



ProAqa 亲和色谱柱

色谱柱信息

ProAqa 亲和色谱柱是设计用于 HPLC 和 FPLC 系统的高流速高压色谱柱。其固定相采用平均粒径为 20 μm 的多孔聚苯乙烯二乙烯基苯 (PS/DVB) 为基质，表面键合一层亲水涂层，涂层上以化学键合的方式连接了重组蛋白 A，可结合除 IgG3 之外的含 Fc 片段的免疫球蛋白。该色谱柱可用于抗体和融合蛋白 (可特异性结合重组蛋白 A) 的定量和小规模纯化。

动态结合载量

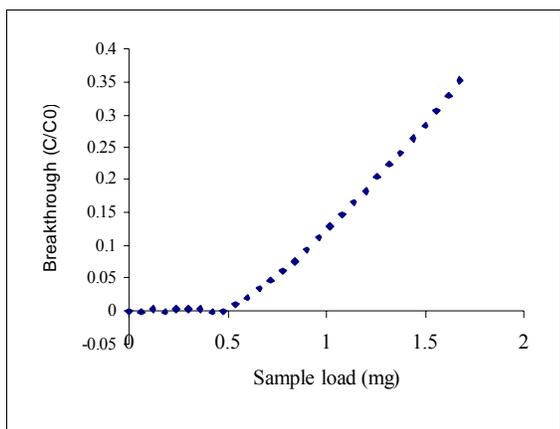


Figure 1. 抗体样品在 ProAqa 2.1×30 mm 柱上的穿透曲线 (Mab 321 from Sepax Technologies, Inc.)。流动相: 0.1 M 磷酸钠缓冲溶液 (pH 7.4), 0.15 M NaCl, 0.15 mg/mL Mab 321; 流速: 2.0 mL/min; 检测波长: 280 nm

技术参数

项目	详细信息
基质	交联聚苯乙烯二乙烯基苯
固定配体	重组蛋白 A
动态结合载量	9.3 mg/mL (见 Fig. 1)
运输溶液	含 0.02% 叠氮化钠的 0.1 M 磷酸钠缓冲液 (pH 7.0)
压力限	180 bar
最大操作流速	5000 cm/hour
pH 范围	2-10
离子强度	0-5 M, 所有常见盐
缓冲液	常见缓冲液, 包括 4 M 尿素, 3 M 盐酸胍, 乙二醇以及一些变性剂
溶剂	水, 0-90%乙醇, 乙腈以及一些常见有机溶剂。 注: 不能含有可降解和破坏蛋白质 A

	的成分。
操作温度	2-40 °C, 不可冷冻

色谱柱安装和操作

在运输过程中和没有使用时, 色谱柱两端通常用堵头密封, 当将色谱柱接入色谱仪器系统时, 需先移去两端的堵头。在接入色谱柱时, 需保证流动相的流向与柱上所标方向一致。除非出于特殊考虑, 例如将色谱柱反接冲洗以清除堵在色谱柱入口端的脏污, 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, 都有可能造成溶液的泄漏。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 或 FPLC 系统:

(a) 第一次使用的管线, 请依次将管线接头和密封卡套装在外径 1/16" 的管线上。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。色谱柱上的接口是一个 10-32 凹式接口。不可使用需要扳手拧紧的接头。过紧会损毁色谱柱螺纹。

(c) 对色谱柱的另一端采用上述方法进行操作。

在你第一次使用色谱柱时, 需用 5-10 倍柱体积的洗脱缓冲液冲洗色谱柱以去除运输溶剂。然后用 10-15 倍柱体积的起始/淋洗缓冲液平衡色谱柱。必须使用预柱滤片 (0.5 μm) 来减少色谱柱的污染 (Part No. 102000-P356, 102001-P356)。

空白运行

必须使用高纯度的缓冲盐, 并在使用前过滤 (0.22 or 0.45 μm) 所有的缓冲溶液。

上样前, 必须执行空白运行以监测本底。为了减小结合和洗脱缓冲液之间变化产生的基线变化, 建议使用:

(a) 50 mM 磷酸盐 pH 7, 0.15 M NaCl 作为起始/淋洗缓冲液, 以及

(b) 0.1% (12 mM) HCl, 0.15 M NaCl 作为洗脱缓冲液。

以上是最有效的淋洗/洗脱系统, 产生的基线波动最小。如果要求洗脱样品保留生物活性, 不建议使用盐酸 (HCl), 因为盐酸会使抗体变性。

起始/淋洗缓冲液

(a) 绝大多数情况下, 使用简单的缓冲盐, 如 10 ~ 50 mM 磷酸盐或 Tris。

(b) 起始/淋洗缓冲液的 pH 范围可在 6.0 到 9.0 之间，但需注意当 pH 较高的时候结合力较强。

(c) 加入一些盐 (0.1 到 0.2 M 的 NaCl 或 KCl) 以防止因蛋白/蛋白相互作用引起的非特异性吸附。

洗脱条件

如果色谱柱作为分析用途，洗脱缓冲液为含 25-100 mM 磷酸盐，0-150 mM 氯化钠，pH 为 2.0-3.5 的溶液。其它可能会用到的洗脱缓冲盐组分包括盐酸、甘氨酸、柠檬酸、乙酸或其它可调低 pH 的组分。

如果色谱柱作为制备用途，可采用以下条件。

(a) 对于绝大多数抗体的洗脱，可将 pH 降至 2-3，常用缓冲体系包括磷酸盐、乙酸盐、盐酸和甘氨酸。根据缓冲体系的不同，缓冲盐浓度为 6-100 mM 或 2-20% (v/v)。

(b) 可用含 0.15 M NaCl 的 6-12 mM HCl 溶液作为洗脱液，该流动相下基线波动最小。

(c) 由于抗体会因其种类和所属子类的不同而表现出不同的结合/洗脱行为，最佳的洗脱条件可依据具体情况进行优化。

样品的准备和上样

为了确保样品的有效结合和避免色谱柱筛板被污染，一般按照以下方式准备样品：

(a) 将样品溶解到或溶剂替换为起始/淋洗缓冲液，这对于大体积样品尤为重要(超过 25% 的柱体积)。

(b) 进样前离心或过滤样品 (0.22 或 0.45 μm)。

(c) 对血清样品进行热处理 (置于 56 $^{\circ}\text{C}$ 下 30 分钟) 以去除会堵塞色谱柱的纤维蛋白原。

(d) 对样品进行去脂处理，因为脂类会对色谱柱产生不可逆的污染。

(e) 所有样品使用前应该用 0.45 μm 或 0.2 μm 滤膜过滤。

为了确保样品的有效结合和避免填料与色谱柱被污染，需要对样品载量进行测定：

(a) ProAqa 动态结合载量见“技术参数”。

(b) 其它抗体的结合载量取决于抗体来源与所属子类以及所使用的配体。但是一般会低于“技术参数”所示 IgG 的载量。

(c) 当作为分析用途时，可通过标准曲线测定最小和最大上样量。

色谱柱保护

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预柱滤片。预柱滤片可以去除样

品或流动相中的残留颗粒，或者从 HPLC 或 FPLC 系统，如泵或进样器垫圈上脱离下来的颗粒杂质。

色谱柱的清洗和再生

ProAqa 色谱柱通常非常稳定。如果您重复使用色谱柱，请监测色谱柱压力，并运行一次标样测试。如果压力上升或样品回收率发生变化，则需通过清洗来去除色谱柱筛板和填料上的残留物质。可用作 ProAqa 色谱柱的清洗溶液有 2-6 M 盐酸胍，1 M 乙酸，20%乙醇，1 M 乙酸加 20%乙醇，20%异丙醇，pH 1.5-2.0 的洗脱缓冲液和含 1-2 M 氯化钠的洗脱缓冲液。

清洗时，进样 2 或 3 针一个柱床体积的清洗溶液，然后进样 2 或 3 针平衡缓冲溶液，如 2 \times 100 μL 清洗溶液，2 \times 100 μL 平衡缓冲液。另外一个方法是，运行多倍柱体积的清洗溶液。

储存

如果长时间不用，请将 ProAqa 色谱柱置于以下条件：

(a) 含抑菌剂 (如 0.02%叠氮化钠) 的中性 pH 溶液。

(b) 置于冰箱中，但不可冰冻!

(c) 为了防止柱床干涸，请用堵头塞紧色谱柱的两端。干涸会导致柱效下降。

安全注意事项

ProAqa 色谱柱通常用于高压。过松的连接会造成缓冲液和注射样品的漏液。在漏液的情况下，应戴上合适的手套来处理漏液的色谱柱。当打开色谱柱时，应采取合适的防护措施以防止聚合物微小颗粒吸入人体。

支持

如需服务和技术支持，请致电免费热线 400-636-8880。

订购信息

产品描述	尺寸 (ID \times Length) (mm)	柱体积 (mL)	订货号
ProAqa (不锈钢)	2.1 \times 30	0.1	512001-2103
ProAqa (PEEK)	4.6 \times 50	0.8	512001P-4605
	4.6 \times 100	1.7	512001P-4610
	10 \times 100	7.9	512001P-10010