

安捷伦离子交换 BioHPLC 色谱柱

满怀信心地快速表征蛋白质的电荷异构体

The Measure of Confidence



Agilent Technologies

现在您将拥有更多色谱柱和更多选择 来改善您的蛋白质电荷异构体分析

离子交换 (IEX) 是一项重要技术，用于分离蛋白质和生物治疗药物。和 SEC 一样，IEX 可以分离天然状态的蛋白质；并且，作为一项制备技术，它对纯化和分离蛋白质也大有用途。

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等化学反应，因此可能会导致其电荷异质性发生改变。

蛋白质分析中，在给定 pH 下发生电荷变异，说明蛋白质分子一级结构发生了改变，从而导致额外的蛋白构象产生。这些称为异构体（或电荷异构体），可以用 IEX 色谱对其进行分离。

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。

安捷伦拥有离子交换 BioHPLC 色谱柱系列产品，帮助您分离和表征生物分子
无论您的目标是表征最新的生物药物还是分离目标蛋白质，安捷伦都可以帮助您从容应对分离和鉴定蛋白质电荷异构体的挑战。

我们的离子交换 BioHPLC 色谱柱采用先进设计并经过测试，可为您的实验室带来：

- 高效率和高重现性
- 快速、高分离度分离
- 更稳定的方法
- 宽范围的孔径意味着您可以有效分离任何大小的蛋白质及其电荷异构体
- 装载复杂样品时极少出现色谱柱污染

作为生物制药业领先的供应商，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成本、快速推出能够改善目标群体生活质量的产品。

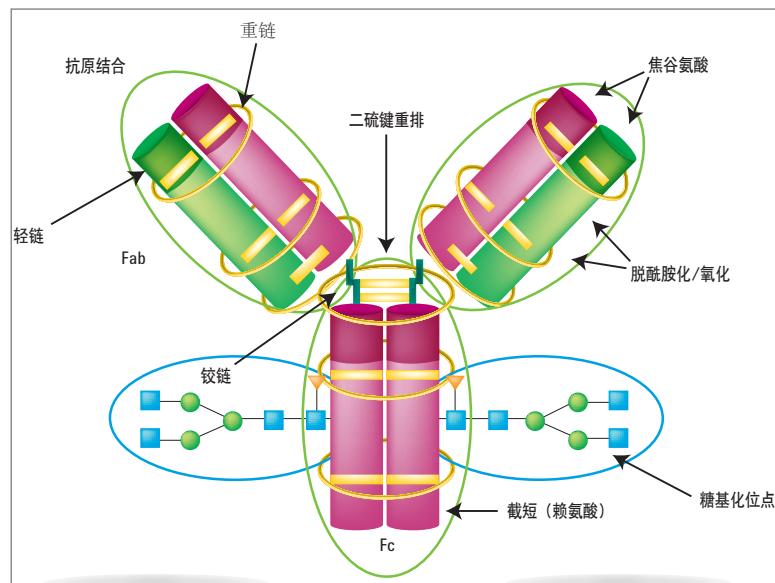


图 1. 通过不同程度的氨基酸糖基化、脱酰胺化和氧化作用，以及重链的赖氨酸截短生成的单克隆抗体的电荷异构体

如需了解有关实现快速、
高分离度蛋白质分离的更多信息，
请访问 agilent.com/chem/AdvanceBio

内容提示：涵盖最新生物分子分析应用的安捷伦离子交换 BIOHPLC 色谱柱全套产品

蛋白质和多肽分离 – Agilent Bio IEX 色谱柱	4
单克隆抗体分离 – Agilent Bio MAb 色谱柱	8
生物大分子分离 – Agilent Bio-Monolith 色谱柱	12
合成寡核苷酸分离 – Agilent PL-SAX 色谱柱	14
多种生物分子和溶质分离 – Agilent PL-SCX 色谱柱	16
色谱柱订购信息	18
用于生物分子分析应用的液相色谱仪器及软件	22

AGILENT BIO IEX 色谱柱

蛋白质、多肽以及其他生物分子的、基于电荷的高分离度分离

Bio IEX 填料



离子交换基团

(SCX, WCX, SAX, WAX)

填充了无孔、离子交换聚合物填料的 Agilent Bio IEX HPLC 色谱柱可实现多肽、寡核苷酸和蛋白质的高回收率和高效分离。

- **准确的结果:** 高度交联的非多孔聚苯乙烯二乙烯基苯硬质填料表面结合亲水聚合物层，避免了非特异键合
- **更高的分析速度和分离度:** 小粒径填料、涂层和键合能够耐高压
- **提高柱容量:** 均一的、致密填装的离子交换功能团化学键合到亲水聚合物层上
- **当与安捷伦缓冲液顾问软件和 1260 Infinity 生物惰性四元液相色谱联用时，方法更稳定**
- **多种选择助您优化分离:** 适用于任何蛋白质分离，有四种不同固定相可选 — 弱阳离子交换 (WCX)、弱阴离子交换 (WAX)、强阳离子交换 (SCX) 和强阴离子交换 (SAX)

利用更小粒径的填料和更短的色谱柱实现更快分析 — 分离速度提高 30%

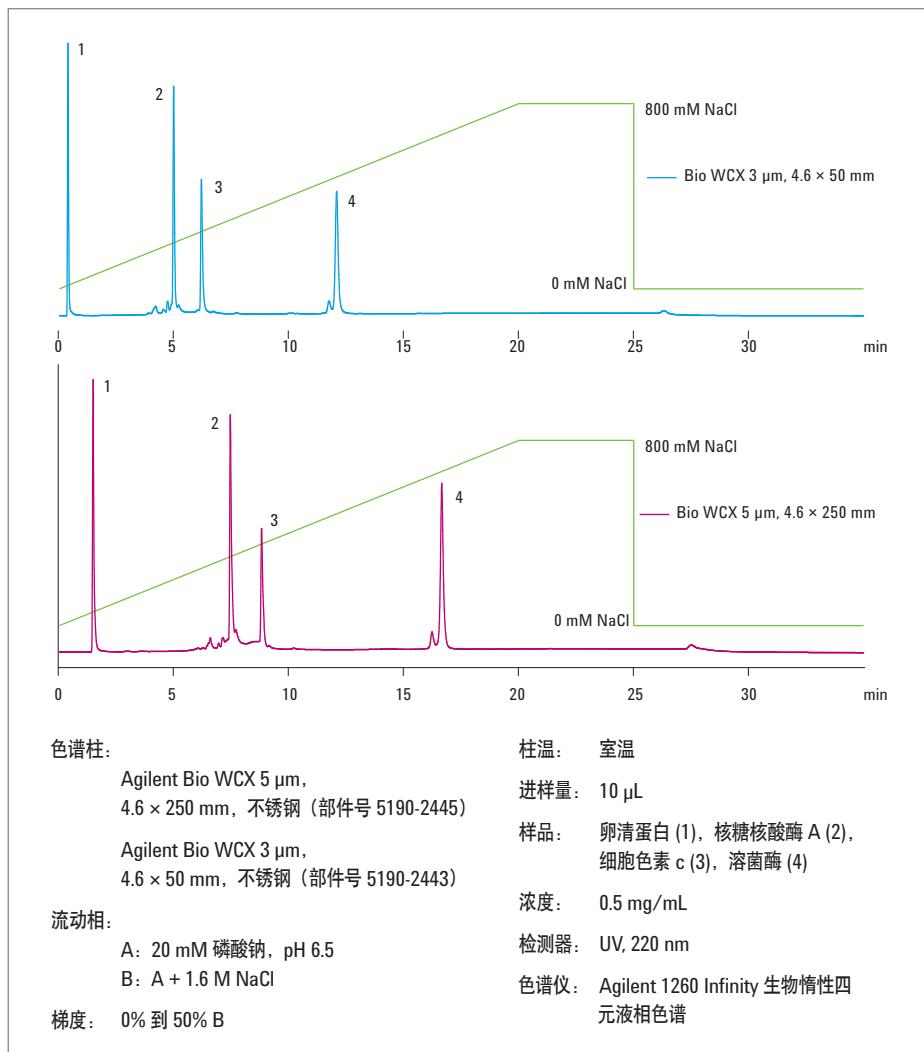
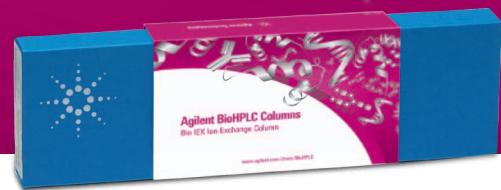
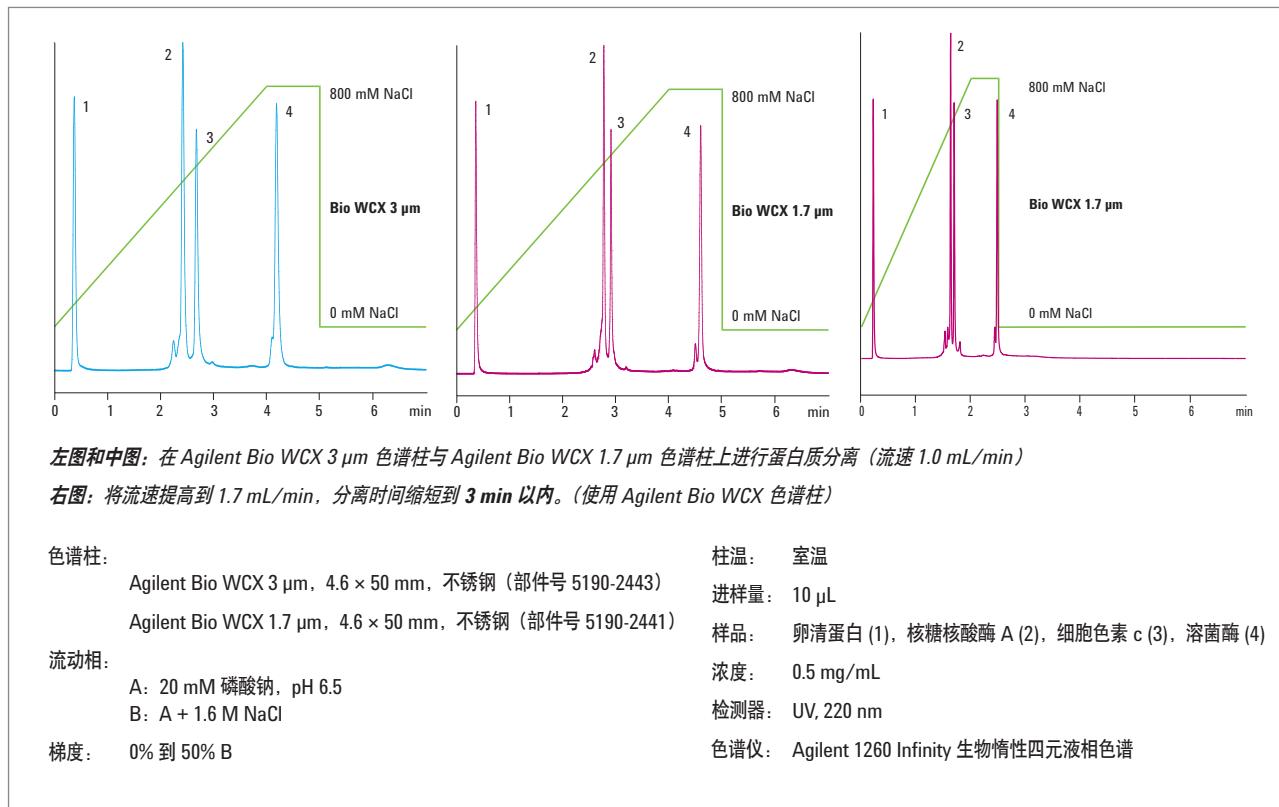


图 2. 使用 Agilent Bio WCX 4.6 \times 50 mm (3 μm) 色谱柱和 Agilent Bio WCX 4.6 \times 250 mm (5 μm) 色谱柱分离蛋白质的色谱图对比 (流速 1.0 mL/min)。通过更小填料粒径和更短色谱柱实现了更快的分析 — 样品从较长色谱柱中 17 min 流出，而在较短色谱柱流出仅需 12 min



较小粒径填料显著提高分离度



左图和中图: 在 Agilent Bio WCX 3 μm 色谱柱与 Agilent Bio WCX 1.7 μm 色谱柱上进行蛋白质分离 (流速 1.0 mL/min)

右图: 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)

色谱柱:

Agilent Bio WCX 3 μm , 4.6 \times 50 mm, 不锈钢 (部件号 5190-2443)
Agilent Bio WCX 1.7 μm , 4.6 \times 50 mm, 不锈钢 (部件号 5190-2441)

流动相:

A: 20 mM 磷酸钠, pH 6.5
B: A + 1.6 M NaCl

梯度: 0% 到 50% B

柱温: 室温

进样量: 10 μL

样品: 卵清蛋白 (1), 核糖核酸酶 A (2), 细胞色素 c (3), 溶菌酶 (4)

浓度: 0.5 mg/mL

检测器: UV, 220 nm

色谱仪: Agilent 1260 Infinity 生物惰性四元液相色谱

图 3. 通过提高流速减少分析时间 (无损峰形和分离度)

如需了解有关实现快速、高分离度蛋白质分离的更多信息, 请访问 agilent.com/chem/AdvanceBio

借助缓冲液顾问软件缩短和简化 IEX 工作流程

使用由安捷伦缓冲液顾问软件计算得到的动态混合四元梯度，可帮助您通过实验设计原则获得可靠的方法。使用缓冲液顾问软件可以显著缩短缓冲液制备时间，尤其是与手动制备预混二元梯度的缓冲液相比。此外，缓冲液制备的准确性也会得到提高，您可将这个更稳定的方法转移到其他实验室。

安捷伦缓冲液顾问软件为阴离子和阳离子交换色谱提供了众多的预先验证、用户可选的缓冲系统，并提供了制备最适合储备溶液所需的配方。使用软件对 pH 进行优化，与手动准备的缓冲液相比，梯度具有更高的准确性和精度。安捷伦缓冲液顾问软件可以重新计算四元梯度，并确保各浓度的酸性和碱性缓冲液组分保持所需的恒定 pH 值。

只用了四种流动相洗脱液便完成了 20 个实验的初筛，而此前需要 40 种洗脱液。安捷伦缓冲液顾问软件可自动混合各种缓冲液，得到需要的 pH 和缓冲液强度。然后就可以在四元泵中程控运行梯度时间表。

在 15 h 的无人值守操作中完成了全部 20 个实验，并且筛选出了最佳结果。在 1.0 mL/min 流速和 0 到 500 mM NaCl 的梯度下，全部实验仅用了不到 1 L 洗脱液。

优化电荷异构体分离的自动化方法开发

色谱柱:	Agilent Bio WCX 3 μ m, 4.6 x 50 mm, 不锈钢 (部件号 5190-2443) Agilent Bio SCX 3 μ m, 4.6 x 50 mm, 不锈钢 (部件号 5190-2423)
流动相:	A: 水 B: 1.5 M NaCl C: 40 mM NaH ₂ PO ₄ D: 40 mM Na ₂ HPO ₄ 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
梯度:	色谱图的获取条件: pH 5.0 到 7.0, 缓冲液强度 10 - 25 mM 0 到 500 mM NaCl, 0 到 15 min 500 mM NaCl, 15 到 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
流速:	1.0 mL/min
柱温:	室温
进样量:	5 μ L
样品:	IgG 单克隆抗体
浓度:	2 mg/mL (溶于 20 mM 磷酸钠缓冲液, pH 6.0)
检测器:	UV, 220 nm
色谱仪:	Agilent 1260 Infinity 生物惰性四元液相色谱

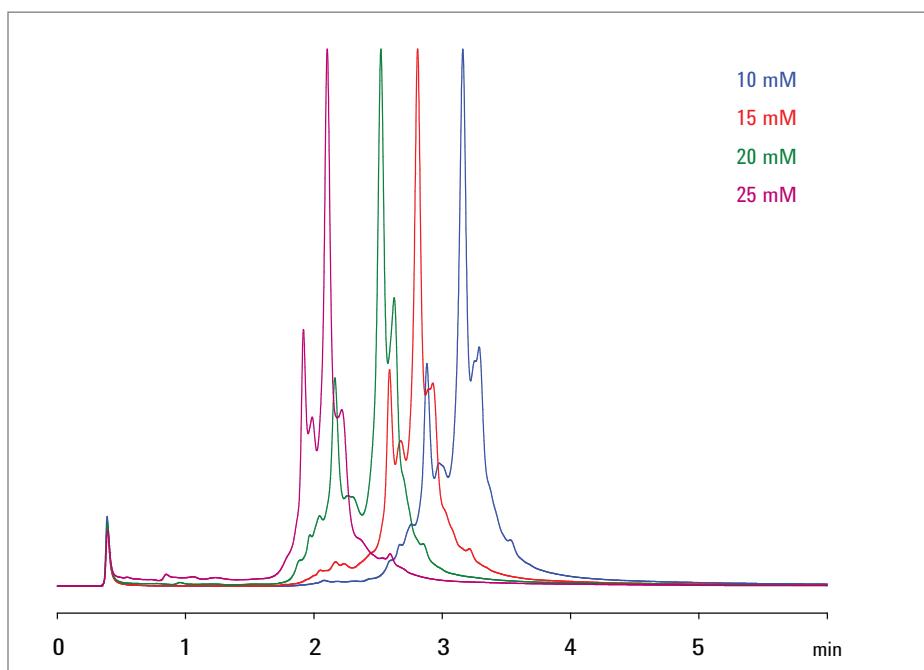


图 4. 从单克隆 IgG 分离的筛选色谱图中，在 pH 6.5 条件下优化缓冲液强度



图 4 展示的 20 组实验的四张色谱图均在 pH 6.5 这一个条件下获得, 选自 Bio SCX 3 μm 色谱柱分离系列。为了使整个系列实验的结果更加直观, 我们计算了主成分峰与其较早流出的主要污染峰之间的分离度。使用 Bio SCX 和 Bio WCX 色谱柱获得的最终数据分别见图 5a 和 5b。强阳离子交换柱实现了更稳定的方法, 因为强阳离子交换剂在宽 pH 范围内具有恒定电荷。

不出所料, 弱阳离子交换吸附剂在 pH 5.0 时不能使色谱峰分离, 因为在这些条件下弱阳离子交换吸附剂不带电荷, 故在离子交换模式下不起作用。随着 pH 值的升高, 分离得到改善。

缓冲液顾问软件的另一个优势是它能以不同比例混合储备液, 建立线性 pH 梯度。使得类似的分离效果可被获得, 但同时, 我们也观察到了选择性差异 (例如与图 4 相比), 这可能有助于分离。

用于稳定方法开发的 DOE 实验

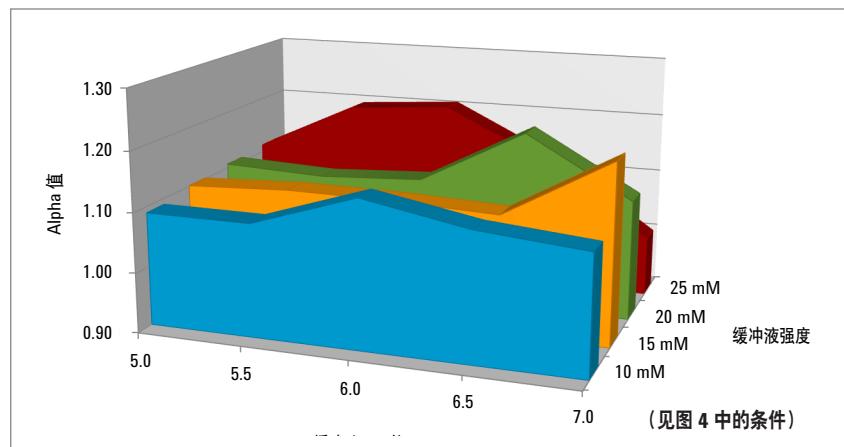


图 5a. 采用 Bio SCX 3 μm , 4.6 x 50 mm 色谱柱的 Alpha 值绘图

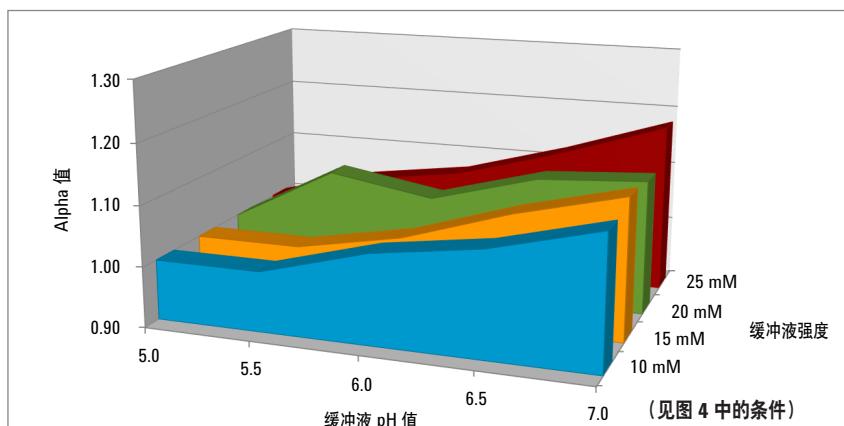


图 5b. 采用 Bio WCX 3 μm , 4.6 x 50 mm 色谱柱的 Alpha 值绘图

节省缓冲液制备的时间和成本



手动制备缓冲液



全自动在线动态混合缓冲液

安捷伦缓冲液顾问软件有助于自动制备缓冲液。仅 4 种储备液的动态混合免除了制备和滴定多种缓冲液的需要。

提高性能: 4 种储备液能够进行超过 88 种分析, 可更快速地获得结果

节省时间: 四元混合可轻松混匀多种不同 pH 值的缓冲液, 从而避免了繁琐的缓冲液制备步骤

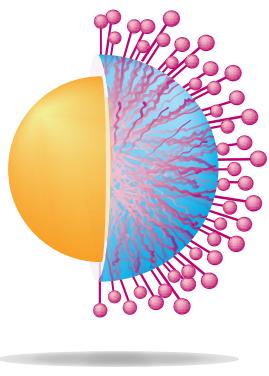
降低成本: 在分析样品之前对 pH 值筛选条件进行评估, 减少了样品浪费、缩短了分析时间

如需了解有关实现快速、高分离度蛋白质分离的更多信息, 请访问 agilent.com/chem/AdvanceBio

AGILENT BIO MAB 色谱柱

专为单克隆抗体的高回收率分离而设计

Bio MAb 填料



Agilent Bio MAb HPLC 色谱柱： 从内到外的优越性能

- 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
- 亲水聚合物层消除了大多数非特异性键合
- 高度均一、致密填装的弱阳离子交换 (WCX) 功能团化学键合到亲水聚合物层上

使用 Bio MAb 色谱柱鉴定重链的羧基端截短

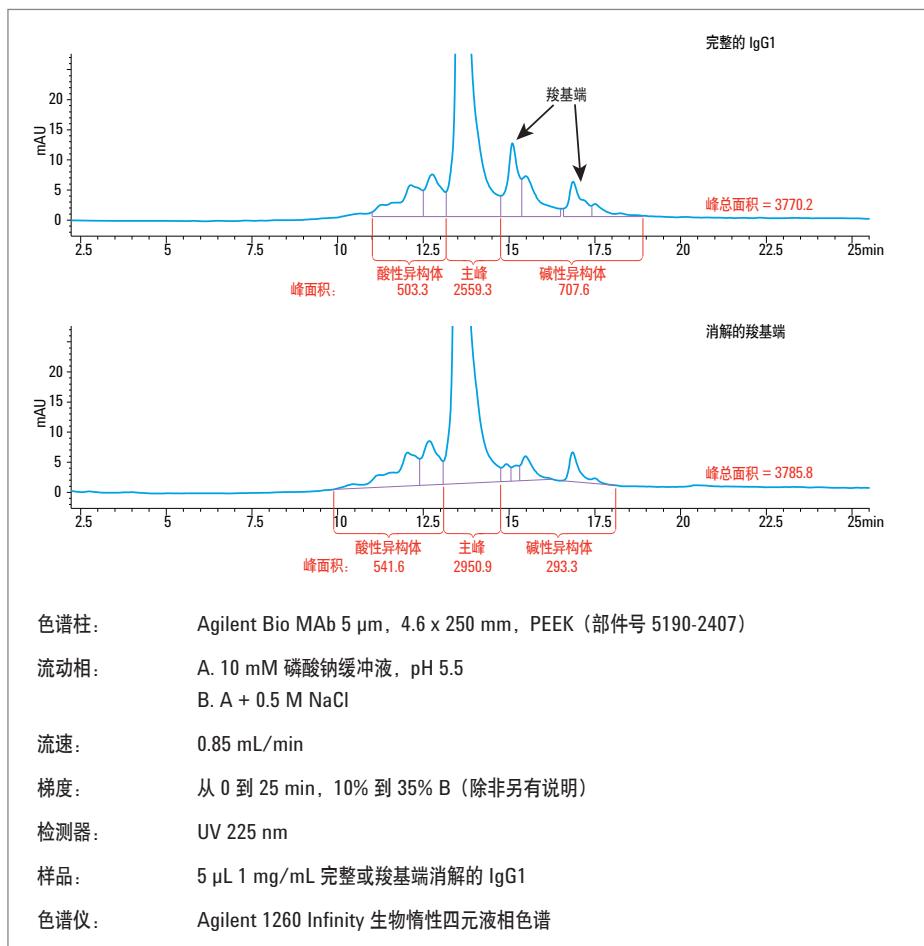


图 6. 在 Agilent 1260 Infinity 生物惰性四元液相色谱系统上使用 Agilent Bio MAb 5 μ m 色谱柱分析羧基端消解的 IgG1 (来源 A) 的计算数据。色谱柱展现出高分离度, 可以进一步改善色谱峰鉴定和准确定量



抗体的疗效分析要求速度快、精度高。Agilent Bio MAb 色谱柱具有无与伦比的性能优势，因此其成为高分离度抗体分离的理想选择。

- 更高的准确性：高度交联的非多孔球形聚（苯乙烯/二乙烯基苯）硬质填料表面结合亲水聚合物层，消除了非特异键合
- 出色的 MAb 分析：通过优化工艺处理的高密度外壳将弱阳离子交换固定相包裹成颗粒
- 方法稳定性：经证实的优异性能可以提供准确一致的分析结果
- 多种选择助您优化分离：多种填料粒径可选，实现最高分离度的抗体分离

pH 梯度 – 用于电荷异构体分析的强大替代技术

一种针对电荷异构体分析的传统离子交换方法替代技术正脱颖而出，这项技术使用 pH 梯度。

传统离子交换方法使用提高离子强度的洗脱剂从 IEX 色谱柱洗脱和分离蛋白质和异构体。随着盐度的提高，蛋白质和 IEX 色谱柱间的键合作用逐渐减弱，最终分离出蛋白质。

pH 梯度法可在阳离子交换色谱中使用。pH 值升高会使蛋白质变成中性（或带负电荷），然后流出色谱柱。该方法日渐流行，因为高分离度较高，并且在新型 HPLC 上非常容易运行这些方法。

下列图表比较了这两种方法。

基于盐的 IEX

优势	<ul style="list-style-type: none">方法已确立使用标准 HPLC 仪器可以直接收集洗脱液
劣势	<ul style="list-style-type: none">不能耐受样品基质中极端的盐浓度和 pH需要进行方法开发，通常很耗时



IgG 单克隆抗体分析使用 Agilent Bio MAb 5 μ m, 4.6 x 50 mm 色谱柱，采用了 6.5 到 7.5 (0-20 min, 50 mM) 的 pH 梯度

基于 pH 的 IEX

优势	<ul style="list-style-type: none">多产品选择可以耐受样品盐浓度和 pH 的变化使用常规 HPLC 仪器和技术能够分析处理中的样品使用如缓冲液顾问软件等工具会更简便快速
劣势	<ul style="list-style-type: none">技术相对较新

如需了解有关实现快速、高分离度蛋白质分离的更多信息，请访问 agilent.com/chem/AdvanceBio

重现性和精度

Agilent Bio MAb 色谱柱采用性能优异的树脂，使其成为基于电荷分离单克隆抗体的理想选择。安捷伦缓冲液顾问软件将帮助您完成 pH 梯度设置。

表 1 和 2 显示 IgG1 平行 6 次进样测定平均保留时间和峰面积的 RSD 值。Bio MAb 色谱柱对于获得具有低 RSD 值的高重现性和高精度的分析方法来说，至关重要。

与实际方法相比， $\pm 10\%$ 的进样量变化会导致峰面积 RSD 值发生显著偏离；当然，这个由于离子交换色谱柱载样量造成的偏差是可以预料的。在针对实验条件进行一些更改后，该色谱模式没有发生进一步的显著变化，这表明方法是稳定的。

使用 Bio MAb 色谱柱获得精确定量的可靠方法

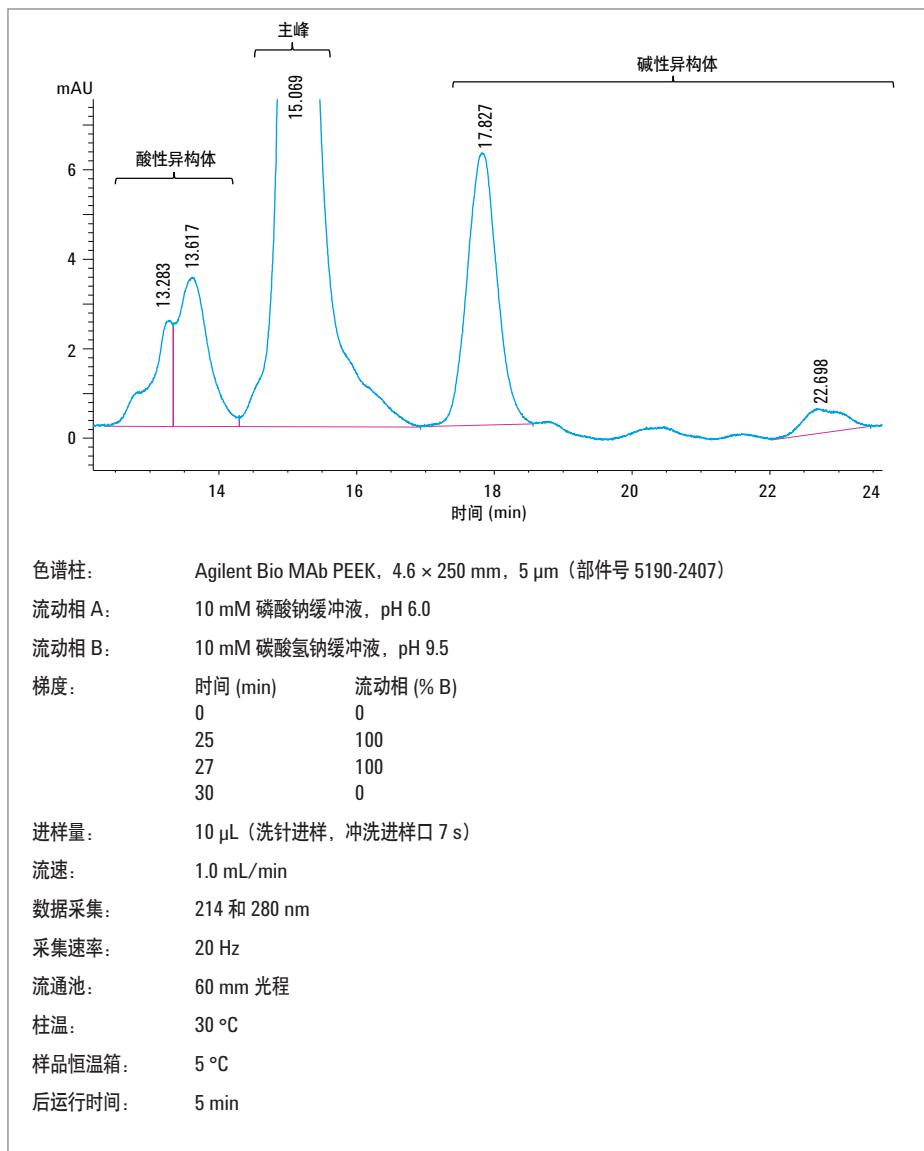


图 7. 使用 Agilent Bio MAb PEEK, 4.6 x 250 mm, 5 μ m 色谱柱进行基于 pH 梯度的阳离子交换 IgG1 分离色谱图

可靠、稳定的性能让您完全信赖

您的实验室始终需要色谱柱提供一致的分离，哪怕方法有细微差异。我们的色谱柱经过严格测试，确保能够为您提供所需的稳定性能。

表 1. 根据峰面积百分比进行电荷异构体的定量分析, n=6

	保留时间 (min) A	峰面积%
酸性异构体	13.28	9.87
	13.61	
主峰	15.058	76.92
碱性异构体	17.82	13.21
		22.69

表 2. 主峰的保留时间和峰面积的 RSD (%) , n=6

	保留时间	峰面积
平均值 (min)	15.058	1172
RSD	0.1061	1.60

表 3. 方法稳定性评估 – 改变关键参数

参数	变化	保留时间偏差 (限值 $\pm 3.0\%$)		峰面积偏差 (限度 $\pm 5.0\%$)
		主峰	10.49	
进样量变化 ($10 \mu\text{L} \pm 10\%$)	- 1 μL	- 0.19		
	+ 1 μL	0		- 9.89
柱温变化 ($30^\circ\text{C} \pm 5\%$)	- 5%	- 1.19	2.73	
	+ 5%	0.66	2.13	
缓冲液 pH 变化 (6.0 ± 0.2)	- 0.2	0.199	- 0.68	
	+ 0.2	0.99	- 0.08	
流速变化 ($1.0 \pm 2\%$)	- 2%	0.66	2.73	
	+ 2%	0	- 1.10	

为了评估该方法的稳定性，分别改变优化方法中的四组关键参数 – 进样量、柱温、缓冲液 pH 和流速。RSD 偏差均在合理范围内

简单、可靠的 pH 测试，专为色谱分析人员而设计

安捷伦目前提供全系列的 pH 计和电极。这些 pH 计专为色谱工作者设计，具有直观的用户界面和出色的耐用性，适合用于您的实验室。Agilent CrossLab 电极可用于非安捷伦品牌的 pH 计。

如需了解更多信息，请访问 agilent.com/chem/AgilentpH



如需了解有关实现快速、高分离度蛋白质分离的更多信息，请访问 agilent.com/chem/AdvanceBio

AGILENT BIO-MONOLITH 色谱柱

专用于生物大分子分离的聚合物整体柱

Agilent Bio-Monolith 离子交换液相色谱柱为抗体 (IgG, IgM)、质粒 DNA、病毒、噬菌体和其他生物大分子提供了高分离度快速分离。

- 更高的准确性：**装载复杂样品时很少发生色谱柱污染。Monolith 盘为 5.2×4.95 mm, 100 μL 柱容量, 带连续通道, 消除了传质扩散
- 快速分离：**不存在扩散、空隙和死体积, 可以使溶质在流动相和固定相间快速转移
- 高效的方法开发：**极快的分离速度降低了方法开发的时间和成本。通过锁定方法参数节省时间和缓冲液
- 多种选择助您优化分离：**包括强阳离子交换相、强阴离子交换相和弱阴离子交换相。Bio-Monolith HPLC 色谱柱与 HPLC 和制备型液相色谱系统兼容, 包括 Agilent 1200 Infinity 系列

Agilent Bio-Monolith HPLC 色谱柱选择指南

色谱柱	说明	主要应用
Bio-Monolith QA	季胺键合相 (强阴离子交换) 在 2-13 的工作 pH 范围内完全带电荷, 结合带负电荷的生物大分子	<ul style="list-style-type: none">腺病毒工艺监控和质量控制IgM 纯化监测和质量控制监测 DNA 杂质去除监测内毒素去除HSA 纯度
Bio-Monolith DEAE	二乙氨基乙基键合相 (弱阴离子交换) 在 pH 3-9 的工作范围内提高了带负电荷的生物大分子的选择性	<ul style="list-style-type: none">细菌噬菌体生产和纯化的监测和质量控制质粒 DNA 纯化的监测和质量控制
Bio-Monolith SO_3	磺酰键合相 (强阳离子交换) 在 pH 2-13 的工作范围内完全带电荷, 结合带正电荷的生物大分子	<ul style="list-style-type: none">大分子 (如蛋白质和抗体) 的快速、高分离度分析分离血红素 A1c 的快速分析



分别在 36、158 和 191 min 时从生物反应器中取出样品。峰 1 代表噬菌体、介质和宿主细胞，峰 2 代表完整 gDNA，峰 3 代表 gDNA 碎片。在噬菌体增殖期间，基因组 DNA (gDNA) 的浓度在宿主细胞溶解时上升。在发酵后期，gDNA 开始降解为碎片，不易被纯化介质去除。因此，在基因组 DNA 降解之前停止发酵至关重要。

这些复杂样品包含细胞碎片，它们会堵塞 HPLC 色谱柱并限制其快速发酵监测的能力。Bio-Monolith DEAE 色谱柱的连通孔结构减少了堵塞的发生，可实现高效的实时过程监测。

为了获得最高产量，使用 Bio-Monolith DEAE 色谱柱进行高效的过程监测

使用 Bio-Monolith DEAE 色谱柱监测发酵过程中噬菌体的产生

色谱柱:	Bio-Monolith DEAE, 5.2 x 4.95 mm (部件号 5069-3636)
流动相:	A: 125 mM 磷酸盐缓冲液, pH 7.0 B: 125 mM 磷酸盐缓冲液 + 1 M NaCl, pH 7.0
流速:	1 mL/min
梯度:	100% 缓冲液 A (2.5 min) 0 到 100% 缓冲液 B (10 min) 100% 缓冲液 A (2 min)
检测器:	UV 280 nm
色谱仪:	高压梯度液相色谱系统, Agilent 1200 Infinity 系列

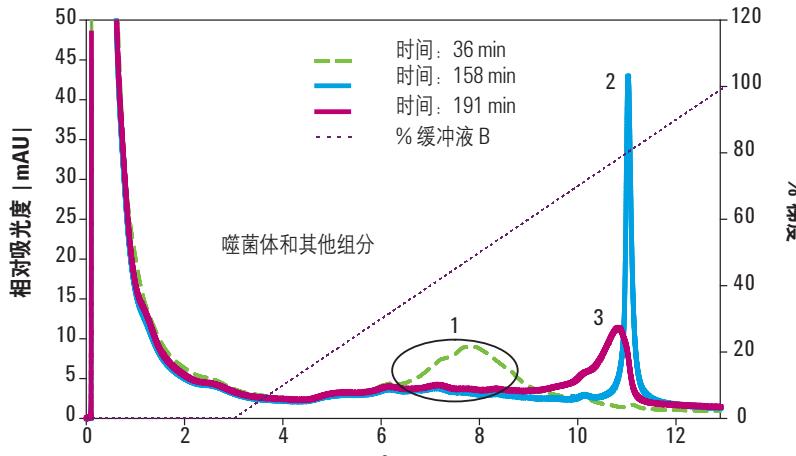


图 8. 在噬菌体增殖期间，基因组 DNA (gDNA) 的浓度在宿主细胞溶解时上升。在发酵后期，gDNA 开始降解为碎片。这些 gDNA 碎片不易被纯化介质去除，因此，在基因组 DNA 降解之前中止发酵至关重要。上面的色谱图代表了分别在 36、158 和 191 min 时从生物反应器中取出的三个样品。峰 1 代表噬菌体、介质和宿主细胞，峰 2 代表完整 gDNA，峰 3 代表 gDNA 碎片

如需了解有关实现快速、高分离度蛋白质分离的更多信息，请访问 agilent.com/chem/AdvanceBio

AGILENT PL-SAX 色谱柱

实现合成寡核苷酸的可靠分离

Agilent PL-SAX 色谱柱非常适用于蛋白质、多肽和去保护合成寡核苷酸的阴离子交换 HPLC 分离。采用柱温、有机溶剂和高 pH 等变性条件进行寡核苷酸的分离。

- **长色谱柱寿命：**强阴离子交换功能团确保其出色的化学和热稳定性，哪怕使用氢氧化钠洗脱液
- **优异的色谱性能通过小粒径填料实现**
- **点对点分析选择：**5 μm 填料用于分析，10 和 30 μm 填料用于纯化
- **灵活的方法开发：**IEX 柱适用于较宽的 pH 范围。强阴离子交换官能团共价交联到化学稳定的全多孔聚合物表面，拓展了操作 pH 范围
- **适用于生物分子纯化，保持蛋白质的生物活性**

高分离度分离寡核苷酸

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

色谱柱: PL-SAX 1000 \AA , 4.6 x 50 mm, 8 μm (部件号 PL1551-1802)

流动相: A: 7.93 v/v ACN: 0.1 M TEAA, pH 8.5

B: 7.93 v/v ACN: 0.1 M TEAA, 1 M 氯化铵, pH 8.5

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

流速: 1.5 mL/min

柱温: 60 °C

检测器: UV, 220 nm

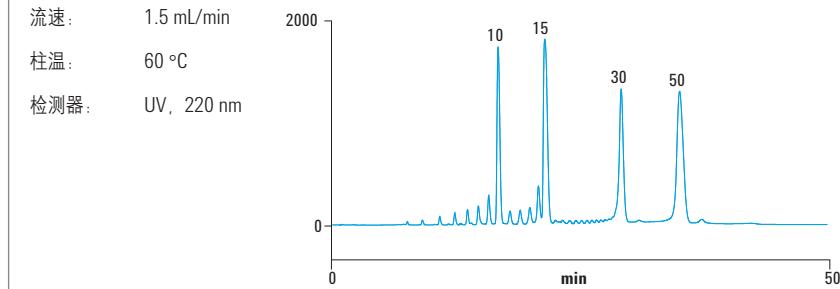


图 9. 聚-T 寡核苷酸的高分离度分离。采用该梯度很容易获得高至 15 mer 的 n 和 $n-1$ 的基线分离



采用 PL-SAX 强阴离子交换剂可获得 n 与 n-1 的基线分离, 从而实现寡核苷酸的高分离度分离。图 9 显示了分别添加标准片段大小 10 mer、15 mer、30 mer 和 50 mer (主峰) 的聚-T-寡核苷酸的分离。在洗脱液中加入乙腈来抑制不利于分离的次级结构的形成。

在图 11 中, 从黑曲霉细胞培养滤液中分离出淀粉葡萄糖苷酶。该酶以两种形式存在, 分子量分别为 99 kD 和 112 kD (峰 1 和 2), 它们具有相同的氨基酸组成, 和不同的糖含量。采用 PL-SAX 4000Å, 4.6 x 50 mm, 8 µm 色谱柱可以在 2 min 内纯化出 3.6 mg 同工酶或者 20 mg 总酶。

纯化生物活性蛋白质

采用 PL-SAX 4000Å 分析胆碱激酶

色谱柱: PL-SAX, 4.6 x 50 mm, 8 µm (部件号 PL1551-1803)

流动相: A: 20 mM Tris 5% 乙二醇, pH 7.5
(需要以下试剂以保持酶活性)

1.0 mM 乙二醇四乙酸

2.0 mM β -巯基乙醇

0.2 mM 苯碘酰氯

B: A + 1 M KCl

流速: 3.0 mL/min

检测器: UV, 280 nm

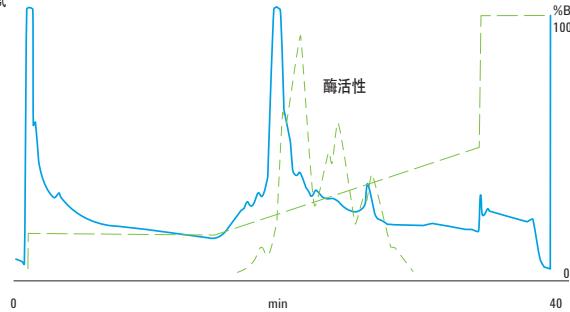


图 10. 在该胆碱激酶的分析中, 始终保持酶活性, 并且在分离结束时仍然存在活性蛋白质

最大程度提高载样量

色谱柱: PL-SAX 4000Å, 4.6 x 50 mm, 8 µm
(部件号 PL1551-1803)

梯度: 线性, B 在 2 min 内从 0% 升至 100%

洗脱液 A: 0.01M Tris HCl, pH 8

流速: 4.0 mL/min

洗脱液 B: A + 0.5M NaCl, pH 8

检测器: UV, 280 nm

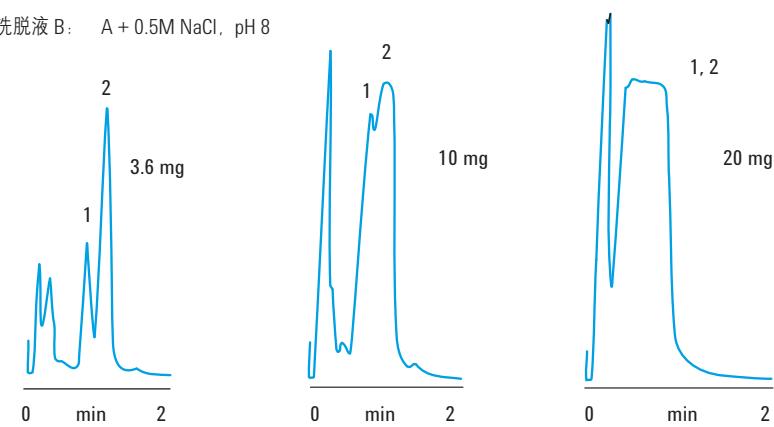


图 11. 不同酶浓度下淀粉葡萄糖苷酶的高速纯化。采用 Agilent PL-SAX 4000Å, 8 µm 色谱柱, 可以在 2 min 内纯化出 3.6 mg 同工酶或者 20 mg 总酶

如需了解有关实现快速、高分离度蛋白质分离的更多信息, 请访问 agilent.com/chem/AdvanceBio

AGILENT PL-SCX 色谱柱

分离和纯化多种生物分子

PL-SCX 是一种具有强亲水性涂层和强阳离子交换功能的大孔 PS/DVB 填料。其生产工艺受到严格控制，能够提供最佳的强阳离子交换基团密度，适合用于分析、分离和纯化广泛的生物分子。

- **高分离度：**5 μm 填料能够提供比中等压力液相色谱中使用的 30 μm 填料更高的分离度
- **多种选择助您优化分离：**有两种孔径，1000 \AA 和 4000 \AA ，为不同大小的溶质提供良好的传质性能
- **出色的稳定性显著延长色谱柱寿命**

对于多种洗脱液以及用于纯化的净化程序具有出色的化学稳定性

色谱柱： PL-SCX 1000 \AA , 4.6 x 50 mm, 8 μm (部件号 PL1545-1802)

洗脱液 A: 0.02 M KH_2PO_4 , pH 6

洗脱液 B: A + 0.5 M NaCl, pH 6

梯度： 线性，B 在 20 min 内从 0% 升至 100%

检测器： UV, 280 nm

清洗液 (约 40 倍柱体积)	R_2 因子 (峰 2 和 3)	蛋白质容量 (mg 溶菌酶/mL, CV)
初始运行	1.5	33
0.2 M HCl	1.7	31
0.2 M NaOH	2.0	33
最后运行		
6 M 尿素	1.6	33
1% TFA	1.6	33
10% 乙酸	1.7	28
100% 甲醇	1.6	31
0.5 M HCl	1.5	31
2 M NaOH	2.0	33

表 4. 采用 Agilent PL-SCX 色谱柱，对使用强酸、碱和有机溶剂冲洗前后的蛋白质分离效果进行比较

Captiva 低蛋白质结合过滤器

Agilent PES 过滤器可在蛋白质相关的过滤中提供优越和一致的低蛋白质结合力。

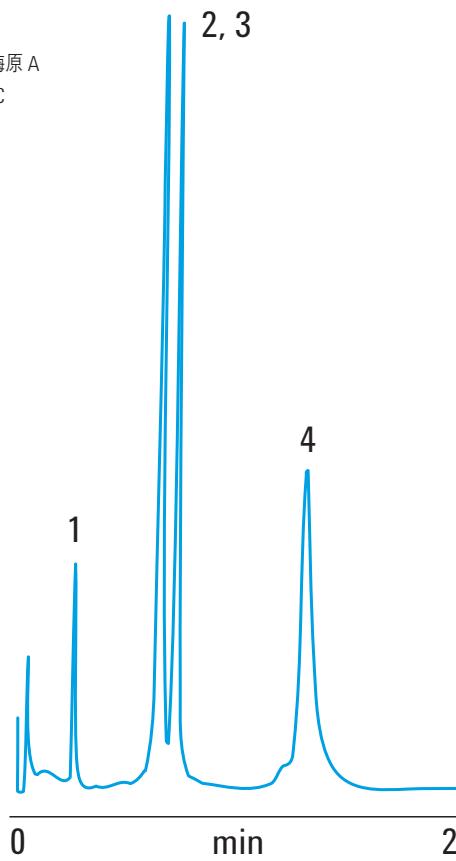
如需了解更多信息，请访问
agilent.com/chem/filtration



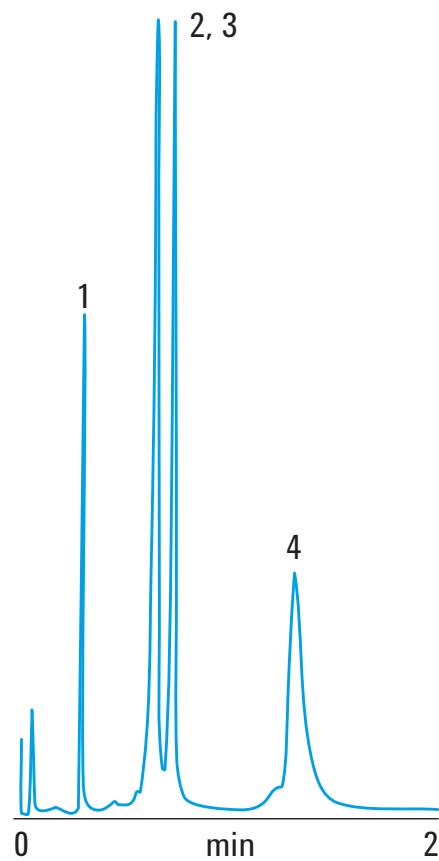


峰鉴定

1. 肌红蛋白
2. α -糜蛋白酶原 A
3. 细胞色素 C
4. 溶菌酶



采用 Agilent PL-SCX 色谱柱进行蛋白质分离的初始色谱图



在相同色谱柱上采用 40 倍柱体积的强洗脱液冲洗后分离相同蛋白液的最终色谱图

见第 16 页的操作条件

图 12. 正如您从上述实例中看到的, PL-SCX 材料在高压、强酸和强碱情况下极其稳定

如需了解有关实现快速、高分离度蛋白质分离的更多信息, 请访问 agilent.com/chem/AdvanceBio

订购信息

用于多种蛋白质和多肽鉴定的 Agilent Bio IEX 色谱柱

Agilent Bio IEX HPLC 色谱柱, PEEK

规格 (mm)	粒径 (μm)	Bio SCX	Bio WCX	Bio SAX	Bio WAX
4.6 x 250	10	5190-2435	5190-2455	5190-2475	5190-2495
4.6 x 50, 预柱	10	5190-2436	5190-2456	5190-2476	5190-2496
4.6 x 250	5	5190-2427	5190-2447	5190-2467	5190-2487
4.6 x 50, 预柱	5	5190-2428	5190-2448	5190-2468	5190-2488
2.1 x 250	10	5190-2439	5190-2459	5190-2479	5190-2499
2.1 x 50, 预柱	10	5190-2440	5190-2460	5190-2480	5190-2500
2.1 x 250	5	5190-2431	5190-2451	5190-2471	5190-2491
2.1 x 50, 预柱	5	5190-2432	5190-2452	5190-2472	5190-2492

Agilent Bio IEX HPLC 色谱柱, 不锈钢

规格 (mm)	粒径 (μm)	Bio SCX	Bio WCX	Bio SAX	Bio WAX
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	5190-2433	5190-2453	5190-2473	5190-2493
4.6 x 150	3				5190-6875
4.6 x 250	5	5190-2425	5190-2445	5190-2465	5190-2485
4.6 x 50	3	5190-2423	5190-2443	5190-2463	5190-2483
4.6 x 50	1.7	5190-2421	5190-2441	5190-2461	5190-2481
4.0 x 10, 预柱	10	5190-2434	5190-2454	5190-2474	5190-2494
4.0 x 10, 预柱	5	5190-2426	5190-2446	5190-2466	5190-2486
4.0 x 10, 预柱	3	5190-2424	5190-2444	5190-2464	5190-2484
4.0 x 10, 预柱	1.7	5190-2422	5190-2442	5190-2462	5190-2482

如需查找支持高效生物分离的部件和备件, 如耐高压、

生物惰性和高强度不锈钢涂覆的 PEEK 毛细管, 请访问

agilent.com/chem/LCsupplies

如想获得 Infinity 备件目录以及其他重要资料, 请访问

agilent.com/chem/GetGuides



用于单克隆抗体分离的 Agilent Bio MAb 色谱柱

Agilent Bio MAb HPLC 色谱柱

规格 (mm)	粒径 (μm)	Bio MAb PEEK	Bio MAb 不锈钢
21.2 x 250	5		5190-6885
10 x 250	5		5190-6884
4.6 x 250	10	5190-2415	5190-2413
4.6 x 50, 预柱	10	5190-2416	
4.6 x 250	5	5190-2407	5190-2405
4.6 x 50, 预柱	5	5190-2408	
4.6 x 50	3		5190-2403
4.6 x 50	1.7		5190-2401
4.0 x 10, 预柱	10		5190-2414
4.0 x 10, 预柱	5		5190-2406
4.0 x 10, 预柱	3		5190-2404
4.0 x 10, 预柱	1.7		5190-2402
2.1 x 250	10	5190-2419	
2.1 x 50, 预柱	10	5190-2420	
2.1 x 250	5	5190-2411	
2.1 x 50, 预柱	5	5190-2412	

用于生物大分子分离的 Agilent Bio-Monolith 色谱柱

Agilent Bio-Monolith HPLC 色谱柱

色谱柱	部件号
Bio-Monolith QA	5069-3635
Bio-Monolith DEAE	5069-3636
Bio-Monolith SO_3	5069-3637



如需了解有关实现快速、高分离度蛋白质分离的更多信息, 请访问 agilent.com/chem/AdvanceBio

订购信息

用于合成寡核苷酸分离的 Agilent PL-SAX 色谱柱

PL-SAX 强阴离子交换柱

规格 (mm)	粒径 (μm)	PL-SAX 1000 \AA	PL-SAX 4000 \AA
1.0 x 50	5	PL1351-1502	PL1351-1503
2.1 x 50	5	PL1951-1502	PL1951-1503
4.6 x 50	5	PL1551-1502	PL1551-1503
2.1 x 50	8	PL1951-1802	PL1951-1803
2.1 x 150	8	PL1951-3802	PL1951-3803
4.6 x 50	8	PL1551-1802	PL1551-1803
4.6 x 150	8	PL1551-3802	PL1551-3803
4.6 x 250	10	PL1551-5102	PL1551-5103
4.6 x 150	10	PL1551-3102	PL1551-3103
25 x 50	10	PL1251-1102	PL1251-1103
25 x 150	10	PL1251-3102	PL1251-3103
50 x 150	10	PL1751-3102	PL1751-3103
100 x 300	10	PL1851-2102	PL1851-2103
4.6 x 250	30	PL1551-5702	PL1551-5703
4.6 x 150	30	PL1551-3702	PL1551-3703
25 x 150	30	PL1251-3702	PL1251-3703
50 x 150	30	PL1751-3702	PL1751-3703
100 x 300	30	PL1851-3102	PL1851-3103

PL-SAX 强阴离子交换柱散装填料

重量	粒径 (μm)	PL-SAX 1000 \AA	PL-SAX 4000 \AA
100 g	10	PL1451-4102	PL1451-4103
1 kg	10	PL1451-6102	PL1451-6103
100 g	30	PL1451-4702	PL1451-4703
1 kg	30	PL1451-6702	PL1451-6703

用于多种生物分子和溶质分离的 Agilent PL-SCX 色谱柱

PL-SCX 强阳离子交换柱

规格 (mm)	粒径 (μm)	PL-SAX 1000 \AA	PL-SAX 4000 \AA
1.0 x 50	5	PL1345-1502	PL1345-1503
2.1 x 50	5	PL1945-1502	PL1945-1503
4.6 x 50	5	PL1545-1502	PL1545-1503
2.1 x 50	8	PL1945-1802	PL1945-1803
2.1 x 150	8	PL1945-3802	PL1945-3803
4.6 x 50	8	PL1545-1802	PL1545-1803
4.6 x 150	8	PL1545-3802	PL1545-3803
4.6 x 250	10	PL1545-3102	PL1545-3103
4.6 x 150	10	PL1545-5102	PL1541-5103
25 x 50	10	PL1245-1103	PL1245-1103
25 x 150	10	PL1245-3103	PL1245-3103
50 x 150	10	PL1745-3103	PL1745-3103
100 x 300	10	PL1845-2103	PL1845-2103
4.6 x 250	30	PL1545-3702	PL1545-3703
4.6 x 150	30	PL1545-5703	PL1545-5703
25 x 150	30	PL1245-3702	PL1245-3703
50 x 150	30	PL1745-3703	PL1745-3703
100 x 300	30	PL1845-3102	PL1845-3103

PL-SCX 强阳离子交换散装填料

重量	粒径 (μm)	PL-SAX 1000 \AA	PL-SAX 4000 \AA
100 g	10	PL1445-4102	PL1445-4102
1 kg	10	PL1445-6102	PL1445-6103
100 g	30	PL1445-4702	PL1445-4703
1 kg	30	PL1445-6702	PL1445-6703

如需了解有关实现快速、高分离度蛋白质分离的更多信息, 请访问 agilent.com/chem/AdvanceBio

AGILENT 1260 INFINITY 生物惰性四元液相色谱： 实现无限卓越的生物分子分析

从不含钢和铁的溶剂传输通路...到不含金属的样品流路部件...Agilent 1260 Infinity
生物惰性四元液相色谱成为了性能和可靠性的新标杆

这一稳定耐用的系统能轻松应对具有挑战性的蛋白质和生物治疗药物分析的常规溶剂条件，并且极少出现与非特异性键合相关的问题。配合使用安捷伦离子交换 BioHPLC 色谱柱，可获得最高分离度。

100% 生物惰性样品流路

自动进样器、柱温箱和检测器流路中所有的毛细管和接头均完全不含金属，因此，生物分子只与陶瓷或 PEEK 管线接触。由于最大程度降低了蛋白质和多肽与金属表面的次级相互作用，有效避免了峰拖尾、低回收率和柱寿命缩短等问题。

真正意义上的 UHPLC 性能

耐压高达 600 bar，可以承受使用更小填料的新兴色谱柱技术所需的更高压力环境。完美适用于粒径低至 1.7 μm 填料的 SEC 和 IEX 色谱柱。



实现稳定和安全操作的毛细管和接头技术 — 从始至终

借助 1260 Infinity 生物惰性液相色谱，安捷伦利用毛细管和接头技术完成了无金属生物惰性和高压操作环境的独特结合。三种不同类型的毛细管展示如下：

- 用于溶剂输送管线的高抗腐蚀钛毛细管
- 自动进样器和柱温箱中金属包覆的 PEEK 毛细管
- 用于分离色谱柱下游，系统低压部分使用的 PEEK 毛细管

金属包覆的 PEEK 毛细管具有独特的连接系统，可在每个连接处实现完全的生物惰性。机械联锁的 PEEK 管端高度耐受来自侧面和旋转的张力，拧紧接头时毛细管不会扭矩。

如需了解更多信息，请访问 agilent.com/chem/LCcapillaries



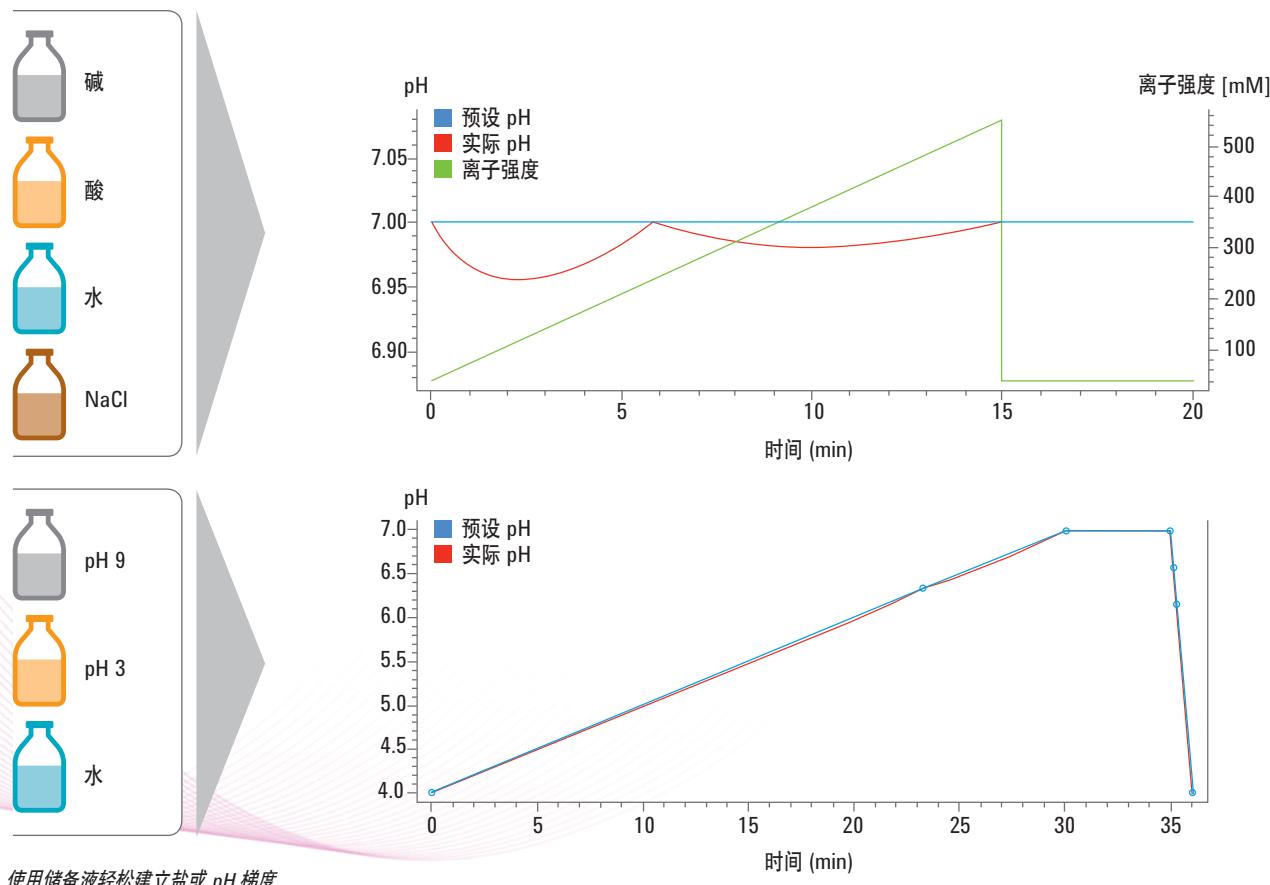
如需了解有关 Agilent 1260 Infinity 生物惰性液相色谱的更多信息，请访问 agilent.com/chem/1200BioLC

简化您的生物分析工作流程

简单便捷的缓冲液混合和 pH 初筛

利用 1260 Infinity 生物惰性四元泵的混合原理，缓冲液顾问软件可动态混合仅需四种储备液的溶剂，有力简化您的生物分析工作流程，并显著减少缓冲液制备所需时间。

首先，理论模型将帮您找到蛋白质分离的最佳盐度或 pH 条件。以 XML 的格式文件保存将最优梯度条件在 Agilent OpenLAB CDS 中，用于日后导入。该文件在 1260 Infinity 生物惰性四元 4 通道混合泵的时间表中设置了溶剂混合条件。您只需准备四种储备液：酸性缓冲液、碱性缓冲液、水和盐溶液。要建立盐梯度，将通道 D 的不断增加的盐溶液与分别来自通道 A 和 B 的酸性和碱性缓冲液混合，并使用通道 C 的水进行稀释。



使用储备液轻松建立盐或 pH 梯度

如需了解缓冲液顾问软件显著节省时间的更多信息，请访问 agilent.com/chem/infinity-bufferadvisor

生物色谱柱系列产品为您提供最多选择与最佳控制

安捷伦离子交换 BioHPLC 色谱柱经过设计和测试，可以保证其优异的分离度和生物色谱性能，使其成为电荷异构体研究的最佳选择。

我们提供的众多选择包括：

- **Agilent Bio IEX** 色谱柱用于蛋白质和多肽分离
- **Agilent Bio MAb** 色谱柱用于单克隆抗体分离
- **Agilent Bio-Monolith** 色谱柱用于制备型液相色谱系统
- **Agilent PL-SAX** 色谱柱用于合成寡核苷酸分离
- **Agilent PL-SCX** 色谱柱用于生物分子和溶质分离

从样品净化到分析，安捷伦离子交换 BioHPLC 色谱柱能够轻松整合到您的工作流程中，使您获得重现性好、高质量的分析结果，并易于将方法放大。

您可以信赖安捷伦所提供的所有 BioHPLC 色谱柱，包括体积排阻、反相、HILIC 和亲和柱。

信赖 Agilent AdvanceBio 色谱柱带来更快速、更一致的生物药物分析

Agilent AdvanceBio HPLC 色谱柱将提供始终如一、出色的多肽及蛋白质分离和表征性能。这个最先进的色谱柱系列蕴含的科技提高了分析的准确性和效率，并且消除了妨碍分析进展的干扰。

为了获得最高可靠性，AdvanceBio 色谱柱均经过严格测试，以保证获得最好的结果，此外还辅以安捷伦 60 天完全满意保障。



更多信息

如需了解有关安捷伦离子交换 BioHPLC 色谱柱的更多信息，请访问
agilent.com/chem/AdvanceBio

查找当地的安捷伦客户中心：
agilent.com/chem/contactus

安捷伦客户服务中心：
免费专线: 800-820-3278
400-820-3278 (手机用户)

联系我们：
customer-cn@agilent.com

在线询价：
www.agilent.com/chem/quote:cn

本资料中的信息如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司, 2013
中国印刷, 2013 年 9 月 9 日
5991-2449CHCN



Agilent Technologies