

# 中等到高分子量范围蛋白质的 GPC/SEC 分析

## 作者

Mathias Glaßner 和 Jasmin Preis  
安捷伦科技有限公司

## 摘要

本应用简讯介绍了使用 Agilent PROTEEMA 色谱柱并以水性缓冲液为洗脱液对蛋白质进行 GPC/SEC 分析。

## 前言

蛋白质的聚集和碎裂研究数据是生物制药工作流程中的重要信息。这些数据可以通过 GPC/SEC 分析获得<sup>[1]</sup>。

蛋白质 GPC/SEC 分析面临的挑战是如何避免与固定相之间不利的非特异性相互作用。使用 Agilent PROTEEMA 色谱柱，根据所研究的摩尔质量范围选择孔隙率可以分析各种蛋白质。

## 实验部分

见表 1。

## 结果与讨论

以 PROTEEMA 色谱柱为固定相并将 pH = 6.6 的水性磷酸盐缓冲液和 0.5 mol/L 氯化钠作为洗脱液，对蛋白质进行稳定、可靠的 GPC/SEC 分析。对于中等到高摩尔质量蛋白质的分析，使用 PROTEEMA 3  $\mu\text{m}$  300  $\text{\AA}$  色谱柱。图 1 显示了五种蛋白质（甲状腺球蛋白、丙种球蛋白、牛白蛋白、鸡白蛋白和  $\beta$ -乳球蛋白）的色谱图叠加图，范围为 670000–35000 Da。

表 1. 仪器和样品条件

	条件
泵	等度泵 流速: 1 mL/min 流动相: 34 mmol/L 磷酸盐缓冲液, pH = 6.6, 0.5 mol/L 氯化钠
进样系统	自动进样器 进样量: 20 $\mu\text{L}$
色谱柱	PROTEEMA 3 $\mu\text{m}$ 300 $\text{\AA}$ , 8 $\times$ 300 mm (货号 PRA0830033e2)
温度	23 $^{\circ}\text{C}$
样品浓度	1 mg/mL
检测器	可变波长 UV-Vis 检测器 (VWD), $\lambda = 280 \text{ nm}$ 示差折光 (RI) 检测器
软件	Agilent WinGPC

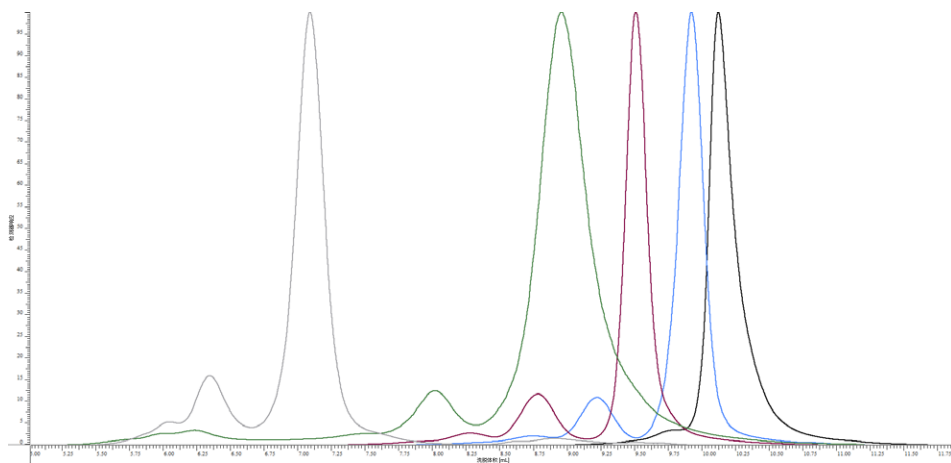


图 1. 使用 Agilent PROTEEMA 3  $\mu\text{m}$  300  $\text{\AA}$  色谱柱，在 280 nm 处分析 5 种蛋白质 (670000–35000 Da) 获得的 UV 曲线叠加图 (归一化检测器响应)

## 结论

PROTEEMA 色谱柱适用于水性缓冲液中蛋白质的 GPC/SEC 分析。在 Agilent PROTEEMA 300  $\text{\AA}$  色谱柱上，中等到高摩尔质量的蛋白质可以根据其大小进行分离，从而实现聚集体和片段的检测。

## 参考文献

1. Hong, P.; Koza, S.; Bouvier, E. S. P. Size-Exclusion Chromatography for the Analysis of Protein Biotherapeutics and their Aggregates *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* **2012**, 35(20), 2923–2950

查找当地的安捷伦客户中心:

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

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)

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

DE88824697

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, 2020, 2023  
2023 年 3 月 2 日, 中国出版  
5994-5728ZHCN