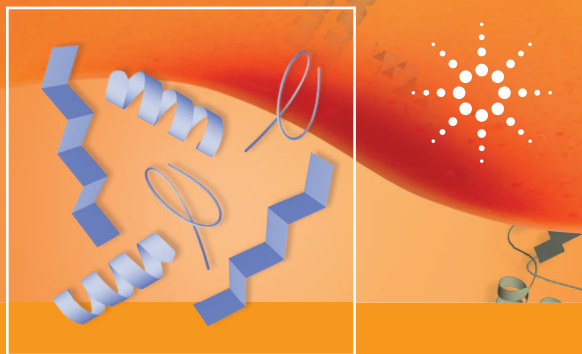


现已推出 C18 和 C8 功能基色谱柱！

# 提高分析效率

使用安捷伦 ZORBAX RRHD 300Å 1.8 μm 色谱柱



## 扩展蛋白质分析的范围……

### 适用于使用 UHPLC 分离蛋白质和多肽的超高压快速高分辨色谱柱

新的 ZORBAX RRHD 300Å 1.8 μm 柱为完整蛋白和多肽裂解物的反相分离，提供 UHPLC 性能。在 UHPLC 仪器（如，安捷伦 1290 Infinity 液相色谱仪）上使用时，可以在缩短分析时间的同时得到更高的表征。

这种色谱柱都可以供应 C18 和 C8 两类，为蛋白质一级结构分析提供了更多选择。

这些新产品是安捷伦 300Å 孔径色谱柱的扩展，包括多肽和蛋白质反相分离所使用的全多孔 ZORBAX 300Å、表面多孔层 Poroshell 300 和聚合物型 PLRP-S 300Å 柱。随着这些色谱柱的推出，您可以用 ZORBAX StableBond 柱使蛋白质分析获得 UHPLC 功能。

### StableBond 技术

C18 和 C8 新柱是使用 ZORBAX StableBond 技术填充，具有如下特性：

- **在低 pH 条件下稳定** —— 您可以以完全的自信使用三氟乙酸 (TFA) 和甲酸洗脱液，在低至 pH 1 的条件下分离蛋白和多肽
- **温度稳定性** —— 您可以在高达 80 °C 的温度下进行分离，以提高柱效和降低洗脱液粘度，而且不会因此缩短柱寿命

StableBond 填料以 ZORBAX 硅胶为基体，最大限度减少碱性多肽和蛋白的强吸附，提供不拖尾的对称峰。

### C18 和 C8 功能基

- **C18** —— 在 ZORBAX 颗粒上用二异丁基十八烷基硅烷键合空间保护的 C18 功能基，得到使用酸性流动相时具有长柱寿命的化学稳定固定相。这对于蛋白裂解多肽片段和小分子蛋白的分析非常重要
- **C8** —— 二异丁基辛基硅烷键合空间保护的 C8 功能基，改善包括抗体在内的较大分子蛋白的分离和回收率



Agilent 1290 Infinity LC



The Measure of Confidence



Agilent Technologies

## 延长柱寿命

图 1 中的色谱图表明进样 200 次以上胰岛素样品后柱压未增加，性能未降低。

色谱柱: ZORBAX RRHD 300SB-C18 2.1 x 50 mm, 1.8  $\mu$ m  
 样品: 胰岛素 (牛-sigma, 1 mg/mL)  
 进样: 3  $\mu$ L  
 流速: 1.0 mL/min  
 流动相 A: 0.1% 三氟乙酸  
 流动相 B: 0.01% 三氟乙酸 + 80% 乙腈  
 分析时间: 5 min  
 梯度: 0 到 4 min, B 从 25% 升到 50%  
 检测: 1290 Infinity LC 检测波长 280 nm

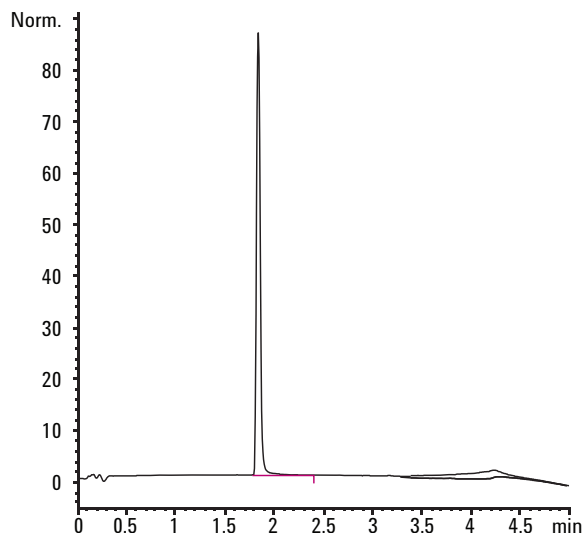


图 1. 第 1、50、100 和 200 次胰岛素分离结果叠加，表明保留时间具有良好的重现性，柱效没有降低，峰形没有变形

表 1. 200 次进样重复性实验期间 Agilent ZORBAX 300SB-C18 的性能指标

流速 (mL)	分析次数	压力 (bar)	保留时间 (min)	对称性	塔板数
1	1	680 到 520	1.789	0.86	9758
1	50	680 到 520	1.790	0.91	9752
1	100	680 到 520	1.788	0.88	9758
1	200	680 到 520	1.789	0.87	9741

## 更快速的分离

ZORBAX RRHD 300SB-C18 色谱柱填充了 1.8  $\mu$ m 填料，与 UHPLC 分析小分子一样可以在较高流速下保持蛋白质的分离性能 (图 2)。

色谱柱: ZORBAX RRHD 300SB-C18 2.1 x 50 mm, 1.8  $\mu$ m  
 样品: 胰岛素 (牛-sigma, 1 mg/mL)  
 进样: 3  $\mu$ L  
 流速: 1.5 mL/min, 1.0 mL/min, 0.5 mL/min, 0.3 mL/min  
 流动相 A: 0.1% 三氟乙酸  
 流动相 B: 0.01% 三氟乙酸 + 80% 乙腈  
 分析时间: 5 min  
 梯度: 0 到 4 min, B 从 5% 升到 100%  
 检测: 1290 Infinity LC 检测波长 280 nm

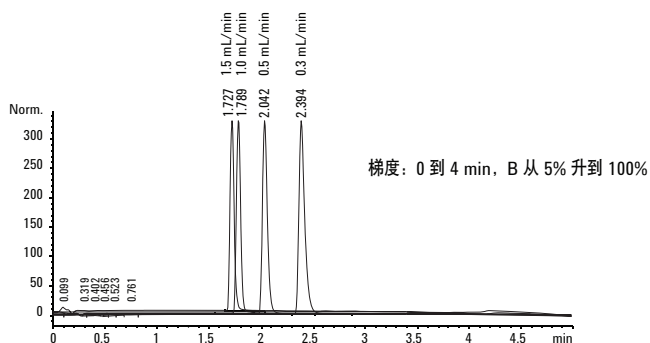


图 2. 在 4 种不同流速下使用 Agilent ZORBAX 300SB-C18 柱的结果叠加，说明高流速如何缩短保留时间

表 2. Agilent ZORBAX 300SB-C18 性能随流速的变化。随流速增大，峰对称性得到改善，柱效几乎没有下降

流速 (mL)	压力 (bar)	保留时间 (min)	对称性	塔板数
0.3	230 到 150	2.39	0.80	8815
0.5	350 到 250	2.04	0.82	8390
1.0	680 到 520	1.78	0.88	8034
1.5	890 到 670	1.72	0.88	8060

## 应用

### 完整蛋白的更高回收率

分析完整蛋白时，ZORBAX RRHD 300SB-C18 2.1 x 50 mm, 1.8 μm 短柱较为理想。由于随着柱长变短，蛋白质流经色谱柱被洗脱的距离变短，完整蛋白的回收率将更高。C18 配基是多肽和蛋白分离中所用疏水性最强的烷烃链，更适合分析小分子球形完整蛋白，胰岛素就是一种分子量为 5800 道尔顿的小分子蛋白（图 3）。

色谱柱: ZORBAX RRHD 300SB-C18 2.1 x 50 mm, 1.8 μm  
样品: 胰岛素、胰岛素 A 链和 B 链氧化物  
(牛-sigma, 1 mg/mL)  
进样: 2 μL  
流速: 1.0 mL/min  
流动相 A: 0.1% 三氟乙酸  
流动相 B: 0.01% 三氟乙酸 + 80% 乙腈  
分析时间: 8 min  
梯度: 0 到 4 min, B 从 33% 升到 50%  
检测: 1290 Infinity LC 检测波长 280 nm

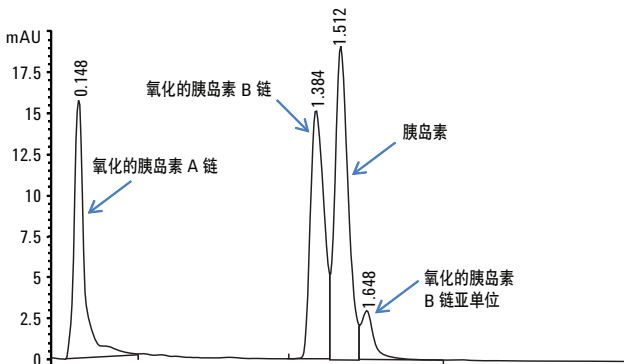


图 3. 很显然，用 Agilent ZORBAX RRHD 300SB-C18 2.1 x 50 mm, 1.8 μm 柱可在 2 分钟内将氧化胰岛素链与胰岛素分开

### 改进单克隆抗体的分离度

对于包括单克隆抗体在内的大分子蛋白，使用碳链较短、疏水性较弱的 C8 功能基柱。可以改善分离度、提高回收率。图 4 显示了 ZORBAX RRHD 300SB-C8 柱进样 150 次的重现性和柱寿命，保留时间和峰形均未改变。下图为 150 次进样前后的空白和梯度曲线，说明进样 150 次后没有出现鬼峰或压力升高，因此，色谱柱没有损坏。

色谱柱: ZORBAX RRHD 300SB-C8 2.1 x 50 mm, 1.8 μm  
样品: MAb  
流速: 1.0 mL/min  
温度: 80 °C  
流动相 A: H<sub>2</sub>O:IPA (98:2), 0.1% 三氟乙酸  
流动相 B: IPA:ACN:H<sub>2</sub>O (70:20:10), 0.1% 三氟乙酸  
检测: 1290 Infinity LC 检测波长 225 nm

表 3. 梯度时间表

时间 (min)	% 溶剂 B
0.00	25
3.00	35
4.00	90
5.00	25

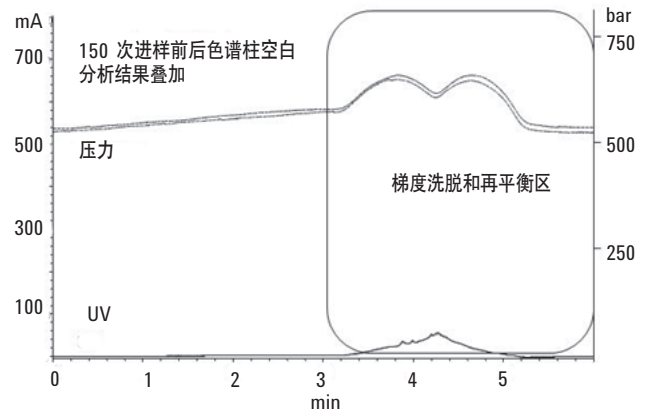
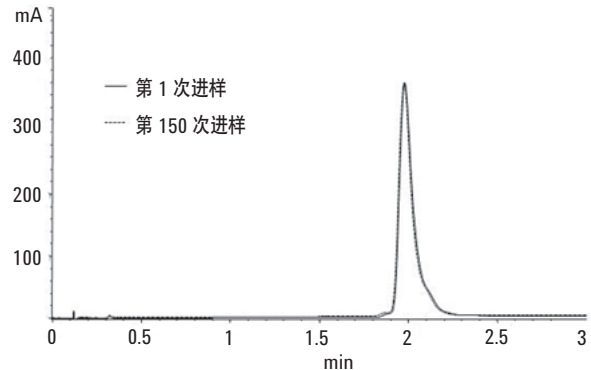


图 4. 用安捷伦 ZORBAX 300SB-C8 柱得到优异的色谱柱重现性和蛋白回收率

## 提高肽谱分离度

对于肽谱应用，建议使用 ZORBAX RRHD 300SB-C18 2.1 x 100 mm, 1.8  $\mu$ m 长柱，可以提高蛋白酶解多肽片段的分离度。1.8  $\mu$ m 填料的更高柱效提高了多肽各片段的分离度，适用于对氨基酸翻译后修饰进行快速鉴别（图 5）。

色谱柱: ZORBAX RRHD 300SB-C18 2.1 x 100 mm, 1.8  $\mu$ m  
样品: 蛋白质的酶解产物 (MAb)  
进样: 5  $\mu$ L  
流速: 0.5 mL/min  
温度: 50  $^{\circ}$ C  
流动相 A: 0.1% 三氟乙酸  
流动相 B: 0.01% 三氟乙酸 + 80% 乙腈  
梯度: 1 min 时 B 为 2%，用 8.8 min, B 从 2% 升到 45%，  
用 0.2 min, B 从 45% 到 95%，95% B 保持 2 min，  
用 0.2 min, B 从 95% 降到 2%  
检测: 1290 Infinity LC 检测波长 280 nm

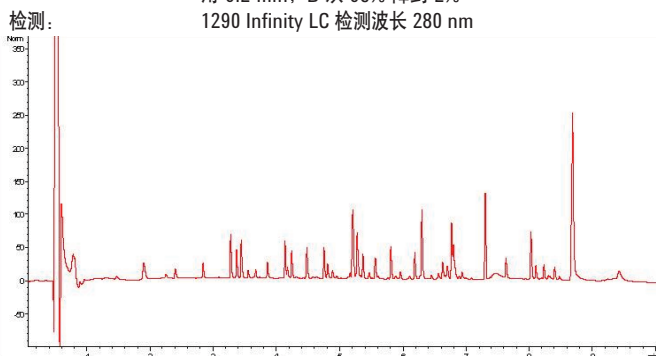


图 5. Agilent ZORBAX 300SB-C18 100 mm 长柱为蛋白裂解液分析提供了最大的分离度——在本例中包括冲洗和平衡在内的全部分析时间不到 5 分钟

## 订购信息

名称	部件号
ZORBAX RRHD 300SB-C18 2.1 x 50 mm, 1.8 $\mu$ m	857750-902
ZORBAX RRHD 300SB-C18 2.1 x 100 mm, 1.8 $\mu$ m	858750-902
ZORBAX RRHD 300SB-C8 2.1 x 50 mm, 1.8 $\mu$ m	857750-906
ZORBAX RRHD 300SB-C8 2.1 x 100 mm, 1.8 $\mu$ m	858750-906

这些色谱柱是用于蛋白和多肽分析的安捷伦反相 BioHPLC 最新色谱柱，包括 Poroshell 300、ZORBAX 300Extend-C18 和 PLRP-S。如需了解详细信息请访问安捷伦网站。

本文中的产品性能指标和说明如有更改，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2011  
2011 年 9 月 28 日 中国印刷  
5990-8124CHCN

## 其它应用资源

用反相 Agilent ZORBAX RRHD 300SB-C18 柱分析氧化的胰岛素链

出版物 5990-7988CHCN

用 UHPLC 与紫外检测和 Agilent ZORBAX RRHD 300SB-C18 分析 MAb 和 BSA 裂解物

出版物 5990-8244CHCN

用安捷伦超高压快速高分辨 300SB-C8 柱对完整单克隆抗体进行反相分离

出版物 5990-9016CHCN

## 查找如何将蛋白质分析提高到新水平

安捷伦反相 BioHPLC 产品:

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

液相色谱和安捷伦 1200 Infinity 系列:

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

在线购买:

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

如需安捷伦科技色谱柱与消耗品的最新详细信息:  
请与安捷伦科技化学分析消耗品服务热线联系:

800-820-3278 转 4

400-820-3278 转 4 (手机用户)

联系我们:

[customer-cn@agilent.com](mailto:customer-cn@agilent.com)

安捷伦科技大学:

<http://www.agilent.com/chem/university>

浏览和订阅 Access Agilent 电子期刊:

[www.agilent.com/chem/accessagilent.cn](http://www.agilent.com/chem/accessagilent.cn)



Agilent Technologies