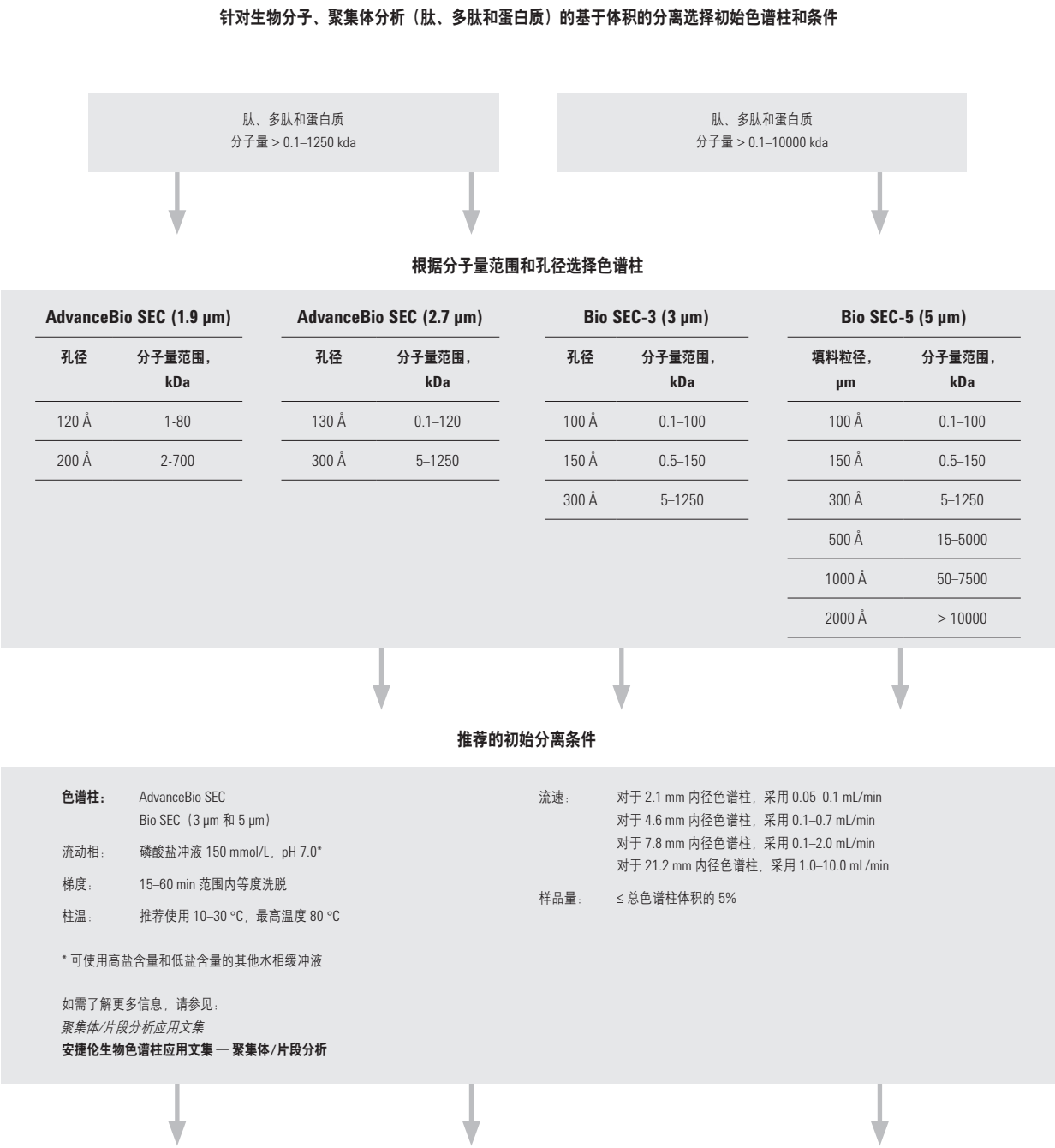


聚集体与片段分析方法

本节涉及聚集体分析的色谱柱选择策略，提供了有关 mAb、蛋白质和肽的方法开发的一些关键细节。



得到初始色谱图后，可能需要进行某些改变以改善分离度、保持蛋白质溶解性，或降低样品与色谱填料之间的相互作用。可以上下调整流动相的离子强度，以便获得最佳分离。通常，pH 值也可以调节 ± 0.2 个单位。如果还需要进一步优化，上下调整的范围则应相应扩大。还可以改变温度或添加有机溶剂。

对于需要加盐的方案，以下为常用缓冲液：

100–150 mmol/L 氯化钠（溶于 50 mmol/L 磷酸钠中），pH 7.0

100–150 mmol/L 硫酸钠（溶于 50 mmol/L 磷酸钠中），pH 7.0

50–100 mmol/L 尿素（溶于 50 mmol/L 磷酸钠中），pH 7.0

也可以用其他类似的盐（如 KCl）和盐酸胍。

pH 范围：

2.0–8.5

可添加的有机溶剂包括：

5%–10% 乙醇或其他类似溶剂（溶于 50 mmol/L 磷酸钠中），pH 7.0

5% DMSO（溶于 50 mmol/L 磷酸钠中），pH 7.0

必须特别注意，以免由于某些水/有机溶剂混合物的高粘度而导致压力变化过大。使用较小的流速或更高的温度有助于缓解潜在的问题。

柱温：

SEC 分离通常在 20–30 °C 下进行。蛋白质和肽的分离需要较高温度，以改善蛋白质和疏水性肽的分离度和回收率。

Bio SEC 色谱柱的最高耐受温度是 80 °C。