

慧德易电子期刊

H&E Electronic Journal

第 140 期

大分子表征的黑科技

----东曹 LenS3 多角度激光光散射检测器

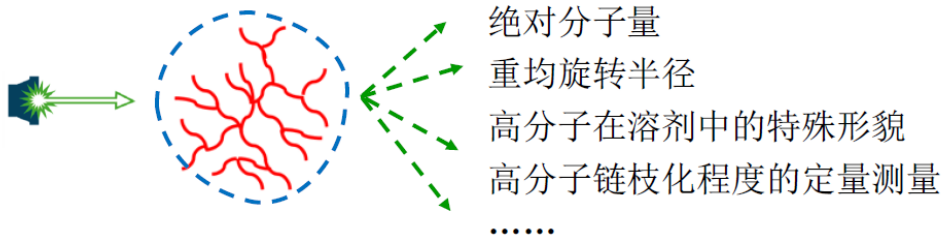


2021 年 4 月

第 140 期 大分子表征的黑科技

----东曹 LenS3 多角度激光光散射检测器

光散射是测量聚合物、蛋白质、多肽化合物以及其他多种复杂结构大分子的绝对分子量以及尺寸的最常用表征手段。通过与HPLC或者GPC联用，光散射可作为表征和探索大分子的结构、构型和组成的利器！



- 东曹株式会社，前身为东洋曹达株式会社，早在1978年就领先业界推出了小角度光散射-LS-8!
- 1984年，东曹“LS-8000”型小角度光散射配备当时最为先进的633 nm波长、5 mW的氦-氖激光源，并用于测量5°和7°两个小角度的光散射!

光散乱光度計 LS-8000

品番 01334 定価 530万円

● LS-8000は高分子の分子量を直接測定できるレーザー光源を有する検出器です。RIあるいはUVなどの濃度検出器にLS-8000を検出器として併用すれば、GPC各成分の分子量を精密、簡便に直接決定することができます。



相较于自上世纪80年固有的光散射技术，东曹推出的LenS3光散射采用专利保护的全新设计概念，完美集成的一个极小角度（10°的LALS），一个极大角度（170°High Angle Light Scattering, HALS），和一个直角度（90°的RALS），从而达到：

1. 更小尺寸的 R_g 测量

2. 超高的灵敏度



3. 分子量、 R_g 的直接测量

LENS³-HPLC/SEC模式灵敏度

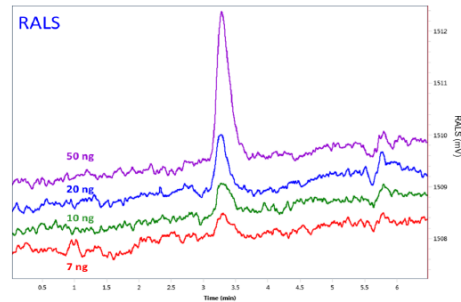
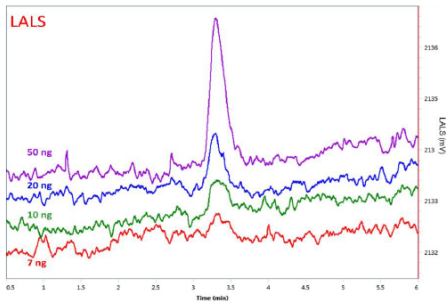
窄分子量分布聚苯乙烯 (PS) 10万

系统: EcoSEC GPC
 溶剂/流速: THF; 0.6 mL/min
 色谱柱: 1 x TSKgel SuperHM-N
 (6.0 mmID x 15 cm)

进样量 (ng)	MW by LALS (kDa)	MW by RALS (kDa)
50.5	101,612	101,393
20.2	101,969	101,597
10.1	100,973	101,559
7.07 - inj 1	104,763	102,370
7.07 - inj 2	100,341	101,307
7.07 - inj 3	101,590	101,281
7.07 - Avg	103,177	101,826
7.07 - %RSD	2.175	0.756

进样量低至7 ng!

(0.0007 mg/mL at 10 μ L 进样体积!)



LENS³-UHPLC 模式灵敏度

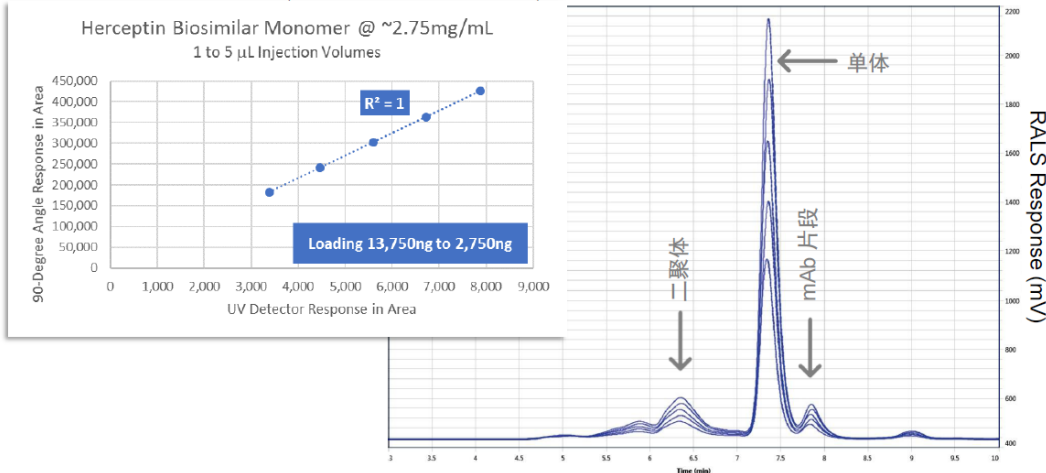
• Herceptin[®] 生物类似药样品 - 150 KDa

~2.75 mg/mL 进样体积: 1-5 μ L

UHPLC系统: Dionex Ultimate3000 UHPLC

溶剂: 100 mmol/L NaH₂PO₄, pH 6.8 + 100 mmol/L Na₂SO₄; 0.35 mL/min

色谱柱: 1 x UP-SW3000 (2 mm in 4.6 mm ID x 30 cm)



LENS™-UHPLC 模式灵敏度

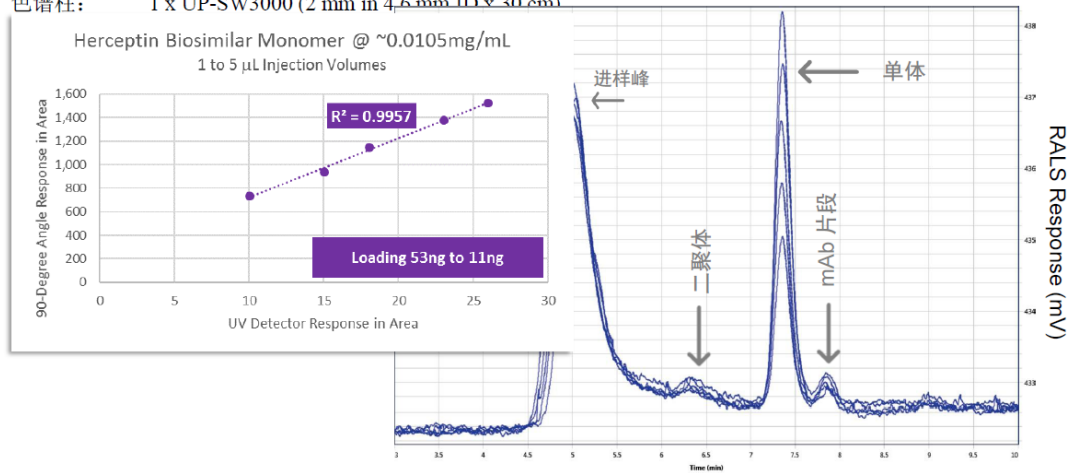
- Herceptin® 生物类似药样品 – 150 KDa

~0.0105 mg/mL 进样体积: 1-5 μ L

UHPLC系统: Dionex Ultimate3000 UHPLC

溶剂: 100 mmol/L NaH₂PO₄, pH 6.8 + 100 mmol/L Na₂SO₄; 0.35 mL/min

色谱柱: 1 x UP-SW3000 (2 mm in 4.6 mm ID x 30 cm)



LENS™-UHPLC 模式灵敏度

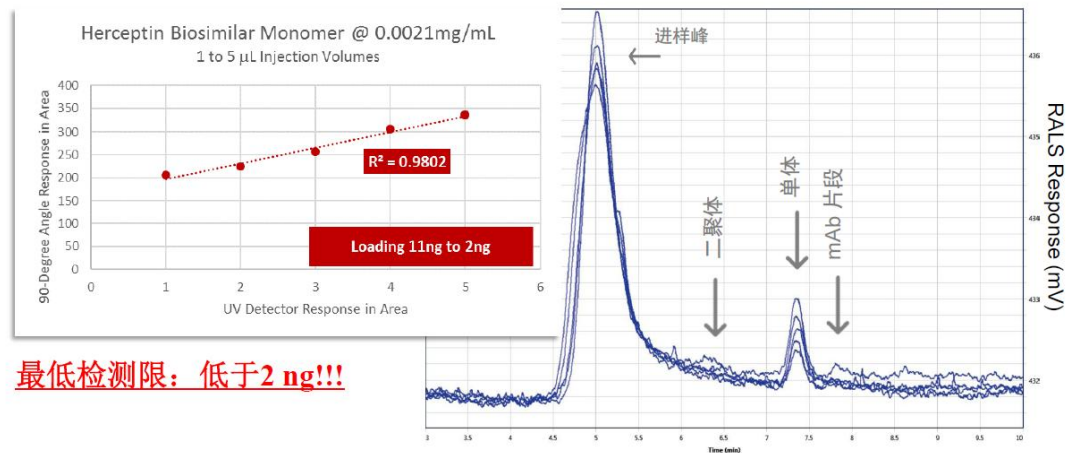
- Herceptin® 生物类似药样品 – 150 KDa

~0.0021 mg/mL 进样体积: 1-5 μ L

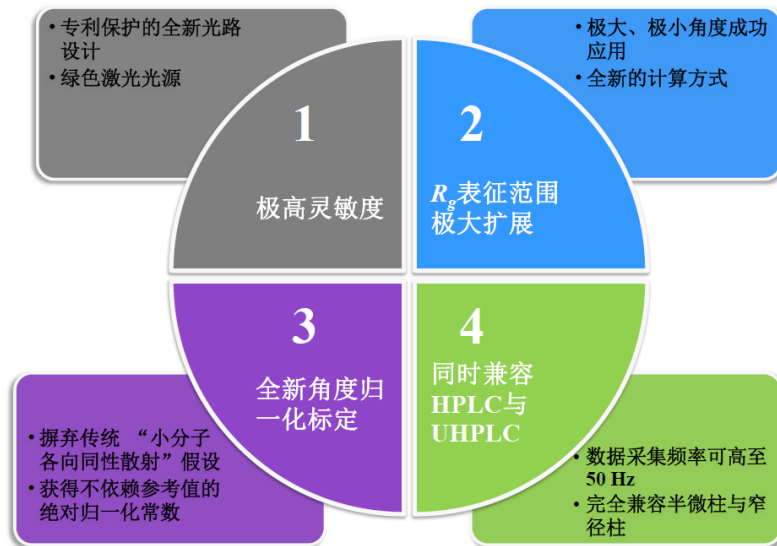
UHPLC系统: Dionex Ultimate3000 UHPLC

溶剂: 100 mmol/L NaH₂PO₄, pH 6.8 + 100 mmol/L Na₂SO₄; 0.35 mL/min

色谱柱: 1 x UP-SW3000 (2 mm in 4.6 mm ID x 30 cm)



最低检测限: 低于2 ng!!!



身兼多项颠覆式革新, LENS[™] 可以给我们带来哪些全新应用??

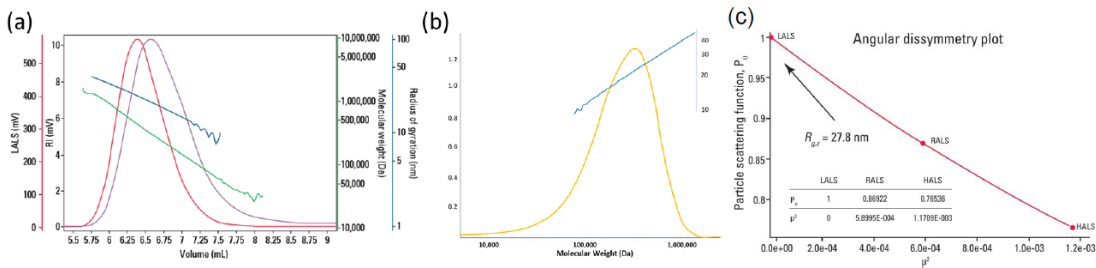
案例1 – 多角度光散射的常规应用

- 宽分子量分布聚苯乙烯 (NIST NBS 706a)

浓度: 0.77 mg/mL; 进样体积: 20 μ L

EcoSEC GPC in THF at 1.0 mL/min

1 x TSKgel GMHHR-H (7.8 mm ID x 30 cm)



Parameter	From LenS ³ MALS	Literature values
M_n (g/mol)	169,030	-
M_w (g/mol)	289,900	285,000 \pm 23,000*
M_z (g/mol)	426,780	-
$PDI = M_w/M_n$	1.72	-
R_g (nm)	27.8	27.8 \pm 1*

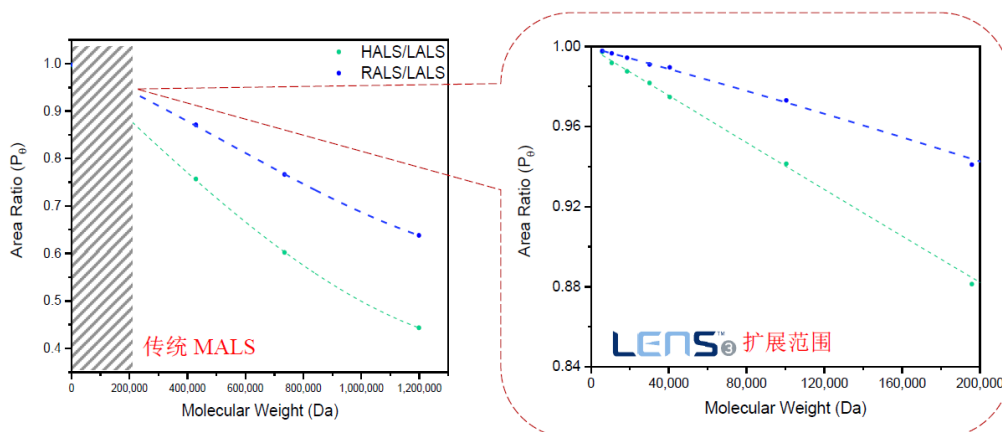
- ✓ 绝对分子量 (MW)
- ✓ 分子尺寸—旋转半径 (R_g)
- ✓ 基于 R_g 与 MW 的关系得出高分子链在溶剂中的形貌

* SRM 706: Polystyrene (Broad Molecular Weight Distribution); National Bureau of Standards; U.S. Department of Commerce; Washington, DC (1987); available at <https://www.srni.nist.gov/srni/collections/706a.pdf> (accessed Mar 2019)

Peddieck, S. - Light Scattering, Size Exclusion Chromatography and Asymmetric Flow Field Flow Fractionation; Wiley, 2011; p 233.

案例2 – 突破样品尺寸下限 – 10 nm 以下 R_g 实例

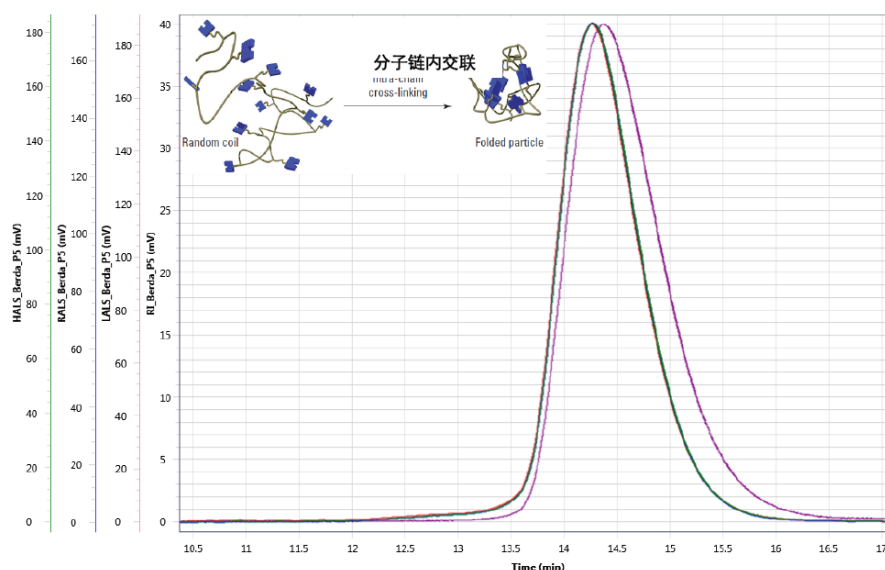
- HALS/LALS 与 RALS/LALS 峰面积比值 vs 分子质量



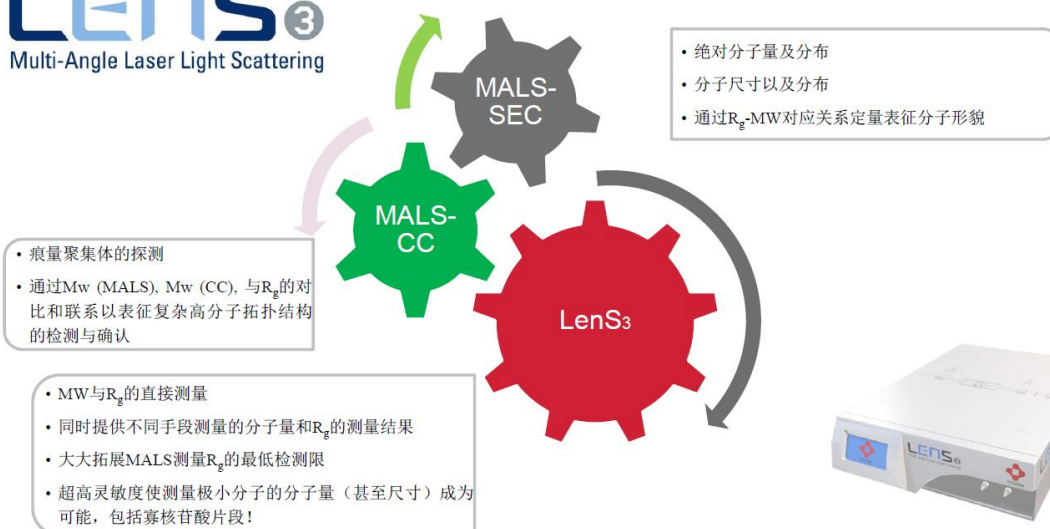
- ✓ 当 HALS/LALS 峰面积比值大于 90% 时, 传统的 MALS 无法检测到二者的差别, “史称”为“小分子量的各向同性散射” (R_g 小于 10-12 nm)。Tosoh LenS³ 的超高灵敏度使这一微小差别 (小到相差仅 0.2%) 的检测成为可能, 并将这一差别的定量分析用于 R_g 的表征!

案例3 – 单分子链纳米粒子的表征

浓度: 1.014 mg/mL; 进样体积: 80 μ L; SECView计算得 $dn/dc = 0.076$ mL/g
EcoSEC GPC in THF @ 1.0 mL/min 2 x TSKgel GMHHR-N (7.8 mm ID x 30 cm) @ 40 $^{\circ}$ C



LENS³
Multi-Angle Laser Light Scattering



如果需要更详细的资料, 请联系我们!



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