

低至中等分子量蛋白质的 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 色谱柱作为固定相，对溶解于水性缓冲液中的蛋白质进行 GPC/SEC 分析。

前言

蛋白质的聚集和碎裂信息是许多生物制药分析研究的关键。这些信息可以通过 GPC/SEC 分析获得^[1]。

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 PROTEEMA 色谱柱，根据所研究的分子量范围选择孔隙率可以分析各种蛋白质。

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。

图 1 显示了五种蛋白质（白蛋白、β-乳球蛋白、肌红蛋白、细胞色素 C 和抑肽酶）和另外两种生物小分子（维生素 B12 和胞苷）的色谱图叠加图，分子量范围为 67000–243 Da。使用 PROTEEMA 3 μm 100 Å 色谱柱进行色谱分析，该色谱柱在中低分子量区域可实现出色分离。

实验部分

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 μL
色谱柱	PROTEEMA 3 μm 100 Å, 8 × 300 mm (货号 PRA0830031e2)
温度	23 °C
样品浓度	1 mg/mL
检测器	可变波长 UV-Vis 检测器 (VWD), λ = 280 nm 示差折光 (RI) 检测器
软件	Agilent WinGPC

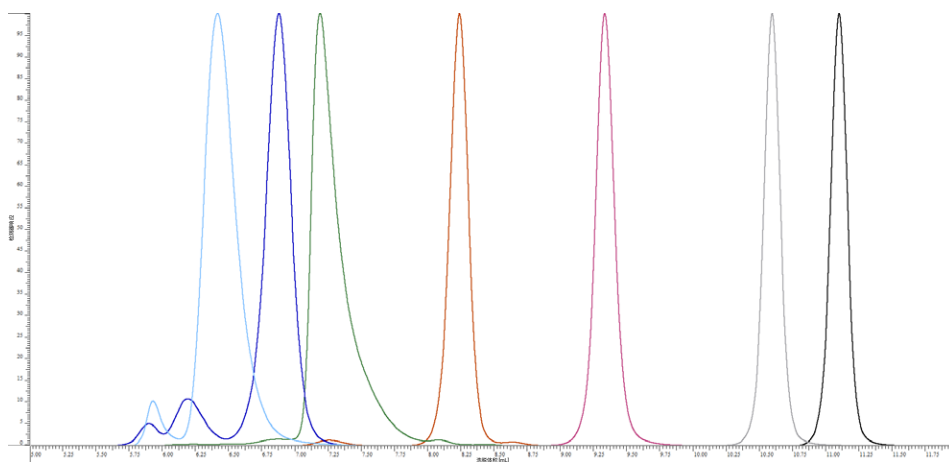


图 1. 使用 Agilent PROTEEMA 3 μm 100 Å 色谱柱，在 280 nm 处分析 5 种蛋白质和另外 2 种生物小分子 (67000–243 Da) 获得的 UV 曲线叠加图 (归一化检测器响应)

查找当地的安捷伦客户中心:

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

在线询价:

www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com

DE57786461

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
5994-5727ZHCN

结论

Agilent PROTEEMA 色谱柱适用于水性缓冲液中蛋白质的 GPC/SEC 分析。在 PROTEEMA 100 Å 色谱柱上，低至中等分子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