

# Bio-Rad DuoFlow 中高压生物层析系统

## 操作注意事项

层析仪是精密的仪器，流动相中的不溶物、缓冲液中盐的析出、流动相中的气泡、仪器管道或阀门内长菌或微生物都会影响仪器的寿命或性能，在操作过程中对有关方面应该特别注意，正确使用仪器以保证发挥仪器良好的性能并延长仪器寿命。仪器使用前应仔细阅读操作手册。

### 一、样品和缓冲液准备

用 HPLC 级试剂配制缓冲液和样品，并根据样品量选择合适的装置严格过滤和脱气。过滤应用不大于  $0.2\mu\text{m}$  孔径的合适材料的滤膜，溶



液体积较大或颗粒物较多可以先用较粗滤膜过滤，再精细过滤。流动相存在不溶颗粒物会堵塞管道和柱子，磨损泵头、阀门；样品或流动相不经脱气处理容易产生气泡，影响流速的精确性、柱子的分辨率、检测器检测结果的准确性和稳定性。

### 二、开机前检查仪器连接状态并用缓冲液充满管道

1. 检查仪器管道连接是否正确，一般为：缓冲液→泵头→混合器→进样阀→柱子→紫外检测器→电导检测器→pH 检测器→组分收集器，特殊配置参考仪器或相关部件操作手册仪器连接部分。

2. 用 10ml 注射器插入泵头正面柱塞孔，逆时针拧松柱塞，缓慢吸出液体直至没有气泡，拧紧柱塞。同样方法处理另外一个泵头。这时缓冲液即充满泵头。（如果配置有 Maximizer，应该分别开启阀门 A1、A2、B1、B2 并在相应管道充满溶液）。层析泵没有溶液空转会磨损泵活塞，影响泵

的精确性和泵的寿命。

3. 仪器开机前用注射器吸入去离子水，分别注入泵头上部两个小孔清洗泵头活塞后部，每个小孔至少清洗 10ml，保持泵头活塞后部湿润，防止缓冲液中析出盐磨损泵头柱塞垫片或阻塞泵的运转。仪器使用过程中至少每天要洗涤一次，经常进行该操作会大大延长泵头寿命。关机时也要进行该操作，维持泵后洁净。

### 三、开机、设置重要参数、程序编制和运行样品

1. 打开检测器（QuadTec 是独立电源）、收集器、层析仪电源开关，打开计算机，先启动 Biologic Configuration 检查泵头、收集器、层析工作站等的设置是否正确，然后启动 Biologic DuoFlow 软件。计算机会自动检测阀门、检测器等有关部件。

2. 根据所用柱子说明书提供的耐压极限设置泵的压力限制（但压力不要超过泵的最大压力范围，F10 泵头 3500psi，F40 泵头 1000psi），压力超过柱子的耐压极限会损坏柱子。

3. 如果使用 pH 检测器，每次使用前根据使用缓冲液 pH 范围用相应标准缓冲液（pH 4、pH 7 或 pH 7、pH 10）按软件校正程序进行校正。使用 Maximizer 时还要进行盐浓度的单点或两点校正（用精密 pH 计）。pH 检测器不用时应将电极从流通池中取出，保存在随机带的缓冲液（或 pH 4 的 3.5M KCL 溶液）中，避免蛋白、盐类等物质黏附或析出在电极上，以延长电极寿命。电极必须在缓冲液中保存，不可以干置。

4. 如果分离样品（特别是微量样品）需要收集，程序编制时注意设置延迟收集体积（delay volume，一般 200 $\mu$ l 左右，是从紫外检测器到收集器滴头一段管道加上包含的流通池自身死体积的体积，管道体积可以量

出长度根据操作手册提供的管道参数算出，流通池死体积可以从说明书中查出)，以使对样品的收集与紫外检测结果精确对应。

5. 用有关缓冲液清洗和平衡柱子，紫外（紫外灯本身需要一段时间稳定）和电导基线走稳后可以开始走样。上样前要把上样阀置于 load 位置，上样后在程序执行到 inject 步骤之前上样注射器不要拔掉，否则样品会因为重力缘故从上样阀废液出口流出。

6. 在上不同样品时，应特别注意清洗上样阀的 Load、inject、purge 位置，避免样品的交叉污染。

7. 程序结束后注意熄灭紫外灯以延长其寿命。

#### 四、关机时仪器的维护

1. 柱子使用完毕后应按柱子使用说明书有关程序彻底清洗或再生，并用合适的缓冲液保存，防止长菌和干涸。

2. 仪器使用完毕后如果放置过夜，应用低盐缓冲液（最好是去离子水）彻底清洗所有管道和阀门，包括缓冲液选择阀、Maximizer 的 4 个比例阀、上样阀、收集换向阀等的各个位置，防止盐析出堵塞管道、损坏泵头和阀门。仪器不可以在管道内是高盐缓冲液时放置过夜，高温天气尤其要注意。

3. 如果仪器一段时间不用，用去离子水清洗后（特别注意上样阀 Load、inject、purge 沾染高浓度蛋白易长菌位置的清洗），再用 20%乙醇或 0.05%叠氮化钠溶液充满管道，长期不用要把泵、阀门、检测器等出入口用随机带的塞子（fittings）封闭以免溶液挥发。防止仪器管道阀门内部长菌或微生物，高温天气尤其要注意。长菌或微生物后很难除去。

4. 仪器存放应置干燥通风环境，防止仪器长霉菌或锈蚀。如果仪器

放在低温环境(冷室或层析柜)，不要关闭电源，防止水蒸气凝结。

## 五、常见问题处理（详见仪器手册 Troubleshooting 部分）。

1. 仪器使用过程中常遇到如下问题：(1)压力读数或流量脉动，可能是气泡滞陷在泵头，参考仪器手册赶出气泡；(2)紫外基线脉动或噪音过大，可能是气泡滞陷在检测池；(3)反压过大，可能是管道堵塞或柱子需要清洗。取下柱子，如果反压仍过大，需清洗管道和阀门（可以从泵开始逐段检查找出堵塞处），否则按柱子说明书清洗或再生柱子。

2. 最好联系仪器管理员处理有关问题。如果问题仍不能解决，拨打 Bio-Rad 维修热线 800-820-5567。