

음이온 교환 크로마토그래피 워크플로

AGILENT BIO IEX HPLC 컬럼

AGILENT PL-SAX STRONG ANION-EXCHANGE 컬럼

AGILENT BIO-MONOLITH HPLC 컬럼

본 문서에서 애질런트 응용 화학자들은 생체분자 특성 규명에 필요한 최적의 LC 시스템과 그 구성에 대한 권장사항을 공유합니다. 또한 여러분들이 시작하는 일반적인 방법에 대한 지침을 제공하고, 이 방법은 더 나아가 사용자의 특정한 분리 목표를 달성하는 방법을 최적화할 수 있습니다. 추가 응용 정보에 대해서는 www.agilent.com/chem/advancebio를 참조하시기 바랍니다

Agilent 1260 Infinity Bio-Inert LC 시스템

지침

- 산성 단백질: SAX 또는 WAX
- 이동상의 pH를 선택할 때 단백질의 등전점(pI)을 고려하십시오. $pH > pI$ 일 경우 단백질은 순 음전하를 띕니다.
- 시작 완충액의 pH와 pI는 0.5 ~ 1 pH 단위 차이가 있어야 합니다(음이온 교환의 경우 pH는 pI보다 커야함).
- 음이온 교환에서 pI 값을 모를 경우 pH 8.0에서 시작합니다.
- 가장 넓은 분석 범위를 가지는 SAX 컬럼으로 시작합니다. WAX는 선택성 차이를 제공하는 데 사용될 수 있습니다.
- 음이온 교환 완충액(pH 7 ~ 10)에는 bis-tris, tris, 디에타올아민(diethanoamine), 피페라진(piperazine)이 있습니다.

컬럼 선택

Bio IEX HPLC 컬럼, PEEK		
설명	Bio SAX 부품 번호	Bio WAX 부품 번호
4.6 x 250mm, 10 μ m	5190-2475	5190-2495
4.6 x 50mm, 10 μ m	5190-2476	5190-2496
4.6 x 250mm, 5 μ m	5190-2467	5190-2487
4.6 x 50mm, 5 μ m	5190-2468	5190-2488
2.1 x 250mm, 10 μ m	5190-2479	5190-2499
2.1 x 50mm, 10 μ m	5190-2480	5190-2400
2.1 x 250mm, 5 μ m	5190-2471	5190-2491
2.1 x 50mm, 5 μ m	5190-2472	5190-2492

이동상

이동상은 원하는 작동 pH를 유지하기 위해 완충액을 포함해야 합니다. 완충액의 농도는 일반적으로 20mM이며 용리염(Elution salt)의 농도는 일반적으로 400 ~ 500mM입니다.

Agilent Buffer Advisor는 4가지 원액을 다양한 비율로 혼합하여 필요한 기울기 프로파일을 작성하는 데 사용됩니다.

시료 주입

주입량이 1 ~ 10 μ L일 때 최적의 분리능을 제공합니다. 시료는 시작 조건보다 낮은 이온 세기를 가진 이동상에 용해될 수 있어야 합니다.

유속

4.6mm ID 컬럼의 일반적인 유속은 0.5 ~ 1.0mL/분입니다.

컬럼 온도

최고 온도는 80°C이며 10 ~ 50°C에서 컬럼 사용 수명은 최대로 연장됩니다.

검출

UV, 10mm 생체 비활성 표준 흐름 셀을 포함한 G1315D



Bio IEX HPLC 컬럼, 스테인리스		
설명	Bio SAX 부품 번호	Bio WAX 부품 번호
21.2 x 250mm, 5 μ m	5190-6883	5190-6877
10 x 250mm, 5 μ m	5190-6882	5190-6876
4.6 x 250mm, 10 μ m	5190-2473	5190-2493
4.6 x 150mm, 3 μ m		5190-6875
4.6 x 250mm, 5 μ m	5190-2465	5190-2485
4.6 x 50mm, 3 μ m	5190-2463	5190-2483
4.6 x 50mm, 1.7 μ m	5190-2461	5190-2481



Agilent Technologies

컬럼 선택

결합상	
SAX(강 음이온 교환) – $N(CH_3)_3$	
WAX(약 음이온 교환) – $N(C_2H_5)_2$	
시료	컬럼
펩타이드 및 단백질	Bio SAX 및 WAX
구상 단백질 및 펩타이드	PL-SAX 1000Å
초대형 생체 분자/고속	PL-SAX 4000Å
바이러스, DNA, 큰 단백질, 플라스미드	Bio-Monolith QA
DNS, 박테리오파지 (bacteriophages)	Bio-Monolith DEAE

고속 분리 프로토콜

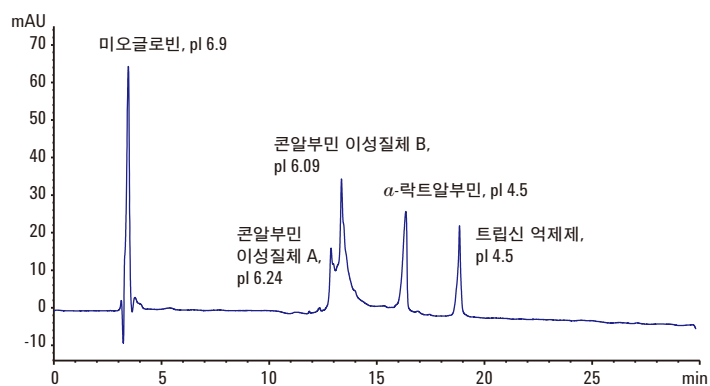
컬럼: Bio WAX, 4.6 × 250mm, 5μm
완충액 A: 20mM Tris-HCl, pH 8.5
완충액 B: A + 500mM NaCl
이동상 변화도: 1 ~ 100% B, 50mm 컬럼일 경우 30분, 250mm 컬럼의 경우 60분
유속: 0.5mL/분
온도: 실온
주입량: 10μL
시료: 1mg/mL(이동상에 용해됨)
검출: UV, 220/280nm
주의: 또는 pH 변화도(높은 pH에서 낮은 pH 순으로)에 따라 용리됩니다.

PL-SAX Strong Anion-exchange 컬럼

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

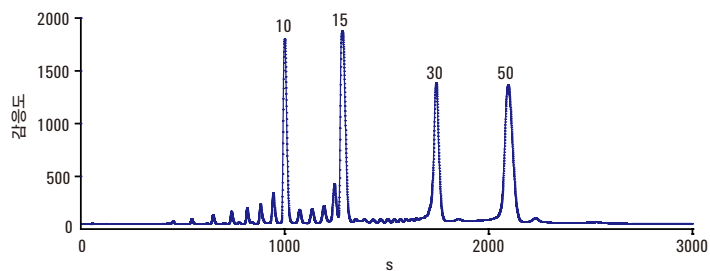
Bio-Monolith HPLC 컬럼

설명	부품 번호
Bio-Monolith QA	5069-3635
Bio-Monolith DEAE	5069-3636



선형 기울기 조건에서의 단백질 AEX 분리 크로마토그램, 2M NaCl을 용리염으로 사용

컬럼: Bio WAX, 4.6 × 250mm, 5μm
완충액 A: 20mM Tris, pH 7.6
완충액 B: 20mM Tris, pH 7.6 + 2M NaCl
이동상 변화도: 5분 – 100% A, 20분 – 70% B, 25분 – 100% B
온도: 25°C
유속: 0.5mL/분
주입 부피: 5μL



크기 10, 15, 30 및 50mer가 첨가된 표준물질인 poly-T-oligonucleotide의 고분리능 분리(주요 피크)

컬럼: PL-SAX 1000Å, 4.6 × 50mm, 8μm
완충액 A: 7.93 v/v ACN: 100mm TEAA, pH 8.5
완충액 B: 7.93 v/v ACN: 100mm TEAA, 1 M NH_4Cl , pH 8.5
이동상 변화도: 10분 안에 0% B에서 40% B로, 14분 안에 40% B에서 70% B로, 25분 안에 70% B에서 100% B로 변화됨
온도: 60°C
유속: 1.5mL/분
검출기: 220nm

애질런트는 이 문서에 포함된 오류나 이 문서의 제공, 이행 또는 사용과 관련하여 발생한 부수적인 또는 결과적인 손해에 대해 책임을 지지 않습니다.

이 발행물의 정보, 설명 및 사양은 사전 공지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc., 2015
2015년 8월 1일 한국에서 인쇄
발행물 번호 5991-6106KO

서울 강남구 역삼로 542 신사제2빌딩 2층 우)135-848
한국애질런트테크놀로지스(주) 생명과학/화학분석 사업부
고객지원센터 080-004-5090 www.agilent.co.kr



Agilent Technologies