白。
3. 如果以上方法未能达到清洗效果, 请使用 6 M 尿素（使用前需过滤）。
 - a. 2cv 6 M 尿素以 0.5 mL/min 流速过柱；
 - b. 20cv 纯水以 0.5 mL/min 流速过柱；
 - c. 7-10cv 流动相以 1 mL/min 流速过柱；

色谱柱的保护

除了需要过滤样品和流动相外，保护色谱柱的最佳方法是在色谱柱前连接保护柱或过滤预柱。大多数情况下过滤预柱可以去除样品或流动相中的残留颗粒，或者从 HPLC 系统，如泵或进样器垫圈上脱离下来的颗粒。不过还是强烈建议使用保护柱，因为它可更有效地去除样品、流动相或来自 HPLC 系统的强吸附性样品组分和残留颗粒。

Antibodix™ WCX NP5 的故障排查

建议选择最优的进样量和运行条件以达到 Antibodix™ WCX NP5 和 Proteomix® 色谱柱的最佳使用效果。下面信息是为您的实验故障排查提供的参考。

高反压

反压突然增加预示着色谱柱入口端筛板有可能发生了堵塞，在这种情况下我们建议用适宜的流动相反冲柱子。为了预防这种堵塞，可通过过滤去除样品和流动相中残留的颗粒。

低分离度

1. 色谱柱过载，减少进样量。
2. 依次尝试不同的流动相来优化运行条件，改变缓冲液，浓度，pH 值等。

峰拖尾

产生本状况说明应改变起始流动相，尝试不同的 pH 值和盐浓度来改变起始状态以达到提高蛋白结合色谱柱的能力。

色谱柱清洗及再生

当 Antibodix™ WCX 和 Proteomix® SCX 色谱柱被强吸附性样品污染后，会导致色谱柱性能下降。通常表现为柱压升高及峰变宽，此时需要按照下面的步骤清洗色谱柱：

1. 将色谱柱与检测器断开；
2. 反方向冲洗色谱柱；
3. 在小于推荐最大流速的 50% 下冲洗色谱柱，并监测柱压变化；
4. 通常清洗 10-15 倍柱体积即足够，在切换溶剂时用 3-5 倍柱体积的纯水过渡。推荐的清洗溶液通常为含 1.0M 氯化钠 的 50 mM 磷酸盐缓冲液 (pH 10)。

注意：离子交换色谱柱上的分离对流动相的 pH 变化非常敏感。为了保证分离的高度重现性，必须确保不同批次的相同缓冲液 pH 值一致，每次配制缓冲液时都必须正确校准 pH 计。

色谱柱的保护

除了需要过滤样品和流动相外，保护色谱柱的最佳方法是在色谱柱前连接保护柱或过滤预柱。大多数情况下过滤预柱可以去除样品或流动相中的残留颗粒，或者从 HPLC 系统，如泵或进样器垫圈上脱离下来的颗粒。不过还是强烈建议使用保护柱，因为它可更有效地去除样品、流动相或来自 HPLC 系统的强吸附性样品组分和残留颗粒。

订购信息

抗体分析包(P/N MABKIT-0000) 包括：

Zenix™ SEC-300

型号	内径 x 长度 (mm)	粒径(Å)
213300-4630	4.6 x 300	300

Antibodix™ WCX NP5

型号	内径 x 长度 (mm)	柱材料
602NP5-4625	4.6 x 250	不锈钢/ PEEK

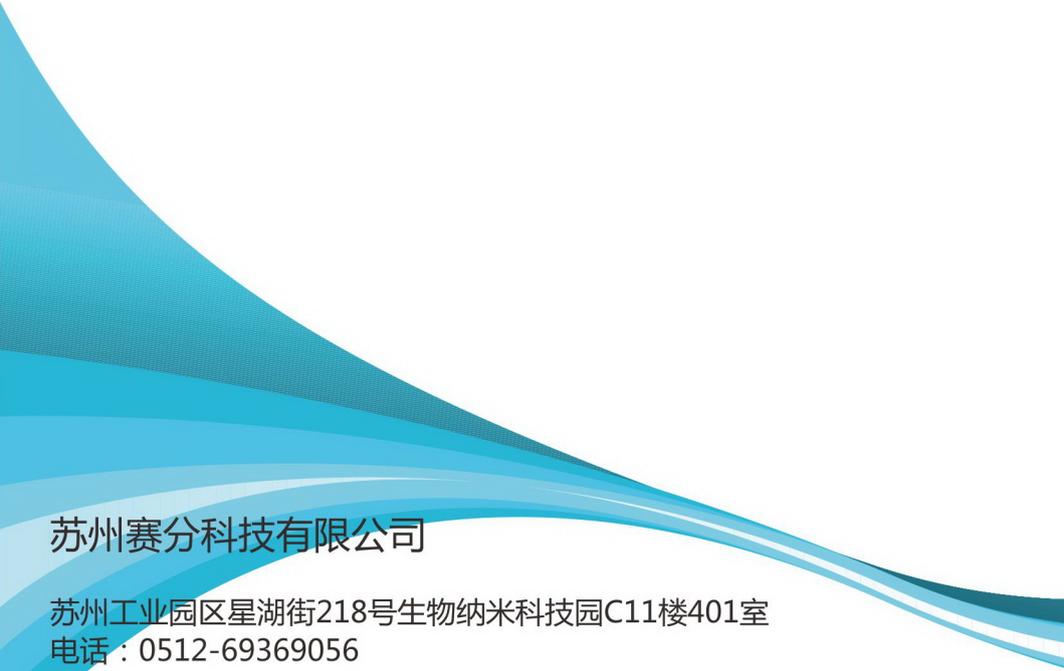
其它可提供的规格：

Zenix™ SEC-300

型号	内径 x 长度 (mm)	粒径(Å)
213300-2130	2.1 x 300	300
213300-4630	4.6 x 300	300
213300-7830	7.8 x 300	300
213300-10030	10.0 x 300	300
213300-21230	21.2 x 300	300

Antibodix™ WCX NP5

型号	内径 x 长度 (mm)	柱材料
602NP5-4605	4.6 x 50 (保护柱)	不锈钢 / PEEK
602NP5-4625	4.6 x 250	不锈钢 / PEEK



苏州赛分科技有限公司

苏州工业园区星湖街218号生物纳米科技园C11楼401室

电话：0512-69369056

传真：0512-69369025

邮政编码：215123

www.sepax-tech.com.cn

Sepax Technologies, Inc.

5 Innovation Way Newark,
Delaware, USA

Tel: (302) 366-1101

Fax: (302) 366-1151

Toll free: 1-877-SEPAX-US

www.sepax-tech.com