

Proteomix HIC 色谱柱使用手册

色谱柱信息

Proteomix HIC 色谱柱是专为蛋白、寡核苷酸和多肽的高效分离而设计，具有高分辨率、高柱效的特点。利用专利表面修饰技术，Proteomix HIC 树脂由无孔聚苯乙烯-二乙烯基苯（PS/DVB）的球状颗粒制成，具有狭窄的粒径分布。如图1所示，（PS/DVB）球状颗粒用烷基或芳基修饰，提供与分析物间的疏水作用。Proteomix HIC 树脂具有高密度和高稳定性，与HIC硅胶基质相比，Proteomix HIC 树脂在生物大分子分离方面具有宽泛的pH值使用范围和热稳定性的优势。无孔的窄颗粒分布填料为高分辨率的蛋白质分离提供了特殊的选择性，如 mAb(单克隆抗体)、ADC(抗体药物结合物)和相关蛋白质片段，DNA和寡核苷酸相关蛋白片段。

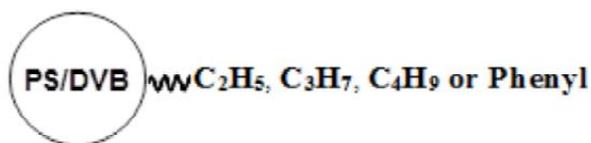


图 1. Proteomix HIC 树脂表面特征

稳定性和性能

Proteomix HIC 色谱柱是以PS/DVB树脂为基础，所有的涂层都以化学方式键合在PS/DVB的表面。使色谱柱具备极高的稳定性，同时与大多数的水基缓冲液兼容，如硫酸铵、醋酸钠、磷酸盐、三氯氢硅，硫酸铵、乙酸钠、磷酸盐、Tris和水的混合溶液，丙酮、甲醇、乙腈和四氢呋喃的混合物。当pH值为7.0时，25 mM的磷酸钠缓冲液作为流动相运行Proteomix HIC 色谱柱时，进样400次或使用3个月，分离性能几乎没有发生改变。由于色谱柱表面的聚合物树脂是在严格监控下合成，所以保证Proteomix HIC 色谱柱的批间重现性良好。图2是3批HIC Butyl-NP5 色谱柱中分离出的ADC。

安全注意事项

Proteomix HIC 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。

产品参数

树脂基质	球形，高交联度 PS/DVB
相位结构	乙基、丙基、丁基和苯基 乙基和丁基
粒径	1.7 μm 、5 μm 、10 μm
分离机制	疏水作用
孔结构	无孔
pH 值稳定范围	2-12
操作温度限制	80°C
操作压力限制	6,000 psi (5 μm)、8000 psi (1.7 μm)
流动相兼容性	与水溶液、水和乙腈、丙酮、甲醇或四氢呋喃的混合液兼容

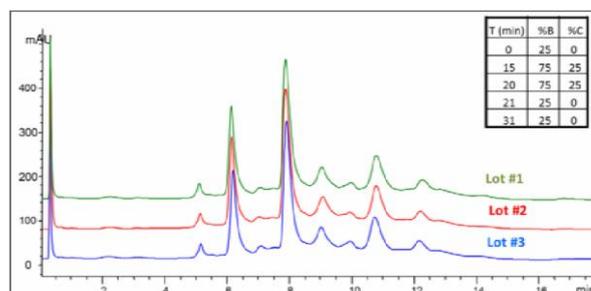


图 2. Proteomix HIC Butyl 色谱柱批间重现性

色谱柱 Proteomix HIC Butyl-NP5 (5 μm , 4.6 \times 35 mm);
流动相：(A) 2 M 硫酸铵在 0.025 M 磷酸钠在 pH 值 7.0
(B) 0.025 M 磷酸钠在 pH 值 7.0 (C) 100% IPA;
流速：0.8 mL/min;
检测波长：UV 214 nm;
柱温：25°C;
ADC：1.0 mg/mL, 25 mM 磷酸钠;
进样量：10 μL 。

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 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。

样品与流动相

为了避免色谱柱堵塞，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。Proteomix HIC 色谱柱可以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在线脱气机脱气。常用脱气方法：将流动相超声处理 5 min。

HIC 色谱柱依靠分析物与固相间的疏水作用，磷酸钠缓冲液中是否加入硫酸钠也是盐梯度中的一个主要选择。使用有机改性剂有时可以提高分辨率（有机溶剂含量不应超过 10%）。典型的例子如图 2。

色谱柱的保养

运输溶剂 Proteomix HIC 新色谱柱的运输溶剂是 pH 值 7.0 的 100 mM 磷酸盐缓冲液。

储存 建议将色谱柱储存在室温下，pH 值为 7 的水溶液或 25 mM 磷酸钠中。

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 CV 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，如对 5 μm ，4.6 \times 3.5 mm 色谱柱在 1.5 mL/min 流速下冲洗。如果流动相或色谱柱中缓冲液的 pH 值差异较大，建议重新用 10 CV 流动相冲洗柱子。

流速 0.1-1.5 mL/min，当背压不超过最大压力限制时，可以使用较高流速。

溶剂置换 如果有有机添加剂或有机溶剂作为缓冲剂，应注意避免盐析。在使用盐缓冲液或有机溶剂时，应以 2 倍 CV 的水清洗色谱柱。更换溶剂的过程中，背压可能会波动，需要降低流速以确保背压不超过压力限制。

CIP 色谱柱可以用 1 CV 的 25 mM NaOH 溶液，3.0 M 尿素或氯化胍溶液清洗。有机溶剂如：THF、IPA、甲醇、

乙醇、乙腈可用于清洗疏水性沉积物。色谱柱用足够的水洗净后，再换回常规的缓冲溶液。

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 以下规格的色谱柱。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，建议每次用生理盐水（在 pH 值为 7 的 25-100 mM 中加入 1 M 的 NaCl）对保护柱反向冲洗 10 次。

第二个建议是安装一个切口 $<$ 0.3 μm 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 高盐溶液或磷酸盐缓冲液对保护柱反向冲洗柱子 10 次，同时每次清洗前更换柱前过滤器。

Proteomix HIC 产品规格

产品	内径 \times 长度 mm \times mm	粒径 μm	货号
Proteomix HIC Ethyl	4.6 \times 35	5	432NP5-4603
Proteomix HIC Ethyl	4.6 \times 100	5	432NP5-4610
Proteomix HIC Propyl	4.6 \times 35	5	434NP5-4603
Proteomix HIC Propyl	4.6 \times 100	5	434NP5-4610
Proteomix HIC Butyl	4.6 \times 35	5	431NP5-4603
Proteomix HIC Butyl	4.6 \times 100	5	431NP5-4610
Proteomix HIC Phenyl	4.6 \times 35	5	433NP5-4603
Proteomix HIC Phenyl	4.6 \times 100	5	433NP5-4610

*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。