

安捷伦生物分析液相色谱柱选择指南

## 生物药物和生物分子分析参考指南



Agilent Technologies



## 目录

<b>生物柱选择指南</b>	1
<b>生物分子分离</b>	6
<b>方法开发指南</b>	19
一级结构分析方法	19
反相 LC/MS 方法	21
电荷异构体分析方法	22
聚集体和片段分析方法	25
多糖及亲水性多肽/糖肽分析方法	27
滴度测定和细胞培养优化方法	28
高灵敏度毛细管色谱柱方法	29
<b>用于蛋白质鉴定和杂质分析的安捷伦仪器</b>	30
<b>一级结构分析</b>	32
AdvanceBio RP-mAb	34
ZORBAX 300Å StableBond	39
ZORBAX 300Å Extend-C18	47
Poroshell 300	51
AdvanceBio 肽谱分析色谱柱	56
PLRP-S	61
ZORBAX 氨基酸分析 (AAA) 柱和消耗品	68
<b>电荷异构体分析</b>	71
Agilent Bio MAb HPLC 色谱柱	74
Agilent Bio IEX HPLC 色谱柱	80
PL-SAX 强阴离子交换柱	86
PL-SCX 强阳离子交换柱	90
Agilent Bio-Monolith 离子交换 HPLC 柱	92
<b>聚集体和片段分析</b>	96
Agilent Bio SEC-3	99
Agilent Bio SEC-5	105
ProSEC 300S	109
ZORBAX GF-250 和 GF-450 凝胶过滤柱	112
<b>糖基化表征</b>	115
N-糖链分析	116
N-糖链标准品	119
N-糖链样品前处理	120
亲水性多肽和糖肽分析	123
<b>滴度测定</b>	125
Agilent Bio-Monolith Protein A HPLC 色谱柱	125

<b>蛋白质去除</b>	129
安捷伦蛋白质分离系统和蛋白质组学试剂	129
多重亲和去除系统	130
多重亲和去除系统启动试剂盒	133
<b>特殊规格色谱柱</b>	134
毛细管和纳流液相色谱柱	134
ZORBAX Bio-SCX 系列 II	139
MicroBore (1.0 mm 内径) 色谱柱	141
二维液相色谱	144
纯化 – 制备 HPLC	148
mRP-C18 高蛋白回收柱	150
ZORBAX PrepHT	152
适用于 Prep to Process (制备到生产级别) 的 PLRP-S	154
Agilent Bio MAb 和 Agilent Bio IEX	159
用于 Prep to Process (制备到生产级别) 的 PL-SAX 和 PL-SCX	161
多肽纯化	164
适用于合成多肽的 VariTide RPC 柱	164
VariPure IPE	165
Load & Lock 轴向压缩制备型 HPLC 色谱柱装填系统	166
实验室 Load & Lock 色谱柱	166
Agilent Bio SEC	167
<b>BioHPLC 资源</b>	169
卡套柱系统	169
柱芯/保护柱芯系统兼容性指南	170
USP 指定产品 – 仅 BioHPLC 色谱柱	171
BioHPLC 色谱柱文献	172
生物制药相关定义	182
引用参考文献	194
AdvanceBio 肽谱分析色谱柱	194
Bio SEC	194
Bio-Monolith	194
PLRP-S	195
PL-SAX	197
PL-SCX	197
Poroshell 300	198
ZORBAX 300	199

# 生物柱选择指南

生物治疗药物具有改善人类健康的巨大潜力。全世界已批准蛋白质和抗体治疗制剂数量持续增长，因为这一类重要的治疗制剂能够应对不断增长的医疗需求。但是生物治疗药物的发现和开发具有一定的难度。您将面对各种挑战，不仅需要了解最新的知识和技术进展，还需要及时掌握随时变化的各种政府法规。关键是要迅速作出正确的决策。从疾病研究到 QA/QC 再到生产的每个阶段，安捷伦都能帮助您做出正确选择，将治疗产品成功推向市场。这不只是因为我们提供可靠的仪器和消耗品，能为您提供准确、可重复的结果，还因为我们全面了解生物制药的工作流程，能够提供无缝协同工作的一系列产品，作为药物研究、发现和开发的有效动力，推动生物制药候选药物的发展。

由于蛋白质生物治疗药物具有很强的异质性，我们需要采用多种色谱方法才能准确表征其活性药物成分 (API)。常用的方法包括用于二聚体和聚集体定量的体积排阻色谱法，以及用于电荷异构体分析的离子交换色谱法。作为完全表征的一部分，我们还必须考察蛋白质生物治疗药物的一级氨基酸序列以及在纯化或制剂步骤中序列可能发生的任何翻译后修饰。为了确保您在关键表征工作流程中实现完整、可重现且高质量的分析，安捷伦提供多种色谱柱和备件。

此完整全面的指南将帮助您选择最适用于您的表征工作流程的色谱柱。我们还针对方法开发、溶剂选择、流动相改性、优化给出了一些建议和提示，并列举了许多分离实例，所有这些都将为您选择色谱柱和开发方法提供帮助。

安捷伦针对您的需求提供了完备的解决方案。包括采用无金属样品流路设计的 Agilent 1260 Infinity 生物惰性四元梯度液相色谱系统，以及专为 UHPLC 应用（包括使用安捷伦大孔径 ZORBAX 300Å StableBond 柱的应用）提供最高分析速度、分离度和超高灵敏度的 Agilent 1290 Infinity 液相色谱系统。生物分子的结构可能非常复杂，但使用安捷伦 HPLC 色谱柱、系统和备件可以大大简化其分析过程。

## 什么是生物分子？

生物分子是由生物体产生的化合物。其分子量范围可以从氨基酸和小分子脂类到大分子多聚核苷酸，如 DNA 或 RNA。

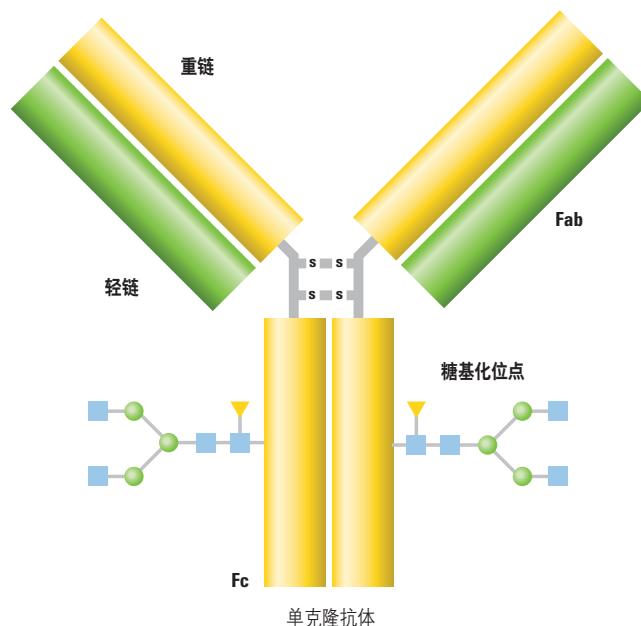
在本章中，我们将探讨以下分离方法：

**蛋白质** — 用体积排阻色谱基于尺寸进行分离、用离子交换色谱基于电荷进行分离、用反相色谱基于疏水性进行分离。

**多肽** — 用于各种多肽（包括所有尺寸的疏水、亲水、碱性和酸性多肽）分析和纯化的生物色谱柱。另外，还有适用于 HPLC 和 UHPLC 肽谱分析的色谱柱。

**DNA/RNA 寡核苷酸** — 反相和离子交换柱适合分离 DNA 和 RNA 寡核苷酸，填料孔径满足所有尺寸寡核苷酸的分离需求，从合成的小寡核苷酸到大的质粒。

**氨基酸** — ZORBAX Eclipse 氨基酸分析 HPLC 色谱柱可为 24 种氨基酸的分析提供高效解决方案。一般情况下，分析时间从 14 min（使用 75 mm 色谱柱）到 24 min（使用 150 mm 色谱柱）不等。



## 什么是生物柱？

生物色谱柱（或称生物柱）是用于分离生物化合物（如多肽和蛋白质、寡核苷酸和多聚核苷酸）以及其他生物分子和复合物的液相色谱柱。生物柱专为生物分子分析而特别设计，具有适合分析大分子的大孔径。填料设计上，尽量减少填料与分析物之间的非特异性结合，以提高回收率。分离机制的选择或为保留分析物的生物学功能（在分析过程中不失去生物活性），或有意使分析物变性以便对一级结构进行表征。

安捷伦生物色谱柱产品可针对您的生物分子分析所采用的所有主要表征技术提供最佳解决方案。包括：

**滴度测定和纯化：**采用 AdvanceBio Bio-Monolith Protein A 等独特技术进行滴度测定与细胞系优化。

**完整蛋白质与翻译后修饰：**采用 AdvanceBio RP-mAb、ZORBAX RRHD 300Å、Poroshell 300 以及 AdvanceBio 肽谱分析柱等关键色谱技术，可以显著提高从完整蛋白质到蛋白质片段等一级结构表征结果可信度。

**聚集体：**Agilent Bio SEC-3 和 Agilent Bio SEC-5 可准确测定聚集体（二聚体、三聚体、四聚体等），并能从大分子量蛋白质中分离小分子量赋形剂和杂质。

**电荷异构体分析：**安捷伦离子交换色谱柱，包括专为单克隆抗体分析而设计的优化填料，如 Agilent Bio MAbs 和用于精确异构体分析的 Agilent Bio IEX。

**糖基化表征：**安捷伦亲水相互作用色谱 (HILIC) 柱可实现准确、重现性高的多糖与糖肽分析。

**特殊应用：**包括采用 ZORBAX Eclipse AAA 色谱柱的稳定、高效的氨基酸分析解决方案以及 DNA/RNA 分析解决方案。





安捷伦最近推出了用于蛋白质和 mAb 表征的 AdvanceBio 系列产品。Agilent AdvanceBio 色谱柱旨在为提升单克隆抗体和其他完整蛋白质表征准确度和速度而设计，包括聚集体 SEC 分析、电荷异构体 IEX 分析、完整质量数、一级结构和翻译后修饰 (PTM) 的反相色谱分析，以及使用亲水相互作用色谱进行裂解糖链分析。

本指南提供关于完整安捷伦生物色谱柱产品的详细信息，以及有关选择 AdvanceBio 系列产品以准确表征生物治疗药物的信息。



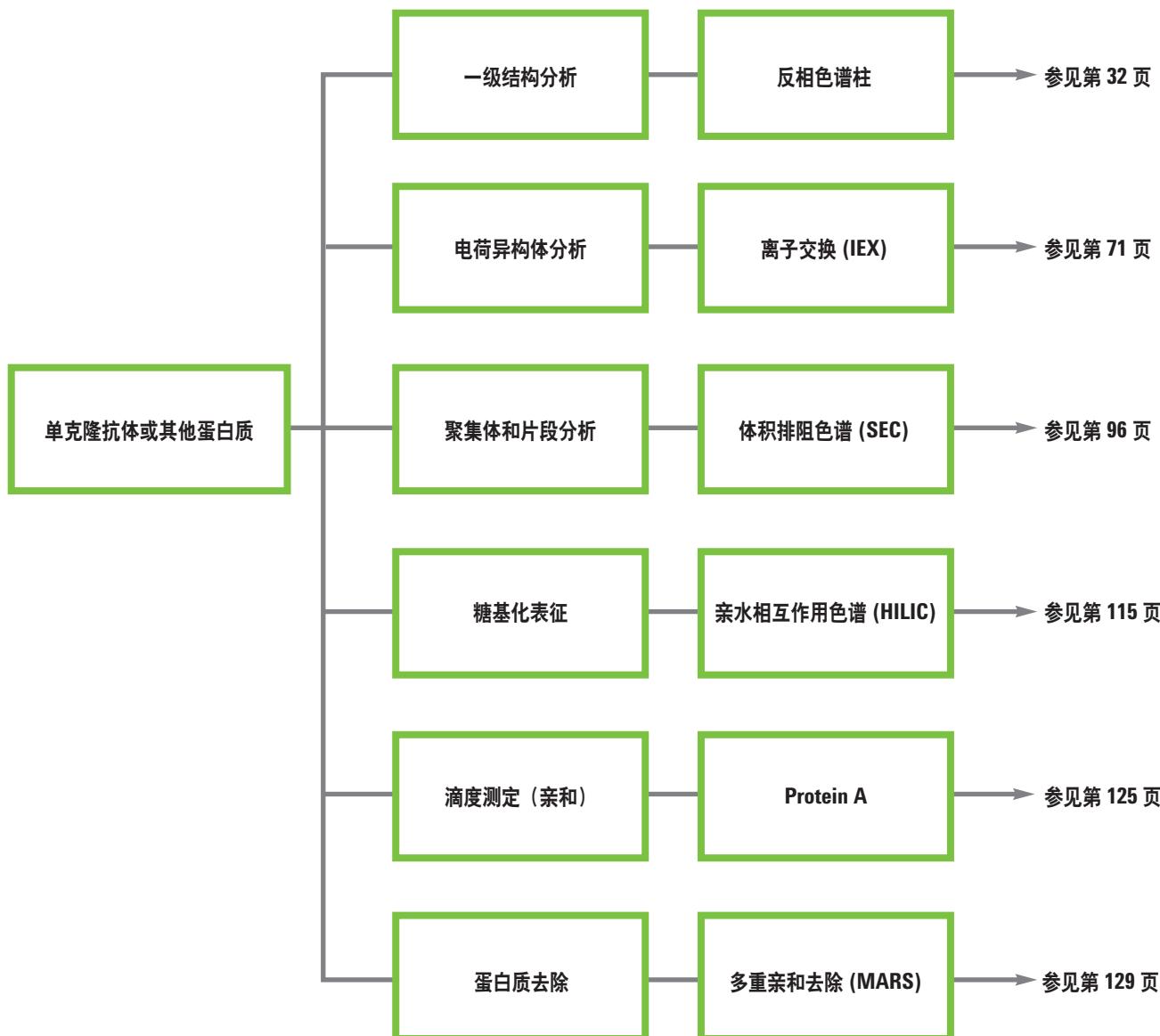
### 提示与工具

如需了解有关 AdvanceBio 系列色谱柱以及可满足您表征需求的各种工具的更多信息，请访问  
[www.agilent.com/chem/advancebio](http://www.agilent.com/chem/advancebio)

## 液相柱选择流程图

以下流程图为您提供了各章选择指南的页码，帮助您为您的生物分子分离应用选择最佳色谱柱。

我们提供许多可参考的指南，帮助您为生物分子的分离选择最佳色谱柱。首先要考虑的是生物分子的尺寸，这将决定分离所用 HPLC 色谱柱填料的孔径。第二点要考虑的是待分离分子的溶解度。第三要关注的是分离机制、尺寸、疏水性和电荷。



# 生物分子分离

## 蛋白质分离

蛋白质是复杂的分子，对其进行全面表征需要多种技术。蛋白质以三维结构存在，这一结构决定了其生物活性。

氨基酸链的序列决定了蛋白质的一级结构。一级结构中氨基酸之间的氢键使蛋白质形成了二级结构，一般为 $\alpha$ 螺旋和 $\beta$ 折叠。二级结构区域之间进一步发生一系列氢键、离子、疏水和二硫键相互作用，即形成三级蛋白质结构，或三维构象。如果蛋白质是由许多个氨基酸链组成的，那么各链之间的相互作用即形成了四级结构。

所以，从图1可以清楚地看出，要表征天然状态的蛋白质，不能破坏其三级结构和四级结构。而当测定一级氨基酸序列时，需要破坏其三维结构，在蛋白质完全变性状态下进行分析。

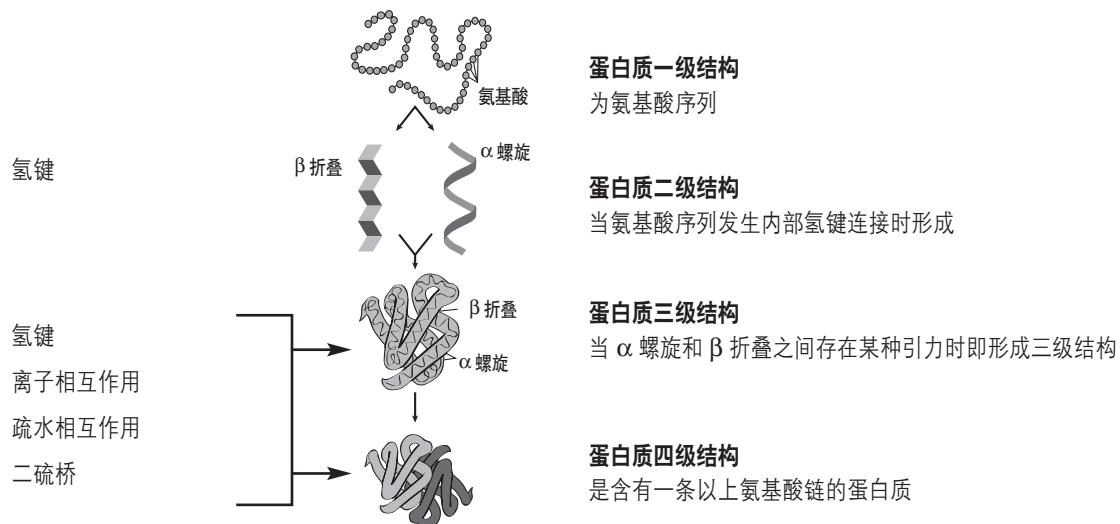


图1. 蛋白质多级结构示意图

蛋白质所处的环境可以改变、稳定或破坏其结构。涉及的环境影响因素包括 pH、温度、盐浓度、水或有机溶剂的含量。对某些蛋白质来说，还有起稳定作用的小分子或金属离子。蛋白质结构还可以因使用巯基还原剂打断二硫键，或使用变性剂（尿素或盐酸胍等）而被破坏。除了内在的复杂性以及决定其三维结构的分子内相互作用，蛋白质分子与其他分子之间，以及它们的接触表面之间也存在分子间相互作用。这些相互作用可以导致蛋白复合物、聚集（可能发生沉淀），以及在 HPLC 柱或 HPLC 系统等的表面发生沉积现象。因此，我们必须考虑蛋白质的处理方法和保存环境。

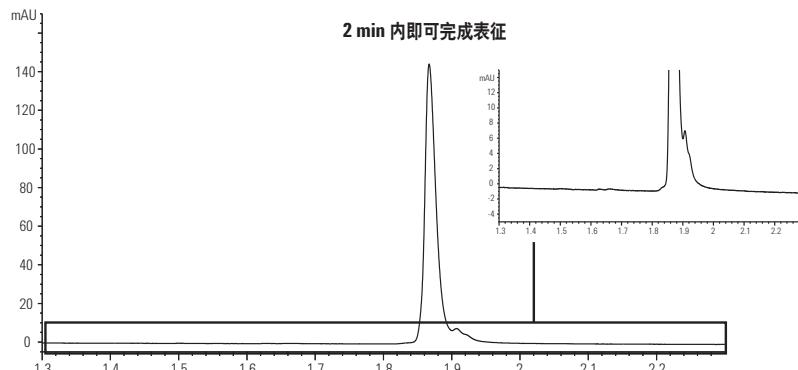
## 蛋白质柱选择指南

应用	技术	安捷伦色谱柱	备注
一级结构分析	UHPLC/HPLC 反相分离	AdvanceBio RP-mAb ZORBAX RRHD 300Å Poroshell 300Å ZORBAX 300Å AdvanceBio 肽谱分析 PLRP-S	反相分离需要（或会引起）蛋白质变性，以获得关于氨基酸序列和/或氨基酸修饰（包括翻译后修饰）的详细信息
电荷异构体分析	离子交换分离	安捷伦 Bio IEX 色谱柱 安捷伦 Bio MAb 色谱柱 PL-SAX 色谱柱 PL-SCX 色谱柱	各氨基酸的比例决定了蛋白质分子的静电荷。静电荷为零的 pH 值称为等电点 (pI)。当溶液 pH 低于 pI 时，蛋白质带正电荷（酸性），当溶液 pH 高于 pI 时，蛋白质带负电荷（碱性）。对于离子交换分析，我们建议洗脱剂 pH 至少高于或低于其 pI 一个 pH 单位。使用离子交换柱分析蛋白质，需要使用缓冲流动相，以及进行盐梯度洗脱或者 pH 梯度洗脱
聚集体和片段分析	体积排阻分离	Bio SEC-3 Bio SEC-5 ProSEC 300S ZORBAX GF	蛋白质生物药物的聚集体形成是一个重要问题，因为其可能引发免疫原性反应，并影响最终制剂的组成
糖基化表征	亲水相互作用色谱	AdvanceBio 糖谱分析 ZORBAX RRHD 300 HILIC	随着人们越来越重视免疫原性效果和生物治疗药物的安全性，了解蛋白质和 mAb 的糖基化和糖链结构变得尤为重要。由于 HILIC 色谱能够保留样品的亲水部分，它能够提供反相色谱柱的正交信息。
滴度测定	亲和分离	AdvanceBio Bio-Monolith Protein A	在投入高成本进行制备以及使用大量 Protein A 色谱填料之前，若想要对细胞培养上清液的单克隆抗体滴度和产量进行监测，需要通过小型（分析型）处理工序来确定单克隆抗体的滴度，以便确定单克隆抗体产品的最佳采集时间。
蛋白质去除	亲和纯化	MARS Human-14 MARS Human-7 MARS Human-6 MARS Human-6 High Capacity MARS Human-2 MARS Human-1 MARS Mouse-3	去除生物样品中的高丰度蛋白质。去除这些高丰度蛋白质有助于改善样品的后续 LC/MS 分析和电泳分析，有效地扩展了动态范围。

### 赫赛汀变体 IgG1 的高速、高分离度分离

色谱柱: AdvanceBio RP-mAb C4  
795775-904  
2.1 x 100 mm, 3.5  $\mu$ m

流动相: A: 0.1% TFA 溶于水:IPA (98:2) B:  
IPA:ACN:流动相 A (70:20:10)  
流速: 1.0 mL/min  
梯度: 4 min 内 B 由 10% 升至 50%，以 95% B  
淋洗 1 min，并以 10% B 重新平衡 1 min  
柱温: 80 °C  
检测器: UV, 254 nm  
样品: 5  $\mu$ L 完整人源化重组赫赛汀变体 IgG1，  
购自 Creative Biolabs (1 mg/mL)

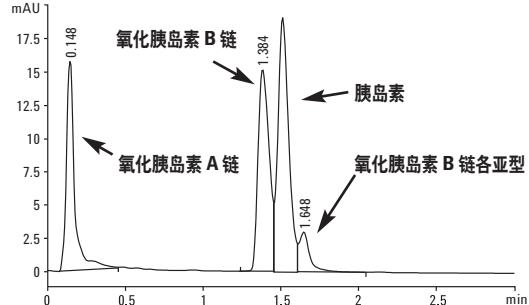


AdvanceBio RP-mAb C4 柱提供尖锐的峰形，可在 2 min 内使分析物实现完美分离。

### 氧化物的高分离度分离

色谱柱: ZORBAX RRHD 300SB-C18  
857750-902  
2.1 x 50 mm, 1.8  $\mu$ m

流动相: A: 0.1% TFA  
B: 0.01% TFA + 80% 乙腈  
流速: 1.0 mL/min  
梯度: 33% 到 50% B, 0 到 4 分钟  
检测器: 1290 Infinity LC, 带二极管阵列检测器，  
检测波长 280 nm  
样品: 胰岛素、氧化胰岛素 A 链和 B 链 (BSA，  
购自 Sigma-Aldrich, Corp., 1 mg/mL)

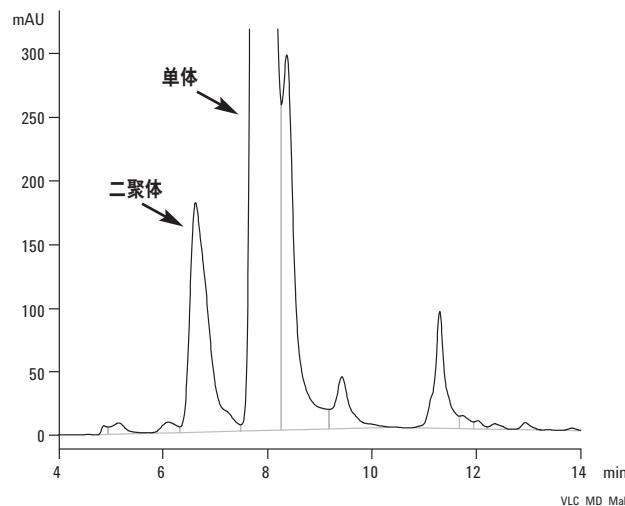


显而易见，使用安捷伦 ZORBAX RRHD 300SB-C18 2.1 x 50 mm, 1.8  $\mu$ m 色谱柱能够在两分钟内实现氧化胰岛素链与胰岛素的分离。

## 完整 Mab 单体和二聚体的分离

色谱柱: Bio SEC-3, 300Å  
5190-2511  
7.8 x 300 mm, 3 µm

缓冲液: 150 mM 磷酸钠缓冲液, pH 7.0  
等度: 缓冲液在 30 分钟时间内由 0 升至 100%  
流速: 1.0 mL/min  
样品: CHO·人源化, 5 mg/mL — 完整  
进样: 5 µL  
检测器: UV, 220 nm  
柱温: 室温



### 提示与工具

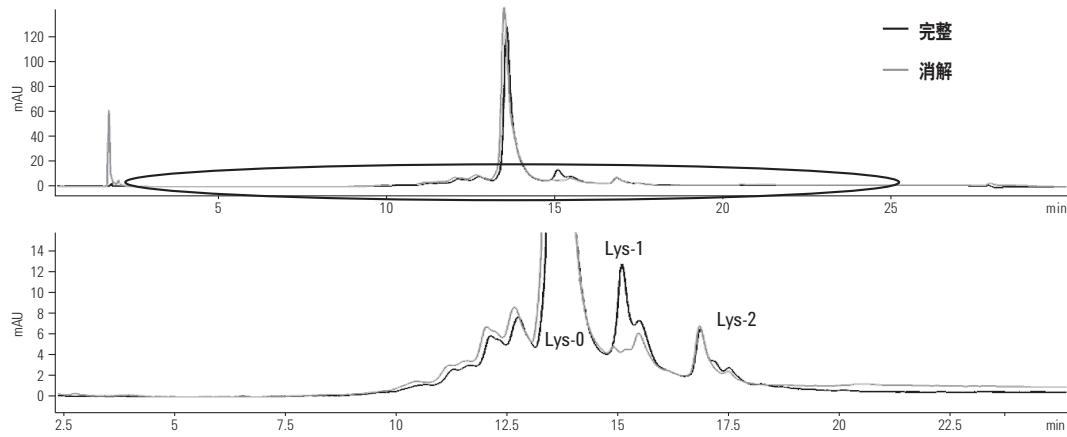
安捷伦深知您的分析工作极其繁杂且需要耗费大量人力。我们将助力您的分析。如需了解更多信息, 请参阅 “BioPharma Workflow Solutions: How Agilent Helps Resolve Complex Analytical Challenges” (生物制药工作流程解决方案: 安捷伦如何助您应对复杂的分析挑战), 出版号 5991-5235EN [www.agilent.com/chem/library](http://www.agilent.com/chem/library)

### 采用盐梯度分离人 IgG1 电荷异构体

色谱柱: Bio MAb, PEEK  
**5190-2407**  
**4.6 x 250 mm, 5  $\mu$ m**

流动相: A: 10 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, pH 5.5  
 B: A + 0.5 M NaCl  
 流速: 0.85 mL/min  
 梯度: B 在 0 - 25 min 内从 10% 升至 35%

检测器: UV, 225 nm  
 样品: 5  $\mu$ L 1 mg/mL 的完整 IgG1 或羧基端消解的 IgG1  
 仪器: Agilent 1260 Infinity 生物惰性四元液相色谱或  
 Agilent 1100 系列液相色谱



采用 Agilent Bio MAb 5  $\mu$ m 色谱柱分离完整 IgG1 和羧基端消解的 IgG1。

### CHO 细胞上清液 IgG1 浓度的测定

色谱柱: Bio-Monolith Protein A  
**5069-3639**  
**5.2 x 4.95 mm,  $\mu$ m**

流动相: A: 50 mM 磷酸盐, pH 7.4  
 B: 100 mM 柠檬酸, pH 2.8

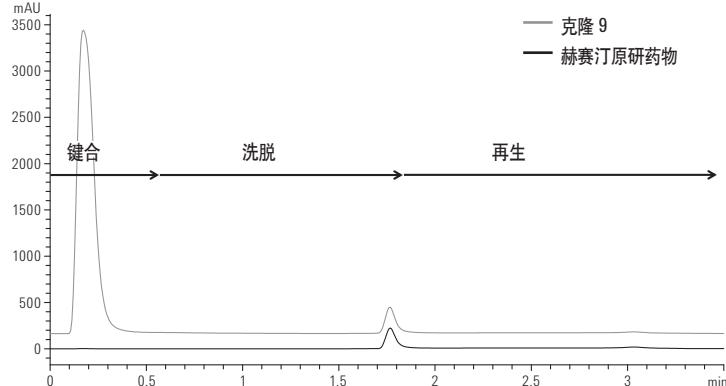
流速: 1 mL/min

梯度: 时间 (min) % B  
 0 - 0.5 0 (结合)  
 0.6 - 1.7 100 (洗脱)  
 1.8 - 3.5 0 (再生)

进样量: 50  $\mu$ L

检测器: UV, 280 nm

馏分收集: 基于时间



采用 AdvanceBio Bio-Monolith Protein A 色谱柱分析产曲妥珠单抗 CHO 克隆、克隆 9 和赫赛汀原研药物（用 50 mM pH 7.4 的磷酸钠稀释至 0.2 mg/mL）的色谱图。请注意，采用磷酸盐缓冲液按 1:1 的比例稀释上清液。

## 超快速糖谱分析：采用 1.8 μm 填充颗粒，在 10 min 内即可完成分析

色谱柱: AdvanceBio 糖谱分析色谱柱

859700-913

2.1 x 150 mm, 1.8 μm

仪器: 配备 1260 Infinity 荧光检测器 (FLD) 的 Agilent 1290 Infinity 液相色谱

柱温: 55 °C

样品恒温箱: 10 °C

流动相: A: 100 mM 甲酸铵, pH 4.5

B: ACN

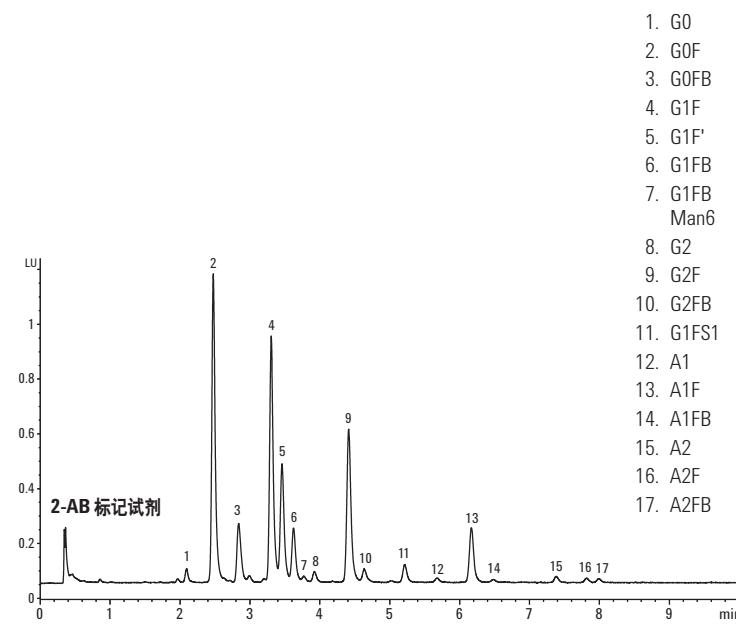
FLD: 激发 = 260

发射 = 430

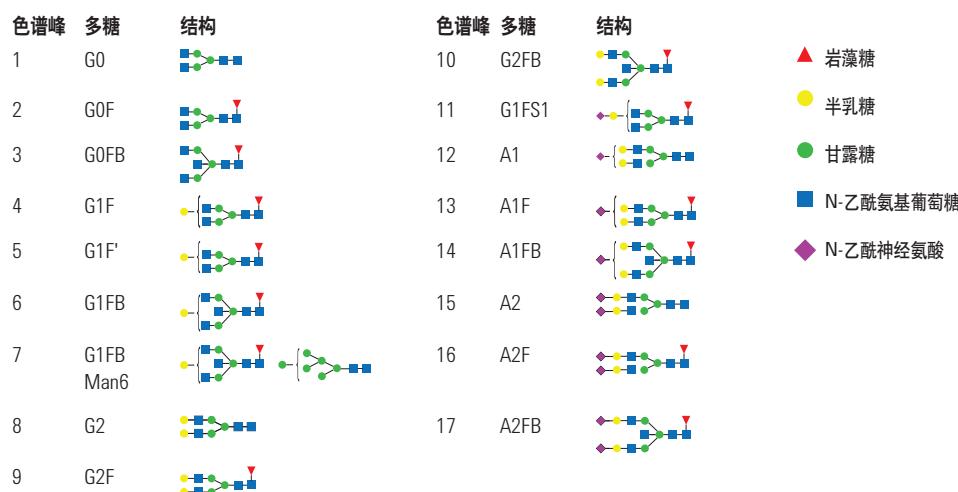
进样量: 2 μL 溶于 70:30 ACN:100 mM 甲酸铵

样品: 安捷伦 2-AB 标记的人类 IgG N-连接糖链文库  
(部件号 5190-6996)

时间	%A	%B	流速 (mL/min)
0	25	75	1.0
12	40	60	1.0
12.15	60	40	0.5
12.5	60	40	0.5
12.9	25	75	0.5
13.05	25	75	1.0
15	25	75	1.0



快速、高分离度的糖谱分析 (1.8 μm 色谱柱)。该标准品适用于所有 Agilent AdvanceBio 糖谱分析色谱柱的测试。



## 多肽分离

### 肽谱分析

表征蛋白质需要进行肽谱分析。用于确认蛋白质的种类，并鉴定和定量翻译后修饰。

首先，用酶（如胰蛋白酶）裂解纯化的蛋白质，得到一系列多肽片段。酶的特异性裂解能够产生蛋白的特征性多肽指纹图谱。对多肽片段的鉴定可以进一步确认蛋白质的类型，多肽裂解谱的变化可以用来鉴定蛋白生产或纯化过程中可能发生的翻译后修饰。

反相 UHPLC/HPLC 结合 MS 或 UV 检测是分析多肽酶解物的首选技术。LC/MS 适用于多肽片段的鉴定以及序列覆盖率的测定，而 LC/UV 则常被监测/QC 部门用于肽谱的比较。在进行鉴定和定量分析时，为达到足够的分离度，应选用专门针对此类应用设计的色谱柱，例如 AdvanceBio 肽谱分析， $2.7\text{ }\mu\text{m}$  色谱柱。

多肽酶解物为复杂的混合物，要完全覆盖酶解产物组分（即分离所有多肽），需要采用高效/高分离度的色谱柱。Agilent AdvanceBio 肽谱分析色谱柱专门针对翻译后修饰的鉴定和测定而设计。这些色谱柱让您能快速分离并鉴定一级序列中的氨基酸取代/修饰。

### 采用安捷伦多肽混标进行的质量保证测试

色谱柱: AdvanceBio 肽谱分析色谱柱

**653750-902**

**2.1 x 150 mm, 2.7 μm**

流速: 0.5 mL/min

进样: 3 μL

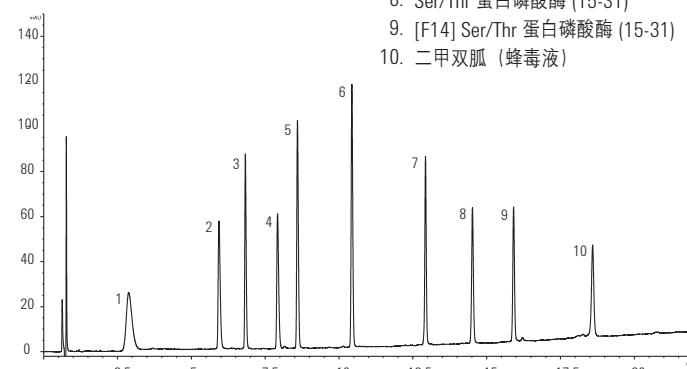
梯度: A-水 (0.1% TFA), B-ACN (0.1% TFA),  
0-25 min 内 B 从 15% 升至 65%;  
25-26 min 内 B 从 65% 升至 95%

柱温: 55 °C

检测器: 220 nm

样品: 安捷伦肽谱分析混标 (每种多肽 0.5-1.0 μg/μL)  
部件号 5190-0583

1. 舒缓肽片段 (1-7)
2. 舒缓肽醋酸盐
3. 血管紧张素 II
4. 神经降压素
5. 血管紧张素 I
6. 肾素
7. [Ace-F-3,-2 H-1] 血管紧张素 (1-14)
8. Ser/Thr 蛋白磷酸酶 (15-31)
9. [F14] Ser/Thr 蛋白磷酸酶 (15-31)
10. 二甲双胍 (蜂毒液)



用于测试每批 AdvanceBio 肽谱分析色谱柱填料的混标。该混标含 10 种分子量在 757-2845 Da 范围内的亲水、疏水和碱性多肽。另外我们还采用小分子探针对每根色谱柱进行测试以确保其分析效率。

## Agilent AdvanceBio 色谱柱： 更快、一致性更好的生物制药分析

AdvanceBio 肽谱分析色谱柱是安捷伦不断壮大的顶尖生物色谱柱系列中的一员。该色谱柱专为分离和表征多肽、蛋白质、抗体、偶合物、新生物体和生物制药而设计，具有一致、卓越的性能。AdvanceBio 色谱柱的科学设计能够提高结果的准确性和分析效率，显著提高您的实验室分析速度和工作效率。

如需了解安捷伦肽谱分析解决方案的订购信息，请转到第 56 页。

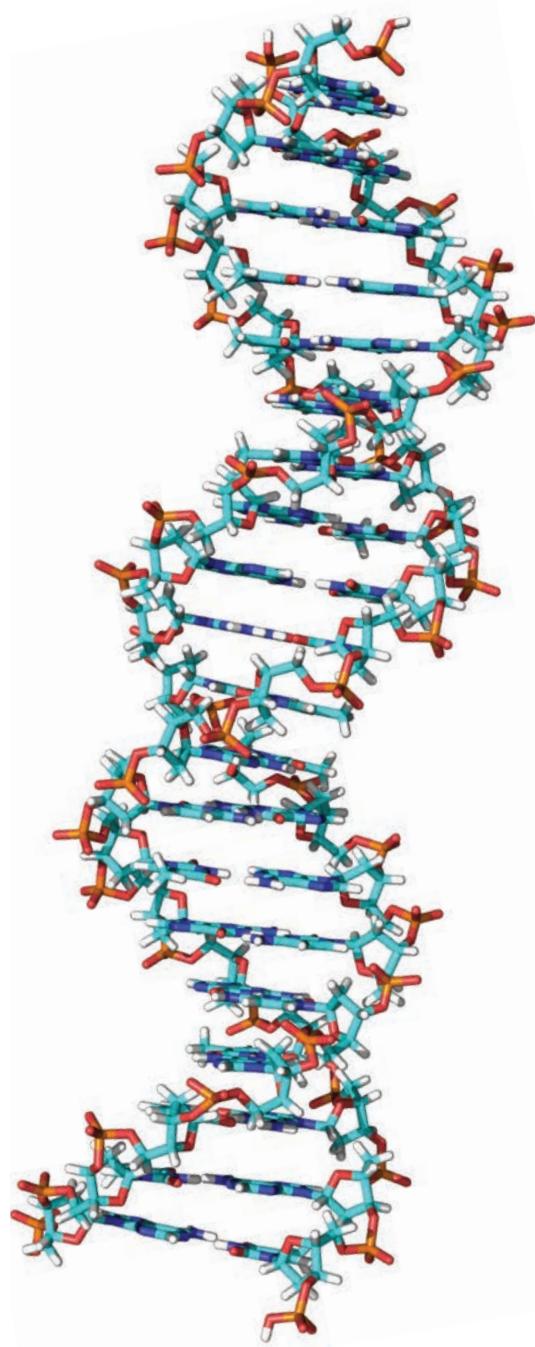


## DNA 和 RNA 寡核苷酸的分离

寡核苷酸又重新引起关注，因为其应用越来越多，包括潜在的治疗作用。其合成流程与较成熟的多肽合成流程相似，即采用活性固相合成树脂，通过不断添加特定核苷酸，来构建所需要的序列。

在 5' 羟基端采用二甲氧基三苯甲烷 (DMT) 基团保护核苷酸，目标核苷酸裂解后仍将带着这些保护基团。由于 DMT 具有疏水性，我们可在第一阶段的分析中充分利用它的这一性质。为提高寡核苷酸的稳定性，特别是对酶降解的稳定性，我们可以对其进行化学改性，例如用硫置换氧，形成硫代磷酸酯。

使用化学合成法生产生物分子时，延长分子长度每个循环的偶联效率都不可能是 100%。从固相合成支持相上裂解下来的样品将包含缺失序列（丢失了一个或几个残基的寡核苷酸），以及一些由于双偶联或支链连接产生的更大的寡核苷酸。样品混合物非常复杂，需要采用高效的技术进行分析。



寡核苷酸的分离通常使用三种 UHPLC/HPLC 技术：

**Trityl-on:** 这一步骤为从脱保护失败序列中分离仍带有 DMT 基团的全长目标寡核苷酸，相对比较简单。得到的分析信息有限，这一步一般认为是纯化方法。

**脱保护寡核苷酸的离子交换分离：**该方法利用寡核苷酸骨架上的负电荷进行分离。较短寡核苷酸的分离度良好，但分离度随链长增加而降低。使用水相洗脱液，但寡核苷酸高度带电荷，需要用高浓度盐从色谱柱上洗脱下来。

**去三苯甲基脱保护寡核苷酸的离子对反相色谱分离：**这项技术使用有机溶剂和挥发性离子配对试剂，适用于 LC/MS。采用高效填料时该技术的性能最佳。需要能使寡核苷酸完全变性，且能防止其与互补序列结合的条件。因此，该分离最好在较高温度下进行。

### 提示与工具

想了解科学家们是怎样利用安捷伦产品分离 RNA/DNA 寡核苷酸的吗？请参阅  
*"Denaturing reversed phase liquid chromatographic separation of non-coding ribonucleic acids on macro-porous polystyrene-divinylbenzene resins"* *Journal of Chromatography A*, 1312 (2013):87-92."

更多此类文献请参见附录。

## DNA 和 RNA 寡核苷酸色谱柱的选择

应用	技术	安捷伦色谱柱	备注
Trityl-on/trityl-off 寡核苷酸	Trityl-on	PLRP-S 50 μm 填料	基于疏水性差异进行分离。特别适合从 Trityl-off 寡核苷酸中分离 Trityl-on 寡核苷酸，也可以用于反相离子对色谱分离脱保护的寡核苷酸
脱保护的寡核苷酸	脱保护（脱三苯甲基，Trityl-off）寡核苷酸的离子对反相色谱分离	PLRP-S 3 μm 到 50 μm	
脱保护的寡核苷酸	脱保护寡核苷酸的离子交换分离	PL-SAX 1000Å	在变性高 pH 条件下分离脱保护寡核苷酸。聚合型填料上的季胺功能基实现了高 pH 下的离子交换分离，改善了自补序列的色谱分离



### 提示与工具

更多信息可参考：

*Agilent PLRP-S 100Å HPLC Columns and Media* (Agilent PLRP-S 100Å 液相色谱柱和填料), 出版号 5990-8187EN

*Agilent PL-SAX 1000Å HPLC Columns and Media* (Agilent PL-SAX 1000Å 液相色谱柱和填料), 出版号 5990-8200EN

[www.agilent.com/chem/library](http://www.agilent.com/chem/library)

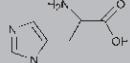
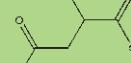
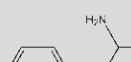
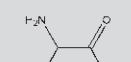
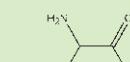
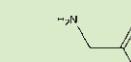
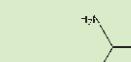
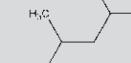
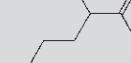
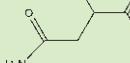
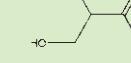
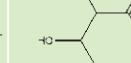
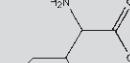
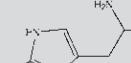
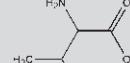
## 氨基酸分析

Agilent ZORBAX Eclipse AAA 高效色谱柱采用优化的改进方案分离氨基酸。在生产蛋白质的过程中，我们需要监测细胞培养基，确保其营养成分水平适当且处于营养平衡的状态，这样才能保证产物蛋白质的正常表达。氨基酸是细胞培养基的重要组分，因此在生产过程中我们必须对其进行监测和调整。反相色谱是氨基酸分析的主要技术。采用较短的 75 mm 色谱柱，前一次进样到下一次进样间的总时间可缩短至 14 min（其中分析时间 9 min），而采用 150 mm 的色谱柱则为 24 min（其中分析时间 18 min）。使用 Agilent 1100/1200 Infinity 液相色谱仪，采用 OPA 和 FMOC 衍生化填料，执行全自动化分析程序，可获得卓越的灵敏度（用二极管阵列或荧光检测器可达 5 至 50 pmol）和可靠性。

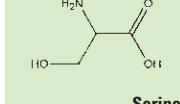
### ZORBAX Eclipse AAA 柱的选择

应用	内径 x 长度 (mm)	填料粒径 ( $\mu\text{m}$ )
分析型常规灵敏度	4.6 x 150	5.0
使用 FLD 可达到常规的分析灵敏度、高分离度	4.6 x 150	3.5
常规分析灵敏度、高通量	4.6 x 75	3.5
节省溶剂，高灵敏度、高分离度	3.0 x 150	3.5

## 氨基酸

<b>His</b> H 155.16 137.14 $C_6H_9N_3O_2$  Histidine	<b>Asp</b> D 133.10 115.09 $C_4H_7NO_4$  Aspartic Acid
<b>Arg</b> R 174.20 156.19 $C_{14}H_{14}N_4O_2$  Arginine	<b>Phe</b> F 165.19 147.18 $C_9H_{11}NO_2$  Phenylalanine
<b>Ala</b> A 89.09 71.08 $C_3H_7NO_2$  Alanine	<b>Cys</b> C 121.16 103.14 $C_3H_9NO_2S$  Cysteine
<b>Gly</b> G 75.07 57.05 $C_2H_5NO_2$  Glycine	<b>Gln</b> Q 146.15 128.13 $C_6H_{10}N_2O_3$  Glutamine
<b>Glu</b> E 147.13 129.11 $C_5H_9NO_4$  Glutamic Acid	<b>Lys</b> K 146.19 128.17 $C_6H_{14}N_2O_2$  Lysine
<b>Leu</b> L 131.17 113.16 $C_6H_{13}NO_2$  Leucine	<b>Met</b> M 149.21 131.20 $C_5H_{11}NO_2S$  Methionine
<b>Asn</b> N 132.12 114.10 $C_5H_9N_2O_3$  Asparagine	<b>Ser</b> S 105.09 87.08 $C_3H_7NO_3$  Serine
<b>Tyr</b> Y 181.19 163.17 $C_9H_{11}NO_3$  Tyrosine	<b>Thr</b> T 119.12 101.10 $C_4H_9NO_3$  Threonine
<b>Ile</b> I 131.18 113.16 $C_6H_{13}NO_2$  Isoleucine	<b>Trp</b> W 204.23 186.21 $C_{11}H_{12}N_2O_2$  Tryptophan
<b>Pro</b> P 115.13 97.12 $C_5H_9NO_2$  Proline	<b>Val</b> V 117.15 99.13 $C_5H_{11}NO_2$  Valine

■ 碱性  
■ 非极性 (疏水性)  
■ 极性, 不带电荷  
■ 酸性化合物

单字母氨基酸代码 ————— S ————— Ser ————— 3 字母氨基酸代码  
 分子量 ————— 105.09  
 MW-H<sub>2</sub>O ————— 87.08  
 分子式 —————  $C_3H_7NO_3$   
  
 ————— 化学结构  
 Serine ————— 化学名称

# 方法开发

## 一级结构分析方法

本节内容为一级结构分析色谱柱的选择策略，为 mAb、蛋白质和多肽的方法开发提供了一些关键细节。

肽和多肽 MW <10 kDa	蛋白质 MW >10 kDa	单克隆抗体					
		还原/片段 MW <50 kDa	完整 MW >150 kDa				
<b>初始键合相</b>							
<b>AdvanceBio 肽谱分析色谱柱</b>  还可考虑：  ZORBAX 300Å StableBond C18	<b>ZORBAX 300Å StableBond C8</b>  还可考虑：  ZORBAX 300Å StableBond C18 ZORBAX 300Å StableBond C3  Poroshell 300 StableBond C18 Poroshell 300 StableBond C8 Poroshell 300 StableBond C3	<b>AdvanceBio RP-mAb StableBond C8</b>  还可考虑：  AdvanceBio RP-mAb C4 AdvanceBio RP-mAb 联苯柱  ZORBAX 300Å 联苯柱 ZORBAX 300Å StableBond C8 ZORBAX 300Å StableBond C3 ZORBAX 300Å StableBond C18	<b>AdvanceBio RP-mAb C4</b>  还可考虑：  AdvanceBio RP-mAb StableBond C8 AdvanceBio RP-mAb 联苯柱  Poroshell 300 StableBond C3 Poroshell 300 StableBond C8				
<b>初始分离条件</b>							
<b>流动相：</b> A: 95% H <sub>2</sub> O:5% ACN (含 0.1% TFA) B: 5% H <sub>2</sub> O:95% ACN (含 0.085% TFA)  <b>梯度：</b> 30 min 内从 3% 升至 60%  <b>温度：</b> 40 °C	<b>流动相：</b> A: 95% H <sub>2</sub> O:5% ACN (含 0.1% TFA) B: 5% H <sub>2</sub> O:95% ACN (含 0.085% TFA)  <b>梯度：</b> 20 min 内从 5% 升至 70%  <b>温度：</b> 80 °C	<b>流动相：</b> A: 100% H <sub>2</sub> O (含 0.1% TFA) B: 10% H <sub>2</sub> O:10% ACN:80% n-PA (含 0.08% TFA)  <b>梯度：</b> 10 min 内从 5% 升至 40%  <b>温度：</b> 60 °C	<b>流动相：</b> A: 98% H <sub>2</sub> O:2% IPA (含 0.1% TFA) B: 10% H <sub>2</sub> O:20% ACN:70% IPA (含 0.08% TFA)  <b>梯度：</b> 5 min 内 B 从 10% 升至 60%  <b>温度：</b> 80 °C				
<b>2.1 mm 内径</b> <b>色谱柱</b> <b>粒径</b> 2.7 µm SPP  <b>流速</b> 0.5 mL/min	<b>4.6 mm 内径</b> <b>色谱柱</b> <b>粒径</b> 2.7 µm SPP  <b>流速</b> 2.0 mL/min	<b>2.1 mm 内径</b> <b>色谱柱</b> <b>粒径</b> 1.8 µm TPP 3.5 µm TPP 5 µm TPP 5 µm SPP  <b>流速</b> 0.5 mL/min 0.2 mL/min 0.2 mL/min 1.0 mL/min	<b>4.6 mm 内径</b> <b>色谱柱</b> <b>粒径</b> 3.5 µm SPP 1.8 µm TPP 3.5 µm TPP 5 µm TPP  <b>流速</b> 1.0 mL/min 1.0 mL/min	<b>2.1 mm 内径</b> <b>色谱柱</b> <b>粒径</b> 3.5 µm SPP 3.5 µm TPP 5 µm TPP  <b>流速</b> 4.0 mL/min 0.8 mL/min 0.3 mL/min 0.2 mL/min 0.2 mL/min	<b>4.6 mm 内径</b> <b>色谱柱</b> <b>粒径</b> 3.5 µm SPP 3.5 µm TPP 5 µm TPP  <b>流速</b> 1.0 mL/min 1.0 mL/min 1.0 mL/min	<b>2.1 mm 内径</b> <b>色谱柱</b> <b>粒径</b> 3.5 µm SPP 5 µm SPP  <b>流速</b> 1.0 mL/min	<b>4.6 mm 内径</b> <b>色谱柱</b> <b>粒径</b> 3.5 µm SPP  <b>流速</b> 5.0 mL/min

SPP = 表面多孔颗粒, TPP = 全多孔颗粒

### 从低 pH 简单水溶液/有机梯度开始

一般采用含 0.1% 三氟乙酸 (TFA) 的水:乙腈梯度，洗脱所有目标组分。300Å 孔径色谱柱的典型高分离度梯度分析需要 30-50 min，而 AdvanceBio RP-mAb 色谱柱所需的分析时间更短，采用的流速更高，并且仍能达到出色的分离度。要改善分离度，可以增加梯度时间、缩短柱长或提高流速。在 LC/MS 方法中，采用 TFA 会降低检测器的灵敏度，所以我们通常用甲酸铵/甲酸代替 TFA。



### 优化样品溶解度

在任何 pH 下，完全溶解样品对于获得最佳峰形和回收率都是非常重要的。AdvanceBio RP-mAb、ZORBAX 300Å StableBond、Poroshell 300 StableBond 和 AdvanceBio 肽谱分析色谱柱可以使用强酸性或中性溶剂，而 ZORBAX 300Extend-C18 和 Poroshell 300Extend-C18 色谱柱可以使用中性溶剂和稀碱。

#### 溶解蛋白质和多肽的溶剂选择

- 水/磷酸盐缓冲液
- 稀酸 (TFA、乙酸或盐酸)
- 中性 pH、6-8 M 盐酸胍或异硫氰酸酯
- 乙酸 5%/6 M 尿素
- 稀酸 + 水溶液/有机溶剂 (ACE, MeOH, THF)
- 稀碱 (氢氧化铵)
- DMSO 或 0.1%-1% TFA 溶于 DMSO
- 甲酰胺

最弱  
↓  
最强

### 提高温度

蛋白和多肽的分离受温度影响，较高的柱温可以显著改善蛋白质和疏水性和聚集性多肽的分离度和回收率。

**AdvanceBio RP-mAb:** 高达 90 °C  
**ZORBAX 300 StableBond、Poroshell 300 StableBond:** 高达 80 °C  
**AdvanceBio 肽谱分析色谱柱:** 高达 60 °C



### 优化流动相 pH

#### 如果低 pH 效果不佳，可尝试中等或高 pH

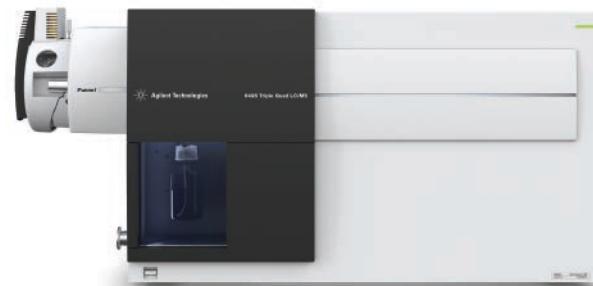
如果优化的低 pH 方法不能提供理想的分离，可以使用中等或高 pH 流动相。

高 pH 下的选择性通常区别很大，因为此时酸性氨基酸带负电荷，而某些碱性氨基酸可能丢失其电荷。  
 ZORBAX 300Extend-C18 是中等和高 pH 分离的良好选择。

色谱柱:	<b>ZORBAX 300Extend-C18 4.6 x 150 mm, 5 µm</b>	梯度:	30 分钟内 5-60% B
	<b>773995-902</b>	温度:	25-30 °C (<60 °C)
流动相:	A: 20 mM NH <sub>4</sub> OH 溶于 H <sub>2</sub> O	流速:	1 mL/min
	B: 20 mM NH <sub>4</sub> OH 溶于 80% ACN		

## 反相 LC/MS 方法

蛋白质和多肽的 LC/MS 分析可为我们提供蛋白质表征所需的信息，让我们能够精确鉴定蛋白质的翻译后修饰，以及确定合成和天然多肽的分子量。LC/MS 还可在蛋白质组学应用中用于鉴定二维分离的蛋白质。因此，蛋白质和多肽的 LC/MS 分离是一个非常重要的分离领域，此类分析需要采用特殊的色谱柱和流动相。LC/MS 分离通常使用小尺寸色谱柱，并且一般不采用含 TFA 的流动相，因为这种流动相添加剂会降低 MS 灵敏度。



**分析型 LC/MS 应用** — 当样品量足够时，采用 2.1 mm 内径的色谱柱可以实现较高的灵敏度。  
若采用 Poroshell 柱，则适合采用 1 mm 内径的色谱柱。



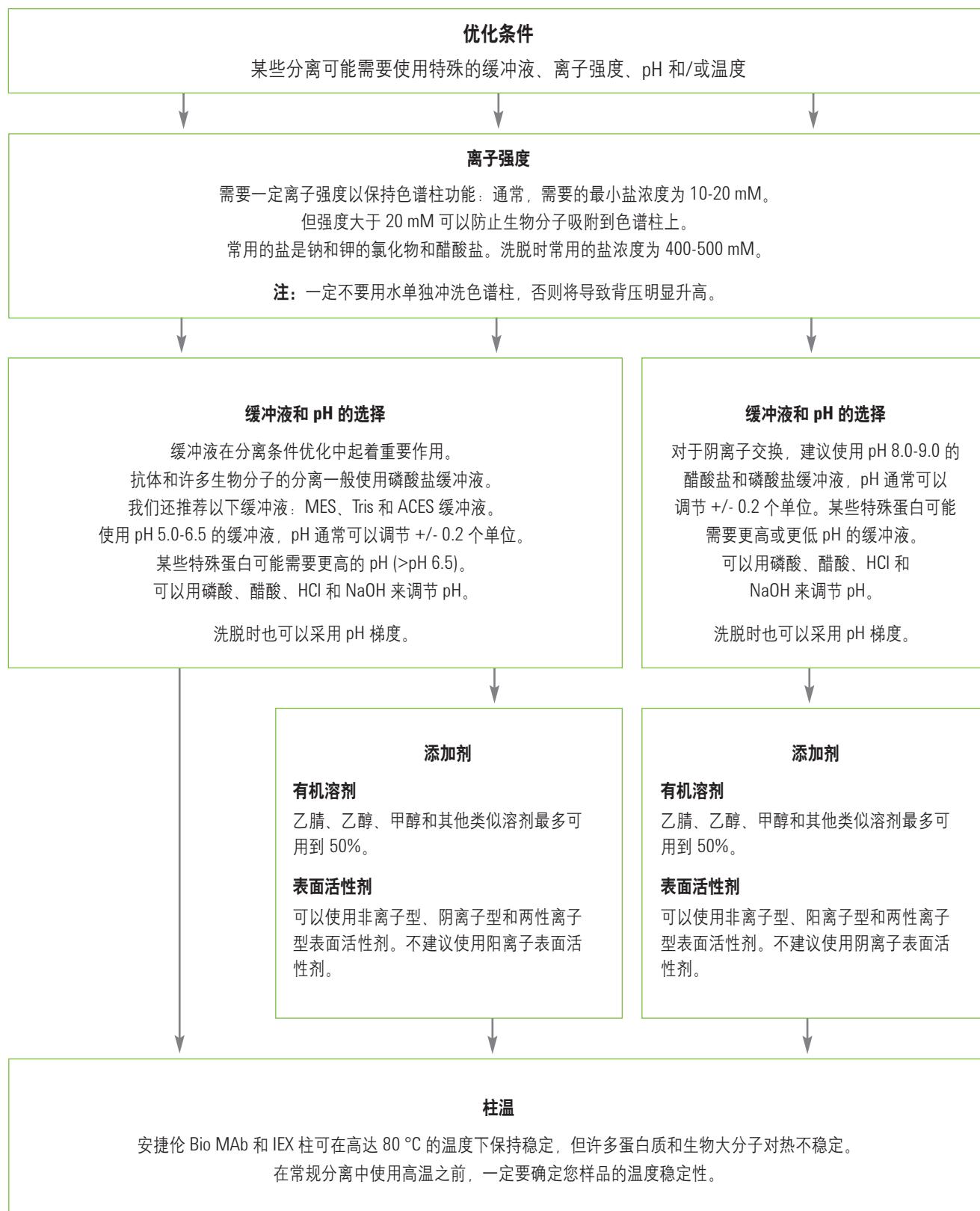
### 高灵敏度/蛋白质组学应用

毛细管色谱柱常用于高灵敏度的蛋白质和多肽应用。0.5 mm 内径的色谱柱适用于分离蛋白质和蛋白质酶解物，而 0.3 mm 内径的色谱柱则最常用于分离蛋白质酶解物的色谱柱。这些色谱柱可以在高 pH、氢氧化铵流动相条件下进行分析。纳流柱（0.1 和 0.075 mm 内径）常用于蛋白质组学二维 LC/MS 分析，起始键合相通常选择 C18。

## 电荷异构体分析方法

本节内容为电荷异构体分析色谱柱的选择策略，为 mAb、蛋白质或多肽的方法开发提供了一些关键细节。





## 电荷异构体分析方法（使用安捷伦缓冲溶液顾问）

通过四元混合产生 pH 恒定的盐浓度梯度

纯化时通过四元混合产生 pH 恒定的盐浓度梯度

### 推荐初始条件

#### 盐浓度梯度

(请参阅应用简报: 5990-9628CHCN)

<b>色谱柱:</b>	Agilent Bio WCX, 4.6 x 250 mm, 10 $\mu\text{m}$ Agilent Bio WCX, 4.6 x 250 mm, 5 $\mu\text{m}$
<b>流动相:</b>	A: 水 B: 1.6 M NaCl C: 40.0 mM NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> D: 40.0 mM Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>
	通过混合预先确定好比例的 C 和 D 组分，配制出 pH 在所需范围内的 20 mM 缓冲溶液。
<b>梯度:</b>	0 - 20 min 内 B 从 0 升至 50% (pH 恒定, 例如 pH 6.0) 20 - 25 min B 保持 50% 25 - 35 min, B 降至 0
<b>温度:</b>	室温
<b>进样量:</b>	10 $\mu\text{L}$
<b>样品:</b>	卵清蛋白、核糖核酸酶 A、细胞色素 C、溶菌酶
<b>样品浓度:</b>	2 mg/mL (溶于 20 mM 磷酸钠缓冲液, pH 6.0)
<b>检测:</b>	UV, 220 nm
<b>仪器:</b>	Agilent 1260 Infinity 生物惰性四元液相色谱

#### pH 梯度

(请参阅应用简报: 5990-9629CHCN)

<b>色谱柱:</b>	Agilent Bio MAb, 4.6 x 250 mm, 5 $\mu\text{m}$
<b>流动相:</b>	A: 水 B: 1.6 M NaCl C: 40.0 mM NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> D: 40.0 mM Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>
	通过混合预先确定好比例的 C 和 D 组分，配制出 pH 在所需范围内且具有特定离子强度的缓冲溶液。
<b>梯度:</b>	0 - 20 min 内 pH 从 6.0 升至 8.0 20 - 25 min 内 NaCl 从 0 升至 800 mM 25 - 30 min 内 NaCl 保持 800 mM
<b>温度:</b>	室温
<b>进样量:</b>	10 $\mu\text{L}$
<b>样品:</b>	IgG 单克隆抗体
<b>样品浓度:</b>	2 mg/mL (溶于 20 mM 磷酸钠缓冲液, pH 6.0)
<b>检测:</b>	UV, 220 nm
<b>仪器:</b>	Agilent 1260 Infinity 生物惰性四元液相色谱

**注:** 类似地, 上述方法也可应用于改良的安捷伦 WAX 和 SCX 色谱柱的分析

### 根据色谱柱内径和粒径选择流速

#### 2.1 mm 内径色谱柱

#### 4.6 mm 内径色谱柱

粒径, $\mu\text{m}$	流速, mL/min	粒径, $\mu\text{m}$	流速, mL/min
1.7	0.1-0.3	1.7	0.1-0.3
3	0.1-0.5	3	0.1-0.5
5	0.1-0.8	5	0.1-0.8
10	0.1-1.0	10	0.1-1.0

**注:** 从低流速和默认值开始, 然后缓慢提升到色谱柱的操作限值。

## 聚集体和片段分析方法

本节内容为聚集体分析色谱柱的选择策略，为 mAb、蛋白质或多肽的方法开发提供了一些关键细节。

为肽、多肽和蛋白质的生物分子、聚集体基于分子体积的分离选择初始色谱柱和条件

肽、多肽、蛋白质 MW >0.1-1250 kDa

肽、多肽、蛋白质 MW >0.1-10000 kDa

根据分子量范围和孔径选择色谱柱

### 安捷伦 Bio SEC-3 (3 μm)

孔径	分子量范围, kDa
100Å	0.1-100
150Å	0.5-150
300Å	5-1250

### 安捷伦 Bio SEC-5 (5 μm)

孔径	分子量范围, kDa
100Å	0.1-100
150Å	0.5-150
300Å	5-1250
500Å	15-5000
1000Å	50-7500
2000Å	>10000

### 推荐的初始分离条件

色谱柱: 安捷伦 Bio SEC (3 μm 和 5 μm)

温度: 推荐温度 10-30 °C, 最高温度 80 °C

流动相: 150 mM 磷酸盐缓冲液, pH 7.0\*

流速: 4.6 mm 内径柱 — 0.1-0.4 mL/min

梯度: 15-60 min 等度洗脱

7.8 mm 内径柱 — 0.1-1.25 mL/min

21.2 mm 内径柱 — 1.0-10.0 mL/min

样品量: ≤ 总柱体积的 5%

可以使用高盐和低盐的其它水相缓冲液

有关详细信息, 请参阅:

采用 Agilent BioHPLC 体积排阻色谱柱, 快速可靠地分离蛋白质聚集体和降解产物, 出版号 5991-2898CHCN

[www.agilent.com/chem/library:cn](http://www.agilent.com/chem/library:cn)

得到初始色谱图后，可能需要进行某些改变以改善分离度、保持蛋白质溶解性，或降低样品与色谱柱填料之间的相互作用。流动相的离子强度可以向上或向下调整，以获得最佳分离度，pH 值通常也可以调节 +/- 0.2 个单位。如果还需要进一步优化，则应再把向上或向下调整的范围扩大。还可以改变温度或是添加有机溶剂。



#### 对于需要加盐的方案，以下为常用缓冲液：

100-150 mM 氯化钠溶于 50 mM 磷酸钠, pH 7.0

100-150 mM 硫酸钠溶于 50 mM 磷酸钠, pH 7.0

50-150 mM 尿素溶于 50 mM 磷酸钠, pH 7.0

也可以采用其他类似的盐（如 KCl）和盐酸胍。

#### pH 范围：

2.0-8.5

#### 可添加的有机溶剂包括：

5-10% 乙醇（或其他类似溶剂）溶于 50 mM 磷酸钠, pH 7.0

5% DMSO 溶于 50 mM 磷酸钠, pH 7.0

我们还必须采取一定的措施以防止由于某些水相/有机溶剂混合物粘度过高而引起过大的压力变化。降低流速或增加温度可减少潜在的问题。

#### 柱温：

通常，SEC 分离都是在 20-30 °C 下进行。蛋白质和多肽的分离需要较高温度，以改善蛋白质和疏水性多肽的分离度和回收率。

Bio SEC 色谱柱的最高耐受温度是 80 °C。

## 多糖及亲水性多肽/糖肽分析

多糖 MW <5 kDa

糖肽和离亲水性多肽 MW <10 kDa

### 初始键合相

**AdvanceBio 糖谱分析色谱柱, 1.8 μm**

适用于快速分离和高通量分析

**AdvanceBio 糖谱分析色谱柱, 2.7 μm**

适用于高分离度分析, 250 mm 柱长  
采用表面多孔填料,  
可提高低压条件下的分离度

**ZORBAX RRHD 300-HILIC**

还可考虑: AdvanceBio 糖谱分析色谱柱

### 初始分离条件

**流动相:**

A: ACN  
B: 100 mM 甲酸铵, pH 4.5

**梯度:**

12 min 内 A 从 25% 升至 40%

**温度:**

55 °C

**流动相:**

A: ACN  
B: 100 mM 甲酸铵, pH 4.5

**梯度:**

35 min 内 A 从 25% 升至 60%

**温度:**

60 °C

**流动相:**

A: ACN  
B: 50 mM 甲酸铵, pH 4.5

**梯度:**

15 min 内 A 从 95% 降至 0%

**温度:**

室温

**色谱柱**

**规格**  
2.1 x 100 mm  
2.1 x 150 mm

**应用**  
高通量  
分析速度与分离度

**色谱柱**

**规格**  
2.1 x 100 mm  
2.1 x 150 mm  
2.1 x 250 mm  
4.6 x 100 mm  
4.6 x 150 mm  
4.6 x 250 mm

**应用**  
UHPLC 分析速度  
稳定的方法  
UHPLC 分离度  
HPLC 分析速度  
稳定的方法  
HPLC 分离度

**色谱柱**

**规格**  
2.1 x 50 mm  
2.1 x 100 mm

**应用**  
速度  
分离度

## 滴度测定和细胞培养优化方法

### Agilent Bio-Monolith Protein A 方法

#### 推荐条件

<b>色谱柱:</b>	Agilent Bio-Monolith Protein A (部件号 5069-3639)		
<b>流动相:</b>	A: 50 mM 磷酸盐, pH 7.4; B: 100 mM 柠檬酸, pH 2.8 mM 或 500 mM 乙酸, pH 2.6		
<b>梯度:</b>	<b>时间 (min)</b>	<b>%A</b>	<b>%B</b>
	0-0.5	100	0
	0.6-1.7	0	100
	1.8-3.5	100	0
<b>流速:</b>	结合 洗脱 再平衡		
<b>样品:</b>	1 mL/min		
<b>进样量:</b>	IgG1 (1-20 mg/mL) 和含 IgG1 (总蛋白浓度最高可达 20 mg/mL) 的 CHO 细胞上清液		
<b>温度:</b>	可变 (50 μL — 针对含 IgG1 的 CHO 细胞培养物上清液的优化进样体积)		
<b>检测:</b>	室温		
	UV, 280 nm		

**注:** 可向流动相中添加氯化钠等其他盐类 (浓度最高可为 150 mM)。是否可添加超过该浓度的其他盐类, 需通过实验确定。

### 提示与工具

安捷伦了解, 诸多因素都会影响 mAb 和蛋白质分离的分离质量。为了帮助您获得最佳结果, 我们开发了一系列使用指南。更多信息, 请参见

《最优化肽段表征的要点: 肽谱分析指南》, 出版号 5991-2348CHCN

*Ion-exchange chromatography for biomolecule analysis:A "How to" guide*  
(用离子交换色谱分析生物分子: 操作指南), 出版号 5991-3775EN

《使用体积排阻色谱法分析生物分子: 操作指南》, 出版号 5991-3651CHCN

有关上述内容的详细信息, 以及其他有助于您的表征分析的指南, 请访问:

[www.agilent.com/chem/getbioguides](http://www.agilent.com/chem/getbioguides)



## 高灵敏度毛细管柱方法

### 反相色谱法流动相选择策略

在 LC/MS 方法中，色谱柱洗脱液将直接从色谱柱流向 MS 检测器，因此流动相只能包含挥发性盐类和添加剂。并且为了达到最高灵敏度，还必须避免离子抑制或副产物的形成。

低 pH



蛋白和多肽的 LC/MS 分离一般不采用 TFA，因为它会抑制离子化并提高检测限。第一步我们通常采用 0.1-1% 的甲酸替代 TFA。醋酸（浓度最高可为 1%）也可以替代 TFA 作为流动相改性剂。在低 pH 条件下采用 TFA 作为流动相改性剂仍有可能获得最佳的分离结果，但分离的灵敏度会降低。在某些情况下，我们可以通过简单的在线脱盐/反离子交换方法，采用另一种酸（如丙酸）对 TFA 进行柱后取代。

中和高 pH



蛋白质的鉴定通常不采用高 pH 条件，但在高 pH 条件下，采用 10-20 mM NH<sub>4</sub>OH 作为流动相添加剂仍可进行 LC/MS 分析。

## 用于蛋白质鉴定和杂质分析的安捷伦仪器

### Agilent 1260 Infinity 生物惰性四元液相色谱： 蛋白质分离的最佳选择

唯一能提供无金属样品流路的 UHPLC。其他优势还包括：

#### ► 100% 生物惰性

- 不使用不锈钢：样品不会接触到金属表面可耐受
- 可耐受 pH 1 至的条件（短时间可耐受 pH 14）
- 可在 2 M 盐和 8 M 尿素条件下操作
- 最新的毛细管技术

#### ► UHPLC 级分析性能：600 bar

#### ► 稳定易用：表面活性低，耐腐蚀，主动密封垫冲洗和四元缓冲液混合功能

#### 非常适用于蛋白质鉴定

要得到最佳结果，请与 AdvanceBio 肽谱分析色谱柱、Bio SEC-3 和 Bio IEX 1.7  $\mu\text{m}$  色谱柱一同使用



### Agilent 1290 Infinity 二元液相色谱：

#### 我们应用范围最广泛、适应性最强的 UHPLC 系统

在 LC/UV 和 LC/MS 中具有最佳单位时间分离度、分散性、灵敏度、准确度和精度。与创新性的主动阻尼、微流混合和光流波导检测技术相结合，可实现：

- 高达 1200 bar 和 5 mL/min 的 UHPLC 性能范围
- 最快和最简便的方法转移（使用 ISET，安捷伦独特的智能系统模拟技术）
- 以 HPLC 的使用维护成本，获得 UHPLC 的生产率

#### 适用于杂质分析、肽谱分析或超快速梯度

要获得最佳结果，请与 ZORBAX RRHD 300 $\text{\AA}$  1.8  $\mu\text{m}$  色谱柱一同使用





### Agilent 1260 Infinity 二元液相色谱：

将分析型 HPLC 的标准提升至 600 bar、80 Hz 高速检测器  
和最高 10 倍的灵敏度

100% HPLC 兼容性，拥有 UHPLC 的功能，加上：

- ▶ 以 HPLC 的使用维护成本，获得 UHPLC 的性能
- ▶ 支持液相色谱和液质联用色谱系统应用，可使用任何窄径和标准内径分析柱（2.1 到 4.6 mm 内径）
- ▶ 高压混合获得卓越的梯度准确度

适用于所有标准 UHPLC 应用



### Agilent 1290 Infinity 四元液相色谱：

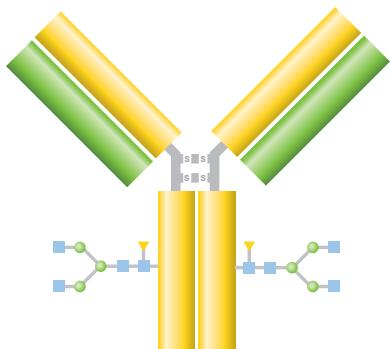
高性能与灵活性的结合

唯一具有二元泵准确性和精度的四元 UHPLC 系统。其他优势还包括：

- ▶ 高达 1200 bar 和 5 mL/min 的 UHPLC 性能范围
- ▶ BlendAssist（混合助手），实现缓冲液和添加剂准确混合的最简便工具
- ▶ 以 HPLC 的使用维护成本，获得 UHPLC 的生产率

适用于方法开发或含准确缓冲液混合功能的无人值守 (walk-up) 系统

如需了解这些先进系统的详细信息，请访问：[agilent.com/chem/BioHPLC](http://agilent.com/chem/BioHPLC)



## 一级结构分析

### 准确测定氨基酸序列及翻译后修饰

要完整表征一种蛋白质（例如单克隆抗体），需要考察其一级氨基酸序列以及其在制备过程的纯化或制剂步骤中可能发生的所有序列翻译后修饰。此类分析需要变性条件，所以我们通常采用反相液相色谱技术。

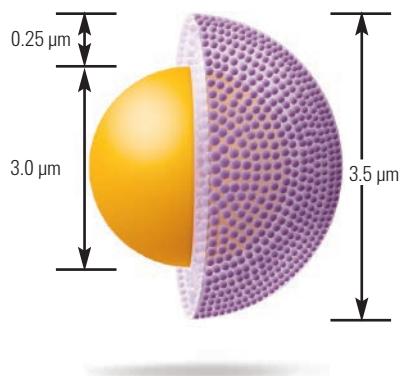
安捷伦提供行业内种类最多的大孔径 300Å, 450Å 色谱柱，以及孔径更大的反相 BioHPLC 柱，并且所有这些色谱柱产品均由遍布全球的技术支持专家和应用化学家提供支持。这些色谱柱产品系列包括 1.8、3.5 和 5 µm 全多孔填料色谱柱，适用于压力 400 到 1200 bar 的色谱系统，还包括三种不同的表面多孔填料色谱柱，适用于较低压力下的 UHPLC 分离，此外还有可应对极端分析条件的聚合物色谱柱。

- **Agilent AdvanceBio RP-mAb 色谱柱：**唯一针对 mAb 表征而设计的反相色谱柱。通过 450Å 孔径 Poroshell 技术以及适合的键合相选择性，可快速、高分离度地表征完整 mAb 和 mAb 片段。
- **Agilent ZORBAX RRHD 300Å 1.8 µm 色谱柱：**为完整蛋白质、蛋白质片段以及蛋白质酶解物的反相分离提供 UHPLC 分析性能，在 1200 bar 下性能稳定。
- **Agilent ZORBAX 300Å 3.5 和 5 µm 色谱柱：**采用全多孔填料，适用于 HPLC 分离和制备级分离；多种键合相还可扩展至 1.8 µm 填料。
- **Agilent Poroshell 300 色谱柱：**业内首款用于多肽和蛋白质快速分离的表面多孔小粒径填料柱。
- **Agilent AdvanceBio 肽谱分析色谱柱：**快速分离和鉴定一级结构中的氨基酸修饰。AdvanceBio 肽谱分析色谱柱采用 2.7 µm 填料，具有 C18 官能团，能够为碱性疏水性多肽的分离提供卓越的保留性能、分离度和峰形。
- **Agilent PLRP-S 色谱柱：**大孔聚合物填料可以在最宽的 pH 范围内进行 HPLC 分离。PLRP-S 柱具有 3 种宽孔径尺寸和 8 种填料粒径，可以为多肽、蛋白质以及蛋白质复合体的分析以及制备分离提供最佳解决方案。

## 反相柱的选择

应用	安捷伦色谱柱	说明
单克隆抗体和 mAb 片段	AdvanceBio RP-mAb • C4 • SB-C8 • 联苯柱	基于 Poroshell 技术，采用该技术制造的表面多孔填料可降低扩散距离，因此我们可使用更高的流速及更陡的梯度，从而缩短分析时间 — 即使在 600 bar 系统上也不例外。 450Å 孔径使大分子可与键合相完全接触，确保最佳的色谱性能。 专门针对单克隆抗体分离而设计的稳定键合固定相，提供宽泛的选择性范围，帮助您优化分离分析。
完整蛋白质、单克隆抗体、mAb 片段和多肽	ZORBAX 300Å, 1.8 µm • RRHD 300SB-C18 柱 • RRHD 300SB-C8 柱 • RRHD 300SB-C3 柱 • RRHD 300-联苯柱  ZORBAX 300Å, 3.5 和 5 µm • 300SB-C18 • 300SB-C8 • 300SB-C3 • 300SB-CN	优化的填充工艺使其可耐压高达 1200 bar，因此适用于 Agilent 1290 Infinity 液相色谱系统。RRHD 1.8 µm 色谱柱有 50 和 100 mm 两种规格可选，分别适用于最复杂样品的快速分离和高分离度（真正的高分离度）分离。StableBond C18 色谱柱是分离复杂的蛋白质及蛋白质酶解产物的理想选择。  HPLC 系统的理想选择。 StableBond C3 和 CN 柱特别适用于更大、疏水性更强的化合物。
	ZORBAX 300Å Extend-C18 色谱柱	包含独特的双齿硅烷，并结合双封端工艺，可有效保护硅胶颗粒，可使其在高 pH（高达 pH 11.5）条件下免于发生溶解。
大分子完整蛋白质	Poroshell 300 色谱柱 • 300SB-C18 • 300SB-C8 • 300SB-C3 • 300Extend-C18	5 µm Poroshell 填料及 300Å 孔径可实现完整蛋白质的快速 HPLC 分离。
蛋白质酶解物中的蛋白质	AdvanceBio 肽谱分析色谱柱	理想的 120Å 孔径，可用于鉴定较宽分子量范围内的多肽。采用复杂的多肽混标进行了测试，可确保色谱柱性能。独特的 Agilent Poroshell 技术可缩短分析时间并提高全多肽序列的分离度。
多肽到 DNA	PLRP-S 色谱柱	填料颗粒本身具有疏水性，因此不需要烷基配体键合相即可进行反相分离。这也使得这些填料成为了不含硅醇和重金属离子的高重现性填料。
小分子/合成	100Å	
重组多肽/蛋白质	300Å	
大分子蛋白	1000Å	
DNA/高速分离	4000Å	
氨基酸	ZORBAX Eclipse 氨基酸分析 (AAA) 柱	采用众所周知的 OPA 和 FMOC 柱前衍生化方法进行了针对氨基酸分析的测试。 提供适用于 HPLC 和 UHPLC 的不同选择。





## AdvanceBio RP-mAb

- 更高的准确性度:** 大孔径 (450Å) 的表面多孔颗粒填料 (3.5 μm) 兼容所有液相色谱仪，可提高 mAb 分离度
- 速度更快:** 与填充相同尺寸的全多孔颗粒填料的色谱柱相比，分析时间更短
- 灵活的方法开发:** 固定相范围：SB-C8、C4 和联苯固定相
- 成本更低:** 稳定的 Poroshell 填充床和 2 μm 入口滤芯可防止入口堵塞，从而延长色谱柱使用寿命

## 专注于应对单克隆抗体表征特有挑战的唯一反相色谱柱

完整和还原态单克隆抗体的分析是表征治疗性蛋白质以及了解其有效性与稳定性的重要测量手段。不良的色谱分离性能可能导致返工，甚至影响表征的准确度。较长的分析时间会降低实验室通量，还会由于不能及时提供表征结果而影响决策。

为了解决这些问题，安捷伦开发出一种新型反相色谱柱来优化完整和还原态 mAb 分析的性能。Agilent AdvanceBio RP-mAb 色谱柱基于 Poroshell 技术，具有独特的孔径与键合相工艺设计。



### 提示与工具

有关单克隆抗体一级结构表征的更多信息，请参阅：

*Better Characterization of Biomolecules using Agilent AdvanceBio Reversed-Phase Columns*  
(使用安捷伦 AdvanceBio 反相色谱柱优化生物分子的表征)，出版号 5991-2032EN

[www.agilent.com/chem/library](http://www.agilent.com/chem/library)

我们通常采用低流速和平缓的梯度以较慢的速度分离大分子物质（例如多肽和蛋白质），这是为了减少此类低扩散分析物可能发生的峰展宽现象。AdvanceBio RP-mAb 色谱柱采用了 Poroshell 技术，其使用的表面多孔填料颗粒通过在 3.0 μm 的固体硅胶内核上涂覆仅 0.25 μm 的多孔硅胶薄层而制成。这种构造的填料颗粒可降低扩散距离，因此我们可使用更高的流速和更陡的梯度，甚至 600 bar 系统中也不例外。多孔硅胶薄层上直径达 450 Å 的孔使得大分子的单克隆抗体可与键合相完全接触，确保最佳的色谱性能。适用于单克隆抗体分离的稳定键合固定相，其包括 C4、SB-C8 以及独特的联苯固定相，可提供宽泛的选择性范围，帮助您优化分离分析。

Agilent AdvanceBio RP-mAb 色谱柱可实现更高的分离度与更短的运行时间，从而为生物制药发现、开发和 QA/QC 应用提供快速、准确、可重现的单克隆抗体分析结果。

#### 色谱柱性能指标

键合相	孔径	温度限*	pH 范围*	封端
AdvanceBio RP-mAb C4 色谱柱	450 Å	90 °C	1.0-8.0	是
AdvanceBio RP-mAb SB-C8	450 Å	90 °C	1.0-8.0	否
AdvanceBio RP-mAb 联苯柱	450 Å	90 °C	1.0-8.0	是

以上指标只代表典型仪器性能指标值。

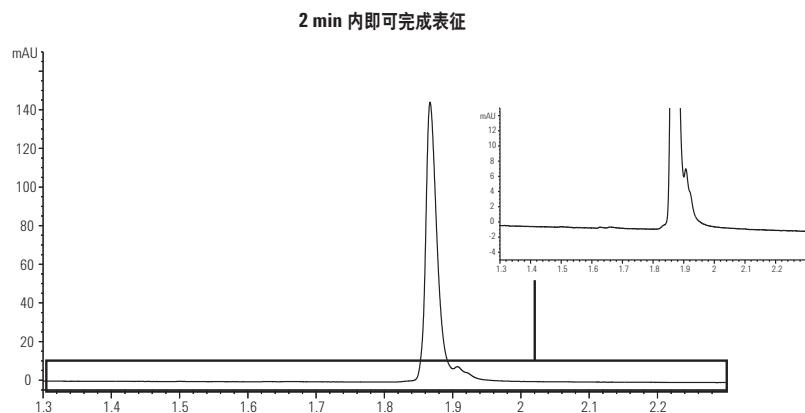
\*该色谱柱专为低 pH 条件下的应用而设计。所有硅胶基色谱柱在 pH 6-8 条件下，采用 < 40 °C 的柱温和较低的缓冲液浓度 (0.01-0.02 M)，可获得最高的柱稳定性。

### 赫赛汀变体 IgG1 的高速、高分离度分离

色谱柱: AdvanceBio RP-mAb C4  
795775-904  
2.1 x 100 mm, 3.5  $\mu$ m

流动相: A: 0.1% TFA 溶于水:IPA (98:2)  
B: IPA:ACN:流动相 A (70:20:10)  
流速: 1.0 mL/min  
梯度: 4 min 内 B 由 10% 升至 50%，以 95% B  
淋洗 1 min，并以 10% B 重新平衡 1 min

柱温: 80 °C  
检测器: UV, 254 nm  
样品: 5  $\mu$ L 完整人源化重组赫赛汀变体 IgG1,  
购自 Creative Biolabs (1 mg/mL)

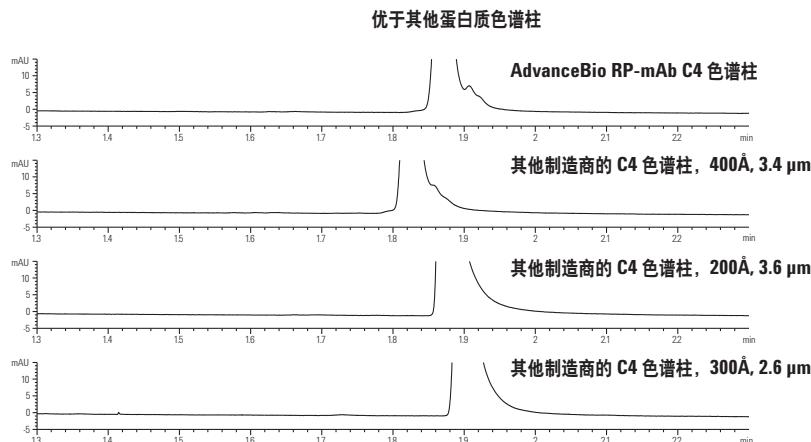


AdvanceBio RP-mAb C4 柱提供尖锐的峰形，可在 2 min 内使分析物实现完美分离。

## 完整人源化重组赫赛汀 IgG1 的分离

色谱柱: AdvanceBio RP-mAb C4  
795775-904  
2.1 x 100 mm, 3.5  $\mu$ m

流动相: A: 含 0.1% TFA 的水:异丙醇 (98:2)  
B: IPA:ACN:流动相 A (70:20:10)  
流速: 1.0 mL/min  
梯度: 4 min 内 B 由 10% 升至 58%，以 95%  
B 淋洗 1 min，并以 10% B 重新平衡  
1 min  
柱温: 80 °C  
检测器: UV, 254 nm  
样品: 5  $\mu$ L 完整人源化重组赫赛汀变体  
IgG1，购自 Creative Biolabs (1 mg/mL)

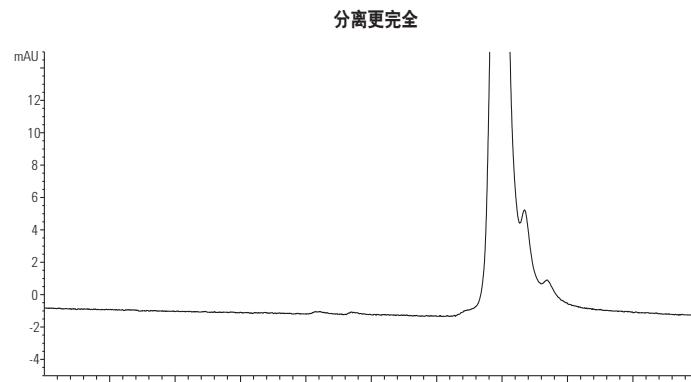


AdvanceBio RP-mAb 专为分离 mAb 而设计，其分离完整蛋白质的峰形和分离度均优于其他色谱柱。

## 选择性联苯固定相

色谱柱: AdvanceBio RP-mAb 联苯柱  
795775-944  
2.1 x 100 mm, 3.5  $\mu$ m

流动相: A: 含 0.1% TFA 的水溶液: IPA (98:2)  
B: IPA:ACN:流动相 A (70:20:10)  
流速: 1.0 mL/min  
梯度: 4 min 内 B 由 10% 升至 58%，以 95% B 淋洗  
1 min，并以 10% B 重新平衡 1 min  
柱温: 80 °C  
检测器: UV, 254 nm  
样品: 5  $\mu$ L 完整人源化重组赫赛汀变体 IgG1，购自  
Creative Biolabs (1 mg/mL)

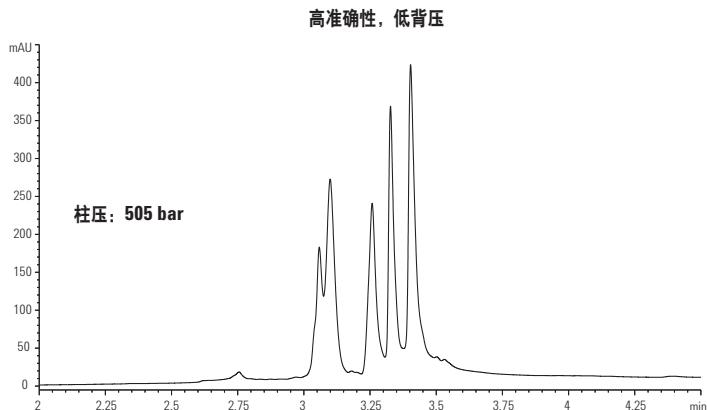


具有卓越选择性的 AdvanceBio RP-mAb 联苯柱可提供更为完全的分离。

**Poroshell 的优势**

色谱柱: AdvanceBio RP-mAb SB-C8  
**785775-906**  
**2.1 x 100 mm, 3.5 μm**

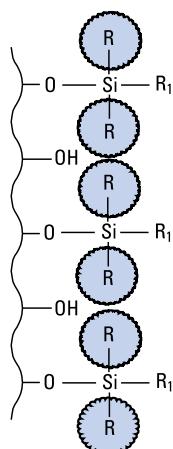
流动相: A: 0.1% TFA 的水溶液  
 B: 正丙醇:乙腈:流动相 A (80:10:10)  
 流速: 0.8 mL/min  
 梯度: 5 min 内 B 由 5% 升至 40%，以 95% B 淋洗  
 1 min，并以 10% B 重新平衡 1 min  
 柱温: 60 °C  
 检测器: UV, 220 nm  
 样品: 1 μL Fc/Fab, 由木瓜蛋白酶水解购自 Creative  
 Biolabs 的人源化重组赫赛汀变体 IgG1 (2 mg/mL)  
 得到。



采用大孔径 Poroshell 技术的 AdvanceBio RP-mAb 色谱柱不仅柱效高、分析时间短、压力低，而且温度也低于多数反相方法的一般温度 (80 °C)。

**AdvanceBio RP-mAb**

粒径 (mm)	填料粒径 (μm)	AdvanceBio RP-mAb C4 色谱柱 USP L26	AdvanceBio RP-mAb SB-C8 色谱柱 USP L7	AdvanceBio RP-mAb 联苯 色谱柱 USP L11
4.6 x 150	3.5	793975-904	783975-906	793975-944
4.6 x 100	3.5	795975-904	785975-906	795975-944
4.6 x 50	3.5	799975-904	789975-906	799975-944
2.1 x 150	3.5	793775-904	783775-906	793775-944
2.1 x 100	3.5	795775-904	785775-906	795775-944
2.1 x 75	3.5	797775-904	787775-906	797775-944
2.1 x 50	3.5	799775-904	789775-906	799775-944



空间位阻的 300StableBond 键合固定相

## ZORBAX 300Å StableBond

Agilent ZORBAX 300A StableBond 色谱柱是进行蛋白质和多肽的高重现性分离的理想之选，其原因主要有两点。首先，要高效地分离蛋白质和多肽（或其他大分子），必须使用大孔径的 300Å 色谱柱，因为这样才能使这些分析物与键合相充分接触。第二，300StableBond 柱对低 pH 条件具有无可比拟的耐受性，如蛋白质和多肽分离中常用的含 TFA 的流动相。对于低 pH 条件下的 LC/MS 分离，300StableBond 色谱柱还可以使用甲酸和乙酸流动相改性剂。这类色谱柱有五种不同键合相可供选择（C18、C8、C3、CN 和联苯（DP）），用于优化蛋白质和多肽分析的选择性与回收率。为了进一步提高样品回收率并改进难复杂蛋白质的分离效率，300StableBond 柱可以在高达 80 °C 的温度下使用。StableBond 300SB-C18 和 300SB-C8 柱是分离复杂的蛋白质及蛋白质酶解产物的理想选择。这些色谱柱有毛细管柱（0.3 和 0.5 mm 内径）和纳流柱（0.075 和 0.10 mm 内径）规格，适用于蛋白质酶解产物的反相 LC/MS 分离。毛细管柱和纳流柱既可以用于一维又可以用于二维蛋白质组学分离。



### UHPLC 色谱柱性能指标

键合相	孔径	温度上限*	pH 范围*	封端
ZORBAX RRHD 300SB-C18 柱	300Å	90 °C	1.0-8.0	无
ZORBAX RRHD 300SB-C8 色谱柱	300Å	80 °C	1.0-8.0	无
ZORBAX RRHD 300SB-C3 色谱柱	300Å	80 °C	1.0-8.0	无
ZORBAX RRHD 300-联苯柱	300Å	80 °C	1.0-8.0	有
ZORBAX 300SB-C18	300Å	90 °C	1.0-8.0	无
ZORBAX 300SB-C8	300Å	80 °C	1.0-8.0	无
ZORBAX 300SB-C3	300Å	80 °C	1.0-8.0	无
ZORBAX 300SB-CN	300Å	80 °C	1.0-8.0	无

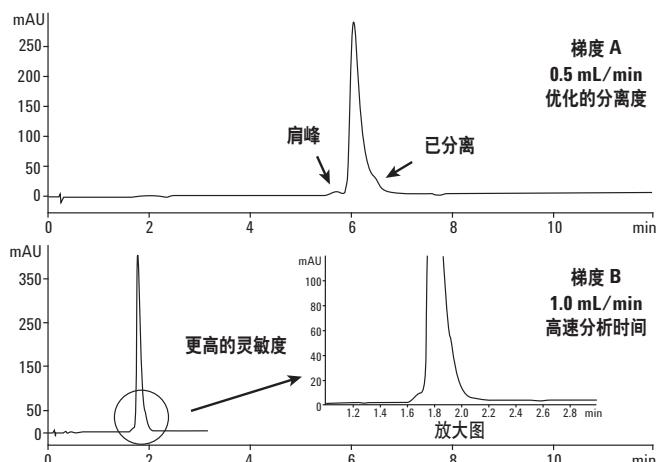
指标只代表一般意义上的典型值

\*300StableBond 柱专为低 pH 条件下的应用而设计。所有硅胶基色谱柱在 pH 6-8 条件下，采用 <40 °C 的柱温和较低的缓冲液浓度 (0.01-0.02 M)，可获得最高的柱稳定性。而在中等或高 pH 条件下，我们推荐您使用 300Extend-C18 色谱柱。

## 完整单克隆抗体的更高分离度

色谱柱: ZORBAX RRHD 300SB-C8 柱  
857750-906  
2.1 x 50 mm, 1.8  $\mu$ m

流动相: A: 水:IPA (98:2) + 0.1% TFA (v/v)  
B: IPA:ACN:H<sub>2</sub>O (70:20:10) + 0.1% TFA (v/v)  
流速: 在 0.5 mL/min 和 1.0 mL/min 之间  
梯度: 多段线性洗脱  
柱温: 80 °C  
检测器: 1290 Infinity 液相色谱系统, 配备自动进样器 (ALS),  
二元泵、柱温箱, 以及二极管阵列检测器 (DAD)  
检测: UV, 225 nm



### 提示与工具

如需了解更多有关使用安捷伦 AdvanceBio 反相色谱柱优化生物分子表征的信息, 请参阅有关该内容的白皮书 (出版号 5991-2032EN)  
[www.agilent.com/chem/library](http://www.agilent.com/chem/library)

### 提示与工具

蛋白质和多肽分离常用的流动相通常添加 TFA (或其他酸) 形成极低 pH 值, 以溶解蛋白质。StableBond 柱在这种条件下具有极高的柱寿命。可提供 300Å 孔径柱, 适用于高达 100-500 kDa 的蛋白质分离。

## 还原及烷基化 mAb — 分离轻链和重链异构体

色谱柱: **ZORBAX RRHD 300SB-C8 柱  
858750-906  
2.1 x 100 mm, 1.8 μm**

流动相: A: 水 + 0.1% TFA (v/v)  
B: 正丙醇:ACN:H<sub>2</sub>O (80:10:10) + 0.1% TFA (v/v)

流速: 0.5 mL/min

梯度: 多片段

% 溶剂 B	时间 (min)
20	0
35	3
40	4
40	5
90	5.1
90	5.5
25	6

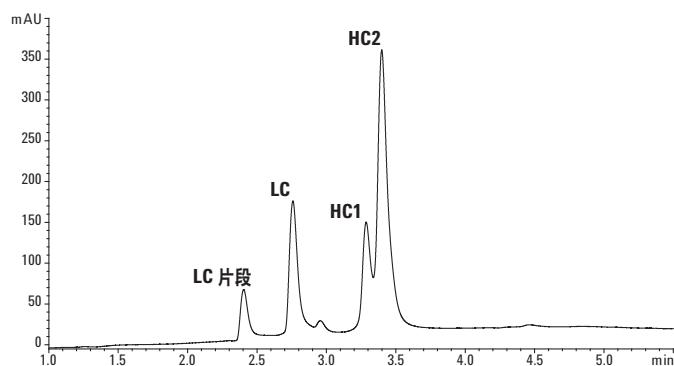
进样: 3 μL (来自 2.5 mg/mL 样品)

柱温: 75 °C

检测器: UV, 225 nm

仪器: Agilent 1290 Infinity 液相色谱系统, 配备自动进样器 (ALS)、二元泵、柱温箱, 以及二极管阵列检测器 (DAD)

为了连续进行色谱分析, 增加了 2 分钟的后运行程序对色谱柱进行再平衡。



## 更高的单克隆抗体分析重现性

色谱柱: **ZORBAX RRHD 300SB-C8 柱  
857750-906  
2.1 x 50 mm, 1.8 μm**

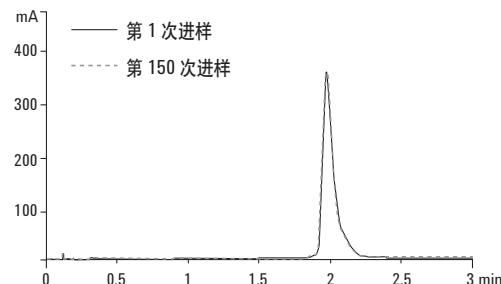
流动相: A: 水:IPA (98:2), 0.1% TFA  
B: IPA:ACN:H<sub>2</sub>O (70:20:10), 0.1% TFA

流速: 1.0 mL/min

柱温: 80 °C

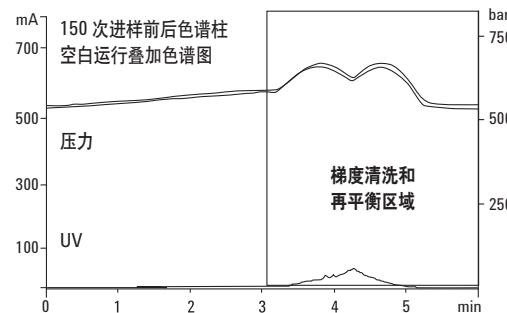
检测器: 1290 Infinity LC, 带二极管阵列检测器,  
检测波长 225 nm

样品: mAb



## 梯度

时间 (分钟)	% 溶剂 B
0.00	25
3.00	35
4.00	90
5.00	25



安捷伦 ZORBAX 300SB-C8 柱的优异重现性和蛋白回收率

**针对 mAb 的表征分析为您提供多种具有独特选择性的色谱柱产品**

色谱柱: **ZORBAX RRHD 300SB-C18**

**858750-902**

**2.1 x 100 mm, 1.8 μm**

**ZORBAX RRHD 300SB-C3 色谱柱**

**858750-909**

**2.1 x 100 mm, 1.8 μm**

**ZORBAX RRHD 300SB-C8 柱**

**858750-906**

**2.1 x 100 mm, 1.8 μm**

**ZORBAX RRHD 300-联苯柱**

**858750-944**

**2.1 x 100 mm, 1.8 μm**

流动相: A: 水 (0.1% TFA) (v/v)

B: 80% nPA:10% ACN:10% H<sub>2</sub>O (0.08% TFA) (v/v)

流速: 1.0 mL/min (3.5 μm\*), 1.0 mL/min (1.8 μm)

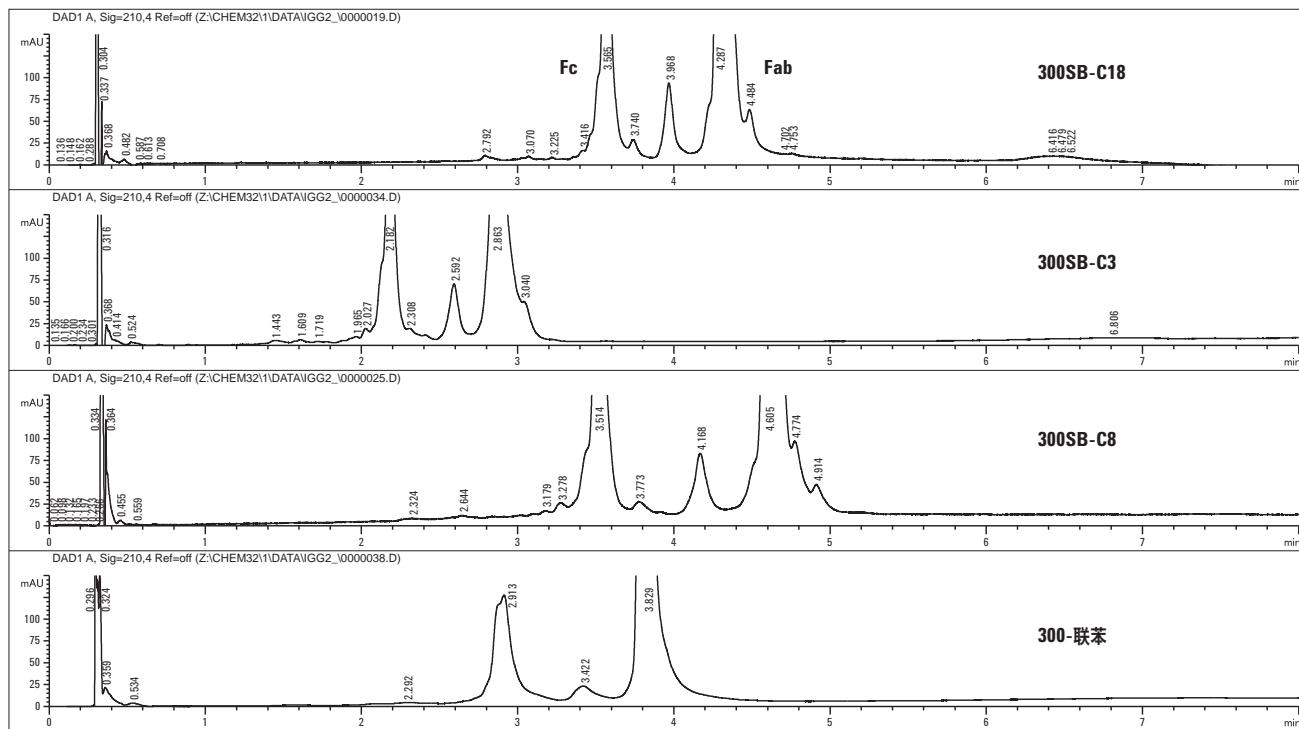
梯度: 25-35% B, 90% 清洗

柱温: 80 °C

检测器: UV, 215 nm

进样量: 3 μL (来自 2.5 mg/mL 样品)

\* 低流速将导致峰变宽。



## 多肽/蛋白质：温度升高的影响

色谱柱: **ZORBAX 300SB-C3  
883995-909  
4.6 x 150 mm, 5 μm**

流动相: A: 5:95 乙腈:水, 含 0.10% TFA (v/v%)  
B: 95:5 乙腈:水, 含 0.085% TFA (v/v%)

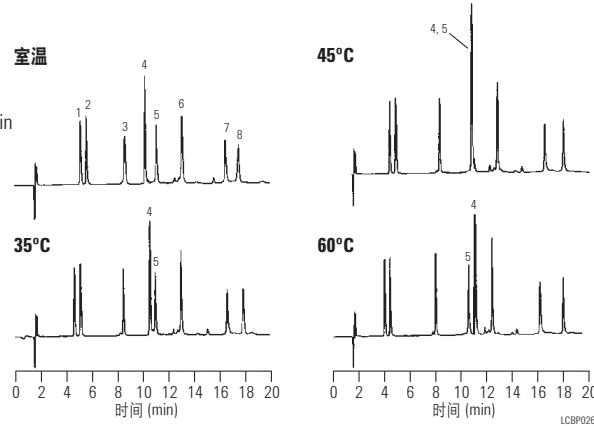
流速: 1.0 mL/min

梯度: 20 min 内由 15% 升至 53%, 后运行时间 12 min

柱温: 室温 - 60 °C

检测器: UV, 215 nm

样品: 多肽



1. 亮氨酸脑啡肽
2. 血管紧张素 II
3. 核糖核酸酶 A
4. 牛胰岛素 (BOV)
5. 细胞色素 C
6. 溶菌酶
7. 肌红蛋白
8. 碳酸酐酶

## 短链 ZORBAX 300SB-C3 填料在低 pH 和高温下

### 稳定

色谱柱: **ZORBAX 300SB-C3  
883995-909  
4.6 x 150 mm, 5 μm**

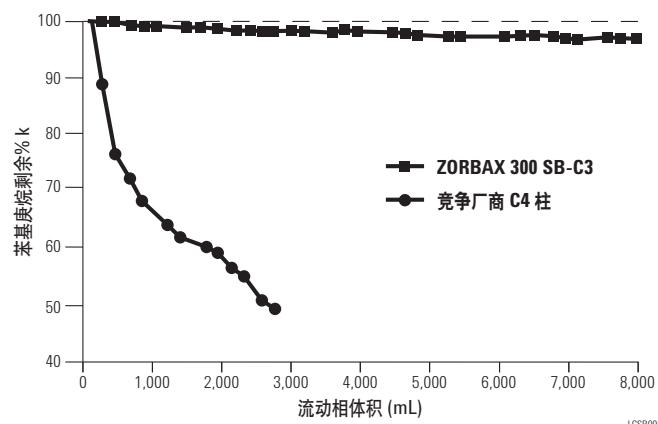
流动相: 梯度 80 min 内 B 从 0% 升至 100%

A: 0.5% TFA 水溶液

B: 0.5% TFA 的乙腈溶液, 等度保留测试条件:  
1-苯基庚烷 50% A, 50% B

流速: 1.0 mL/min

柱温: 60 °C



## 四种不同的 300SB 键合固定相优化了大分子多肽的分离

**A 柱:** ZORBAX RRHD 300SB-C18

883995-902

4.6 x 150 mm, 5 μm

**B 柱:** ZORBAX 300SB-C8

883995-906

4.6 x 150 mm, 5 μm

**C 柱:** ZORBAX 300SB-C3

883995-909

4.6 x 150 mm, 5 μm

**D 柱:** ZORBAX 300SB-CN

883995-905

4.6 x 150 mm, 5 μm

流动相: 线性梯度, 40 min 内 B 由 25% 升至 70%

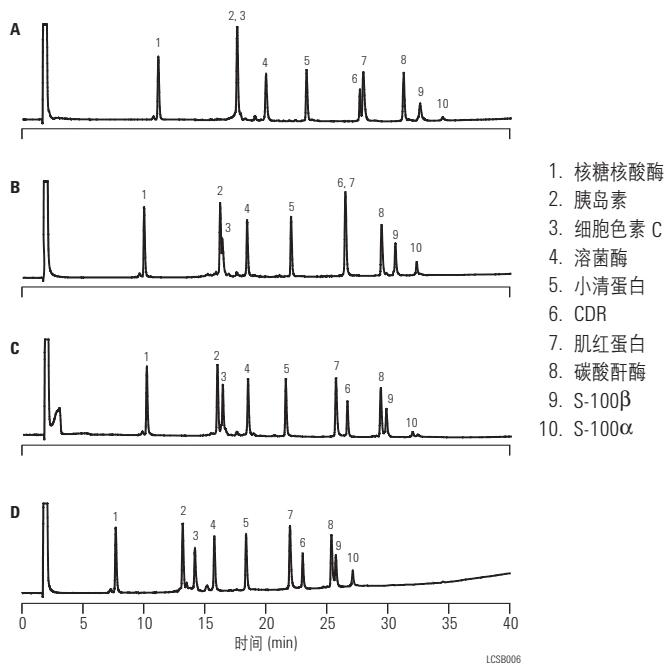
A: 0.1% TFA 水溶液

B: 含 0.09% TFA 的 80% 乙腈:20% 水

流速: 1.0 mL/min

柱温: 60 °C

样品: 每种蛋白质各 3 μg



300SB-C18、C8、C3 和 CN 键合固定相均为该组多肽提供了不同的分离。这为快速优化蛋白质分离增加了一个重要的参数。300SB-CN 色谱柱对亲水性较强的多肽提供独特选择性。

### 提示与工具

Agilent 1290 Infinity LC 提供更快捷的结果和更高的数据质量——确保在更短时间内作出更明智的决策。效率的提高使您更具竞争优势，并获得更高的投资回报。亲自计算采用 1290 Infinity 技术可以节省多少经费。在线方法转移工具和经费节省计算器，帮助您转移您的 HPLC 方法，以及计算您节省的经费，请访问 [www.agilent.com/chem/hplc2uhplc](http://www.agilent.com/chem/hplc2uhplc)。

**ZORBAX 300Å StableBond**

标志	说明	规格 (mm)	填料粒径 ( $\mu\text{m}$ )	300SB-C18 USP L1	300SB-C8 USP L7	300SB-CN USP L10	300SB-C3 USP L56	300-Diphenyl USP L11
<b>标准色谱柱 (无需配卡套)</b>								
	半制备柱	9.4 x 250	5	880995-202	880995-206	880995-205	880995-209	
	分析柱	4.6 x 250	5	880995-902	880995-906	880995-905	880995-909	
	分析柱	4.6 x 150	5	883995-902	883995-906	883995-905	883995-909	
	分析柱	4.6 x 50	5	860950-902	860950-906	860950-905	860950-909	
	快速分离柱	4.6 x 150	3.5	863973-902	863973-906	863973-905	863973-909	
	快速分离柱	4.6 x 100	3.5	861973-902	861973-906			
	快速分离柱	4.6 x 50	3.5	865973-902	865973-906	865973-905	865973-909	
	增强型溶剂节省柱	3.0 x 150	3.5	863974-302	863974-306		863974-309	
	增强型溶剂节省柱	3.0 x 100	3.5		861973-306			
	窄径柱	2.1 x 250	5	881750-902				
	窄径柱	2.1 x 150	5	883750-902	883750-906	883750-905	883750-909	
	快速分离窄径柱	2.1 x 150	3.5		863750-906			
	快速分离窄径柱	2.1 x 100	3.5	861775-902	861775-906			
	快速分离窄径柱	2.1 x 50	3.5	865750-902	865750-906			
	窄径 Bore RRHD	2.1 x 100	1.8	858750-902	858750-906		858750-909	858750-944
	窄径 RRHD 柱	2.1 x 50	1.8	857750-902	857750-906		857750-909	857750-944
	微径柱	1.0 x 250	5	861630-902				
	快速分离微径柱	1.0 x 150	3.5	863630-902	863630-906			
	快速分离微径柱	1.0 x 50	3.5	865630-902	865630-906			
	微径保护柱, 3/包	1.0 x 17	5	5185-5920	5185-5920			
<b>P</b>	保护柱芯, 2/包	9.4 x 15	7	820675-124	820675-124	820675-124	820675-124	
<b>ZGC</b>	保护柱芯, 4/包	4.6 x 12.5	5	820950-921	820950-918	820950-923	820950-924	
<b>ZGC</b>	保护柱芯, 4/包	2.1 x 12.5	5	821125-918	821125-918	821125-924	821125-924	
<b>P</b>	保护柱卡套			840140-901	840140-901	840140-901	840140-901	
<b>ZGC</b>	保护柱卡套			820999-901	820999-901	820999-901	820999-901	



(接转下页)

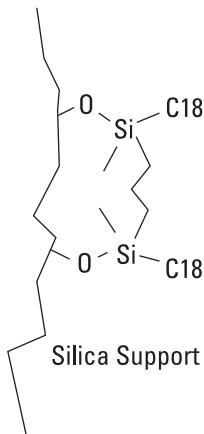
**提示与工具**

我们为您提供所需的信息和工具，助您将您的安捷伦仪器性能发挥至极致，获得这些重要的生物制药资源，请访问：

[www.agilent.com/chem/getbioguides](http://www.agilent.com/chem/getbioguides)

**ZORBAX 300Å StableBond**

标志	说明	规格 (mm)	填料粒径 ( $\mu\text{m}$ )	300SB-C18 USP L1	300SB-C8 USP L7	300SB-CN USP L10	300SB-C3 USP L56	300-Diphenyl USP L11
<b>PrepHT 卡套柱 (需要柱接头 820400-901)</b>								
▲	PrepHT 卡套柱	21.2 x 250	7	897250-102	897250-106	897250-105	897250-109	
▲	PrepHT 卡套柱	21.2 x 150	7	897150-102	897150-106		897150-109	
▲	PrepHT 卡套柱	21.2 x 150	5	895150-902	895150-906		895150-909	
▲	PrepHT 卡套柱	21.2 x 100	5	895100-902	895100-906		895100-909	
▲	PrepHT 卡套柱	21.2 x 50	5	895050-902	895050-906		895050-909	
▲	PrepHT 柱端接头, 2/包			820400-901	820400-901	820400-901	820400-901	
▲	PrepHT 保护柱芯, 2/包	17.0 x 7.5	5	820212-921	820212-918	820212-924	820212-924	
▲	保护柱卡套			820444-901	820444-901	820444-901	820444-901	
<b>玻璃内衬毛细管柱</b>								
	毛细管柱	0.5 x 250	5	5064-8266				
	毛细管柱	0.5 x 150	5	5064-8264				
	毛细管柱	0.5 x 35	5	5064-8294				
	快速分离毛细管柱	0.5 x 150	3.5	5064-8268				
	快速分离毛细管柱	0.5 x 35	3.5	5065-4459				
	毛细管柱	0.3 x 250	5	5064-8265				
	毛细管柱	0.3 x 150	5	5064-8263				
	毛细管柱	0.3 x 35	5	5064-8295				
	快速分离毛细管柱	0.3 x 150	3.5	5064-8267	5065-4460			
	快速分离毛细管柱	0.3 x 100	3.5	5064-8259	5065-4461			
	快速分离毛细管柱	0.3 x 35	3.5	5064-8270	5065-4462			
	快速分离毛细管柱	0.3 x 50	3.5	5064-8300	5065-4463			
<b>纳流 (Nano) 色谱柱 (PEEK 热融石英)</b>								
	快速分离纳流柱	0.1 x 150	3.5	5065-9910				
	快速分离纳流柱	0.075 x 150	3.5	5065-9911				
	快速分离纳流柱	0.075 x 50	3.5	5065-9924	5065-9923			
	富集/保护柱, 5/包	0.3 x 5	5	5065-9913	5065-9914			
	富集/保护柱卡套			5065-9915	5065-9915			



Extend-C18 键合相采用的创新双齿 C18-C18 键

**ZORBAX 300Å Extend-C18**

- 在高和低 pH (pH 2-11.5) 条件下，稳定分离多肽
- 在高和低 pH 条件下，可能具有不同的选择性
- 在高 pH 条件下，柱效高并可良好地回收疏水性多肽
- 使用氢氧化铵（改性的流动相）的 LC/MS 的理想选择

ZORBAX 300Extend C-18 是一种大孔径 HPLC 柱，可以在 pH 2-11.5 范围内高效分离多肽。独特的、双齿键合固定相保证了色谱柱在高和低 pH 的条件下具有较长的使用寿命和出色的重现性。在高 pH 条件下，由于分子电荷的变化，导致多肽的保留和选择性发生显著变化。在室温和高 pH 条件下，疏水性较强的多肽可以实现优异的回收率。在高 pH 条件下，使用简单的含氢氧化铵的流动相还可以提高 LC/MS 分析多肽的灵敏度。

**UHPLC 色谱柱性能指标**

键合相	孔径	温度上限*	pH 范围	封端
ZORBAX 300Å Extend-C18 色谱柱	300Å	60 °C	2.0-11.5	双封端

指标只代表一般意义上的典型值

\*温度上限在 pH 8 以下时为 60 °C, pH 8-11.5 时为 40 °C。

**提示与工具**

选择正确的色谱柱仅仅是总体解决方案中的一部分。不要忘记那些重要的消耗品，如我们广泛的液相色谱灯。



## 血管紧张素的 LC/MS 分析

色谱柱: ZORBAX Extend-C18  
773700-902  
2.1 x 150 mm, 5  $\mu$ m

流动相: 酸性条件: 梯度: 15 分钟内 15-50% B

A: 0.1% TFA 水溶液

B: 0.085% TFA 的 80% 乙腈 (ACN) 溶液

碱性条件:

A: 10 mM 氢氧化铵的水溶液

B: 10 mM 氢氧化铵的 80% 乙腈溶液

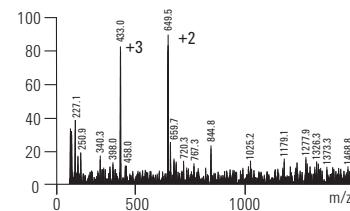
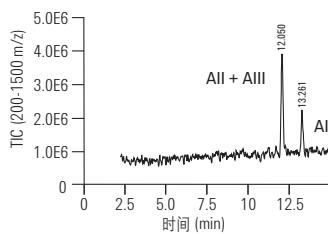
流速: 0.2 mL/min

柱温: 35 °C

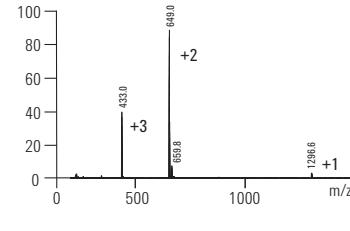
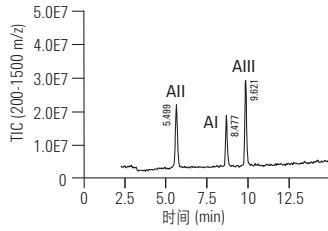
MS 条件: 正离子 ESI; V<sub>f</sub> 70 V, V<sub>cap</sub> 4.5 kV,  
N<sub>2</sub>, 35 psi, 12 L/min, 325 °C

样品: 血管紧张素 I, II, III, 2.5  $\mu$ L 样品  
(每个样品 50 pmol)

**A:**  
血管紧张素 I  
最大: 10889  
低 pH



**B:**  
血管紧张素 I  
最大: 367225  
高 pH



小分子肽和大分子肽在高 pH 和低 pH 条件下都显示出了选择性的变化。在高 pH 下, 由于电荷发生了改变, 所有三种血管紧张素都得以分离。此外, 在高 pH 下使用氢氧化铵流动相可以显著提高血管紧张素 I 的图谱清晰度。Extend-C18 柱也可用于在高 pH 条件下分析小分子肽。

参考文献: B.E. Boyes. Separation and Analysis of Peptides at High pH Using RP-HPLC/ESI-MS, 4th WCBP, San Francisco, CA Jan 2000.

## 高 pH 条件下使用寿命更长

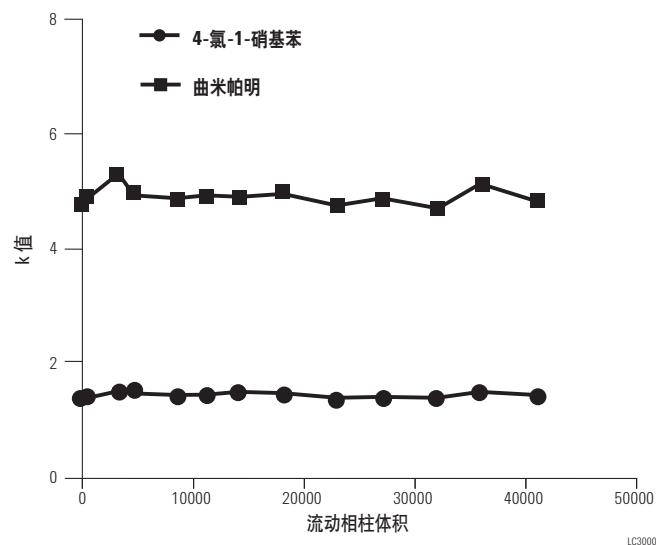
色谱柱: ZORBAX Extend-C18  
773450-902  
4.6 x 150 mm, 5  $\mu$ m

流动相: 20% 20 mM 氢氧化铵, pH 10.5  
80% 甲醇

流速: 1.5 mL/min

柱温: 老化 24 °C  
测试 40 °C

每 10000 倍柱体积大约相当于一个工作月的使用量。



## 利用 ZORBAX Extend-C18 在高 pH 条件下更改选择性

色谱柱: ZORBAX Extend-C18  
773700-902  
2.1 x 150 mm, 5  $\mu$ m

流动相: A: 0.1% TFA 水溶液  
B: 含 0.085% TFA 的 80% 乙腈溶液

A: 20 mM 氢氧化铵的水溶液  
B: 20 mM 氢氧化铵的 80% 乙腈溶液

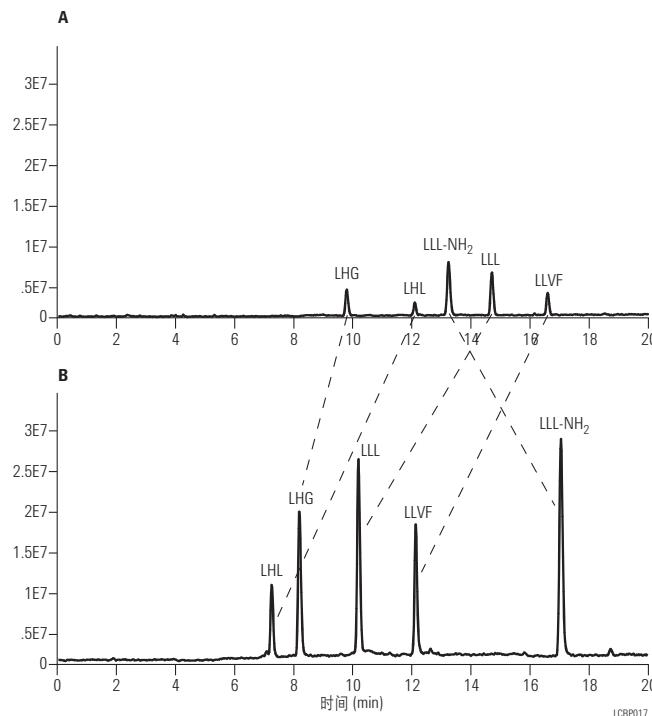
流速: 0.25 mL/min

梯度: 20 min 内由 5% 升至 60%

柱温: 25 °C

MS 条件: 正离子 ESI; V<sub>f</sub> 70 V, V<sub>cap</sub> 4.5 kV,  
N<sub>2</sub>, 35 psi, 12 L/min, 300 °C  
4  $\mu$ L (每种多肽 50 ng)

Extend 柱可用于高 pH 条件下多肽的分离。在高 pH 和低 pH 条件下，选择性差异很大。只需改变 pH，即可开发互补的方法，用以判断是否所有峰都得到了分离。Extend 柱可以在高 pH 和低 pH 条件下使用，因此使用一根色谱柱就可开发互补的分离方法。该样品在高 pH 下还获得了更高的质谱灵敏度。



**ZORBAX 300Å Extend-C18**

标志	说明	规格 (mm)	填料粒径 ( $\mu\text{m}$ )	部件号
	分析柱	4.6 x 250	5	770995-902
	分析柱	4.6 x 150	5	773995-902
	快速分离柱	4.6 x 150	3.5	763973-902
	快速分离柱	4.6 x 100	3.5	761973-902
	快速分离柱	4.6 x 50	3.5	765973-902
	快速分离窄径柱	2.1 x 150	3.5	763750-902
	快速分离窄径柱	2.1 x 100	3.5	761775-902
	快速分离窄径柱	2.1 x 50	3.5	765750-902
 ZGC	保护柱芯, 4/包	4.6 x 12.5	5	820950-932
 ZGC	保护柱芯, 4/包	2.1 x 12.5	5	821125-932
 ZGC	保护柱卡套			820999-901
<b>玻璃内衬毛细管柱</b>				
	快速分离毛细管柱	0.3 x 150	3.5	5065-4464
	快速分离毛细管柱	0.3 x 100	3.5	5065-4465
	快速分离毛细管柱	0.3 x 75	3.5	5065-4466
	快速分离毛细管柱	0.3 x 50	3.5	5065-4467

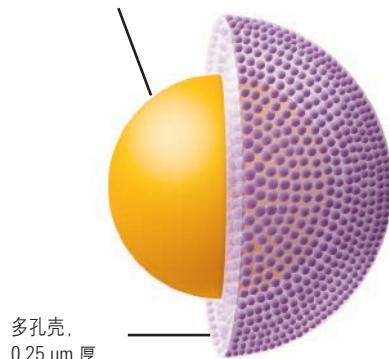
**提示与工具**

保护柱和过滤器有助于保护色谱柱和仪器不受颗粒的影响，后者可能造成堵塞，使系统压力增高并影响系统性能，从而影响您的日常工作流程。安捷伦最新的快速保护柱可保护您的 UHPLC 色谱柱及生物液相色谱柱，延长色谱柱使用寿命，将工作流程所受的影响降至最低。如需了解更多信息，请访问：

[www.agilent.com/chem/fastguards](http://www.agilent.com/chem/fastguards)



实心核, 4.5 μm 直径



## Poroshell 300

- 表面多孔的填料可实现生物分子的高速分离
- 300Å 的孔径能够为分子量高达 1000 kDa 的蛋白质提供高分离效率及高回收率
- 采用 Poroshell 300SB 可延长低 pH 条件下的色谱柱使用寿命；采用 300Extend-C18 则能够延长高 pH 条件下的色谱柱使用寿命
- 提供四种不同的键合相（300SB-C18、300SB-C8、300SB-C3 和 300Extend-C18）供您选择，以优化您的分析回收率和选择性

Agilent Poroshell 300 柱非常适用于蛋白和多肽的快速分离，因为其直径为 5 μm 的表面多孔填料允许采用较快的流速，同时保持尖锐峰形和高柱效。采用 StableBond 键合相的 Poroshell 柱能够在以 TFA 和甲酸为流动相的分析中提供出色的稳定性和选择性。Poroshell 300Extend-C18 柱可在 pH 2-11 条件下进行独特的分离。这类色谱柱还可用于分析型蛋白质分离以及 LC/MS 分离。

我们通常采用低流速和平缓的梯度以较慢的速度分离多肽和蛋白质，这是为了减少此类低扩散分析物可能发生的峰展宽现象。Poroshell 色谱柱采用表面多孔填料颗粒，通过在固体硅胶内核上涂覆 0.25 μm 的多孔硅胶薄层而制成。这可降低蛋白质的扩散距离，从而能在 400/600 bar HPLC 系统（包括 Agilent 1260 Infinity 生物惰性四元液相色谱系统）中实现分子量高达 500-1000 kDa 的蛋白质的快速 HPLC 分离。



Poroshell 300 柱

### UHPLC 色谱柱性能指标

键合相	孔径	温度上限*	pH 范围	封端
Poroshell 300SB-C18, C8, C3	300Å	90 °C	1.0-8.0	无
Poroshell 300Extend-C18	300Å	40 °C, pH 8 以上 60 °C, pH 8 以下	2.0-11.0	有

指标只代表一般意义上的典型值

\*300StableBond 柱专为低 pH 条件下的应用而设计。所有硅胶基色谱柱在 pH 6-8 条件下，采用 <40 °C 的柱温和较低的缓冲液浓度 (0.01-0.02 M)，可获得最高的柱稳定性。而在中等或高 pH 条件下，我们推荐您使用 300Extend-C18 色谱柱。

## Poroshell 300 色谱柱分离蛋白质和多肽耗时仅需几秒钟

色谱柱:

Poroshell 300SB-C18

660750-902

2.1 x 75 mm, 5  $\mu$ m

流动相:

A: 0.1% TFA 的水溶液

B: 含 0.07% TFA 的乙腈溶液

流速:

3.0 mL/min

梯度:

1.0 min 内 5-100% B

柱温:

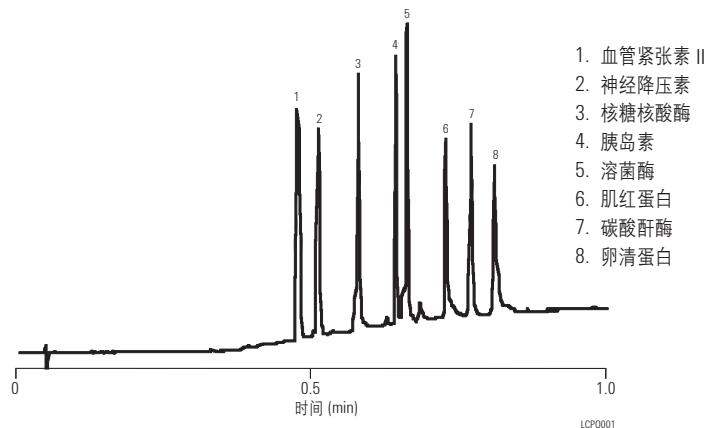
70 °C, 260 bar

检测器:

UV, 215 nm

样品:

蛋白质和多肽



在不到 60 秒的时间内完成了八种多肽和蛋白质的分离。每个峰都尖锐且高效。

### 提示与工具

更多信息可参考下列出版物:

*Characterization of Glycosylation in the Fc Region of Therapeutic Recombinant Monoclonal Antibody* (对治疗性重组单克隆抗体 Fc 区中的糖基化进行表征),  
出版号 5991-2323EN

*Use of Temperature to Increase Resolution in the Ultrafast HPLC Separation of Proteins with ZORBAX Poroshell 300SB-C8 HPLC Columns* (利用温度提高 ZORBAX Poroshell 300SB-C8 HPLC 柱用于蛋白质超快速液相色谱分离时的分离度),  
出版号 5989-0589EN

*Using the High-pH Stability of ZORBAX Poroshell 300Extend-C18 to Increase Signal-to-Noise in LC/MS* (利用 ZORBAX Poroshell 300Extend-C18 色谱柱的高 pH 稳定性提高液质联用分析时的信噪比), 出版号 5989-0683EN

[www.agilent.com/chem/library](http://www.agilent.com/chem/library)

**IgG 片段的高分离度快速分析**

**色谱柱:** Poroshell 300SB-C3  
**660750-909**  
**2.1 x 75 mm, 5 μm**

**流动相:** A: 水溶液 (5% AcOH、1.0% FA、  
 0.05% TFA)  
 B: 70/20/10 IPA:ACN:水 (5% AcOH、  
 1.0% FA、0.05% TFA)

**进样量:** 2 μL

**流速:** 1.0 mL/min

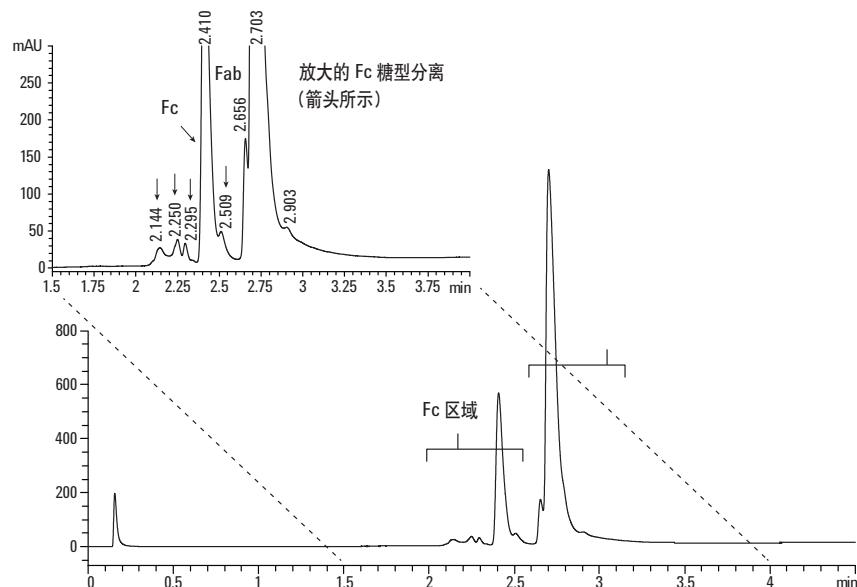
**梯度:**

时间 (min)	% B
0	20
4	45
8	45
9	90
10	20

**柱温:** 80 °C

**检测器:** UV, 280 nm

**仪器:** 配备自动进样器 (高性能自动进样器)、  
 二元泵、柱温箱 (TCC) 和二极管阵列检测器  
 (DAD) 的 Agilent 1200 Infinity 系列，并与  
 Agilent 6224 精确质量数飞行时间质谱联用



IgG1 的木瓜蛋白酶酶解物的反相分离结果显示出现两个主峰，分别为 Fc 和 Fab 片段。插入图详细描绘了部分分离的峰，这些峰代表 Fc 和 Fab 片段的异构体（箭头所示）。

**提示与工具**

安捷伦提供各种经认证的色谱样品瓶供您选择，包括聚丙烯样品瓶、去活样品瓶及硅烷化玻璃样品瓶。如需了解更多信息，请查看出版物 5990-9022EN。

[www.agilent.com/chem/library](http://www.agilent.com/chem/library)

## Poroshell 300 微径柱为 LC/MS 分析提供了最高的灵敏度

色谱柱: **Poroshell 300SB-C18**

**661750-902**

**1.0 x 75 mm, 5 µm**

流动相: A: 水 + 0.1% 甲酸  
B: 乙腈 + 0.1% 甲酸

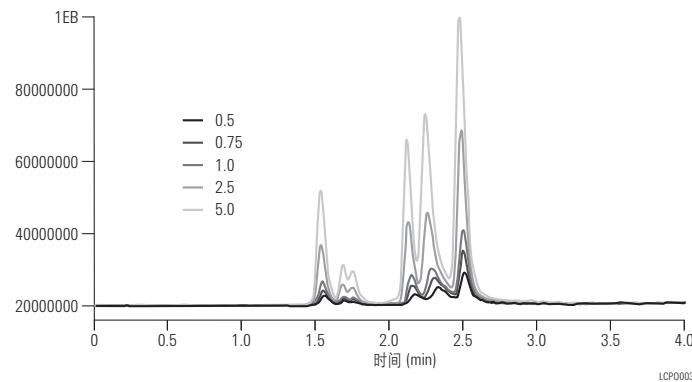
流速: 600 µL/min

梯度: 5.5 min 内 20-100% B

柱温: 80 °C

MS 条件: LC/MS: 正离子模式 ESI; Vcap 6,000 V;  
干燥气流速: 12 L/min;  
干燥气温度: 350 °C  
雾化器: 45 psi;  
碎裂器电压: 140 V;  
扫描: 600-2500  
步长: 0.15 amu  
峰宽: 0.06 min

样品: 1 µL



具有 2.1 mm、1.0 mm 和 0.5 mm 内径的 Poroshell 窄径柱适于与 LC/MS 联用。当样品量非常有限时，1.0 mm 或 0.5 mm 内径 Poroshell 柱是高灵敏度 LC/MS 分析的理想选择。使用 Poroshell 柱，只需 0.5 到 5 pmol 蛋白质样品即可实现灵敏的 MS 分子量测定。Poroshell 柱还被用于完整蛋白质的快速 MS 鉴定，甚至可以在稳定剂和组织培养液存在的条件下进行蛋白质分析。

## 单克隆 IgG1 链

色谱柱: **Poroshell 300SB-C8**

**660750-906**

**2.1 x 75 mm, 5 µm**

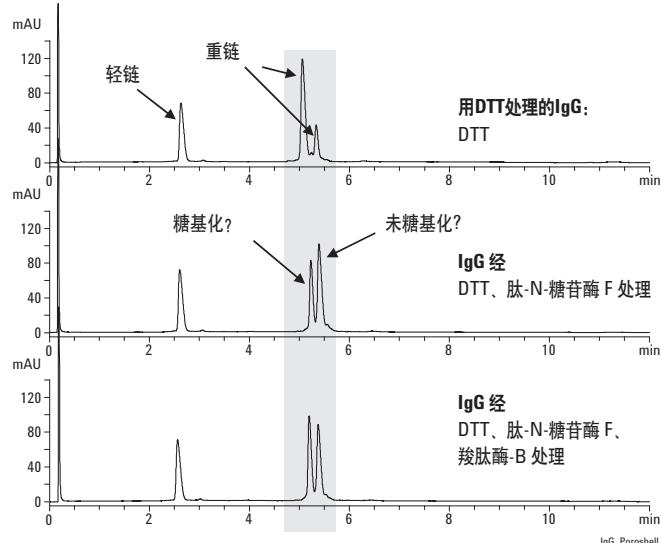
流动相: A: 90%水: 10% 乙腈 + 3 mL/L 分子量 300 PEG  
B: 10%水: 90% 乙腈 + 3 mL/L 分子量 300 PEG

流速: 1.0 mL/min

梯度: 0 分钟 25% B  
10 分钟 40% B  
10.1 分钟 25% B  
12 分钟 25% B

柱温: 70 °C

样品: 单克隆 IgG1



数据来源:

Novartis AG, Basel.

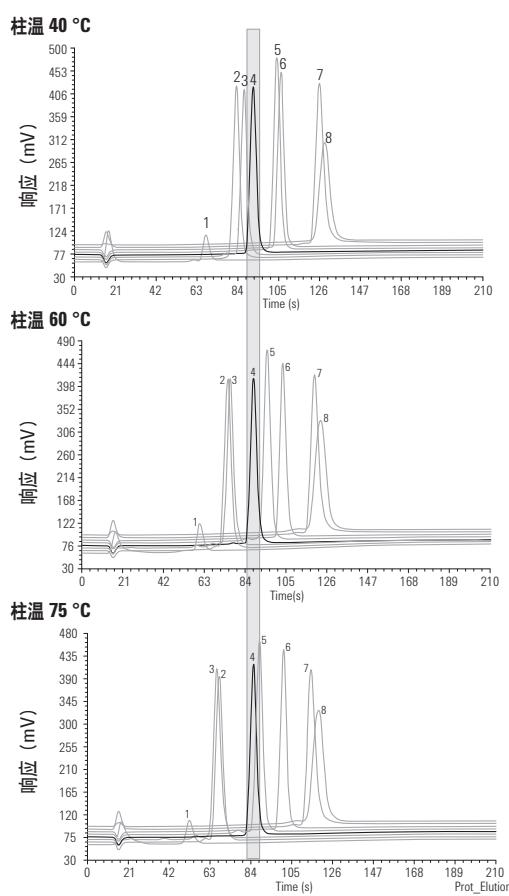
Dr. Kurt Forrer

Patrik Roethlisberger

## 蛋白质洗脱模式

色谱柱: **Poroshell 300SB-C8  
660750-906  
2.1 x 75 mm, 5 μm**

流动相:  
A: 0.1% TFA 的水溶液  
B: 0.1% TFA 的乙腈溶液  
流速: 1.0 mL/min  
梯度: B 在 3 min 内从 20% 升至 70%  
检测器: UV, 214 nm



1. 糖蛋白 X, MW 约 22 kDa
2. 蛋白质 I, MW 约 4 kDa
3. 胰高血糖素, MW 约 3.5 kDa
4. 生物合成的人胰岛素, MW 约 6 kDa
5. 蛋白质 J, MW 约 3 kDa
6. 蛋白质 K, MW 约 6 kDa
7. 糖蛋白 Y, MW 约 45 kDa
8. 糖蛋白 Z, MW 约 30 kDa

## Poroshell 300

标志	说明	规格 (mm)	填料粒径 (μm)	Poroshell (多孔层填料色谱柱)			
				300SB-C18	300SB-C8	300SB-C3	300Extend-C18
窄径柱		2.1 x 75	5	660750-902	660750-906	660750-909	670750-902
微径柱		1.0 x 75	5	661750-902	661750-906	661750-909	671750-902
毛细管柱		0.5 x 75	5		5065-4468		
ZGC	保护柱芯, 4/包	2.1 x 12.5	5	821075-920	821075-918	821075-924	
ZGC	保护柱卡套			820999-901	820999-901	820999-901	
微径保护柱, 3/包		1.0 x 17	5	5185-5968	5185-5968	5185-5968	



## AdvanceBio 肽谱分析色谱柱

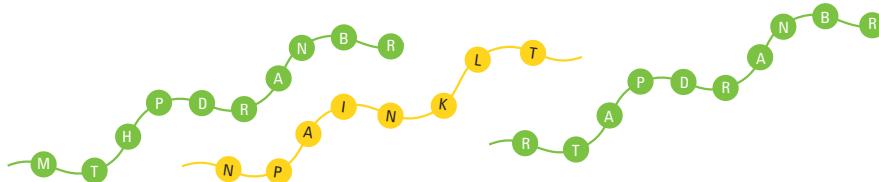
- 可靠性更高的分析结果：每批 AdvanceBio 肽谱分析柱填料均采用多肽混合物标样进行严格测试，确保适用性和高重现性，使其能鉴定复杂多肽谱中的重要多肽
- 节省时间：分析速度较全多孔 HPLC 色谱柱提高了 2 - 3 倍
- 出色的仪器兼容性：内径 4.6、3.0 和 2.1mm 的色谱柱能在 0 - 600 bar 范围内稳定工作，让您的 UHPLC 仪器性能发挥至极致。同时，这些色谱柱用于 400 bar 的旧型号仪器时也表现卓越
- 灵活性更高：可提高所有以甲酸为流动相的 HPLC 分析的灵敏度

这些先进的生物色谱柱具有 120Å 孔径及表面多孔 2.7 μm 填料。使用复杂的多肽混标对这些色谱柱进行专门测试，确保可靠的肽谱分析性能。此外，AdvanceBio 肽谱分析色谱柱可在 UHPLC 中实现极佳的分离度和速度，在常规 HPLC 中也能获得优异的结果。

### 色谱柱性能指标

键合相	孔径	温度上限	pH 范围	封端
EC-C18	120Å	60 °C	2.0-8.0	双封端

指标只代表一般意义上的典型值



### 提示与工具

您是否想知道科学家如何使用 AdvanceBio 肽谱分析色谱柱？请参阅：  
Amano, M. et al. Detection of Histidine Oxidation in a Monoclonal Immunoglobulin Gamma (IgG) 1 Antibody. *Analytical Chemistry*, 2014, 86 (15): 7536–7543

Leah G. Luna and Katherine Coady, Identification of *X. laevis* Vitellogenin Peptide Biomarkers for Quantification by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry. *J. Anal Bioanal Tech*, 2014, 5:3

更多使用安捷伦产品的相关文献，请参阅附录中的引文。

### 促红细胞生成素酶解物的高分离度肽谱分析

色谱柱: AdvanceBio 肽谱分析色谱柱  
**651750-902**  
**2.1 x 250 mm, 2.7 μm**

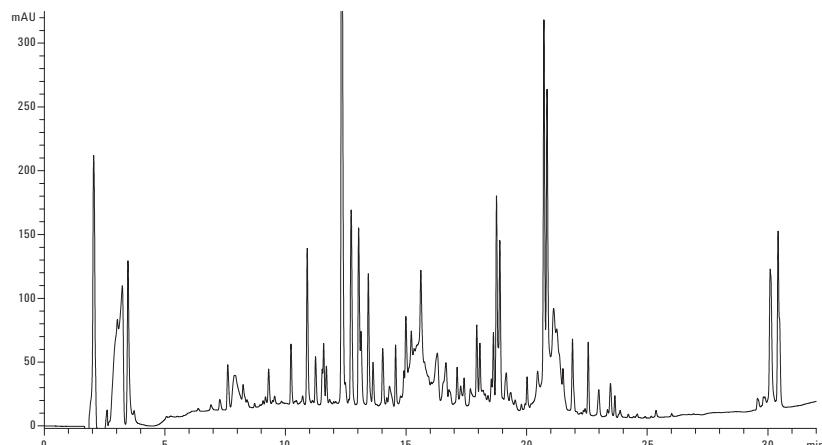
流动相: A: 水 + 0.1% 甲酸 (v/v)  
 B: 乙腈 + 0.1% 甲酸 (v/v)

流速: 0.4 mL/min

梯度: 时间 (min) % B  
 0 3  
 28 45  
 33 60  
 34 95

柱温: 55 °C

进样: 5 μL (2 μg/μL)



### IgG 的快速高效肽谱分析

色谱柱: AdvanceBio 肽谱分析色谱柱  
**655750-902**  
**2.1 x 100 mm, 2.7 μm**

AdvanceBio 肽谱分析色谱柱  
**653750-902**  
**2.1 x 150 mm, 2.7 μm**

流动相: A: 水 + 0.1% FA (v/v)  
 B: 90% ACN + 0.1% FA (v/v)

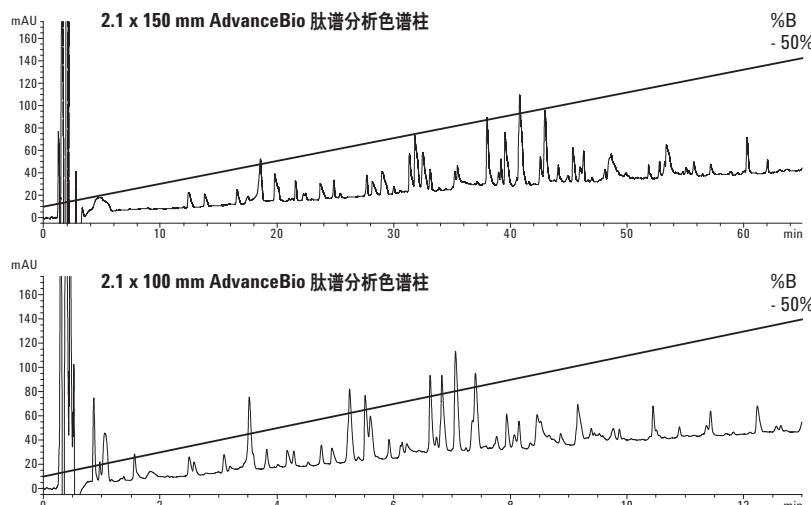
流速: 多种

柱温: 40 °C

检测器: UV, 215/220 nm

进样量: 15 μL

仪器: Agilent 1290 Infinity 液相色谱和  
 Agilent 6530 精确质量四极杆  
 飞行时间 (Q-TOF) 质谱



AdvanceBio 肽谱分析色谱柱分析条件经优化后还可实现更快的肽谱分析。梯度 10-40% B, DAD: 215 nm, 40 °C。上图为 75 min 分离, 采用 2.1 x 150 色谱柱, 获得了 59 个多肽峰 (流速 0.2 mL/min, 211 bar)。下图为优化后的 14 min 分离, 采用 2.1 x 100 mm 色谱柱, 获得了 57 个多肽峰 (流速 0.6 mL/min, 433 bar)。

## 采用安捷伦多肽混标进行的质量保证测试

色谱柱: AdvanceBio 肽谱分析色谱柱  
**653750-902**  
**2.1 x 150 mm, 2.7  $\mu$ m**

流速: 0.5 mL/min

进样: 3  $\mu$ L

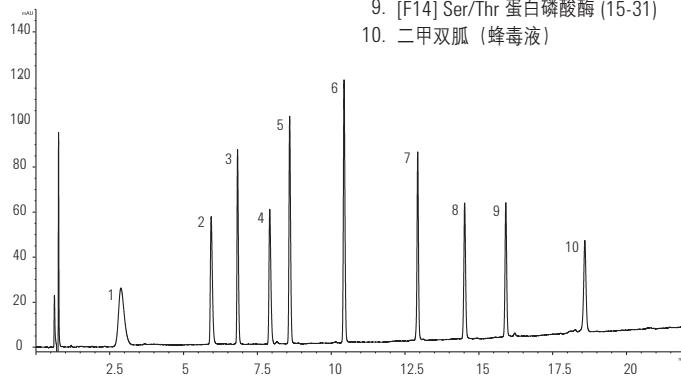
梯度: A-水 (0.1% TFA), B-ACN (0.1% TFA), 0-25 min 内  
B 从 15% 升至 65%; 25-26 min 内 B 从 65% 升至  
95%

柱温: 55 °C

检测器: 220 nm

样品: 安捷伦肽谱分析混标 (每种多肽 0.5-1.0  $\mu$ g/ $\mu$ L)  
部件号 5190-0583

1. 舒缓肽片段 (1-7)
2. 舒缓肽醋酸盐
3. 血管紧张素 II
4. 神经降压素
5. 血管紧张素 I
6. 肾素
7. [Ace-F-3,-2 H-1] 血管紧张素 (1-14)
8. Ser/Thr 蛋白磷酸酶 (15-31)
9. [F14] Ser/Thr 蛋白磷酸酶 (15-31)
10. 二甲双胍 (蜂毒液)



用于测试每批 AdvanceBio 肽谱分析色谱柱填料的混标。该混标含 10 种分子量在 757-2845 Da 范围内的亲水、疏水和碱性多肽。另外我们还采用小分子探针对每根色谱柱进行测试以确保其分析效率。

## 200 次进样后的批次间重现性

色谱柱: AdvanceBio 肽谱分析色谱柱  
**651750-902**  
**2.1 x 250 mm, 2.7  $\mu\text{m}$**

流速: 0.5 mL/min

梯度: A - 水 (0.1% TFA), B - 乙腈 (0.08% TFA), 0-8 min.  
 10%-60% B; 8.1-9 min 保持 95% B

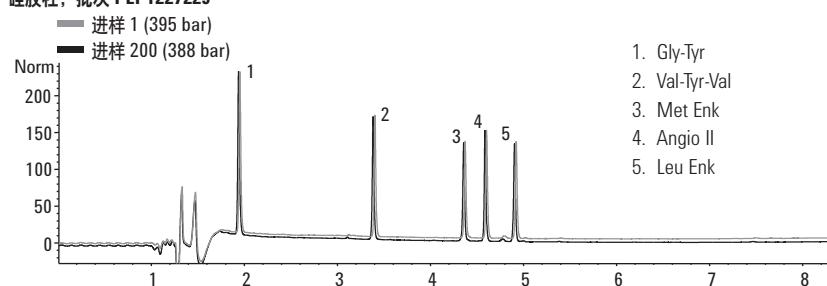
柱温: 55 °C

检测器: 220 nm

进样: 1  $\mu\text{L}$

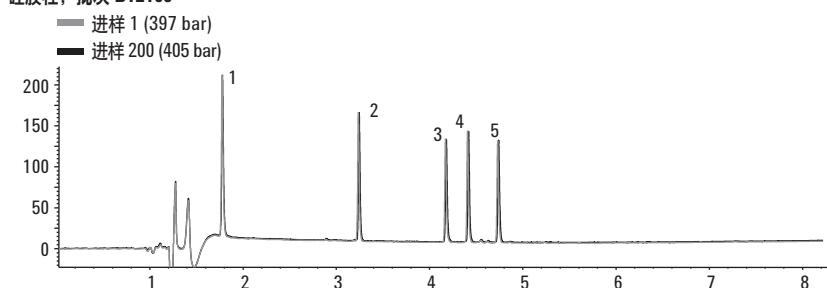
样品: Sigma HPLC 多肽标样

硅胶柱, 批次 PEP1227229



进样	RT2 (min)	RT3 (min)	RT4 (min)	RT5 (min)
1	3.39	4.36	4.59	4.90
200	3.52	4.48	4.70	5.02
进样	PW2	PW3	PW4	PW5
1	0.020	0.021	0.020	0.022
200	0.020	0.021	0.019	0.021

硅胶柱, 批次 B12169



进样	RT2 (min)	RT3 (min)	RT4 (min)	RT5 (min)
1	3.36	4.29	4.52	4.85
200	3.24	4.18	4.41	4.74
进样	PW2	PW3	PW4	PW5
1	0.019	0.020	0.019	0.020
200	0.019	0.020	0.019	0.020

不同批次间及不同运行次数间均具有出色的重现性。使用 2.1 x 250 mm AdvanceBio 肽谱分析色谱柱实现最大分离度。

### AdvanceBio 肽谱分析色谱柱

说明	部件号
4.6 x 150 mm, 2.7 µm	653950-902
3.0 x 150 mm, 2.7 µm	653950-302
2.1 x 250 mm, 2.7 µm	651750-902
2.1 x 150 mm, 2.7 µm	653750-902
2.1 x 100 mm, 2.7 µm	655750-902
4.6 x 5 mm, 快速保护柱*	850750-911
3.0 x 5 mm, 快速保护柱*	853750-911
2.1 x 5 mm, 快速保护柱*	851725-911

\*. 快速保护柱可在不影响分离速度或分离度的情况下有效延长色谱柱寿命。

### 安捷伦多肽质量控制标样



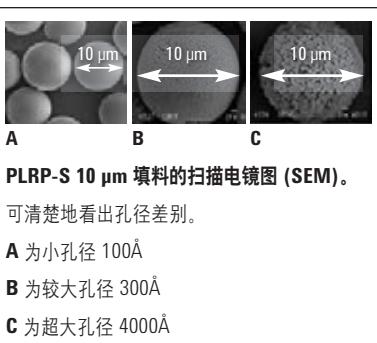
### 安捷伦多肽质量控制标样

说明	部件号
多肽质量控制标样, 71 µg 于 2 mL 样品瓶	5190-0583

### 提示与工具

肽谱分析是一项非常强大的技术，广泛用于蛋白质的鉴定测试，尤其适用于通过重组生成的蛋白质。要实现高度准确且可重现的肽谱分析，我们不仅要选择适合的色谱柱，还需要考虑蛋白质酶解、样品前处理、方法优化等诸多其他因素。有关肽谱分析流程的基本技术及优化肽谱分离以获取最佳结果时需要考虑的关键因素，请参阅《最优化肽段表征的要点：肽谱分析指南》，出版号 5991-2348CHCN

[www.agilent.com/chem/library](http://www.agilent.com/chem/library)



## PLRP-S 色谱柱

- 耐用的弹性聚合物填料可提供可重现的结果，且色谱柱寿命更长
- 热稳定性和化学稳定性高
- 遵循 USP L21 标准
- 适用领域包括生命科学、化学、临床研究、能源、环境、食品和农业、材料科学和制药行业
- 多种孔径可供选择 (100Å-4000Å)，可用于从小分子物质到大分子复杂化合物及多聚核苷酸的各种分离分析

PLRP-S 系列色谱柱包括各种孔径和填料尺寸，所有填料都具有相同的化学性质和基本吸附特性。填料本身具有疏水性。因此，无需键合相或烷基配体即可进行反相分离。这也使得这些填料成为了不含硅醇和重金属离子的高重现性填料。该色谱柱拥有多种产品系列，适用于纳流/微量分离，包括自下而上和自上而下的蛋白质组学、分析型分离以及制备纯化。此外，Process 色谱柱可以用散装填料进行装填。

## 色谱柱性能指标

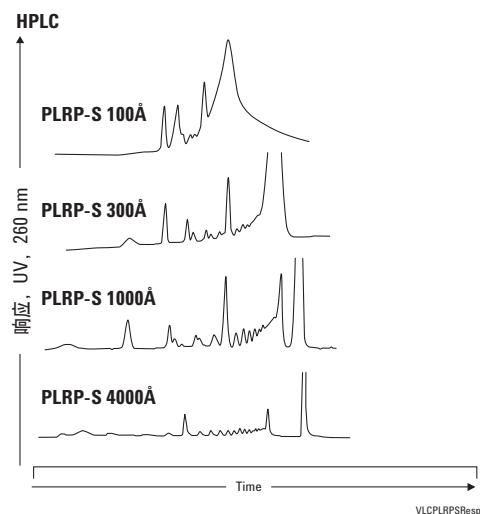
pH 范围	1-14
缓冲液成分	无限制
有机改性剂	1-100%
温度上限	200 °C
最高压力	5-8 μm: 3000 psi (210 bar) 3 μm: 4000 psi (300 bar)

## PLRP-S 柱的应用

孔径	应用
100Å	小分子/合成
300Å	重组多肽/蛋白质
1000Å	大分子蛋白
4000Å	DNA/高速

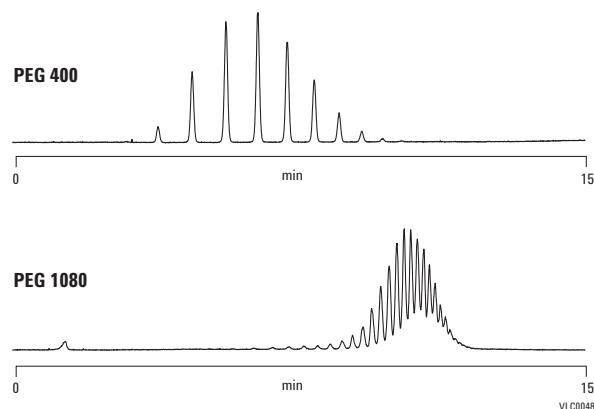
## 25 bp DNA 标记物的 HPLC 分析

色谱柱: PLRP-S, 2.1 x 150 mm  
 流动相: A: 100 mM TEAA  
 B: 100 mM TEAA 溶于 50% 水:50% ACN  
 流速: 200 μL/min  
 梯度: B 在 150 分钟内由 12.5% 升至 50%



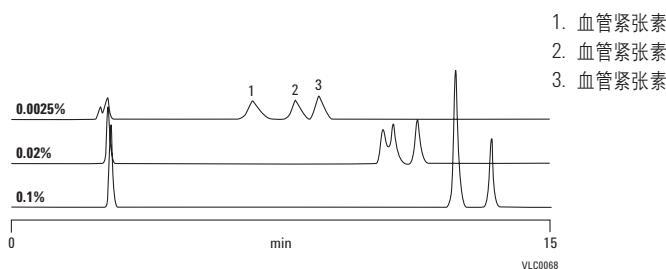
## 聚乙二醇

色谱柱: PLRP-S 100 Å  
**PL1111-3500**  
 4.6 x 150 mm, 5 μm  
 流动相: A: 水  
 B: ACN  
 梯度: 在 12 分钟的时间内 B 由 10% 升至 30%, 然后保持 3 分钟  
 流速: 1.0 mL/min  
 进样量: 10 μL  
 浓度: 1 mg/mL  
 检测器: ELS (雾化温度=50 °C, 蒸发温度=70 °C, 气体流速=1.6 SLM)



## 化学稳定性的作用 —— 三氟乙酸浓度

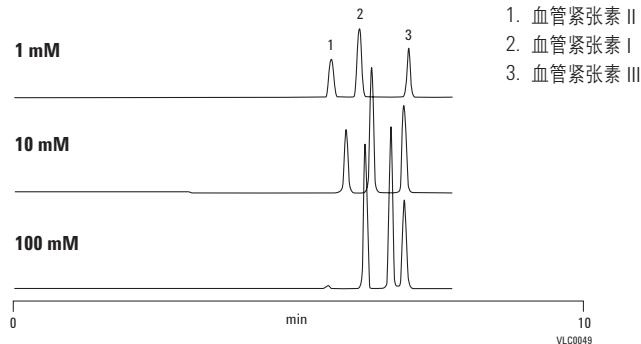
色谱柱: PLRP-S 100 Å  
**PL1512-5500**  
 4.6 x 250 mm, 5 μm  
 流动相: A: 含三氟乙酸 (多个浓度) 的水溶液  
 B: 含三氟乙酸 (多个浓度) 的乙腈溶液  
 梯度: 15 分钟内 B 由 12% 线性升至 40%  
 流速: 1.0 mL/min  
 检测器: ELS (雾化温度=75 °C, 蒸发温度=85 °C, 气体流速=1.0 SLM)



## 化学稳定性研究 —— NH<sub>4</sub>OH 浓度

色谱柱: **PLRP-S 100Å  
PL1512-5500  
4.6 x 250 mm, 5 µm**

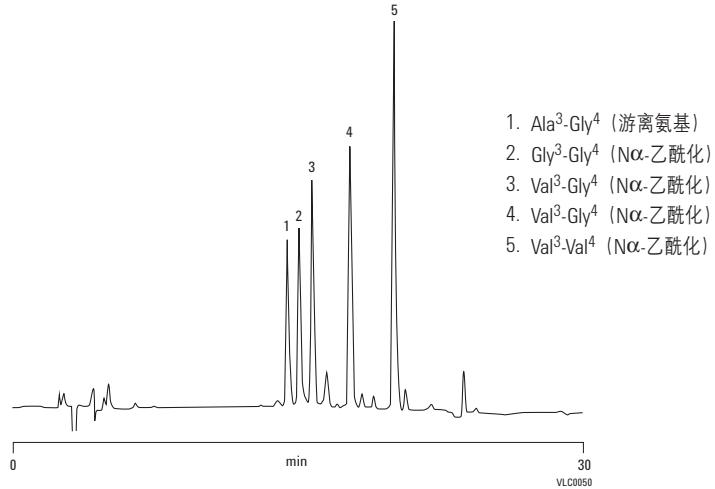
流动相: A: NH<sub>4</sub>OH (各种 mM) 水溶液  
 B: NH<sub>4</sub>OH (各种 mM) 乙腈溶液  
 梯度: 在 15 分钟的时间内 B 由 10% 线性升至 100%  
 流速: 1.0 mL/min  
 检测器: ELS (雾化温度=80 °C, 蒸发温度=85 °C,  
 气体流速=1.0 SLM)



## 阿尔伯塔多肽研究所测试混标

色谱柱: **PLRP-S 100Å  
PL1512-5500  
4.6 x 250 mm, 5 µm**

流动相: A: 含 0.1% TFA 的水:乙腈=99:1 溶液  
 B: 含 0.1% TFA 的水:乙腈=70:30 溶液  
 梯度: B 在 30 分钟内由 0 升至 100%  
 流速: 1.0 mL/min  
 检测器: UV, 220 nm



### 奶类样品中的乳清蛋白 —— 牛奶

色谱柱: **PLRP-S 300Å  
PL1512-3801  
4.6 x 150 mm, 8 µm**

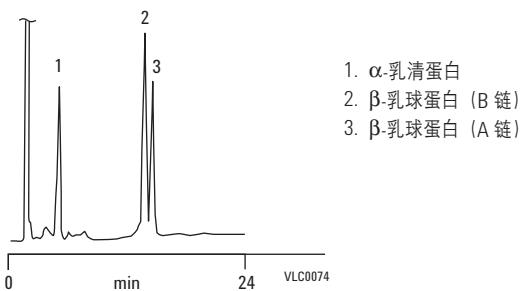
流动相: A: 含 0.1% TFA 的 99% 水: 1% 乙腈溶液  
B: 含 0.1% TFA 的 1% 水: 99% 乙腈溶液

梯度: B 在 0-24 分钟的时间内由 36% 升至 48%,  
然后在 24-30 分钟的时间内由 48% 升至 100%  
然后在 30-35 分钟的时间内保持比例不变,  
最后在 35-40 分钟的时间内由 100% 降至 36%

流速: 1.0 mL/min

进样量: 10 µL

检测器: UV, 220 nm



### 在离子对反相 HPLC 中, 温度可以作为一个加快传质和改善寡核苷酸分离度的方法

色谱柱: **PLRP-S 100Å  
PL1512-1300  
4.6 x 50 mm, 3 µm**

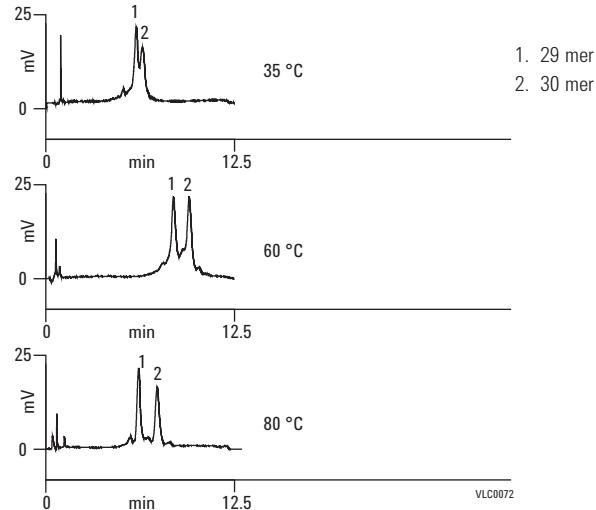
流动相: A: 100 mM TEAA  
B: 含 100 mM TEAA 的 25% 乙腈溶液

梯度: 5 min 内缓冲液 B 升至 5%

流速: 1.0 mL/min

柱温: 35 °C, 60 °C 或 80 °C

检测器: UV, 254 nm



## 大分子纤维蛋白

色谱柱: **PLRP-S 300Å**  
**PL1512-3801**  
**4.6 x 150 mm, 8 µm**

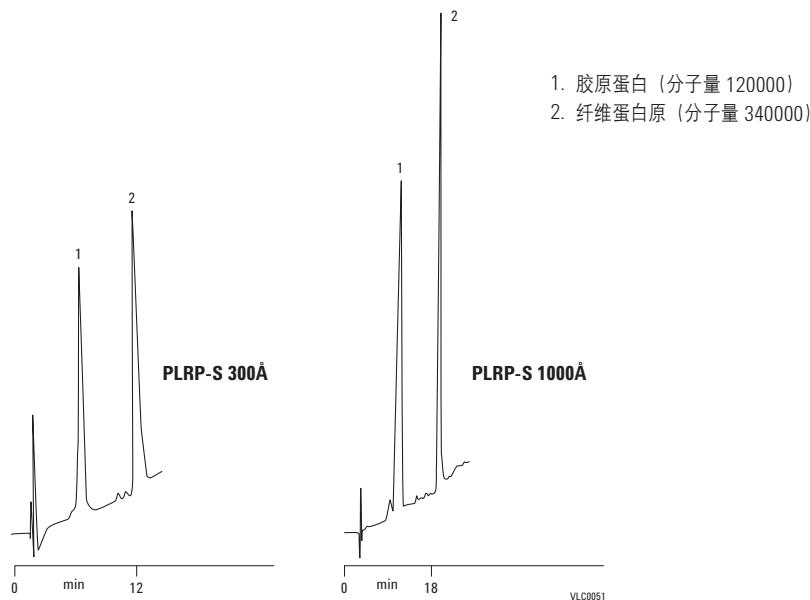
色谱柱: **PLRP-S 1000Å**  
**PL1512-3802**  
**4.6 x 150 mm, 8 µm**

流动相: A: 含 0.25% TFA 的水溶液  
B: 含 0.25% TFA 的水:乙腈=5:95 溶液

流速: 1.0 mL/min

梯度: B 在 15 分钟内由 20% 升至 60%

检测器: UV, 220 nm



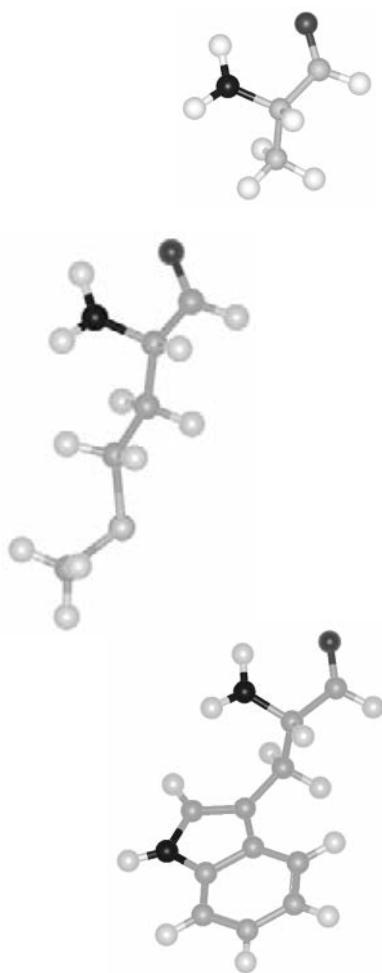
**PLRP-S HPLC 柱**

标志	规格 (mm)	填料粒径 ( $\mu\text{m}$ )	PLRP-S 100Å USP L21	PLRP-S 300Å USP L21	PLRP-S 1000Å USP L21	PLRP-S 4000Å USP L21
	4.6 x 250	8	PL1512-5800	PL1512-5801	PL1512-5802	
	4.6 x 150	8	PL1512-3800	PL1512-3801	PL1512-3802	PL1512-3803
	4.6 x 50	8		PL1512-1801	PL1512-1802	PL1512-1803
	4.6 x 250	5	PL1512-5500	PL1512-5501		
	4.6 x 150	5	PL1111-3500	PL1512-3501		
	4.6 x 50	5	PL1512-1500	PL1512-1501	PL1512-1502	PL1512-1503
	4.6 x 150	3	PL1512-3300	PL1512-3301		
	4.6 x 50	3	PL1512-1300	PL1512-1301		
	2.1 x 250	8		PL1912-5801		
	2.1 x 150	8		PL1912-3801	PL1912-3802	PL1912-3803
	2.1 x 50	8		PL1912-1801	PL1912-1802	PL1912-1803
	2.1 x 250	5	PL1912-5500	PL1912-5501		
	2.1 x 150	5	PL1912-3500	PL1912-3501		
	2.1 x 50	5	PL1912-1500	PL1912-1501	PL1912-1502	PL1912-1503
	2.1 x 150	3	PL1912-3300	PL1912-3301		
	2.1 x 50	3	PL1912-1300	PL1912-1301		
	1.0 x 50	8			PL1312-1802	
	1.0 x 50	5	PL1312-1500			PL1312-1502
	1.0 x 10	5			PL1C12-2502	
	1.0 x 150	3	PL1312-3300			
	1.0 x 50	3	PL1312-1300			
 PL	PLRP-S 保护柱芯，适用于 5 x 3 mm, 2/包		PL1612-1801	PL1612-1801	PL1612-1801	PL1612-1801
 PL	保护柱卡套，适用于 3.0 x 5.0 mm 柱芯		PL1310-0016	PL1310-0016	PL1310-0016	PL1310-0016

**提示与工具**

如需了解微径柱的订购信息，请参见 143 页。

如需了解制备柱和填料的订购信息，请参见 157 页。



## 氨基酸分析 (AAA) 柱和备件

### ZORBAX Eclipse 氨基酸分析 (AAA) 柱

- 经过专门测试，适用于氨基酸分析
- 使用众所周知效果出色的 OPA 及 FMOC 柱前衍生化方法
- 使用 Agilent 1100/1200 Infinity 系列，采用详细的在线衍生化方案即可轻松实现自动化

Agilent ZORBAX Eclipse AAA 柱采用优化的改进方案分离氨基酸。采用较短的 75 mm 色谱柱，前一次进样到下一次进样的总时间可缩短至 14 min（其中分析时间为 9 min），而采用 150 mm 的色谱柱则为 24 min（其中分析时间为 18 min）。使用 Agilent 1100/1200 Infinity 系列液相色谱仪，采用 OPA 和 FMOC 衍生化反应，进行全自动化分析，可获得卓越的灵敏度（DAD、FLD 的灵敏度为 5-50 pmol）和可靠性。

ZORBAX Eclipse Plus C18 1.8  $\mu\text{m}$  色谱柱可在 UHPLC 系统中获得出色的快速氨基酸分析结果。

### ZORBAX Eclipse 氨基酸分析 (AAA) 柱

标志	说明	规格 (mm)	填料粒径 ( $\mu\text{m}$ )	部件号
	分析柱，常规灵敏度	4.6 x 150	5	993400-902
	使用 FLD 可达到常规分析灵敏度、高分离度	4.6 x 150	3.5	963400-902
	常规分析灵敏度、高通量	4.6 x 75	3.5	966400-902
	节省溶剂，高灵敏度、高分离度	3.0 x 150	3.5	961400-302
	保护柱芯，4/包	4.6 x 12.5	5	820950-931
	保护柱卡套			820999-901

### 提示与工具

更多信息可参考下列出版物：

*Automatic Precolumn Derivatization of Amino Acids and Analysis by Fast LC using the Agilent 1290 Infinity LC System* (采用自动化柱前衍生以及 Agilent 1290 Infinity 液相色谱系实现氨基酸的快速液相色谱分析)，出版号 5990-5599EN

[www.agilent.com/chem/library](http://www.agilent.com/chem/library)

### ZORBAX Eclipse Plus

说明	规格 (mm)	填料粒径 ( $\mu\text{m}$ )	Eclipse Plus C18 USP L1
超高压快速高分离度 (RRHD) 窄径柱，1200 bar	2.1 x 50	1.8	959757-902
快速分离高通量窄径柱，600 bar	2.1 x 50	1.8	959741-902

## 氨基酸标准品

每种氨基酸标准品含下列氨基酸：

- 甘氨酸
- L-丝氨酸
- L-精氨酸
- L-半胱氨酸
- L-丙氨酸
- L-苏氨酸
- L-组氨酸
- L-苯丙氨酸
- L-缬氨酸
- L-酪氨酸
- L-谷氨酸
- L-赖氨酸
- L-亮氨酸
- L-脯氨酸
- L-天门冬氨酸
- L-蛋氨酸
- L-异亮氨酸

### 氨基酸标准品，10 x 1 mL 安瓿\*

说明	部件号
1 nmol/ $\mu$ L	5061-3330
250 pmol/ $\mu$ L	5061-3331
100 pmol/ $\mu$ L	5061-3332
25 pmol/ $\mu$ L	5061-3333
10 pmol/ $\mu$ L	5061-3334
氨基酸补充试剂盒	5062-2478
包括正缬氨酸、肌氨酸、天门冬酰胺、谷氨酰胺、色氨酸和 4-羟基脯氨酸各 1g	

\*购买时请注意保存期限并少量购买，部件号 5062-2478，1 g 储存于安瓿瓶中

### 氨基酸分离试剂

说明	部件号
OPA 试剂，邻苯二甲醛 (OPA) 和 3-巯基丙酸溶于 0.4 M 硼酸盐缓冲液中，每种 10 mg/mL, 6 x 1 mL 安瓿	5061-3335
FMOC 试剂，9-芴甲基氯甲酸酯的乙腈溶液，2.5 mg/mL, 1 mL, 10 安瓿	5061-3337
硼酸盐缓冲液，100 mL	5061-3339
DTDPA (二硫代二丙酸) 试剂，用于分析半胱氨酸，5 g	5062-2479

## 24 种氨基酸的高分离度分离

色谱柱: **ZORBAX Eclipse AAA  
963400-902  
4.6 x 150 mm, 3.5 µm**

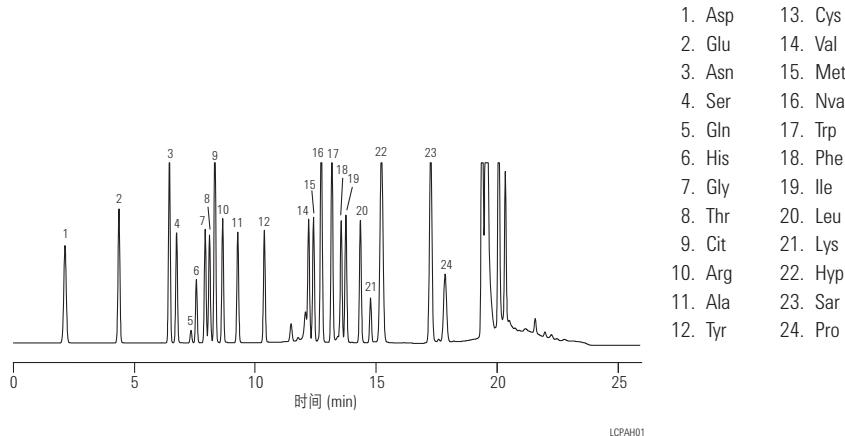
流动相: A: 40 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, pH 7.8  
B: 乙腈:甲醇:水, 45:45:10 v/v

流速: 2 mL/min

柱温: 40 °C

检测器: 荧光检测器

样品: 24 种氨基酸



## 提示与工具

快速参考指南列出了使您的 Agilent 1200 Infinity 系列液相色谱仪保持最佳状态所必需的常用消耗品。请访问 [www.agilent.com/chem/getguides](http://www.agilent.com/chem/getguides) 下载免费副本

# 电荷异构体分析

## 纯化蛋白质和其他带电荷分子

离子交换色谱 (IEX) 是一种高灵敏度的技术，可以基于电荷的差异分离离子和极性分子。和 SEC 一样，用 IEX 也可以分离天然状态的蛋白质。

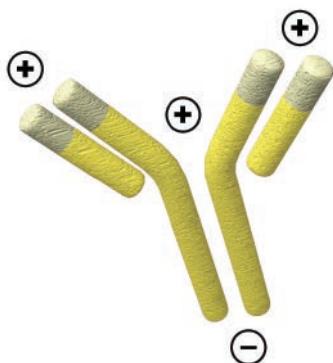
## 将 IEX 用于电荷异构体的分析

由于抗体在生产和纯化过程中发生了氨基酸取代、糖基化、磷酸化和其他翻译后修饰或化学修饰，其电荷异质性可能发生改变。由于这类变化可能影响稳定性和活性（或引发免疫副反应），因此，单克隆抗体 (MAb) 制备过程中电荷异质性的分析对生物药物非常重要。

蛋白质分析中，在给定 pH 下蛋白质发生电荷变异，说明其分子一级结构发生了改变，从而导致额外的蛋白构象产生。这些称为异形体（或电荷异构体），可以用 IEX 色谱进行分离。IEX 也可以用作制备技术。

由于这类变化可能影响稳定性和活性（或引发免疫副反应），因此，电荷异构体的分析对生物药物非常重要。

作为生物制药行业的领先供应商，安捷伦深知产品的高质量和一致性是实现安全、高效治疗的关键。安捷伦离子交换 BioHPLC 色谱柱可提供用户所需的高速、高分离度和优异的重现性，使得用户能够以较低的成本快速推出能够改善目标群体生活质量的产品。



这几页将介绍安捷伦弱和强离子交换剂（阴离子和阳离子）产品系列。

- **安捷伦无孔 Bio IEX 色谱柱**专为高分离度、高回收率的高效分离而设计
- **Agilent Bio MAb 色谱柱**针对单克隆抗体电荷异构体的分离进行了优化
- **安捷伦多孔 IEX 柱** (PL-SAX 和 PL-SCX) 化学稳定，有两种孔径可供选择，可用于分离多肽、寡核苷酸和极大的蛋白质
- **Bio-Monolith IEX 柱**非常适合用于分离抗体、病毒和 DNA
- **缓冲液顾问软件**是利用离子强度梯度实现自动化蛋白质分离的理想解决方案

## 提示与工具

更多有关安捷伦缓冲液顾问软件的信息，请参阅出版物 5991-3697CHCN

[www.agilent.com/chem/library](http://www.agilent.com/chem/library)

## 离子交换柱的选择

应用	安捷伦色谱柱	说明
单克隆抗体	Bio MAb	单克隆抗体的全面表征，包括酸性和碱性异构体的鉴别和监测。Agilent Bio MAb 液相色谱柱填充了专为单克隆抗体基于带电量的高分离度分离而设计的特殊树脂。
多肽和蛋白质	Bio IEX	Agilent Bio IEX 色谱柱填充了聚合物型无孔离子交换填料。Bio IEX 色谱柱专为高分离度、高回收率的高效分离而设计。
蛋白质、多肽和脱保护寡核苷酸	PL-SAX 色谱柱 • 1000Å • 4000Å	强阴离子交换官能团共价连接到化学稳定的全多孔聚合物，拓展了可操作的 pH 范围。此外，阴离子交换能力与 pH 值无关。分析合成寡核苷酸时，可以使用温度、有机溶剂和高 pH 等变性条件进行分离。5 μm 填料可达到更高的分离度，而 30 μm 填料则适用于中压液相色谱分析。
球蛋白和多肽	PL-SAX 1000Å	
极大的生物分子/高速	PL-SAX 4000Å	
小肽到大蛋白	PL-SCX 色谱柱 • 1000Å • 4000Å	PL-SCX 是一种具有强亲水性涂层和强阳离子交换官能团的大孔 PS/DVB 填料。其生产工艺严格控制，具有最佳的强阳离子交换官能团密度，适合用于分析、分离和纯化各种生物分子。5 μm 填料可达到更高的分离度，而 30 μm 填料则适合用于中压液相色谱分析。
球蛋白	PL-SCX 1000Å	
极大的生物分子/高速	PL-SCX 4000Å	
抗体 (IgG、IgM)、质粒 DNA、病毒、噬菌体和其他生物大分子	Bio-Monolith 色谱柱 • Bio-Monolith QA • Bio-Monolith DEAE • Bio-Monolith SO <sub>3</sub>	强阳离子交换、强阴离子交换和弱阴离子交换固定相。Bio-Monolith 液相色谱柱与制备型液相色谱系统兼容，包括安捷伦 Agilent 1100 和 1200 Infinity 系列。
病毒、DNA、大蛋白	Bio-Monolith QA	
质粒 DNA、噬菌体	Bio-Monolith DEAE	
蛋白质、抗体	Bio-Monolith SO <sub>3</sub>	



## Agilent Bio MAb 液相柱

- 填料单体为高度交联的硬质球形聚苯乙烯/二乙烯基苯 (PS/DVB) 无孔微球
- 填料表面结合了亲水聚合物层，可有效避免抗体蛋白的非特异性结合
- 采用特殊工艺将弱阳离子交换固定相层涂覆于填料，使其相比 Agilent Bio WCX 色谱柱填料的密度更高
- 专为单克隆抗体的电荷异构体分离而设计

单克隆抗体的全面表征，包括酸性和碱性异构体的鉴别和监测。Agilent Bio MAb HPLC 色谱柱填充了专为单克隆抗体基于带电量的高分离度分离而设计的特殊树脂。这些色谱柱可兼容水性缓冲液、乙腈/丙酮/甲醇，以及水混合溶液。常用的缓冲液包括磷酸盐、tris、MES 和乙酸盐。

Bio MAb 柱有 1.7、3、5 和 10  $\mu\text{m}$  粒径可供选择，粒径越小，可达到的分离度越高。

### 色谱柱性能指标

键合相	内径	填料粒径	pH	稳定性	操作温度上限	流速
弱阳离子交换 (羧酸型)	2.1 和 4.6 mm	1.7、3、5 和 10 $\mu\text{m}$	2-12		80 °C	0.1-1.0 mL/min



### 提示与工具

您是否希望提高单克隆抗体电荷异构体分析的通量？如果是，请参阅：

*Reducing Cycle Time for Charge Variant Analysis of Monoclonal Antibodies*  
*Alternating Column Regeneration Using an Agilent 1200 Infinity Series Quick-Change Bio-inert 2-position/10-port Valve* (采用 Agilent 1200 Infinity 系列快速切换生物惰性 2 位/10 通阀进行交互柱再生缩短单克隆抗体电荷异构体分析的循环时间)，  
出版号 5991-4722EN

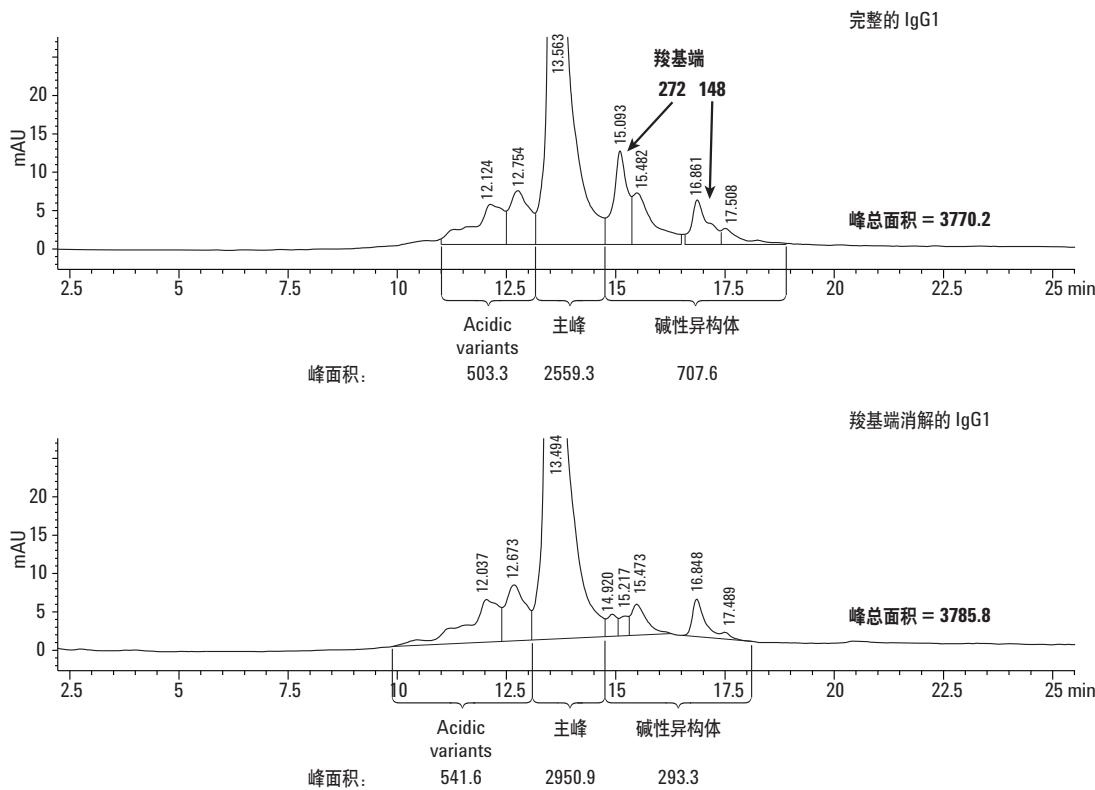
[www.agilent.com/chem/library](http://www.agilent.com/chem/library)

## 一致的离子交换 MAb 分离

色谱柱: Bio MAb, PEEK  
**5190-2407**  
**4.6 x 250 mm, 5 μm**

流动相: A: 10 mM 磷酸钠, pH 5.5  
 B: A + 0.5 M 氯化钠  
 流速: 0.85 mL/min  
 梯度: 从 0 到 25 min, B 从 10 % 增加到 35 %  
 (除非另有说明)

检测器: UV, 225 nm  
 样品: 5 μg 1 mg/mL 完整或羧基端消解的 IgG1  
 仪器: Agilent 1260 Infinity 生物惰性四元液相色谱或  
 Agilent 1100 系列液相色谱



在 Agilent 1260 Infinity 生物惰性四元液相色谱系统上使用 Agilent Bio MAb 5 μm 色谱柱分析羧基端消解的 IgG1 的计算数据。

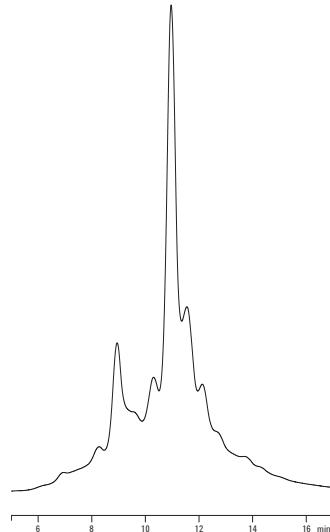
### pH 梯度 — 用于电荷异构体分析的另一强大技术

色谱柱: Bio MAb、PEEK  
**5190-2408**  
**4.6 x 50 mm, 5 µm**

梯度: 6.5 到 7.5 (0-20 min), 50 mM

样品: IgG 单克隆抗体

IgG 单克隆抗体的分析



### 重现性及精密度 — 使用 Bio MAb 色谱柱获得精确定量的可靠方法

色谱柱: Bio MAb, PEEK  
**5190-2407**  
**4.6 x 250 mm, 5 µm**

流动相: A: 10 mM 磷酸钠缓冲液, pH 6.0  
 B: 10 mM 碳酸氢钠缓冲液, pH 9.5

流速: 1.0 mL/min

梯度: 时间 (min) %B

0	0
25	100
27	100
30	0

进样量: 10 µL (洗针进样, 针冲洗口启动 7 s)

数据采集: 214 和 280 nm

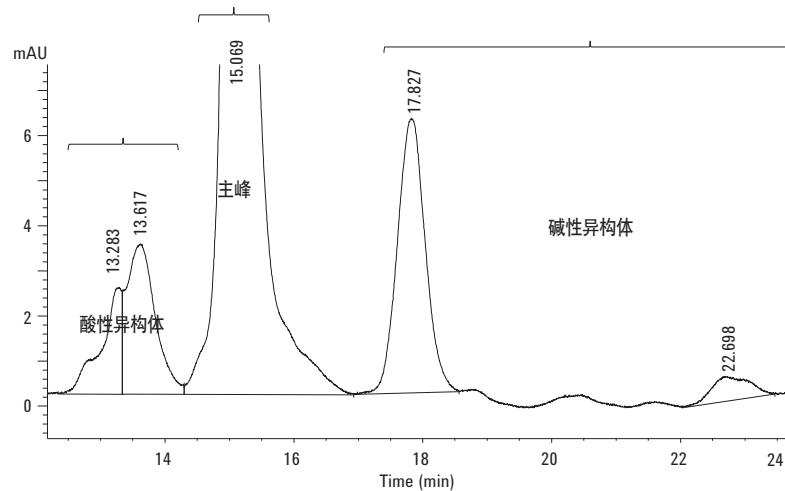
采集速率: 20 Hz

流通池: 60 mm 光程

柱温: 30 °C

样品恒温箱: 50 °C

后运行时间: 5 min



**赫赛汀 Fab 和 Fc 片段的 WCX 分离**

色谱柱: **Bio MAb, PEEK  
5190-2411  
2.1 x 250 mm, 5 μm**

流动相: A: 20 mM MES, pH 5.6  
B: 20 mM MES, pH 5.6  
+ 300 mM NaCl

流速: 170 μL/min

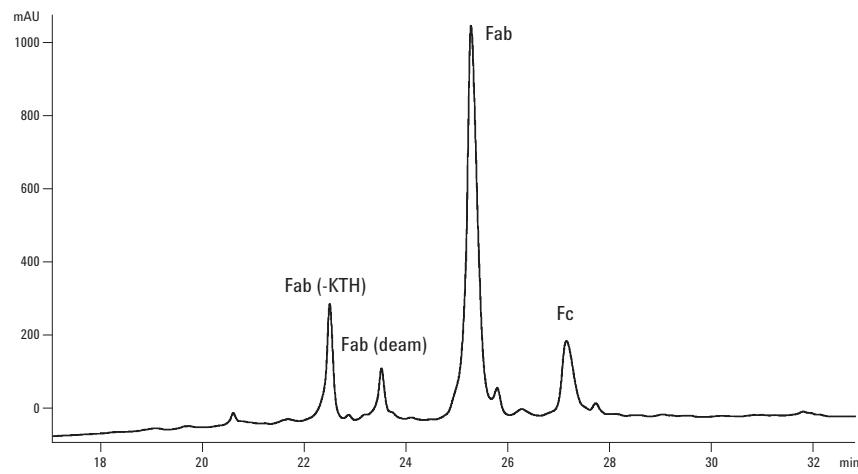
进样量: 16 μL

梯度: 

时间 (min)	%B
0	2
39.5	80
40	100
50	100
50.5	2
60	2

柱温: 30 °C

仪器: Agilent 1100 系列

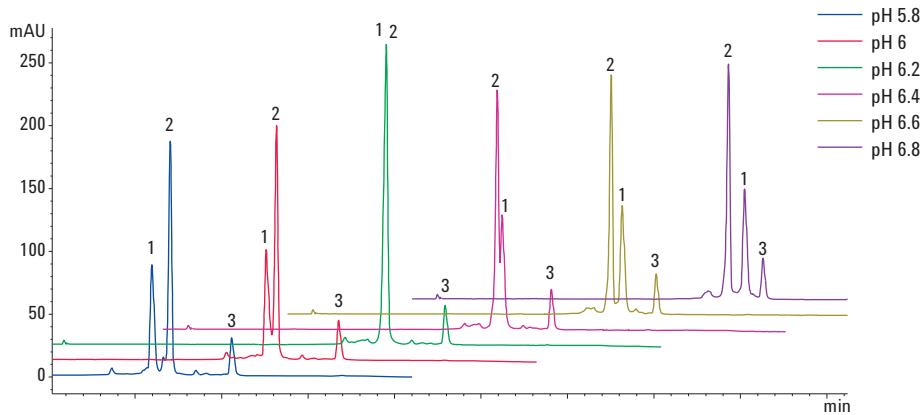


## 使用缓冲液顾问软件进行方法开发 — 最佳 pH 值的确定

色谱柱: **Bio MAb, PEEK  
5190-2407  
4.6 x 250 mm, 5 µm**

仪器:	Agilent 1260 Infinity 生物惰性四元液相色谱	梯度:	0 min – 20 mM NaCl 5 min – 20 mM NaCl 30 min – 500 mM NaCl 35 min – 1000 mM NaCl 36 min – 20 mM NaCl
缓冲液:	A: 水 B: 3 M NaCl C: 60 mM MES (2-(N-吗啉)乙磺酸水合物) D: 35 mM MES-Na (2-(N-吗啉)乙磺酸钠盐)	进样量:	10 µL
样品:	三种蛋白质混合物, 溶于 PBS (磷酸盐缓冲盐水), pH 7.4  核糖核酸酶 A: 13700 Da, pI 9.6 细胞色素 c: 12384 Da, pI 10-10.5 溶菌酶: 14307 Da, pI 11.35	恒温器:	4 °C
流速:	1 mL/min	TCC 温度:	25 °C
		DAD:	280 nm/4 nm, 参比波长: 关闭
		峰宽:	>0.05 min (1.0 s 响应时间) (5 Hz)

1. 核糖核酸酶 A
2. 细胞色素 c
3. 溶菌酶

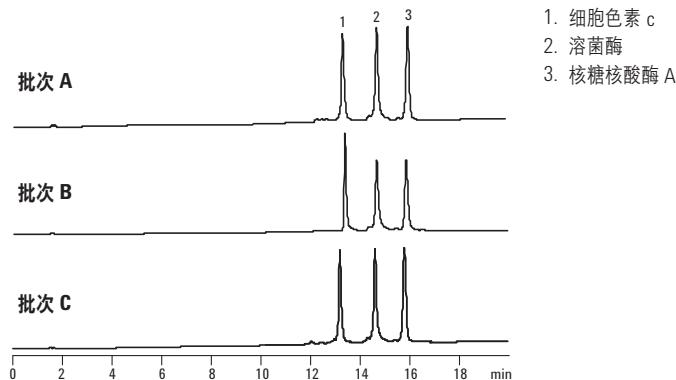


利用动态混合四元梯度进行三种蛋白质混合物分离的 pH 筛选。

### 几乎没有保留时间变化

色谱柱: **Bio MAb, 不锈钢  
5190-2413  
4.6 x 250 mm, 10 µm**

流动相: A: 10 mM 磷酸钠, pH 6.0  
B: A + 1.0 M 氯化钠  
流速: 1.0 mL/min  
梯度: B 在 42 分钟内由 0 变至 100%  
柱温: 25 °C  
检测器: UV, 214 nm



将优质的树脂、优异的柱表面化学以及先进的色谱柱装填技术结合，几乎消除了柱间及批次间保留时间的变化。

### Agilent Bio MAb 液相柱

规格 (mm)	填料粒径 (µm)	Bio MAb PEEK	压力限	Bio MAb 不锈钢	压力限
21.2 x 250	5			5190-6885	275 bar, 4000 psi
10 x 250	5			5190-6884	275 bar, 4000 psi
4.6 x 250	10	5190-2415	275 bar, 4000 psi	5190-2413	275 bar, 4000 psi
4.6 x 50	10	5190-2416	275 bar, 4000 psi		
4.6 x 250	5	5190-2407	400 bar, 5800 psi	5190-2405	400 bar, 5800 psi
4.6 x 50	5	5190-2408	400 bar, 5800 psi		
4.6 x 50	3			5190-2403	551 bar, 8000 psi
4.6 x 50	1.7			5190-2401	600 bar, 8700 psi
4.0 x 10, 保护柱	10			5190-2414	275 bar, 4000 psi
4.0 x 10, 保护柱	5			5190-2406	413 bar, 6000 psi
4.0 x 10, 保护柱	3			5190-2404	551 bar, 8000 psi
4.0 x 10, 保护柱	1.7			5190-2402	600 bar, 8700 psi
2.1 x 250	10	5190-2419	275 bar, 4000 psi		
2.1 x 50	10	5190-2420	275 bar, 4000 psi		
2.1 x 250	5	5190-2411	400 bar, 5800 psi		
2.1 x 50	5	5190-2412	400 bar, 5800 psi		



## Agilent Bio IEX 液相柱

- 高度交联的无孔聚（苯乙烯/二乙烯基苯）(PS/DVB) 硬质填料表面结合亲水聚合物层，可避免非特异性结合
- 均一、致密填装的离子交换官能团化学键合到亲水层上（每个结合位点连接多个离子交换基团），可提高色谱柱容量
- 填料、涂层和键合能够耐高压，有助于实现更高的分离度和更快速的分离
- 多个离子交换基团固定连接在一个结合位点上，以增加色谱柱容量

Agilent Bio IEX HPLC 色谱填充了聚合型无孔离子交换填料，专门用于多肽、寡核苷酸和蛋白质的高分离度、高回收率和高效分离。

Bio IEX 系列包括强阳离子交换 (SCX)、弱阳离子交换 (WCX)、强阴离子交换 (SAX) 和弱阴离子交换 (WAX) 填料。所有固定相均有 1.7、3、5 和 10  $\mu\text{m}$  无孔填料规格可供选择。

### 色谱柱性能指标

键合相	内径	填料粒径	pH 稳定性	操作温度上限	流速
SCX (强阳离子交换) — SO <sub>3</sub> H	2.1 和 4.6 mm	1.7、3、5 和 10 $\mu\text{m}$	2-12	80 °C	0.1-1.0 mL/min
WCX (弱阳离子交换) — COOH					
SAX (强阴离子交换) — N(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>					
WAX (弱阴离子交换) — N(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub>					

### 提示与工具

更多有关优化电荷异构体分析的信息，请参阅：

*Ion-exchange chromatography for biomolecule analysis: a "how-to" guide* (用离子交换色谱分析生物分子：操作指南)，出版号 5991-3775EN，以及

安捷伦离子交换 BioHPLC 色谱柱 — 满怀信心地快速表征蛋白质电荷异构体，出版号 5991-2449CHCN

[www.agilent.com/chem/library](http://www.agilent.com/chem/library)

### 简化的电荷异构体分析工作流程

色谱柱: Agilent Bio WCX, 不锈钢

5190-2443

4.6 x 50 mm, 3  $\mu$ m

Agilent Bio SCX, 不锈钢

5190-2423

4.6 x 50 mm, 3  $\mu$ m

流动相:

A: 水

B: 1.5 M 氯化钠

C: 40 mM 磷酸二氢钠

D: 40 mM 磷酸氢二钠

按照由缓冲液顾问软件预先确定的比例混合 C 和

D, 得到具有所需 pH 范围和强度的缓冲液。

流速: 1.0 mL/min

梯度: 获取右侧色谱图采用的色谱条件为:

pH 5.0 到 7.0, 缓冲液强度 10 到 25 mM

磷酸钠 0 到 500 mM (0 min 至 15 min)

磷酸钠保持 500 mM (15 min 至 20 min)

DOE 实验

pH 5.0 到 7.0

0 到 200 mM, 0 到 250 mM, 以及 0 到 300 mM

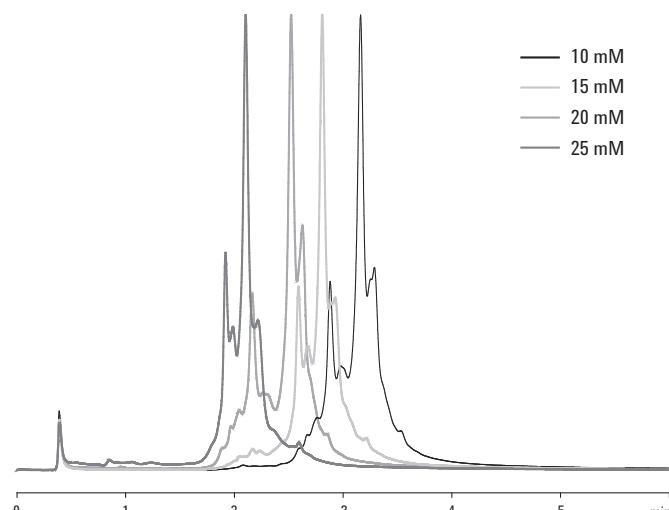
柱温: 室温

检测器: UV, 220 nm

样品: IgG 单克隆抗体

样品浓度: 2 mg/mL (溶于磷酸钠缓冲液 20 mM, pH 6.0)

仪器: Agilent 1260 Infinity 生物惰性四元液相色谱



优化电荷异构体分离的自动化方法开发。从单克隆 IgG 分离的筛选色谱图中, 在 pH 6.5 条件下优化缓冲液强度。

## 利用更小粒径的填料和更短的色谱柱实现更快分离 — 分离速度提高 30%

色谱柱: Agilent Bio WCX, 不锈钢  
5190-2445  
4.6 x 250 mm, 5  $\mu\text{m}$

色谱柱: Agilent Bio WCX, 不锈钢  
5190-2443  
4.6 x 50 mm, 3  $\mu\text{m}$

流动相: A: 20 mM 磷酸钠, pH 6.5  
B: A + 1.6 M 氯化钠

梯度: 0 - 50% B

柱温: 室温

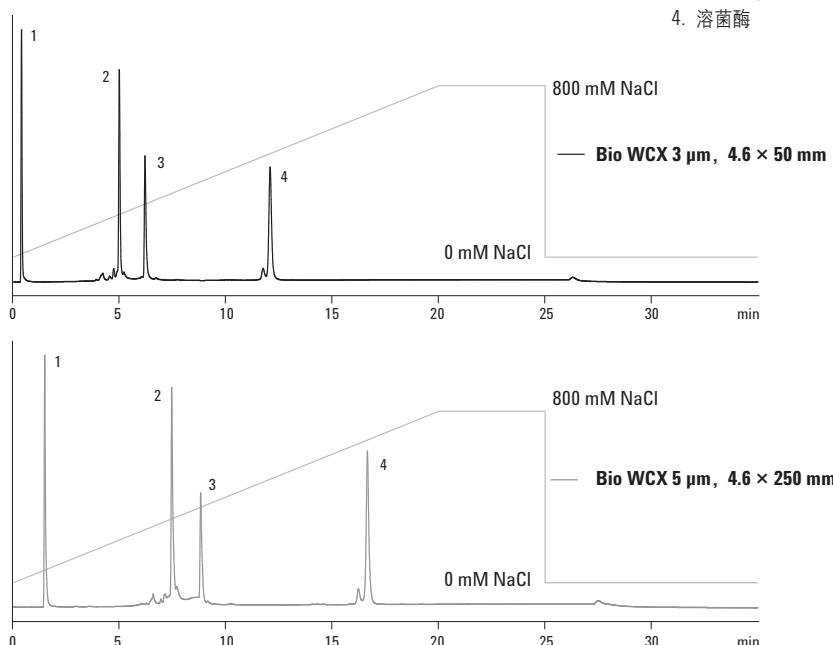
进样量: 10  $\mu\text{L}$

检测器: UV, 220 nm

样品浓度: 0.5 mg/mL

仪器: Agilent 1260 Infinity 生物惰性四元液相色谱

1. 卵清蛋白
2. 核糖核酸酶 A
3. 细胞色素 c
4. 溶菌酶



使用 Agilent Bio WCX 4.6 x 50 mm (3  $\mu\text{m}$ ) 色谱柱和 Agilent Bio WCX 4.6 x 250 mm (5  $\mu\text{m}$ ) 色谱柱分离蛋白质的色谱图对比 (流速 1.0 mL/min)。通过更小填料粒径和更短色谱柱实现了更快的分析 — 样品从较长的色谱柱中流出需 17 min, 而从较短色谱柱中流出仅需 12 min。

### 较小粒径填料显著提高分离度

色谱柱: Agilent Bio WCX, 不锈钢

5190-2443

4.6 x 50 mm, 3  $\mu$ m

色谱柱: Agilent Bio WCX, 不锈钢

5190-2441

4.6 x 50 mm, 1.7  $\mu$ m

流动相: A: 20 mM 磷酸钠, pH 6.5

B: A + 1.6 M 氯化钠

梯度: 0 - 50% B

柱温: 室温

进样量: 10  $\mu$ L

检测器: UV, 220 nm

样品浓度: 0.5 mg/mL

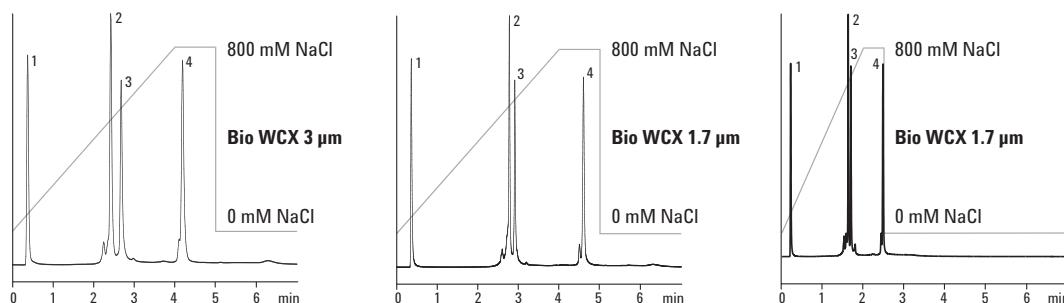
仪器: Agilent 1260 Infinity 生物惰性四元液相色谱

1. 卵清蛋白

2. 核糖核酸酶 A

3. 细胞色素 c

4. 溶菌酶



**左侧和中间:** 在 Agilent Bio WCX 3  $\mu$ m 色谱柱与 Agilent Bio WCX 1.7  $\mu$ m 色谱柱上进行蛋白质分离 (流速 1.0 mL/min)。

**右侧:** 将流速提高到 1.7 mL/min, 分离时间缩短到 3 min 以内。(使用 Agilent Bio WCX 色谱柱)

通过提高流速减少分析时间 (无损峰形和分离度)。

## 使用 Agilent 1260 Infinity 生物惰性四元液相色谱系统，以及阴离子交换色谱柱进行蛋白质分析

色谱柱: **Agilent Bio WAX, PEEK**

**5190-2487**

**4.6 x 250 mm, 5 µm**

缓冲液: A: 20 mM tris, pH 7.6

B: 20 mM tris, pH 7.6 + 2 M NaCl,  
1 M KCl, 1 M CH<sub>3</sub>COONa,  
1 M [(CH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>N]Cl

梯度 1 M: 5 min – 100% A

20 min – 70% B

25 min – 100% B

梯度 2 M: 5 min – 100% A

20 min – 35% B

25 min – 50% B

25.01 min – 100% B

停止时间: 30 min

后运行时间: 20 min

柱温: 25 °C

流速: 0.5 mL/min

进样量: 5 µL

DAD: 280 nm

峰宽: 0.025 min  
(响应时间 0.5 s)  
(10 Hz)

更多信息请参见应用简报 5990-9614CHCN  
([www.agilent.com/chem/library](http://www.agilent.com/chem/library))

1. 肌红蛋白, pI 6.9
2. 伴清蛋白异构体 A, pI 6.24
3. 伴清蛋白异构体 B, pI 6.09
4. α-乳清蛋白, pI 4.5
5. 胰蛋白酶抑制剂, pI 4.5

**RSD (%) 峰面积 RSD (%)**

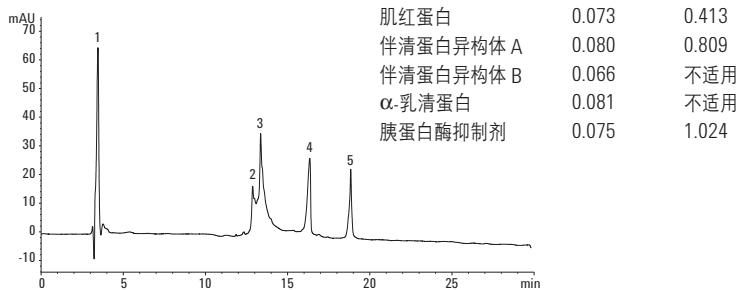


图 1. 线性梯度条件下蛋白质的 AEX 分离色谱图, 采用 2 M NaCl 作为洗脱盐

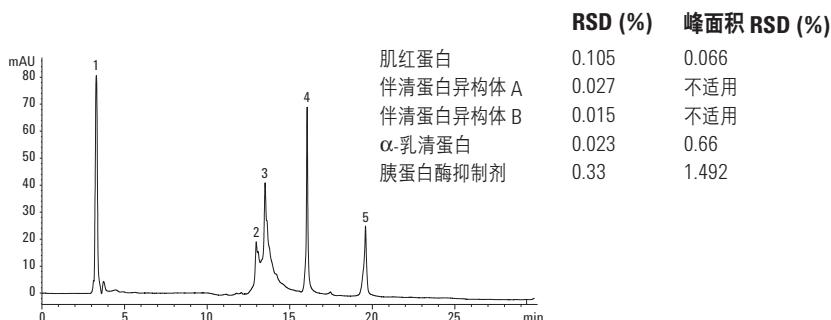


图 2. 线性梯度条件下蛋白质的 AEX 分离色谱图, 采用 1 M KCl 作为洗脱盐

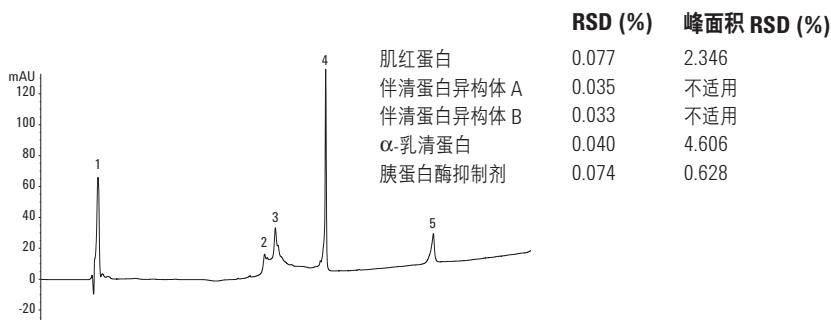


图 3. 线性梯度条件下蛋白质的 AEX 分离色谱图, 采用 1 M [(CH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>N]Cl 作为洗脱盐

**Agilent Bio IEX 液相柱, PEEK**

<b>规格 (mm)</b>	<b>填料粒径 (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>压力限</b>	<b>Bio SCX 部件号</b>	<b>Bio WCX 部件号</b>	<b>Bio SAX 部件号</b>	<b>Bio WAX 部件号</b>
4.6 x 250	10	275 bar, 4000 psi	5190-2435	5190-2455	5190-2475	5190-2495
4.6 x 50	10	275 bar, 4000 psi	5190-2436	5190-2456	5190-2476	5190-2496
4.6 x 250	5	400 bar, 5800 psi	5190-2427	5190-2447	5190-2467	5190-2487
4.6 x 50	5	400 bar, 5800 psi	5190-2428	5190-2448	5190-2468	5190-2488
2.1 x 250	10	275 bar, 4000 psi	5190-2439	5190-2459	5190-2479	5190-2499
2.1 x 50	10	275 bar, 4000 psi	5190-2440	5190-2460	5190-2480	5190-2500
2.1 x 250	5	400 bar, 5800 psi	5190-2431	5190-2451	5190-2471	5190-2491
2.1 x 50	5	400 bar, 5800 psi	5190-2432	5190-2452	5190-2472	5190-2492

**Agilent Bio IEX 液相柱, 不锈钢**

<b>规格 (mm)</b>	<b>填料粒径 (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>压力限</b>	<b>Bio SCX 部件号</b>	<b>Bio WCX 部件号</b>	<b>Bio SAX 部件号</b>	<b>Bio WAX 部件号</b>
21.2 x 250	5		5190-6879	5190-6881	5190-6883	5190-6877
10 x 250	5		5190-6878	5190-6880	5190-6882	5190-6876
4.6 x 250	10	275 bar, 4000 psi	5190-2433	5190-2453	5190-2473	5190-2493
4.6 x 250	5	413 bar, 6000 psi	5190-2425	5190-2445	5190-2465	5190-2485
4.6 x 150	3					5190-6875
4.6 x 50	3	551 bar, 8000 psi	5190-2423	5190-2443	5190-2463	5190-2483
4.6 x 50	1.7	600 bar, 8700 psi	5190-2421	5190-2441	5190-2461	5190-2481
4.0 x 10, 保护柱	10	275 bar, 4000 psi	5190-2434	5190-2454	5190-2474	5190-2494
4.0 x 10, 保护柱	5	413 bar, 6000 psi	5190-2426	5190-2446	5190-2466	5190-2486
4.0 x 10, 保护柱	3	551 bar, 8000 psi	5190-2424	5190-2444	5190-2464	5190-2484
4.0 x 10, 保护柱	1.7	600 bar, 8700 psi	5190-2422	5190-2442	5190-2462	5190-2482

**提示与工具**

更多信息请参阅：

利用安捷伦弱阳离子交换色谱柱优化蛋白质的分离，出版号 5990-9628CHCN

使用安捷伦弱阳离子交换柱进行快速分离，出版号 5990-9931EN

pH 梯度洗脱用于改善单克隆抗体电荷异构体的分离，出版号 5990-9629CHCN

使用安捷伦缓冲液顾问软件优化阳离子交换色谱法的蛋白质分离，出版号 5991-0565CHCN

[www.agilent.com/chem/library](http://www.agilent.com/chem/library)



## PL-SAX 强阴离子交换柱

- 小粒径填料提供了卓越的色谱性能
- 提供广泛的填料粒径及两种孔径，适合灵活的分析方法及纯化放大
- 出色的稳定性，色谱柱寿命长

PL-SAX -N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub><sup>+</sup> 色谱柱非常适用于蛋白质、多肽和去保护合成寡核苷酸在变性条件下的阴离子交换 HPLC 分离。强阴离子交换官能团共价连接到化学稳定的全多孔聚合物，拓展了可操作的 pH 范围。此外，阴离子交换能力与 pH 值无关。分析合成寡核苷酸时，可以使用温度、有机溶剂和高 pH 等变性条件进行分离。PL-SAX 色谱柱改善了分析可能产生聚集或发夹结构的自补序列或富含 G 的序列时的色谱性能。5 μm 填料可高效分离 n 和 n-1 序列。填料粒径和色谱柱尺寸范围广泛，可将分析级方法轻松放大至纯化级。填充材料的强阴离子交换官能团提供了独特的化学和热稳定性，甚至可以使用氢氧化钠作为洗脱剂，从而延长了柱寿命。

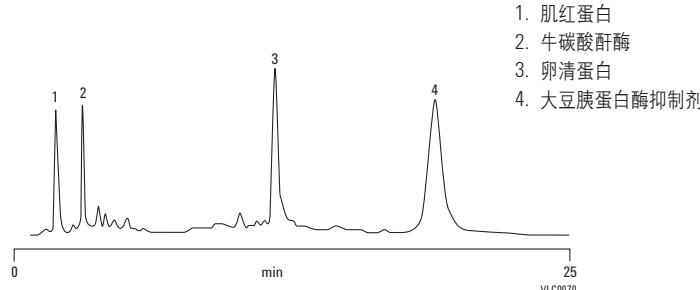
### 色谱柱性能指标

键合相	内径 (mm)	粒径 (μm)	孔径	pH 稳定性	操作温度上限
强阴离子交换	2.1、4.6、 7.5、25、 50 和 100	5、8、10 和 30	1000 Å 和 4000 Å	1-14	80 °C

### 标准离子交换蛋白质分离

色谱柱: **PL-SAX 1000Å  
PL1551-1502  
4.6 x 50 mm, 5 µm**

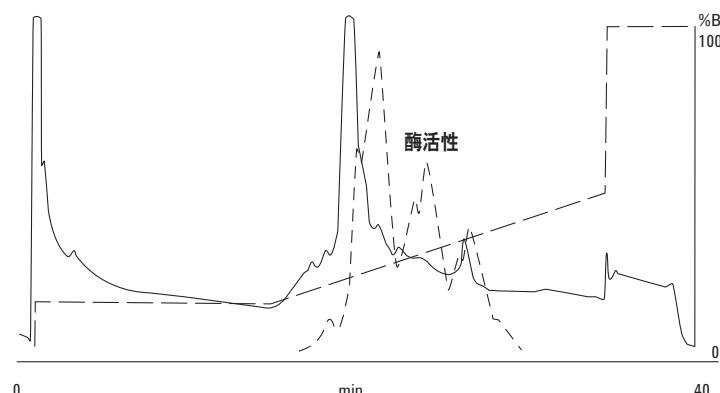
流动相: A: 10 mM tris HCl, pH 8  
B: A + 350 mM 氯化钠, pH 8  
梯度: B 在 20 分钟内由 0 升至 100%  
流速: 1.0 mL/min  
检测器: UV, 220 nm



### 胆碱激酶分析

色谱柱: **PL-SAX 4000Å  
PL1551-1803  
4.6 x 50 mm, 8 µm**

流动相: A: 20 mM tris 5% 乙二醇溶液, pH 7.5  
(添加下述物质用于维持酶活性)  
1.0 mM 乙二醇四乙酸  
2.0 mM  $\beta$ -巯基乙醇  
0.2 mM 苯甲基碘酰氟  
B: A + 1 M 氯化钾  
流速: 3.0 mL/min  
检测器: UV, 280 nm



分离数据由美国普渡大学的 T Porter 提供。

**典型乳清蛋白的分析**

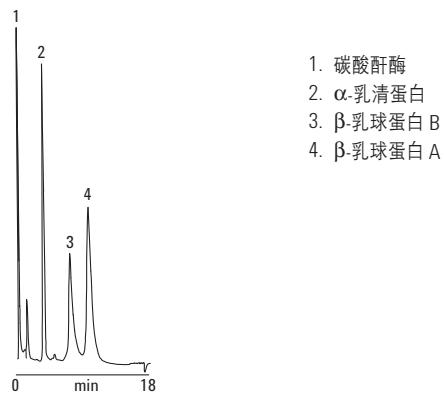
色谱柱: **PL-SAX 1000Å  
PL1551-1802  
4.6 x 50 mm, 8 µm**

流动相: A: 20 mM tris HCl, pH 7  
B: A + 500 mM 乙酸钠, pH 7

流速: 1.0 mL/min

梯度: 10 min 内 B 由 0% 线性变化至 50%

检测器: UV, 280 nm

**合成寡核苷酸的可靠分离 — 多聚-T-寡核苷酸分子量**

**标准品的高分离度分离, 其中加标大小为 10 mer,**

**15 mer、30 mer 和 50 mer (主峰) 的标准片段**

色谱柱: **PL-SAX 1000Å  
PL1551-1802  
4.6 x 50 mm, 8 µm**

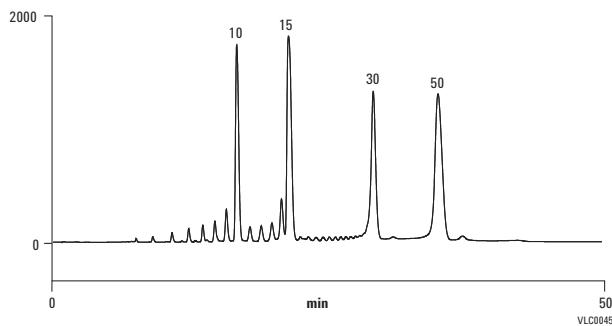
流动相: A: 7.93 v/v ACN: 100 mM TEAA, pH 8.5  
B: 7.93 v/v ACN: 100 mM TEAA, 1 M 氯化铵, pH 8.5

梯度: 在 10 分钟的时间内 B 由 0 逐渐变至 40%, 然后在 14 分钟的时间内逐渐变至 70%, 之后在 25 分钟的时间内逐渐变至 100%

流速: 1.5 mL/min

柱温: 60 °C

检测器: UV, 220 nm



多聚-T-寡核苷酸的高分离度分离。采用该梯度很容易实现 15 mer 以内 n mer 与 n-1 mer 的基线分离。

**PL-SAX 强阴离子交换柱**

<b>规格 (mm)</b>	<b>填料粒径 (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>压力限</b>	<b>PL-SAX 1000Å</b>	<b>PL-SAX 4000Å</b>
100 x 300	10	207 bar, 3000 psi	PL1851-2102	PL1851-2103
50 x 150	30	207 bar, 3000 psi	PL1751-3702	PL1751-3703
50 x 150	10	207 bar, 3000 psi	PL1751-3102	PL1751-3103
25 x 150	30	207 bar, 3000 psi	PL1251-3702	PL1251-3703
25 x 150	10	207 bar, 3000 psi	PL1251-3102	PL1251-3103
25 x 50	10	207 bar, 3000 psi	PL1251-1102	PL1251-1103
4.6 x 250	30	207 bar, 3000 psi	PL1551-5702	PL1551-5703
4.6 x 150	30	207 bar, 3000 psi	PL1551-3702	PL1551-3703
4.6 x 250	10	207 bar, 3000 psi	PL1551-5102	PL1551-5103
4.6 x 150	10	207 bar, 3000 psi	PL1551-3102	PL1551-3103
4.6 x 150	8	207 bar, 3000 psi	PL1551-3802	PL1551-3803
4.6 x 50	8	207 bar, 3000 psi	PL1551-1802	PL1551-1803
4.6 x 50	5	207 bar, 3000 psi	PL1551-1502	PL1551-1503
2.1 x 150	8	207 bar, 3000 psi	PL1951-3802	PL1951-3803
2.1 x 50	8	207 bar, 3000 psi	PL1951-1802	PL1951-1803
2.1 x 50	5	207 bar, 3000 psi	PL1951-1502	PL1951-1503
1.0 x 50	5	207 bar, 3000 psi	PL1351-1502	PL1351-1503

**PL-SAX 强阴离子交换柱散装填料**

<b>规格</b>	<b>填料粒径 (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>PL-SAX 1000Å</b>	<b>PL-SAX 4000Å</b>
100 g	30	PL1451-4702	PL1451-4703
100 g	10	PL1451-4102	PL1451-4103



## PL-SCX 强阳离子交换柱

- 采用了能够为生物分子提供有效分离的优化设计
- 孔径适用于不同大小的溶质
- 独特的稳定性延长了柱寿命

PL-SCX-SO<sub>3</sub><sup>-</sup>是一种具有强亲水性涂层和强阳离子交换官能团的大孔PS/DVB填料。其生产工艺严格控制，具有最佳的强阳离子交换官能团密度，适合用于分析、分离和纯化各种生物分子（从小分子量的多肽到高分子量的蛋白质）。提供两种孔径（1000Å和4000Å）供您选择，为不同大小的溶质提供良好的传质性能。5 μm填料可达到更高的分离度，而30 μm填料则适合用于中压液相色谱分析。

### 色谱柱性能指标

键合相	内径 (mm)	粒径 (μm)	孔径	pH 稳定性	操作温度上限
强阳离子交换	2.1、4.6、 7.5、25、 50 和 100	5、8、10 和 30	1000Å 和 4000Å	1-14	80 °C

### 标准蛋白分离

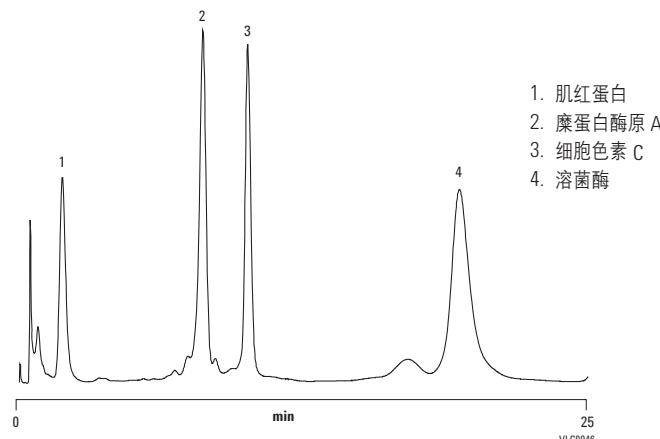
色谱柱: **PL-SCX 1000Å**  
**PL1545-1502**  
**4.6 x 50 mm, 5 μm**

流动相: A: 20 mM 磷酸二氢钾, pH 6.0  
B: A + 1 M 氯化钠

梯度: B 在 20 分钟内由 0 升至 100%

流速: 1.0 mL/min

检测器: UV, 280 nm



**PL-SCX 强阳离子交换柱**

<b>规格 (mm)</b>	<b>填料粒径 (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>压力限</b>	<b>PL-SCX 1000Å</b>	<b>PL-SCX 4000Å</b>
100 x 300	10	207 bar, 3000 psi	PL1845-2102	PL1845-2103
50 x 150	30	207 bar, 3000 psi	PL1745-3703	PL1745-3703
50 x 150	10	207 bar, 3000 psi	PL1745-3102	PL1745-3103
25 x 150	30	207 bar, 3000 psi	PL1245-3702	PL1245-3703
25 x 150	10	207 bar, 3000 psi	PL1245-3102	PL1245-3103
25 x 50	10	207 bar, 3000 psi	PL1245-1102	PL1245-1103
4.6 x 250	30	207 bar, 3000 psi	PL1545-5703	PL1545-5703
4.6 x 150	30	207 bar, 3000 psi	PL1545-3702	PL1545-3703
4.6 x 250	10	207 bar, 3000 psi	PL1545-5102	PL1545-5103
4.6 x 150	10	207 bar, 3000 psi	PL1545-3102	PL1545-3103
4.6 x 150	8	207 bar, 3000 psi	PL1545-3802	PL1545-3803
4.6 x 50	8	207 bar, 3000 psi	PL1545-1802	PL1545-1803
4.6 x 50	5	207 bar, 3000 psi	PL1545-1502	PL1545-1503
2.1 x 150	8	207 bar, 3000 psi	PL1945-3802	PL1945-3803
2.1 x 50	8	207 bar, 3000 psi	PL1945-1802	PL1945-1803
2.1 x 50	5	207 bar, 3000 psi	PL1945-1502	PL1945-1503
1.0 x 50	5	207 bar, 3000 psi	PL1345-1502	PL1345-1503

**PL-SCX 强阳离子交换散装填料**

<b>规格</b>	<b>填料粒径 (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>PL-SCX 1000Å</b>	<b>PL-SCX 4000Å</b>
100 g	30	PL1445-4702	PL1445-4703
100 g	10	PL1445-4102	PL1445-4102

**提示与工具**

还提供用于 Prep to Process (制备到生产级别) 的 PL-SAX 和 PL-SCX 色谱柱和散装填料。转到第 161 - 163 页。



Agilent Bio-Monolith 离子交换液相柱

## Agilent Bio-Monolith 离子交换液相柱

- 基于聚合物的整体式 HPLC 色谱柱，专为分离生物大分子而设计
- 分离不依赖流速；无扩散、无微孔、无死体积，使得流动相和固定相之间的传质非常迅速
- 整体盘为 5.2 mm x 4.95 mm (100 μL 柱体积)，带连续通道，消除了传质扩散
- 极快速的分离加速了方法开发，降低了成本；锁定方法开发参数显著缩短了时间，节省了缓冲液

安捷伦 Bio-Monolith 离子交换液相色谱柱为抗体 (IgG, IgM)、质粒 DNA、病毒、噬菌体以及其他生物大分子提供了高分离度的快速分离。该列产品提供有强阳离子交换、强阴离子和弱阴离子交换以及 Protein A 固定相。Bio-Monolith 液相色谱柱与 HPLC 和制备型液相色谱系统兼容，包括 Agilent 1100 和 1200 Inifinity 系列。

### 安捷伦 Bio-Monolith HPLC 柱选择指南

色谱柱	说明	主要应用	部件号
Bio-Monolith QA	季铵键合相（强阴离子交换）在 pH 2-13 的操作范围内完全带电荷，可结合带负电荷的生物大分子。	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 腺病毒的过程监测和质量控制</li> <li>• IgM 纯化监测和质量控制</li> <li>• 监测 DNA 杂质的去除</li> <li>• 监测内毒素的去除</li> <li>• HSA 纯度</li> </ul>	5069-3635
Bio-Monolith DEAE	二乙氨基乙基键合相（弱阴离子交换）在 pH 3-9 的操作范围内提高了对带负电荷的生物大分子的选择性。	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 细菌噬菌体生产和纯化的监测和质量控制</li> <li>• 质粒 DNA 纯化的监测和质量控制</li> </ul>	5069-3636
Bio-Monolith SO <sub>3</sub>	磺酰基键合相（强阳离子交换）在 pH 2-13 操作范围内完全带电荷，可结合带正电荷的生物大分子。	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 大分子（如蛋白质和抗体）的快速、高分离度分析分离</li> <li>• 血红素 A1c 的快速分析</li> </ul>	5069-3637

**色谱柱性能指标**

<b>尺寸</b>	5.2 mm x 4.95 mm
<b>柱体积</b>	100 $\mu$ L
<b>最高耐压</b>	150 bar (15 MPa, 2200 psi)
<b>最低/最高温度</b>	工作温度: 2-40 °C 贮存温度: 2-8 °C
<b>推荐 pH</b>	工作范围: 2-13 冲洗顺序: 1-14
<b>柱管材料</b>	硬件: 不锈钢 填料: 聚(甲基丙烯酸甘油酯-二甲基丙烯酸乙二醇酯) 高孔隙率整体柱
<b>色环识别标记</b>	Bio-Monolith QA: 蓝色 Bio-Monolith DEAE: 绿色 Bio-Monolith SO <sub>3</sub> : 红色
<b>保存期/有效期</b>	SO <sub>3</sub> , QA, DEAE: 24-36 个月

**提示与工具**

用安捷伦的方法转换工具软件将您的方法轻松转移到不同粒径或不同尺寸的色谱柱上。还可以计算时间和溶剂的节省情况。

[www.agilent.com/chem/lcmethodtranslator](http://www.agilent.com/chem/lcmethodtranslator)

## 蛋白质标准品分离的基线展开

色谱柱: 安捷伦 Bio-Monolith CM15, 5.5 x 15 mm

流动相: A: 10 mM 磷酸氢二钠 pH 6.0

B: A + 500 mM 氯化钠或仅使用 500 mM 磷酸氢二钠, pH 6.0

流速: 2 mL/min

梯度: 用流动相 A 洗脱 0.5 min, 然后采用线性梯度在 15 min 内洗脱至 45% B (运行时间为 15.5 min), 然后于 15.6 min 时升至 60% B, 维持 60% B 至 20 min。在为下次进样重新平衡前用 100% B 冲洗色谱柱 15 min。

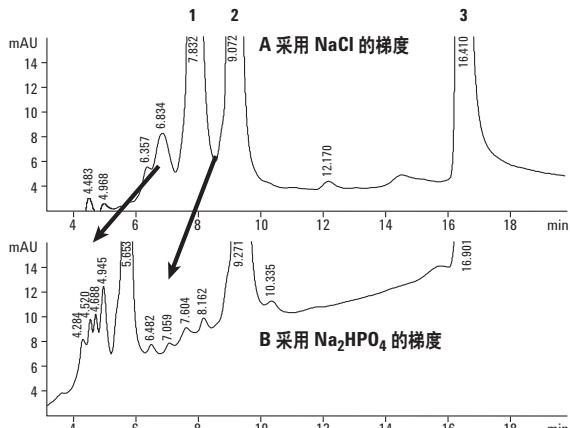
pH 梯度: A: 5 mM 磷酸氢二钠缓冲液, pH 调至 5.5; B: 40 mM 磷酸氢二钠溶液 (不调整 pH, pH 8.9)。以 2% B/min 的线性梯度采用 1 mL/min 的流速洗脱 15 分钟, 然后用 90% B 冲洗色谱柱 5 min。

检测器: UV, 220 nm

样品: 各 1 mg/mL, 用流动相 A 溶解

1. 从牛胰腺提取的核糖核酸酶 (pI 9.6)
2. 从牛心脏提取的细胞色素 c (pI 10.37-10.8)
3. 从鸡蛋中提取的溶菌酶 (pI 11.35) (0.5 mg)

仪器: Agilent 1200 Infinity 系列, 带二极管阵列检测器

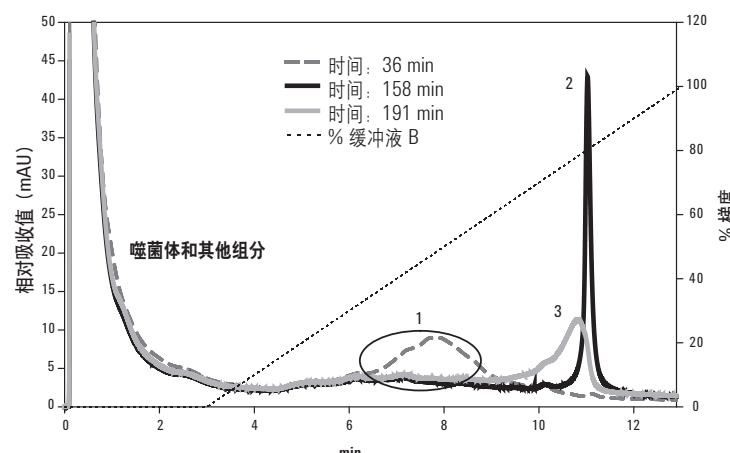


B 的蛋白质污染物分离度更佳

## 监测发酵过程中噬菌体的产生

色谱柱: Bio-Monolith DEAE  
5069-3636  
5.2 x 4.95 mm

流动相: A: 125 mM 磷酸钠缓冲液, pH 7.0  
B: 125 mM 磷酸钠缓冲液 + 1 M NaCl, pH 7.0  
流速: 1 mL/min  
梯度: 100% 缓冲液 A (2.5 分钟)  
0-100% 缓冲液 B (10 分钟)  
100% 缓冲液 A (2 分钟)  
检测器: UV, 280 nm  
仪器: 高压梯度液相色谱系统, Agilent 1200 Infinity 系列



在噬菌体增殖过程中，基因组 DNA (gDNA) 的浓度随宿主细胞的溶解而增加。gDNA 在发酵后期开始降解成片段。纯化介质不能轻易去除这些 gDNA 片段，所以在这些基因组 DNA 降解前停止发酵循环非常重要。以上色谱图分别代表在 36 分钟、158 分钟和 191 分钟从生物反应器中取出的样品。峰 1 为噬菌体、介质和宿主细胞，峰 2 是完整 gDNA，峰 3 为降解的 gDNA 片段。





## 聚集体和片段分析

### 精确测定生物分子聚集、断裂和化学配基/修饰

体积排阻色谱 (SEC) 是一项使用水相洗脱液基于尺寸分离蛋白质、寡核苷酸和其他复杂生物聚合物的技术。尤其它还是对蛋白质生物治疗药物中的聚集体进行定量分析的重要工具。生物药物（如单克隆抗体）的生产是一个复杂的过程，而蛋白质聚集是细胞培养、分离、纯化和制剂过程中都可能会出现的一个问题。二聚体和更高级的聚集体会影响最终产品的药效和安全性；因此我们必须在工艺开发过程中对聚集体含量进行定量分析，以建立产品的关键质量属性 (CQA)，进行最终产品表征时也应进行此项分析，以确保聚集含量降至最低并将其控制在安全水平。

### 采用 SEC 进行聚集体分析研究

蛋白质生物药物中存在的聚集体的尺寸、类型和数量，会影响产品的药效和制剂过程 —— 更坏情况下，可引起免疫反应。聚集体的形成有各种机制，包括形成二硫键和发生非共价相互作用。

由于蛋白聚集体，包括二聚体的尺寸与蛋白质单体有很大区别，所以，我们可以用 SEC 分离这些不同形式的蛋白质。实际上，SEC 结合 UV 或光散射检测是定量检测蛋白质聚集体的标准技术。

## 采用 SEC 进行定量分析和分子量测定

对于蛋白质和其他分子量离散的分子，可采用 SEC 对单体、二聚体、聚合体和片段进行检测和定量。SEC 还可以分离寡核苷酸混合物。

对于包含各种链长的生物聚合物（如淀粉和其他多糖），SEC 可以提供其分子量分布和支链（使用适合的检测器）方面的数据。

安捷伦作为有 30 多年 SEC 色谱柱和仪器生产经验的领先企业，正不断开发能够提供更高分离度和更快分离速度的新的 SEC 产品。本节将着重介绍用于蛋白质生物聚合物分析的各种安捷伦 SEC 系列色谱柱：

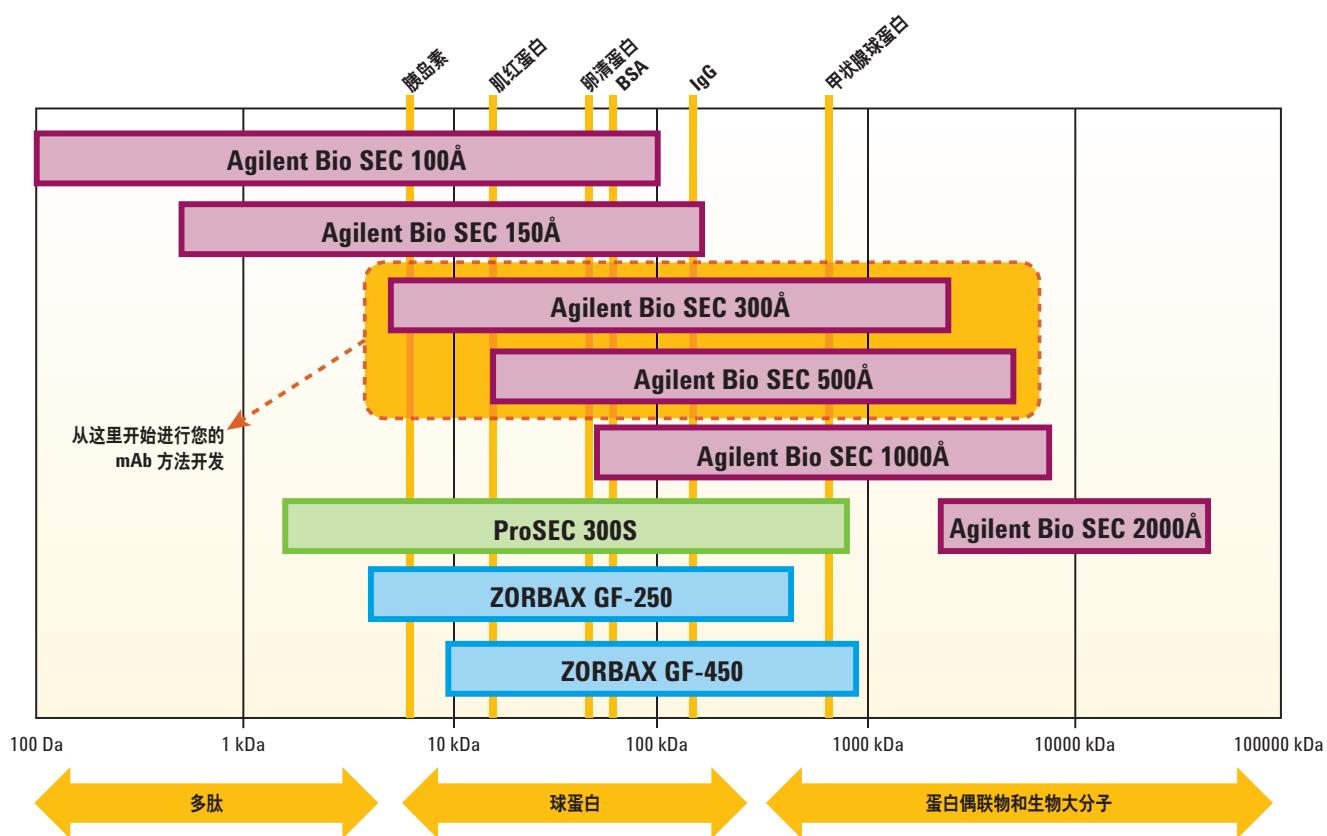
- Bio SEC-3 和 Bio SEC-5 色谱柱有多种孔径可选，非常适合用于蛋白质分析 — 尤其适合测定治疗性生物分子中的二聚体和聚集体。请注意，3 μm Bio SEC-3 色谱柱与行业标准的 5 μm Bio SEC-5 色谱柱相比，能提供更高的分离度
- ProSEC 300S 柱可在高盐条件下很好地分离球蛋白
- ZORBAX GF-250 和 GF-450 柱是采用仍要求使用 USP 指定产品 L35 的方案时需要使用的传统产品。另外，我们建议使用 Bio SEC 柱以改善性能
- PL aquagel-OH 柱可用于分析宽分子量范围的生物聚合物，例如 PEG、寡糖和多糖、淀粉和胶类。请参阅《水相和极性 GPC/SEC 色谱柱产品指南》，出版号 5990-7995CHCN

### 体积排阻色谱 (SEC)

应用	安捷伦色谱柱	说明	USP 指定产品
多肽、蛋白质、聚集体分析	安捷伦 Bio SEC-3 色谱柱	采用 3 μm 填料，100 Å、150 Å 和 300 Å 孔径可选，能够提供更高的分离度和更快的分离速度。	L33 或 L59
生物大分子和含多种分子量组分的样品	安捷伦 Bio SEC-5 色谱柱	有更多孔径可供选择（100 Å、150 Å、300 Å、500 Å、1000 Å 及 2000 Å），能够覆盖更宽的分析物范围。	L33 或 L59
球蛋白、抗体	ProSEC 300S 色谱柱	可通过单柱在高盐浓度条件下分析蛋白质。	L33
蛋白质、球蛋白	ZORBAX GF-250/450 色谱柱	采用仍要求使用 USP 指定产品 L35 的方案时需要使用的传统产品	L35

## 哪一种体积排阻色谱柱适合您的应用？

您可以基于分析物和方法参数，从安捷伦的多种体积排阻色谱柱中，选出可助您实现完美分离的产品。本图为您提供要获得常见分子类型的最佳分离结果所需的孔径范围概览。我们建议您使用 Agilent Bio SEC-3 和 Bio SEC-5 色谱柱进行初次方法开发。





## 安捷伦 Bio SEC-3 色谱柱

为多肽和蛋白质的快速分离提供更高的分离度

Agilent Bio SEC-3 色谱柱因其填料尺寸小且高效，在速度和分离度方面比其他体积排阻色谱柱更有优势。

- 比大粒径 SEC 色谱柱分离速度更快
- 高分离度：更尖锐的色谱峰及更好的蛋白回收率
- 优异负载能力和回收率：得益于其专利亲水层
- 灵活的方法开发：与大多数水相缓冲液兼容
- 在高盐和低盐条件下都具有出色的稳定性
- 性能可靠一致：填料分散窄；专利亲水层最大限度地减少了次级相互作用
- 高稳定性填料：与包括蒸发光散射在内的多种检测器兼容

Bio SEC-3 色谱柱帮助您获得一致性更高的 SEC 分离。每根色谱柱都填充了球形、粒径分散窄的 3 μm 硅胶颗粒，其表面涂覆专利亲水聚合物层，可确保高回收率，并最大限度地减少次级相互作用、提供一致性更好的分离。这层很薄的聚合物层在控制条件下化学键合到机械稳定的纯硅胶表面，以确保得到高效的体积排阻填料。

### 色谱柱性能指标

孔径	填料粒径	分子量范围	pH 范围	最高压力	流速
100Å	3 μm	100-100000	2-8.5	137 bar, 2000 psi	1.0-10.0 mL/min (21.2 mm 内径)
					0.2-1.2 mL/min (7.8 mm 内径)
					0.1-0.4 mL/min (4.6 mm 内径)
150Å	3 μm	500-150000	2-8.5	137 bar, 2000 psi	1.0-10.0 mL/min (21.2 mm 内径)
					0.2-1.2 mL/min (7.8 mm 内径)
					0.1-0.4 mL/min (4.6 mm 内径)
300Å	3 μm	5000-1250000	2-8.5	137 bar, 2000 psi	1.0-10.0 mL/min (21.2 mm 内径)
					0.2-1.2 mL/min (7.8 mm 内径)
					0.1-0.4 mL/min (4.6 mm 内径)

### 提示与工具

去活性/硅烷化样品瓶拥有不与金属、生物分子或蛋白质发生相互作用，也不会引起 pH 值偏移的惰性表面。生物分子或光敏化合物禁止使用标准的聚丙烯样品瓶。

**校正曲线 – Bio SEC-3**

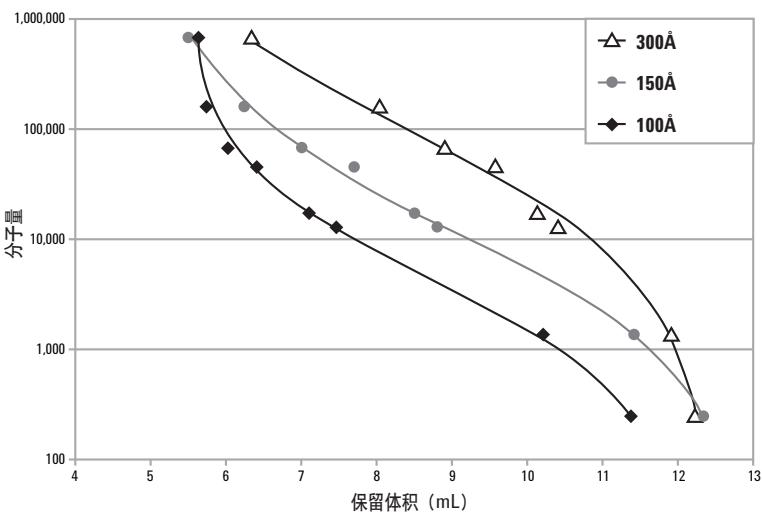
色谱柱: **Bio SEC-3**  
**7.8 x 300 mm, 3 μm**

流动相: 150 mM 磷酸钠缓冲液, pH 7.0

流速: 1.0 mL/min

检测器: UV

蛋白质	分子量	300Å	150Å	100Å
甲状腺球蛋白	670000	6.34	5.50	5.63
γ球蛋白	158000	8.03	6.24	5.74
BSA	67000	8.90	7.00	6.03
卵清蛋白	45000	9.57	7.70	6.41
肌红蛋白	17000	10.12	8.50	7.10
核糖核酸酶 A	12700	10.40	8.80	7.46
维生素 B-12	1350	11.90	11.40	10.20

**完整 Mab 单体和二聚体的分离**

色谱柱: **Bio SEC-3, 300Å**  
**5190-2511**  
**7.8 x 300 mm, 3 μm**

缓冲液: 150 mM 磷酸钠缓冲液, pH 7.0

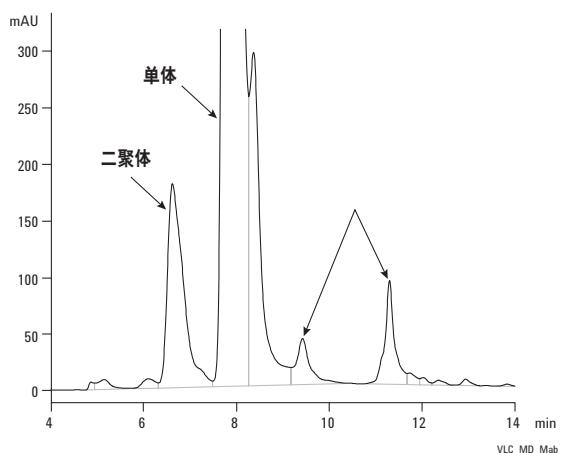
流速: 1.0 mL/min

样品: CHO-人源化 MAb, 5 mg/mL — 完整

进样: 5 μL

检测器: UV, 220 nm

柱温: 室温



## 安捷伦 Bio SEC-3 色谱柱和竞争厂商色谱柱分析

### 单克隆抗体的比较

色谱柱: **Bio SEC-3, 300Å  
5190-2511  
7.8 x 300 mm, 3 µm**

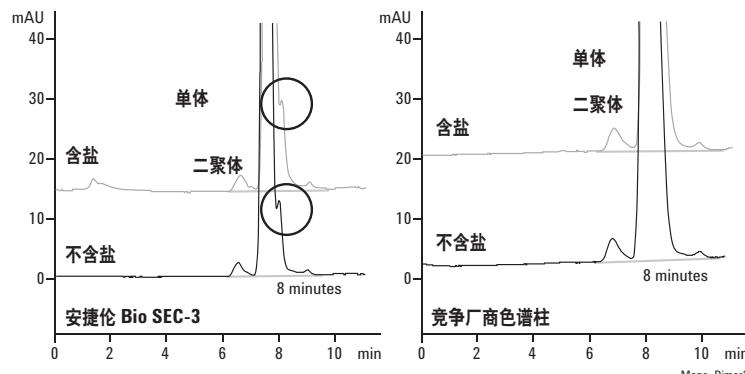
色谱柱: 竞争厂商色谱柱 7.8 x 300 mm

流动相: 150 mM 磷酸钠 + 100 mM 硫酸钠 (含盐)  
150 mM 磷酸钠 (不含盐)

流速: 1.0 mL/min

检测器: UV, 220 nm

样品: mAb (2 mg/mL)



Agilent Bio SEC-3 色谱柱分离出了竞争厂商色谱柱没有发现的 mAb

### 用安捷伦 Bio SEC-3 和竞争厂商色谱柱对单克隆抗体单体和二聚体进行分析

洗脱液	色谱柱	单体: 二聚体分离比率	单体效率	二聚体百分比
含盐	安捷伦	2.04	7,518	0.59
含盐	竞争厂商	1.88	3,967	0.59
不含盐	安捷伦	2.08	7,942	0.60
不含盐	竞争厂商	1.92	4,164	0.57

### 提示与工具

更多信息可参考:

采用 Agilent BioHPLC 体积排阻色谱柱, 快速可靠地分离蛋白质聚集体和降解产物,  
出版号 5991-2898CHCN

[www.agilent.com/chem/library](http://www.agilent.com/chem/library)

## 孔径选择

填料孔径的选择将影响 SEC 的分离度。由于分离是基于溶液中分子尺寸的差异，所以样品必须能够进入到填料的多孔结构中。如果孔径太小，样品组分都被排阻在孔隙之外，组分将在色谱柱空隙体积内被洗脱，如果太大，则各组分都能完全渗透到填料孔隙中，将很难实现分离。

### 孔径选择：蛋白质

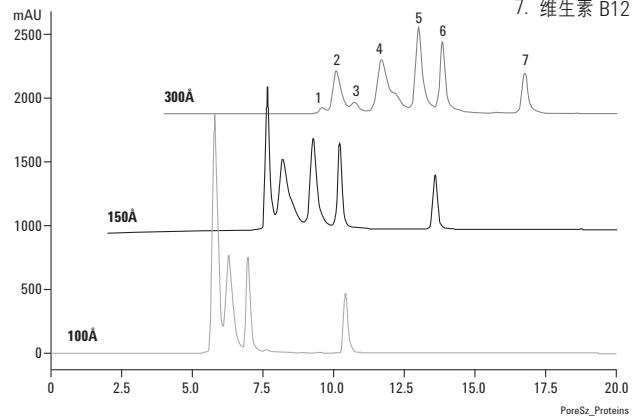
**A 柱:** Bio SEC-3, 100Å  
5190-2503  
4.6 x 300 mm, 3 µm

**B 柱:** Bio SEC-3, 150Å  
5190-2508  
4.6 x 300 mm, 3 µm

**C 柱:** Bio SEC-3, 300Å  
5190-2513  
4.6 x 300 mm, 3 µm

流动相: 100 mM 磷酸钠 + 150 mM 氯化钠, pH 6.8  
流速: 0.35 mL/min  
检测器: UV, 220 nm  
样品: Bio-Rad 凝胶过滤混合标准品

1. 甲状腺球蛋白聚集体
2. 甲状腺球蛋白
3. IgA
4.  $\gamma$ -球蛋白
5. 卵清蛋白
6. 肌红蛋白
7. 维生素 B12



### 孔径选择：小鼠 IgG

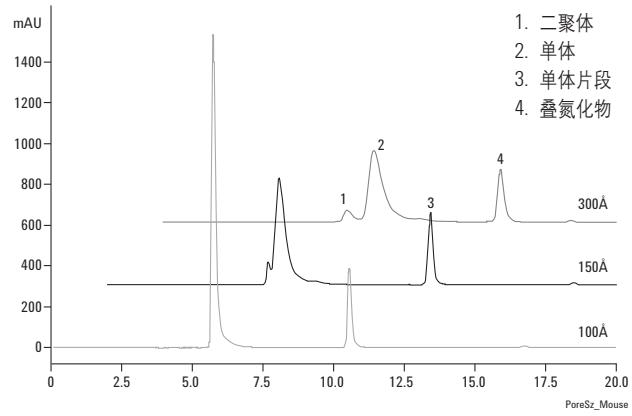
**A 柱:** Bio SEC-3, 100Å  
5190-2503  
4.6 x 300 mm, 3 µm

**B 柱:** Bio SEC-3, 150Å  
5190-2508  
4.6 x 300 mm, 3 µm

**C 柱:** Bio SEC-3, 300Å  
5190-2513  
4.6 x 300 mm, 3 µm

流动相: 100 mM 磷酸钠 + 150 mM 氯化钠, pH 6.8  
流速: 0.35 mL/min  
检测器: UV, 220 nm  
样品: 小鼠 IgG

1. 二聚体
2. 单体
3. 单体片段
4. 叠氮化物



## 柱长

当缩短分离时间很重要时，使用填充更高柱效的  $3\text{ }\mu\text{m}$  填料的短柱。短柱采用更高流速，缩短了分析时间，但对数据质量没有影响，适合单克隆抗体单体和二聚体的定量分析。

### 安捷伦 Bio SEC-3 柱长比较, 150 mm

色谱柱: Bio SEC-3, 300 $\text{\AA}$   
5190-2512  
7.8 x 150 mm, 3  $\mu\text{m}$

流动相: 150 mM 磷酸钠

流速: 1.0 mL/min (56 bar), 1.5 mL/min (75 bar)

检测器: UV, 220 nm

样品: mAb (2 mg/mL)

### 安捷伦 Bio SEC-3 柱长比较, 300 mm

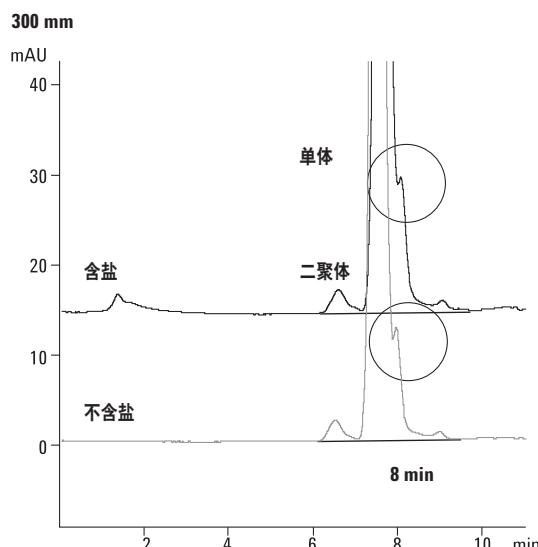
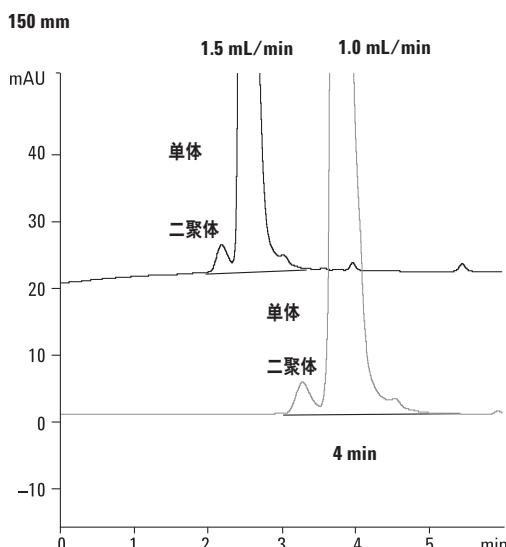
色谱柱: Bio SEC-3, 300 $\text{\AA}$   
5190-2511  
7.8 x 300 mm, 3  $\mu\text{m}$

流动相: 150 mM 磷酸钠 + 100 mM 硫酸钠 (含盐)  
150 mM 磷酸钠 (不含盐)

流速: 1.0 mL/min

检测器: UV, 220 nm

样品: mAb (2 mg/mL)



## 安捷伦 Bio SEC-3 色谱柱

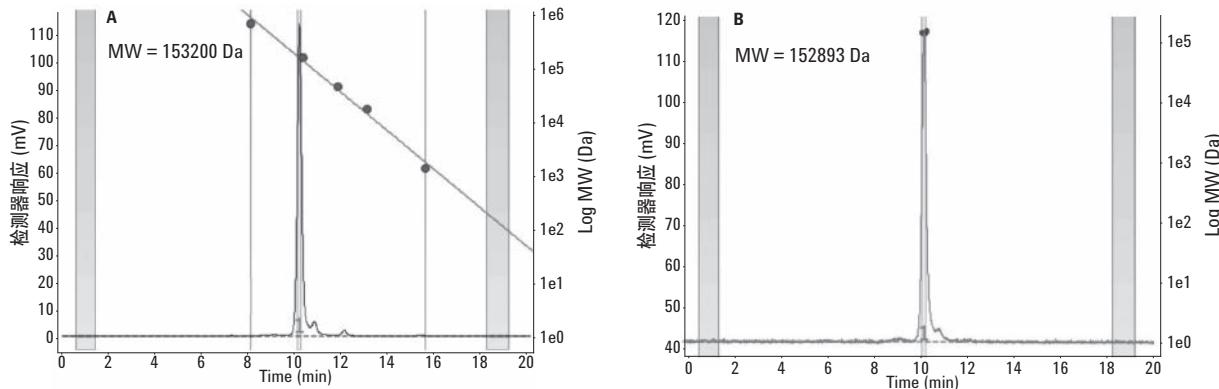
规格 (mm)	填料粒径 ( $\mu\text{m}$ )	Bio SEC-3	Bio SEC-3	Bio SEC-3
		100 $\text{\AA}$ USP L33	150 $\text{\AA}$ USP L33	300 $\text{\AA}$ USP L33
21.2 x 300	3	5190-6850	5190-6851	5190-6852
21.2 x 50, 保护柱	3	5190-6854	5190-6855	5190-6856
7.8 x 300	3	5190-2501	5190-2506	5190-2511
7.8 x 150	3	5190-2502	5190-2507	5190-2512
7.8 x 50, 保护柱	3	5190-2505	5190-2510	5190-2515
4.6 x 300	3	5190-2503	5190-2508	5190-2513
4.6 x 150	3	5190-2504	5190-2509	5190-2514
4.6 x 50, 保护柱	3	5190-6846	5190-6847	5190-6848

## 与传统 SEC 分析比较

色谱柱: Bio SEC-3, 300 $\text{\AA}$   
5190-2511  
7.8 x 300 mm, 3  $\mu\text{m}$

流动相: PBS, pH 7.4

流速: 0.75 mL/min



采用传统 SEC 分析方法（使用 UV 检测并经色谱柱校准，图 A）以及在 90 °C 下采用 IS 方法 (B) 分析抗 dyKdddK 抗体的结果对比。两种分析方法所得结果的分子量范围相同，均为约 153000 da。

## 提示与工具

更多有关采用 Agilent 1260 Infinity 多检测器 Bio-SEC 解决方案和 Agilent BioSEC-3 色谱柱进行分子量测定和聚集体分析的信息，请参阅：

*Detailed Aggregation Characterization of Monoclonal Antibodies Using the Agilent 1260 Infinity Multi-Detector Bio-SEC Solution with Advanced Light Scattering Detection* (使用 Agilent 1260 Infinity 多检测器 Bio-SEC 解决方案和先进的光散射检测方法对单克隆抗体的聚集体进行详细的表征分析)，出版号 5991-3954EN 以及 *Determination of Protein Molecular Weight and Size Using the Agilent 1260 Infinity Multi-Detector Bio-SEC Solution with Advanced Light Scattering Detection* (使用 Agilent 1260 Infinity 多检测器 Bio-SEC 解决方案和先进的光散射检测方法测定蛋白质的分子量和分子大小)，出版号 5991-3955EN

[www.agilent.com/chem/library](http://www.agilent.com/chem/library)



## Agilent Bio SEC-5 色谱柱

- 良好的分离度：适用于大分子
- 高稳定性和效率：得益于专利的中性亲水聚合物层
- 改善的峰容量和分离度：为增加孔容量而特别设计的填料
- 优异的性能：卓越的重现性和色谱柱寿命
- 即使在高 pH、高盐和低盐条件下，也具有卓越的稳定性
- 灵活的方法开发：与大多数水相缓冲液兼容
- 用途广泛：孔径高达 2000 Å，适用于疫苗和高分子量生物分子的分离

分离含多种分子量组分的生物大分子和样品时，Agilent Bio SEC-5 色谱柱是理想的选择。该柱使用 5 μm 硅胶颗粒填充，涂覆有确保最高柱效和稳定性的专利中性亲水聚合物层，有 6 种不同孔径，以便在不同分子量范围内优化分离度。

### 色谱柱性能指标

孔径	填料粒径	分子量范围	pH 范围	最高压力	流速
100Å	5 μm	100-100000	2-8.5	137 bar, 2000 psi	1.0-10.0 mL/min (21.2 mm 内径)
					0.2-1.2 mL/min (7.8 mm 内径)
					0.1-0.4 mL/min (4.6 mm 内径)
150Å	5 μm	500-150000	2-8.5	137 bar, 2000 psi	1.0-10.0 mL/min (21.2 mm 内径)
					0.2-1.2 mL/min (7.8 mm 内径)
					0.1-0.4 mL/min (4.6 mm 内径)
300Å	5 μm	5000-1250000	2-8.5	137 bar, 2000 psi	1.0-10.0 mL/min (21.2 mm 内径)
					0.2-1.2 mL/min (7.8 mm 内径)
					0.1-0.4 mL/min (4.6 mm 内径)
500Å	5 μm	15000-5000000	2-8.5	137 bar, 2000 psi	1.0-10.0 mL/min (21.2 mm 内径)
					0.2-1.2 mL/min (7.8 mm 内径)
					0.1-0.4 mL/min (4.6 mm 内径)
1000Å	5 μm	50000-7500000	2-8.5	137 bar, 2000 psi	1.0-10.0 mL/min (21.2 mm 内径)
					0.2-1.2 mL/min (7.8 mm 内径)
					0.1-0.4 mL/min (4.6 mm 内径)
2000Å	5 μm	>10000000	2-8.5	137 bar, 2000 psi	1.0-10.0 mL/min (21.2 mm 内径)
					0.2-1.2 mL/min (7.8 mm 内径)
					0.1-0.4 mL/min (4.6 mm 内径)

## Agilent Bio SEC-3 和 Agilent Bio SEC-5 比较

### 单克隆抗体分析

色谱柱: **Bio SEC-3, 300Å  
5190-2511  
7.8 x 300 mm, 3 μm**

色谱柱: **Bio SEC-5, 300Å  
5190-2526  
7.8 x 300 mm, 5 μm**

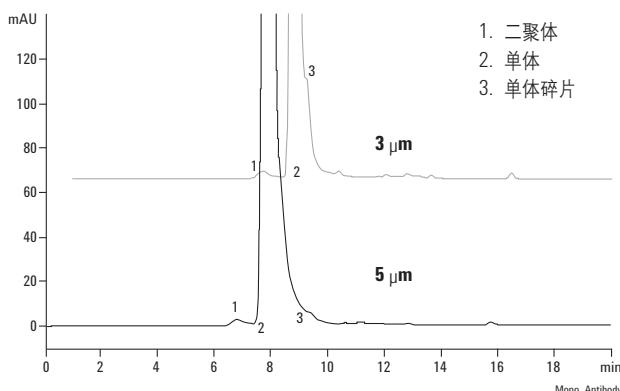
流动相: 150 mM 磷酸钠, pH 7.0

流速: 1 mL/min

检测器: UV, 220 nm

样品: 人源化单克隆抗体

3 μm 柱能够进行分离度更高的碎片分离。



### 提示与工具

在开发蛋白质聚集体的分析方法时，我们需要考虑许多因素：溶质大小和分子量的影响、色谱柱选择、流动相选择重要注意事项等等。有关上述所有考虑因素的指南，请参阅

《使用体积排阻色谱法分析生物分子：操作指南》，出版号 5991-3651CHCN

[www.agilent.com/chem/library](http://www.agilent.com/chem/library)

### 校正曲线 – Bio SEC-5

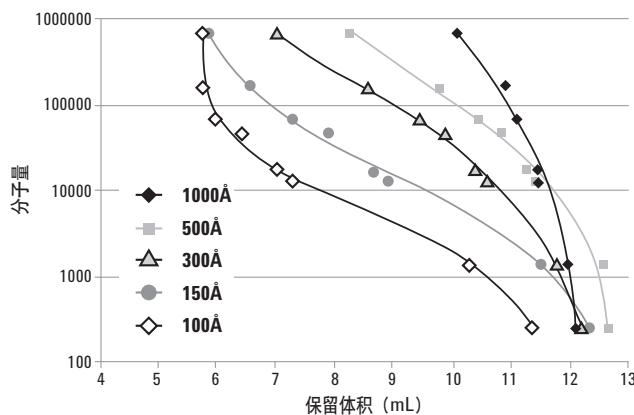
色谱柱: **Bio SEC-5**  
**7.8 x 300 mm, 5  $\mu\text{m}$**

流动相: 150 mM 磷酸钠, pH 7.0

流速: 1.0 mL/min

检测器: UV, 214 nm

蛋白质	分子量	保留体积				
		1000Å	500Å	300Å	150Å	100Å
甲状腺球蛋白	670000	10.07	8.23	7.03	5.82	5.77
$\gamma$ -球蛋白	150000	10.88	9.80	8.57	6.55	5.79
BSA	67000	11.13	10.44	9.44	7.29	6.00
卵清蛋白	45000	11.28	10.83	9.89	7.90	6.40
肌红蛋白	17000	11.44	11.28	10.42	8.66	7.05
核糖核酸酶 A	12700	11.52	11.41	10.58	8.93	7.32
维生素 B12	1350	12.00	12.59	11.78	11.49	10.30
尿嘧啶	112	12.08	12.68	12.21	12.13	11.41
(总渗透标志物)						



### 并列比较

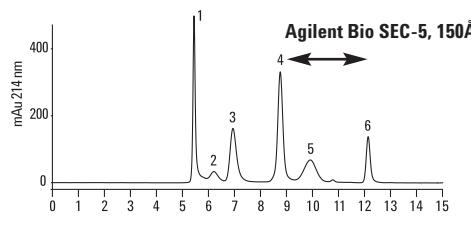
色谱柱: **Bio SEC-5**  
**5190-2521**  
**7.8 x 300 mm, 5  $\mu\text{m}$**

流动相: 150 mM 磷酸钠, pH 7.0

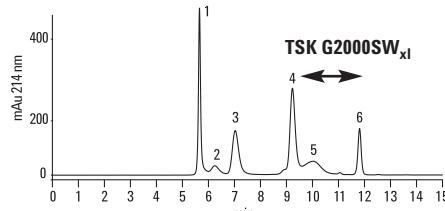
流速: 1.0 mL/min

检测器: UV, 214 nm

用 Agilent Bio SEC-5 色谱柱和 Tosoh TSK-Gel 色谱柱分离蛋白质混合物。可以看出 Agilent Bio SEC-5 色谱柱的峰形更尖锐并且分离度更高。



1. 甲状腺球蛋白, 5.43 min
2. BSA 二聚物, 6.19 min
3. BSA 单体, 6.93 min
4. 核糖核酸酶 A, 8.74 min
5. Poly-DL-丙氨酸 (1-5 kDa), 9.90 min
6. 尿嘧啶, 12.13 min



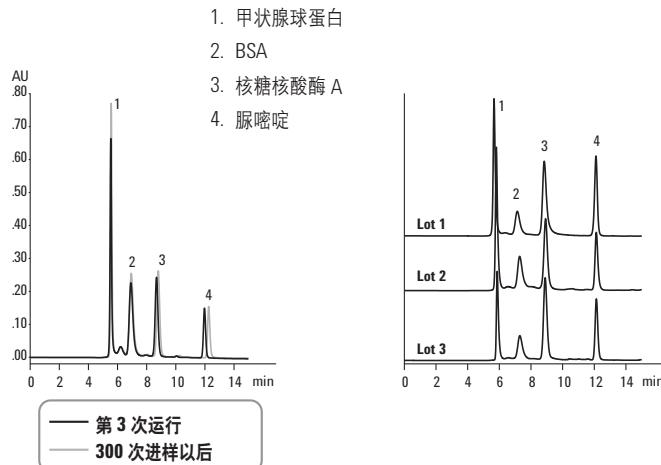
1. 甲状腺球蛋白, 5.64 min
2. BSA 二聚物, 6.23 min
3. BSA 单体, 7.02 min
4. 核糖核酸酶 A, 9.22 min
5. Poly-DL-丙氨酸 (1-5 kDa), 10.02 min
6. 尿嘧啶, 11.81 min

**无与伦比的批次间重现性**

色谱柱: **Bio SEC-5, 150Å  
5190-2521  
7.8 x 300 mm, 5 µm**

流动相: 150 mM 磷酸钠, pH 7.0

这四种蛋白质混合物在三支不同生产批次色谱柱上经过300次进样后, 保留时间重现性非常出色。

**Agilent Bio SEC-5 色谱柱**

规格 (mm)	填料粒径 (µm)	Bio SEC-5	Bio SEC-5				
		100Å USP L33	150Å USP L33	300Å USP L33	500Å USP L33	1000Å USP L33	2000Å USP L33
21.2 x 300	5	5190-6863	5190-6864	5190-6865	5190-6866	5190-6867	5190-6868
21.2 x 50, 保护柱	5	5190-6869	5190-6870	5190-6871	5190-6872	5190-6873	5190-6874
7.8 x 300	5	5190-2516	5190-2521	5190-2526	5190-2531	5190-2536	5190-2541
7.8 x 150	5	5190-2517	5190-2522	5190-2527	5190-2532	5190-2537	5190-2542
7.8 x 50, 保护柱	5	5190-2520	5190-2525	5190-2530	5190-2535	5190-2540	5190-2545
4.6 x 300	5	5190-2518	5190-2523	5190-2528	5190-2533	5190-2538	5190-2543
4.6 x 150	5	5190-2519	5190-2524	5190-2529	5190-2534	5190-2539	5190-2544
4.6 x 50, 保护柱	5	5190-6857	5190-6858	5190-6859	5190-6860	5190-6861	5190-6862



## ProSEC 300S

- 性能稳定：机械性能稳定的硅胶填料，在使用过程中不会流失
- 简单快捷的方法开发：扩展了线性分离范围，无需进行孔径选择 — 可使用单柱分析大多数球蛋白
- 多种选择助您优化分离：2 种色谱柱内径适用于多检测器 SEC
- 与光散射检测器一起使用时灵敏度更高，可鉴定二聚体、三聚体和聚集体

安捷伦 ProSEC 300S 柱是为球蛋白分析而专门设计的单柱解决方案。孔径的选择和优化扩展了线性分离范围，从而可以用这一根色谱柱分离全范围的球蛋白。

填料极为稳定耐用，不会在使用过程中碎裂而渗漏出颗粒。这确保了极其稳定的基线，使这种色谱柱成为使用光散射检测器时的首选。

7.5 mm 内径和 4.6 mm 内径两种规格，适用于多检测器体积排阻色谱，为小质量分子的分析提供了一种选择。

### ProSEC 300S 色谱柱性能指标

键合相	孔径	填料粒径	蛋白质分子量范围	pH 范围	流速	最高压力
ProSEC 300S	300Å	5 µm	1500-800000	2-7.5	<1.5 mL/min (7.5 mm 内径)	250 bar, 3700 psi
					<0.5 mL/min (4.6 mm 内径)	

### ProSEC 300S

规格 (mm)	填料粒径 (µm)	部件号
7.5 x 600	5	PL1147-8501
7.5 x 300	5	PL1147-6501
4.6 x 250	5	PL1547-5501
<b>保护柱</b>		
7.5 x 50	5	PL1147-1501
4.6 x 50	5	PL1547-1501

### 用球蛋白校正 ProSEC 300S 柱

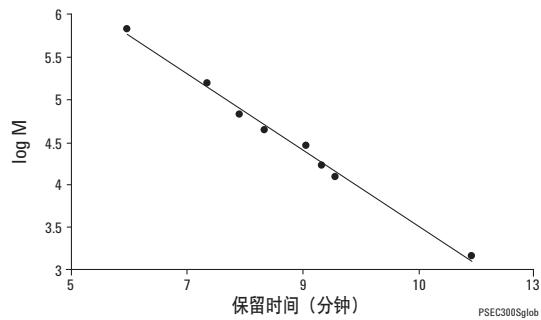
流动相: 50 mM 磷酸钾, 300 mM 氯化钠, pH 6.8

流速: 1.0 mL/min

检测器: UV, 280 nm

样品: 蛋白样品

分子量/道尔顿	蛋白质
670000	甲状腺球蛋白
155000	$\gamma$ 球蛋白
66430	牛血清白蛋白
44287	卵清蛋白
29000	碳酸酐酶
16700	肌球蛋白
12384	细胞色素 C
1423	杆菌肽



### 使用光散射检测分析牛血清白蛋白

色谱柱: ProSEC 300S

PL1147-6501

7.5 x 300 mm, 5  $\mu$ m

流动相: 磷酸盐缓冲生理盐水, pH 7.4

流速: 1.0 mL/min

检测器: 示差折光 + 1260 Infinity 多检测器 GPC/SEC 系统

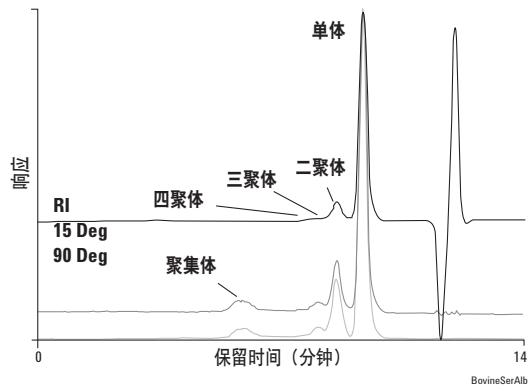
样品: 牛血清白蛋白

**单体** 66900 Da, 88.5%

二聚体 134900 Da (2.02 x 单体分子量), 9.8%

三聚体 197000 Da (2.94 x 单体分子量), 1.2%

四聚体 279300 Da (5.17 x 单体分子量), 0.5%

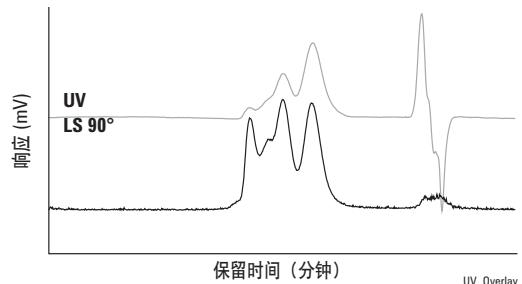


示差折光和双角度光散射检测样品结果的叠加

## 用 UV 和 90° 角光散射检测 $\gamma$ -球蛋白样品的叠加图，显示了单体、二聚体和三聚体峰

色谱柱: **ProSEC 300S**  
**PL1147-6501**  
**7.5 x 300 mm, 5  $\mu$ m**

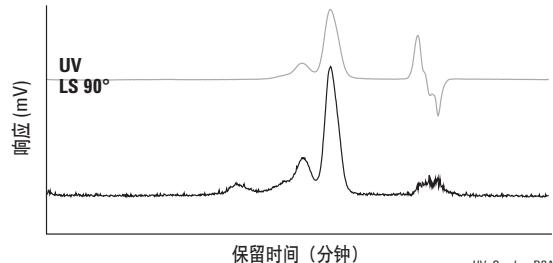
流动相: 100 mM 磷酸钾, 300 mM 氯化钠, pH 8.0  
 流速: 1.0 mL/min  
 柱温: 5 °C  
 检测器: UV, 310 nm + 1260 Infinity 多检测器 GPC/SEC 系统  
 样品: 蛋白质



## 用 UV 和 90° 光散射检测 BSA 样品的叠加图，显示了单体、二聚体、三聚体和聚集体峰

色谱柱: **ProSEC 300S**  
**PL1147-6501**  
**7.5 x 300 mm, 5  $\mu$ m**

流动相: 100 mM 磷酸钾, 300 mM 氯化钠, pH 8.0  
 流速: 1.0 mL/min  
 柱温: 5 °C  
 检测器: UV, 310 nm + 1260 Infinity 多检测器 GPC/SEC 系统  
 样品: 蛋白质



### 提示与工具

更多信息可参考:

*ProSEC 300S Protein Characterization Columns (ProSEC 300S 蛋白表征色谱柱)*,  
 出版号 5990-7468EN

*Analysis of Globulins using Agilent ProSEC 300S Columns (用 Agilent ProSEC 300S 柱分析球蛋白)*, 出版号 5990-7851EN

*Static Light Scattering Analysis of Globular Proteins with Agilent ProSEC 300S Columns (用 Agilent ProSEC 300S 柱以及静态光散射对球蛋白进行分析)*,  
 出版号 5990-7939EN

[www.agilent.com/chem/library](http://www.agilent.com/chem/library)



GF-250 凝胶过滤柱

## ZORBAX GF-250 和 GF-450 凝胶过滤柱

- 采用需使用 USP 指定产品 L35 的方案时需要使用的传统产品
- 提供半制备和制备柱规格
- 与有机改性剂和变性剂兼容
- 可耐受的 pH 范围广泛 (pH 3-8)

Agilent ZORBAX GF-250 和 GF-450 体积排阻（凝胶过滤）色谱柱特别适用于蛋白质和其他生物大分子的尺寸分离。GF-250 和 GF-450 色谱柱串联使用时，可分离的球状蛋白质分子量范围为 4000-900000。GF-250/GF-450 体积排阻色谱柱具有亲水性二醇键合固定相，可实现蛋白质的高回收率（通常 >90%），还具有独特的经过氧化锆改性的硅胶，从而使可操作 pH 范围达到 3-8。GF-250 和 GF-450 柱填充尺寸精确的多孔硅胶微球，孔径和粒径分布窄。从而得到高效、耐用和高重现性的体积排阻色谱柱，可在流速高达 3 mL/min 条件下进行蛋白质的分析型分离和制备分离。这些色谱柱可与流动相中的有机改性剂 (<25%) 和变性剂兼容，可降低蛋白质聚合。一些常见的应用包括蛋白质单体的分离、二聚体和聚合物的分离、脱盐、蛋白质分子量估算以及改性蛋白质的分离等。

### UHPLC 色谱柱性能指标

键合相	孔径	填料粒径	分子量范围	比表面积	pH 范围	流速	最高压力
ZORBAX GF-250	150Å	4 µm	4000-400000	140 m <sup>2</sup> /g	3.0-8.0	<3.0 mL/min	350 bar
ZORBAX GF-450	300Å	6 µm	10000-900000	50 m <sup>2</sup> /g	3.0-8.0	<3.0 mL/min	350 bar

指标只代表一般意义上的典型值

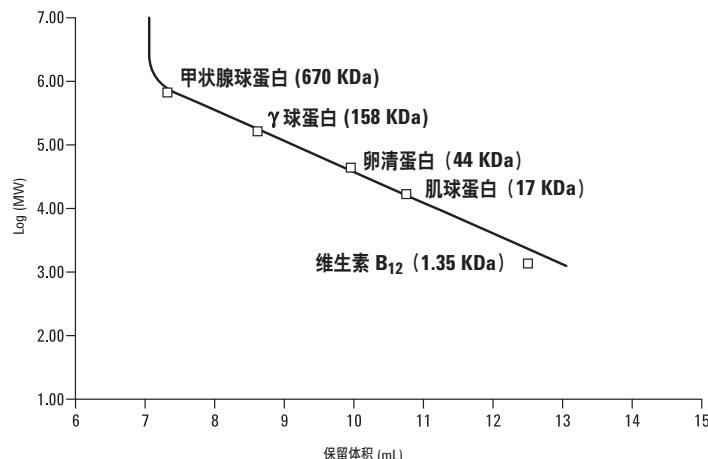
### 用安捷伦 ZORBAX GF-250 柱分离 Bio-Rad 标准品，以保留体积对 log(MW) 作图

色谱柱: **ZORBAX GF-250**  
**884973-901**  
**9.4 x 250 mm, 4  $\mu$ m**

流动相: 200 mM 磷酸钠, pH 7.0

柱温: 室温

检测器: UV, 254 nm



### 用制备柱分离蛋白质

色谱柱: **ZORBAX GF-250**  
**884973-901**  
**9.4 x 250 mm, 4  $\mu$ m**

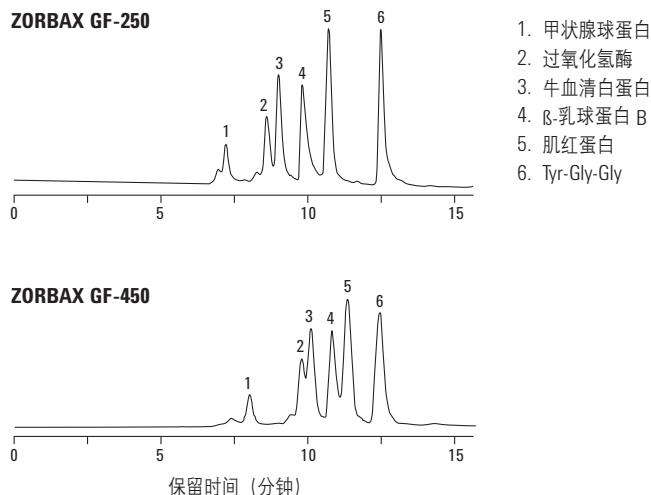
色谱柱: **ZORBAX GF-450**  
**884973-902**  
**9.4 x 250 mm, 6  $\mu$ m**

流动相: 200 mM 磷酸钠, pH 7.0

流速: 5.0 mL/min

检测器: UV, 280 nm

样品: 200  $\mu$ L



**ZORBAX GF-250 (USP L35) 和 GF-450 (USP L35) 凝胶过滤柱**

标志	说明	规格 (mm)	填料粒径 ( $\mu\text{m}$ )		部件号
			4	6	
	GF-250, 150 $\text{\AA}$	9.4 x 250	4	884973-901	
	GF-250, 150 $\text{\AA}$	4.6 x 250	4	884973-701	
	GF-450, 300 $\text{\AA}$	9.4 x 250	6	884973-902	
<b>保护柱 (需要配卡套)</b>					
	GF-450 Diol, 保护柱芯, 2/包	9.4 x 15	6	820675-111	
	GF-250 Diol, 保护柱芯, 4/包	4.6 x 12.5	6	820950-911	
	GF-450 Diol, 保护柱芯, 2/包	9.4 x 15	6	820675-111	
	制备保护柱卡套			840140-901	
	保护柱卡套			820999-901	
<b>PrepHT 柱</b>					
	PrepHT GF-250, 150 $\text{\AA}$	21.2 x 250	6	877974-901	
	PrepHT GF-450, 300 $\text{\AA}$	21.2 x 250	6	877974-910	
	PrepHT 柱端接头, 2/包			820400-901	
	PrepHT 保护柱芯, 2/包	17.0 x 7.5	5	820212-911	
	保护柱卡套			820444-901	



## 糖基化表征

一级氨基酸序列的翻译后修饰（括糖基化）具有多种功能并且可影响生物制药产品的有效性和致免疫性。多糖的结构也会影响血浆中蛋白质的半衰期，以及单克隆抗体触发免疫反应以发挥其功效的能力。监管部门认为糖基化是一项关键质量属性，因此我们需要对其进行表征和定量以确定其是否在可接受的范围内，将糖基化作为糖蛋白创新药物、生物仿制药或改良型生物相似药开发过程中的一个重要指标进行监测。

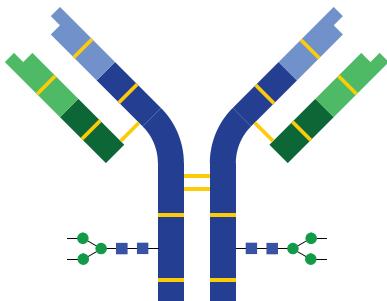
现在我们可以通过多种分析方法获得关于蛋白质糖基化之后的结构和存在形式的信息。

- 进行结构鉴定时（包括糖基化位点的鉴定），我们通常将质谱检测与反相及亲水相互作用色谱 (HILIC) 结合使用
- 含有唾液酸的多糖也会给蛋白质增加额外的电荷，并可通过离子交换色谱进行表征

通过表征糖蛋白和糖肽片段获取有关糖基化位点的数目和位置的信息之后，接下来我们需要对每种多糖进行鉴定和定量。要进行上述分析，必须将多糖从蛋白质上裂解下来，然后使用 HILIC 色谱柱进行分析。由于多糖不含发色团，我们需要采用衍生化处理使其带上荧光基团之后才能通过 FLD 检测对其进行分析和定量。

### 亲水相互作用色谱柱的选择

应用	安捷伦色谱柱	说明	
由糖蛋白（包括单克隆抗体）裂解所得的多糖	AdvanceBio 多糖分析色谱柱 1.8 μm 2.7 μm	采用酰胺键合相，可实现快速平衡并提高多糖选择性 基于全多孔颗粒，可实现高速分离，适用于高通量应用。在高达 1200 bar 的压力下仍可保持稳定，可用于 Agilent 1290 Infinity 液相色谱仪。 基于 Poroshell 技术，具有表面多孔的填料颗粒，可减少扩散距离，从而能在较低压力下实现高分离度的分离，且可使用更长的色谱柱以提高分离效率。	
亲水性多肽及糖肽	ZORBAX RRHD 300Å, 1.8 μm AdvanceBio 多糖分析色谱柱	300Å 裸硅胶颗粒能提供与 ZORBAX RRHD 300Å, 1.8 μm 反相色谱柱相互正交的分离选择性 酰胺键合相可实现小分子亲水性多肽和糖肽的 HILIC 分析。	



## N-糖链分析

AdvanceBio 糖谱分析色谱柱、标准品及样品前处理产品，用于选择性地去除糖蛋白（包括单克隆抗体）中的 N-糖链。

- 分析速度** — 当您的样品数量较多或需要快速获得数据时，采用  $1.8 \mu\text{m}$  色谱柱可实现高通量的 N-糖链分析
- 分离度** — 采用装填有  $2.7 \mu\text{m}$  颗粒的  $250 \text{ mm}$  色谱柱可实现高分离度的分离。通过分离度的提高可对目标多糖及表达过程中可能发生的蛋白质糖基化进行精确定量
- 全面的方法** — 方法中囊括了样品前处理、色谱分析及数据解析方法，以确保鉴定及定量分析的高重现性及高精密度
- 订购方便** — 只需一个部件号即可订购从蛋白质溶解到纯化所需的全套样品前处理工作流程产品，包括 2-AB 标记的多糖以及用于样品前处理各个步骤的试剂盒，灵活性极高

### 色谱柱性能指标

键合相	内径 (mm)	填料粒径 ( $\mu\text{m}$ )	封端	pH 稳定性	运行温度	压力限
酰胺 HILIC	2.1 和 4.6	1.8, 全多孔	否	2-7	60 °C	1200 bar
酰胺 HILIC	2.1 和 4.6	2.7, 表面多孔	否	2-7	60 °C	600 bar

要分析糖蛋白（包括单克隆抗体）的 N-连接糖链组分，必须利用 PNGase F 将 N-糖链从蛋白质的氨基酸骨架上裂解下来。裂解所得 N-糖链可使用亲水相互作用色谱通过质谱检测进行分析，或采用带荧光基团的 2-氨基苯甲酰胺 (2-AB) 对其进行衍生化后，使用 HPLC/UHPLC 通过 FLD 或 MS 进行分析。针对裂解所得多糖的鉴定和定量分析，AdvanceBio 糖谱分析色谱柱提供  $1.8 \mu\text{m}$  和  $2.7 \mu\text{m}$  两种规格，分别能够为分析提供出色的分析速度 ( $1.8 \mu\text{m}$ ) 和分离度 ( $2.7 \mu\text{m}$ )。

## 分析速度

如果您需要缩短分析时间，我们推荐您使用可实现高通量分析的 AdvanceBio 糖谱分析 1.8  $\mu\text{m}$  色谱柱。

### 出众的结果 — 与业内同类型产品相比，缩短 40% 的分析时间

**A 柱:** AdvanceBio 糖谱分析色谱柱

859700-913

2.1 x 150 mm, 1.8  $\mu\text{m}$

B 柱: 非安捷伦亚 2  $\mu\text{m}$  糖谱分析色谱柱

仪器: Agilent 1290 Infinity 液相色谱，配备1260 Infinity 荧光检测器 (FLD)

柱温: 55 °C

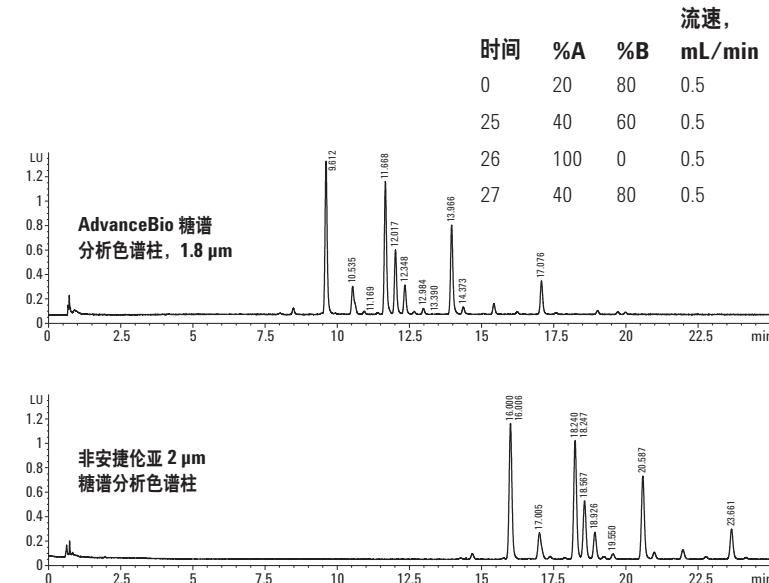
样品恒温箱: 10 °C

流动相: A: 100 mM 甲酸铵, pH 4.5 B: ACN

FLD: 激发 = 260 发射 = 430

进样量: 2  $\mu\text{L}$ , 溶于 70:30 ACN:100 mM 甲酸铵

样品: 安捷伦 2-AB 标记的人类 IgG N-连接糖链文库  
(部件号 5190-6996)



与非安捷伦的 2.1 x 150 mm 亚 2  $\mu\text{m}$  色谱柱相比，同等规格Agilent AdvanceBio 糖谱分析色谱柱可提供更高的分离度、更窄的色谱峰以及更大的峰容量。

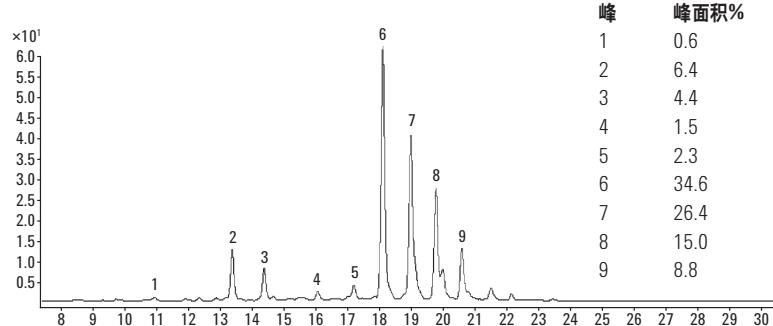
## 分离度

如果您需要进行高分离度的分析，我们推荐您使用柱长更长的 AdvanceBio 糖谱分析 2.7 μm 介质色谱柱。

### 含 NeuAc 的复杂非岩藻糖基化二分支和三分支多糖

**色谱柱:** AdvanceBio 糖谱分析色谱柱  
859700-913  
2.1 x 150 mm, 1.8 μm

**仪器:** Agilent 1290 Infinity 二元液相色谱  
**缓冲液:** A: 100 mM 甲酸铵的水溶液, pH 4.5  
B: 乙腈  
**MS 条件:** 气体温度: 250 °C  
鞘气温度: 250 °C  
气体流速: 8 L/min  
鞘气流速: 8 L/min  
雾化器压力: 25 psi  
Vcap: 3500 V  
喷嘴电压: 1000 V  
碎裂电压: 200 V  
锥孔电压: 45 V  
Oct 1 RF Vpp: 550  
碰撞能量: 15 和 30 V  
模式: MS 和 目标 MS/MS



采用 UHPLC-FLD 分析 PNGase F 裂解胎球蛋白所得且经过 2-AB 衍生化反应的 N-糖链。质谱所得的峰归属结果显示，胎球蛋白裂解所得的 N-糖链为复杂的二分支和三分支多糖，其含有 N-乙酰神经氨酸 (NeuAc)，但不含岩藻糖。

采用 HILIC-UHPLC 分析胎球蛋白 2-AB 标记的 N-糖链，使用质谱执行峰归属。

### 仪器条件

	抗体标准梯度	胎球蛋白梯度	卵清蛋白梯度
初始流速:	0.5 mL/min	0.5 mL/min	0.5 mL/min
梯度:	0 min 85% B 5 min 75% B 35 min 64% B 40 min 50% B 42 min, 流速 0.5 mL/min 43 min, 0% B 48 min 0% B 50 min 85% B 51 min, 流速 0.5 mL/min 停止时间:	0 min 75% B 45 min 50% B 47 min 40% B, 流速 0.5 mL/min 47.01 min, 流速 0.25 mL/min 49 min 0% B 51 min 0% B 51.01 min 75% B, 流速 0.25 mL/min 52.00 min, 流速 0.5 mL/min 52 min	0-6 min 85% B 在 10 min 时为 80% 65 min 50% B, 流速 0.5 mL/min 65.01 min, 流速 0.25 mL/min 68 min 0% B 73 min 0% B 74 min 85% B, 流速 0.25 mL/min 75 min
后运行时间:	20 min	20 min	20 min
进样量:	5 μL	1 μL	1 μL
温控自动进样器:	5 °C		
柱温:	60 °C		
FLD:	激发 = 260 nm, 发射 = 430 nm		
峰宽:	>0.013 min (0.25 s 响应时间) (37.04 Hz)		

### N-糖链卵清蛋白的详细信息

峰	Oxford	结构
1	A2G2S1	
2、3	A2G2S2	
4	A3GGS2	
5	A3G3S3、A3G3S2 (痕量)	
6	A3G3S3、A3G3S2 (痕量)	
7	A3G3S3、A3G3S4 (痕量)	
8	A3G3S4、A3G3S3	
9	A3G3S4	

- ▲ 岩藻糖
- 半乳糖
- 甘露糖
- N-乙酰氨基葡萄糖胺
- ◆ N-乙酰神经氨酸

## N-糖链标准品

安捷伦提供在工作流程中确保样品前处理及液相色谱系统最佳性能所必须的参比材料、IgG N-连接糖链标准品及阶梯葡聚糖标准品。这两种标准品均有 2-AB 标记形式和未标记形式，其中未标记 2-AB 的标准品可作为样品前处理的参比材料。

IgG N-连接糖链标准品用于每批次 AdvanceBio 糖谱分析填料的 OA 测试，以确保每根色谱柱均可满足分析所需的严格重现性要求。

阶梯葡聚糖标准品用于基于葡萄糖单元 (GU) 在同系列化合物中的洗脱时间对系统进行校正，还用于报告 GU 的相对保留数据。

### 分离 2-AB 标记的阶梯葡聚糖标准品

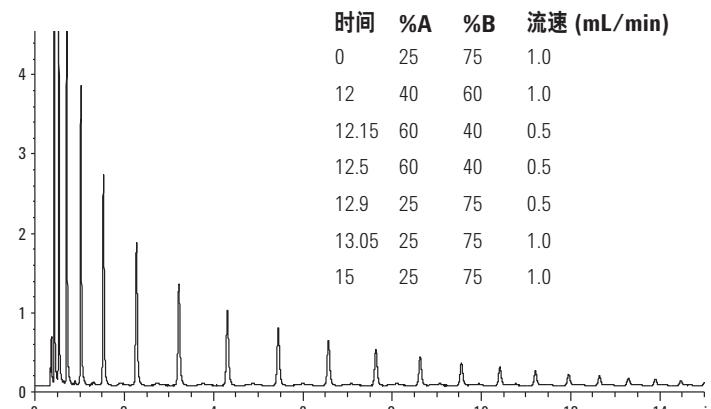
色谱柱: **AdvanceBio 糖谱分析色谱柱  
859700-913  
2.1 x 150 mm, 1.8 μm**

流动相: A: 100 mM 甲酸铵, pH 4.5  
B: ACN

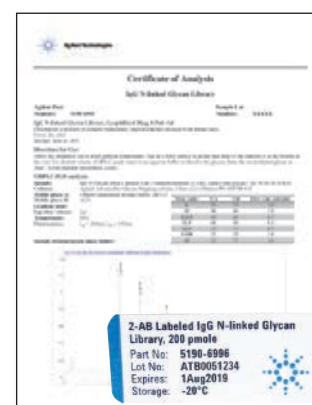
FLD: 激发 = 260 nm,  
发射 = 430 nm

进样量: 2 μL (10 pmol 总多糖/1 μL 75:25 ACN:水)

样品: 安捷伦 2-AB (部件号 5190-6998) 标记的阶梯葡聚糖标准品



该分析采用安捷伦阶梯葡聚糖标准品以及 AdvanceBio 糖谱分析色谱柱进行未知多糖的保留时间校正。



## N-糖链样品前处理产品

N-连接糖链分析的样品前处理过程包括多个步骤，必须仔细控制处理方法，才能获得准确、精密的多糖鉴定和定量结果。安捷伦提供一套完整的流程，其囊括了样品前处理工作流程中的各个要素，有效简化了整个处理过程。

### 变性和去糖基化

可处理 24 个样品：5190-8001  
可处理 96 个样品：5190-8006

### 用于去除蛋白质的纯化小柱

可处理 24 个样品：5190-8002  
可处理 96 个样品：5190-8007

### 裂解多糖的 2-AB 标记

可处理 24 个样品：5190-8003  
可处理 96 个样品：5190-8008

### 用于去除多余的试剂的纯化小柱

可处理 24 个样品：5190-8004  
可处理 96 个样品：5190-8009

### 完整的样品前处理工作流程

可处理 24 个样品：5190-8000  
可处理 96 个样品：5190-8005

可处理 24 或 96 个样品的样品前处理产品。

**AdvanceBio 糖谱分析色谱柱, 1.8 μm, 最高耐压 1200 bar**

粒径 (mm)	部件号
2.1 x 150	859700-913
2.1 x 100	858700-913
2.1、1.8 μm, 快速保护柱	821725-905

**AdvanceBio 糖谱分析色谱柱, 2.7 μm, 表面多孔, 最高耐压 1200 bar**

粒径 (mm)	部件号
4.6 x 250	680975-913
4.6 x 150	683975-913
4.6 x 100	685975-913
2.1 x 250	651750-913
2.1 x 150	683775-913
2.1 x 100	685775-913
2.1、2.7 μm, 快速保护柱	821725-906

**N-糖链标准品**

说明	部件号
阶梯葡聚糖标准品, 10 μg, 0.5 mL 样品瓶装	5190-6997
2-AB 标记的阶梯葡聚糖标准品, 200 pmol	5190-6998
IgG N-连接糖链文库, 20 μg, 0.5 mL	5190-6995
2-AB 标记的 IgG N-连接糖链文库, 200 pmol	5190-6996

**N-糖链样品前处理产品**

说明	部件号
AdvanceBio N-糖链样品前处理试剂盒，可处理 24 个样品 包括部件号为 5190-8001、5190-8002、5190-8003 和 5190-8004 的产品，可对 24 个糖蛋白样品进行完全去糖基化，并对其裂解所得的 N-糖链进行 2-AB 标记。	5190-8000
AdvanceBio N-糖链去糖基化试剂盒，可处理 24 个样品	5190-8001
AdvanceBio N-糖链去糖基化纯化小柱，可处理 24 个样品	5190-8002
AdvanceBio 2-AB 糖链标记试剂盒，可处理 24 个样品	5190-8003
AdvanceBio 2-AB 糖链标记纯化小柱，可处理 24 个样品	5190-8004
AdvanceBio N-糖链样品前处理试剂盒，可处理 96 个样品 包括部件号为 5190-8006、5190-8007、5190-8008 和 5190-8009 的产品，可对 96 个糖蛋白样品进行完全去糖基化，并对其裂解所得的 N-糖链进行 2-AB 标记。	5190-8005
AdvanceBio N-糖链去糖基化试剂盒，可处理 96 个样品	5190-8006
AdvanceBio N-糖链去糖基化纯化小柱，可处理 96 个样品	5190-8007
AdvanceBio 2-AB 糖链标记试剂盒，可处理 96 个样品	5190-8008
AdvanceBio 2-AB 糖链标记纯化小柱，可处理 96 个样品	5190-8009
去糖基化和标记用 96 孔板	5190-8010

## 亲水性多肽及糖肽分析

多肽分析需要反相色谱才能实现的高选择性及分析间重现性。但是，反相色谱柱对于亲水性多肽（包括糖肽）的保留性和选择性均有限。与反相色谱柱相比，ZORBAX RRHD 300-HILIC, 1.8  $\mu\text{m}$  色谱柱可提高亲水性多肽和糖肽的保留性，因此使用它进行肽谱分析不会丢失重要信息。这两种技术是正交的，可为蛋白质的一级结构分析提供互补信息。

- ZORBAX 300 $\text{\AA}$  填料可用于分析各种大小的多肽
- 1.8  $\mu\text{m}$  粒径填料可实现 UHPLC 性能，在 1200 bar 下仍具有稳定性
- 配合 ZORBAX RRHD 300 $\text{\AA}$  反相色谱柱使用可提供 UHPLC 正交性

### 色谱柱性能指标

键合相	内径 (mm)	填料粒径 ( $\mu\text{m}$ )	封端	pH 稳定性	运行温度	压力限
硅胶	2.1	1.8, 全多孔	否	1-8	40 °C	1200 bar

肽谱分析常用于蛋白质生物治疗药物的表征和杂质分析。通常采用反相 UHPLC/HPLC，但当酶解物含有亲水性多肽（例如糖肽）时，采用该分析方法可能会丢失一些重要信息。ZORBAX RRHD 300-HILIC 色谱柱可保留亲水性多肽，与质谱联用时还可对这类重要的蛋白质片段进行鉴定。

## 蛋白质胰酶解物中的糖肽鉴定

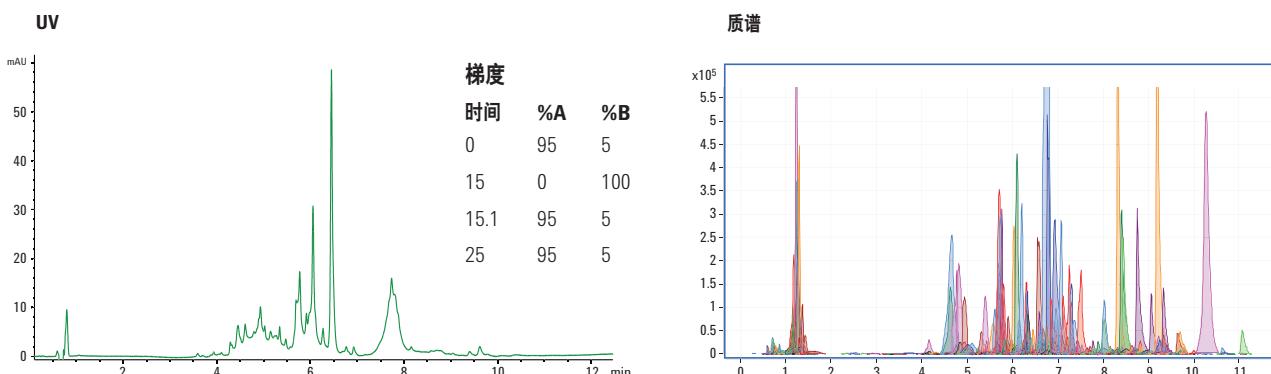
色谱柱: ZORBAX RRHD 300-HILIC  
858750-901  
2.1 x 100 mm, 1.8  $\mu\text{m}$

流动相: A: 100% ACN  
B: 50 mM 甲酸铵, pH 4.5  
流速: 0.4 mL/min  
进样: 5  $\mu\text{g}$   
检测器: UV, 280 nm  
仪器: Agilent 1290 Infinity 液相色谱、Agilent 6224 精确质量数 TOF-MS、安捷伦双 ESI 源 (正离子模式)  
样品: 来自 EPO 蛋白酶解物的糖肽 (1 mg/mL)

图“UV”示出了使用 Zorbax rrHd 300-HILIC 2.1 x 100 mm 色谱柱分离红细胞生成素 (EPO) 的肽谱。

HILIC-MS 数据鉴定出了 RP-MS 未能鉴定出来的七种多肽。

HILIC 是 RP 的正交技术，可为蛋白酶解物中的亲水性多肽提供额外的分离度。



### Agilent ZORBAX RRHD 300-HILIC 1.8 $\mu\text{m}$ 色谱柱

说明	内径 (mm)	填料粒径 ( $\mu\text{m}$ )	部件号
ZORBAX RRHD 300-HILIC	2.1 x 100	1.8	858750-901
ZORBAX RRHD 300-HILIC	2.1 x 50	1.8	857750-901



Bio-Monolith 蛋白 A 柱, 5069-3639

## 滴度测定

亲和色谱是一种利用特定蛋白之间（如抗原/抗体）高度特异性分子间相互作用的强大分离技术。安捷伦提供几种专门的亲和产品，适用于对 IgG 进行分离和定量的整体 Protein A 柱，以及用于去除生物样品中高丰度蛋白的一系列多重亲和去除系统产品。

### 安捷伦 Bio-Monolith Protein A 液相柱

- 专为除 3 型 IgG 以外的所有 IgG（人和鼠）的分析型分离而设计
- 分离不依赖于流速离：无扩散、无孔隙、无死体积，使得流动相和固定相之间的传质非常迅速
- 极快的分离速度加速了方法开发，降低了成本
- 锁定方法开发参数明显缩短了时间，减少了缓冲液用量

Agilent Bio-Monolith Protein A HPLC 色谱柱是安捷伦 Bio-Monolith 色谱柱系列产品之一。Protein A Bio-Monolith 色谱柱可兼容 HPLC 系统和制备型液相色谱系统（包括 Agilent 1100、1200 和 1260 生物惰性四元液相色谱系统）。

#### 提示与工具

有关 mAb 结合的耐盐性以及 Agilent Bio-Monolith Protein A 色谱柱 mAb 洗脱酸性缓冲液兼容性的更多信息，请参阅出版物 5991-2990CHCN

[www.agilent.com/chem/library](http://www.agilent.com/chem/library)

**色谱柱性能指标**

<b>尺寸</b>	5.2 mm x 4.95 mm
<b>柱体积</b>	100 $\mu$ L
<b>最高耐压</b>	150 bar (15 MPa, 2200 psi)
<b>最低/最高温度</b>	工作温度: 2-40 贮存温度: 2-8
<b>推荐 pH</b>	工作范围: 2-13 冲洗顺序: 1-14
<b>柱管材料</b>	硬件: 不锈钢 填料: 聚(甲基丙烯酸甘油酯-二甲基丙烯酸乙二醇酯) 高孔隙率整体柱
<b>色环识别标记</b>	Bio-Monolith 蛋白质 A: 白色
<b>保存期/有效期</b>	Protein A 亲和色谱柱: 12 个月

**Bio-Monolith Protein A**

色谱柱	说明	主要应用	部件号
Bio-Monolith Protein A	Protein A 亲和色谱柱适用于 IgG1 和 IgG2 (人和鼠) 的分析分离。	IgG 的定量测定 (发酵单位效价的计算)	5069-3639

**提示与工具**

更多信息可参考:

*mAb Titer Analysis with the Agilent Bio-Monolith Protein A Column* (使用 Agilent Bio-Monolith Protein A 色谱柱进行单克隆抗体滴度分析), 出版号 5991-5135EN

*Agilent Bio-Monolith Protein A Monitors Monoclonal Antibody Titer from Cell Cultures* (采用 Agilent Bio-Monolith Protein A 色谱柱监测细胞培养液中的单克隆抗体滴度), 出版号 5991-2990EN

*Cell Clone Selection Using the Agilent Bio-Monolith Protein A Column and LC/MS* (使用 Agilent Bio-Monolith Protein A 色谱柱和 LC/MS 进行细胞克隆选择), 出版号 5991-5124EN

*Cell Culture Optimization Using an Agilent Bio-Monolith Protein A Column and LC/MS* (使用 Agilent Bio-Monolith Protein A 色谱柱和 LC/MS 优化细胞培养), 出版号 5991-5125EN

**[www.agilent.com/chem/library](http://www.agilent.com/chem/library)**

## 人源化单克隆抗体的快速测定

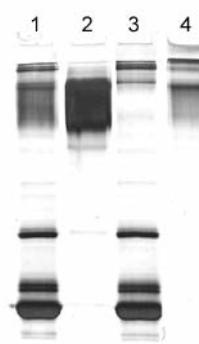
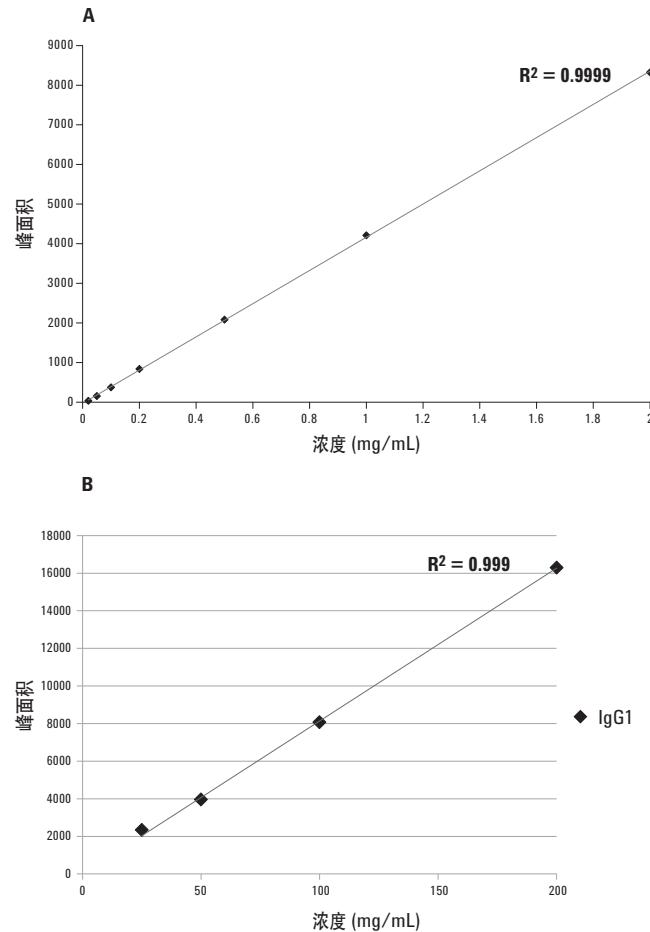
色谱柱: Bio-Monolith Protein A  
5069-3639  
5.2 x 4.95 mm,  $\mu\text{m}$

流动相: A: 50 mM 磷酸盐, pH 7.4  
B: 100 mM 柠檬酸, pH 2.8  
流速: 1 mL/min  
进样量: 可变 (50  $\mu\text{L}$  — 针对含 IgG1 的 CHO 细胞培养物上清液的优化进样体积)  
梯度:

	时间 (min)	%A	%B	
0 - 0.5	100	0		结合
0.6 - 1.7	0	100		洗脱
1.8 - 3.5	100	0		再平衡

保留时间 (min) 峰面积		
1	383	1.666
2	372	1.666
3	365	1.665
4	389	1.667
5	383	1.666
6	378	1.666
7	379	1.668
8	377	1.666
9	376	1.667
10	377	1.667
平均值	378	1.667
S	6.52	0.001
%RSD	1.73	0.060

改性人源化赫赛汀的校准曲线 (图 A: 0-2 mg/mL, 图 B: 25-200 mg/mL)



### 关键点:

- 第 1 道: 分离之前的全血清
- 第 2 道: IgG 标准品
- 第 3 道: 峰 1 (流通组分)
- 第 4 道: 峰 2 (Protein A 结合组分, 即 IgG1)

分离组分的 SDS PAGE 分析

## 高流速对结合效率没有影响

色谱柱: Bio-Monolith Protein A  
5069-3639  
5.2 x 4.95 mm,  $\mu\text{m}$

流动相: A: 20 mM 磷酸钠缓冲液, pH 7.4  
B: 0.1 M 柠檬酸, pH 2.8

流速: 1.0, 1.5 和 2.0 mL/min

梯度: 0% B 保持 0.5 min, 0.6-1.7 min 内 B 从 0% 升至 100%.  
1.8-3 min 内 B 降至 0%

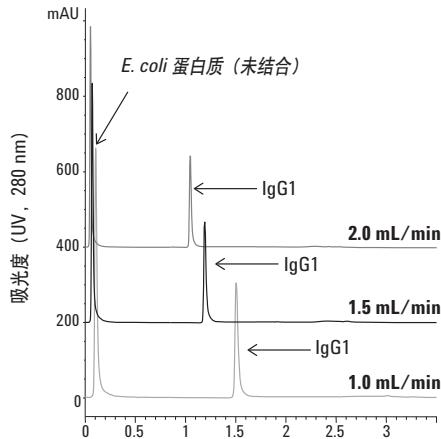
柱温: 25 °C

进样: 4  $\mu\text{L}$  (2.5 mg/mL 的 IgG1 加标 20 mg/mL *E.coli* 的上清液)

检测器: UV, 280 nm

样品: 人源化 IgG1 和 *E.coli* 裂解液

仪器: Agilent 1260 Infinity 生物惰性四元液相色谱



在多种流速条件下评估 IgG1 与 Agilent Bio-Monolith Protein A 色谱柱的结合度。  
本实验增加了上样量以便更容易地观察色谱图和信号积分的变化。

### 流速与未结合蛋白质和 IgG1 相对峰面积的关系

流速 (mL/min)	未结合的峰面积 (mAU/S)	IgG1 峰面积 (mAU/s)	未结合蛋白质的相对峰面积 (%)	IgG1 的相对峰面积 (%)	压力 (bar)
1.0	1230	738	63	37	32
1.5	840	492	63	37	47
2.0	636	363	64	36	68



## 蛋白质去除

为了更方便地对生物样品（如血清、血浆和脑脊液 (CSF)）中的蛋白质进行分离和鉴定，安捷伦的多重亲和去除系统 (MARS) 特别采用了能够通过色谱方法去除生物样品中干扰性高丰度蛋白质的设计。去除这些高丰度蛋白质有助于改善样品的后续 LC/MS 分析和电泳分析，有效地扩展了动态范围。

### 安捷伦蛋白质分级分离系统和蛋白质组学试剂

- 生物样品的 LC/MS 分析
- 电泳分析的准备
- 生物标志物研究的样品制备
- 仪器和工作流程验证
- 经济实惠的免疫去除
- 样品脱盐、浓缩和分馏

针对样品的分馏和脱盐，安捷伦设计了 mRP-C18 高回收蛋白柱，仅通过一个简单的步骤即可同时完成脱盐、浓缩和分馏，与完全兼容 LC/MS 分析的常规 RP-HPLC 相比，具有极高的样品回收率。

另外，安捷伦还提供生物标志物研究中样品制备和其他蛋白质组学应用的验证试剂，包括复杂标准品和蛋白质组学级胰蛋白酶。为便于使用，这些试剂均与安捷伦 LC/MS 方法完全兼容，无需任何额外的样品预处理。

我们的定制配置还可以满足您的大体积进样需求和定制其他色谱柱规格。



多重亲和去除系统

## 多重亲和去除系统

利用安捷伦的多重亲和去除系统，可以对血清、血浆和其他生物液体中高价值、低丰度的蛋白质和生物标志物进行鉴定和表征。

多重亲和去除系统能够可重现且特异性地去除人的生理体液中多达 14 种高丰度蛋白质，以及小鼠生理体液中的 3 种高丰度蛋白质。

多重亲和去除系统可以使用各种规格的液相柱和离心小柱。安捷伦多重亲和去除系统与安捷伦优化的缓冲液、方便的离心过滤膜和浓缩器结合在一起，形成了一个自动化的一体式蛋白质去除解决方案，可以与大多数液相色谱仪（色谱柱）和台式离心机（离心小柱）兼容。

使用多重亲和去除系统纯化的样品可直接用于各种下游分析，如二维凝胶电泳、LC/MS 以及其他分析技术。

### 提示与工具

有关如何缩短亲和色谱分析周期的详细信息，请参阅：

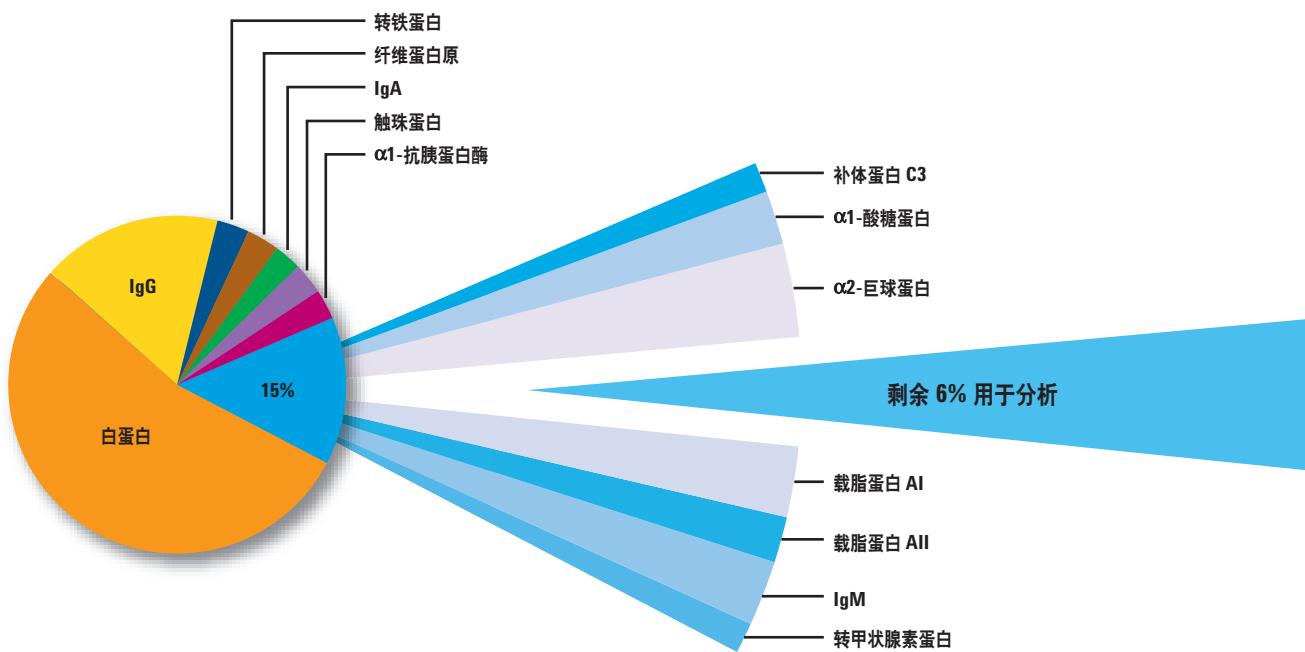
*Reducing Cycle Time for Affinity Removal of High-Abundant Proteins in Human Plasma* (缩短人血浆中高丰度蛋白质亲和去除的分析周期)。*Alternating Column Regeneration Using an Agilent 1200 Infinity Series Quick-Change Bio-inert 2-position/10-port Valve and an Agilent 1290 Infinity Flexible Cube* (采用 Agilent 1200 Infinity 系列快速切换生物惰性 2 位/10 通阀 和 Agilent 1290 Infinity Flexible Cube 进行交互柱再生)，出版号 5991-4721EN

[www.agilent.com/chem/library](http://www.agilent.com/chem/library)

**多重亲和去除系统选择指南**

产品	去除的蛋白质	去除的总蛋白	规格	载样量	部件号
MARS Human-14	白蛋白、IgG、抗胰蛋白酶、IgA、转铁蛋白、结合珠蛋白、纤维蛋白原、 $\alpha_2$ -巨球蛋白、 $\alpha_1$ -酸糖蛋白、IgM、载脂蛋白 AI、载脂蛋白 AII、补体蛋白 C3、甲状腺运载蛋白	94%	离心小柱	8-10 $\mu$ L	5188-6560
			4.6 x 50 mm	20 $\mu$ L	5188-6557
			4.6 x 100 mm	40 $\mu$ L	5188-6558
			10.0 x 100 mm	250 $\mu$ L	5188-6559
MARS Human-7	白蛋白、IgG、IgA、转铁蛋白、触珠蛋白、抗胰蛋白酶和纤维蛋白原	88-92%	离心小柱	12-14 $\mu$ L	5188-6408
			4.6 x 50 mm	30-35 $\mu$ L	5188-6409
			4.6 x 100 mm	60-70 $\mu$ L	5188-6410
			10.0 x 100 mm	250-300 $\mu$ L	5188-6411
MARS Human-6	白蛋白、IgG、IgA、转铁蛋白、触珠蛋白、抗胰蛋白酶	85-90%	离心小柱	7-10 $\mu$ L	5188-5230
			4.6 x 50 mm	15-20 $\mu$ L	5185-5984
			4.6 x 100 mm	30-40 $\mu$ L	5185-5985
MARS Human-6 高容量	白蛋白、IgG、IgA、转铁蛋白、触珠蛋白、抗胰蛋白酶	85-90%	离心小柱	14-16 $\mu$ L	5188-5341
			4.6 x 50 mm	30-40 $\mu$ L	5188-5332
			4.6 x 100 mm	60-80 $\mu$ L	5188-5333
			10.0 x 100 mm	最多 340 $\mu$ L	5188-5336
MARS Human-2	白蛋白, IgG	69%	离心小柱	50 $\mu$ L	5188-8825
			4.6 x 50 mm	100 $\mu$ L	5188-8826
MARS Human-1	白蛋白	50-55%	离心小柱	65 $\mu$ L	5188-5334
			4.6 x 50 mm	130 $\mu$ L	5188-6562
MARS Mouse-3	白蛋白、IgG、转铁蛋白	80%	离心小柱	25-30 $\mu$ L	5188-5289
			4.6 x 50 mm	37-50 $\mu$ L	5188-5217
			4.6 x 100 mm	75-100 $\mu$ L	5188-5218

## 用安捷伦多重亲和去除色谱柱和离心小柱去除高丰度蛋白



### 提示与工具

请访问 [www.agilent.com/chem/services](http://www.agilent.com/chem/services)，了解安捷伦完整的服务系列产品的更多信息



液相柱启始试剂盒, 5185-5986



Luer-Lok 注射器, 5188-5250



Luer-Lok 接头, 5188-5249



Luer-Lok 针头, 5188-5253

## 多重亲和去除系统启始试剂盒

液相色谱柱和离心小柱试剂启始工具包包括多重亲和去除系统所需要的所有备件。这些缓冲液为实现较长的色谱柱使用寿命和样品重现性提供了最佳条件。

- 该工具包提供足够的缓冲液 A 和缓冲液 B, 能满足使用 4.6 x 50 mm 液相色谱柱时约 200 个样品的消耗量、使用 4.6 x 100 mm 液相色谱柱时约 100 个样品的消耗量, 以及使用 200 个离心小柱的缓冲液消耗量
- 缓冲液 A (上样缓冲液) 能够最大限度减少蛋白质与蛋白质之间的相互作用, 使得与高丰度蛋白质相结合的低丰度蛋白质能够穿过色谱柱, 同时目标高丰度蛋白质可结合到其相应的抗体上
- 缓冲液 B (洗脱缓冲液) 能够破坏抗体与蛋白质之间的相互作用, 将高丰度蛋白质从色谱柱上洗脱下来

## 多重亲和去除系统启始试剂盒

说明	部件号
液相柱启始试剂盒	5185-5986
包括:	
缓冲液 A, 用于载样、冲洗和平衡, 1 L	5185-5987
缓冲液 B, 用于洗脱, 1 L	5185-5988
0.22 $\mu$ m 醋酸纤维素, 25/包, 1 L	5185-5990
离心浓缩器 (concentrators), 5K MWCO, 4 mL, 25 /包	5185-5991
多重亲和去除离心小柱试剂盒	5188-5254
包括:	
缓冲液 A, 用于载样、冲洗和平衡, 1 L	5185-5987
缓冲液 B, 用于洗脱, 1 L	5185-5988
离心滤膜, 0.22 $\mu$ m 醋酸纤维素, 25/包, 2 个	5185-5990
离心浓缩器 (concentrators), 5K MWCO, 4 mL, 25 /包	5185-5991
Luer-锁定接头, 2/包	5188-5249
塑料注射器, 5 mL, Luer-Lok, 2/包	5188-5250
微量管, 1.5 mL, 螺纹口, 100 /包, 6 个	5188-5251
盖和塞, 6 /包	5188-5252
PTFE 针头, Luer-Lok, 10/包	5188-5253
高浓度样品稀释缓冲液, 50 mL	5188-8283



纳流柱

## 特殊规格色谱柱

### 毛细管柱和纳流柱

- 用最少的样品量获得最高灵敏度
- 可兼容各种 LC/MS 接口
- 提供 0.5、0.3、0.1 和 0.075 mm 内径供您选择
- 300Å 孔径，适用于生物分子分析
- 一维和二维（蛋白质组学）应用的理想选择

Agilent ZORBAX 毛细管柱（0.5 和 0.3 mm 内径）和纳流柱（0.1 和 0.075 mm 内径）有多种固定相和色谱柱尺寸可选。这些色谱柱对于样品量非常有限的应用是非常理想的选择，因为它们通过减少柱上样品的稀释提高了灵敏度。如果您将安捷伦色谱柱与 Agilent 1290 Infinity LC 等低扩散 HPLC 仪器结合使用，不仅可以实现高灵敏度，同时还能获得优异的重现性。毛细管柱和纳流柱发展最快的应用是用二维 LC/MS 分析复杂蛋白质组学样品。安捷伦提供二维分离所需的各种色谱柱和仪器——用于一维分离的 SCX 色谱柱、反相捕集柱，以及用于二维分离的反相色谱柱。

#### 提示与工具

安捷伦提供各种网上在线讲座和现场培训，有助于您了解如何成为更出色的色谱分析工作者。

如需更多信息，请访问 [www.agilent.com/chem/Education:cn](http://www.agilent.com/chem/Education:cn)。

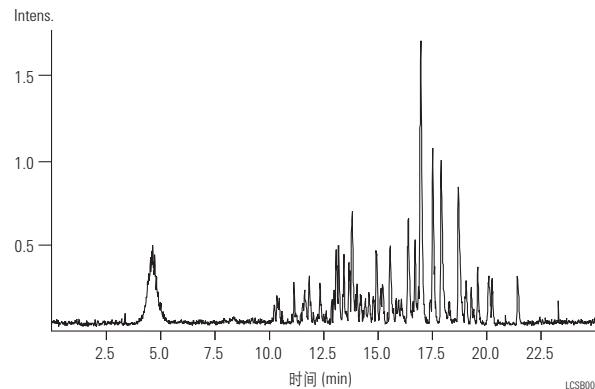


## 蛋白质酶解物的高灵敏度 LC/MS 分析

色谱柱: **ZORBAX 300SB-C18  
5065-9911  
0.075 x 150 mm, 3.5 μm**

流动相: A: 水 + 0.1% 甲酸  
B: 乙腈 + 0.1% 甲酸  
流速: 600 nL/min  
梯度: 25 min 内 2% B 到 52% B  
检测器: 正离子纳流电喷雾 MS  
样品: 100 fm (1 μL) 8 种蛋白质的酶解物

采用 ZORBAX 纳流 HPLC 色谱柱 (内径 0.075 mm) 对蛋白质酶解样品进行高灵敏度的 LC/MS 分析。



## 毛细管柱的高灵敏度分析

色谱柱: **ZORBAX SB-C18  
5064-8255  
0.3 x 150 mm, 5 μm**

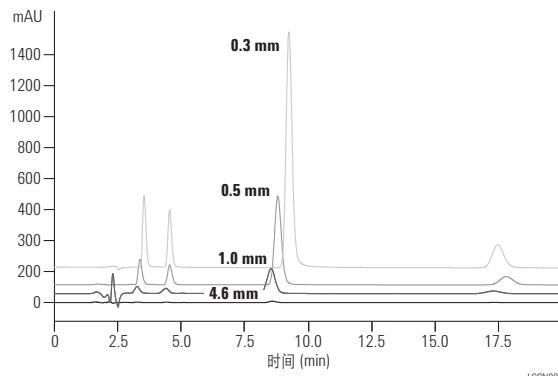
色谱柱: **ZORBAX SB-C18  
5064-8256  
0.5 x 150 mm, 5 μm**

色谱柱: **ZORBAX SB-C18  
863600-902  
1.0 x 150 mm, 3.5 μm**

色谱柱: **ZORBAX SB-C18  
883975-902  
4.6 x 150 mm, 5 μm**

样品: 200 ng 联苯

对于样品量有限的应用，为最大限度减少柱上样品稀释、提高灵敏度，需要使用毛细管色谱柱。在这个例子中，0.3 mm 的毛细管色谱柱与标准的 4.6 mm 色谱柱相比，灵敏度提高了 100 倍。在样品量极为有限的应用中，使用安捷伦纳径柱 (0.1 mm 到 0.075 mm 内径) 可将灵敏度提高达 2000 倍。



## 人血清：利用 LC/MS 分离和鉴定一维凝胶条带上 的低丰度蛋白

色谱柱: **ZORBAX 300SB-C18**

富集柱: **0.3 x 5 mm, 5  $\mu$ m, 5065-9913**

分析柱: **0.3 x 150 mm, 5  $\mu$ m, 5064-8263**

流动相: A: 水 + 0.1% 甲酸  
B: 乙腈 + 0.1% 甲酸

流速: 6  $\mu$ L/min

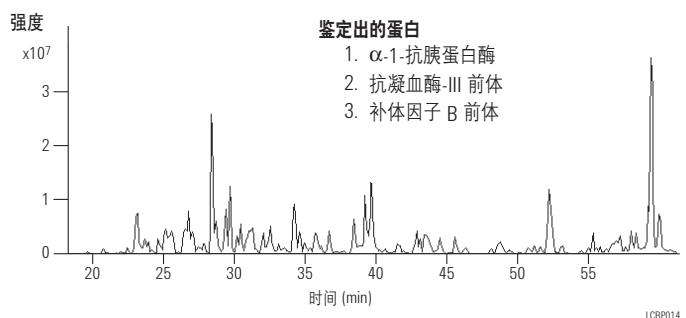
梯度: 0 min 3% B  
5 min 3% B (进样)  
50 min 45% B  
52 min 80% B  
57 min 80% B  
60 min 3% B

样品: 一维凝胶条带酶解物

人血清样品前处理:

使用多重亲和去除柱除去主要的血清蛋白质:  
4.6 x 100 mm, 部件号 5185-5985  
然后进行一维凝胶消解

基峰色谱图



## 利用毛细管液相色谱柱进行多肽磷酸化位点的 LC 和 LC/MS 分析

色谱柱: **ZORBAX 300SB-C18**

**5064-8268**

**0.5 x 150 mm, 3.5  $\mu$ m**

流动相: A: 水 + 0.1% 甲酸  
B: 乙腈 + 0.1% 甲酸

流速: 5.5  $\mu$ L/min

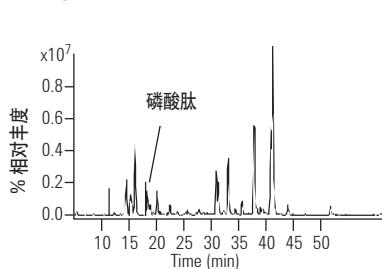
梯度: B 在 50 分钟内由 60% 升至 80%,  
B 在 55-57 分钟内保持 85%

检测器: UV, 206 nm

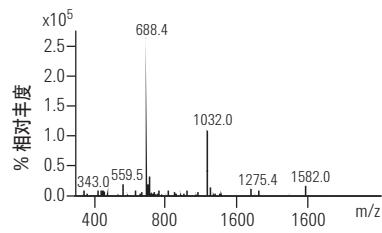
MS 条件: LC/MS: 正离子化模式 ESI 和  
LC/MSD 离子阱  
电压: 4,000 V  
干燥气流速: 7 L/min  
干燥气温度: 250 °C  
雾化器压力: 15 psi  
毛细管出口电压: 50 V  
最大累加时间: 300 ms  
总平均值: 3  
分离峰宽: 3 m/z  
裂解电压振幅: 1.0 V

样品: 100 nL (4 pmol)  $\beta$ -酪蛋白酶解物

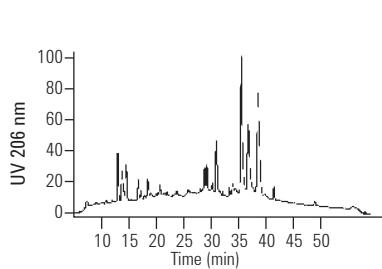
MS



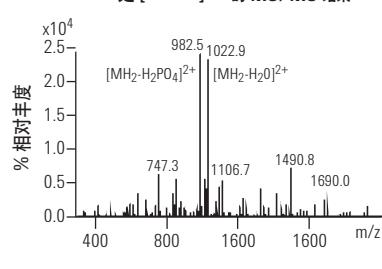
全扫描 MS



UV



$m/z$  1032 处  $[M+2H]^{2+}$  的 MS/MS 结果



## 适用于 HPLC 分析配合 UV 和 MS 检测的毛细管柱

**色谱柱:** ZORBAX 300SB-C18

5064-8263

0.3 x 150 mm, 5  $\mu$ m

流动相: 50 min 内 B 从 5% 升至 55%,  
55-57 min 内 B 升至 85%  
A: 水 + 0.1% 甲酸  
B: 乙腈 + 0.1% 甲酸

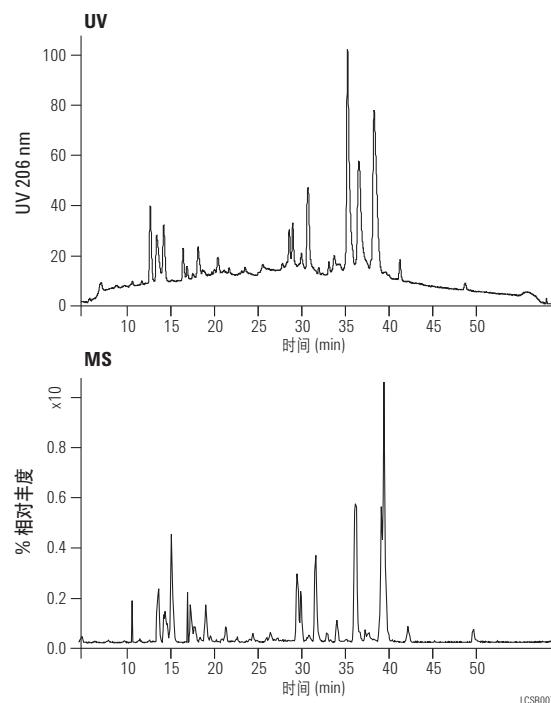
流速: 5.5  $\mu$ L/min

检测器: UV, 206 nm

MS 条件: LC/MS: 正离子化模式 ESI 和  
LC/MSD 离子阱,  
电压 4000 V  
干燥气流速: 7 L/min  
干燥气温度: 250 °C  
雾化器压力: 15 psi  
毛细管出口电压: 50 V  
最大累加时间: 300 ms  
总平均值: 3  
分离峰宽: 3 m/z  
裂解电压振幅: 1.0 V

样品: 100 nL (4 pmol)  $\beta$ -酪蛋白酶解物

用 ZORBAX 300SB-C18 毛细管柱 (0.3 mm 内径) 分离蛋白裂解液可以采用 UV 和电喷雾质谱检测。质谱检测可以用于多肽片段的鉴定。



## 用纳流液相色谱柱和二维 HPLC 系统分离复杂样品中的蛋白质

色谱柱: ZORBAX 300SB-C18

5065-9913

0.3 x 5 mm, 5 µm

色谱柱: ZORBAX 300SB-C18

5065-9911

0.075 x 150 mm, 3.5 µm

流动相: 四元泵: 3% 乙腈:0.1% 甲酸 纳流泵:

A: 水, 0.1% 甲酸, B: 乙腈, 0.1% 甲酸

流速: 四元泵: 30 µL/min

纳流泵: 300 nL/min

梯度: 四元泵: 等梯度

纳流泵:

6 min = 3% B; 120 min = 60% B; 125 min = 80% B;

130 min = 80% B; 131 min = 3% B; 140 min = 3% B

MS 条件: 离子源: 纳升 ESI, 干燥气流速: 5 L/min, 干燥气温度: 225 °C

离子阱: 锥孔电压: 1:35 V, 毛细管出口补偿: 115 V,

八极杆 1:12 V, 八极杆 2:3.5 V, 离子阱驱动电压:

80 V. ICC: 开启, 平均: 4, 最大累加时间: 150 ms;

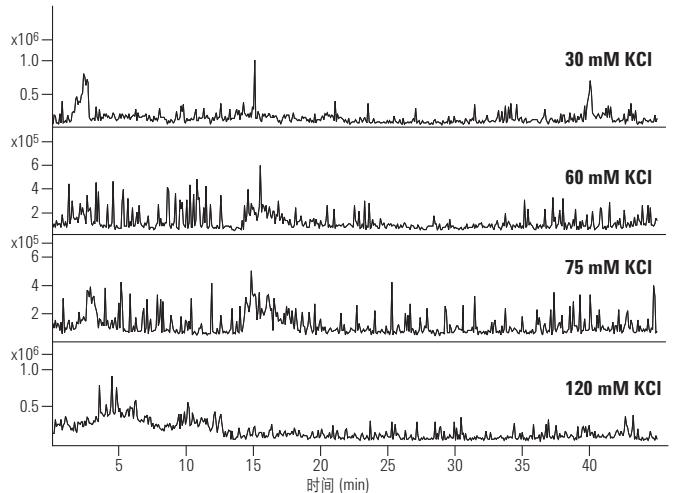
靶标 60.000, 正离子模式, MS/MS 模式

样品: 牛血清白蛋白的胰蛋白酶酶解物 体积: 1-8 µL

盐浓度梯度洗脱: 8 mL 10 mM-100 mM KCl

(10 mM 递增), 125 mM、150 mM、200 mM,

300 mM、500 mM、1 M



LCCN004

牛血清白蛋白 (BSA) 的胰蛋白酶酶解物。基峰色谱图显示了从二维 HPLC 分离结果中挑选出的一部分组分。单个色谱图展示了采用一定的盐浓度洗脱 BSA 酶解产物 (多肽)，然后进行富集和反相色谱分析的结果。



纳流柱

## ZORBAX Bio-SCX 系列 II

ZORBAX Bio-SCX 系列 II 色谱柱适用于多肽和蛋白质的优化 LC/MS 分离。此填料基于超纯 3.5  $\mu\text{m}$  ZORBAX 硅胶颗粒，键合具有磺酸基团的生物友好聚合物。因此，在多肽和蛋白质二维分析的离子交换步骤中，该填料能够提供更强的保留性和良好的峰形。

### HPIC Column Specifications

键合相	孔径	比表面积	pH 范围	官能团	最高压力
ZORBAX Bio-SCX 系列 II	300 Å	90 m <sup>2</sup> /g	2.5-8.5	磺酸	350 bar

### 对小分子肽的保留性能更强

色谱柱: ZORBAX Bio-SCX 系列 II

5065-9912

0.3 x 35 mm, 3.5  $\mu\text{m}$

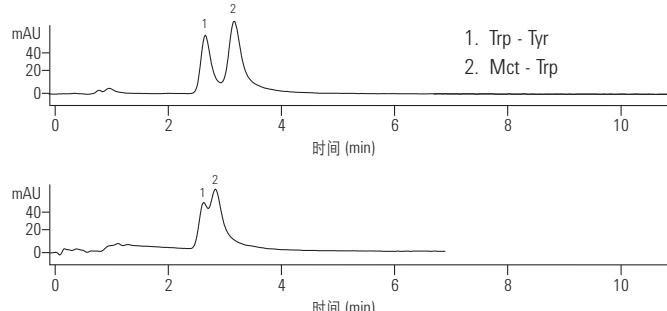
流动相: 95% 40 mM NaCl:5% 乙腈, 0.3% 甲酸

流速: 5  $\mu\text{L}/\text{min}$

检测器: UV, 230 nm

样品: 合成二肽

ZORBAX Bio-SCX 系列 II 色谱柱与其他 SCX 柱相比，对小分子肽的保留性能更强。因此其对更亲水的多肽片段具有更强的分离性能，并且此类色谱柱用于二维 HPLC 分析时可得到更准确的鉴定结果。



LCIE002

**ZORBAX HPLC 毛细管柱 (玻璃内衬不锈钢)**

说明	规格 (mm)	填料粒径 ( $\mu\text{m}$ )	300SB-C18	300SB-C8	Poroshell 300SB-C8	300Extend-C18	Bio-SCX 系列 II
毛细管柱	0.8 x 50	3.5					5065-9942
毛细管柱	0.5 x 250	5	5064-8266				
毛细管柱	0.5 x 150	5	5064-8264				
快速分离毛细管柱	0.5 x 150	3.5	5064-8268				
毛细管柱	0.5 x 75	5			5065-4468		
毛细管柱	0.5 x 35	5	5064-8294				
快速分离毛细管柱	0.5 x 35	3.5	5065-4459				
毛细管柱	0.3 x 250	5	5064-8265				
毛细管柱	0.3 x 150	5	5064-8263				
毛细管柱	0.3 x 35	5	5064-8295				
毛细管柱	0.3 x 35	3.5					5065-9912
快速分离毛细管柱	0.3 x 150	3.5	5064-8267	5065-4460		5065-4464	
快速分离毛细管柱	0.3 x 100	3.5	5064-8259	5065-4461		5065-4465	
快速分离毛细管柱	0.3 x 75	3.5	5064-8270	5065-4462		5065-4466	
快速分离毛细管柱	0.3 x 50	3.5	5064-8300	5065-4463		5065-4467	
可更换的筛网, 10/包			5065-4427	5065-4427	5065-4427	5065-4427	

**ZORBAX 纳流液相柱 (PEEK)**

说明	规格 (mm)	填料粒径 ( $\mu\text{m}$ )	300SB-C18 USP L1	300SB-C8 USP L7
快速分离纳流柱	0.1 x 150	3.5	5065-9910	
快速分离纳流柱	0.075 x 150	3.5	5065-9911	
快速分离纳流柱	0.075 x 50	3.5	5065-9924	5065-9923
富集/保护柱, 5/包	0.3 x 5	5	5065-9913	5065-9914
			5065-9915	5065-9915



ZORBAX 300SB-C18 富集/保护柱, 5065-9913



空间位阻的 300StableBond 键合固定相

## 微径 (1.0 mm 内径) 柱

- 对于样品量很少的分析具有高灵敏度
- 与 LC/MS 接口兼容
- 各种各样的键合相
- 硅胶和聚合物填料

当样品量有限时，安捷伦 ZORBAX 微径 (1.0 mm 内径) 色谱柱常常是很好的选择。与 2.1 mm 内径色谱柱相比，如果使用相同的样品量，这种色谱柱可将检测限降低 5 倍。这一灵敏度的增加至关重要。微径色谱柱使用低流速（通常约 50  $\mu\text{L}/\text{min}$ ）。所以，对于诸如质谱以及毛细管液相色谱系统这样需要低流速的检测器来说，这些色谱柱是其理想选择。微径色谱柱与微径 UHPLC/HPLC 系统配套使用时可获得最佳性能。提供多种可在高达 400 bar 条件下使用的键合相，包括 StableBond、300SB-C18、300SB-C8 和 Poroshell 柱。聚合物型反相柱、PLRP-S 以及离子交换型 PL-SAX 和 PL-SCX 也适用于需要极其稳定的大孔径填料的应用。现在还提供具有可调管深度接头的保护柱，从而保证每次连接时死体积都为零。

### 胰蛋白酶酶解物的分离

色谱柱: **ZORBAX 300SB-C18  
863630-902  
1.0 x 150 mm, 3.5  $\mu\text{m}$**

流动相: 梯度: 60 min 内 B 从 2% 升至 60%  
A: 0.1% TFA  
B: 0.075% TFA:80% ACN

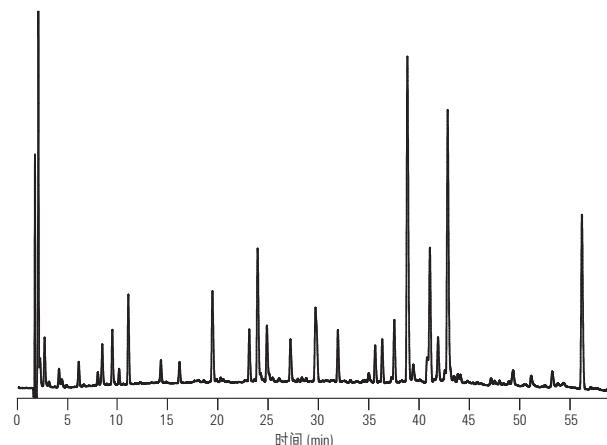
流速: 50  $\mu\text{L}/\text{min}$

柱温: 50 °C

检测器: UV, 215 nm

样品: 2  $\mu\text{L}$  rhGH 的胰蛋白酶酶解物

这个用微径柱分离胰酶裂解产物的实例表明，1.0 mm 内径柱可以实现高灵敏度和高分离度。



LCMB001

## 用微径 HPLC 实现高灵敏度多肽分析

色谱柱: PLRP-S 100Å 5 µm, 150 mm x 各种内径

流动相: A: 0.01 M tris HCl, pH 8  
B: A + 0.35 M NaCl, pH 8

流速: 1 mL/min

梯度: 15 分钟内 20% ACN, 0.1% TFA 到 50% ACN, 0.1% TFA 线性梯度洗脱

进样量: 0.5 µL

样品浓度: 0.25 mg/mL

检测器: UV, 220 nm

用安捷伦 PLRP-S 100Å 5 µm 柱进行多肽分离

### 色谱峰鉴别

A. 1.0 mm 内径 (流速 47 µL/min)

B. 2.1 mm 内径 (流速 200 µL/min)

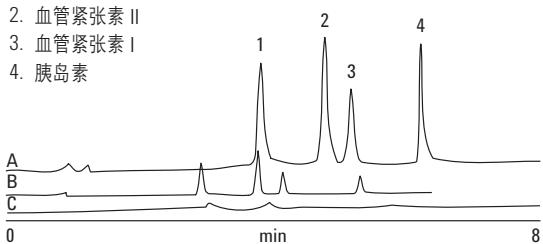
C. 4.6 mm 内径 (流速 1 mL/min)

1. 催产素

2. 血管紧张素 II

3. 血管紧张素 I

4. 胰岛素

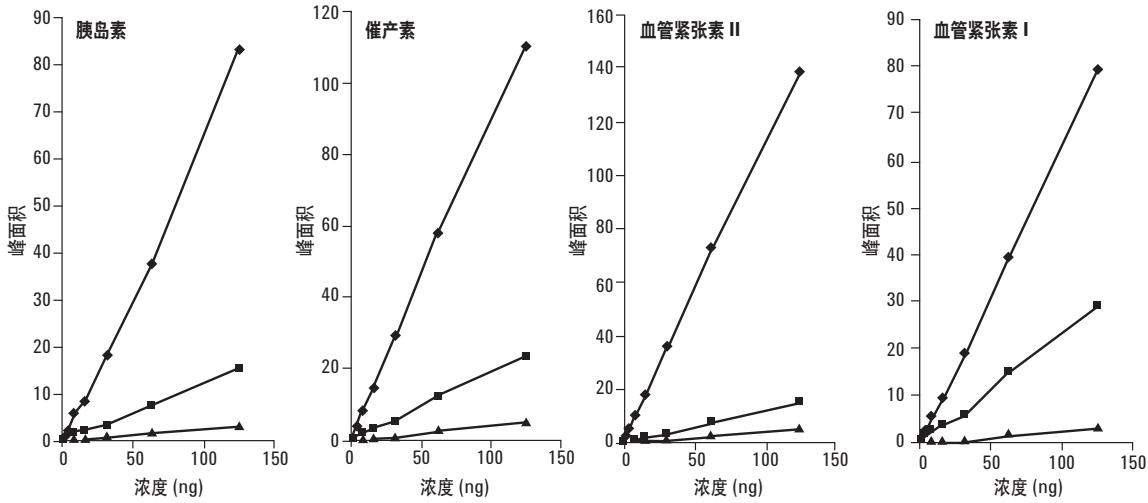


### 色谱峰鉴别

◆ 1.0 mm

■ 2.1 mm

▲ 4.6 mm



Agilent PLRP-S 柱的标准曲线数据点折线图。色谱柱内径的减小可使检测限降低，并能实现更少量样品的定量。

**微径柱 (1.0 mm 内径)**

说明	规格 (mm)	填料粒径 ( $\mu\text{m}$ )	300SB-C18	300SB-C8		
			USP L1	USP L7		
微径柱	1.0 x 250	5	861630-902			
快速分离微径柱	1.0 x 150	3.5	863630-902	863630-906		
快速分离微径柱	1.0 x 50	3.5	865630-902	865630-906		
微径保护柱, 3/包	1.0 x 17	5	5185-5920	5185-5920		
说明	规格 (mm)	填料粒径 ( $\mu\text{m}$ )	Poroshell 300SB-C18	Poroshell 300SB-C8	Poroshell 300SB-C3	Poroshell 300Extend-C18
微径柱	1.0 x 75	5	661750-902	661750-906	661750-909	671750-902
微径保护柱, 3/包	1.0 x 17	5	5185-5968	5185-5968	5185-5968	
说明	规格 (mm)	填料粒径 ( $\mu\text{m}$ )	PLRP-S 100Å USP L21	PLRP-S 300Å USP L21	PLRP-S 1000Å USP L21	PLRP-S 4000Å USP L21
微径柱	1.0 x 150	3	PL1312-3300			
微径柱	1.0 x 50	8			PL1312-1802	PL1312-1803
微径柱	1.0 x 50	5	PL1312-1500	PL1312-1501	PL1312-1502	PL1312-1503
微径柱	1.0 x 50	3	PL1312-1300	PL1312-1301		
说明	规格 (mm)	填料粒径 ( $\mu\text{m}$ )	PL-SAX 1000Å 4000Å	PL-SAX 4000Å 1000Å	PL-SCX 1000Å 4000Å	PL-SCX 4000Å 1000Å
微径柱	1.0 x 50	5	PL1351-1502	PL1351-1503	PL1345-1502	PL1345-1503

## 二维液相色谱

- 将两种正交的液相色谱技术结合到一种分析方法中
- 即使与 UHPLC 方法相比也可提供更出色的峰容量
- 将体积排阻与离子交换方法结合到 MS 中

生物分子的异质性和复杂性使目标生物药物的鉴定和表征需要应用多种 LC 技术。在一种分析方法中结合两种正交的技术（如亲水相互作用色谱和反相色谱，或阳离子交换色谱和反相色谱），可以获得出色的分离能力，帮助您鉴定和分析关键质量属性。

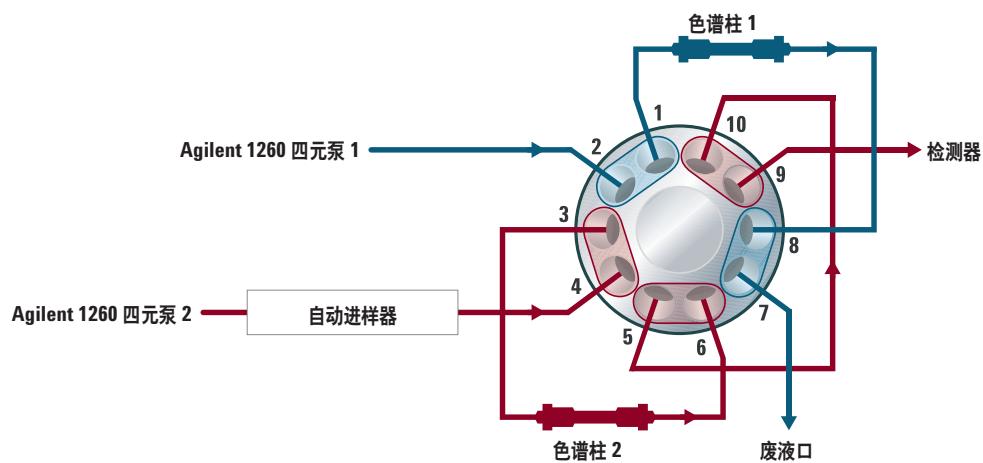
二维液相色谱的应用范围包括 Protein A 色谱柱捕获的单克隆抗体馏分的简单在线脱盐，以及通过连接亲水相互作用与反相肽谱分析方法对亲水性、糖基化和疏水性多肽片段进行全谱表征。

采用二维液相色谱能够缩短分析时间并最大化数据生成/解析效率，从而提高分析效率：

- 方法筛查与应用切换
- 离线色谱柱再生
- 在线杂质分析
- 中心切割二维液相色谱
- 全二维液相色谱

## 离线色谱柱再生

要通过离子交换液相色谱实现稳定的电荷异构体分析，就必须进行充分的色谱柱净化与平衡。然而这一过程会增加分析的总时间，因此我们需要采取措施缩短色谱柱净化与平衡时间以提高样品通量。其中一种方法是采用离线色谱柱再生，该方法已被证实最多可缩短 40% 的分析周期。



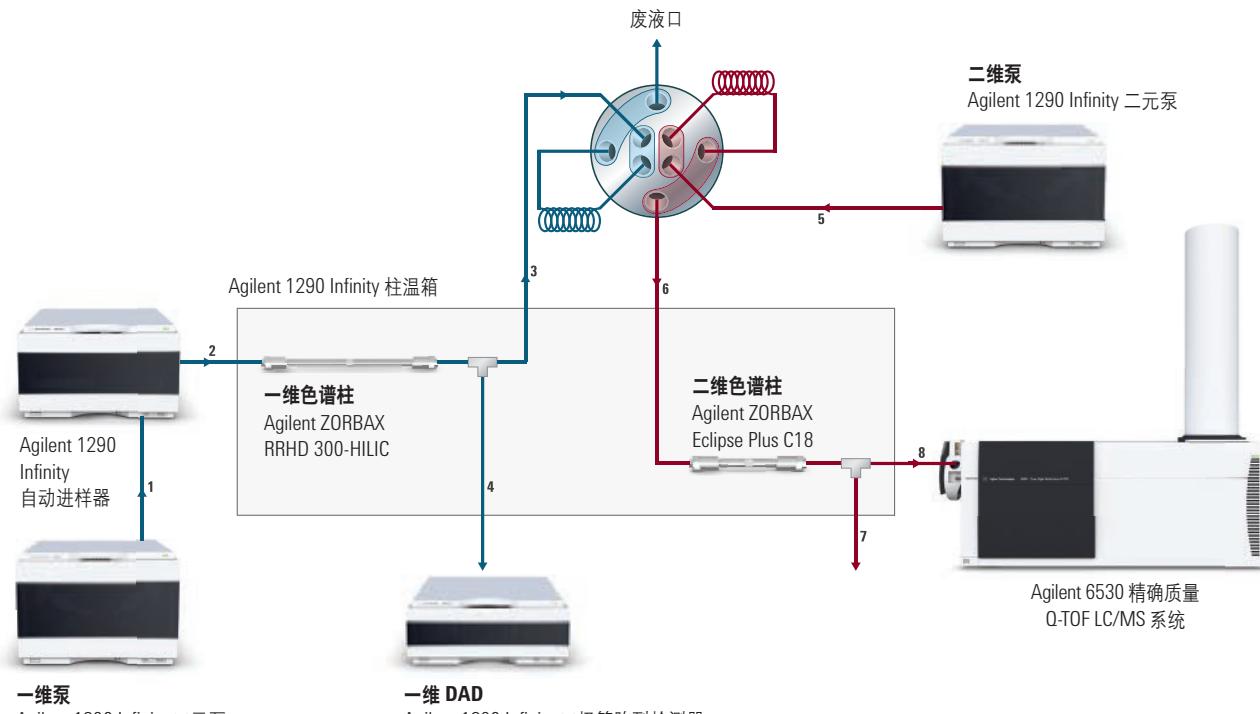
上面的示意图展示了采用 Agilent 1260 Infinity 生物惰性四元梯度液相色谱以及 2 根 Agilent Bio MAb PEEK, 2.1 x 250 mm 色谱柱进行 mAb 电荷异构体分析时离线色谱柱再生所需的阀排列情况。

#### 保留时间和峰面积的柱内 ( $n = 6$ ) 和柱间 ( $n = 12$ ) 精确度

柱内保留时间 % RSD	柱内峰面积 % RSD	柱间保留时间 % RSD	柱间峰面积 % RSD
CV1 0.205	2.50	0.247	3.39
CV2 0.183	1.91	0.218	1.63
CV3 0.247	1.13	0.277	2.56
CV4 0.302	6.73	0.286	6.67
CV5 0.301	1.63	0.255	1.41
CV6 0.252	2.78	0.213	2.93

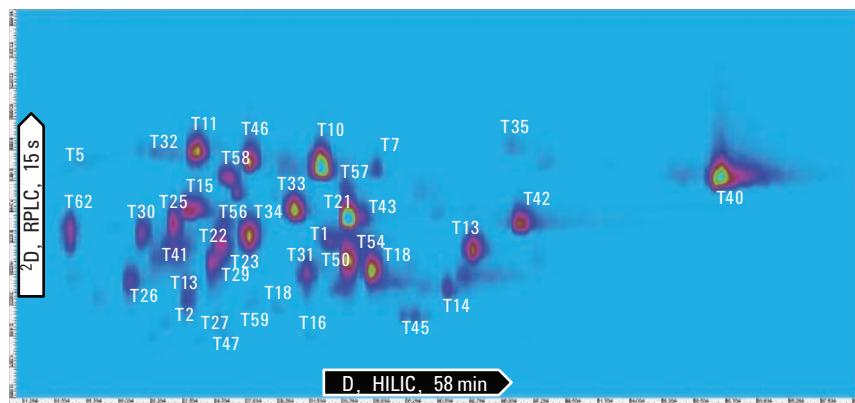
Agilent Bio MAb PEEK 色谱柱的离线再生获得了良好的保留时间和峰面积柱内和柱间精确度。柱内 ( $n = 6$ ) 和柱间 ( $n = 12$ )。

## 全二维液相色谱



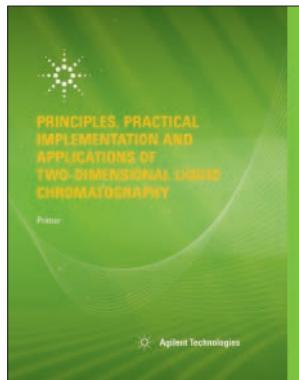
1 一维泵到自动进样器	校准毛细管 (G1312-67500)
2 自动进样器到一维色谱柱 (1.6 μL 热交换器)	不锈钢, 0.17 mm
3 三通 1 到二维液相色谱阀	不锈钢, 0.12 x 200 mm
4 三通 1 到一维 DAD	不锈钢, 0.12 x 140 mm
5 二维泵到二维液相色谱阀	不锈钢, 0.17 mm
6 二维液相色谱阀到二维色谱柱 (1.6 μL 热交换器)	不锈钢, 0.12 x 270 mm
7 三通 2 到废液口	不锈钢, 0.12 x 340 mm
8 三通 2 到检测器 (AJS 离子源或二维 DAD)	不锈钢, 0.075 x 340 mm (5067-4783)

采用 HILIC 和 RPLC-MS 进行单克隆抗体酶解物的全二维液相色谱分析以及肽谱分析的系统配置。



由 MS 总离子计数数据生成的曲妥单抗胰蛋白酶酶解物分析的 LCxLC 等高线图。此分析中第一维 (HILIC) 和第二维 (RP) 具有良好的正交性。

用于二维液相色谱的色谱柱尺寸通常定义为毛细管、纳流或微径（0.075-1 mm 内径）。安捷伦提供多种匹配以上色谱柱尺寸的固定相。如果您无法找到所需的孔径、填料粒径、固定相和色谱柱尺寸的组合，请联系我们专业的定制色谱柱团队，他们将为您制造出符合特定性能标准的色谱柱。



### 提示与工具

如需了解有关二维液相色谱基本原理的更多信息，请订购二维液相色谱基础导论的副本：

*Principles, Practical Implementation and Applications of Two-Dimensional Liquid Chromatography* (二维液相色谱原理、实践与应用)，出版号 5991-2359EN

[www.agilent.com/chem/2DLC-Primer](http://www.agilent.com/chem/2DLC-Primer)



聚合物型制备液相柱

## 纯化 – 制备液相色谱

安捷伦提供专为生物分子纯化而设计的一系列硅胶和聚合物型 HPLC 色谱柱与填料。包括为纯化微克和毫克级生物制药候选药物而优化的高效小粒径制备柱，以及填充能纯化克级、千克级以及数千克级 API 的开发和生产柱的全多孔散装填料。

某些色谱柱是针对高效纯化的需求而特别设计的，而其他产品则易于从小粒径分析柱放大到全规模 API 生产。**表 1** 展示了制备柱/填料的选择，以及它们可以纯化的产品量。

### 提示与工具

如需了解不同制备色谱类型的信息，请参阅：

制备型液相色谱原理与实践基础导论（出版号 5991-2358CHCN）

[www.agilent.com/chem/library](http://www.agilent.com/chem/library)

生物药物生命周期		发现	开发	生产	
		μg 高效	mg	g	kg 高通量
反相色谱柱	mRP-C18	▶			
	ZORBAX Prep HT 300Å StableBond	▶▶▶			
	VariTide RPC	▶▶▶			
	PLRP-S 100Å, 300Å, 1000Å, 4000Å	▶▶▶▶			
离子交换	Agilent Bio MAb	▶▶▶			
	Agilent Bio IEX	▶▶▶			
	PL-SAX	▶▶▶			
	PL-SCX	▶▶▶			
体积排阻	Agilent Bio SEC-3 Agilent Bio SEC-5	▶▶▶			

表 1：用于生物分子纯化的安捷伦色谱柱和填料 —— 色谱类型、产品系列和纯化规模

**纯化柱的选择**

应用	技术	说明	安捷伦色谱柱
蛋白质组学	反相色谱柱	适用于蛋白质组学应用的专用高回收色谱柱。专为最大回收率 $\mu\text{g}$ 级纯化而设计。	mRP-C18
所有生物分子	反相色谱柱	高效 300 $\text{\AA}$ 硅胶型填料	ZORBAX PrepHT 300SB
合成多肽	反相色谱柱	为合成多肽的纯化而设计的聚合物型填料。这是一款高效的单柱解决方案，适用于所有种类的合成多肽（包括酸性、碱性、疏水性和亲水性多肽），并且覆盖液相和固相合成生产的全部多肽大小范围。	VariTide RPC
所有生物分子	反相色谱柱	提供各种孔径和粒度的优级聚合物型反相系列柱，其中小粒径制备柱可进行高效的实验室级纯化，大粒径生产级色谱柱可用于放大到大量生产型纯化。 当纯化将被放大用于生产 API，并需要经过合规性批准时，可以使用 PLRP-S。	PLRP-S
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• 3 <math>\mu\text{m}</math> 和 5 <math>\mu\text{m}</math> 填料适用于高效纯化</li> <li>• 8 <math>\mu\text{m}</math>、10 <math>\mu\text{m}</math>、10-15 <math>\mu\text{m}</math>、15-20 <math>\mu\text{m}</math>、30 <math>\mu\text{m}</math> 和 50 <math>\mu\text{m}</math> 填料适用于较大规模纯化和低压纯化</li> </ul>	
单克隆抗体	离子交换	无孔弱阳离子交换剂	Agilent Bio MAb
所有生物分子	离子交换	无孔离子交换剂 <ul style="list-style-type: none"> <li>• SAX、WAX、SCX 和 WCX 官能团，为您的酸性和碱性分子纯化提供多种选择</li> <li>• 5 <math>\mu\text{m}</math> 无孔颗粒，提供最高的实验室制备效率</li> </ul>	Agilent Bio IEX
所有生物分子	离子交换	全多孔强阴离子交换剂 <ul style="list-style-type: none"> <li>• 5 <math>\mu\text{m}</math> 填料适用于高效纯化</li> <li>• 8 <math>\mu\text{m}</math>、10 <math>\mu\text{m}</math> 和 30 <math>\mu\text{m}</math> 填料适用于较大规模纯化和低压纯化</li> </ul> 全多孔强阳离子交换剂 <ul style="list-style-type: none"> <li>• 5 <math>\mu\text{m}</math> 填料适用于高效纯化</li> <li>• 8 <math>\mu\text{m}</math>、10 <math>\mu\text{m}</math> 和 30 <math>\mu\text{m}</math> 填料适用于较大规模纯化和低压纯化</li> </ul>	PL-SAX PL-SCX
所有生物分子	体积排阻	具有多种孔径的硅胶基 SEC 填料 <ul style="list-style-type: none"> <li>• 提供 3 <math>\mu\text{m}</math> 和 5 <math>\mu\text{m}</math> 粒径的填料，可实现高分析效率</li> <li>• 提供 100<math>\text{\AA}</math> 到 2000<math>\text{\AA}</math> 的多种孔径，覆盖宽泛的样品分子大小</li> </ul>	Agilent Bio SEC-3 和 5

**提示与工具**

更多信息可参考：

*Biomolecule Purification* (生物分子纯化)，出版号 5990-8335EN[www.agilent.com/chem/library](http://www.agilent.com/chem/library)



mRP-C18 高回收蛋白柱,  
4.6 x 50mm, 5188-5231

### mRP-C18 高回收蛋白柱

mRP (大孔反相) C18 高回收蛋白柱专为复杂蛋白质样品 (如去免疫的血清或血浆蛋白) 的高回收率、高分离度分离、纯化以及同步脱盐而设计。

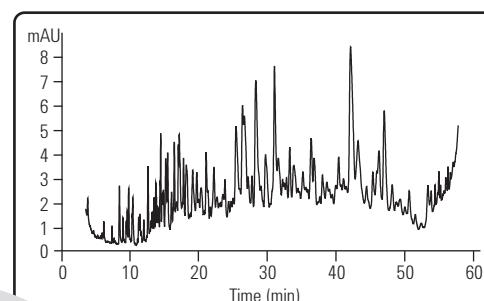
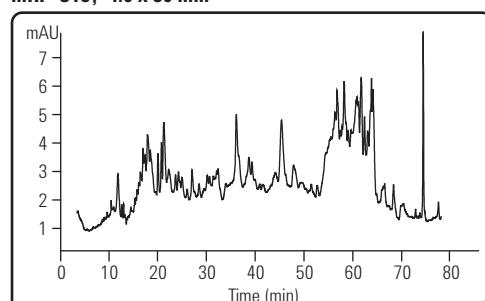
- 使用安捷伦多重亲和去除系统 (液相柱), 去免疫的血清蛋白样品回收率可达 95-99% 以上
- 最多可上样总蛋白质 380 µg, 而不会降低蛋白质的色谱分离度
- 色谱柱装填了专为减少或消除蛋白质的强吸附而设计的大孔径 C18 键合超纯 5 µm 粒径 硅胶颗粒
- 最大操作压力可达 250 bar (4000 psi)
- 与水和所有常用有机溶剂兼容

### mRP-C18 高回收蛋白柱

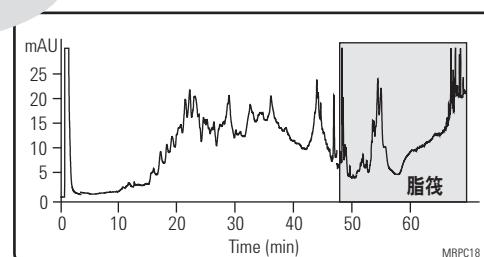
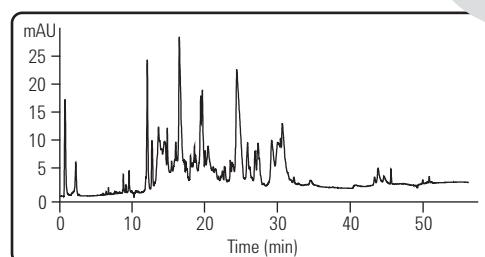
说明	蛋白载样容量	部件号
mRP-C18, 0.5 x 100 mm	10 ng-5 µg	5188-6510
mRP-C18, 2.1 x 75 mm	8-85 µg	5188-6511
mRP-C18, 4.6 x 50 mm	40-380 µg	5188-5231

## 用 mRP 柱分离复杂样品中的蛋白质

mRP-C18, 4.6 x 50 mm



最高回收率





ZORBAX 300Å StableBond Prep HT 卡套柱

## ZORBAX PrepHT 制备柱

- 采用 ZORBAX 固定相轻松实现分析级到制备级的工艺放大
- 最高可实现达 2000 mg 的快速制备级分离
- 5-7  $\mu\text{m}$  粒径可实现高柱效和高产量
- 易于安装的手拧式连接密封，耐压高达 5000 psi/350 bar
- 制备级分离维持和分析型固定相同样的选择性

利用 Agilent ZORBAX PrepHT 色谱柱可以轻松实现高纯度、高回收率和高通量的分析。提供 StableBond 300Å、C18、C8、C3 和 CN 等多种键合相 — 用于在各种条件下获得最佳分离度和载样量。

ZORBAX PrepHT 色谱柱填充 5  $\mu\text{m}$  和 7  $\mu\text{m}$  填料，可实现非常高的分离度。高分离度意味着高载样量、高产率和高纯度。较大内径色谱柱和机械强度更高的 ZORBAX 填料允许使用高达 100 mL/min 的流速，因而增加了分析通量。

ZORBAX PrepHT 柱可以在不损失分离度的情况下实现从分析级到制备级的快速放大。针对采用较大尺寸色谱柱（内径 21.2 mm，长度 150 mm 及以上）的复杂分离，安捷伦精心选择了 7  $\mu\text{m}$  粒径填料以实现高柱效和高载样量之间的平衡。

### ZORBAX 300Å StableBond

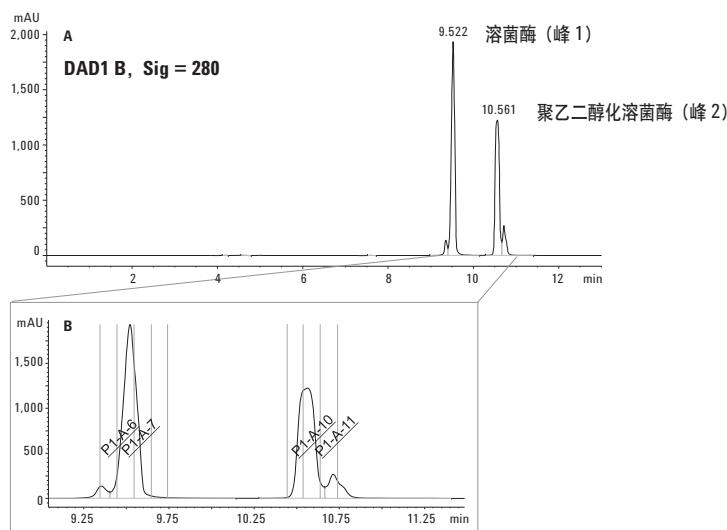
标志	说明	规格 (mm)	填料粒径 ( $\mu\text{m}$ )	300SB-C18 USP L1	300SB-C8 USP L7	300SB-CN USP L10	300SB-C3 USP L56
<b>PrepHT卡套柱 (需要柱接头 820400-901)</b>							
▲	PrepHT 卡套柱	21.2 x 250	7	897250-102	897250-106	897250-105	897250-109
▲	PrepHT 卡套柱	21.2 x 150	7	897150-102	897150-106		897150-109
▲	PrepHT 卡套柱	21.2 x 150	5	895150-902	895150-906		895150-909
▲	PrepHT 卡套柱	21.2 x 100	5	895100-902	895100-906		895100-909
▲	PrepHT 卡套柱	21.2 x 50	5	895050-902	895050-906		895050-909
▲	PrepHT 柱端接头, 2/包			820400-901	820400-901	820400-901	820400-901
▲	PrepHT 保护柱芯, 2/包	17.0 x 7.5	5	820212-921	820212-918	820212-924	820212-924
▲	保护柱卡套			820444-901	820444-901	820444-901	820444-901

**PEG 溶菌酶反应混合物的半制备型 RP-HPLC 分析**

色谱柱: **ZORBAX SB-C18  
880975-202  
9.4 x 250 mm, 5  $\mu$ m**

**A:** 采用 Agilent ZORBAX 半制备型 300 SB-C18 色谱柱对 PEG 溶菌酶反应混合物进行半制备型 RP-HPLC 分析

**B:** 镜分收集放大图





## 适用于 Prep to Process 的 PLRP-S 柱

- 适用于从研发阶段到几公斤级的 cGMP 生产，缩短了方法开发时间
- 分离、冲洗和再生的化学稳定性很高，提高了选择性和柱寿命
- 具有多柱单批包装，缩短了系统停机时间并减少了验证成本

PLRP-S 填料为聚（苯乙烯/二乙烯苯）硬质填料，可提供各种孔径，适用于小分子、合成生物分子和大分子的纯化。其具有出色的热稳定性和化学稳定性，尤为适合极端条件下的样品前处理、化合物洗脱和色谱柱再生。

柱容量和分离度是提升纯化通量的两个最主要参数。由于能够对填料的孔径和操作条件进行广泛的选择，PLRP-S 能够为最优化的分离操作提供更多选择。填料粒径范围从 3  $\mu\text{m}$  到 50  $\mu\text{m}$ ，适用于从研发阶段的  $\mu\text{g}/\text{mg}$  水平，放大到 cGMP 生产的几公斤级水平的应用。卓越的化学稳定性，可用浓度高达 1M NaOH 冲洗和再生，延长色谱柱寿命。一批成品规模可高达 600 L，具有多柱单批包装。

为保证产品质量和持续供应品质的一致性，我们的所有生产过程都有记录，且还会定期进行设施审计工作。



## PLRP-S Prep to Process 应用指南

应用	PLRP-S 填料孔径			
	100Å	300Å	1000Å	4000Å
合成生物分子、多肽和寡核苷酸	✓	✓		
重组生物分子、多肽和蛋白质	✓	✓		
生物大分子、抗体、DNA 片段			✓	✓
小分子、不稳定化合物，包括金属敏感性	✓			

## 色谱柱性能指标

pH 范围	1-14
缓冲液成分	无限制
有机改性剂	1-100%
温度上限	200 °C
最大压力	5-8 µm:3000 psi (210 bar) 3 µm:4000 psi (300 bar)

**用 PLRP-S 100Å 4.6 x 50 mm 柱纯化 25 mer 去三苯甲基寡核苷酸，  
并对馏分进行定量分析**

色谱柱:

**PLRP-S 100Å  
PL1512-1300  
4.6 x 50 mm, 3 µm**

流动相:

A: 100 mM 醋酸三乙胺 (TEAA)  
B: 100 mM TEAA 溶于 25:75 乙腈:水

流速:

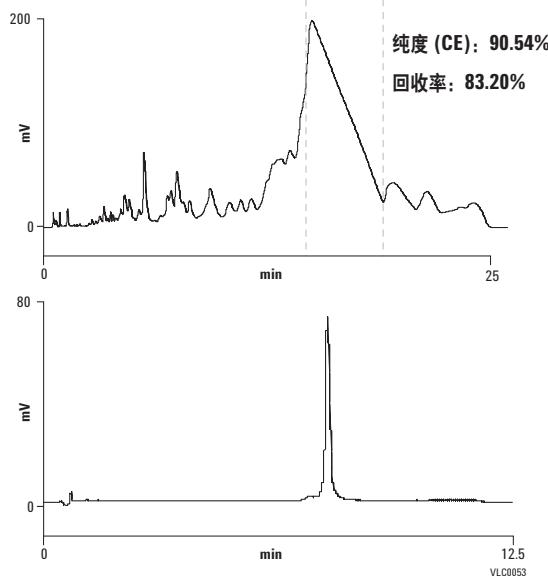
1 mL/min

梯度:

25% B 0 min, 35% B 2 min,  
45% B 22.5 min, 45% B 23 min,  
25% B 23.05 min, 25% B 26 min

柱温:

80 °C



### 缓激肽粗品制备上样

色谱柱:

**PLRP-S 100Å  
PL1512-5100  
4.6 x 250 mm, 10 µm**

样品:

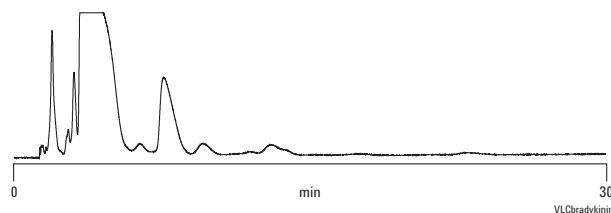
30 µL 含 1.5 mg 粗品肽

流动相:

含 0.1% TFA 的乙腈:水 = 21:79

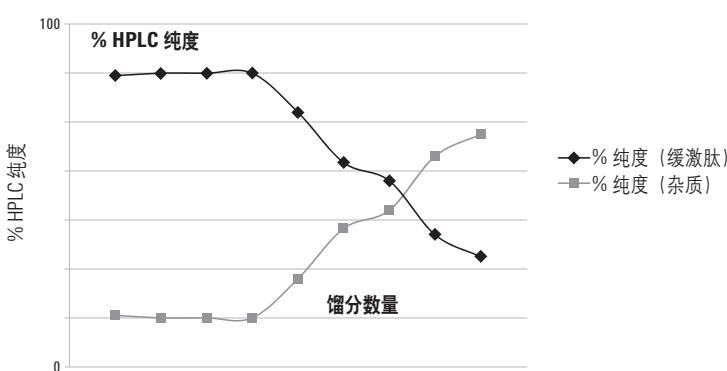
流速:

1 mL/min (360 cm/h)



### 馏分分析 - 浓度超载纯化

对峰收集的馏分进行 HPLC 分析显示，馏分 1 到 4 仅含目标多肽，而主要杂质的含量随着馏分数量的增大而增加。使用高效 PLRP-S 柱，可以将粗品提纯 91.7%，回收率 97%，纯度 100%。如需更多信息，请参见应用简报 5990-7736EN



**Prep to Process PLRP-S**

<b>规格 (mm)</b>	<b>填料粒径 (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>PLRP-S 100Å</b>	<b>PLRP-S 300Å</b>	<b>PLRP-S 1000Å</b>	<b>PLRP-S 4000Å</b>
100 x 300	30			PL1812-3102	PL1812-3103
100 x 300	15-20	PL1812-6200	PL1812-6201		
100 x 300	10-15	PL1812-6400	PL1812-6401		
100 x 300	10	PL1812-6100	PL1812-6101		
100 x 300	8	PL1812-6800	PL1812-6801		
50 x 300	8	PL1712-6800	PL1712-6801		
50 x 150	30			PL1712-3702	PL1712-3703
50 x 150	15-20	PL1712-3200	PL1712-3201		
50 x 150	10-15	PL1712-3400	PL1712-3401		
50 x 150	10	PL1712-3100	PL1712-3101	PL1712-3102	PL1712-3103
50 x 150	8	PL1712-3800	PL1712-3801		
25 x 300	15-20	PL1212-6200	PL1212-6201		
25 x 300	10-15	PL1212-6400	PL1212-6401		
25 x 300	10	PL1212-6100	PL1212-6101		
25 x 300	8	PL1212-6800	PL1212-6801		
25 x 150	30			PL1212-3702	PL1212-3703
25 x 150	10	PL1212-3100	PL1212-3101	PL1712-3102	PL1712-3103
25 x 150	8	PL1212-3800	PL1212-3801		
25 x 50	10			PL1212-1102	PL1212-1103
<b>PLRP-S 方法开发柱</b>					
4.6 x 250	30			PL1512-5702	PL1512-5703
4.6 x 250	15-20	PL1512-5200	PL1512-5201		
4.6 x 250	10-15	PL1512-5400	PL1512-5401		
4.6 x 250	10	PL1512-5100	PL1512-5101	PL1512-5102	PL1512-5103
4.6 x 250	8	PL1512-5800	PL1512-5801		
4.6 x 150	30			PL1512-3702	PL1512-3703
4.6 x 150	15-20	PL1512-3200	PL1512-3201		
4.6 x 150	10-15		PL1512-3401		
4.6 x 150	10	PL1512-3100	PL1512-3101	PL1512-3102	PL1512-3103
4.6 x 150	8	PL1512-3800	PL1512-3801		

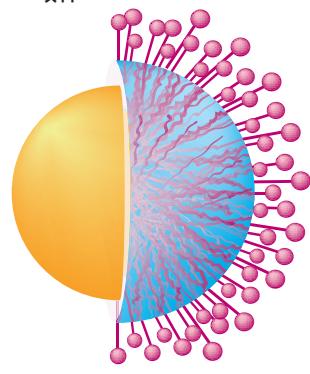
**PLRP-S 散装填料**

填料粒径 ( $\mu\text{m}$ )	单位	PLRP-S 100Å	PLRP-S 300Å	PLRP-S 1000Å	PLRP-S 4000Å
50	1 kg	PL1412-6K00	PL1412-6K01	PL1412-6K02	
	100 g	PL1412-4K00	PL1412-4K01	PL1412-4K02	
30	100 g			PL1412-4702	PL1412-4703
15-20	1 kg	PL1412-6200	PL1412-6201		
	100 g	PL1412-4200	PL1412-4201		
10-15	1 kg	PL1412-6400	PL1412-6401		
	100 g	PL1412-4400	PL1412-4401		
10	1 kg	PL1412-6100	PL1412-6101		
	100 g	PL1412-4100	PL1412-4101	PL1412-4102	PL1412-4103
8	1 kg	PL1412-6800	PL1412-6801		

定制色谱柱和散装填料的订购。

如果您在以上表格中没有找到所需的孔径/填料粒径和色谱柱规格的组合或所需的散装填料量, 请联系您当地的安捷伦客户服务中心, 他们将帮助您进行定制订购。

Bio mAb 填料



## Agilent Bio MAb 和 Agilent Bio IEX

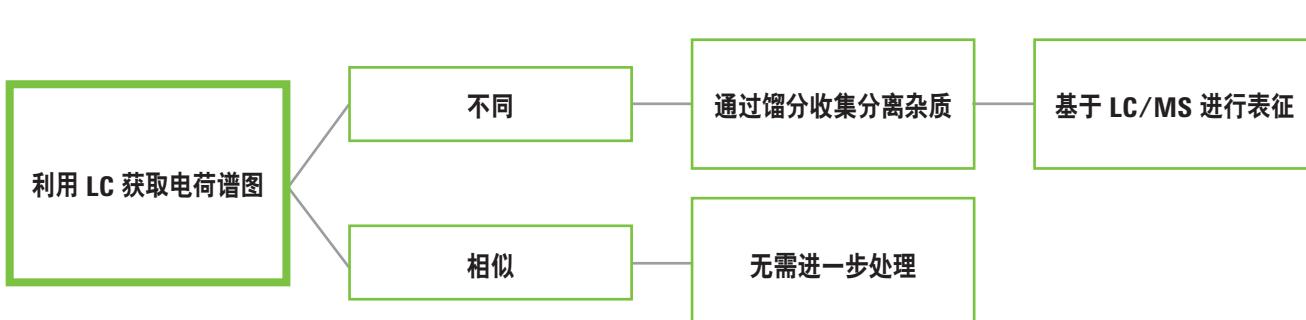
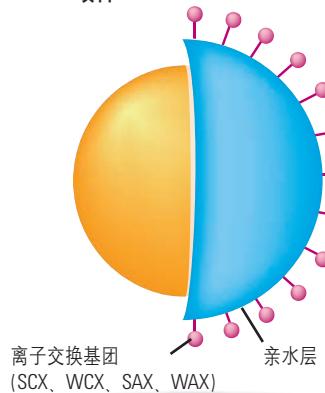
### 从分析型方法放大到高效的制备型方法

- 无孔填料可消除扩散传质，并且能对结构极为相似的杂质进行高效纯化
- 五种不同的功官能团：SAX、WAX、SCX、WCX 以及专门针对 mAb 分析进行了优化的 CX，在高样品载量下也可实现最高分离度
- 采用相同的 5 μm 颗粒即可从分析型方法轻松放大至半制备及制备型方法

这些填料的外部亲水层可降低非特异性相互作用，并提高样品回收率。

分析型、半制备和制备型色谱柱均装填了相同的 5 μm 填料，因此生物制药工艺开发过程中出现的任何非预期电荷异构体均可实现快速纯化，以便进行进一步表征和鉴定。

Bio IEX 填料



**Agilent Bio MAb 液相柱**

规格 (mm)	填料粒径 ( $\mu\text{m}$ )	部件号
21.2 x 250	5	5190-6885
10 x 250	5	5190-6884

**Agilent Bio IEX 液相柱, 不锈钢**

规格 (mm)	填料粒径 ( $\mu\text{m}$ )	Bio SCX 部件号	Bio WCX 部件号	Bio SAX 部件号	Bio WAX 部件号
21.2 x 250	5	5190-6879	5190-6881	5190-6883	5190-6877
10 x 250	5	5190-6878	5190-6880	5190-6882	5190-6878



## 适用于 Prep to Process 的 PL-SAX 和 PL-SCX 柱

- 较宽 pH 范围的离子交换纯化，扩展了应用范围
- HPLC 流速和快速平衡缩短了纯化周期
- 大孔径改善了传质性能，可提供高速、高分离度的纯化

这些刚性、强阳离子交换填料亲水性极强，专为生物分子的纯化而设计。PL-SAX 和 PL-SCX 采用全聚合物材料制成，在任何 HPLC 条件下都具有化学稳定性和热稳定性。强阳离子交换官能团与化学稳定的聚合物共价连接，可在更宽的 pH 范围内进行离子交换纯化。其稳定性好，可耐受柱清洗和净化。其热稳定性还可以使用变性条件和稳定剂/溶解剂，以纯化在纯化条件下可能降解的目标化合物，如带自补序列合成寡核苷酸的纯化。

两款大孔径填料（ $1000\text{\AA}$  和  $4000\text{\AA}$ ）均具有机械稳定性强且耐用的特点，可以在较广的线性流速范围内运行，能够快速加载稀释溶液和进行清洗循环。HPLC 流速和快速平衡缩短了纯化周期。

通过动态轴向压缩 (DAC) 装柱设备进行色谱柱装填，操作简单直接，所获得的色谱柱柱效高、重现性良好且使用寿命长。 $1000\text{\AA}$  孔径适用于高容量纯化， $4000\text{\AA}$  超大孔径填料改善了传质性能，适用于生物大分子的分离以及高速、高分离度的纯化。



## 色谱柱性能指标

	PL-SAX	PL-SCX
<b>基质</b>	完全聚合	完全聚合
<b>孔径</b>	1000Å, 4000Å	1000Å, 4000Å
<b>填料粒径</b>	10 µm, 30 µm	10 µm, 30 µm
<b>微球形状</b>	刚性球形	刚性球形
<b>官能团</b>	季铵	磺酸
<b>压力稳定性</b>	3000 psi	3000 psi
<b>温度稳定性</b>	80 °C	80 °C
<b>pH 范围</b>	1-14	1-14
<b>洗脱液兼容性</b>	所有阴离子交换缓冲液	所有阳离子交换缓冲液
<b>填充柱床密度</b>	0.39 g/mL	0.39 g/mL

## 大分子寡核苷酸的纯化

## 色谱柱: PL-SAX 1000Å, 8 µm

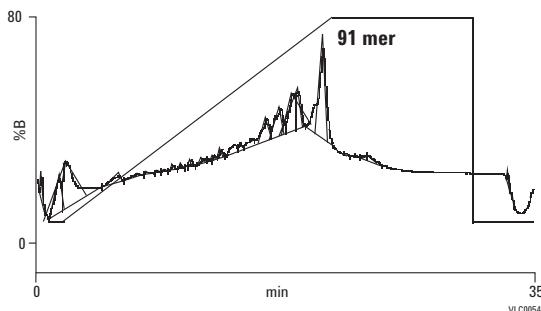
流动相:  
A: 93% 100 mM TEAA, pH 7:7% ACN  
B: 93% 100 mM TEAA, 3.24 M 醋酸铵,  
pH 7:7% ACN

梯度: 0-100% B /20 分钟

流速: 1.5 mL/min

柱温: 60 °C

检测器: UV, 290 nm



## 对含淀粉葡萄糖苷酶的培养液滤液进行制备性分离

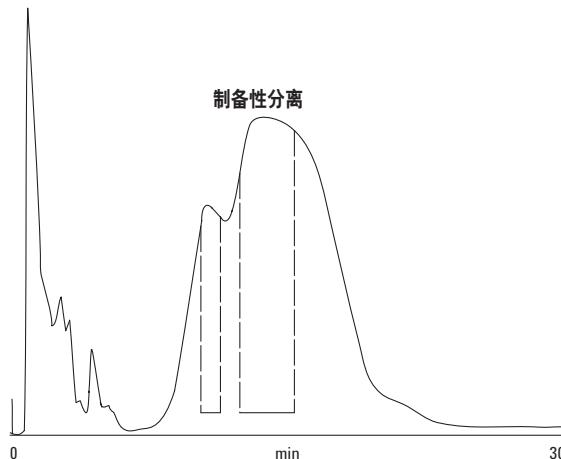
色谱柱: PL-SAX  
PL1551-1803  
4.6 x 50 mm, 8 µm

流动相:  
A: 10 mM tris HCl, pH 8  
B: A + 500 mM NaCl, pH 8

流速: 4.0 mL/min

梯度: 2 min 内 B 由 0% 线性变化至 100%

检测器: UV, 280 nm





Prep to Process PL-SAX 和 PL-SCX 柱和散装填料

**Prep to Process PL-SAX 和 PL-SCX 柱**

规格 (mm)	填料粒径 ( $\mu\text{m}$ )	PL-SAX 1000Å	PL-SAX 4000Å	PL-SCX 1000Å	PL-SCX 4000Å
50 x 150	30	PL1751-3702	PL1751-3703	PL1745-3702	PL1745-3703
50 x 150	10	PL1751-3102	PL1751-3103	PL1745-3102	PL1745-3103
25 x 150	30	PL1251-3702	PL1251-3703	PL1245-3702	PL1245-3703
25 x 150	10	PL1251-3102	PL1251-3103	PL1245-3102	PL1245-3103
25 x 50	10	PL1251-1102	PL1251-1103	PL1245-1102	PL1245-1103
7.5 x 150	8	PL1151-3802	PL1151-3803		
7.5 x 50	8	PL1151-1802	PL1151-1803	PL1145-1802	PL1145-1803
<b>PL-SAX 和 PL-SCX 方法开发色谱柱</b>					
4.6 x 250	30	PL1551-5702	PL1551-5703	PL1545-5702	PL1545-5703
4.6 x 250	10	PL1551-5102	PL1551-5103	PL1545-5102	PL1545-5103
4.6 x 150	30	PL1551-3702	PL1551-3703	PL1545-3702	PL1545-3703
4.6 x 150	10	PL1551-3102	PL1551-3103	PL1545-3102	PL1545-3103

**PL-SAX 和 PL-SCX 散装填料**

填料粒径 ( $\mu\text{m}$ )	单位	PL-SAX 1000Å	PL-SAX 4000Å	PL-SCX 1000Å	PL-SCX 4000Å
30	100 g	PL1451-4702	PL1451-4703	PL1445-4702	PL1445-4703
10	100 g	PL1451-4102	PL1451-4103	PL1445-4102	PL1445-4103

定制色谱柱和散装填料的订购。

如果您在以上表格中没有找到所需的孔径/填料粒径和色谱柱规格的组合或所需的散装填料量, 请联系您当地的安捷伦客户服务中心, 他们将帮助您进行定制订购。



VariTide RPC 柱

## 多肽纯化

VariTide 是针对合成多肽生产的高性价比分离解决方案。用该色谱柱可以经济而有效地纯化大量合成多肽产品，规模从  $\mu\text{g}$  级到  $\text{g}$  级。VariTide 为以生产时间为经济驱动力，生产成百上千种小量多肽的生产商提供解决方案。

### 适用于合成多肽分析的 VariTide RPC 柱

- 只需一根色谱柱即可涵盖整个合成多肽分子量范围
- 小粒径填料实现了最大的柱效率，甚至使用 1 英寸和 2 英寸制备柱也可获得高效率
- 散装填料填充的 1 英寸和 2 英寸制备柱，可以纯化毫克到克级的分析物

VariTide RPC 柱和填料都是 VariPep 多肽解决方案的一部分。这是使用通用方法对合成多肽进行高性价比分离和纯化的推荐选择。

### 适用于合成多肽分析的 VariTide RPC 柱

规格 (mm)	部件号
21.2 x 250	PL1E12-5A05
10.0 x 250	PL1012-5A05
4.6 x 250	PL1512-5A05

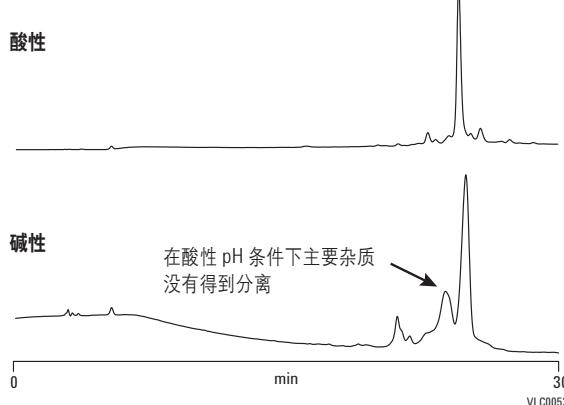
### VariTide RPC 散装填料

说明	部件号
100 g	PL1412-4A05
1 kg	PL1412-6A05

**粗肽筛查**

色谱柱: VariTide RPC  
PL1512-5A05  
4.6 x 250 mm

流动相:  
酸性  
A: 0.1% TFA 溶于水:ACN (95%:5%)  
B: 0.1% TFA 溶于水:ACN (95%:5%)  
碱性  
A: 5% ACN, 95% 20 mM 碳酸铵, pH 9.5  
B: 50% ACN, 50% 20 mM 碳酸铵, pH 9.5  
流速: 1.0 mL/min (360 cm/h)  
梯度: B 在 30 分钟内由 0 变至 100%  
检测器: UV, 220 nm

**VariPure IPE**

- 易于装填
- 可去除离子对试剂以提高分析效率
- 高性能、低成本，可达到最佳柱效

VariPure IPE 是带碳酸氢根反离子的聚合物支载季铵树脂，专为去除酸性离子对试剂如三氟乙酸 (TFA)、甲酸或乙酸而设计。VariPure IPE 是一种高性能的经济型酸性物质去除材料，可方便地装填于 SPE 类型的装置中。其粒径、容量和装置的形状相匹配，能在重力驱动的流速下提供足够有效提取离子对的停留时间。对于酸不稳定多肽，去除离子对试剂可以防止在 HPLC 柱后分析过程发生多肽的酸降解，提高纯化产物的产量。

**VariPure IPE**

上样量	反离子去除容量	单位	部件号
每 3 mL 管 100 mg	约 5 mL 0.1% TFA	50/包	PL3540-D603VP
每 6 mL 管 500 mg	约 25 mL 0.1% TFA	50/包	PL3540-C603VP
每 20 mL 管 1 g	约 50 mL 0.1% TFA	25/包	PL3540-P603VP
25 g			PL3549-3603VP



## Load & Lock 制备柱装柱系统

安捷伦提供品种齐全的轴向压缩柱和装柱机 (Load & Lock) 系统用于实验室制备液型相色谱柱的装填。其设计让您可以根据自己的需要轻松快速地装填制备型高效色谱柱。这一解决方案适用于药物化合物、多肽和天然产物的开发应用。我们的 Load & Lock 色谱柱具有独特的流体/样品分布系统，可实现生产率最大化。该系统可提供动态轴向压缩 (DAC) 装填方式和静态“锁定”轴向压缩 (SAC) 装填方式，旨在通过简单的操作提供更大的便利。

### 实验室 Load & Lock 柱

- 流动填充工作站支持三种不同柱规格
- 用压缩空气驱动，不需要电源
- 几分钟内快速而轻松地填充并取出

安捷伦实验室规模的 Load & Lock 色谱柱改善了流量分布，且具有良好的填充柱床稳定性，让您能够以最快的速度、最大的灵活性和操作简便性进行最高质量的纯化。支持三种不同内径规格的色谱柱：1 英寸、2 英寸和 3 英寸。该工作站由压缩空气驱动，是危险环境下的最佳解决方案。使用可快速释放的单螺栓夹，在几分钟内即可轻松完成装卸。

### Load & Lock 制备柱装柱系统

说明	水套	规格 (mm)	部件号
Load & Lock 4001 柱	无	27.0 x 500	PCG93LL500X25
	有	27.0 x 500	PCG93LL500X25WJ
	备件工具包		PCG931AAKIT
Load & Lock 4002 柱	无	50.0 x 500	PCG93LL500X50
	有	50.0 x 500	PCG93LL500X50WJ
	备件工具包		PCG932AAKIT
Load & Lock 4003 柱	无	75.0 x 500	PCG93LL500X75
	有	75.0 x 500	PCG93LL500X75WJ
	备件工具包		PCG933AAKIT
流动填充工作站 (空气驱动)			PCG93LLSTAND123

## Agilent Bio SEC

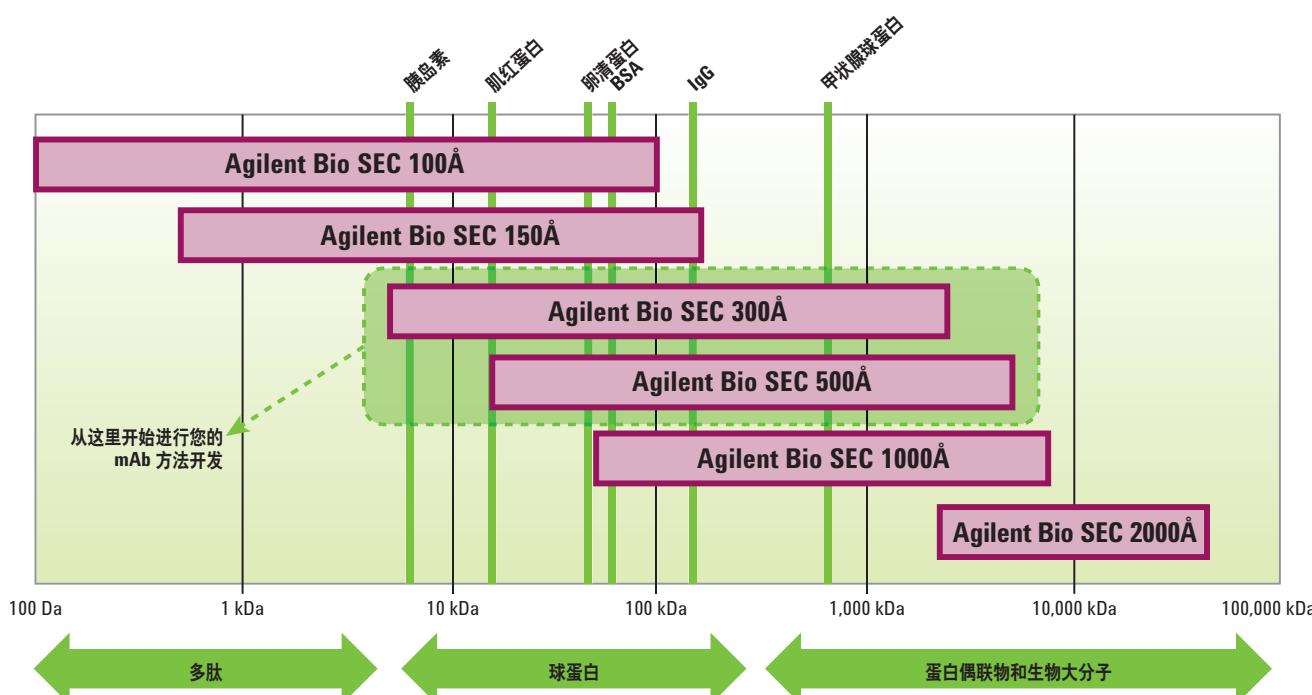
### 基于分子大小进行纯化

- 提供 6 种孔径，满足不同分子量生物药物分离需求
- 3 μm 或 5 μm 分析柱方法可用相同颗粒填料放大至制备级方法
- 亲水聚合物薄层可最大限度减少非特异性相互作用，从而提供良好的峰形并增加样品容量

硅胶基质填料具有优化的孔径和孔容量，可在 HPLC 的压力和流速条件下进行高分离度的分离。具有 100Å、150Å 和 300Å 孔径的 3 μm 填料可提供最高的实验室制备效率，5 μm 填料则为更大的生物分子和偶联物的分离提供多种孔径。

### 哪一种体积排阻色谱柱适合您的应用？

您可以基于分析物和方法参数，从安捷伦的多种体积排阻色谱柱中，选出可助您实现完美分离的产品。本图为您提供要获得常见分子类型的最佳分离结果所需的孔径范围概览。我们建议您使用 Agilent Bio SEC-3 和 Bio SEC-5 色谱柱进行初次方法开发。



**适用于多肽和蛋白质快速分离的 Agilent Bio SEC-3 HPLC 色谱柱**

规格 (mm)	填料粒径 ( $\mu\text{m}$ )	Bio SEC-3	Bio SEC-3	Bio SEC-3
		100Å USP L33	150Å USP L33	300Å USP L33
21.2 x 300	3	5190-6850	5190-6851	5190-6852
<b>制备保护柱</b>				
21.2 x 50	3	5190-6854	5190-6855	5190-6856

**Agilent Bio SEC-5 HPLC 色谱柱适用于基于尺寸的生物分子分离**

规格 (mm)	填料粒径 ( $\mu\text{m}$ )	Bio SEC-5	Bio SEC-5				
		100Å USP L33	150Å USP L33	300Å USP L33	500Å USP L33	1000Å USP L33	2000Å USP L33
21.2 x 300	5	5190-6863	5190-6864	5190-6865	5190-6866	5190-6867	5190-6868
<b>制备保护柱</b>							
21.2 x 50	5	5190-6869	5190-6870	5190-6871	5190-6872	5190-6873	5190-6874

# 卡套柱系统

## 卡套柱选择指南

标志*	柱芯类型	特点	优点
ZGC	ZORBAX 卡套型保护柱： 独立式	高效、独立、低死体积柱芯 设计独特的高聚物柱芯，在与金属表面连接时无渗漏 接头可重复使用	可在高达 400 bar 的压力下密封 无需密封垫 抗溶剂性强于 PEEK 适合连接 1/16 英寸 LC 接头
P	ZORBAX 半制备保护柱的 卡套： 独立式	简单、低死体积组件 设计独特的聚亚苯基砜管线，在与金属表面连接时无渗漏 接头可重复使用	可在高达 2000 psi (135 bar, 13.5 MPa) 的压力下密封 无需密封垫 适合连接 1/16 英寸 LC 接头
PI	ZORBAX 和 Agilent Prep 卡套型制备柱和保护柱： 独立式和内置式选件	简单、低死体积组件 接头可重复使用 用于内部和外部保护柱的硬件选件	柱寿命延长 可快速更换柱 可以与 21.2 mm 和 30 mm 内径柱一起使用
PL	聚合物型分析柱和保护 卡套柱	高效 低死体积 可重复使用的柱套	价格低廉 快速柱芯更换 延长柱寿命

\*查找这些图标，帮助您选择正确的保护卡套柱和色谱柱。

## 柱芯/保护柱芯系统兼容性指南\*

标志	柱型	保护卡套柱卡套	内径 (mm)	固定相
ZGC	标准接头	保护柱 (独立) 卡套 820999-901	2.1 3.0 4.6	ZORBAX
P	半制备柱	半制备保护柱 (独立) 卡套 840140-901	9.4	ZORBAX
PI	PrepHT	保护柱芯 820444-901	21.2	ZORBAX Agilent Prep
PL	分析柱	保护柱卡套 (PL1310-0016) 和 PLRP-S 保护柱芯, 2/包 (PL1612-1801)	3.0	PLRP-S
		保护柱卡套 (PL1310-0016) 和 PL-SAX 保护柱芯, 2/包 (PL1651-0102)	3.0	PL-SAX
		保护柱卡套 (PL1310-0016) 和 PL-SCX 保护柱芯, 2/包 (PL1645-0102)	3.0	PL-SCX

\*独立保护柱芯可用于安捷伦提供的所有卡套柱和标准接头柱。无图标的所有色谱柱均为标准接头柱。

# USP 指定产品 – 仅针对 BIOHPLC 柱

如需了解安捷伦的所有 USP 指定 HPLC 色谱柱产品列表, 请参考安捷伦产品目录或访问 [www.agilent.com](http://www.agilent.com)

美国药典 (USP) 中包含了许多药物分析的标准方法, 其中指定的色谱柱只是规定了填料类型而没有限制厂商。下列推荐的安捷伦科技液相柱适用于 USP 所列的大多数 LC 方法。

USP 方法	USP 填料	色谱柱	粒径 ( $\mu\text{m}$ )
L1	十八烷基硅烷化学键合到多孔硅胶或陶瓷微粒上, 直径 1.5 到 10 $\mu\text{m}$	Poroshell 120 EC-C18	2.7
		Poroshell 120 SB-C18	2.7
		ZORBAX 300SB-C18	1.8, 3.5, 5, 7
		ZORBAX 300 Extend C18	3.5, 5
L7	辛基硅烷化学键合到全多孔或表面多孔硅胶颗粒 (粒径 1.5 $\mu\text{m}$ 到 10 $\mu\text{m}$ ) , 或者硅胶基质的整体柱	Poroshell 120 EC-C8	2.7
		ZORBAX 300SB-C8	1.8, 3.5, 5, 7
		AdvanceBio RP-mAb SB-C8	3.5
L10	腈基化学键合到多孔硅胶颗粒上, 直径 3 到 10 $\mu\text{m}$	ZORBAX 300 SB-CN	3.5, 5, 7
L14	化学键合了强碱性季铵阴离子涂层的 10 $\mu\text{m}$ 硅胶颗粒	ZORBAX SAX	5
L17	由磺酸化交联苯乙烯-二乙烯基苯共聚物 (氢型) 组成的强阳离子交换树脂, 直径 7 到 11 $\mu\text{m}$	Hi-Plex H	8
		Bio SCX NP10	10
L21	实心球形苯乙烯-二乙烯基苯共聚物, 直径 5 到 10 $\mu\text{m}$	PLRP-S 100Å	3, 5, 8, 10
		PLRP-S 300Å	3, 5, 8, 10
		PLRP-S 1000Å	5, 8, 10
		PLRP-S 4000Å	5, 8, 10
L25	能分离分子量范围 1000 到 5000 Da 的化合物 (经聚氧化乙烯测定) 的填料, 适用于分离中性、离子化和阳离子型水溶性聚合物	PL aquagel-OH	5, 8
L26	丁基硅烷化学键合到全多孔或表面多孔硅胶颗粒, 粒径 1.5 到 10 $\mu\text{m}$	AdvanceBio RP-mAb C4	3.5
L33	能够分离分子量范围 4000 到 400000 Da 的蛋白质的填料。该填料为球形硅胶颗粒, 经处理后具有 pH 稳定性	ZORBAX GF-250	4
		Bio SEC-3	3
		Bio SEC-5	5
		ProSEC 300S	5
L35	带亲水 (二醇类) 分子单层键合相的锆稳定球形硅胶填料	ZORBAX GF-250	4
		ZORBAX GF-450	6
L50	由带丙烷磺酸基的多孔硅胶制成的强阳离子交换树脂, 直径 5 到 10 $\mu\text{m}$	ZORBAX 300SCX	5
L56	丙基硅烷化学键合到多孔硅胶颗粒上, 直径 3 到 10 $\mu\text{m}$	ZORBAX SB-C3	1.5, 3, 5
L68	直径 10 $\mu\text{m}$ 或以下的球形多孔硅胶, 表面经烷基酰胺基团共价键合改性, 未封端, 用于 AdvanceBio 糖谱分析色谱柱	AdvanceBio 糖谱分析	1.7

**BioHPLC 色谱柱文献**

标题	色谱柱/产品	应用	出版号	出版物类型
<b>参考文献</b>				
使用 Agilent AdvanceBio 反相色谱柱优化生物分子的表征	生物色谱柱	生物分子	5991-2032EN	白皮书
生物制药开发和 QA/QC 领域的安捷伦应用	生物色谱柱	生物分子分析	5991-1504CHCN	应用文集
Agilent SD-1 纯化系统	生物色谱柱	制备、半制备	5991-1394EN	产品样本
重组蛋白表征—基础导论	参考文献	蛋白质分析	5990-8561CHCN	基础导论
液相色谱手册：液相色谱柱和方法开发指南	参考文献	方法开发	5990-7595CHCN	基础导论
生物制药实验室法规认证—基础导论	参考文献	蛋白质	5990-7001CHCN	基础导论
安捷伦液相色谱柱选择指南	小分子色谱柱	很多	5990-4435CHCN	选择指南
Agilent BioHPLC 色谱柱全景浏览图—分析级生物分子的分离	生物色谱柱	生物分子	5990-5526CHCN	挂图
在方法开发过程中控制 pH 以获得更好的色谱条件	生物色谱柱	方法开发	5990-9984EN	技术概述
用于单克隆抗体表征的 Agilent BioHPLC 色谱柱	生物色谱柱	mAb	5990-7753EN	宣传彩页
无限卓越的生物分子分析	Agilent 1260 Infinity 生物惰性四元系统	蛋白质	5990-6220CHCN	产品样本
通过采用 Agilent 1260 Infinity 生物惰性四元液相色谱系统的肽谱分析、SEC 分析和 IEX 分析对药用蛋白质进行理化表征	Bio MAb、Bio SEC、ZORBAX Eclipse Plus、Poroshell 120	蛋白质分析	5990-6192CHCN	应用简报
快速安捷伦 HPLC 在生物大分子分离中的应用	PLRP-S、PL-SAX、PL-SCX	蛋白质	5990-8663EN	技术概述

(接转下页)



**BioHPLC 色谱柱文献**

标题	色谱柱/产品	应用	出版号	出版物类型
<b>亲和性 — Protein A</b>				
使用安捷伦 Bio-Monolith Protein A 色谱柱进行单克隆抗体滴度分析	Bio-Monolith Protein A	mAb	5991-5135EN	应用简报
使用 Agilent Bio-Monolith Protein A 色谱柱和 LC/MS 优化细胞培养	Bio-Monolith Protein A	mAb	5991-5125EN	应用简报
使用 Agilent Bio-Monolith Protein A 色谱柱和 LC/MS 进行细胞克隆选择	Bio-Monolith Protein A	mAb	5991-5124EN	应用简报
使用 Agilent Bio-Monolith Protein A HPLC 色谱柱降低人 IgG 定量分析的循环时间	Bio-Monolith Protein A	mAb	5991-4723EN	应用简报
采用 Agilent Bio-Monolith Protein A 色谱柱监测细胞培养液中的单克隆抗体滴度	Bio-Monolith Protein A	mAb	5991-2990CHCN	应用简报
用 Agilent Bio-Monolith Protein A HPLC 色谱柱快速定量人多克隆 IgG	Bio-Monolith	IgG	5989-9733CHCN	应用简报
<b>氨基酸分析</b>				
使用柱前衍生 HPLC 分离两种含硫氨基酸与其他 17 种氨基酸	Eclipse Plus-C18	氨基酸分析	5990-5977EN	应用简报
将 Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 色谱柱用于多种安捷伦液相色谱仪和多种分离目标的改良氨基酸分析方法	ZORBAX Eclipse Plus	氨基酸分析	5990-4547EN	应用简报
使用带自动衍生化的 HPLC 结合吸光度检测快速精确地测定细胞氨基酸流通率	ZORBAX Eclipse Plus	氨基酸分析	5990-3283EN	应用简报
使用 1.8 μm 反相 (RP) 色谱柱进行高速氨基酸分析 (AAA)	ZORBAX Eclipse Plus	氨基酸分析	5989-6297CHCN	应用简报
快速、准确、灵敏、重复的 HPLC 氨基酸分析方法	ZORBAX Eclipse AAA	氨基酸分析	5980-1193CHCN	应用简报
<b>HILIC — 糖谱分析</b>				
使用 UHPLC 和荧光检测对单克隆抗体和其他糖蛋白的 N-糖链进行分析	AdvanceBio 糖谱分析	mAb	5991-5253CHCN	应用简报
以更高的速度和分离度进行糖谱分析	AdvanceBio 糖谱分析	糖谱分析	5991-4730EN	宣传彩页
人免疫球蛋白 G 糖基化的高灵敏度高重现性分析	AdvanceBio 糖谱分析	糖谱分析	5991-4801EN	应用简报
采用新型 HILIC 色谱柱实现快速 N 连接糖基化分析	AdvanceBio 糖谱分析	糖谱分析	5991-4886CHCN	应用简报
使用快速高效的 HILIC 方法提高对复杂多糖结构的分析能力	AdvanceBio 糖谱分析	糖基化	5991-4896EN	应用简报
比较 HILIC-LC/MS 和 RP-LC/MS 对 IgG 糖肽的分离效果	AdvanceBio 糖谱分析、 AdvanceBio 肽谱分析	肽谱分析	5991-4903EN	应用简报

(接转下页)

**BioHPLC 色谱柱文献**

标题	色谱柱/产品	应用	出版号	出版物类型
<b>用于蛋白质和单克隆抗体分离的离子交换色谱柱 — Bio MAb、Bio IEX、Bio Monolith、PL-SAX 和 PL-SCX</b>				
使用阳离子交换色谱对单克隆抗体电荷异构体进行表征分析	Bio MAb	单克隆抗体分析	5991-5273EN	应用简报
使用阳离子交换色谱表征 Fab 和 Fc 片段	Bio MAb	单克隆抗体分析	5991-5274EN	应用简报
用安捷伦弱阳离子交换柱提高分离速度	Bio WCX	蛋白质分析	5990-9931EN	应用简报
利用安捷伦弱阳离子交换柱优化蛋白质分离	Bio WCX	蛋白质分析	5990-9628CHCN	应用简报
通过阴离子交换色谱法进行蛋白质分析	Bio WAX	蛋白质分析	5990-9614CHCN	应用简报
使用安捷伦 3 μm 阳离子交换色谱柱分离蛋白质标样	Bio WCX、Bio SCX、Bio MAb	蛋白质分析	5990-9270EN	应用简报
2AB 标记 N-连接糖链的电荷分析	Bio SAX	电荷异构体	5991-5221EN	应用简报
使用 DAD 和 Q-TOF LC/MS 通过 Agilent 1290 Infinity 2D-LC 解决方案进行自上而下和自下而上蛋白质组学分析	Bio SCX	蛋白质组学	5991-5179EN	应用简报
用离子交换色谱分析生物分子：操作指南	Bio IEX	生物分子	5991-3775EN	用户指南
通过阳离子交换色谱柱上的 pH 梯度分离来分析单克隆抗体的电荷异构体	Bio MAb	电荷异构体	5990-9940EN	技术海报
pH 梯度洗脱用于改善单克隆抗体电荷异构体的分离	Bio MAb	电荷异构体	5990-9629CHCN	应用简报
采用 Agilent Bio MAb NP5 色谱柱分析完整和羧基末端消解的 IgG1	Bio MAb	mAb	5991-0895CHCN	应用简报
使用 pH 梯度阳离子交换色谱对单克隆抗体进行高分离度电荷异性质分析	Bio MAb	电荷异构体	5991-1407EN	应用简报
满怀信心地快速表征蛋白质电荷异构体	所有 IEX 色谱柱	电荷异构体	5991-2449CHCN	产品样本
利用安捷伦弱阳离子交换柱优化蛋白质分离	Bio MAb	蛋白质分离	5991-0565CHCN	技术概述
降低单克隆抗体电荷异构体分析的循环时间	Bio MAb	电荷异构体	5991-4722EN	应用简报
优化弱阳离子交换柱的蛋白分离 — 粒径、缓冲盐和梯度的研究	Bio IEX	mAb	5990-8833EN	技术海报
用于蛋白质分离的安捷伦阴离子交换填料 — 上样量 vs 分离度 — 流速的影响及蛋白质分离实例	PL-SAX	蛋白质	5990-8777EN	技术概述
适用于生物大分子分析的 Agilent PL-SCX 阳离子交换填料	PL-SCX	蛋白质	5990-8665EN	技术概述

(接转下页)

**BioHPLC 色谱柱文献**

标题	色谱柱/产品	应用	出版号	出版物类型
<b>用于蛋白质和单克隆抗体分离的离子交换色谱柱 — Bio MAb、Bio IEX、Bio Monolith、PL-SAX 和 PL-SCX</b>				
用于淀粉葡萄糖苷酶纯化和分析的安捷伦 PL-SAX 阴离子交换填料	PL-SAX	蛋白质纯化	5990-8664EN	技术概述
亲和分离后的纯度评价	PL-SAX	蛋白质	5990-8436EN	技术概述
通过 Bio-Monolith 阴离子交换 HPLC 色谱柱对 5 型腺病毒颗粒进行快速分析，用以支持高滴度生产平台的开发	Bio-Monolith QA	腺病毒	5990-5524CHCN	应用简报
用 Agilent Bio-Monolith QA 柱快速测定细胞培养液中的 IgM 并监测纯化过程	Bio-Monolith QA	IgM	5989-9674CHCN	应用简报
用于蛋白质分离的安捷伦阴离子交换填料	PL-SAX	蛋白质分析	5990-8778EN	技术概述
用 Agilent Bio-Monolith HPLC 色谱柱快速监测发酵过程中的噬菌体生产	Bio-Monolith	噬菌体生产，过程监测	5990-3247CHCN	应用简报
<b>用于寡核苷酸分析的 IEX</b>				
使用 PL-SAX 强阴离子交换 HPLC 色谱柱对寡核苷酸进行高分离度分离	PL-SAX	寡核苷酸	5990-8297EN	应用简报
Agilent PL-SAX 1000Å HPLC 色谱柱和填料	PL-SAX	分析/制备 - 寡核苷酸	5990-8200EN	宣传彩页
极性改性固定相是核苷酸分析的理想选择	PL-SAX、Pursuit XRs Ultra、Pursuit PFP、Polaris C18-A	寡核苷酸	5991-2058EN	应用简报
Agilent TOP-DNA 和 TOP-RNA	TOP-RNA	寡核苷酸	5990-9007EN	宣传彩页
用于核苷酸和寡核苷酸分析的 Agilent PL-SAX 阴离子交换填料	PL-SAX	寡核苷酸	5990-8779EN	技术概述
<b>反相色谱 — AdvanceBio RP-mAb、Poroshell 300 和 ZORBAX 300</b>				
更快更好地分离 mAb	AdvanceBio RP-mAb	mAb	5991-5160CHCN	产品样本
质量源于设计方法在利拉利汀药品稳定性方法开发中的应用	ZORBAX RRHD、PLRP-S	药物开发	5991-3834EN	应用简报
在 Agilent 6490 LC/MS 系统上进行标准化 MRM 定量血浆蛋白质组学工作流程的应用套装	ZORBAX RRHD	蛋白质组学	5990-3601EN	应用简报
使用 ZORBAX RRHD 亚 2 µm C3、C8 和二苯基等不同选择性色谱柱快速分离还原态单克隆抗体的 UHPLC 方法优化	ZORBAX RRHD	mAb	5991-0009EN	技术海报
使用 ZORBAX RRHD 300Å、1.8 µm 色谱柱通过超快速反相 UHPLC 分离对完整单克隆抗体和还原单克隆抗体进行高分离度分析	ZORBAX RRHD	mAb	5991-0008EN	技术海报
对治疗性重组单克隆抗体 Fc 区中的糖基化进行表征	Poroshell 300	mAb	5991-2323EN	应用简报

(接转下页)

**BioHPLC 色谱柱文献**

标题	色谱柱/产品	应用	出版号	出版物类型
<b>反相色谱 — AdvanceBio RP-mAb、Poroshell 300 和 ZORBAX 300</b>				
使用 Agilent 6550 Q-TOF 质谱仪进行完整蛋白分析	Poroshell 300、ZORBAX RRHD	mAb	5991-2116EN	应用简报
使用反相 HPLC/UHPLC 进行蛋白质鉴定和杂质分析	所有 RPLC	蛋白质分析	5991-0625CHCN	产品样本
应用 Agilent MassHunter Easy Access 软件对模式治疗性蛋白进行批次间纯化分析	Poroshell 300	蛋白质纯化	5991-3521CHCN	应用简报
使用 Agilent 1290 Infinity LC 系统及 Agilent 6530 精确质量四极杆飞行时间 (Q-TOF) 质谱分析单克隆抗体 (mAb)	Poroshell 300	mAb	5991-4266EN	应用简报
利用 Agilent 1260 Infinity 生物惰性液相色谱系统及 Agilent ZORBAX RRHD Diphenyl 亚 2 μm 色谱柱分析 IgG1 中的二硫键	ZORBAX RRHD	mAb	5991-1694CHCN	应用简报
用 Agilent ZORBAX RRHD 300SB-C8 色谱柱对完整单克隆抗体 (MAb) 进行反相分离	ZORBAX RRHD 300SB-C8	mAb	5990-9016CHCN	应用简报
使用大孔亚 2 μm 颗粒和 UHPLC 分析蛋白质一级结构	ZORBAX RRHD 300SB-C18	纯化/制备	5990-8830EN	技术海报
使用 Agilent ZORBAX RRHD 300SB-C18 分析胰酶消化单克隆抗体和 BSA	ZORBAX RRHD 300SB-C18	肽谱分析	5990-8244EN	应用简报
使用 Agilent ZORBAX RRHD 300Å 1.8 μm 色谱柱提高分析效率	ZORBAX RRHD 300SB-C18、C8	蛋白质、多肽	5990-8124CHCN	宣传彩页
用于蛋白质分析的安捷伦 ZORBAX 300SB-C18 1.8 μm 超高压快速高分离度色谱柱	ZORBAX 300SB-C18	蛋白质分析	5990-7989EN	技术概述
用反相 Agilent ZORBAX RRHD 300SB-C18 色谱柱分析氧化胰岛素链	ZORBAX RRHD 300SB-C18	蛋白质分析	5990-7988EN	应用简报
使用亚 2 μm 色谱柱进行高分离度的快速肽谱分析	ZORBAX 300SB-C18	肽谱分析	5990-4712EN	应用简报
用 Agilent Poroshell 300 柱快速分离蛋白质	Poroshell 300	蛋白质分离	5989-9899EN	应用简报
不同 ZORBAX StableBond 300 Å LC 色谱柱优化抗体 HPLC 和 LC/MS 分离选择性的比较	ZORBAX 300SB	mAb	5989-6840EN	应用简报
利用 ZORBAX Poroshell 300Extend-C18 色谱柱的高 pH 稳定性提高液质联用分析时的信噪比	Poroshell 300Extend-C18	优化仪器性能	5989-0683EN	应用简报
用 Poroshell 300SB-C18、C8 和 C3 色谱柱对人单克隆抗体 IgG 进行高速和超高速肽谱分析	Poroshell 300	mAb	5989-0590EN	应用简报
利用温度提高 ZORBAX Poroshell 300SB-C8 HPLC 柱用于蛋白质超快速液相色谱分离时的分离度	Poroshell 300-C8	蛋白质分离	5989-0589EN	应用简报

(接转下页)

**BioHPLC 色谱柱文献**

标题	色谱柱/产品	应用	出版号	出版物类型
<b>反相色谱 — AdvanceBio RP-mAb、Poroshell 300 和 ZORBAX 300</b>				
单克隆抗体快速分离中 ZORBAX Poroshell 固定相 (C3、C8 或 C18) 的选择	Poroshell 300	mAb	5989-0071EN	应用简报
采用 ZORBAX Poroshell 300SB-C8 色谱柱进行单克隆抗体 IgG1 重链的快速 HPLC 分析	Poroshell 300	mAb	5989-0070EN	应用简报
使用 ZORBAX Poroshell C18、C8 和 C3 固定相快速分离大分子蛋白和异质性蛋白	Poroshell 300	蛋白质分离	5989-0015EN	应用简报
优化 Agilent 1100 HPLC 系统以获得卓越的 ZORBAX Poroshell 色谱柱分析结果	Poroshell 300	蛋白质分析	5988-9998EN	应用简报
使用 Poroshell 300SB-C18 色谱柱在安捷伦 LC/MSD 上实现高灵敏度和高通量蛋白质分析	Poroshell 300-C18	蛋白质分析	5988-7031EN	应用简报
使用 Poroshell 300SB-C18 色谱柱缩短蛋白质消化物的分析时间	Poroshell 300	肽谱分析	5988-6081EN	应用简报
Poroshell 300SB-C18 用于蛋白样品的快速高分辨分离分析	Poroshell 300	蛋白质	5988-2100ENUS	产品样本
将胰岛素分析的 CHP 方法转换为使用 Agilent Poroshell 120 色谱柱的方法	Poroshell 120、Eclipse Plus	胰岛素	5990-9029CHCN	应用简报
硅胶孔径和粒径对蛋白小分子胰岛素分离的影响	Poroshell 120、Eclipse Plus、ZORBAX 300SB	胰岛素	5990-9028CHCN	应用简报
用 Agilent ZORBAX RRHD 300SB-C8 色谱柱对完整单克隆抗体 (mAb) 进行反相分离	ZORBAX RRHD 300SB-C8	mAb	5990-9016CHCN	应用简报
使用大孔亚 2 μm 颗粒和 UHPLC 分析蛋白质一级结构	ZORBAX RRHD 300SB-C18	纯化/制备	5990-8830EN	技术海报
<b>反相色谱 — 用于蛋白质和多肽分析的 PLRP-S</b>				
用于多肽 HPLC 分析的 Agilent PLRP-S 填料	PLRP-S	多肽	5990-8667EN	技术概述
用安捷伦微径聚合物型 HPLC 色谱柱提高灵敏度	PLRP-S (微径柱)	多肽类激素、小分子蛋白、小分子	5990-8666EN	技术概述
高分子量纤维状蛋白的分离	PLRP-S	蛋白质分离	5990-8137EN	应用简报
ACP 片段的无乙腈 HPLC 分析和制备级纯化	PLRP-S	蛋白质纯化	5990-7762EN	应用简报
采用PLRP-S 100Å 10 μm 色谱柱和 ELS 检测以及无乙腈洗脱分析多肽	PLRP-S	多肽	5990-7760EN	应用简报
通过浓度超载对达菲林进行制备规模纯化	PLRP-S	多肽纯化	5990-7742EN	应用简报
通过体积超载对缓激肽进行制备规模纯化	PLRP-S	多肽纯化	5990-7741EN	应用简报
多肽分析中乙腈替代物的研究	PLRP-S	多肽	5990-7740EN	应用简报

(接转下页)

**BioHPLC 色谱柱文献**

标题	色谱柱/产品	应用	出版号	出版物类型
<b>反相色谱 — 用于蛋白质和多肽分析的 PLRP-S</b>				
合成酰基载体蛋白片段 65-74 的梯度纯化	PLRP-S	蛋白质	5990-7738EN	应用简报
合成酰基载体蛋白片段 65-74 的等度纯化	PLRP-S	蛋白质纯化	5990-7737EN	应用简报
通过浓度超载对缓激肽进行制备规模纯化	PLRP-S	多肽纯化	5990-7736EN	应用简报
通过浓度超载对亮丙瑞林进行制备规模纯化	PLRP-S	多肽纯化	5990-7735EN	应用简报
PLRP-S 聚合物填料的优势	PLRP-S	多肽	5990-8435EN	技术概述
<b>反相色谱 — 寡核苷酸、PLRP-S</b>				
Agilent PLRP-S 50 μm HPLC 填料	PLRP-S	寡核苷酸、多肽、小分子激素	5990-8188EN	宣传彩页
Agilent PLRP-S 100 Å HPLC 色谱柱和填料	PLRP-S	寡核苷酸	5990-8187EN	宣传彩页
通过改变温度来增强寡核苷酸传质并改善离子对反相 HPLC 的分离度	PLRP-S	寡核苷酸	5990-7765EN	应用简报
将热稳定聚合物型色谱柱用于寡核苷酸离子对的反相 HPLC 分析，从而延长色谱柱寿命	PLRP-S	寡核苷酸	5990-7764EN	应用简报
脱保护寡核苷酸的离子对反相纯化 — 孔径的选择	PLRP-S	寡核苷酸	5990-7763EN	应用简报
基因表达双标签 26-bp 系列分析的 HPLC 纯化	PLRP-S	寡核苷酸	5990-7739EN	应用简报
采用 Agilent TOP-DNA 进行高性能 DNA 寡核苷酸纯化	PLRP-S、TOP-DNA	寡核苷酸	5990-9006EN	应用简报
采用 Agilent TOP-RNA 进行的高性能 RNA 寡核苷酸纯化	PLRP-S、TOP-RNA	寡核苷酸	5990-8974EN	应用简报
<b>反相色谱 — mRP</b>				
利用 HPLC 及 Q-TOF 质谱仪分析聚乙二醇 (PEG) 及单、二-PEG 化的治疗性蛋白	mRP-C18	生物制剂	5991-1509CHCN	应用简报
安捷伦蛋白去除系统和蛋白质组学试剂	mRP-C18、MARS	蛋白质组学	5990-8868EN	产品说明
大孔径反相 C18 高蛋白回收 HPLC 色谱柱	mRP-C18	人血清，生物标志物	5989-2714EN	产品样本

(接转下页)

**BioHPLC 色谱柱文献**

标题	色谱柱/产品	应用	出版号	出版物类型
<b>反相色谱 — 肽谱分析</b>				
最优化肽段表征的关键：肽谱分析指南	AdvanceBio 肽谱分析、MARS、Bio SEC、ZORBAX RRHD、Polaris	多肽表征	5991-2348CHCN	用户指南
缩短肽谱分析时间但不减损分离度	AdvanceBio 肽谱分析	肽谱分析	5991-1696EN	宣传彩页
使用 Agilent 1290 Infinity UHPLC 和 Agilent 6550 iFunnel Q-TOF LC/MS 系统对单克隆抗体进行高分离度的快速肽谱分析	AdvanceBio 肽谱分析	mAb	5991-3600EN	应用简报
快速高效的单克隆抗体 (mAb) 肽谱分析：UHPLC 性能与表面多孔颗粒相结合	AdvanceBio 肽谱分析	mAb	5991-3585CHCN	应用简报
使用 Agilent 1260 Infinity 生物惰性液相色谱系统和安捷伦 OpenLAB Match Compare 软件比较单克隆抗体药物利妥昔单抗的生物类似药和原创药	AdvanceBio 肽谱分析、Poroshell 120、Bio SEC	mAb	5991-4920EN	应用简报
自动化液质联用样品前处理：通过安捷伦 AssayMAP Bravo 平台实现高通量溶液内酶解和多肽纯化	AdvanceBio 肽谱分析、AssayMAP Bravo	蛋白质样品制备	5991-2957CHCN	应用简报
自动化液质联用工作流程：采用 AssayMAP 技术进行溶液内蛋白酶解、肽段纯化以及肽段的强阳离子交换分馏	AdvanceBio 肽谱分析、AssayMAP Bravo	蛋白质样品制备	5991-3602CHCN	应用简报
使用 Agilent AssayMAP Bravo 平台进行自动样品制备，实现生物治疗蛋白质准确、可扩展的定量和表征分析	AdvanceBio 肽谱分析、AssayMAP Bravo	蛋白质样品制备	5991-4872EN	应用简报
<b>体积排阻色谱 — Bio SEC、ProSEC</b>				
快速可靠地分离蛋白质聚集体和降解产物	SEC 色谱柱	蛋白质分析	5991-2898CHCN	产品样本
用于生物分子分析的体积排阻色谱：操作指南	所有 SEC	生物分子表征	5991-3651CHCN	用户指南
生物治疗药物的分子表征	Bio SEC	mAb	5991-5220EN	应用简报
使用 Agilent 1260 Infinity 多检测器 Bio-SEC 解决方案和先进的光散射检测方法测定蛋白质的分子量和分子大小	Bio SEC	蛋白质表征	5991-3955EN	应用简报
使用 Agilent 1260 Infinity 多检测器 Bio-SEC 解决方案和先进的光散射检测方法对单克隆抗体的聚集体进行详细的表征分析	Bio SEC	mAb	5991-3954EN	应用简报

(接转下页)

**BioHPLC 色谱柱文献**

标题	色谱柱/产品	应用	出版号	出版物类型
<b>体积排阻色谱 — Bio SEC、ProSEC</b>				
吐温 20 是否会影响单克隆抗体分离?	Bio SEC	mAb	5991-2793EN	应用简报
为 Agilent Bio SEC-3 色谱柱选择适合的校准	Bio SEC	生物分子表征	5991-2463EN	应用简报
通过体积排阻色谱和多检测器方法分析蛋白质聚集	Bio SEC	蛋白质聚集	5991-1400EN	应用简报
为生物样品过滤选择最佳的过滤器	Bio SEC、ZORBAX RRHD	生物分子分析	5991-1308EN	应用简报
单克隆抗体高分离度分离和定量 SEC 方法的开发和部分验证	Bio SEC	mAb	5991-0835CHCN	应用简报
如何根据蛋白质大小进行分离	Bio SEC	蛋白质表征	5990-9944EN	技术海报
Agilent Bio SEC 柱用于生物分子表征的孔径优化	Bio SEC	生物分子表征	5990-9894CHCN	应用简报
采用 Agilent Bio SEC-3 色谱柱分离重组人促红细胞生成素 (rEPO)	Bio SEC	生物治疗药物分离	5990-9544CHCN	应用简报
PEG 溶菌酶的 N 端定点聚乙二醇化修饰和分析型纯化	Bio SEC、Poroshell 120	蛋白质纯化	5991-2883EN	应用简报
聚乙二醇/聚氧化乙烯标准品及 Agilent ProSEC 300S 柱的校正	ProSEC 300S	蛋白质分析	5990-8147EN	应用简报
使用 Agilent 1260 Infinity 多检测器 GPC/SEC 系统精确测定蛋白质分子量	Bio SEC	蛋白质分析	5991-2884EN	应用简报
蛋白质高效体积分离的最佳参数优化	Bio SEC	蛋白质	5990-8895EN	应用简报
蛋白质高效体积分离的最佳参数优化	Bio SEC	蛋白质	5990-8832EN	技术海报
使用 Agilent Bio SEC 对单克隆抗体和二聚体进行快速 SEC 分离	Bio SEC	mAb	5990-8613EN	应用简报
聚乙二醇/聚氧化乙烯标准品及 Agilent ProSEC 300S 柱的校正	ProSEC 300S	SEC	5990-8147EN	应用简报
用体积排阻色谱 (SEC) 分析复杂的细菌细胞分裂蛋白质	ProSEC 300S	蛋白质分析	5990-8143EN	应用简报
使用体积排阻色谱 (SEC) 分析 Hsp47 (一种骨胶原伴侣蛋白)	ProSEC 300S	蛋白质分析	5990-8142EN	应用简报
球蛋白在尿素中的逐渐变性	ProSEC 300S	蛋白质	5990-8141EN	应用简报
温度对蛋白质体积排阻色谱的影响	ProSEC 300S	蛋白质分离	5990-8140EN	应用简报

(接转下页)

**BioHPLC 色谱柱文献**

标题	色谱柱/产品	应用	出版号	出版物类型
<b>体积排阻色谱 — Bio SEC、ProSEC</b>				
NaCl 浓度对蛋白质体积排阻色谱的影响	ProSEC 300S	蛋白质分离	5990-8139EN	应用简报
pH 对蛋白质体积排阻色谱的影响	ProSEC 300S	蛋白质分析	5990-8138EN	应用简报
用安捷伦 ProSEC 300S 柱对球蛋白进行静态光散射分析	ProSEC 300S	蛋白质	5990-7939EN	应用简报
用 ProSEC 300S 柱分析白蛋白	ProSEC 300S	蛋白质分析	5990-7852EN	应用简报
用 ProSEC 300S 柱分析球蛋白	ProSEC 300S	蛋白质分析	5990-7851EN	应用简报
用 ProSEC 300S 柱分析各种球蛋白	ProSEC 300S	蛋白质分析	5990-7850EN	应用简报
球蛋白和 ProSEC 300S 色谱柱的校正	ProSEC 300S	蛋白质分析	5990-7767EN	应用简报
用 ProSEC 300S 柱进行 BSA 的光散射分析	ProSEC 300S	蛋白质分析	5990-7766EN	应用简报
ProSEC 300S 蛋白质表征色谱柱	ProSEC 300S	蛋白质	5990-7468EN	宣传彩页
使用 Agilent 1260 Infinity 生物惰性四元液相色谱和 Agilent BioSEC 色谱柱，通过体积排阻色谱法对单克隆抗体进行表征	Bio SEC	mAb	5990-6414CHCN	应用简报
<b>其他</b>				
减小管路体积以优化色谱柱性能	小内径色谱柱	优化仪器性能	5990-4964CHCN	应用简报
生物分子纯化 — 多肽、寡核苷酸和蛋白质纯化柱和填料	PLRP-S、PL-SAX、PL-SCX	纯化/制备	5990-8335EN	产品样本
高纯度、高回收率、高通量 — 安捷伦科技公司提供两种新型制备 HPLC 柱系列产品	Agilent Prep HT	纯化/制备	5989-2350EN	产品样本

**提示与工具**

有关上述内容的详细信息，以及其他有助于您的表征分析的指南，请访问：  
[www.agilent.com/chem/getbioguides](http://www.agilent.com/chem/getbioguides)



# BIOPHARM 定义

## A

---

### **α 螺旋**

蛋白质二级结构的弯曲或螺旋单元。

### **ADC**

抗体药物偶联物是将抗体与具有生物活性的抗癌药物偶联在一起的复杂分子。

### **ADME**

吸收、分布、代谢和排泄 (ADME) 描述了药物经过生物体时生物体可能对其造成影响的各个过程。

### **API**

活性药物成分 (API)。请参阅原料药物。

### **氨基酸**

可相互结合构成生命体中的蛋白质的一类物质，其总共包含 20 种天然存在的碳氢化合物分子。包括丙氨酸 (A)、天门冬氨酸或天门冬酰胺 (B)、半胱氨酸 (C)、谷氨酸 (Z) 或谷氨酰胺 (Q)、苯丙氨酸 (P)、甘氨酸 (G)、组氨酸 (H)、异亮氨酸 (I)、赖氨酸 (K)、亮氨酸 (L)、蛋氨酸 (M)、脯氨酸 (P)、精氨酸 (R)、丝氨酸 (S)、苏氨酸 (T)、缬氨酸 (V)、色氨酸 (W) 和酪氨酸 (Y)。（这些称为基础氨基酸，除此之外的其他氨基酸均通过合成得到并且用于药物化学领域）。它们由转运 RNA 转运并根据基因编码组成蛋白质。

## B

---

### **β 折叠**

风琴状规则的多肽链折叠形成的结构，是 α 融合的主要替代。

### **BLA**

生物制剂许可申请：在美国销售生物制品必须进行的上市申请。大多数生物技术药物都要通过 BLA（而非 NDA）批准，但是某些生物制剂，如结构较简单并得到良好表征的重组胰岛素和人生长激素是通过 NDA 批准的。

### **白蛋白**

构成血浆和血清的蛋白质成分，在肌肉、蛋清和牛奶中也存在。

### **变化控制**

记录并批准设备、仪器和过程变化的系统。变化控制系统确保所有改变在实施之前都经过评估和批准，并保持设备、仪器和方法处于经过验证的状态。

### **变性（状态）**

蛋白质去折叠或其多肽链排列无序的状态，致使分子溶解性降低，且通常失去功能。

### **变性（行为）**

使蛋白质去折叠或分散，改变其正常的三维结构。通过化学作用、加热，甚至搅拌蛋白质溶液，都可以使蛋白质变性。

### **变性蛋白质**

去折叠或肽链错误折叠的蛋白质，其分子溶解度降低，而且通常失去功能。有时，变性蛋白可以再折叠（复性）。

## 表达

将保存在细胞 DNA（基因）中的遗传信息翻译成特定蛋白质的过程。

## 表达系统

宿主生物体与携带目标基因的基因载体（如病毒或称为质粒的环状 DNA 分子）相结合。表达系统提供合适的遗传环境，使载体中的靶基因能够正常表达，即生成目标蛋白质。

## 表达载体

能够将外来基因导入宿主，并使该重组生物体表达目标蛋白质的病毒、质粒、粘粒或人工染色体。

## 表征

精确解析和描述目标实体的性质（对于分子实体研究其理化性质，对于细胞系研究其遗传性和稳定性）。

## 病毒

最简单的生命形式：包裹在蛋白外壳中的 RNA 或 DNA，有时会通过注射的方式将其遗传物质导入宿主体内（感染）。病毒自身无法复制，必须借助宿主（细菌、植物或动物）的帮助。病毒感染常常抑制宿主细胞正常的合成功能，从而可能引起疾病（已知有 200 多种病毒可以引发人类疾病）。单个病毒颗粒称为病毒体，不同的病毒体结构、复杂性和尺寸差异很大（直径从 20-25 nm 或更小到 2000 nm 以上）。根据遗传物质为单链还是双链、DNA 还是 RNA、阳性还是阴性，可将病毒分为 6 类。

## C

### CBER

美国 FDA 生物制剂评价和研究中心。CBER 对疫苗、基因疗法、细胞产品、变态反应原萃取物、抗毒素、抗蛇毒素、蛇毒、血液和血液制品（凝血因子和血浆衍生产品）进行规范管理。

### CDER

药物评价和研究中心。CDER 是 FDA 的六个中心中最大的一个，负责管理处方药和非处方药，以及体内使用的治疗性蛋白质和单克隆抗体。

### cGMP

现行药品生产质量管理规范，请参阅 GMP。

## D

## DNA

脱氧核糖核酸是由脱氧核糖（一种糖）和核苷酸 G、A、T 和 C 组成的核酸。双链 DNA 具有螺旋阶梯结构（双螺旋结构），是染色体的主要成分，因此染色体携带了生命的遗传特征。请参阅核苷酸和核酸。

## 大分子药物

蛋白质治疗制剂的另一个名称。大分子药物的体积大，无法进入细胞。

## 代谢组

指生物样品或生物体中发现的全部小分子代谢物（例如代谢中间体、激素、其他信号分子以及次级代谢产物）。

## 代谢组学

对代谢组的研究。

## 蛋白酶

可以裂解蛋白质分子中连接氨基酸的肽键的酶，根据活性位点最重要的功能分子基团（如丝氨酸或半胱氨酸）进行分类。

## 蛋白质

结构由生物体 DNA 编码的复杂有机大分子。每个蛋白质分子都是由 40 个以上氨基酸通过肽键连接而成的长链，并以其特有的方式进行折叠。它们是所有细胞原生质（活细胞的全部成分）的基本组分。每种蛋白质都具有其独特的、由基因定义的氨基酸序列，决定了其特殊的形状和功能（如酶、结构元件、激素和免疫球蛋白，参与氧运输、肌肉收缩或电子传输）。

## 蛋白质水解

用蛋白酶（能识别并切割特定肽键的酶）或其他方法分离（裂解）蛋白质中的肽键。

## 蛋白质异构体

具有相同氨基酸序列，但折叠方式不同，或带有不同糖基侧链的蛋白质。必须将它们与治疗性蛋白质分开。

## 蛋白质治疗制剂

请参阅大分子药物。

## 蛋白质组

生物体中的全部蛋白质。

## 蛋白质组学

针对蛋白质结构和功能的大规模研究。

## 多聚体

生物药物中的任何小聚合物，通常是由一条以上的多肽链组成的蛋白质。

## 多克隆抗体

能识别同一抗原上不同抗原表位的多种抗体混合物；每种抗体由不同的 B 细胞产生。

## 多肽

由 40 个以下氨基酸组成的蛋白质。

E

---

## *E. coli*

大肠杆菌是基因学家们研究最为广泛的一种常见肠道细菌，其具有基因组小、通常无致病性且非常容易在实验室培养的特点。

## 二级结构

在蛋白质中，分子相邻部分之间形成氢键时所产生的折叠、扭曲、盘卷，甚至弹簧链等结构，如  $\alpha$  螺旋或  $\beta$  折叠。

## 二聚体

由两个相同分子组成的聚合物。三个分子连接在一起形成的聚合物称为三聚体。更大的聚合物一般通过在其数目后加“-mer”后缀来命名。例如 4-mer、5-mer、6-mer 等等。

## 二硫键

蛋白质中不同半胱氨酸的硫原子之间形成的共价键，这些化学键（链接，桥接）有助于将蛋白质链拢在一起形成三维立体结构。

**F****F(ab)'2**

免疫球蛋白上的双抗原结合片段。IgG F(ab)'2 通过酶裂解完整 IgG，去除该分子上的 Fc 部分制得。每摩尔 F(ab)'2 可结合 2 摩尔抗原。请参阅 Fab。

**Fab**

免疫球蛋白上的抗原结合片段。IgG 的 Fab 片段通过酶解完整的四聚体 IgG 后还原其链间二硫键得到。每摩尔 Fab 片段可以结合 1 摩尔抗原。请参阅 F(ab)'2。

**FAb**

抗原片段结合位点。抗体是 Y 形分子。Y 的两“臂”是结合抗原的 FAb 段（抗原片段结合位点）；Y 的柄部为 Fc 段，用于吸引微生物吞噬细胞以消灭与其结合的抗原。如果能够确定抗体的活性部位，有时只需要这些活性部分作为治疗分子（缩小抗体以利于生产，并削弱患者在接受该药物治疗时的有害免疫应答）。该片段可以结合在另一个分子上（如 PEG），以起到稳定等作用。

**Fc**

免疫球蛋白分子中执行效应器功能（如结合补体的能力）的部分。对于免疫活性非常重要，可以通过酶或化学裂解与抗原结合部分分离开来。请参阅 Fab。

**FDA**

美国食品药品监督管理局。

**翻译**

RNA 将 DNA 信息传递到蛋白质的过程决定了多肽（蛋白质）链的氨基酸序列。

**翻译后修饰**

DNA 序列翻译结束后，合成的蛋白质上可进一步添加糖基（糖基化）或进行其他分子修饰。这一过程是蛋白质于核糖体合成完毕后在高尔基体中进行的。

**赋形剂**

药品中使用的一种原材料，与病人直接接触，包括惰性材料（如填充剂）、稳定剂、防腐剂、盐、溶剂或水。必须对赋形剂进行动物安全性评价，除非其已得到 GRAS 批准，或在已批准赋形剂列表中。

**G****GLP**

药物非临床研究质量管理规范。依据 21 CFR Part 58 要求，确保与安全相关的非临床实验室研究质量的规范。所有活动均被记录，经过培训的员工只执行规定的操作规程，并保存所有记录和样品。

**GMO**

转基因生物 (GMO) 是指 DNA 已通过基因工程技术进行了修改的生物。

**GMP**

药品生产质量管理规范。根据 21 CFR Parts 210、211、600、610 和 820（医疗器械），现行药品生产质量管理规范 (cGMP) 影响着生物制药产品和其他药品及医疗器械产品生产的方式。必须遵循标准操作规程，方法必须经过验证，仪器必须进行认证，必须由受过正规培训的员工在洁净/无菌的环境中进行操作。

**GRAS**

“公认安全”是美国 FDA 定义的一个概念，指添加进食品的化学制品或物质经专家认定为安全，因此可不受制于常规的联邦食品、药品和化妆品法案 (FFDCA) 中食品添加剂的限量要求。

**改良型生物相似药**

与原创药在结构、形态和功能上有显著不同的生物药物。

**高尔基体**

一种由双层膜构成的细胞器，蛋白质在其中进行翻译后修饰，也称高尔基体。

**高通量筛选**

HTS 是针对大量化学品或物质进行的自动化反复测试，一般通过机器人技术实现。

**光散射分析**

根据待测分子如何散射紫外线和可见光，得到分子大小和形状信息的分析方法。

**H****核苷酸**

由富氮碱基、磷酸和糖组成的分子。碱基包括腺嘌呤 (A)、胞嘧啶 (C)、鸟嘌呤 (G)、胸腺嘧啶 (T) 和尿嘧啶 (U)。

**核酸**

DNA 或 RNA：由核苷酸组成的链状分子。

**候选药物**

治疗潜能正在测试中的小分子或生物制剂。

**J****基因**

由 DNA 序列组成的遗传单元，在基因组中占据特定的位置。现在已发现的基因分为三类：编码特定蛋白质的结构基因；控制其他基因表达的调节基因；以及编码转运 RNA 或核糖体 RNA (而非蛋白质) 的基因。

**基因工程**

改变细胞或生物体的遗传物质，使它们能产生新物质或执行新功能。

**基因治疗**

通过改变人体基因的表达或在基因组中插入新基因，对疾病进行治疗或预防。目前基因治疗刚刚起步，大部分人体临床试验仅处于研究阶段。基因治疗可以针对体细胞（身体）或生殖（卵子和精子）细胞。体细胞基因治疗中，接受者的基因组会发生改变，但这一变化并不遗传到下一代。生殖细胞基因治疗中，患者的卵子和精子细胞发生了改变，这一变化可传至其后代。

## 基因组

特定生物体的染色体中的全部遗传物质。

## 基因组学

重组 DNA、DNA 测序方法和生物信息学在测序、组装和分析基因组的功能和结构上的应用。

## 碱基

形成 DNA 和 RNA 分子结构的碱基，为腺嘌呤 (A)、鸟嘌呤 (G)、胞嘧啶 (C)、胸腺嘧啶 (T) 分子中的任意一种。DNA 分子中的碱基顺序决定该 DNA 编码的蛋白质结构。请参阅核苷酸。

## 碱基对

不同核酸链上的两个碱基结合在一起。在 DNA 中，胞嘧啶一定与鸟嘌呤配对，腺嘌呤一定与胸腺嘧啶配对。在 RNA 分子中，腺嘌呤一定与尿嘧啶配对。

## 精制

生物药物生产过程的最终纯化步骤，通常采用亲和色谱或其它纯化色谱方法。通常这一步骤将采用整个工艺中最昂贵的技术，因为需要处理极微量的物质。

## 聚集体

物质（如蛋白质分子）聚集形成的簇，或这种聚集方式本身。

## 聚乙二醇化

聚乙二醇分子与蛋白质分子通过选定的氨基酸侧链（如游离氨基或巯基）形成共价结合。该反应可降低毒性，或提高其溶解度和在体内的循环半衰期。

## K

### 抗体

免疫系统产生的蛋白质分子。抗体能够识别外来的分子或结构体，如细菌、病毒和机体接触到的各种抗原。

### 抗血清

免疫个体凝固血液的液体组分，该免疫个体携带针对能引起免疫反应的分子的抗体。

### 抗原

任何能与抗体发生特异性反应的分子。抗原可能包含一个或几个能与相应抗体特异性结合的位点。请参阅免疫原。

### 抗原表位

抗原表面的特定分子区域，可引发免疫应答，并可与免疫应答产生的特异性抗体相结合，也称为决定簇或抗原决定簇。

### 抗原性

一种物质注入动物体内后，其诱导抗体形成或引发免疫反应的能力。

### 连接酶

可以将分子片段（如 DNA、RNA 或多肽）连接在一起的酶；DNA 连接酶与限制性内切酶一起使用可以生成重组 DNA。

**L****离液剂**

破坏水、大分子或生物系统的结构，以释放被这些因素抑制的活性。尿素和盐酸胍是常用的蛋白质变性试剂。

**良好表征**

化学实体药物的成分、纯度、杂质、效价和质量等性质可以测定和控制；大多数良好表征的生物制剂是重组 DNA 产生的蛋白质或单克隆抗体。

**两性化合物**

既有酸性又有碱性的物质。两性分子可以接受电子，也可以提供电子，既可用作酸，也可用作碱。

**临床前研究**

在测试试管或动物体内测试试验药物。在进行人体临床试验前进行此测试。

**临床试验**

药物上市销售前的测试过程。I 期临床试验是初步研究，用于确定药物在人体内的代谢过程、药理作用以及随药物剂量增加可能出现的副作用，并取得药物疗效的早期证据。II 期临床试验将评估药物对特定疾病的疗效并确定药物的一般短期副作用和风险。III 期临床试验是扩展性研究，用于收集更多信息以评价药物的整体利益与风险的关系，以及为药品说明书的编写打下基础。

**磷酸化**

将一个磷酸基团 (PO<sub>4</sub>) 添加到分子上的过程，通常通过利用酶促反应转移 ATP (三磷酸腺苷) 上的一个磷酸基团来完成。

**M****mAb**

单克隆抗体，一种高度特异性的纯化抗体，只识别单一的抗原表位。

**mRNA**

信使 RNA：蛋白质合成的模板。在细胞核内形成，与 DNA 互为互补序列，形成后将从细胞核转移到核糖体。

**酶**

催化生物化学反应的蛋白质，引起或加速反应，而其本身在该过程中没有改变。

**密码子**

DNA 或 RNA 序列中的一组（3个）核苷酸，它们共同编码一种特定的氨基酸。例如，AUG（腺嘌呤、尿嘧啶和鸟嘌呤）编码蛋氨酸。

**免疫原**

诱发免疫反应的物质，即，机体将其识别为外来物质，并将对其进行排斥或破坏。

# N

## NBE

新生物实体是指能预防或治疗疾病的蛋白质、多肽、抗体、病毒和疫苗。NBE 非常有用，因为它具有针对所有细胞外目标的活性作用。

## NDA

新药申请，CDER 中等同于 BLA 的文件。用于小分子药物和某些生物药物（如激素和小肽类）的申请，由 CDER 而不是 CBER 管理。

## N-端

氨基端或 N-端；蛋白质链的氨基末端（带游离的  $\alpha$ -氨基）。

# P

## PAT

过程分析技术：一项 FDA 倡议，旨在鼓励行业开发和使用新型分析技术和多元分析技术，将其作为工艺开发、生产和质量控制测试风险管理的一部分。PAT 包括在线、实时分析、过程控制工具、持续改进和信息管理工具，以及统计工具。

## pI

等电点，生物分子在该 pH 值下不带净电荷；pH 高于等电点时，分子呈碱性，pH 低于等电点时，分子呈酸性。蛋白质或氨基酸溶液在其等电点处电导率和粘度最低。不同物质具有不同的 pI。例如，明胶的 pI 为 pH 4.7，用 pI 可以鉴定和表征蛋白质。

# Q

## 嵌合抗体

基因序列由来自两个不同物种的 DNA 组成的抗体。通常，该术语所指的抗体中包括 10% 至 25% 的鼠源性 DNA 序列，其余为人源性 DNA 序列。

## 亲和力

粒子或物质之间的吸引力，相对而言，即一个分子对另一个分子的吸引程度。

## 亲水

对水有亲和性；可吸引水、溶于水或吸收水，容易吸潮，具有易与水作用的强极性分子基团。

## 趋化因子

参与免疫系统细胞激活和迁移的信号分子。趋化因子的信号功能在炎症应答中具有重要作用。

## 去折叠

蛋白质降解的一种形式，蛋白质分子的三维结构被破坏为类似于基本氨基酸链的结构。

## R

### RNA

核糖核酸，由核糖（一种糖）与核苷酸 G、A、U 和 C 组成的核酸。它将 DNA 编码信息翻译为氨基酸序列，用于细胞中的蛋白质合成。其结构与 DNA 类似，不同之处在于基本结构为核糖而非脱氧核糖，所含核苷酸种类中尿嘧啶 (U) 取代了胸腺嘧啶 (T)。现在人们已经发现了多种形式的 RNA：mRNA（信使 RNA）、tRNA（转运 RNA）以及 rRNA（核糖体 RNA）。大多数 RNA 分子都是单链结构，虽然它们也可以形成双链单元。

## S

### SOP

标准操作规程；由质量控制部门批准、在 GMP 操作中使用的，为实现特定流程或特定仪器操作的一致性而制定的详细（每个步骤）操作说明。

### 三级结构

蛋白质分子中多肽链的三维折叠（其正常状态）。

### 上游工艺

生物制药的一个阶段，包括建立细胞库、接种和放大细胞培养。

### 生物标志物

可测量的生理指标或分子。例如蛋白质或突变基因的存在与缺失。生物标志物通常用于指示疾病的发生或发展。

### 生物仿制药

由最初注册公司以外的其他公司生产和注册的生物药物。生物仿制药用于相同适应症，可以用类似或不同的工艺生产，但产品相当。请参阅生物仿制药。

### 生物仿制药

生物类似药或生物仿制药的另一种说法。

### 生物活性

蛋白质被送入体内活性位点后正常发挥作用的能力。

### 生物科学公司

可同时指代生物技术和制药公司的术语。

### 生物类似药

采用与原型药不同的细胞系、原始细胞库或工艺生产，并符合临床活性相似性标准的仿制生物药。生物类似药可能在纯度/杂质谱上有区别，其药效在限定范围内也有所不同。另请参阅生物仿制药和改进型生物制剂。

### 生物利用度

测量给药后药物到达目标组织的速度和总量。

### 生物制剂

用于防治疾病的活体生物制品。

## 试验用新药

IND 是指已获得 FDA 的批准，可在各州之间流通的药物，通常针对可用于临床试验但并未获得上市批准的新药。

## 适应性免疫应答

抗原特异性淋巴细胞对抗原的应答。

## 疏水

不溶于水；不溶于水的程度；不引湿；耐水或憎水、抗浸润，或抗水合；或会被水破坏。

## 羧基端

羧基端：蛋白质链的羧基端，带游离羧基。

# T

---

## tRNA

转运 RNA，一种具有三叶草型核苷酸序列的 RNA，与 mRNA 的核苷酸编码序列互补。在蛋白质合成过程中，tRNA 与氨基酸连接，并将其转运至核糖体中，然后氨基酸在核糖体中根据 mRNA 携带的遗传编码组装成蛋白质。

## 肽键

一个氨基酸的氨基和另一个氨基酸的羧基之间去脱去一分子水形成碳-氮共价键（链） $\text{RCO-NH}$ 。这种连接不能自由旋转，这是连接氨基酸单体形成称为多肽聚合物的重要化学键。

## 肽谱分析

用酶选择性裂解蛋白质得到特征肽谱，并通过色谱分离和光谱或质谱检测进行解析的生物分析方法。

## 糖蛋白

含有糖基侧链的蛋白质，这些糖链通过翻译后的修饰过程加入；糖基侧链的存在常常影响蛋白质的活性及其在体内的稳定性。

## 糖基化

蛋白质由核糖体合成功后，再在蛋白质（糖蛋白）分子上加入一个或多个糖分子；一种翻译后修饰。

## 体内/在体

以活体动物或人作为试验对象。

## 体外/离体

使用实验室仪器而不是活体动物进行（实验等）。

## 天然的

天然非变性状态具有生物活性；在生物药物中，通常是指一个分子在最佳条件下的正常三维结构。

## 脱酰氨基作用

把蛋白质中 Gln（谷氨酰胺）或 Asn（天冬酰胺）残基的一个或几个酰胺基去掉，转化为 Glu（谷氨酸）、Asp（天门冬氨酸）或 isoAsp(异天门冬氨酸)残基。根据蛋白质种类的不同，该过程可能对蛋白质没有影响，也可能对其效价、稳定性或溶解性产生很大影响。

# W

## 烷基化

通过取代或加成，将烷基引入有机化合物；烷基化试剂可以是各种含有烷基，并因此可取代有机化合物中的氢原子的物质；烷基化可用于防止在肽谱分析过程中已还原的蛋白质发生再折叠。

## 微异质性

通常指生物制药过程中氨基酸序列或多肽链结构之间的微小差别。例如，要在大肠杆菌 (*E. coli*) 中生成一种重组蛋白，必须在蛋白质序列的一个末端添加一个蛋氨酸 (Met) 作为启动蛋白质合成的信号。大多数情况下，一旦蛋白质合成完毕，即应将该 Met 去除。但有时只有部分分子去除了 Met。结果，纯化产物就成为了具有目标序列的蛋白质和具有目标序列加上附加氨基酸的蛋白质的混合物。

# X

## 下游工艺

生物制药的一个阶段，包括产物收集、产品纯化及制剂过程。

## 小分子药物

在实验室化学合成的药物。小分子药物足够小，可以进入细胞。

## 效力

一种药物（如蛋白药物）产生临床疗效的能力；其疗效强度和有效性；有用性；发挥作用的能力。

# Y

## 氧化

化合物或原子丢失价电子的化学反应；由于与氧化剂（如氧气、过氧化物、金属离子或其他）发生反应而导致。已证明许多蛋白质在空气中会发生氧化（如蛋氨酸氧化成蛋氨酸硫化物或砜）。另请参阅氧化还原反应。

## 氧化还原反应

氧化/还原平衡反应，例如巯基-二硫键互换反应，是再折叠含半胱氨酸残基的重组蛋白时常用的步骤，目的是使巯基 (-SH) 正确配对，形成稳定的二硫键 (S-S)。

## 药代动力学

PK 是研究药物吸收、药物在体内的分布、药物代谢和药物排泄的一门学科。

## 药物发现

发现分子对目标疾病具有治疗效果的过程。

## 药物基因组学

研究个体患者基因组成（基因分型）与他们对药物治疗的反应之间的联系的科学。一些药物在部分患者群体中疗效良好，而在其他群体中疗效较差。

## 药物开发

在动物和人体中测试治疗分子的安全性和有效性，并开发适当的配方、给药方式和制造工艺的过程。

## 药效动力学

PD 是研究药物在生物体内药效作用的一门学科，尤其是研究药物剂量增加时的量效关系。

## 疫苗

能够引发免疫反应（产生抗体），以保护人或动物不被疾病感染的制剂。

## 原料活性成分

也称为散装原料药，与赋形剂一起组成配方，制成药物制剂。生物药物通过生物方法“批量”生产。

## 原料药物

也称为活性药物成分 (API)；指纯化形式的活性药物化学品或生物大分子。原料药物进一步加工后成为药品。

Z

---

## 杂交

结合互补的 RNA 和 DNA 链的过程称为 RNA-DNA 杂交。不同遗传来源的 DNA 单链的部分配对。

## 折叠

蛋白质自发地通过化学键和原子间引力，形成正确的复杂三级结构的过程。

## 制剂

将不同的化学物质（包括活性药物）进行组合以形成最终医药产品的过程。

## 质粒

非染色体的遗传性物质。质粒是存在于细胞质中的（天然存在于细菌和某些酵母中）能自我复制的环状分子。它可以作为载体将包含多达 10000 个碱基对的外源 DNA 引入受体细胞。

## 质量保证

QA 包括质量体系和控制过程，用于控制制药生产中的每一步骤，以确保产品完全符合技术指标和质量属性，并确保所有生产步骤的实施和记录均符合 cGMP 规范。

## 质量控制

QC 是一个测试系统，用于确认和测量原材料、工艺中间体、最终产品和环境样品的质量。

## 中间体

在一系列工艺步骤的中间阶段生成的物质，原药与终产品之间的“阶梯”。

## 重组体

经基因工程手段改造得到的包含另一种生物体遗传信息的 DNA（或由此类 DNA 产生的蛋白质）。经过基因改造的微生物通常被称为重组体，而经过基因改造的植物和动物则称为转基因生物。请参阅转基因生物。

## 转基因

改变植物或动物的 DNA，使其包含其他生物的基因。动植物体内有两类细胞，分别是生殖系细胞（动物的精细胞和卵细胞，植物的花粉和胚珠）以及体细胞（所有其他细胞）。转基因动植物的生殖细胞系 DNA 被改变，因此这些改变将传至其后代。该技术被用于生产药物、研究疾病和改进牲畜品种。人们已经培育出一些可以抵抗病虫害和用于制造生物药物的转基因植物品种。

## 参考文献

**生物技术导论，第二版，BioPharm International (国际生物制药)，2006 年 8 月。**

**生物技术入门，Biotech Primer, Inc., 2012 年 6 月。**

# 引用参考文献

## AdvanceBio 肽谱分析引用参考文献

Amano, M. et al. (2014) Detection of Histidine Oxidation in a Monoclonal Immunoglobulin Gamma (IgG) 1 Antibody. *Analytical Chemistry*, 86(15): 7536-7543  
doi:10.1021/ac501300m

Luna, LG & Coady, K. (2014) Identification of X. laevis Vitellogenin Peptide Biomarkers for Quantification by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry. *J Anal Bioanal Tech*, 5:3  
doi:10.4172/2155-9872.1000194

## Bio SEC 引用参考文献

Campanella, B. et al. (2014) Impact of Protein Concentration on the Determination of Thiolic Groups of Ovalbumin: A Size Exclusion Chromatography–Chemical Vapor Generation–Atomic Fluorescence Spectrometry Study via Mercury Labeling. *Analytical Chemistry*, 86(4): 2251-2256  
doi:10.1021/ac4041795

Campanella, B. et al. (2014) Direct, simple derivatization of disulfide bonds in proteins with organic mercury in alkaline medium without any chemical pre-reducing agents. *Analytica Chimica Acta*, Volume 843: 1-6  
doi:10.1016/j.aca.2014.07.003

Goldspiel, JT. et al. (2013) Stability of alemtuzumab solutions at room temperature. *Am J Health Syst Pharm*, 70(5): 439–442  
doi:10.2146/ajhp110632

Baid, R. et al. (2013) Biosynthesis, Characterization, and Efficacy in Retinal Degenerative Diseases of Lens Epithelium-derived Growth Factor Fragment (LEDGF<sub>1-326</sub>), a Novel Therapeutic Protein. June 14, 2013. *The Journal of Biological Chemistry*, 288(24): 17372-83  
doi:10.1074/jbc.M112.441618

## Bio SEC 引用参考文献

Coffey, A. (2012) 使用体积排阻色谱 (SEC) 优化聚集体分析 — 同时使用光散射检测方法。 *LCGC The Applications Notebook*  
<http://www.spectroscopyonline.com/spectroscopy/article/articleDetail.jsp?id=798753>

Gammelgaard, B. et al. (2012) Estimating Intestinal Absorption of Inorganic and Organic Selenium Compounds by in Vitro Flux and Biotransformation Studies in Caco-2 Cells and ICP-MS Detection. *J Biological Trace Element Research*, 145(2): 248-256  
doi:10.1007/s12011-011-9174-y 2012-02-01

Karasicki, J. et al. (2014) Analytical protocol for investigation of zinc speciation in plant tissue. *J Chemical Papers*, 68(3): 291-299  
doi:10.2478/s11696-013-0460-3

## BioMonolith 引用参考文献

St. Amand, MM., Ogunnaike, BA., Robinson, AS.(2014) Development of at-line assay to monitor charge variants of MAbs during production. *Biotechnol Progress*, 30(1): 249-255  
doi:10.1002/btpr.1848

Podgornik, A., Krajnc, NL.(2012) Application of monoliths for bioparticle isolation. *J. Sep. Science*, 35 (22): 3059-3072  
doi:10.1002/jssc.201200387

Mathis, JM. et al. (2011) Genetic Incorporation of Human Metallothionein into the Adenovirus Protein IX for Non-Invasive SPECT Imaging. *PLoS ONE*, 6(2): e16792  
doi:10.1371/journal.pone.0016792

(接转下页)

(接转下页)

**BioMonolith 引用参考文献**

Haslene-Hox, H. et al. (2011) A New Method for Isolation of Interstitial Fluid from Human Solid Tumors Applied to Proteomic Analysis of Ovarian Carcinoma Tissue. *PLoS ONE*, 6(4): e19217  
doi:10.1371/journal.pone.0019217

Whitfield, R.J. et al. (2009) Rapid high-performance liquid chromatographic analysis of adenovirus type 5 particles with a prototype anion-exchange analytical monolith column. *Journal of Chromatography A*, 1216(13): 2725-2729  
doi:10.1016/j.chroma.2008.11.010

**PLRP-S 引用参考文献**

Jackson D. et al. (2014) In Vitro and In Vivo Evaluation of Cysteine and Site Specific Conjugated Herceptin Antibody-Drug Conjugates. *PLOS one*, 9(1)  
doi:10.1371/journal.pone.0083865

Linke, T. et al. (2014) Development and scale-up of a commercial fed batch refolding process for an anti-CD22 two chain immunotoxin. *Biotechnol Progress*  
doi:10.1002/btpr.1983

Li, Y., et al. (2014) Characterization of the Degradation Products of a Color-Changed Monoclonal Antibody: Tryptophan-Derived Chromophores. *Analytical Chemistry*, 86(14): 6850-6857  
doi:10.1021/ac404218t

Campos Motta, TM. et al. (2014) Detection and confirmation of milk adulteration with cheese whey using proteomics-like sample preparation and liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry analysis. *Talanta*, 120: 498-505  
doi:10.1016/j.talanta.2013.11.093

Ochiai, T. et al. (2014) Mechanism underlying the transient increase of serum iron during FOLFOX/FOLFIRI therapy. *Molecular and Clinical Oncology*, 2(6): 968-972  
doi:10.3892/mco.2014.385

**PLRP-S 引用参考文献**

Bender, B. et al. (2014) A Mechanistic Pharmacokinetic Model Elucidating the Disposition of Trastuzumab Emtansine (T-DM1), an Antibody–Drug Conjugate (ADC) for Treatment of Metastatic Breast Cancer. *The AAPS Journal*, 16(5): 994-1008  
doi:10.1208/s12248-014-9618-3

Fekete, S. et al. (2013) Analytical strategies for the characterization of therapeutic monoclonal antibodies. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, Volume 42: 74-83  
doi:10.1016/j.trac.2012.09.012

Gong, J. et al. (2014) Quantitative Analysis of Polyethylene Glycol (PEG) and PEGylated Proteins in Animal Tissues by LC-MS/MS Coupled with In-Source CID. *Analytical Chemistry*, 86(15): 7642-7649  
doi:10.1021/ac501507g

Cattaneo, S. et al. (2014) Targeted peptides for the quantitative evaluation of casein plasminolysis in drinking milk. *Food Chemistry*, Volume 155: 179-185  
doi:10.1016/j.foodchem.2014.01.053

Boswell, CE. et al. (2013) An integrated approach to identify normal tissue expression of targets for antibody-drug conjugates: case study of TENB2. *British Journal of Pharmacology*, 168(2): 445-447  
doi:10.1111/j.1476-5381.2012.02138.x

Holder, A. et al. (2014) Quantification of bio- and techno-functional peptides in tryptic bovine micellar casein and  $\beta$ -casein hydrolysates. *Food Chemistry*, Volume 158: 118-124  
doi:10.1016/j.foodchem.2014.02.104

Nakagawa, M., Tojo, H. & Fujii, S. (2011) A Glycan of  $\Psi$ -Factor from Dictyostelium discoideum Contains a Bisecting-GlcNAc, an Intersecting-GlcNAc, and a Core  $\alpha$ -1,6-Fucose. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 75(10): 1964-1970  
doi:10.1271/bbb.110369

(接转下页)

**PLRP-S 引用参考文献**

Della Donna, L. et al. (2011) Mass spectrometric measurements of the apolipoproteins of bovine (*Bos taurus*) HDL. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, 7(1): 9-13  
doi:10.1016/j.cbd.2011.10.001

Vondenhoff, GHM. et al. (2011) Characterization of Peptide Chain Length and Constituency Requirements for YejABEF-Mediated Uptake of Microcacin C Analogues. *The Journal of Bacteriology*, 193(14): 3618-3623  
doi:10.1128/JB.00172-11

Šotkovský, P. et al. (2011) A new approach to the isolation and characterization of wheat flour allergens. *Clinical & Experimental Allergy*, 41(7): 1031-1043  
doi:10.1111/j.1365-2222.2011.03766.x

Laabs, E. et al. (2011) Optical Imaging of CCK2/Gastrin Receptor-Positive Tumors With a Minigastrin Near-Infrared Probe. *Investigative Radiology*, 46(3): 196-201  
doi:10.1097/RLI.0b013e3181fef020

Rickert, KW. et al. (2011) Structural Basis for Selective Small Molecule Kinase Inhibition of Activated c-Met. *The Journal of Biological Chemistry*, 286: 11218-11225  
doi:10.1074/jbc.M110.204404

Stuknyte, M. et al. (2011) Potential immunomodulatory activity of bovine casein hydrolysates produced after digestion with proteinases of lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 21(10): 763-769  
doi:10.1016/j.idairyj.2011.04.011

Nakano, E. et al. (2011) Riboflavin Depletion Impairs Cell Proliferation in Adult Human Duodenum: Identification of Potential Effectors. *Digestive Diseases and Sciences*, 56(4): 1007-1019  
doi:10.1007/s10620-010-1374-3

Webb, K. et al. (2011) The ribosomal L1 protuberance in yeast is methylated on a lysine residue catalyzed by a seven beta-strand methyltransferase. *The Journal of Biological Chemistry*, 286(21): 18405-13  
doi:10.1074/jbc.M110.200410

**PLRP-S 引用参考文献**

Uehata, T. et al. (2011) Serum hepcidin-25 levels and anemia in non-dialysis chronic kidney disease patients: a cross-sectional study. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 27(3): 1076-1083  
doi:10.1093/ndt/gfr431

Lohman, G., Chen, L. & Evans Jr, T. (2011) Kinetic characterization of single strand break ligation in duplex DNA by T4 DNA Ligase. *The Journal of Biological Chemistry*, 286: 44187-44196  
doi:10.1074/jbc.M111.284992

Hudak, J., Yu, H. & Bertozzi, C. (2011) Protein Glycoengineering Enabled by the Versatile Synthesis of Aminoxy Glycans and the Genetically Encoded Aldehyde Tag. *Journal of the American Chemical Society*, 133(40): 16127-16135  
doi:10.1021/ja206023e

Schneider, N. et al. (2011) Prevalence and stability of lysozyme in cheese. *Food Chemistry*, 128(1): 145-151  
doi:10.1016/j.foodchem.2011.03.010

Yan, B. & Boyd, D. (2011) Breaking the Light and Heavy Chain Linkage of Human Immunoglobulin G1 (IgG1) by Radical Reactions. *The Journal of Biological Chemistry*, 286: 24674-24684  
doi:10.1074/jbc.M111.255026

Landau, M. et al. (2011) Towards a Pharmacophore for Amyloid. *PLoS Biology*, 9(6)  
doi:10.1371/journal.pbio.1001080

Kerkaert, B. et al. (2011) Use of lysozyme as an indicator of protein cross-contact in fresh-cut vegetables via wash waters. *Food Research International*, 45(1): 39-44  
doi:10.1016/j.foodres.2011.10.007

Schneider, N., Werkmeister, K. & Pischetsrieder, M. (2011) Analysis of nisin A, nisin Z and their degradation products by LCMS/MS. *Food Chemistry*, 127(2): 847-854  
doi:10.1016/j.foodchem.2011.01.023

Quenee, L. et al. (2011) Prevention of pneumonic plague in mice, rats, guinea pigs and non-human primates with clinical grade rV10, rV10-2 or F1-V vaccines. *Vaccine*, 29(38): 6572-6583  
doi:10.1016/j.vaccine.2011.06.119

(接转下页)

**PL-SAX 引用参考文献**

- Linke, T. *et al.* (2012) Process scale separation of an anti-CD22 immunotoxin charge variant. *Journal of Chromatography A*, Volume 1260: 120-125  
doi.org/10.1016/j.chroma.2012.08.061
- Pratto, F. *et al.* (2008) Streptococcus pyogenes pSM19035 requires dynamic assembly of ATP-bound ParA and ParB on parS DNA during plasmid segregation. *Nucleic Acids Research*, 3 (11): 3676-3689  
doi:10.1093/nar/gkn170
- Sendovski, M. *et al.* (2010) Crystallization and preliminary X-ray crystallographic analysis of a bacterial tyrosinase from *Bacillus megaterium*. *Acta Crystallographica*, 66(9): 1101-1103  
doi:10.1107/S1744309110031520
- Bunger, MK. *et al.* (2008) Automated Proteomics of *E. coli* via Top-Down Electron-Transfer Dissociation Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*, 80(5): 1459-1467  
doi:10.1021/ac7018409
- Vantourout, P. *et al.* (2009) Specific Requirements for V $\gamma$ 9V $\delta$ 2 T Cell Stimulation by a Natural Adenylated Phosphoantigen. *The Journal of Immunology*, 183(6): 3848-3857  
doi:10.4049/jimmunol.0901085
- Scaboo, AM. *et al.* (2009) Confirmation of Molecular Markers and Agronomic Traits Associated with Seed Phytate Content in Two Soybean RIL Populations. *Crop Science*, 49(2): 426-432  
doi:10.2135/cropsci2007.11.0614

**PL-SCX 引用参考文献**

- Li, R. *et al.* (2013) Proteome and phosphoproteome analysis of honeybee (*Apis mellifera*) venom collected from electrical stimulation and manual extraction of the venom gland. *BMC Genomics* 2013, 14:766  
doi:10.1186/1471-2164-14-766
- Zhang, W. & Czupryni, M. (2003) Analysis of isoaspartate in a recombinant monoclonal antibody and its charge isoforms. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 30(5): 1479-1490  
doi:10.1016/S0731-7085(02)00479-X
- Collinge, J. *et al.* (2005) Differential Proteomics via Probabilistic Peptide Identification Scores. *Analytical Chemistry*, 77(2): 596-606  
doi:10.1021/ac0488513
- Schönleben, S. *et al.* (2007) Proteome analysis of *Apis mellifera* royal jelly. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 389(4): 1087-1093  
doi:10.1007/s00216-007-1498-2
- Lohaus, C. *et al.* (2007) Multidimensional Chromatography: a Powerful Tool for the Analysis of Membrane Proteins in Mouse Brain. *Journal of Proteome Research*, 6(1): 105-113  
doi:10.1021/pr060247g
- Zahedi, RP. *et al.* (2007) Phosphoproteome of Resting Human Platelets. *Journal of Proteome Research*, 7(2): 526-534  
doi:10.1021/pr0704130
- Boehm, A. *et al.* (2007) Precise protein quantification based on peptide quantification using iTRAQ™. *BMC Bioinformatics*, 8:214  
doi:10.1186/1471-2105-8-214
- Heller, M. *et al.* (2003) Trypsin catalyzed  $^{16}\text{O}$ -to- $^{18}\text{O}$  exchange for comparative proteomics: tandem mass spectrometry comparison using MALDI-TOF, ESI-TOF, and ESI-ion trap mass spectrometers. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 14(7): 704-718  
doi:10.1016/S1044-0305(03)00207-1

**Poroshell 300 引用参考文献**

Blakemore, W. et al. (2014) Carrageenan analysis. Part 2: Quantification in swine-adapted infant formula. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 31(10): 1670-1672  
doi:10.1080/19440049.2014.955537

Lesellier, E. (2012) Efficiency in supercritical fluid chromatography with different superficially porous and fully porous particles ODS bonded phases. *Journal of Chromatography A*, 1228(3): 89-98  
doi:10.1016/j.chroma.2011.11.058

Martosella, J., Duong, P. (2012) Ultra-fast Protein Separations and High Efficiency Peptide Profiling with Agilent LC Columns. *LCGC Application Notebook*, Sept 1

Munigunti, R., Calderón, A. (2012) Development of liquid chromatography/mass spectrometry based screening assay for PfTrxR inhibitors using relative quantitation of intact thioredoxin. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 26(17): 1097-0231  
doi:10.1002/rcm.6316

Wang, F., Min, Y., Geng, X. (2012) Fast separations of intact proteins by liquid chromatography. *Journal of Separation Science*, 35(22): 1615-9314  
doi:10.1002/jssc.201200339

Jing Y. et al. (2012) Gambogic Acid Deactivates Cytosolic and Mitochondrial Thioredoxins by Covalent Binding to the Functional Domain. *Journal of Natural Products*, 75(6): 1108-1116  
doi:10.1021/np300118c

Matilainen, L. et al. (2008) The effect of cyclodextrins on chemical and physical stability of glucagon and characterization of glucagon/ $\gamma$ -CD inclusion complexes. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 97(7): 2720-2729  
doi:10.1002/jps.21209

Astarita, G., Ahmed, F. & Piomelli, D. (2008) Identification of biosynthetic precursors for the endocannabinoid anandamide in the rat brain. *The Journal of Lipid Research*, 49: 48-57  
doi:10.1194/jlr.M700354-JLR200

**Poroshell 300 引用参考文献**

Matilainen, L. et al. (2008) The stability and dissolution properties of solid glucagon/ $\gamma$ -cyclodextrin powder. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 36(4-5): 412-420  
doi:10.1016/j.ejps.2008.11.006

Wang, Y. et al. (2009) Comparison of Methods for Extracting Kafirin Proteins from Sorghum Distillers Dried Grains with Solubles. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 57(18): 8366-8372  
doi:10.1021/jf901713w

Guerrera, IC. et al. (2009) A Novel Lipidomic Strategy Reveals Plasma Phospholipid Signatures Associated with Respiratory Disease Severity in Cystic Fibrosis Patients. *PLoS ONE*, 4(11): e7735  
doi:10.1371/journal.pone.0007735

Yung, KM. et al. (2011) An amyloid  $\beta$ <sub>42</sub>-dependent deficit in anandamide mobilization is associated with cognitive dysfunction in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 33(8): 1522-32  
doi:10.1016/j.neurobiolaging.2011.03.012

Reid, CQ. et al. (2010) Rapid whole monoclonal antibody analysis by mass spectrometry: An Ultra scale-down study of the effect of harvesting by centrifugation on the post-translational modification profile. *Biotechnology and Bioengineering*, 107(1): 85-95  
doi:10.1002/bit.22790

Heinig, K. & Wirz, T. (2009) Determination of Taspoglutide in Human and Animal Plasma Using Liquid Chromatography – Tandem Mass Spectrometry with Orthogonal Column-Switching. *Analytical Chemistry*, 81(10): 3705-3713  
doi:10.1021/ac900422e

Rossi, EA. et al. (2010) A Bispecific Antibody-IFN $\alpha$ 2b Immunocytokine Targeting CD20 and HLA-DR Is Highly Toxic to Human Lymphoma and Multiple Myeloma Cells. *Cancer Research*, 70: 7600  
doi:10.1158/0008-5472.CAN-10-2126

Murphy, MP. et al. (2010) Changes in Cognition and Amyloid- $\beta$  Processing with Long Term Cholesterol Reduction using Atorvastatin in Aged Dogs. *Journal of Alzheimer's Disease*, 22(1): 135-150  
doi:10.3233/JAD-2010-100639

(接转下页)

**ZORBAX 300 引用参考文献**

Gao, J. et al. (2014) Absolute Quantification of Histone PTM Marks by MRM-Based LC-MS/MS. *Analytical Chemistry*, 86 (19): 9679-9686  
doi:10.1021/ac502333a

Huang, Y. et al. (2014) Role of helicity of  $\alpha$ -helical antimicrobial peptides to improve specificity. *J Protein & Cell*, 5 (8): 631-642  
doi:10.1007/s13238-014-0061-0

Huang, Y. et al. (2014) Comparison of the Effects of Acarbose and TZQ-F, a New Kind of Traditional Chinese Medicine to Treat Diabetes, Chinese Healthy Volunteers. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 9 pages  
doi:10.1155/2014/308126

Juanjuan, T. et al. (2014) Effects of Single Amino Acid Substitution on the Biophysical Properties and Biological Activities of an Amphipathic  $\alpha$ -Helical Antibacterial Peptide Against Gram-Negative Bacteria. *Molecules*, 19(8): 10803-10817 doi:10.3390/molecules190810803

Jiang, Z. et al. (2014) Specificity Determinants Improve Therapeutic Indices of Two Antimicrobial Peptides Piscidin 1 and Dermaseptin S4 against the Gram-negative Pathogens *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Pharmaceuticals*, 7(4): 366-391  
doi:10.3390/ph7040366

Lu, C. et al. (2014) Microwave-assisted acid hydrolysis of proteins combined with peptide fractionation and mass spectrometry analysis for characterizing protein terminal sequences. *Journal of Proteomics*, 100(4): 68-78  
doi:10.1016/j.jprot.2013.10.014

Sharma, D. et al. (2014) Purification and characterization of a novel lipopeptide from *Streptomyces amritsarensis* sp. nov. active against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *AMB Express*, 4:50  
doi:10.1186/s13568-014-0050-y

Piras, C. et al. (2014) Serum protein profiling of early and advanced stage Crohn's disease. *EuPA Open Proteomics*, 3: 48-59  
doi:10.1016/j.euprot.2014.02.010

Xiong, Y. et al. (2014) Differential expression of synaptic proteins in unilateral 6-OHDA lesioned rat model – A comparative proteomics approach. *Proteomics*, 14 (15): 1808-1819  
doi:10.1002/pmic.201400069

**ZORBAX 300 引用参考文献**

Bräutigam, J., Scheidig, A. & Egge-Jacobsen, W. (2013) Mass spectrometric analysis of hepatitis C viral envelope protein E2 reveals extended microheterogeneity of mucin-type O-linked glycosylation. *Glycobiology*, 23 (4): 453-474  
doi:10.1093/glycob/cws171

Portelius, E. et al. (2007) Characterization of Amyloid  $\beta$  Peptides in Cerebrospinal Fluid by an Automated Immunoprecipitation Procedure Followed by Mass Spectrometry. *Journal of Proteome Research*, 6 (11): 4433-4439  
doi:10.1021/pr0703627

Montes-Bayon, M. et al. (2006) Direct comparison of capillary electrophoresis and capillary liquid chromatography hyphenated to collision-cell inductively coupled plasma mass spectrometry for the investigation of Cd-, Cu- and Zn-containing metalloproteins. *Journal of Chromatography A*, 1114(1): 138-144  
doi:10.1016/j.chroma.2006.02.028

Zahariev, S. et al. (2006) Synthesis of 'difficult' peptides free of aspartimide and related products, using peptoid methodology. *Tetrahedron Letters*, 47(25): 4121-4124  
doi:10.1016/j.tetlet.2006.04.074

Kohler, M. et al. (2009) Identification of Human Pituitary Growth Hormone Variants by Mass Spectrometry. *Journal of Proteome Research*, 8(2): 1071-1076  
doi:10.1021/pr800945b

Berg, M. et al. (2006) Reproducibility of LC-MS-based protein identification. *Journal of Experimental Botany*, 57(7): 1509-1514  
doi:10.1093/jxb/erj139

Esteban-Fernández, D. et al. (2008) Atomic (HPLC-ICP-MS) and molecular mass spectrometry (ESI-Q-TOF) to study cis-platin interactions with serum proteins. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 23: 378-384  
doi:10.1039/B711922D

Everberg, H. et al. (2006) Aqueous Two-Phase Partitioning for Proteomic Monitoring of Cell Surface Biomarkers in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells. *Journal of Proteome Research*, 5(5): 1168-1175  
doi:10.1021/pr050469z

(接转下页)

(接转下页)

**ZORBAX 300 引用参考文献**

Portelius, E. et al. (2010) Identification of novel N-terminal fragments of amyloid precursor protein in cerebrospinal fluid. *Experimental Neurology*, 223(2): 351-358  
doi:10.1016/j.expneurol.2009.06.011

Ahrends, R. et al. (2009) Metal-Coded Affinity Tag Labeling: A Demonstration of Analytical Robustness and Suitability for Biological Applications. *Analytical Chemistry*, 81(6): 2176-2184  
doi:10.1021/ac802310c

Bíliková, K. et al. (2009) Towards functional proteomics of minority component of honeybee royal jelly: The effect of post-translational modifications on the antimicrobial activity of apalbumin2. *Proteomics*, 9(8): 2131-2138  
doi:10.1002/pmic.200800705

Schwab, K. et al. (2011) Adaptation of proteomic techniques for the identification and characterization of protein species from murine heart. *Amino Acids*, 41(2): 401-414  
doi:10.1007/s00726-010-0675-3

Perreault, A. et al. (2009) A Methyltransferase-independent Function for Rmt3 in Ribosomal Subunit Homeostasis. *The Journal of Biological Chemistry*, 284: 15026-15037  
doi:10.1074/jbc.M109.004812

Magherini, F. et al. (2009) Different carbon sources affect lifespan and protein redox state during *Saccharomyces cerevisiae* chronological ageing. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 66(5): 933-947  
doi:10.1007/s00018-009-8574-z

Cao H. & Xu S-Y. (2008) Purification and characterization of type II collagen from chick sternal cartilage. *Food Chemistry*, 108(2): 439-445  
doi:10.1016/j.foodchem.2007.09.022

Chen, X. et al. (2010) Quantitative Proteomics Analysis of Cell Cycle-regulated Golgi Disassembly and Reassembly. *The Journal of Biological Chemistry*, 285: 7197-7207  
doi:10.1074/jbc.M109.047084

Trusch, M. et al. (2010) Application of displacement chromatography for the analysis of a lipid raft proteome. *Journal of Chromatography B*, 878(3-4): 309-314  
doi:10.1016/j.jchromb.2009.11.035

Amoresano, A. et al. (2008) A Rapid and Selective Mass Spectrometric Method for the Identification of Nitrated Proteins. *Methods in Molecular Biology*, 477(I): 15-29

**ZORBAX 300 引用参考文献**

Kodali, VP., Das, S. & Sen, R. (2009) An exopolysaccharide from a probiotic: Biosynthesis dynamics, composition and emulsifying activity. *Food Research International*, 42(5-6): 695-699  
doi:10.1016/j.foodres.2009.02.007

Loeber, R. et al. (2008) Cross-Linking of the DNA Repair Protein O<sup>6</sup>-Alkyguanine DNA Alkytransferase to DNA in the Presence of Antitumor Nitrogen Mustards. *Chemical Research in Toxicology*, 21(4): 787-795  
doi:10.1021/tx7004508

Millette, M. et al. (2008) Purification and identification of the pediocin produced by *Pediococcus acidilactici* MM33, a new human intestinal strain. *Journal of Applied Microbiology*, 104(1): 269-275  
doi:10.1111/j.1365-2672.2007.03583.x

Chen, X. et al. (2009) Quantitative Organellar Proteomics Analysis of Rough Endoplasmic Reticulum from Normal and Acute Pancreatitis Rat Pancreas. *Journal of Proteome Research*, 9(2): 885-896  
doi:10.1021/pr900784c

Ameri, M., Daddona, P. & Maa, YF. (2009) Demonstrated Solid-State Stability of Parathyroid Hormone PTH(1-34) Coated on a Novel Transdermal Microprojection Delivery System. *Pharmaceutical Research*, 26(11): 2454-2463  
doi:10.1007/s11095-009-9960-9

Gianazza, E. et al. (2010) Different expression of Fibrinopeptide A and related fragments in serum of type 1 diabetic patients with nephropathy. *Journal of Proteomics*, 73(3): 593-601  
doi:10.1016/j.jprot.2009.07.006

Yuan, W. et al. (2008) Two New Holostan-Type Triterpene Glycosides from the Sea Cucumber *Bohadschia marmorata* JAEGER. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 56(8): 1207  
doi:10.1248/cpb.56.1207

(接转下页)

**提示与工具**

以上只列出了本文引用的安捷伦生物色谱柱的近期相关文献。有关生物色谱柱的更多信息或其他主题，请联系安捷伦技术支持团队。



## Agilent 1260 Infinity 生物惰性四元液相色谱系统 无限卓越的生物分子分析

蛋白质很容易受到分析过程中各种相互作用的影响，因此，我们推荐您使用 Agilent 1260 Infinity 生物惰性四元液相色谱系统，为您的生物色谱分析提供完全无干扰的流路。它的泵头和混合装置由耐腐蚀的钛制成。自动进样器、毛细管、连接管、检测器流通池和加热元件也全部由非金属材料制成。可耐受 pH 范围扩展到了 pH 13，还包含主动密封垫冲洗功能，并且可用于低压应用。

您可以通过添加可选件扩展 1260 Infinity 生物惰性四元液相色谱的功能。纯化目标蛋白质时，您可以采用生物惰性馏分收集器，它可在高达 10 mL/min 的流速条件下使用，并且还可配置冷却选件和高级峰触发选件。手动进样器则是大体积进样的理想选择。此外，还有适用于二极管阵列检测器、多波长检测器和荧光检测器的生物惰性流通池。

如需了解更多，请访问 [www.agilent.com/chem/bio-inert:cn](http://www.agilent.com/chem/bio-inert:cn)

### 定制柱和散装填料的订购

我们了解，虽然本指南提供了多种色谱柱和填料的详细信息，您可能还会需要特殊的定制化色谱柱或其他的填料量。如果您在本指南中没有找到您所需要的孔径/填料粒径和色谱柱规格的组合或所需的散装填料量，请联系您当地的安捷伦客户服务中心，他们将帮助您进行定制订购。

## 更多信息

查找当地的安捷伦客户中心：

[www.agilent.com/chem/contactus-cn](http://www.agilent.com/chem/contactus-cn)

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

[LSCA-China\\_800@agilent.com](mailto:LSCA-China_800@agilent.com)

在线询价：

[www.agilent.com/chem/erfq-cn](http://www.agilent.com/chem/erfq-cn)

安捷伦科技大学：

<http://www.lsca-china.com.cn/agilent>

浏览和订阅 Access Agilent 电子期刊：

[www.agilent.com/chem/accessagilent-cn](http://www.agilent.com/chem/accessagilent-cn)

本指南中的信息如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司

2015 年 2 月，中国印刷

5990-9384CHCN



Agilent Technologies