

阴离子交换色谱工作流程

AGILENT BIO IEX HPLC 色谱柱

AGILENT PL-SAX 强阴离子交换柱

AGILENT BIO-MONOLITH HPLC 色谱柱



安捷伦应用化学家将在本文中与您共享有关最佳液相色谱系统及其生物分子表征配置方面的建议。他们还将为您提供通用方法的相关入门指导以及如何就满足特定分离需求而进一步优化方法的相关指导。

如需了解更多应用信息，请访问 www.agilent.com/chem/advancebio

Agilent 1260 Infinity 生物惰性液相色谱系统

指南

- 酸性蛋白质：SAX 或 WAX
- 选择流动相 pH 时应考虑蛋白质的等电点 (pI)。如果 $pH > pI$ ，蛋白质带净负电荷
- 起始缓冲液 pH 应高于 pI 0.5 - 1 个 pH 单位（高于 pI 以实现阴离子交换）
- 如果 pI 未知，则从 pH 8.0 开始以实现阴离子交换
- 从操作范围最宽的 SAX 色谱柱开始。WAX 可用于提供选择性差异
- 阴离子交换缓冲液 (pH 7 - 10) 中包括 bis-tris、tris、二乙醇胺和哌嗪

流动相

流动相中应含有维持所需操作 pH 的缓冲液，浓度通常为 20 mM。洗脱盐浓度通常为 400 - 500 mM。

安捷伦缓冲液顾问通过以不同比例混合四种储备液来建立必要的梯度曲线。

进样量

1 - 10 μ L 以实现最高分离度。样品必须能以低于起始条件的离子强度溶于流动相。

流速

4.6 mm 内径色谱柱的典型流速为 0.5 - 1.0 mL/min。

柱温

上限为 80 $^{\circ}$ C。在 10 - 50 $^{\circ}$ C 范围内使用时色谱柱使用寿命可达到最佳。

检测器

UV，配有 10 mm 生物惰性标准流通池的 G1315D。

BIO
inert



色谱柱选择

Bio IEX HPLC 色谱柱, PEEK		
描述	Bio SAX 部件号	Bio WAX 部件号
4.6 x 250 mm, 10 μ m	5190-2475	5190-2495
4.6 x 50 mm, 10 μ m	5190-2476	5190-2496
4.6 x 250 mm, 5 μ m	5190-2467	5190-2487
4.6 x 50 mm, 5 μ m	5190-2468	5190-2488
2.1 x 250 mm, 10 μ m	5190-2479	5190-2499
2.1 x 50 mm, 10 μ m	5190-2480	5190-2400
2.1 x 250 mm, 5 μ m	5190-2471	5190-2491
2.1 x 50 mm, 5 μ m	5190-2472	5190-2492

Bio IEX HPLC 色谱柱, 不锈钢		
描述	Bio SAX 部件号	Bio WAX 部件号
21.2 x 250 mm, 5 μ m	5190-6883	5190-6877
10 x 250 mm, 5 μ m	5190-6882	5190-6876
4.6 x 250 mm, 10 μ m	5190-2473	5190-2493
4.6 x 150 mm, 3 μ m		5190-6875
4.6 x 250 mm, 5 μ m	5190-2465	5190-2485
4.6 x 50 mm, 3 μ m	5190-2463	5190-2483
4.6 x 50 mm, 1.7 μ m	5190-2461	5190-2481



Agilent Technologies

色谱柱选择

键合相	
SAX (强阴离子交换) – N(CH ₃) ₃	
WAX (弱阴离子交换) – N(C ₂ H ₅) ₂	
样品	色谱柱
多肽和蛋白质	Bio SAX 和 WAX
球蛋白和多肽	PL-SAX 1000Å
极大的生物分子/高速	PL-SAX 4000Å
病毒、DNA、大蛋白质、质粒	Bio-Monolith QA
DNA、噬菌体	Bio-Monolith DEAE

快速分离方案

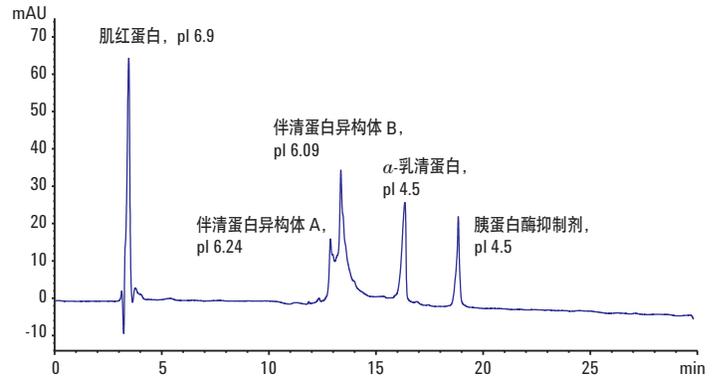
色谱柱: Bio WAX, 4.6 × 250 mm, 5 μm
 缓冲液 A: 20 mM Tris-HCl, pH 8.5
 缓冲液 B: A + 500 mM NaCl
 梯度: 50 mm 柱在 30 min 内 B 由 1% 升至 100%,
 250 mm 柱在 60 min 内 B 由 1% 升至 100%
 流速: 0.5 mL/min
 温度: 室温
 进样: 10 μL
 样品: 1 mg/mL (溶于流动相中)
 检测器: UV, 220/280 nm
 说明: 或者可将 pH 梯度 (pH 由高到低) 用于洗脱。

PL-SAX 强阴离子交换色谱柱

描述	1000Å		4000Å	
	部件号	部件号	部件号	部件号
100 x 300 mm, 10 μm	PL1851-2102	PL1851-2103	PL1851-2102	PL1851-2103
50 x 150 mm, 30 μm	PL1751-3702	PL1751-3703	PL1751-3702	PL1751-3703
50 x 150 mm, 10 μm	PL1751-3102	PL1751-3103	PL1751-3102	PL1751-3103
25 x 150 mm, 30 μm	PL1251-3702	PL1251-3703	PL1251-3702	PL1251-3703
25 x 150 mm, 10 μm	PL1251-3102	PL1251-3103	PL1251-3102	PL1251-3103
25 x 50 mm, 10 μm	PL1251-1102	PL1251-1103	PL1251-1102	PL1251-1103
4.6 x 250 mm, 30 μm	PL1551-5702	PL1551-5703	PL1551-5702	PL1551-5703
4.6 x 150 mm, 30 μm	PL1551-3702	PL1551-3703	PL1551-3702	PL1551-3703
4.6 x 250 mm, 10 μm	PL1551-5102	PL1551-5103	PL1551-5102	PL1551-5103
4.6 x 150 mm, 10 μm	PL1551-3102	PL1551-3103	PL1551-3102	PL1551-3103
4.6 x 150 mm, 8 μm	PL1551-3802	PL1551-3803	PL1551-3802	PL1551-3803
4.6 x 50 mm, 8 μm	PL1551-1802	PL1551-1803	PL1551-1802	PL1551-1803
4.6 x 50 mm, 5 μm	PL1551-1502	PL1551-1503	PL1551-1502	PL1551-1503
2.1 x 150 mm, 8 μm	PL1951-3802	PL1951-3803	PL1951-3802	PL1951-3803
2.1 x 50 mm, 8 μm	PL1951-1802	PL1951-1803	PL1951-1802	PL1951-1803
2.1 x 50 mm, 5 μm	PL1951-1502	PL1951-1503	PL1951-1502	PL1951-1503
1 x 50 mm, 5 μm	PL1351-1502	PL1351-1503	PL1351-1502	PL1351-1503

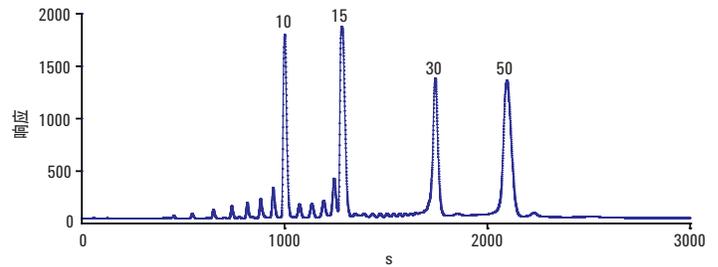
Bio-Monolith HPLC 色谱柱

描述	部件号
Bio-Monolith QA	5069-3635
Bio-Monolith DEAE	5069-3636



线性梯度下蛋白质的 AEX 分离色谱图, 采用 2 M NaCl 作为洗脱盐

色谱柱: Bio WAX, 4.6 × 250 mm, 5 μm
 缓冲液 A: 20 mM Tris, pH 7.6
 缓冲液 B: 20 mM Tris, pH 7.6 + 2 M NaCl
 梯度: 5 min – 100% A, 20 min – 70% B, 25 min – 100% B
 温度: 25 °C
 流速: 0.5 mL/min
 进样量: 5 μL



加标 10、15、30 和 50 mer 标准片段 (主峰) 的多聚-T-寡核苷酸标准品的高分离度分离结果

色谱柱: PL-SAX 1000Å, 4.6 × 50 mm, 8 μm
 缓冲液 A: 7:93 v/v ACN:100 mM TEAA, pH 8.5
 缓冲液 B: 7:93 v/v ACN:100 mM TEAA, 1 M NH₄Cl, pH 8.5
 梯度: 在 10 min 内 B 由 0% 升至 40%, 再在 14 min 内由 40% 升至 70%, 最后在 25 min 内由 40% 升至 100%
 温度: 60 °C
 流速: 1.5 mL/min
 检测器: 220 nm

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本文中的信息、说明和技术指标如有变更, 恕不另行通知。

© 安捷伦科技 (中国) 有限公司, 2015

2015 年 8 月 1 日, 中国出版

版本号 5991-6106CHCN



Agilent Technologies