

Bio MAb HPLC 色谱柱

- 填料载体由硬质球形、高度交联的聚苯乙烯-乙烯基苯 (PS/DVB) 无孔微球组成
- 填料表面结合了亲水聚合物层，避免抗体蛋白的非特异性结合
- 填料的弱阳离子交换固定相层采用了不同工艺，使其比 Bio WCX 色谱柱填料的密度更高
- 专为单克隆抗体的电荷异构体分离而设计

单克隆抗体的全面表征，包括酸性和碱性亚型的鉴别和监测。Bio MAb HPLC 色谱柱填充了专为单克隆抗体基于带电量的高分离度分离而设计的特殊树脂颗粒。这类色谱柱可与水性缓冲盐溶液、乙腈/丙酮/甲醇和水混合物兼容。常用缓冲盐有磷酸盐、Tris、MES 和醋酸盐。

Bio MAb 色谱柱有 1.7、3、5 和 10 μm 粒径可供选择，较小的粒径能够提供较高的分离度。

色谱柱性能指标

键合相	内径	填料粒径	pH 稳定性	操作温度上限	流速
弱阳离子交换 (羧酸型)	2.1 和 4.6 mm	1.7、3、5 和 10 μm	2-12	80 °C	0.1-1.0 mL/min

技巧和工具



您是否希望提高单克隆抗体的电荷异构体分析的通量？如果是，请参见：

Reducing Cycle Time for Charge Variant Analysis of Monoclonal Antibodies (缩短单克隆抗体电荷异构体的分析周期) (出版号 5991-4722EN)



一致的离子交换 mAb 分离

色谱柱: **Bio MAb, PEEK**
5190-2407
4.6 × 250 mm, 5 μm

流动相: A: 磷酸钠 10 mmol/L, pH 5.5
 B: A + 氯化钠 0.5 mmol/L

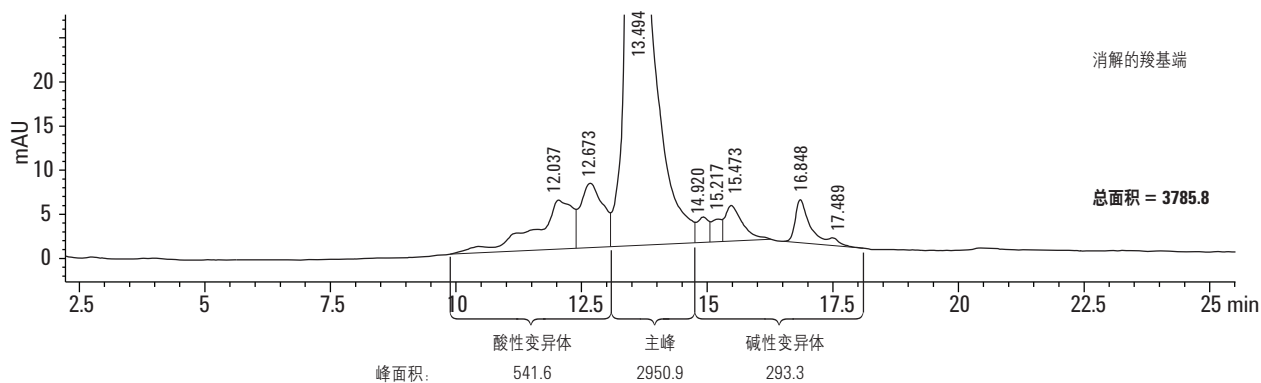
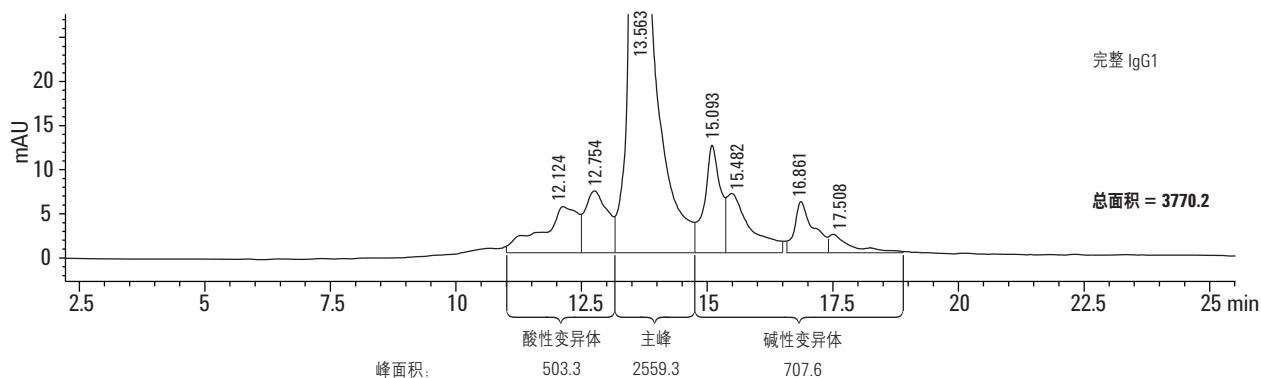
流速: 0.85 mL/min

梯度: 0 至 25 min, B 由 10% 升至 35% (除非另有说明)

检测器: UV, 225 nm

样品: 5 μg 1 mg/mL 完整或 C 端酶解的 IgG1

仪器: 1260 Infinity 生物惰性四元液相色谱或 1100 系列液相色谱系统



在 1260 Infinity 生物惰性四元液相色谱系统上使用 Bio MAb 5 μm 色谱柱分析羧基端消解的 IgG1 的计算数据。

重现性和精密度 — 使用 Bio MAb 色谱柱获得精确量化的可靠方法

色谱柱: Bio MAb, PEEK
5190-2407
4.6 × 50 mm, 5 μm

流动相: A: 10 mmol/L 磷酸钠缓冲液, pH 6.0
B: 10 mmol/L 碳酸氢钠缓冲液, pH 9.5

流速: 1.0 mL/min

进样量: 10 μL (洗针进样, 冲洗进样口 7 s)

梯度:

时间 (min)	% B
0	0
25	100
27	100
30	0

数据采集: 214 和 280 nm

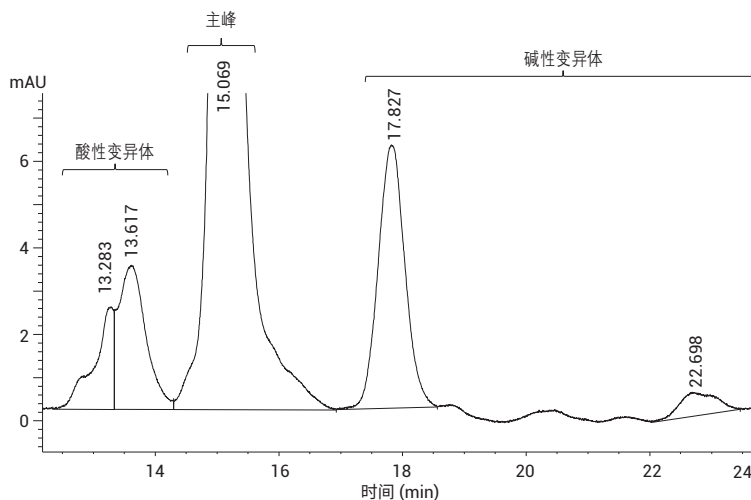
采集速率: 20 Hz

流通池: 60 mm 光程

柱温: 30 °C

样品恒温箱: 50 °C

后运行时间: 5 min



曲妥珠单抗的 Fab 和 Fc 片段的 WCX 分离

色谱柱: Bio MAb, PEEK
5190-2411
2.1 × 250 mm, 5 μm

流动相: A: 20 mmol/L MES, pH 5.6
B: 20 mmol/L MES, pH 5.6 + 300 mmol/L NaCl

流速: 170 μL/min

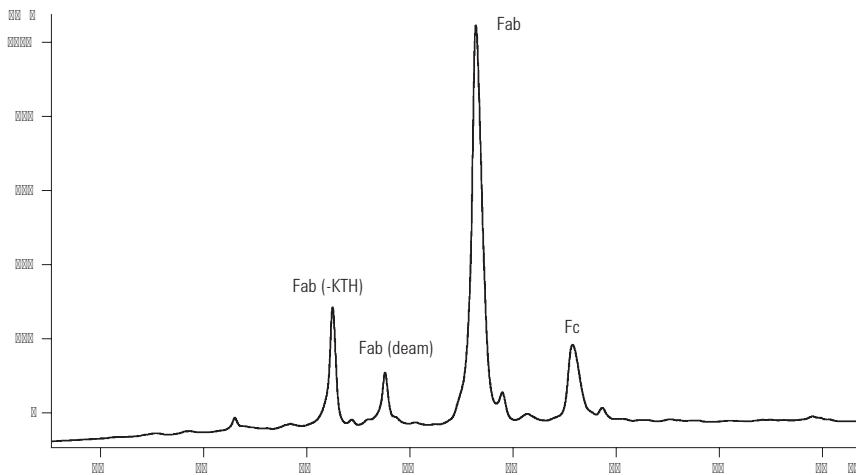
进样量: 16 μL

梯度:

时间 (min)	% B
0	0
39.5	80
40	100
50	100
50.5	2
60	2

柱温: 30 °C

仪器: 1100 系列



使用缓冲液顾问软件进行方法开发 — 最佳 pH 的确定

色谱柱: **Bio MAb, PEEK**
5190-2407
4.6 × 250 mm, 5 μm

仪器: 1260 Infinity 生物惰性四元液相色谱系统

缓冲液: A: H₂O
 B: NaCl 3 mol/L
 C: MES (2-(N-吗啉)乙磺酸一水合物) 60 mmol/L
 D: MES-Na (2-(N-吗啉)乙磺酸钠盐) 35 mmol/L

样品: 三种蛋白质混合物, 溶于 PBS (磷酸盐缓冲盐水) 中, pH 7.4

核糖核酸酶 A: 13700 Da, pI 9.6

细胞色素 C: 12384 Da, pI 10-10.5

溶菌酶: 14307 Da, pI 11.35

流速: 1 mL/min

梯度: 0 min-20 mmol/L NaCl
 5 min-20 mmol/L NaCl
 30 min-500 mmol/L NaCl
 35 min-1000 mmol/L NaCl
 36 min-20 mmol/L NaCl

进样量: 10 μL

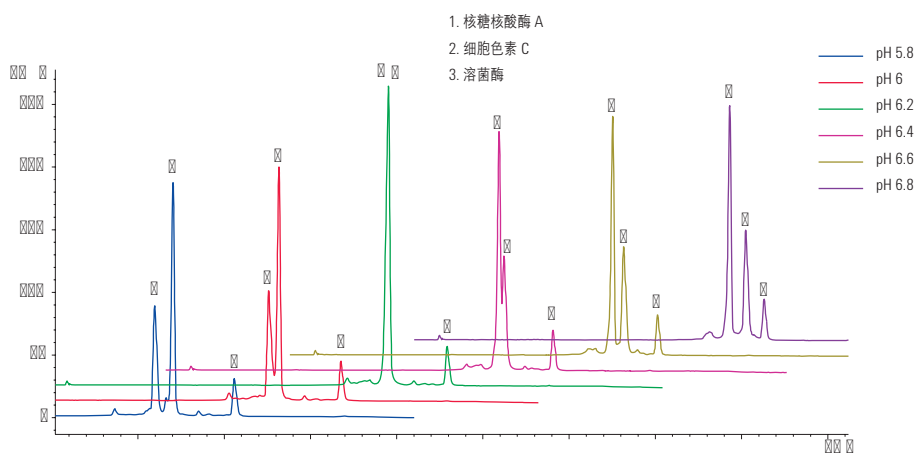
柱温箱: 4 °C

TCC 温度: 25 °C

DAD: 280 nm/4 nm

参比: 关闭

峰宽: > 0.05 min (1.0 s 响应时间) (5 Hz)



利用动态混合四元梯度进行三种蛋白质混合物分离的 pH 筛选

几乎没有保留时间变化

色谱柱: Bio MAb, 不锈钢
5190-2413
4.6 × 250 mm, 10 μm

流动相: A: 10 mmol/L 磷酸钠, pH 6.0
B: A + 1.0 mol/L 氯化钠

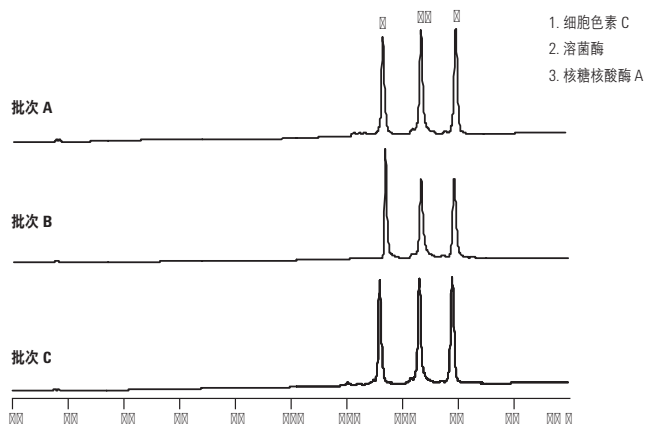
流速: 1.0 mL/min

梯度: 42 min 内 B 由 0% 升至 100%

柱温: 25 °C

检测器: UV, 214 nm

良好控制的树脂生产以及优质的色谱柱表面固定相和色谱柱填料的完美结合, 几乎消除了色谱柱之间以及批次间的保留时间变化。



Agilent Bio MAb HPLC 色谱柱

规格 (mm)	填料粒径 (μm)	Bio MAb PEEK	压力限值	Bio MAb 不锈钢	压力限值
21.2 × 250	5			5190-6885	275 bar, 4000 psi
10 × 250	5			5190-6884	275 bar, 4000 psi
4.6 × 250	10	5190-2415	275 bar, 4000 psi	5190-2413	275 bar, 4000 psi
4.6 × 50	10	5190-2416	275 bar, 4000 psi		
4.6 × 250	5	5190-2407	400 bar, 5800 psi	5190-2405	400 bar, 5800 psi
4.6 × 50	5	5190-2408	400 bar, 5800 psi		
4.6 × 50	3			5190-2403	551 bar, 8000 psi
4.6 × 50	1.7			5190-2401	600 bar, 8700 psi
4.0 × 10, 保护柱	10			5190-2414	275 bar, 4000 psi
4.0 × 10, 保护柱	5			5190-2406	413 bar, 6000 psi
4.0 × 10, 保护柱	3			5190-2404	551 bar, 8000 psi
4.0 × 10, 保护柱	1.7			5190-2402	600 bar, 8700 psi
2.1 × 250	10	5190-2419	275 bar, 4000 psi		
2.1 × 50	10	5190-2420	275 bar, 4000 psi		
2.1 × 250	5	5190-2411	400 bar, 5800 psi		
2.1 × 50	5	5190-2412	400 bar, 5800 psi		