



生物分子纯化

用于多肽、寡核苷酸和蛋白质
纯化的色谱柱和填料

The Measure of Confidence



Agilent Technologies

出色质量，理想性能

用于从制备到生产进行高质 量色谱纯化的刚性聚合物

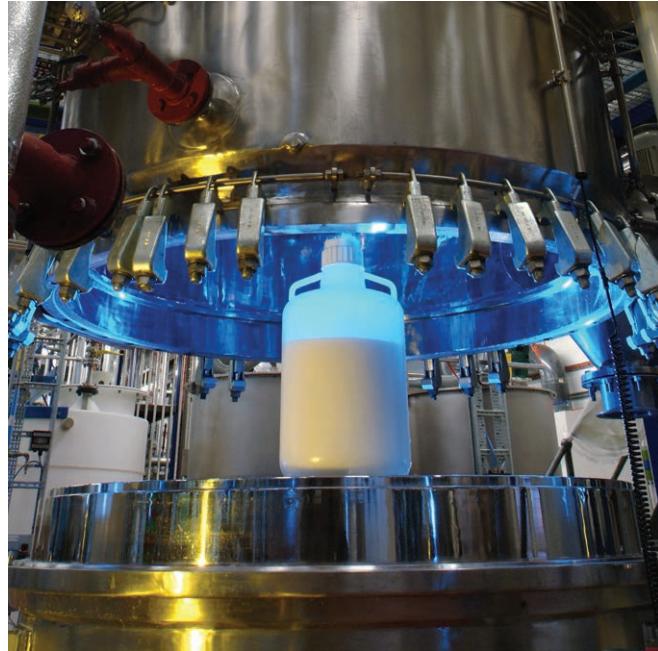
在收购瓦里安和 Polymer Laboratories 产品系列之后，安捷伦已成为出色的色谱、制药和诊断应用领域的特种聚合物颗粒填料制造商。

我们的高性能填料通过对聚苯乙烯/二乙烯基苯 (PS/DVB) 进行聚合控制和改性而制得。我们的专利生产工艺可以实现对孔径、粒径以及表面化学特性的全面控制，从而确保了批次间的重现性。优化的孔隙结构提供了纯化各种生物分子（从小分子肽和寡核苷酸到大分子蛋白质和 DNA 片段）所需的色谱特性。

- Agilent PLRP-S 是一种刚性大孔填料，适用于反相色谱
- Agilent PL-SAX 是一种强阴离子交换填料
- Agilent PL-SCX 是一种强阳离子交换填料

主要优势

- 填料更加洁净且无填料颗粒降解，从而避免了产物污染，提高了化合物纯度
- 经优化的孔径范围以及结构和化学稳定性可提高载样量和通量
- 批次间重现性可提供一致的色谱纯化，让您对结果充满信心
- 色谱柱稳定性和承受腐蚀性原位清洗过程的能力赋予其长使用寿命，同时提高了效率



安捷伦产能大于 4 吨，是规模超大的散装填料供应商之一

纯化色谱柱和填料创新产品的发展历程

1976	开始生产 PS/DVB 颗粒填料。
1984	推出 PLRP-S 反相填料。
1986	开始制造制备型 HPLC 填料。 推出 PL-SAX 强阴离子交换填料。
1988	推出诊断用胶乳颗粒填料。
1992	推出固相合成载体。
1997	通过 ISO 9001 认证。
1999	开始制造生产级 HPLC 填料。
2002	用高品质的生产设施制造生产级散装填料。
2005	瓦里安公司收购 Polymer Laboratories。
2007	成立制备到生产仪器解决方案团队。
2009	推出 SepTech 反相填料。
2010	安捷伦科技有限公司收购瓦里安公司。

制备到生产色谱的未来发展

可比拟的性能

在反相色谱中，烷基键合硅胶的疏水性与 PS/DVB 基质表面的芳香基团的疏水性差异较大。但是，在独特的 C₁₈ 和 C₄ 硅胶柱以及 PLRP-S 色谱柱上测得的容量因子 k'（由公式 $k' = (t_R - t_0)/t_0$ 计算得出，其中 t_0 是无吸附溶质的保留时间）表明四种多肽具有相似的保留性质，但选择性不同。

条件

色谱柱	PLRP-S 和硅胶柱，4.6 × 250 mm
洗脱液 A	含 0.1% TFA 的 20% 乙腈/80% 水溶液
洗脱液 B	含 0.1% TFA 的 50% 乙腈/50% 水溶液
梯度	15 min 内 B 从 0% 升至 100%
流速	1.0 mL/min
检测器	UV, 220 nm

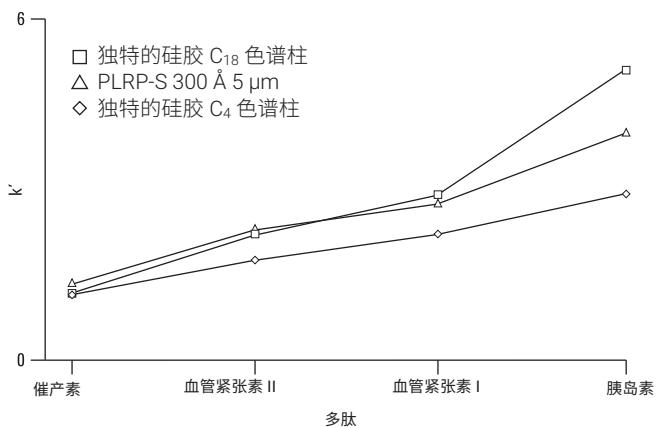


图 1. 保留特性对比：PLRP-S 和硅胶基填料

但是，色谱柱/填料的使用寿命无法进行类似比较；安捷伦聚合物填料具有长期理化稳定性，在需要执行腐蚀性原位清洗 (CIP) 方案或在极端 pH 和高温条件下进行分离时，能够确保提供可重现的分离度，同时可大大延长色谱柱使用寿命。

溶剂兼容性

聚合物结构的高交联密度使填料具有极低的溶胀性，从而确保能够与大范围内的各种有机改性剂实现完全梯度兼容。使用 PLRP-S 时，无需对色谱柱使用特定有机改性剂，因为可以在不同改性剂之间进行快速替换。

典型的流动相改性剂

乙腈	乙醇	正丙醇
丙酮	异丙醇	四氢呋喃
二甲基亚砜	甲醇	

梯度稳定性

对于 PLRP-S 填料，整个水溶液/有机溶液梯度过程的操作压力和压力变化与硅胶基材料相当，且低于低交联度聚合物材料。当洗脱液的有机物含量发生变化时，PLRP-S 填料的溶胀情况未发生变化。

条件

色谱柱	PLRP-S 和硅胶柱，4.6 × 250 mm
洗脱液 A	含 0.1% TFA 的 20% 乙腈/80% 水溶液
洗脱液 B	含 0.1% TFA 的 50% 乙腈/50% 水溶液
梯度	15 min 内 B 从 0% 升至 100%
流速	1.0 mL/min
检测器	UV, 220 nm

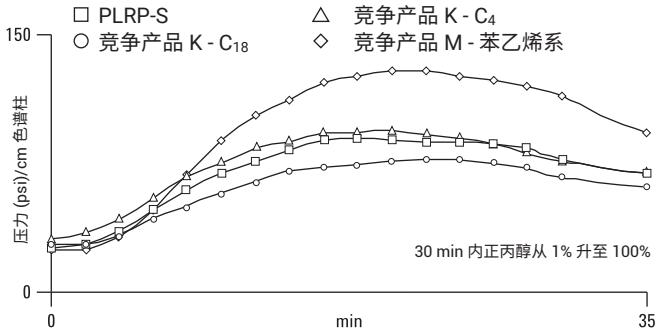


图 2. 整个水溶液/有机溶液梯度过程的压力，表明使用 PLRP-S 材料时整个梯度过程的压力与使用硅胶基填料时的压力相当

化学和 pH 稳定性

提高选择性，增大载样量

PLRP-S、PL-SAX 和 PL-SCX 填料在整个 pH 范围内都具有稳定性。通过调节 pH 可以控制目标分子和/或杂质的表观疏水性和净离子电荷，从而提高选择性。

一般来说，多肽分离在酸性 pH 下进行，这在硅胶基材料的 pH 稳定性范围内。PLRP-S 填料中不含硅醇基，因此可以使用低浓度的三氟乙酸 (TFA) 进行反相分离。或者，可以在中性和碱性 pH 条件下进行分离，以提高纯化分离度和载样量。

条件

色谱柱	PLRP-S 100 Å 10–15 µm, 4.6 × 250 mm
洗脱液 A	改性剂水溶液，如上面每幅色谱图所详述
洗脱液 B	改性剂乙腈溶液，如上面每幅色谱图所详述
流速	1.0 mL/min
检测器	UV, 220 nm

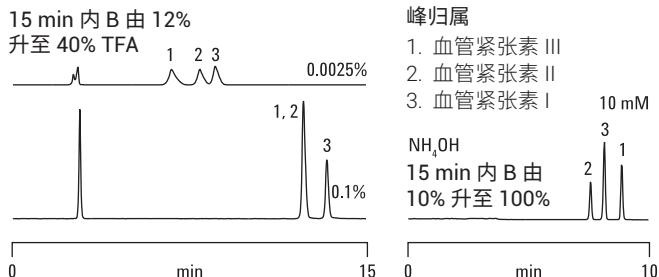


图 3. pH 对多肽选择性的影响

原位清洗

安捷伦填料具有化学稳定性，可以耐受腐蚀性极强的净化/清洗过程。可以使用各种增溶剂（例如 NaOH）在填充柱中对填料进行 CIP，也可以在散装的形式下清洗填料，以确保能够获得无可比拟的色谱柱和填料寿命。

条件

色谱柱	PLRP-S 300 Å 10–15 µm, 4.6 × 250 mm
洗脱液 A	0.1% TFA 的水溶液
洗脱液 B	0.1% TFA 的乙腈溶液
梯度	15 min 内 B 从 20% 升至 50%
流速	1.0 mL/min
检测器	UV, 220 nm

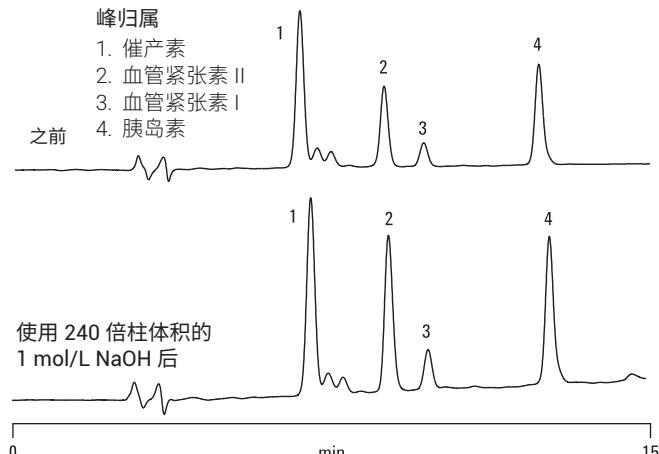


图 4. 1 mol/L 氢氧化钠稳定性

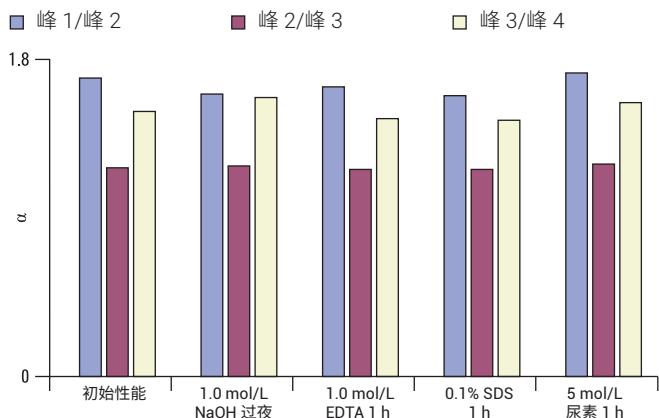


图 5. CIP 程序后的多肽选择性

物理和热稳定性

物理稳定性

安捷伦的颗粒填料具有极高的物理稳定性，在高达 6000 psi 下仍可保持稳定。它们可装填在高性能的高压色谱柱硬件中，也可以填充在动态轴向压缩 (DAC) 系统中。在 HPLC 的压力和流速条件下运行时，这些颗粒填料不会被压缩。

为获得尽可能大的工艺经济效益和通量，用于纯化的线速度和操作压力必须与所用设备兼容。因此，我们生产了涵盖系统运行压力范围的各种粒径的颗粒填料。

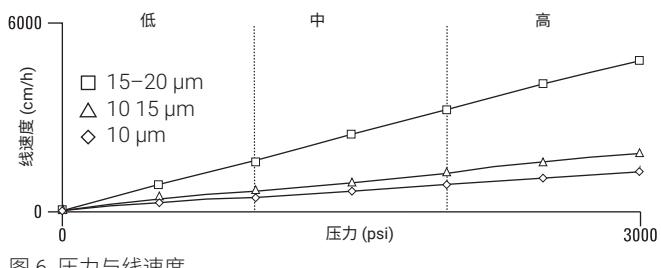


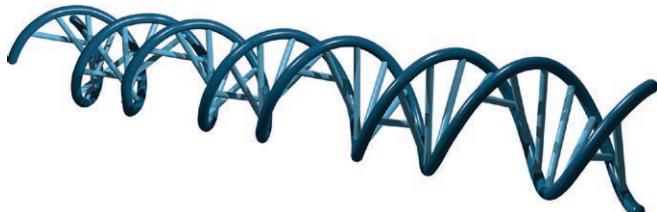
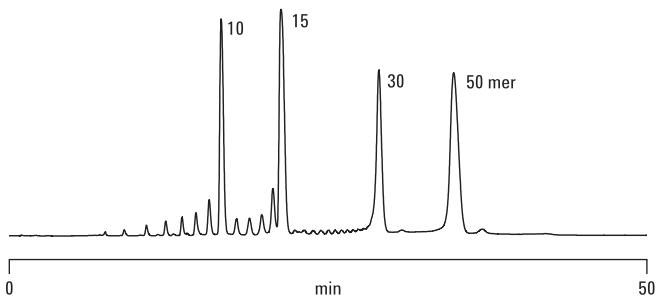
图 6. 压力与线速度

热稳定性

安捷伦填料对于需要升高温度的分离（例如寡核苷酸分离，通常在 60 °C 下运行）具有热稳定性。

条件

色谱柱	PL-SAX 1000 Å 8 μm, 4.6 × 50 mm
洗脱液 A	93% 0.1 mol/L TEAA, pH 8.5/7% 乙腈
洗脱液 B	93% 0.1 mol/L TEAA, 1 mol/L 氯化铵, pH 8.5/7% 乙腈
梯度	10 min 内 B 从 0% 升至 40%, 14 min 内 B 从 40% 升至 70%, 25 min 内 B 从 70% 升至 100%
流速	1.5 mL/min
温度	60 °C



DNA 寡核苷酸片段示意图

经优化的色谱柱寿命和孔隙结构

无与伦比的色谱柱寿命

聚合物颗粒填料的刚性可防止压缩，确保在生物治疗纯化的高线速度条件下填充床的稳定性。因此，您可以加快运行速度以获得更高通量以及重新装填之间更多的循环运行次数，进而提高经济效益。

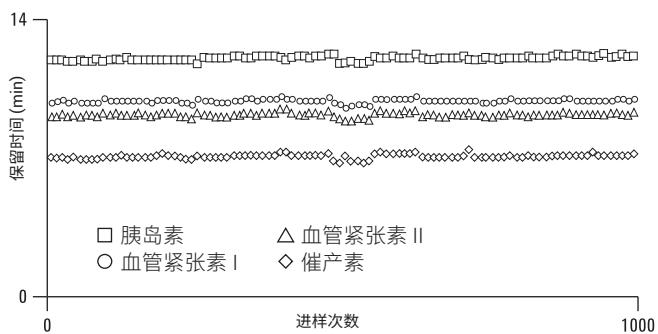


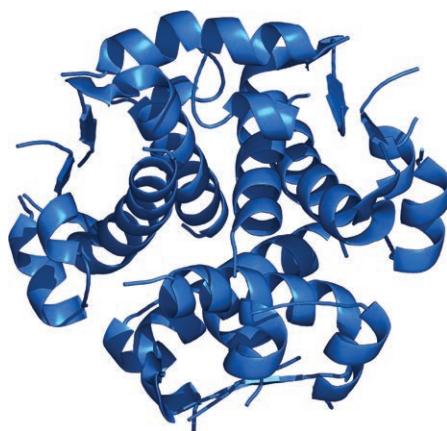
图 8. 1000 次进样后，保留时间、分离度和柱效保持不变

经优化的孔隙结构

为了尽可能提高通量，填料必须具有尽可能大的载样量。载样量受孔径、孔径分布和孔体积影响，因为这些参数决定了可用的表面积。待纯化分子的大小决定了填料的最小孔径。

表 1. 容量 mg/mL CV

色谱柱	孔径 (Å)	胰岛素	溶菌酶	BSA	寡核苷酸
PLRP-S	100	90	55	5	72
	300	60	45	25	54
PL-SAX	1000	-	-	80	-
	4000	-	-	35	-
PL-SCX	100	-	65	-	-
	4000	-	20	-	-



胰岛素结构示意图

优化的孔隙结构可确保优异的传质性能。多肽原料可以在高线速度下进行加载，大大降低了对动态容量的影响。

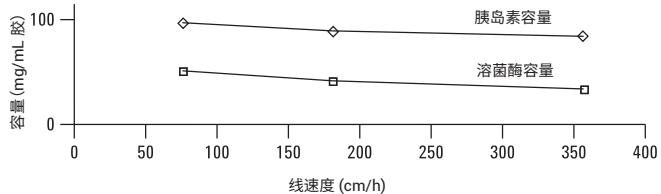


图 9. 容量随线速度的变化，PLRP-S 100 Å

无可浸出物，提高经济效益

稳定的聚合物颗粒填料可确保获得更洁净的生物产品

我们严格的生产流程可避免制得副产物，从而生产洁净的填料。与传统硅胶反相材料不同，我们的填料不会受到基础颗粒填料降解或键合相剥离的影响。因此您的产物不会受到硅胶和/或烷基配体污染，保证了不同运行之间的重现性。

条件

色谱柱	硅胶 C ₁₈ , 4.6 × 250 mm
洗脱液 A	75% 0.01 mol/L 磷酸盐, pH 2.5/25% 乙腈
洗脱液 B	25% 0.01 mol/L 磷酸盐, pH 2.5/75% 乙腈
梯度	30 min 内 B 从 5% 升至 30%
流速	1.0 mL/min
检测器	UV, 220 nm

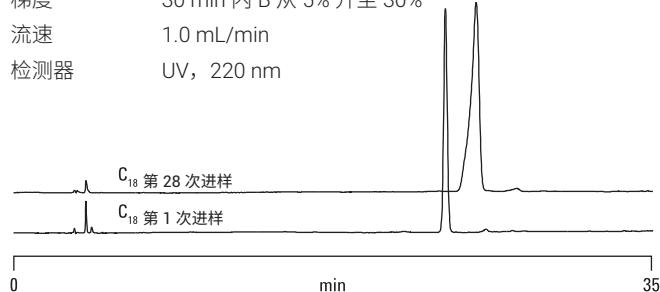


图 10. 使用碱性多肽溶液时硅胶降解

如图 10 所示，用全新硅胶 C₁₈ 色谱柱评估了在 pH 9 下进行合成多肽纯化时所收集的馏分的纯度。在低 pH 缓冲系统中仅进样 28 次后，色谱柱保留特性发生变化，柱效降低。而 PLRP-S 色谱柱不受此影响。

大大提高工艺经济效益

安捷伦聚合物填料的单位体积成本与独特的生产型反相硅胶或“柔性”聚合物相当。此外，PLRP-S、PL-SAX 和 PL-SCX 填料在通量、经济性和可靠性方面具有优势。

特征	优势
填料更加洁净，无可浸出物。	无产物污染，无需浪费时间进一步纯化。
化学稳定性更高，无颗粒填料降解或键合相剥离。	→
宽孔径范围可大幅提高载样量。	
经优化的孔隙结构可提高上样速度。	
高机械稳定性允许使用高线速度。	→ 提高通量。
高化学稳定性确保可使用各种 pH 以提高选择性和载样量。	
批次间重现性保证了不同色谱柱间的一致性。	一致的色谱纯化提高了结果的可信度。
高化学稳定性确保色谱柱整个生命周期内的重现性。	→
刚性颗粒填料赋予填充柱高稳定性。	极大地延长了色谱柱寿命，提高了运行的经济效益。
高化学稳定性允许对“脏”原料进行腐蚀性 CIP 以及色谱柱再生。	→
避免由于色谱柱卸料/重新装填/验证导致的生产停机时间。	

通常，使用高 pH 或高温来提高选择性或需要进行腐蚀性 CIP 时，可能需要多达四根硅胶柱才能生成与一根 PLRP-S 色谱柱相同量的纯化产物。

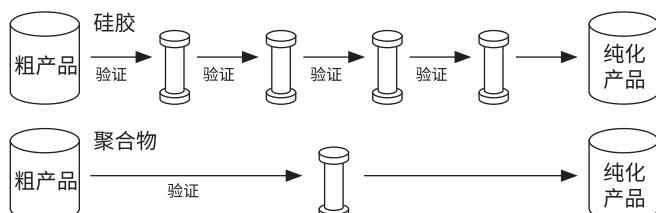


图 11. 提高工艺经济性降低了生产成本

合成多肽

反相色谱

- 出色的选择性
- 易于放大，可从 μg 放大至数 kg
- 各种规模下都具有高柱效，可在整个过程进行分析
- 在整个 pH 范围内进行色谱分析

多肽的分析和纯化

通过采用可在产物 B 之前洗脱出杂质 A 的洗脱液 pH，使用自置换提高纯化通量。

条件

色谱柱 Prochrom LC110，内径 25 mm，装填 40 g PLRP-S 300 \AA 8 μm
制备载样量 6 g 柱上

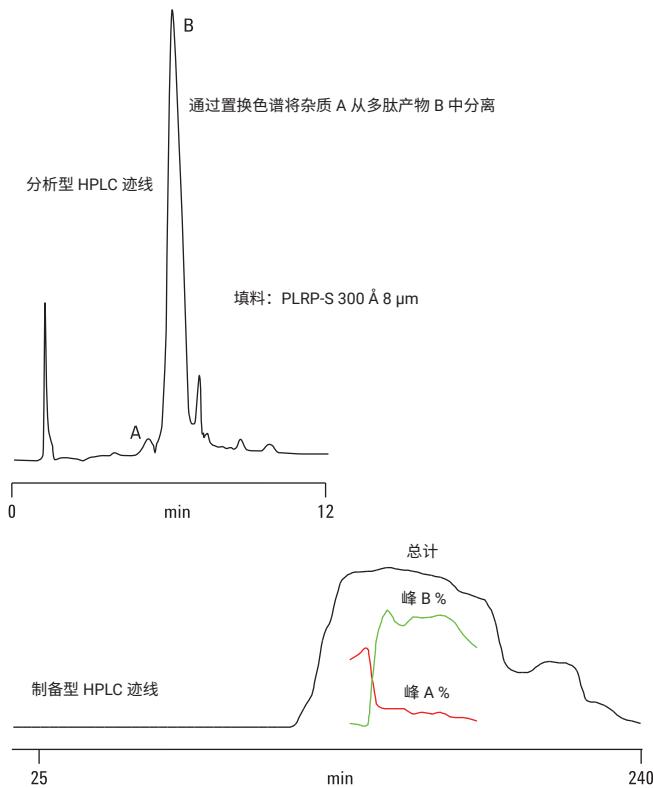


图 12. 使用 PLRP-S 300 \AA 在自置换模式下对含 25 个氨基酸的多肽的纯化

高容量/高速度

为了尽可能提高通量，色谱填料必须能在高线速度和高载样量下操作。PLRP-S 填料经优化的孔径和高机械稳定性非常适合提供高通量，进而提高工艺经济效益。

合成多肽的纯化

使用 PLRP-S 100 \AA 10 μm 填料可大大提高效率，合成多肽可在过载情况下进行纯化。

条件

样品 Phe-ile-val 三肽
色谱柱 PLRP-S 100 \AA 10 μm
洗脱液 A 含 0.1% TFA 的 95% 水溶液
洗脱液 B 含 0.1% TFA 的 50% 乙腈溶液
梯度 20 min 内 B 从 0% 升至 100%
线速度 360 cm/h
检测器 UV, 220 nm

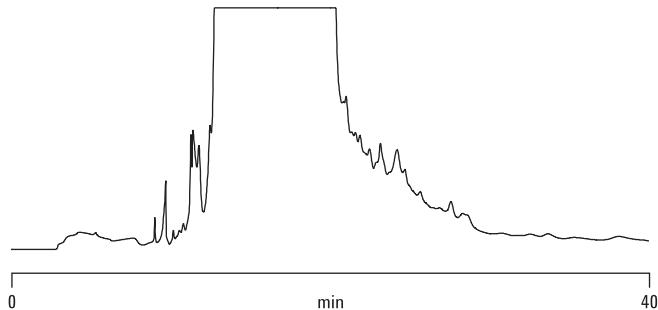
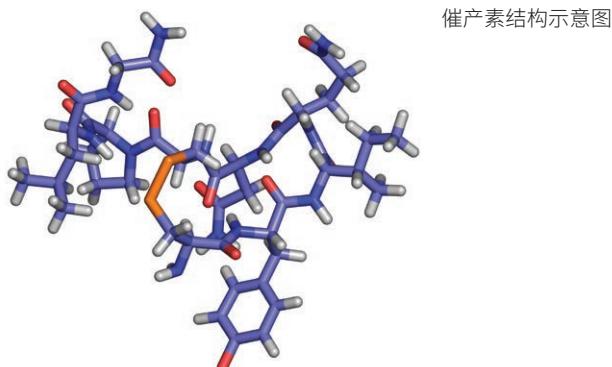


图 13. 在单次纯化运行中的纯度为 95%，产率为 86%



重组多肽/蛋白质

反相色谱

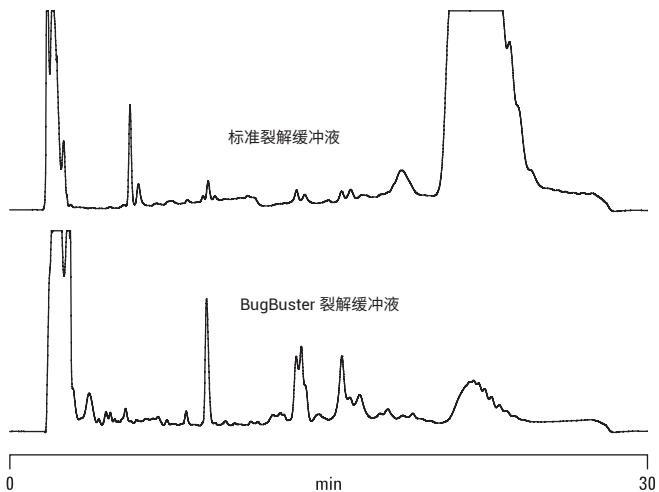
- 经优化的 300 Å 和 1000 Å 孔径
- 高分离度，适用于精制纯化
- 耐受稳定的 CIP 过程
- 利用 1 mol/L NaOH 去除热原

大肠杆菌裂解物

可在过滤后将大肠杆菌裂解物直接进样至 PLRP-S 色谱柱以除去细胞碎片/不溶性物质。标准裂解缓冲液和市售 BugBuster 裂解缓冲液的洗脱曲线如下所示。

条件

色谱柱 PLRP-S 300 Å 10 µm
洗脱液 A 含 0.1% TFA 的 95% 水溶液
洗脱液 B 含 0.1% TFA 的 80% 乙腈溶液
梯度 20 min 内 B 从 0% 升至 100%；然后以 100% 保持 5 min
线速度 360 cm/h
检测器 UV, 220 nm



原位清洗方案

大肠杆菌裂解物是一种极其复杂的基质，含有多种细胞成分。为了评估 PLRP-S 填料的稳定性，进样 200 µL 过滤后的粗裂解物的等分样品。

95 次粗裂解物进样后，色谱柱性能降低。压力增加、塔板数减少、对标准多肽混合物的分离性能变差。然后使用 1 mol/L NaOH/ACN 和 THF/ACN 执行严格的 CIP 方案。如四种合成多肽的分离结果所示，在 CIP 后，柱压降低，塔板数恢复，对多肽的分离效果与“新”色谱柱相当。

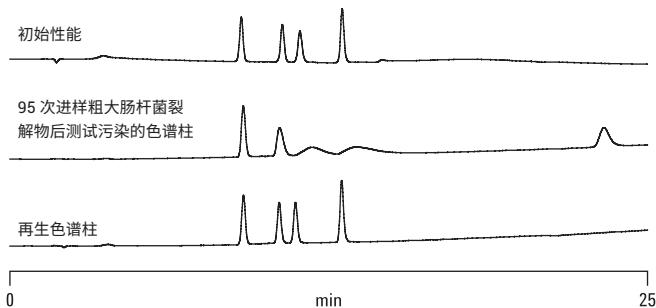
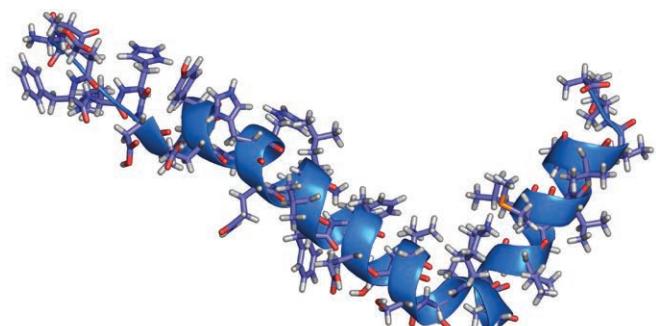


图 15. 通过合成多肽分离进行色谱柱评估，结果显示在进行 CIP 后 PLRP-S 色谱柱完全再生



与阿尔茨海默病相关的多肽结构示意图

合成寡核苷酸

阴离子交换

- 高 pH 下具有高色谱性能
- 优异的温度稳定性
- 经优化专用于生物大分子的大孔径
- 高分离度

使用高 pH 可改善色谱纯化中寡核苷酸易发生自结合或聚集的现象。

硫醇化寡核苷酸

使用 PL-SAX 材料时，可利用高 pH 洗脱液分离完全硫醇化的寡核苷酸与未完全硫醇化的杂质。

条件

样品	硫醇化寡核苷酸
色谱柱	PL-SAX 1000 Å 10 µm
洗脱液 A	1 mol/L NaOH
洗脱液 B	1 mol/L NaOH, 2 mol/L NaCl
梯度	25 min 内 B 从 75% 升至 100%; 然后以 100% 保持 15 min
线速度	360 cm/h
检测器	UV, 260 nm

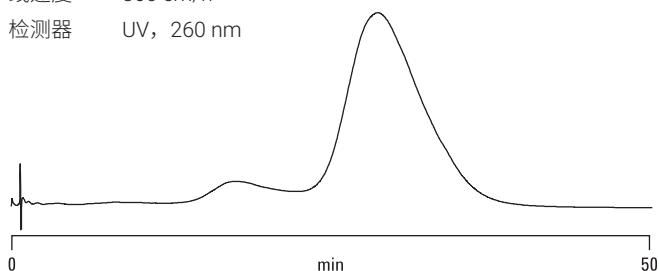


图 16. 化学惰性聚合物基质上的强阴离子交换官能团即使在 1 mol/L NaOH 中也能产生电荷差异

寡核苷酸纯化

对于许多应用来说，全长寡核苷酸 (n) 是从失败序列 (包括 n-1) 中纯化得到。

条件

色谱柱	PLRP-S 100 Å, 50 × 4.6 mm 内径
样品	100 nmol 纯化

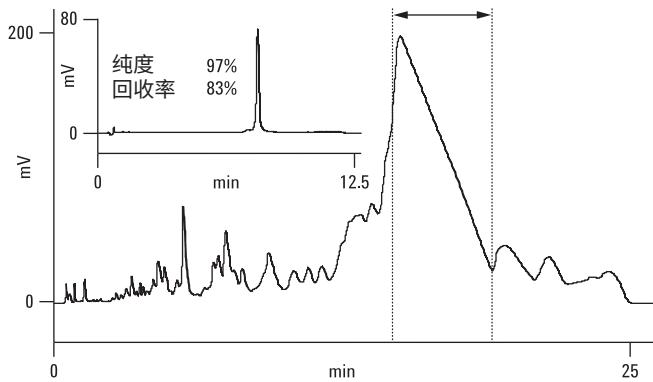


图 17. 使用 PLRP-S 100 Å 纯化 25 mer 脱三苯甲基保护的寡核苷酸，并对馏分进行定量分析（内插图）

反相色谱

三苯甲基保护/脱三苯甲基保护

反相 PLRP-S 填料 (100 Å 和 300 Å) 的孔径经过优化，使其成为了寡核苷酸纯化的理想选择。对于三苯甲基保护/脱三苯甲基保护的寡核苷酸分离，PLRP-S 填料的高可用表面积和均匀洁净的表面可大幅提高载样量和回收率。

离子对色谱

对于动态离子对色谱，小粒径 PLRP-S 可实现高分离度分离。

表 2. 使用四丁基溴化铵 (TBAB) 离子对试剂的 PLRP-S 100 Å 填料上的 20-mer 寡核苷酸载样量

温度	载样量 (mg/mL)
60 °C	72
室温	63

订购信息

制备型色谱柱和填料

Agilent PLRP-S、PL-SAX 和 PL-SCX 填料可用于预填充的制备型/生产型色谱柱中。除 5 μm 粒径外，其他所有材料均可批量散装供应。标准包装规格为 100 g 和 1 kg，同时可提供更多数量的填料用于填充内径长达 80 cm 的生产型色谱柱。

Agilent PLRP-S

	5 μm*	8 μm	10 μm	10–15 μm	15–20 μm	30 μm	50 μm
100 Å	✓	✓	✓	✓	✓	✓	
300 Å	✓	✓	✓	✓	✓	✓	
1000 Å	✓	✓	✓			✓	✓
4000 Å	✓	✓	✓			✓	

Agilent PL-SAX 和 PL-SCX

	5 μm*	8 μm	10 μm	30 μm
1000 Å	✓	✓	✓	✓
4000 Å	✓	✓	✓	✓

* 5 μm 粒径推荐用于高效实验室制备内径为 25 mm 及以下的色谱柱

可提供的制备型和生产型色谱柱尺寸

内径	长度		
	50 mm	150 mm	300 mm
4.6 mm	✓	✓	✓
7.5 mm	✓	✓	✓
25 mm		✓	✓
50 mm		✓	✓
100 mm			✓

Agilent PLRP-S 色谱柱

尺寸 (mm)	100 Å	300 Å	1000 Å	4000 Å
8 μm				
7.5 × 50		PL1112-1801	PL1112-1802	PL1112-1803
7.5 × 150		PL1112-3801	PL1112-3802	
7.5 × 300	PL1112-6800	PL1112-6801		
25 × 150	PL1212-3800	PL1212-3801		
25 × 300	PL1212-6800	PL1212-6801		
50 × 150	PL1712-3800	PL1712-3801		
50 × 300	PL1712-6800	PL1712-6801		
100 × 300	PL1812-6800	PL1812-6801		
10 μm				
25 × 50			PL1212-1102	PL1212-1103
25 × 150	PL1212-3100	PL1212-3101	PL1212-3102	PL1212-3103
25 × 300	PL1212-6100	PL1212-6101		
50 × 150	PL1712-3100	PL1712-3101	PL1712-3102	PL1712-3103
50 × 300	PL1712-6100	PL1712-6101		
100 × 300	PL1812-6100	PL1812-6101		
10–15 μm				
25 × 300	PL1212-6400	PL1212-6401		
50 × 150	PL1712-3400	PL1712-3401		
50 × 300	PL1712-6400	PL1712-6401		
100 × 300	PL1812-6400	PL1812-6401		
15–20 μm				
25 × 300	PL1212-6200	PL1212-6201		
50 × 150	PL1712-3200	PL1712-3201		
50 × 300	PL1712-6200	PL1712-6201		
100 × 300	PL1812-6200	PL1812-6201		
30 μm				
25 × 150			PL1212-3702	PL1212-3703
50 × 150			PL1712-3702	PL1712-3703
100 × 300			PL1812-3102	PL1812-3103

Agilent PL-SAX 和 PL-SCX 色谱柱

尺寸 (mm)	PL-SAX 1000 Å	PL-SAX 4000 Å	PL-SCX 1000 Å	PL-SCX 4000 Å
	8 μm	10 μm	30 μm	
8 μm				
7.5 × 50	PL1151-1802	PL1151-1803	PL1145-1802	PL1145-1803
7.5 × 150	PL1151-3802	PL1151-3803	PL1145-3802	PL1145-3803
10 μm				
25 × 50	PL1251-1102	PL1251-1103	PL1245-1102	PL1245-1103
25 × 150	PL1251-3102	PL1251-3103	PL1245-3102	PL1245-3103
50 × 150	PL1751-3102	PL1751-3103	PL1745-3102	PL1745-3103
100 × 300	PL1851-2102	PL1851-2103	PL1845-2102	PL1845-2103
30 μm				
25 × 150	PL1251-3702	PL1251-3703	PL1245-3702	PL1245-3703
50 × 150	PL1751-3702	PL1751-3703	PL1745-3702	PL1745-3703
100 × 300	PL1851-3102	PL1851-3103	PL1845-3102	PL1845-3103

Agilent PLRP-S 散装填料

单位	100 Å	300 Å	1000 Å	4000 Å
8 µm				
1 kg	PL1412-6800	PL1412-6801		
10 µm				
100 g	PL1412-4100	PL1412-4101	PL1412-4102	PL1412-4103
1 kg	PL1412-6100	PL1412-6101	PL1412-6102	PL1412-6103
10–15 µm				
100 g	PL1412-4400	PL1412-4401		
1 kg	PL1412-6400	PL1412-6401		
15–20 µm				
100 g	PL1412-4200	PL1412-4201		
1 kg	PL1412-6200	PL1412-6201		
30 µm				
100 g		PL1412-4702	PL1412-4703	
1 kg		PL1412-6702	PL1412-6703	
50 µm				
100 g	PL1412-4K00	PL1412-4K01	PL1412-4K02	
1 kg	PL1412-6K00	PL1412-6K01	PL1412-6K02	

安捷伦化学键合相：为您提供可靠的分析和控制

安捷伦广泛的化学键合相选择让您即使面临困难的分析也能实现完全控制。我们生产的色谱柱和填料几乎适用于所有小分子、大分子和合成聚合物分析技术，可从传统的 5 µm 缩放至“快速液相色谱”亚 2 µm 和表面多孔颗粒，并可放大到制备级。

安捷伦对产品生产全程的严格监查可确保为您提供出色的色谱柱一致性和性能。凭借 40 多年聚合物和硅胶键合相的生产经验，我们的团队不断致力于开发前沿的色谱柱产品，帮助您始终保持领军地位，大幅提高您的分析效率。

安捷伦可在每一步为您提供支持，值得您的信赖。安捷伦的基础架构使配送网络能够在全球任何地方快速为您提供所需产品。这种基础架构还可提供全球范围内的色谱柱和化学键合相技术支持，以及在需要时为您快速解决问题。

Agilent PL-SAX 和 PL-SCX 散装填料

单位	PL-SAX 1000 Å	PL-SAX 4000 Å	PL-SCX 1000 Å	PL-SCX 4000 Å
10 µm				
100 g	PL1451-4102	PL1451-4103	PL1445-4102	PL1445-4103
1 kg	PL1451-6102	PL1451-6103	PL1445-6102	PL1445-6103
30 µm				
100 g	PL1451-4702	PL1451-4703	PL1445-4702	PL1445-4703
1 kg	PL1451-6702	PL1451-6703	PL1445-6702	PL1445-6703

定制色谱柱和散装填料的订购

如果您在上表中没有找到您所需要的孔径/粒度和色谱柱规格的组合，或没有您需要的散装填料数量，请联系您当地的销售办事处，他们将帮助您进行定制订购。

了解更多信息

www.agilent.com

查找安捷伦分公司或授权经销商

www.agilent.com/chem/contactus-cn

安捷伦客户服务中心

800-820-6778, 400-820-6778 (手机用户)

联系我们

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价

www.agilent.com/chem/erfq-cn

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。

本资料中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2014

2014 年 10 月 9 日，中国出版

出版号 5990-8335ZHCN



Agilent Technologies