

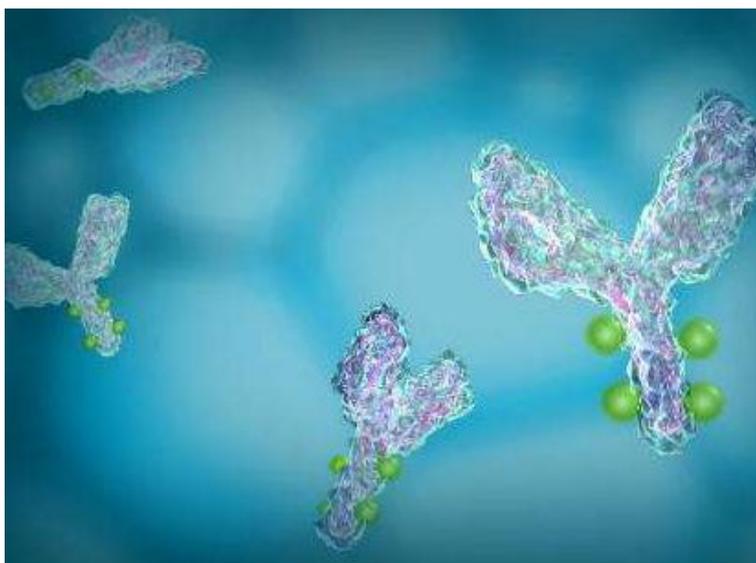
慧德易电子期刊

H&E Electronic Journal

第 132 期

东曹超高效液相尺寸排阻色谱柱

TSKgel UP-SW Aggregate



2020 年 8 月

第 132 期 东曹超高效液相尺寸排阻色谱柱

TSKgel UP-SW Aggregate

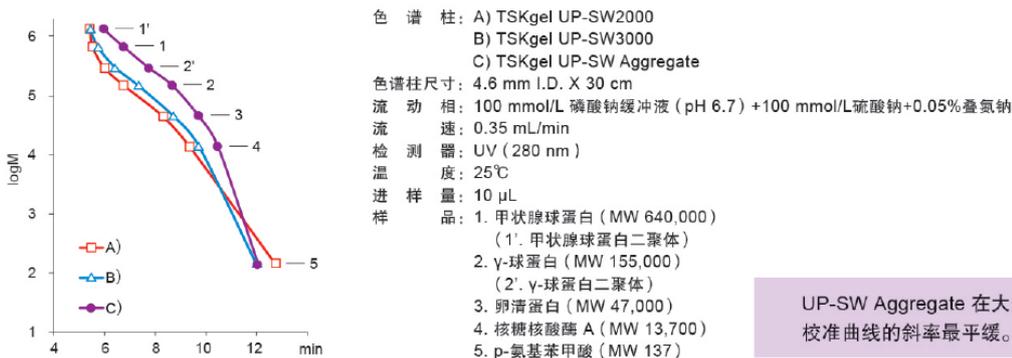
抗体药物中使用的单克隆抗体会在生产、储存和运输过程中产生聚集体并引发副作用，所以在进行质量控制时，会使用尺寸排阻色谱法（SEC）进行分析。由于二聚体以上的多聚体可能会引发免疫反应，所以在抗体药物的质量控制中，规定要对高分子杂质的含量进行定量评估。另外，通过定量分析四聚体、六聚体等多聚体，明确聚集体的形成机理也变得越来越重要。

现在，以分离聚集体为主要目的的 SEC 色谱柱 TSKgel UP-SW Aggregate 已实现了商品化。TSKgel UP-SW Aggregate 色谱柱，采用粒径为 3 μ m，键合了二醇基的硅胶颗粒充填，用于生物大分子分离用的尺寸排阻色谱柱。

一、填料的特性

名称	TSKgel UP-SW Aggregate
基质	硅胶
官能团	二醇基
粒径	3 μ m
孔径	30nm
分子量排阻限	2500 kDa
分离范围	10-2000 kDa

● 蛋白标准品校正曲线（与现有 UP-SW 系列色谱柱比较）



二、特点

1. 填料粒径 3 μ m，针对 mAb 多聚体、大分子蛋白、核苷酸等生物大分子进行快速分析（15cm 规格柱）以及高分辨率分析（30cm 规格柱）。
2. 该色谱柱的填料表面特性和孔隙特性（孔隙容量、校正曲线的斜率等）均与 TSKgel UltraSW Aggregate 相同，所以非常适合用来分离 mAb 多聚体。
3. 该色谱柱的内径相较于 TSKgel UltraSW Aggregate 更窄（4.6mm I.D.），因此可以获得更

高的灵敏度。

4. UHPLC 和常规 HPLC 系统都可兼容。

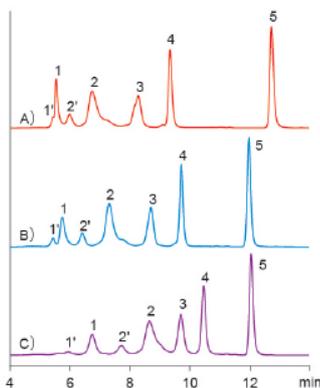
※ 为了充分发挥色谱柱的性能，建议使用死体积小（管路体积、检测池体积小）的分析系统。

三、主要分析对象和用途

对象	用途
1. mAb 的大分子多聚体 2. 大分子蛋白 3. 核苷酸	1. mAb 的高分辨率分离及测定 2. 纯度检验 3. 快速分析 4. 质量监控

四、应用实例

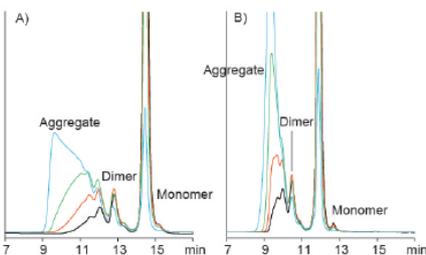
1. 对标准蛋白质的分离（与现有 UP-SW 系列色谱柱的比较）



色 谱 柱: A) TSKgel UP-SW2000
B) TSKgel UP-SW3000
C) TSKgel UP-SW Aggregate
色 谱 柱 尺 寸: 4.6 mm I.D. X 30 cm
流 动 相: 100 mmol/L 磷酸钠缓冲液 (pH 6.7) + 100 mmol/L 硫酸钠 + 0.05% 叠氮钠
流 速: 0.35 mL/min
检 测 器: UV (280 nm)
温 度: 25 °C
进 样 量: 10 µL
样 品: 1. 甲状腺球蛋白 (MW 640,000)
(1', 甲状腺球蛋白二聚体)
2. γ-球蛋白 (MW 155,000)
(2', γ-球蛋白二聚体)
3. 卵清蛋白 (MW 47,000)
4. 核糖核酸酶A (MW 13,700)
5. p-氨基苯甲酸 (MW 137)

UP-SW Aggregate 在 mAb 二聚体或更高分子量区域的分离范围最宽。

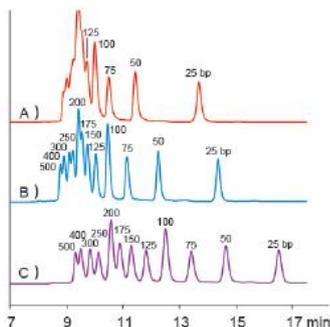
2. 热变性 mAb 的峰型变化



色 谱 柱: A) TSKgel UP-SW Aggregate
B) TSKgel UP-SW3000
色 谱 柱 尺 寸: 4.6 mm I.D. X 30 cm
流 动 相: 40 mmol/L 磷酸钠缓冲液 (pH 6.7) + 400 mmol/L 高氯酸钠 + 0.05% 叠氮钠
流 速: 0.2 mL/min
检 测 器: UV (280 nm)
温 度: 25 °C
进 样 量: 10 µL
样 品: mAb
* 用 20 mmol/L 磷酸钠缓冲液 (pH 7.2) + 150 mmol/L 氯化钠 将样品稀释 10 倍, 并等分成小份。
每一份等分样品均在如下温度条件下储存 2 小时。
70 °C (黑色谱图)
73 °C (红色谱图)
77 °C (绿色谱图)
80 °C (蓝色谱图)

UP-SW Aggregate 适用于分离 mAb 多聚体。

3. 对蛋白质的分离（与现有 UP-SW 系列色谱柱的比较）

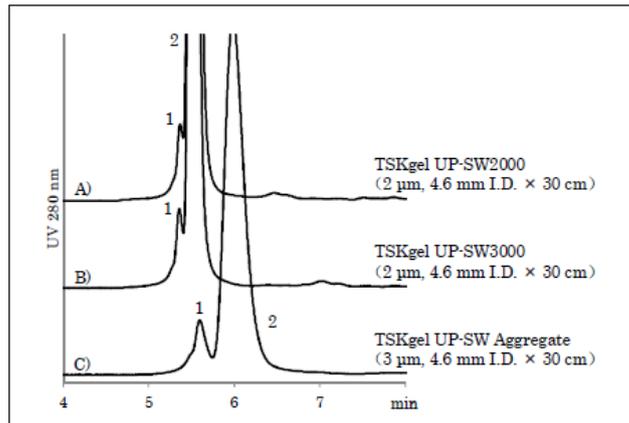


色 谱 柱: A) TSKgel UP-SW2000
B) TSKgel UP-SW3000
C) TSKgel UP-SW Aggregate
色 谱 柱 尺 寸: 4.6 mm I.D. X 30 cm
流 动 相: 100 mmol/L 磷酸钠缓冲液 (pH 6.7) + 300 mmol/L 氯化钠 + 0.05% 叠氮钠
流 速: 0.2 mL/min
检 测 器: UV (260 nm)
温 度: 25 °C
进 样 量: 10 µL
样 品: DNA ladder

UP-SW Aggregate 适合分离 500 bp 以内的 DNA 片段。

4. IgM 的分析

IgM的色谱图



〈测定条件〉

色谱柱: A) TSKgel UP-SW2000 (2 μm, 4.6 mm I.D. × 30 cm)

B) TSKgel UP-SW3000 (2 μm, 4.6 mm I.D. × 30 cm)

C) TSKgel UP-SW Aggregate (3 μm, 4.6 mm I.D. × 30 cm)

洗脱液: 40 mmol/L 磷酸钠缓冲溶液 (pH 6.7) + 400 mmol/L 高氯酸钠
+ 0.05% 叠氮化钠

流速: 0.35 mL/min

检测: UV 280 nm

温度: 25 °C

进样量: 10 μL

样品: IgM 1. 二聚体, 2. 单体

五、订货信息

货号	描述
分析柱	
023525	TSKgel UP-SW Aggregat, 3μm, 4.6×150mm
023524	TSKgel UP-SW Aggregat, 3μm, 4.6×300mm
保护柱	
023526	TSKgel guardcolumn UP-SW Agg, 4.6×20mm
023527	TSKgel guardcolumn UP-SW Agg DC*, 4.6×20mm

注: * UP-SW DC 可以不用连接管路, 直接与分析柱相连。

两种保护柱均可搭配任意一款分析柱使用



北京慧德易科技有限责任公司

咨询电话: 010-59812370/1/2/3

公司官网: www.prep-hplc.com

邮箱: sales@prep-hplc.com

微信公众号: 北京慧德易