
UniMab[®] 50HC

Protein A 亲和层析介质

产品使用说明书

文件编号：NM-W-DF-0302

版本号：A2



UniMab® 50HC

亲和层析介质

在全球医药市场上，抗体药物已连续多年占据销售榜单前几位，其市场竞争也日趋白热化。降低抗体生产成本是增强市场竞争力的关键因素。而解决抗体的生产瓶颈关键主要在于改进第一步 Protein A 亲和捕获。为了满足抗体生产企业对亲和层析介质机械强度高、反压低、化学稳定性好和耐碱性强，以及在高流速下仍然保持较高动态吸附载量的需求我们开发了 UniMab® 50 HC Protein A 亲和层析介质。

UniMab® 50 HC 是纳微科技利用自主专利技术生产的高性能、耐碱型重组 Protein A 亲和层析介质，该填料以单分散多孔型聚甲基丙烯酸甲酯 (PMMA) 微球为基质，利用专有的表面修饰技术并环氧偶联键合 Protein A 制得，适用于单克隆抗体及含有 Fc（功能层析）片段的重组蛋白类生物大分子的分离纯化。UniMab® 50 HC 机械强度高、反压低、化学稳定性好、耐碱性强，即使在高流速下仍然能保持较高动态吸附载量，能满足从实验室制备到中试及工业化生产的各种需求。

全新一代的 UniMab® 50 HC Protein A 亲和层析介质作为抗体纯化层析介质，在高流速下能保持较高动态吸附载量，是大规模单克隆抗体及含 Fc 片段重组蛋白亲和纯化的理想选择，有助于降低企业生产成本，相较市场同类产品有如下独特优势：

- 耐受 0.1 到 0.5 M (mol/L) NaOH 清洗，寿命长、生产成本低；
- (b) 单分散均一粒径高强度亲水基质，允许更大操作压力和线性流速；
- (c) 采用耐碱 rProtein A 与独特固定键合技术，更低配基脱落、更强耐碱性；
- (d) 高流速下具有 50 mg/mL (human IgG) 高载量，显著优于同类产品，更高的全程载量和更低的非特异性吸附，可以提高生产效率；
- (e) 最高流速 (~800 cm/h) 和耐受压力 (~0.8 MPa)，显著高于同类产品；
- (f) 不同抗体洗脱条件均一，是抗体纯化工艺平台的理想选择；
- (g) 洗脱条件更加温和；
- (h) 装柱容易，批次重现性好。

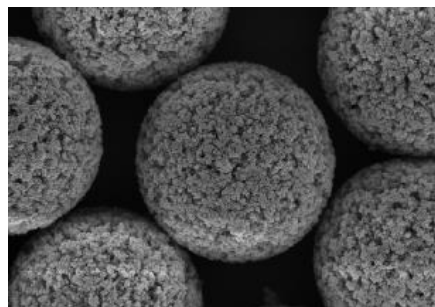


图 1. UniMab® 50 HC 亲和层析介质电镜图。

UniMab® 50 HC 的技术参数如表 1 所示。

表 1. UniMab 50HC 技术参数。

产品型号	UniMab® 50 HC
分离原理	Protein A 亲和捕获
基质	聚甲基丙烯酸酯 (PMMA)
粒径	50 μm
配基键合方式	环氧键合
动态结合载量*	~ 50 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (人 IgG, 4 min 驻留时间)
最大耐压	0.8 MPa
CIP 在位清洗	0.1-0.5 M NaOH
推荐流速	100-800 cm/h
pH 稳定性	2-12
化学稳定性	所有常用缓冲液, 1 M 醋酸, 1 M 盐酸, 100%乙醇、异丙醇等常用有机溶剂; 避免长期接触强酸强碱。
使用温度	2-40 $^{\circ}\text{C}$
存储	20% 乙醇或苯甲醇, 2-8 $^{\circ}\text{C}$

耐碱性测试

25°C条件下，测试 UniMab® 50HC 的载量，将填料浸泡在 0.5 M 的 NaOH 溶液中 24 小时，测试泡碱后 UniMab® 50HC 的载量：

表 3. 实验条件表

设备	Avant (NM-BD-003)
柱子	NmTRAP 1mL
样品	单抗 2.83 mg/mL
平衡液	PBS
流速	0.2 ml/min

表 4. 耐碱性测试表

泡碱前载量 (mg/mL)	泡碱后载量 (mg/mL)	载量下降百分比 (%)
53.43	43.06	19.41

载量验证数据

用 0.1M NaOH+0.5M NaOH 在位清洗，每个循环中 CIP 碱接触时间 1 小时，测试 UniMab® 50HC 的载量 (图 2)：

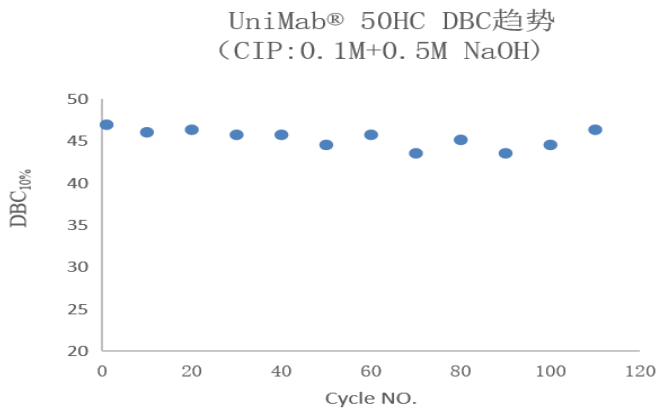


图 2. 某单抗 HCCF 的载量数据。

综合性能评价

下面是纳微科技 UniMab® 50HC 亲和层析介质在纯化抗体 3 的实验结果。实验表明，纳微科技 UniMab® 50 HC 具有卓越的单克隆抗体的亲和捕获能力。

表 5. 实验条件表

设备	Avant (NM-BD-003)
柱子	NmTRAP 1mL
样品	单抗 3.056 mg/mL
流速	0.2 ml/min
平衡液	PBS
淋洗液	20 mM NaAC, pH 5.5
洗脱液	20mM NaAC, pH 3.5
再生	0.1M NaOH
驻留时间	5 min

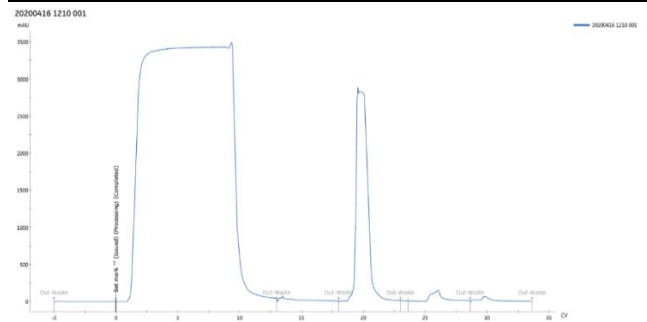


图 3. UniMab® 50 HC 在抗体 3 中的亲和捕获能力性能。

表 6. UniMab®50HC 纯化抗体结果列表

DBC _{10%} 载量 (mg/mL)	回收率 (%)	纯度 (%)	洗脱 (CVs)
50.23	95.56	98.50	1.41

操作指南

匀浆浓度测定

UniMab® 50HC 亲和层析介质保存在 20 %乙醇溶液装瓶出售，匀浆浓度 (Cs) 大约 65% (v/v)。匀浆液浓度是指层析介质恒定沉降体积与匀浆液的总体积的比值。如需准确测定 Cs, 可以将原容器内介质摇匀，然后转移 10mL 匀浆到量筒里静置过夜，读出沉降体积 Vr, 计算匀浆浓度：

$$\text{Eq. 1 } C_s (\%) = 100 \times (V_r/10) = 10 V_r$$

为了获取最佳的装柱效果，推荐使用 0.5 M NaCl 溶液配制 50~70 %的介质匀浆液。

介质前处理

计算所装色谱柱的柱体积 (Vc) :

$$\text{Eq. 2 } V_c = h \times \pi r^2$$

h: 色谱层析柱高度; r: 色谱层析柱半径

计算所需匀浆体积 (Vs): 一般情况下，层析介质在压力作用下都会被压紧导致体积收缩，为了获得紧密的柱床，推荐填料的体积过量一些，压缩比 (Compression factor, CF) 一般为 1.05-1.1。

$$\text{Eq. 3 } V_s = 100 \times (V_c \times CF)/C_s$$

制备装柱介质匀浆：将原容器中层析介质摇匀，量取所需原液体积 Vs 至适当容器中，静置让介质颗粒自然沉降后，倾斜倒去上清液；用 5 倍柱体积以上的装柱溶液，如 0.5 M NaCl，清洗介质以去除原保存液，再用装柱溶液调整匀浆浓度到 50-70% (v/v)。

层析柱装填方法：(以 NmXK 16/20 层析空柱为例)

使用装柱溶液快速冲洗柱子末端的接头以除去气泡，然后关闭柱子出口，并在柱子底部保留 1-2 cm 装柱液。

用装柱溶液排除上柱头管路中的气泡。

重悬介质，用玻璃棒紧靠柱内壁引流，将胶悬液连续倒入层析柱中，用装柱溶液清洗柱壁并填满柱管，然后安装上柱头。注意操作过程中避免混入气泡。

打开柱子底部的出口，开动层析系统泵，在建议压力范围内用恒流或恒压方法进行压柱。待柱床稳定后，在胶液界面作标记。

关闭泵和柱子出口，旋松上柱头入口管线，用上柱头推压柱床至标记线下 2-3 mm，然后旋紧上柱头入口管线。

柱效评价

装好的层析柱先使用 2 CV 0.5 M NaCl 溶液平衡，再用 2.0 M NaCl 以 100 cm/h 流速进行柱效测试；亦可使用去离子水平衡层析柱并用丙酮溶液做测试。具体测试参数详见表 3:

表 7. UniMab® 50HC 层析色谱柱的柱效测试条件。

样品	5% (v/v) 丙酮的水溶液或 2 M NaCl
上样量	1 ~ 5 %柱体积
流动相	去离子水或 0.5 M NaCl
线性流速	50 ~ 200 cm/h
检测	5 %丙酮上样：UV @ 280 nm 2 M NaCl 上样：电导检测仪
合格标准	As: 0.8-1.5; Plates (N/m) : >2500

使用方法

冲洗并平衡：

使用之前依次用洗脱液 (如 100 mM 甘氨酸, pH 3.0) 和平衡液 (如 20 mM PB + 150 mM NaCl, pH 7.4) 冲洗并平衡 UniMab®50HC 柱；

进样：

样品的上样量不超过介质 DBC10%的 0.8 倍；

清洗：

5 CV 平衡液 (如 20 mM PB + 150 mM NaCl, pH 7.4)；

洗脱：

5 CV 柠檬酸、醋酸或甘氨酸, pH 3-4；

清洗：

5 CV 1 M 醋酸；

再生 (Cleaning-in-place, CIP)：

3-5 CV 0.1-0.5 M NaOH 溶液清洗，如有需要可以适当延长浸泡时间；

再平衡：

5 CV 平衡液 (如 20 mM PB + 150 mM NaCl, pH 7.4) 清洗至基线；

保存：

使用结束后，先用纯水替换层析柱中缓冲盐，然后用 20%乙醇保存。

注意:使用过程中,所用样品及流动相必须用孔径为 0.45 μm 滤膜过滤。

长期储存

介质密封保存在 20%乙醇或 2%苯甲醇中,建议保存温度为 2~8 °C。注意防止乙醇挥发以及微生物生长,建议 3 个月更换一次 20%乙醇。

故障排除

如果您在使用 UniMab® 50HC 产品遇到任何问题,请参考下表进行解决或联系我们。

现象	原因分析	建议措施
柱压升高	流速过高	降低流速
	仪器的在线滤器堵塞	去除杂质并清洗,或者替换,在使用前对样品和缓冲液进行过滤
	柱床被压缩	重新填充柱子
	层析柱使用过久	更换层析柱或更换层析介质
	泵和收集器之间的阀门未打开	打开出口
出现柱上沉淀	疏水性蛋白、脂蛋白或者脂类累积	用非离子型表面活性剂冲洗(如 0.1% Tergitol 15-S-9 或 Triton X-100 reduced/还原态),或者 0.5M NaOH, 或者 1M 盐酸胍;然后使用至少 5 倍柱体积经过消毒过滤的结合缓冲液(pH 7-8)冲洗
	蛋白质变性沉淀	使用 2 倍柱体积的 50 mM NaOH, 或者 50 mM NaOH 和 1.0 M NaCl, 或者 0.1 M H ₃ PO ₄ , 或者 6 M 盐酸胍和 10 mM NaOH 冲洗柱子,至少冲洗 10 分钟以上;然后使用至少 5 倍柱体积经过消毒过滤的结合缓冲液(pH 7-8)冲洗

订货信息

产品型号	包装	货号
UniMab® 50HC	30 mL	17010-250100-2030
	50 mL	17010-250100-2050
	100 mL	17010-250100-2100
	300 mL	17010-250100-2300
	500 mL	17010-250100-2500
	1 L	17010-250100-1001
	5 L	17010-250100-1005
	10 L	17010-250100-1010
	50 L	17010-250100-1050
	100 L	17010-250100-1100

注：可以提供 7.7 mm × 22 mm 、 16 mm × 25 mm 、 7.7 mm × 100 mm 的层析预装柱。更多规格型号或定制需求，请联系我们。

苏州纳微科技股份有限公司

全国咨询热线：400-828-1622

邮箱：info@nanomicrotech.com

(本公司产品仅限科研或工业使用)

中文网站：www.nanomicrotech.com

英文网站：en.nanomicrotech.com

2022-苏州纳微科技股份有限公司版权所有

总部地址：苏州工业园区百川街2号 215123

2022年12月第一版

