

生物色谱柱选择指南

生物治疗药物对改善人类健康具有巨大潜力。在全球范围内，获得批准的蛋白质和抗体治疗药物的数量不断增长，因为这一重要的治疗药物类别能够应对尚未满足的医疗需求。但生物药物的发现和开发十分困难。科学家们面临着许多挑战，不仅要随时掌握知识进步和技术改进，而且还必须满足不断变化的政府法规的要求。快速做出正确决策至关重要。从疾病研究到 QA/QC 再到生产的每个阶段，安捷伦都能帮助您做出正确选择，将治疗药物成功推向市场。这不仅仅是因为我们制造的可靠仪器和消耗品能够提供准确、可重现的结果。更是因为我们了解生物制药工作流程，并提供无缝协同的产品系列（作为研究、发现和开发的引擎），以推动候选生物药物的开发。

鉴于蛋白质生物药物非常不均一，需要采用许多色谱方法以准确表征活性药物成分 (API)。分析方法包括用于定量分析二聚体和聚集体的体积排阻色谱以及用于电荷异构体分析的离子交换色谱。作为全面表征的组成部分，还有必要了解一级氨基酸序列以及在纯化或配制步骤中对该序列可能进行的任何翻译后修饰。为了对关键表征工作流程进行完整、可重现的高质量分析，安捷伦提供了各种色谱柱和备件。

本综合指南将帮助您选择适合您的表征工作流程的色谱柱。我们还对方法开发、溶剂选择、流动相改性、优化给出了一些建议和提示，并列举了许多分离实例，所有这些将对您选择色谱柱和开发方法提供帮助。

安捷伦针对您的需求提供了完备的解决方案。其中包括配备无金属样品管路的 Agilent 1260 Infinity II 生物惰性液相色谱系统，以及设计用于为 UHPLC 应用提供最高分析速度、分离度和超高灵敏度的 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统。生物分子可能在结构上非常复杂，但是使用安捷伦 HPLC 色谱柱、系统和备件可简化其分析过程。

什么是生物分子?

生物分子是由生物体产生的化合物。其分子量范围可以从氨基酸和小分子脂类到大分子多聚核苷酸，如 DNA 或 RNA。

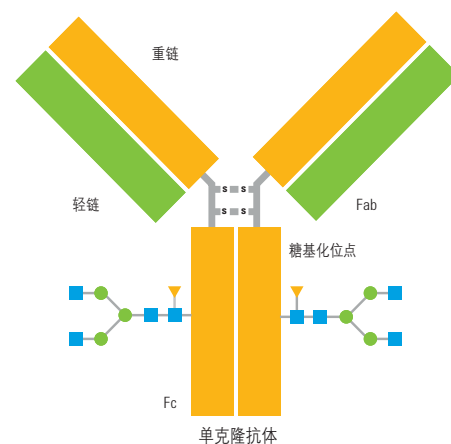
在本节中，我们将探讨以下化合物的分离：

蛋白质 — 用体积排阻色谱基于尺寸进行分离，用离子交换色谱基于电荷进行分离，用反相或疏水相互作用色谱基于疏水性进行分离。

肽 — 用于各种肽（包括所有尺寸的疏水、亲水、碱性和酸性肽）分析和纯化的生物色谱柱。另外，还有适用于 HPLC 和 UHPLC 肽谱分析的色谱柱。

DNA/RNA 寡核苷酸 — 反相和离子交换柱适合分离 DNA 和 RNA 寡核苷酸，填料孔径满足所有尺寸寡核苷酸的分离需求，从合成的小分子寡核苷酸到大分子质粒。

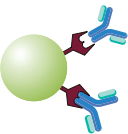
氨基酸 — AdvanceBio 氨基酸分析色谱柱为 24 种氨基酸的分析提供了高效解决方案。一般情况下，分析时间从 14 分钟（使用 75 mm 色谱柱）到 24 分钟（使用 150 mm 色谱柱）。



什么是生物色谱柱？

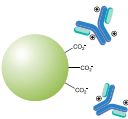
生物色谱柱或生物柱是用于分离生物化合物（如肽和蛋白质、寡核苷酸和多聚核苷酸）及其他生物分子和复合物的液相色谱柱。生物柱色谱柱专门设计用于生物分子分析，具有适合大分子分析的大孔径。在填料设计上，尽量减少填料与分析物之间的非特异性结合，以提高回收率。分离机制的选择或为保留分析物的生物学功能（在分析过程中不失去生物活性），或故意使分析物变性以便对一级结构进行表征。

安捷伦生物色谱柱产品为生物分子分析所需的所有主要表征技术提供各种解决方案。其中包括：



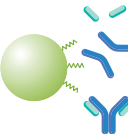
滴度测定

使用 AdvanceBio Bio-Monolith Protein A 色谱柱等独有的技术进行滴度测定和细胞系优化。



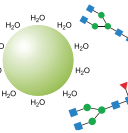
电荷异构体分析

安捷伦离子交换色谱柱包括针对单克隆抗体分析进行优化的固定相，例如 Bio MAb 和 Bio IEX，以实现准确的异构体分析。



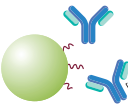
使用反相色谱分析完整蛋白质和亚基纯度

使用 AdvanceBio RP-mAb、ZORBAX RRHD 300 Å 和 PLRP-S 等关键技术，在一级结构表征到完整或碎片蛋白质分析等各种应用中获得更加可靠的分析结果。



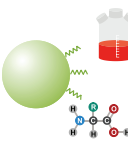
多聚糖分析

安捷伦亲水相互作用色谱 (HILIC) 柱可为多聚糖和糖肽分析提供准确且可重现的结果。



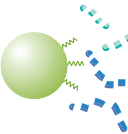
使用疏水相互作用分析完整蛋白质

Agilent AdvanceBio HIC 色谱柱将分离各种蛋白质异构体 (PTM)，包括 mAb 中的氧化以及在 ADC 中观察到的药物抗体种类。



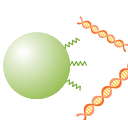
氨基酸和细胞培养基分析

采用 AdvanceBio AAA 的 LC/UV 型工作流程或采用 AdvanceBio MS Spent Media 的 LC/MS 型工作流程，分析关键的细胞培养基成分。



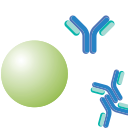
肽谱分析

使用 AdvanceBio 肽谱分析检测并鉴定酶解的蛋白质样品中的关键翻译后修饰。



寡核苷酸分析

稳定、高效的 DNA/RNA 分析解决方案。



聚集体及片段分析

AdvanceBio SEC 可准确测量聚集体（例如二聚体、三聚体和四聚体等）并从较大分子量的蛋白质中分离低分子量的赋形剂和杂质。

Agilent AdvanceBio 色谱柱旨在为提升准确度和速度而设计，适用于通过反相色谱表征单克隆抗体和其他完整蛋白质、聚集体 SEC、电荷异构体 IEX、完整质量数、一级结构和翻译后修饰 (PTM)，以及使用亲水相互作用色谱进行裂解多聚糖分析。

本指南提供了有关完整的安捷伦生物色谱柱产品系列的更多详细信息，以及 AdvanceBio 系列产品中可准确表征生物治疗药物的选择信息。



技巧和工具

如需了解有关我们的 AdvanceBio 色谱柱系列产品以及有助于推动您的表征需求的各种工具的更多信息，请访问：

<https://www.agilent.com.cn/zh-cn/product/biopharma-hplc-analysis/advancebio>



色谱柱选择流程图

以下流程图提供了各章选择指南的页码，帮助您选择最适合您的生物分子应用的色谱柱。

可遵循各种指南以帮助您选择最佳的生物分子分离色谱柱。首先，需要考虑分子的大小，这将决定分离所用的 HPLC 方法的孔径。其次，需要考虑分子的溶解度。第三，需要考虑分离机制、尺寸、疏水性和电荷。

