

多肽·蛋白质的分离

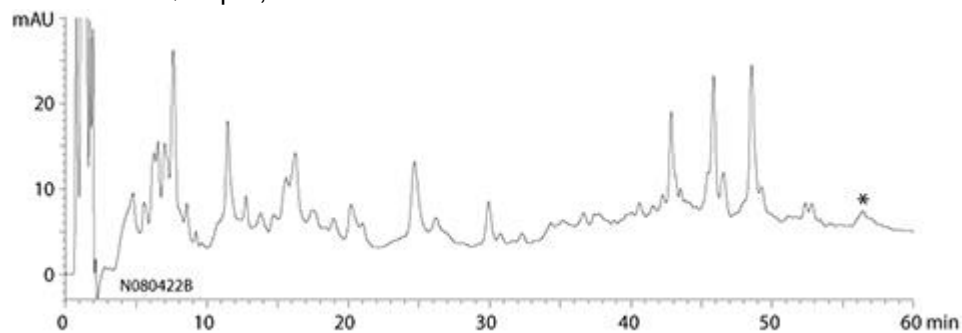
在分析多肽和蛋白质时，需根据目的选择适当的分离模式及色谱柱。需要高分辨率时，可以使用离子交换或反相色谱。在反相色谱中可分离到分子量 15 万左右的蛋白质。因为体积排除（SEC）是根据分子量而进行分离的，所以也可以获得分子量的分布等信息。

通过肽图的分离模式进行比较

对 BSA（MW66000）的胰蛋白酶消化物用 3 种分离模式进行分离。从体积排除的色谱图可知，该样品中存在分子量从 100 左右到 20000 左右的广泛分子量的片段。另一方面，离子交换和反相由于各成分的构造不同，具有优异的分辨率，可以检测出非常多的峰。

离子交换

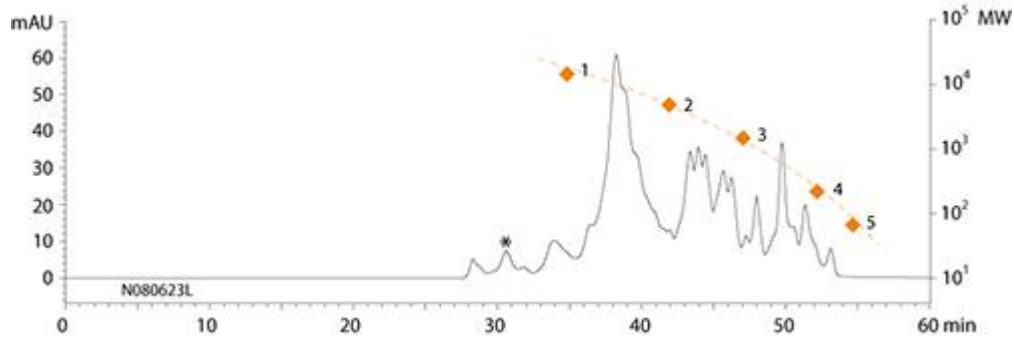
BioPro IEX QA 5 μ m, 50 X 4.6 mmI.D.



Eluent	A) 20 mM Tris-HCl (pH 8.6) B) 20 mM Tris-HCl (pH 8.6) containing 0.5 M NaCl 0-15%B (0-30 min), 15-60%B (30-60 min)
Flow rate	0.5 mL/min
Temperature	25°C
Detection	UV at 220 nm
Injection	20 μ L

体积排阻

YMC-Pack Diol-120+Diol-60 5 μ m, 500 X 8.0 mmI.D. X 2



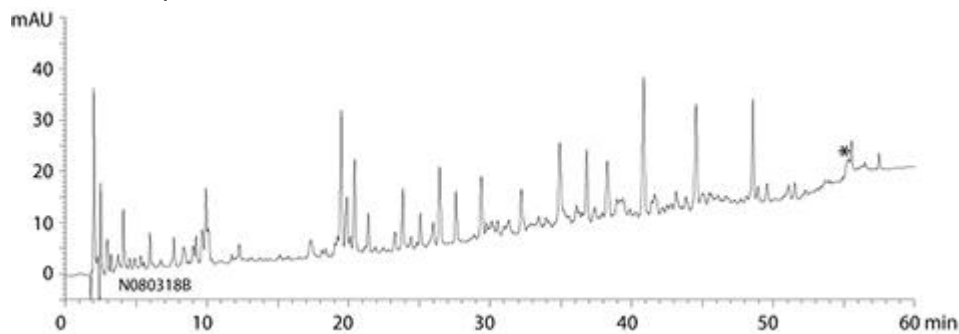
蛋白质·多肽校正曲线

1. Myoglobin (MW 17,000)
2. Insulin (Bovine) (MW 5,700)
3. Neurotensin (MW 1,672)
4. Tetraglycine (MW 246)
5. Glycine (MW 75)

Eluent	0.1 M KH ₂ PO ₄ -K ₂ HPO ₄ (pH 7.0) containing 0.2 M NaCl/acetonitrile (70/30)
Flow rate	0.7 mL/min
Temperature	ambient (25°C)
Detection	UV at 220 nm
Injection	5 µL

反相

YMCbasic 5µm, 150 X 2.0 mmI.D.



Eluent	A) water/TFA (100/0.1) B) acetonitril/TFA (100/0.1) 5-35%B (0-50 min), 35-45%B (50-55 min), 45%B (55-60 min)
Flow rate	0.2 mL/min
Temperature	37°C
Detection	UV at 220 nm
Injection	1 µL

肽·蛋白质分离的色谱柱选择指南

在分离蛋白质和多肽时，一般以分离对象化合物的分子量为目标基准来选择色谱柱。Triart C18/C8 在高温条件下使用，可分离到分子量 3 万左右的多肽和蛋白质。对于分子量较大的蛋白质来说，选择能充分扩散分子的大孔色谱柱最为有效。微孔径为 30nm 的 Triart BioC4 色谱柱与高温条件相结合，可分析到约 15 万左右分子量。

在高温条件下，由于流动相的粘度降低和物质移动速度的改善，峰形也会得到很大改善。尤其是在高温条件下具有高耐久性的 Triart 系列色谱柱对多肽、蛋白质的分析能起到很好的作用。

除了 Triart 系列以外，硅胶基质和核壳基质的产品也在产品阵容中，可根据化合物和分离条件进行选择。

