

Bio IEX HPLC 色谱柱

- 高度交联的非多孔聚苯乙烯-乙烯基苯 (PS/DVB) 硬质填料表面结合亲水聚合物层, 避免了非特异性键合
- 均匀、致密填装的离子交换官能团化学键合到亲水层上 (每个位点连接多个离子交换基团), 提高了色谱柱容量
- 填料、涂层和键合能够耐高压, 有助于实现更高的分离度和更快速的分离
- 多个离子交换基团固定连接在一个结合位点上, 以增加柱容量



Bio IEX HPLC 色谱柱填充有聚合型非多孔离子交换填料, 专门用于肽、寡核苷酸和蛋白质的高分离度、高回收率和高效分离。

Bio IEX 系列包括强阳离子交换 (SCX)、弱阳离子交换 (WCX)、强阴离子交换 (SAX) 和弱阴离子交换 (WAX) 填料。所有填料均有 1.7、3、5 和 10 μm 非多孔填料规格可供选择。

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
SCX (强阳离子交换) $-\text{SO}_3\text{H}$	2.1 和 4.6 mm	1.7、3、5 和 10 μm	2-12	80 $^{\circ}\text{C}$	0.1-1.0 mL/min
WCX (弱阳离子交换) $-\text{COOH}$					
SAX (强阴离子交换) $-\text{N}(\text{CH}_3)_3$					
WAX (弱阴离子交换) $-\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$					

技巧和工具

有关优化电荷异构体分析的更多信息, 请参阅: *Ion-exchange chromatography for biomolecule analysis: a "how-to" guide* (用于生物分子分析的离子交换色谱: 使用指南) (出版号 **5991-3775EN**) 和安捷伦离子交换 BioHPLC 色谱柱 — 满怀信心地快速表征蛋白质的电荷异构体 (出版号 **5991-2449CHCN**)



缩短和简化电荷异构体工作流程

色谱柱: Bio WCX, 不锈钢
5190-2443
4.6 × 50 mm, 3 μm
Bio SCX, 不锈钢
5190-2423
4.6 × 50 mm, 3 μm

流动相: A: 水
B: 氯化钠 1.5 mol/L
C: 磷酸二氢钠 40 mmol/L
D: 磷酸氢二钠 40 mmol/L
按照由缓冲液顾问软件预先确定的比例混合 C 和 D, 得到具有所需 pH 范围和强度的缓冲液。

流速: 1.0 mL/min

进样量: 10 μL

梯度: 色谱图采集条件:
pH 5.0-7.0, 缓冲液强度 10-25 mmol/L
0-15 min, 氯化钠 (NaCl) 由 0 升至 500 mmol/L,
15-20 min, 氯化钠 (NaCl) 保持 500 mmol/L,
DOE 实验
pH 5.0-7.0
0-200 mmol/L, 0-250 mmol/L 和 0-300 mmol/L NaCl

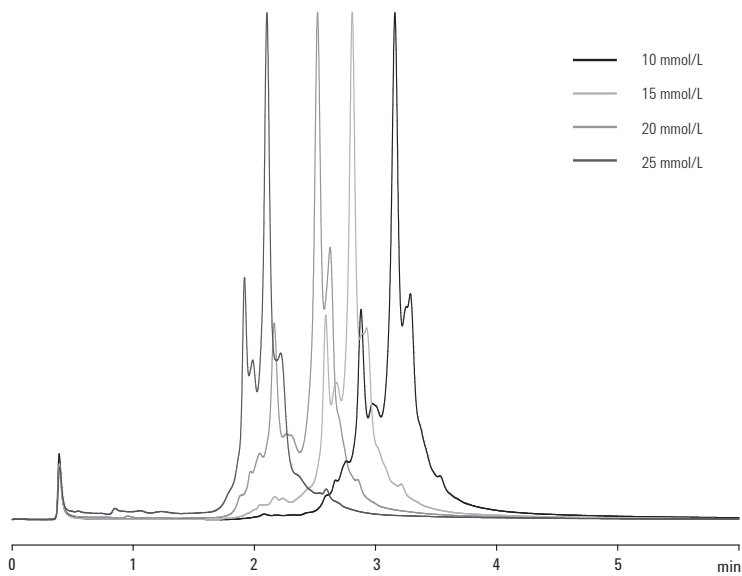
柱温: 室温

检测器: UV, 220 nm

样品: IgG 单克隆抗体

样品浓度: 2 mg/mL (溶于 20 mmol/L 磷酸钠缓冲液中, pH 6.0)

仪器: 1260 Infinity 生物惰性四元液相色谱系统



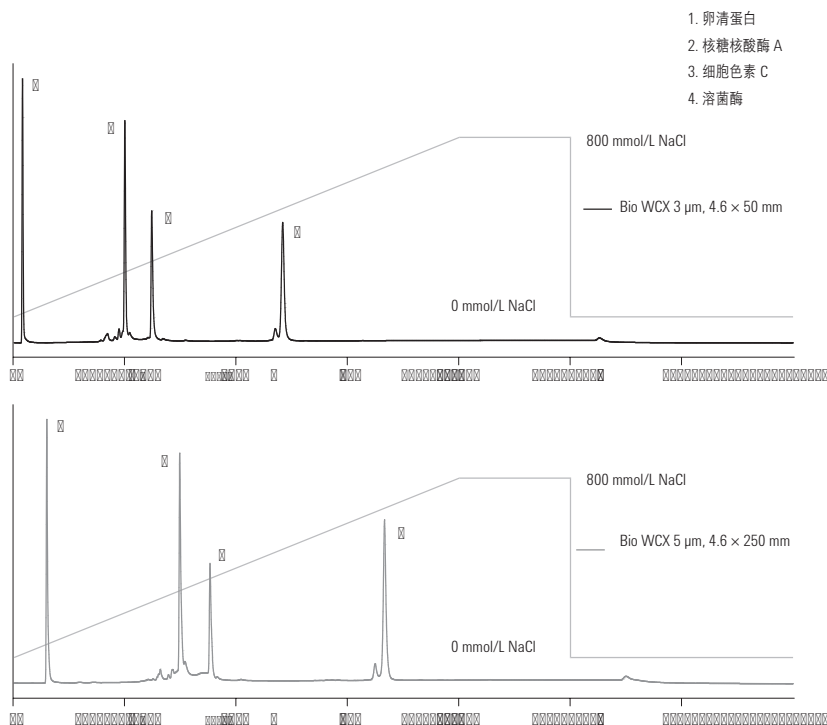
优化电荷异构体分离的自动化方法开发。从单克隆 IgG 分离的筛选色谱图中, 在 pH 6.5 条件下优化缓冲液强度。

利用更小粒径的填料和更短的色谱柱实现更快分析 — 分离速度提高 30%

色谱柱: **Bio WCX, 不锈钢**
5190-2445
4.6 × 250 mm, 5 μm
Bio WCX, 不锈钢
5190-2443
4.6 × 50 mm, 3 μm

流动相: A: 磷酸钠 20 mmol/L, pH 6.5
 B: A + 氯化钠 1.6 mmol/L

流速: 1.0 mL/min
进样量: 10 μL
梯度: 0%–50% B
柱温: 室温
检测器: UV, 220 nm
样品浓度: 0.5 mg/mL
仪器: 1260 Infinity 生物惰性四元液相色谱系统



使用 Bio WCX 4.6 × 50 mm (3 μm) 色谱柱和 Bio WCX 4.6 × 250 mm (5 μm) 色谱柱分离蛋白质的色谱图对比 (流速 1.0 mL/min)。通过更小填料粒径和更短色谱柱实现了更快的分析 — 样品从较长色谱柱中 17 min 流出, 而在较短色谱柱流出仅需 12 min。

较小粒径填料显著提高分离度

色谱柱: **Bio WCX, 不锈钢**
5190-2443
4.6 × 50 mm, 3 μm

Bio WCX, 不锈钢
5190-2441
4.6 × 50 mm, 1.7 μm

流动相: A: 磷酸钠 20 mmol/L, pH 6.5
B: A + 氯化钠 1.6 mmol/L

进样量: 10 μL

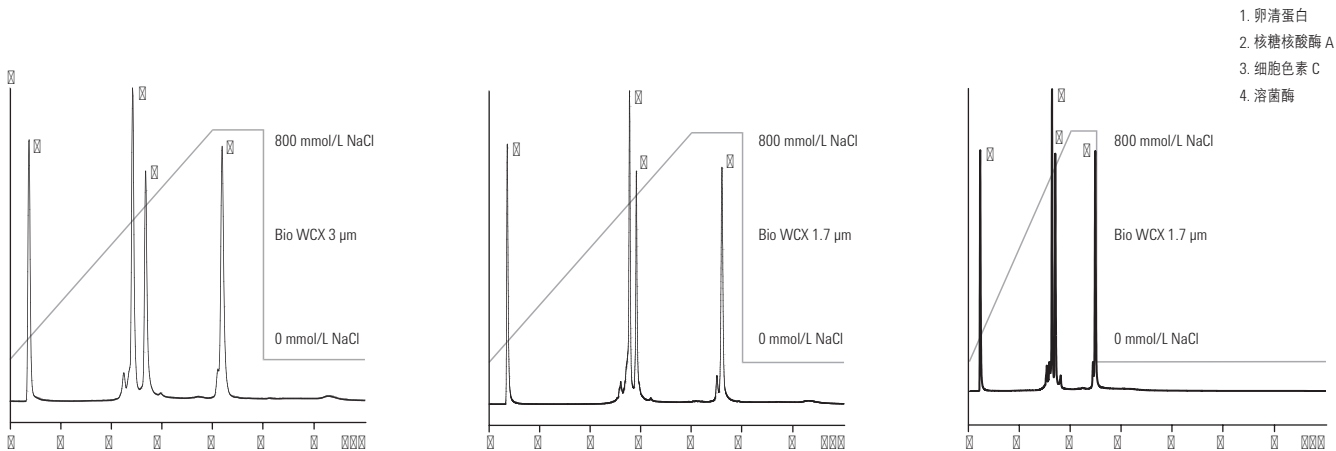
梯度: 0%–50% B

柱温: 室温

检测器: UV, 220 nm

样品浓度: 0.5 mg/mL

仪器: 1260 Infinity 生物惰性四元液相色谱系统



左图和中图: 蛋白质在 Bio WCX 3 μm 色谱柱与 Bio WCX 1.7 μm 色谱柱 (流速 1.0 mL/min) 上的分离。

右图: 流速提升至 1.7 mL/min 后, 分离时间缩短至 3 分钟以内。(使用 Bio WCX 色谱柱)

通过提高流速缩短分析时间 (峰形和分离度不受影响)。

使用 Agilent 1260 Infinity 生物惰性四元液相色谱系统通过阴离子交换柱分析蛋白质

色谱柱: Bio WAX, PEEK
5190-2487
4.6 × 250 mm, 5 μm

缓冲液: A: 20 mmol/L Tris, pH 7.6
B: 20 mmol/L Tris, pH 7.6 + 2 mol/L NaCl,
1 mol/L KCl, 1 mol/L CH₃COONa,
1 mol/L [(CH₃)₄N]Cl

梯度 1 mol/L: 5 min-100% A
20 min-70% B
25 min-100% B

梯度 2 mol/L: 5 min-100% A
20 min-35% B
25 min-50% B
25.01 min-100% B

停止时间: 30 min

后运行时间: 20 min

柱温: 25 °C

流速: 0.5 mL/min

进样量: 5 μL

DAD: 280 nm

峰宽: 0.025 min
(响应时间 0.5 s)
(10 Hz)

如需了解更多信息, 请参见应用简报 5990-9614CHCN

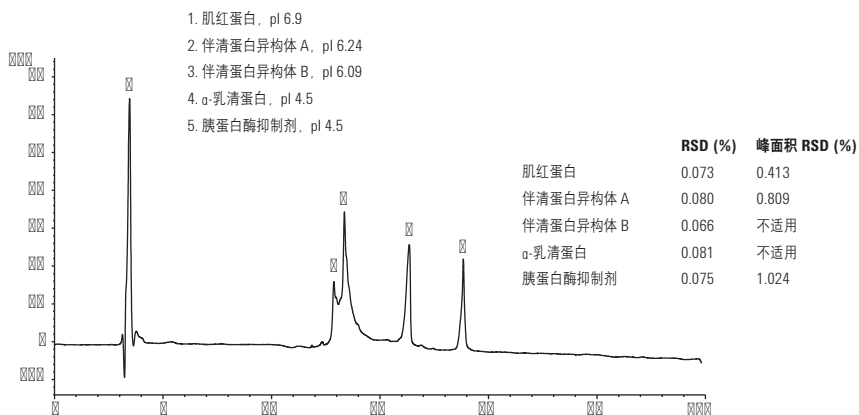


图 1. 线性梯度下蛋白质的 AEX 分离色谱图, 采用 2 mol/L NaCl 作为洗脱盐

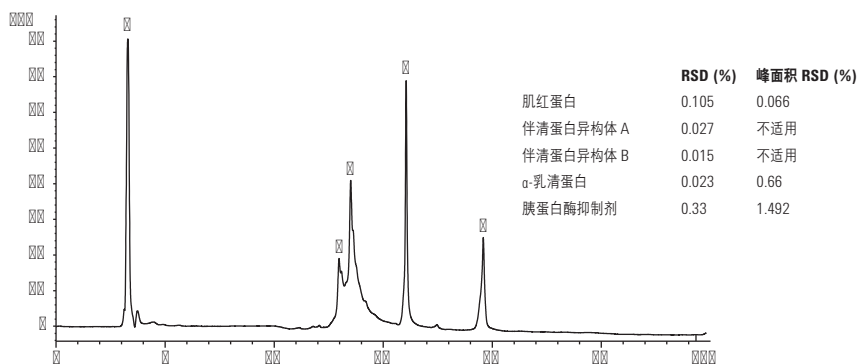


图 2. 线性梯度下蛋白质的 AEX 分离色谱图, 采用 1 mol/L KCl 作为洗脱盐

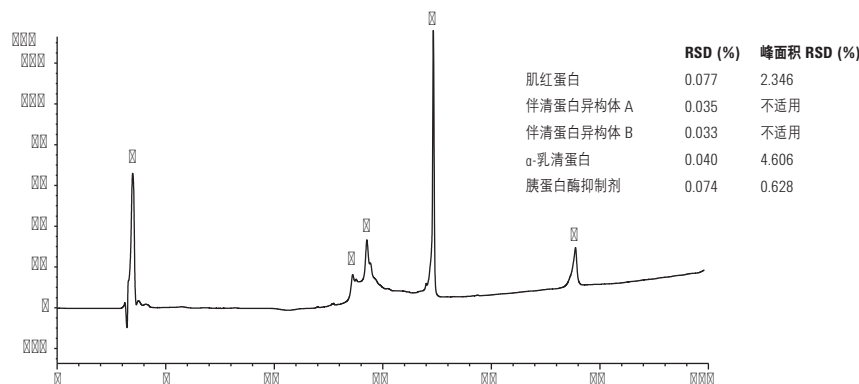


图 3. 线性梯度下蛋白质的 AEX 分离色谱图, 采用 1 mol/L [(CH₃)₄N]Cl 作为洗脱盐

Bio IEX HPLC 色谱柱, PEEK

规格 (mm)	填料粒径 (μm)	压力限值	Bio SCX 部件号	Bio WCX 部件号	Bio SAX 部件号	Bio WAX 部件号
4.6 × 250	10	275 bar, 4000 psi	5190-2435	5190-2455	5190-2475	5190-2495
4.6 × 50	10	275 bar, 4000 psi	5190-2436	5190-2456	5190-2476	5190-2496
4.6 × 250	5	400 bar, 5800 psi	5190-2427	5190-2447	5190-2467	5190-2487
4.6 × 50	5	400 bar, 5800 psi	5190-2428	5190-2448	5190-2468	5190-2488
2.1 × 250	10	275 bar, 4000 psi	5190-2439	5190-2459	5190-2479	5190-2499
2.1 × 50	10	275 bar, 4000 psi	5190-2440	5190-2460	5190-2480	5190-2500
2.1 × 250	5	400 bar, 5800 psi	5190-2431	5190-2451	5190-2471	5190-2491
2.1 × 50	5	400 bar, 5800 psi	5190-2432	5190-2442	5190-2462	5190-2492

技巧和工具



使用安捷伦溶剂过滤器除去自行制备的缓冲液和流动相中的颗粒。请访问：

<https://www.agilent.com.cn/zh-cn/product/liquid-chromatography/hplc-supplies-accessories/solvent-management-for-hplc/solvent-filtration-filter-membranes-for-hplc>

Bio IEX HPLC 色谱柱, 不锈钢

规格 (mm)	填料粒径 (μm)	压力限值	Bio SCX 部件号	Bio WCX 部件号	Bio SAX 部件号	Bio WAX 部件号
21.2 × 250	5		5190-6879	5190-6881	5190-6883	5190-6877
10 × 250	5		5190-6878	5190-6880	5190-6882	5190-6876
4.6 × 250	10	275 bar, 4000 psi	5190-2433	5190-2453	5190-2473	5190-2493
4.6 × 250	5	413 bar, 6000 psi	5190-2425	5190-2445	5190-2465	5190-2485
4.6 × 150	3					5190-6875
4.6 × 50	3	551 bar, 8000 psi	5190-2423	5190-2443	5190-2463	5190-2483
4.6 × 50	1.7	600 bar, 8700 psi	5190-2421	5190-2441	5190-2461	5190-2481
4.0 × 10, 保护柱	10	275 bar, 4000 psi	5190-2434	5190-2454	5190-2474	5190-2494
4.0 × 10, 保护柱	5	413 bar, 6000 psi	5190-2426	5190-2446	5190-2466	5190-2486
4.0 × 10, 保护柱	3	551 bar, 8000 psi	5190-2424	5190-2444	5190-2464	5190-2484
4.0 × 10, 保护柱	1.7	600 bar, 8700 psi	5190-2422	5190-2442	5190-2462	5190-2482

技巧和工具

如需了解更多信息, 请参见:

利用安捷伦弱阳离子交换色谱柱优化蛋白质的分离 (出版物 **5990-9628CHCN**)

Faster separations using Agilent weak cation-exchange columns (采用安捷伦弱阳离子交换柱进行快速分离) (出版物 **5990-9931EN**)

pH 梯度洗脱用于改善单克隆抗体带电变体的分离 (出版物 **5990-9629CHCN**)

使用安捷伦缓冲液顾问软件优化阳离子交换色谱法的蛋白质分离 (出版物 **5991-0565CHCN**)

