



# MabCap At LX

## 目录

1. 产品介绍.....	1
2. 纯化流程.....	1
3. 残留配体去除.....	2
4. 填料清洗.....	2
5. 问题及解决方案.....	2
6. 订购信息及相关产品.....	3

## 1. 产品介绍

Protein At Beads LX 是用于分离和纯化单克隆抗体、多克隆抗体或 Fc-融合蛋白的亲层析介质，具体性能见表 1。Protein A 是一种分离自金黄色葡萄球菌的细胞壁蛋白，主要通过 Fc 片段结合哺乳动物 IgG。Protein At Beads LX 的配体蛋白是在天然蛋白 A 的基础上进行生物工程突变得到的，通过大肠杆菌表达的一种耐碱蛋白 A (Alkaline tolerate, 故缩写为 At)。该配体纯化过程中无动物源成分。配体经特殊设计增强了对碱和蛋白酶的稳定性。Protein At Beads LX 在延长保留时间后，具有很高的动态结合载量，专门为高滴度抗体纯化设计开发。耐碱性、高载量、低配体脱落以及高度交联的 4%琼脂糖凝胶刚性基质，使得该填料特别适合工业化抗体或临床应用抗体的大规模纯化。

**MabCap At LX** 是一种中压预装柱，有 1 ml 和 5 ml 两种规格，分别填装 1 ml 和 5 ml Protein At Beads LX，共有 5 种不同包装规格的产品。预装柱具有标准接口，可以适配商品化的各类中压色谱系统，如 AKTA 等，方便客户操作。具体性能见表 1。

表 1. MabCap At LX 产品信息

项目	内容	
规格	1 ml	5 ml
基质	高度交联琼脂糖微球	
配体	耐碱性 Protein A	
结合载量*	> 60 mg Rabbit IgG/ml 介质	
粒径	45-165 μm	
耐压	0.3 MPa, 3 bar	
柱尺寸 (内径×高度)	0.7×2.5 cm	1.6×2.5 cm
化学稳定性	可耐受抗体纯化过程中的常用试剂	
工作 pH	3-12	
在线清洗	0.1-0.5 M NaOH	
线性流速	50-500 cm/h	
保存	含 20% 乙醇的 1XPBS, 2℃ - 8℃	

\*注：目标抗体的动态结合载量，需要使用实际样品进行前端分析来确定。动态结合载量是一个样品保留时间的函数，因此需要在样品的不同保留时间范围内来定义。

## 2. 纯化流程

### 2.1 缓冲液的准备

所用水和缓冲液在使用之前建议用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤。

**平衡/洗杂液：** 0.15 M NaCl, 20 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, pH7.0

**洗脱液：** 0.1 M 甘氨酸, pH 3.0-3.6

**中和液：** 1 M Tris-HCl, pH 8.5

### 2.2 样品准备

上柱之前确保样品溶液有合适的离子强度和 pH 值，可以用平衡/洗杂液对血清样品、腹水或细胞培养液稀释，或者样品用平衡/洗杂液透析。样品在上样前建议离心或用 0.22μm 或 0.45μm 滤膜过滤，减少杂质，提高蛋白纯化效率和防止堵塞柱子。

### 2.3 样品纯化

**MabCap At LX** 是一种用于分离和纯化单克隆抗体、多克隆抗体或 Fc-融合蛋白的预装柱产品，可以用各种常规的中低压色谱系统。

- 1) 将泵管道中注满去离子水。去掉上塞子，将层析柱连接至色谱系统中，打开下出口，将预装柱接到色谱系统中，并旋紧。
- 2) 用 3-5 倍柱体积的去离子水冲洗出储存缓冲液。
- 3) 使用至少 5 倍柱床体积的平衡液平衡色谱柱。



- 4) 利用泵或样品环上样，保证样品保留时间大于6分钟。**注：**样品的粘度增加使得即使上样体积很少，也会导致层析柱很大的反压。上样量不要超过柱子的结合能力。大量的样品体积也可能造成很大的反压，使得进样器更难使用。
- 5) 用洗杂液冲洗柱子，直到紫外吸收达到一个稳定的基线（一般至少10-15个柱体积）。
- 6) 线性洗脱：0-100% 洗脱液洗脱10个柱体，收集洗脱液，即目的蛋白组分。建议首次纯化使用线性洗脱，从而选择最佳的洗脱pH，有利于保护易失活抗体的活性。
- 等度洗脱：首次测试后，后续放大纯化，可使用5-10倍柱体积的选定pH洗脱液洗脱，该方法有利抗体在一个比较集中的浓度洗脱，从而减少洗脱液使用和循环纯化时间。
- 洗脱组分需要立即调成中性，一般建议使用洗脱组分体积1/10的中和液进行中和。
- 注：**首次使用时，可先按照4填料清洗中CIP清洗一遍，避免脱落的配体残留。
- 7) 洗脱结束后，先用平衡液冲洗3倍柱体积，然后用纯水冲洗5倍柱体积，再用20%乙醇冲洗2个柱体积，然后将介质置于2-8°C保存。

### 2.4 SDS-PAGE 检测

将使用纯化产品得到的样品（包括流出组分、洗杂组分和洗脱组分）以及原始样品使用SDS-PAGE检测纯化效果。

### 3. 残留配体去除

Protein At Beads LX 配体的脱落很低，小于10ng/mg抗体。但是很多产品需要完全去除，可采用阳离子交换、阴离子交换或凝胶过滤等方法去除，具体参照阳离子交换树脂、阴离子交换树脂和凝胶过滤树脂的使用。

### 4. 填料清洗

Protein At Beads LX 可以重复使用而无需再生，但随着一些变性物质的沉淀和蛋白的聚集，往往造成流速和结合载量都下降，压力升高，或者在后续纯化中脱落，严重影响柱子的性能，这时需要对树脂进行清洗，以保证填料的载量、流速和一般性能

#### CIP 清洗

Protein At Beads LX 是一种耐碱亲和介质，可以耐受0.1M-0.5M NaOH溶液的清洗，成本低，效果好，具体操作：

- 3倍柱体积的平衡液；
- 至少2倍柱体的0.1-0.5 M NaOH，接触时间为15 minutes；
- 5倍柱体积的平衡液冲洗。

**注：**因0.1-0.5 M NaOH粘度大易造成压力增加，可进行反向冲洗。

### 5. 问题及解决方案

问题	原因分析	推荐解决方案
柱子反压过高	筛板被堵塞	清洗或更换筛板
	填料被堵塞	按照第4部分进行树脂CIP清洗 裂解液中含有微小的固体颗粒，建议上柱前使用滤膜（0.22或0.45μm）过滤，或者离心去除。
样品纯化过程中曲线不稳	样品或缓冲液中有气泡	去除样品或柱子中的气泡
		样品和缓冲液进行脱气
洗脱组分中没有目的蛋白	样品中抗体浓度太低	使用其抗原做配体的介质
	抗体被降解	适当的提高洗脱pH
回收率逐渐减低	上样量太多	减少上样量
	柱子太脏，载量降低	按照第4部分进行树脂CIP清洗

### 6. 订购信息及相关产品



名称	货号	规格
Protein At Beads LX	SA085005	5 ml
	SA085025	25 ml
	SA085100	100 ml
	SA085500	500 ml
	SA08501L	1 L
	SA08510L	10 L
MabCap At LX	SA085C11	1×1 ml
	SA085C51	5×1 ml
	SA085C15	1×5 ml
	SA085C55	5×5 ml
	SA085CS	3×1 ml+1×5 ml