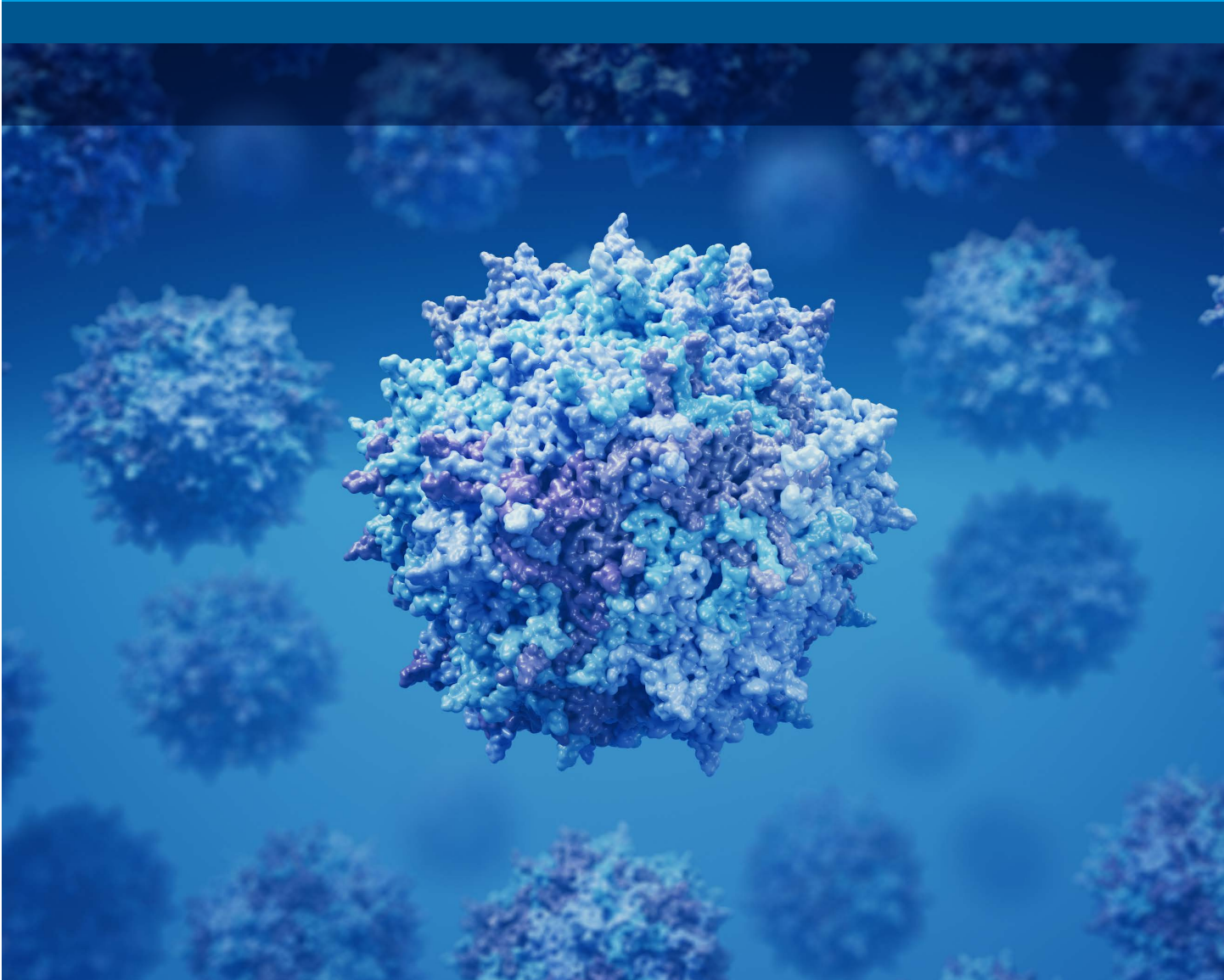


# 超大分子生物治疗药物的快速、 高分离度聚集体分析

Agilent AdvanceBio SEC 2.7  $\mu\text{m}$  色谱柱，孔径 500  $\text{\AA}$  和 1000  $\text{\AA}$



# 用于超大分子生物治疗药物分析的理想孔径

腺相关病毒 (AAV)、病毒样颗粒 (VLP)、寡核苷酸和脂质纳米颗粒 (LNP) 代表了用于细胞和基因治疗以及疫苗的新一代生物治疗药物。为表征这些具有挑战性的新型生物治疗药物，必须采用先进且强大的技术。

在保持早期 Agilent AdvanceBio SEC 色谱柱的所有出色特性的同时，新推出的 500 Å 和 1000 Å 孔径现可用于直径更大的样品，是 AAVs 和 VLPs 等超大生物分子 (> 1 MDa) 聚集分析的理想选择。

## 获得可靠结果，节省更多时间

在生物治疗药物的发现、生物分子表征和质量控制领域，您需要能够快速提供高分离度结果的稳定可靠的色谱柱。

Agilent AdvanceBio SEC 色谱柱采用大孔径的 2.7 μm 小颗粒，能够在较短的色谱柱上实现高分离度分离（图 1），从而提高通量并节省更多时间，使您能够运行更多样品或转向下一个项目。

HPLC 条件	
色谱柱	AdvanceBio SEC 500 Å, 2.7 μm, 4.6 × 150 mm (部件号 PL1580-3325)
流动相	50 mM 磷酸钠 + 400 mM NaCl, pH 7.2
流速	0.35 mL/min
检测	荧光 λ <sub>激发</sub> 280 nm, λ <sub>发射</sub> 348 nm
HPLC 系统	配备二元高速泵的 Agilent 1290 Infinity II 生物液相色谱系统
样品	AAV8, 进样量 5 μL

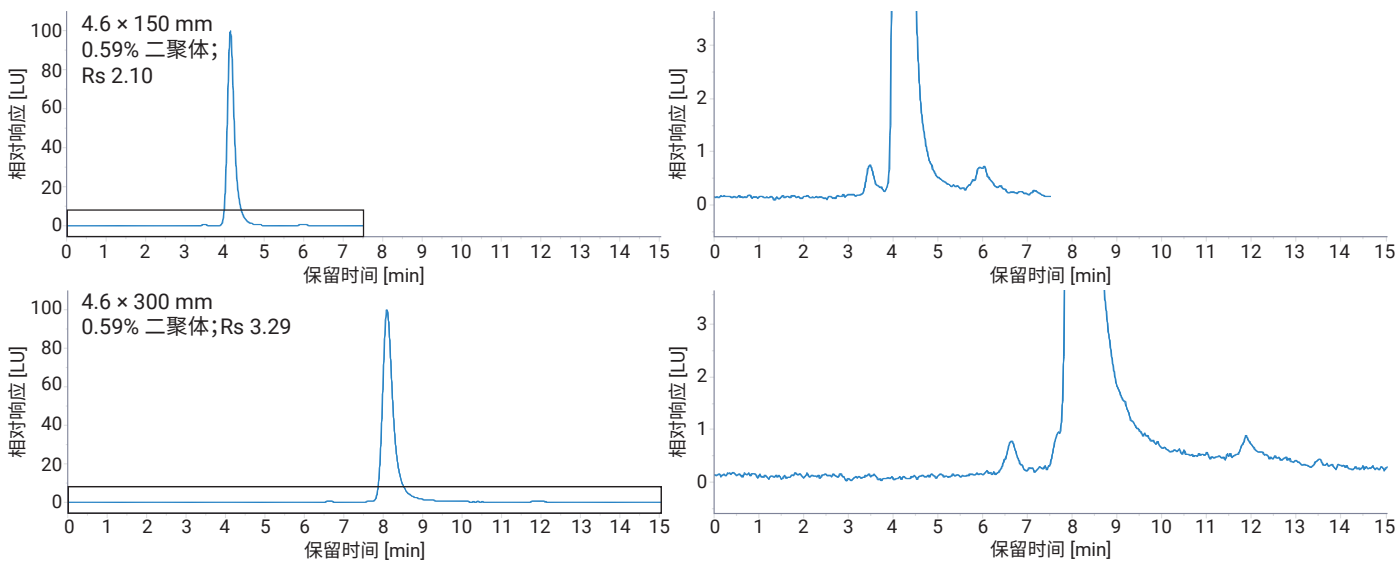


图 1. 使用 Agilent AdvanceBio SEC 色谱柱 (300 mm, 2.7 μm, 500 Å) 在典型操作条件下可获得更高的分离度，因此用户能够采用更短的 150 mm 色谱柱，将分析时间缩短一半，同时仍然获得足以实现可靠测量的高分离度

## 大幅减少相互作用，获得出色的峰形和分离度

利用之前 AdvanceBio SEC 色谱柱所用的亲水性化学键合相，大幅减少样品与固定相之间的次级相互作用。这样可以获得良好的峰形，使尺寸测量结果更加可靠，且有助于确保良好的分离度（图 2）。

HPLC 条件	
色谱柱	AdvanceBio SEC 500 Å, 2.7 μm, 4.6 × 300 mm (部件号 PL1580-5325)
流动相	50 mM 磷酸钠 + 400 mM NaCl, pH 7.2
流速	0.35 mL/min
检测	荧光 λ <sub>激发</sub> 280 nm, λ <sub>发射</sub> 348 nm
HPLC 系统	配备二元高速泵的 Agilent 1290 Infinity II 生物液相色谱系统

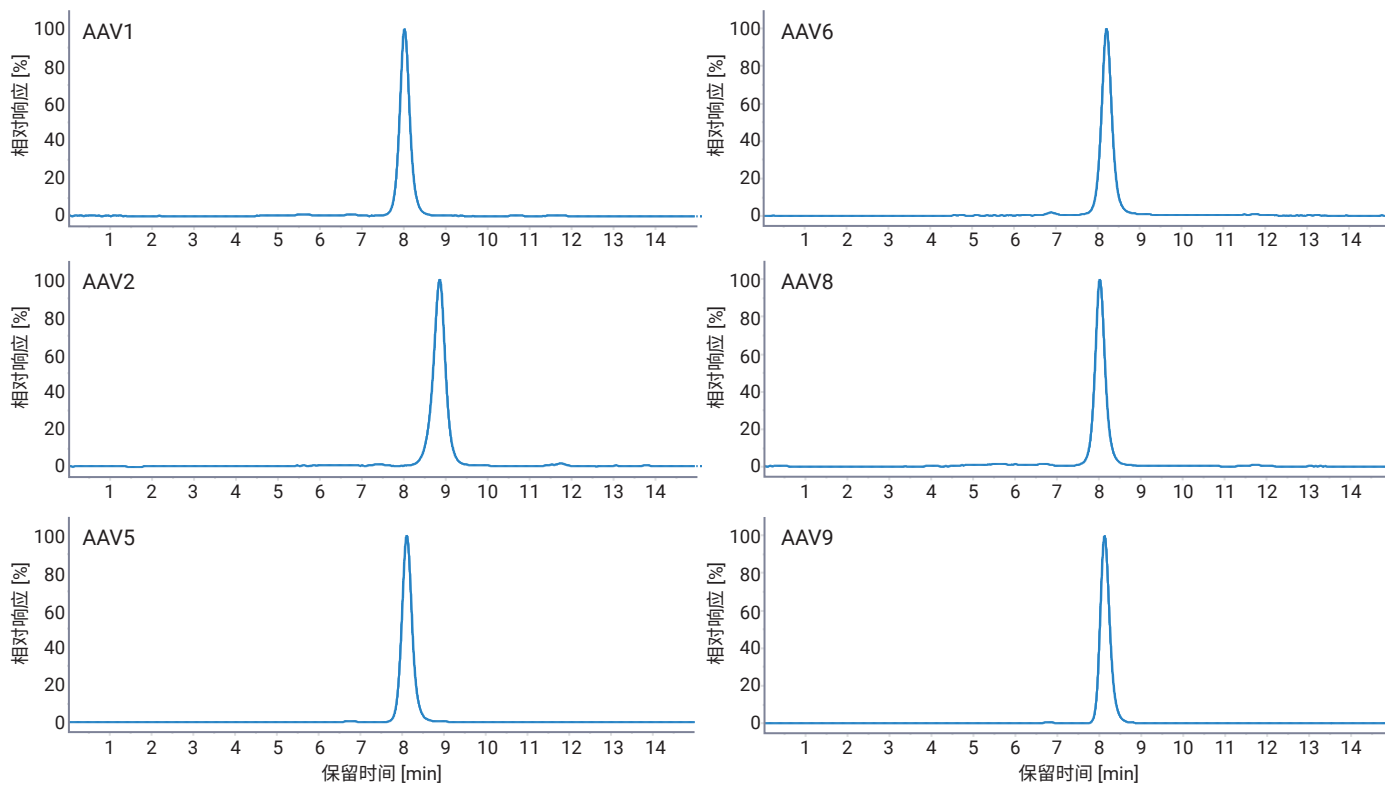


图 2. Agilent AdvanceBio SEC 2.7 μm, 500 Å 色谱柱能够对 AAVs 的各种血清型实现高分离度分离

### 出众的批次间重现性，让您对结果更有信心

AdvanceBio SEC 色谱柱具有出色的批次间重现性，可始终如一地提供可靠的结果，以及具有更高重现性的峰积分结果（图 3 和 4）。

PEG/PEO 校准曲线显示了批次间孔径和结构的一致性，而使用 AAV 或 VLP 进行测试，可以确保这种一致性能够体现在相关生物样品中。

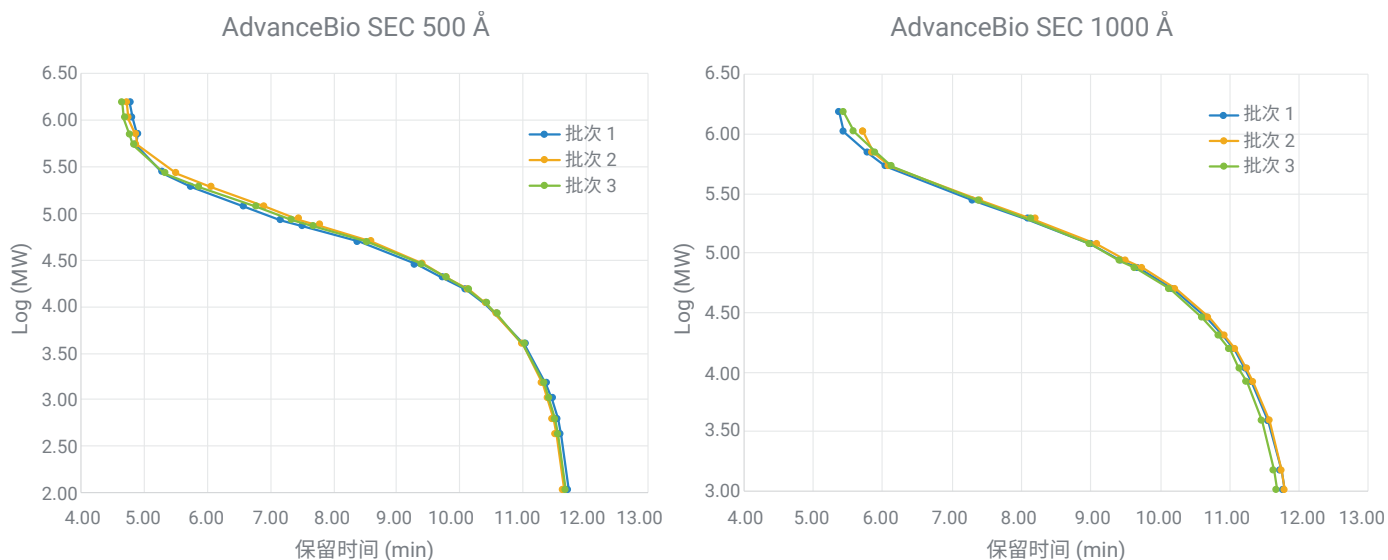
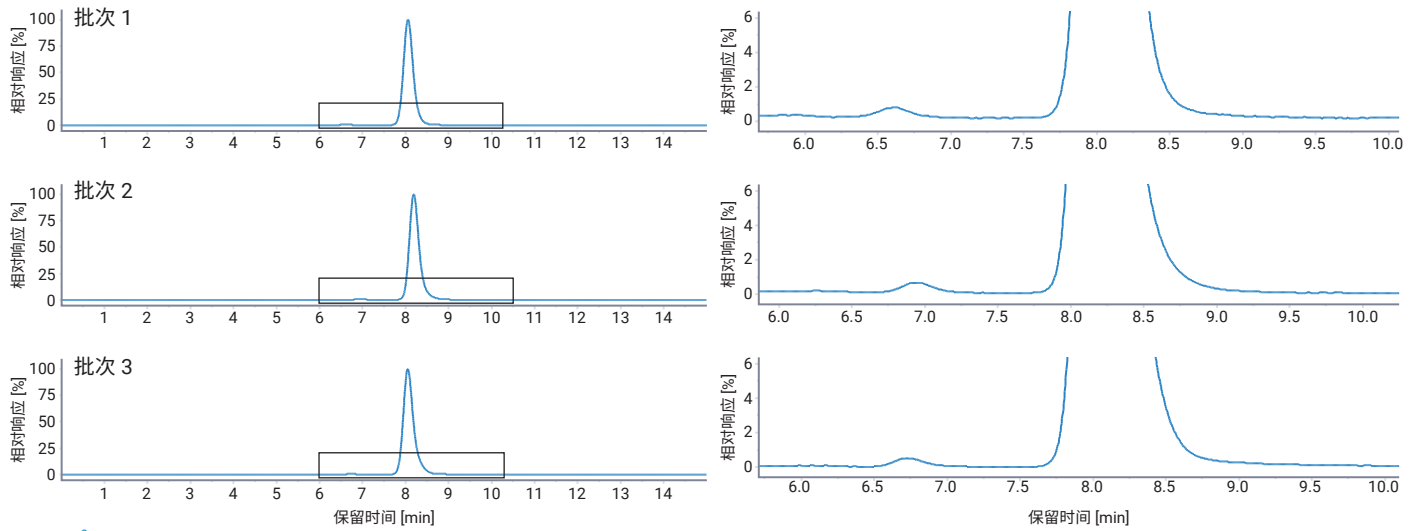


图 3. 利用一系列 PEG/PEO 聚合物标准品来考察 Agilent AdvanceBio SEC 500 Å 和 1000 Å 孔径色谱柱的分离范围。所得曲线的叠加图证明批次间重现性非常出色

HPLC 条件	
色谱柱	AdvanceBio SEC 500 Å, 2.7 μm, 4.6 × 150 mm (部件号 PL1580-3325)
流动相	50 mM 磷酸钠 + 400 mM NaCl, pH 7.2
流速	0.35 mL/min
检测	荧光 λ <sub>激发</sub> 280 nm, λ <sub>发射</sub> 348 nm
HPLC 系统	配备二元高速泵的 Agilent 1290 Infinity II 生物液相色谱系统

### 500 Å



### 1000 Å

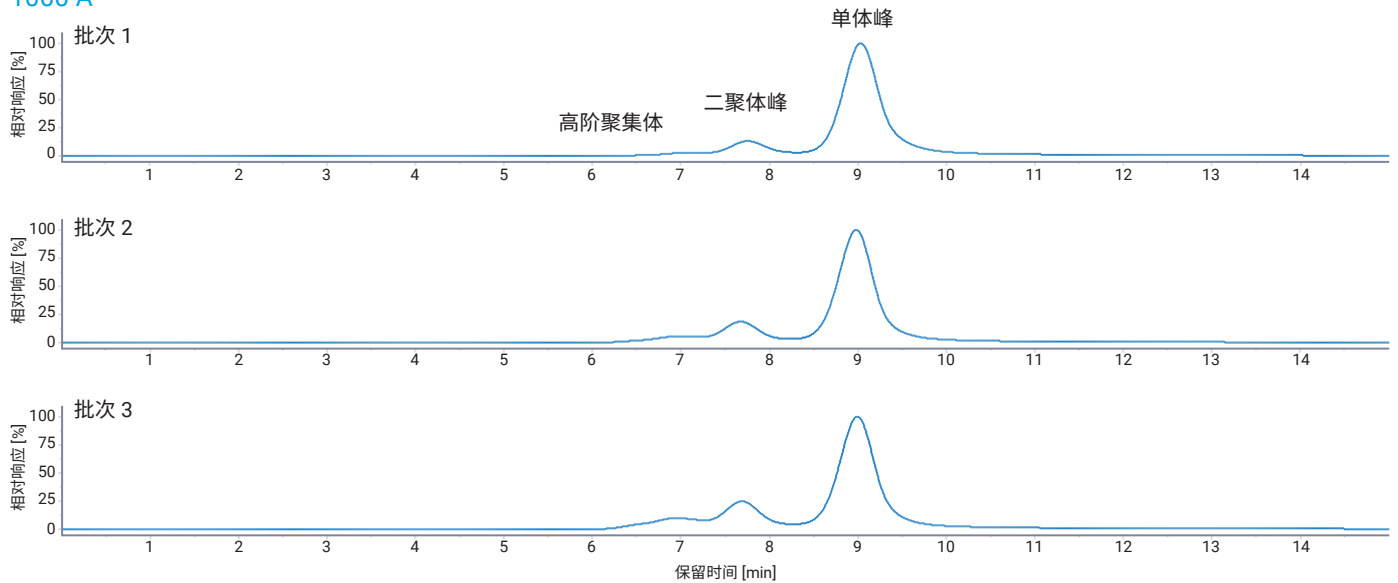


图 4. 使用 AAV2 测试 Agilent AdvanceBio SEC 500 Å 色谱柱的批次间重现性，并使用直径约 50 nm 的 VLP 测试 AdvanceBio SEC 1000 Å 色谱柱的批次间重现性

## 降低色谱柱更换频率，节省成本

AdvanceBio SEC 色谱柱采用坚固耐用的颗粒进行均匀装填，延长了色谱柱寿命，使您能够降低色谱柱更换频率，从而节省开支并减少麻烦（图 5）。通过进样分析尿苷标准品来测试色谱柱寿命，柱效和系统反压在包括至少 1000 次进样的整个测试中得以保持。

HPLC 条件	
色谱柱	AdvanceBio SEC 500 Å, 2.7 μm, 4.6 × 300 mm (部件号 PL1580-5325) AdvanceBio SEC 1000 Å, 2.7 μm, 4.6 × 300 mm (部件号 PL1580-5302)
流动相	150 mM 磷酸钠, pH 7
流速	0.35 mL/min
检测	UV 220 nm
HPLC 系统	Agilent 1260 Infinity II 生物液相色谱系统
样品	1 mg/mL 尿苷, 进样量 2 μL

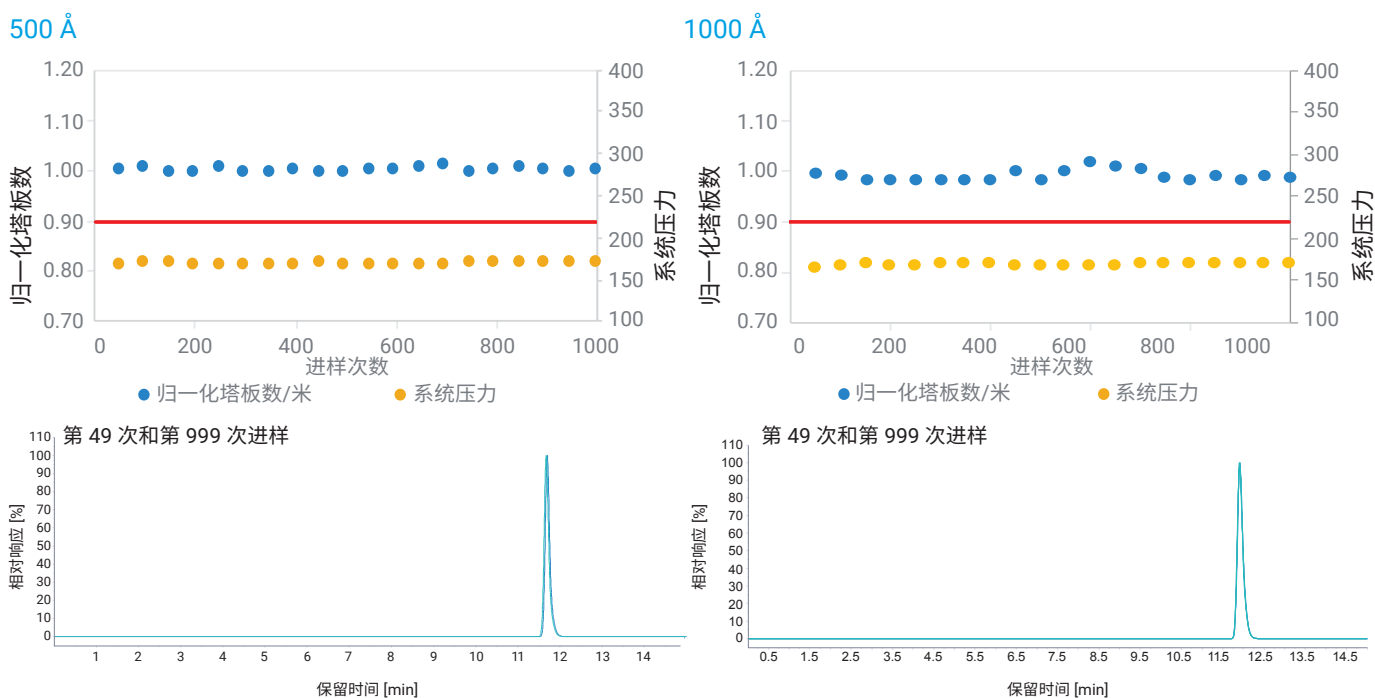


图 5. Agilent AdvanceBio SEC 色谱柱机械性能稳定，具有稳定的亲水性涂层，可大幅减少次级相互作用。即使在 1000 次进样后，色谱柱性能也能保持稳定。红线表示柱效降低 10%

## AdvanceBio SEC 色谱柱搭配各种检测技术

虽然紫外检测常用于传统的 SEC 分析，但具有挑战性的新型超大分子生物治疗药物（如 AAVs 和 VLPs）通常需要更高的荧光检测灵敏度，或者需要由光散射检测提供额外的分子量和尺寸信息。

光散射对背景噪音特别敏感，因此除需要经过高度过滤的流动相以外，许多色谱柱还需要进行大量冲洗。但是，在用运行流动相进行标准色谱柱老化后，AdvanceBio SEC 色谱柱表现出较低的背景水平。因此，它们不仅非常适用于光散射检测，而且适用于其他检测技术，例如荧光或质谱（图 6）。

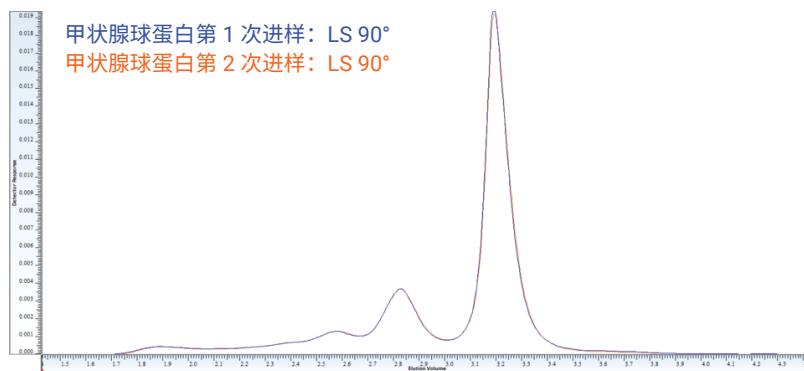


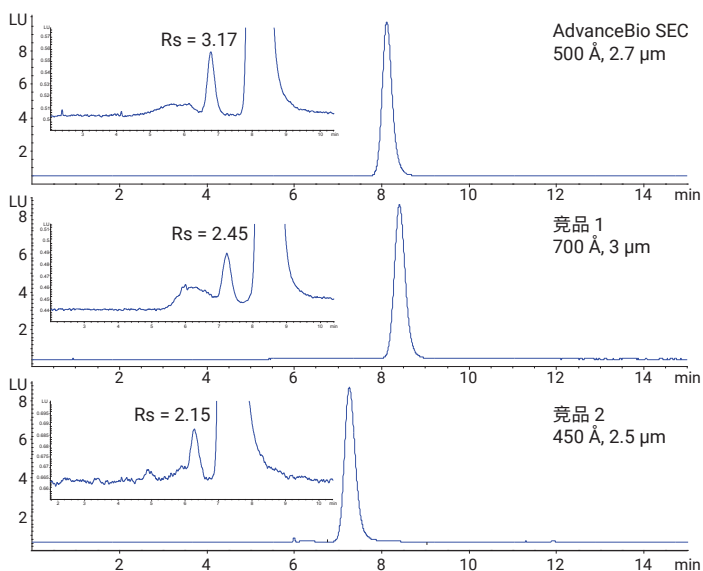
图 6. 使用经适当过滤的流动相，Agilent AdvanceBio SEC 色谱柱表现出低背景信号，因此能够兼容光散射等检测技术，如上图甲状腺球蛋白在两次重复进样中得到的背景噪音较低，其中分析采用配备多角度光散射检测器的 Agilent 1260 Infinity II 生物惰性液相色谱系统和 4.6 × 300 mm AdvanceBio SEC 500 Å 色谱柱

## 大幅提高数据分析稳定性和结果可靠性

与竞争厂商色谱柱相比，AdvanceBio SEC 色谱柱表现出出色的分离度和拖尾特性（图 7）。这一出众的分离度可实现更稳定的数据分析和更可靠的结果。

HPLC 条件	
色谱柱	AdvanceBio SEC 500 Å, 2.7 μm, 4.6 × 300 mm (部件号 PL1580-5325) AdvanceBio SEC 1000 Å, 2.7 μm, 4.6 × 300 mm (部件号 PL1580-5302) 竞品 1 700 Å, 3 μm, 4.6 × 300 mm 竞品 2 450 Å, 2.5 μm, 4.6 × 300 mm 竞品 2 1000 Å, 3 μm, 4.6 × 300 mm
流动相	50 mM 磷酸钠 + 400 mM NaCl, pH 7.2
流速	0.35 mL/min
检测	荧光 λ <sub>激发</sub> 280 nm, λ <sub>发射</sub> 348 nm
HPLC 系统	配备二元高速泵的 Agilent 1260 Infinity II 生物液相色谱系统

### A) AAV-9



### B) HPV-16

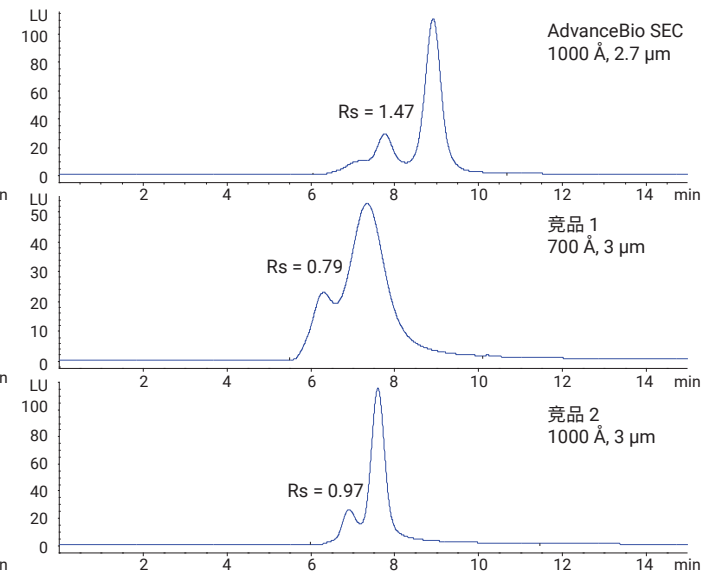


图 7. 与竞争厂商色谱柱相比，Agilent AdvanceBio SEC 色谱柱表现出更出色的分离度和拖尾特性

# 选择适合您应用的 SEC 色谱柱

选择合适的孔径通常是 SEC 色谱柱选择中最关键的一点。虽然常使用分子量以根据分析物尺寸来确定合适的孔径，但最重要的是流体动力学半径（样品在溶液中的尺寸）。然而，寡核苷酸比相同分子量的蛋白质更细长，因此需要更大的孔径。

AdvanceBio SEC 2.7  $\mu\text{m}$  色谱柱是 AdvanceBio SEC 产品组合的扩展产品。图 8 中的建议可以帮助您选择更适合您样品的 AdvanceBio SEC 色谱柱。

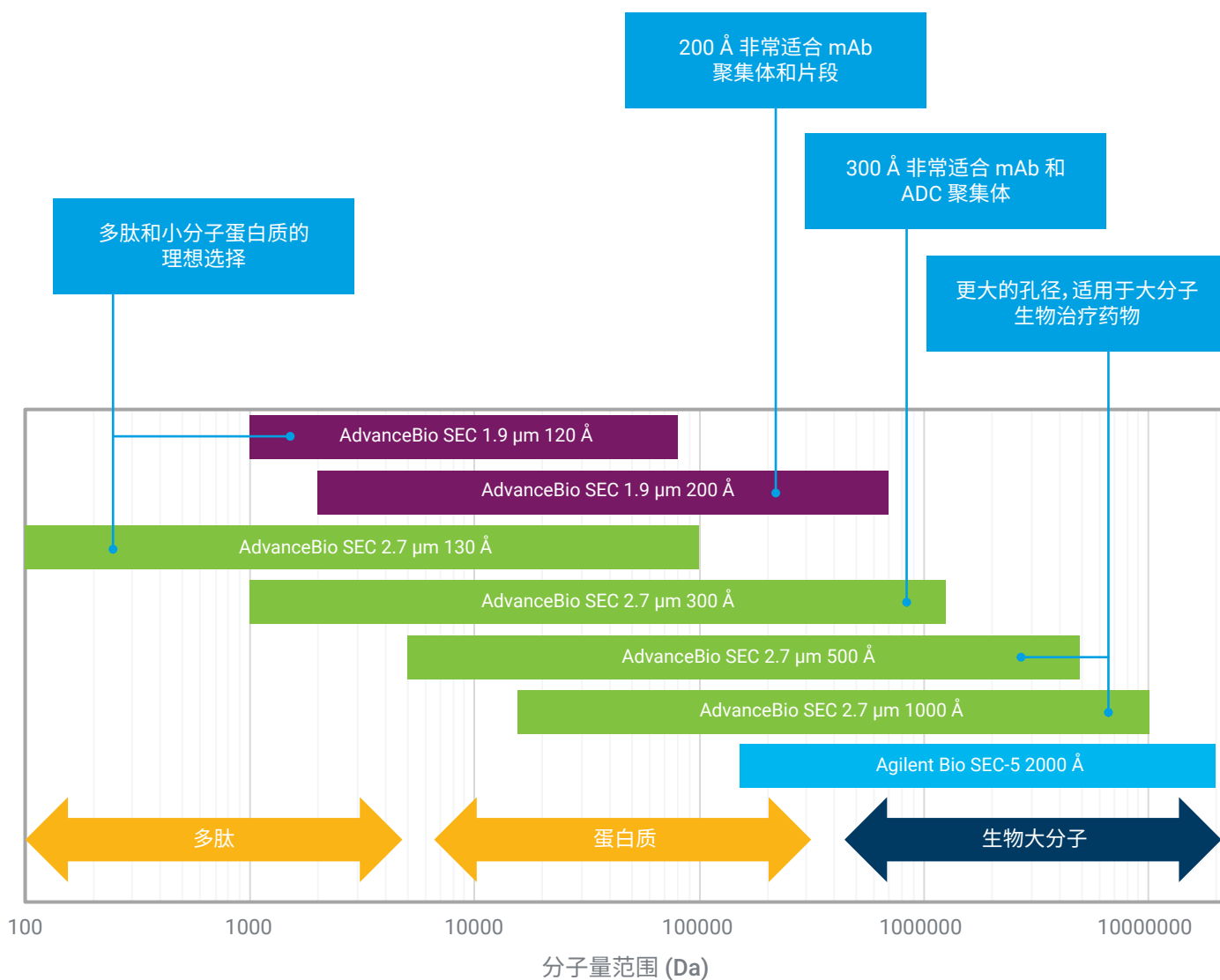


图 8. 基于您应用的 Agilent AdvanceBio SEC 色谱柱建议

# 订购信息

描述	部件号
AdvanceBio SEC 500 Å, 2.7 µm, 7.8 × 300 mm	PL1180-5325
AdvanceBio SEC 500 Å, 2.7 µm, 7.8 × 50 mm 保护柱	PL1180-1325
AdvanceBio SEC 500 Å, 2.7 µm, 4.6 × 300 mm	PL1580-5325
AdvanceBio SEC 500 Å, 2.7 µm, 4.6 × 150 mm	PL1580-3325
AdvanceBio SEC 500 Å, 2.7 µm, 4.6 × 50 mm 保护柱	PL1580-1325
AdvanceBio SEC 1000 Å, 2.7 µm, 7.8 × 300 mm	PL1180-5302
AdvanceBio SEC 1000 Å, 2.7 µm, 7.8 × 50 mm 保护柱	PL1180-1302
AdvanceBio SEC 1000 Å, 2.7 µm, 4.6 × 300 mm	PL1580-5302
AdvanceBio SEC 1000 Å, 2.7 µm, 4.6 × 150 mm	PL1580-3302
AdvanceBio SEC 1000 Å, 2.7 µm, 4.6 × 50 mm 保护柱	PL1580-1302

有关其他 AdvanceBio SEC 孔径，请参见 [www.agilent.com/chem/advancebio-sec](http://www.agilent.com/chem/advancebio-sec)。



了解更多信息：

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

如需获取技术问题的答案和安捷伦社区的资源，请访问：

[community.agilent.com](http://community.agilent.com)

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：

[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)

DE30745542

本文中的信息、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，2024  
2024年6月10日，中国出版  
5994-7542ZHCN

