



MabCap SupAt Beads

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 SupAt Beads 是用于分离和纯化单克隆抗体、多克隆抗体或 Fc-融合蛋白的亲亲和层析介质，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 SupAt Beads** 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，可以使用 0.5-1 M NaOH 进行 CIP 清洗。**Protein SupAt Beads** 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 SupAt Beads** 是一种中压预装柱，有 1 ml 和 5 ml 两种规格，分别填充 1 ml 和 5 ml **Protein SupAt Beads**，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 ÄKTA 等，方便客户操作。具体性能见表 1。

表 1. MabCap SupAt Beads 产品信息

| 项目 | 内容 | |
|-------------|--------------------------|--------------------|
| | 1 ml 0.7×2.5 cm | 5 ml 1.6×2.5 cm |
| 规格 | | |
| 柱尺寸 (内径×高度) | | |
| 基质 | 高度交联琼脂糖微球 | |
| 配体 | 超耐碱 Protein A | |
| 结合载量 | > 80 mg Rabbit IgG/ml 介质 | |
| 平均粒径 | ~60 μm | |
| 耐压 | 0.3 MPa, 3 bar | |
| 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 | 0.5-1 M NaOH | |
| 推荐线性流速 | 100-500 cm/h | |
| 保存 | 20%乙醇, 2-8℃ | |

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 Na₂HPO₄, pH 7.0

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 SupAt Beads 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组分 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℃ 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 SupAt Beads 配体的脱落很低。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介质、阴离子交换介质和凝胶过滤介质的使用。

4. 填料清洗

Protein SupAt Beads 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，这时需要对介质进行清洗，以保证填料的载量、流速和一般性能

CIP 清洗

Protein SupAt Beads 是一种耐碱亲和介质，可以耐受 0.5-1 M 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 0.5-1 M NaOH，接触时间为 15 minutes；
- 5 倍柱体积的平衡液冲洗。

注：因 0.5-1 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部分进行介质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0.45 μm) 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部分进行介质CIP清洗 |



6. 订购信息及相关产品

| 名称 | 货号 | 规格 |
|---------------------|----------|---------------|
| Protein SupAt Beads | SA095001 | 1 ml |
| | SA095005 | 5 ml |
| | SA095025 | 25 ml |
| | SA095100 | 100 ml |
| | SA095500 | 500 ml |
| | SA09501L | 1 L |
| | SA09510L | 10 L |
| MabCap SupAt Beads | SA095C11 | 1×1 ml |
| | SA095C51 | 5×1 ml |
| | SA095C15 | 1×5 ml |
| | SA095C55 | 5×5 ml |
| | SA095CS | 3×1 ml+1×5 ml |