
UniMab Anti-A & UniMab Anti-B

亲和层析介质

产品使用说明书

文件编号：NM-W-DF-0317

版本号：A0



UniMab Anti-A & UniMab Anti-B

亲和层析介质

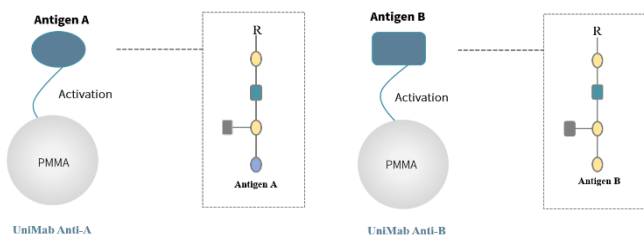
血浆中提取的免疫球蛋白 (Ig) 中含有微量 anti-A 和 anti-B 凝集素，会提高患者发生溶血风险，有时，这是一种致命的严重并发症。《中国药典》(2020 版) 要求抗 A 和抗 B 含量 $\leq 1:64$ ，对此，可在两步层析之后通过抗 A 抗 B 免疫亲和层析可有效去除 Ig 中的抗 A 和抗 B 抗体，大幅提高纯度和安全性，对工艺经济无负面影响。

UniMab Anti-A & UniMab Anti-B 是纳微科技最新推出的两种不同亲和层析介质，专门用于高效去除血浆来源 Ig 中的抗 A 和抗 B 凝集素抗体，通过在单分散聚甲基丙烯酸酯 (PMMA) 微球表面键合多糖抗原 A/B 制备而成。介质具有如下特征：

- 高结合载量、低配基泄漏、高选择性，减少了层析处理时间和介质使用量
- 更高亲水度，更低的非特异性吸附，从而具有更高的回收率及更长使用寿命
- 优异的酸碱稳定性。可以使用 0.5 M NaOH 进行有效清洁和消毒，从而提高工艺经济性、生物负载控制和稳健性

表 1. UniMab Anti-A & UniMab Anti-B 技术参数。

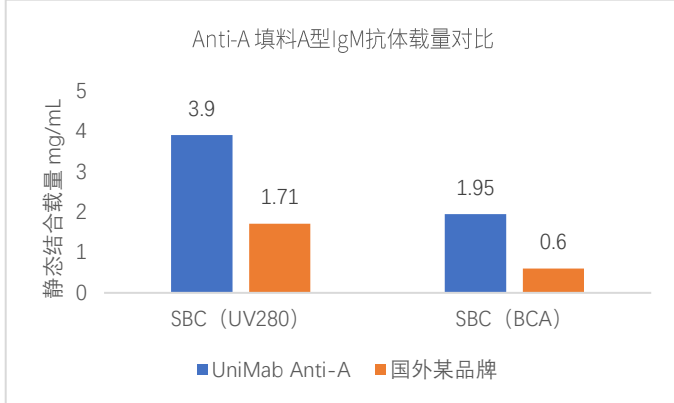
产品型号	UniMab Anti-A & UniMab Anti-B
基质	聚甲基丙烯酸酯 (PMMA)
粒径	~50 μm
配基	多糖抗原 A/B
pH 范围	2-12
最大耐压	0.8 MPa
化学稳定性	所有常用缓冲液，1 M 醋酸，1 M 氢氧化钠，1 M 盐酸，70%乙醇、30%异丙醇，30%乙腈，1%SDS，6 M 盐酸胍、8 M 尿素等常用有机溶剂；避免接触强氧化剂。
储存液	20% 乙醇



更高载量

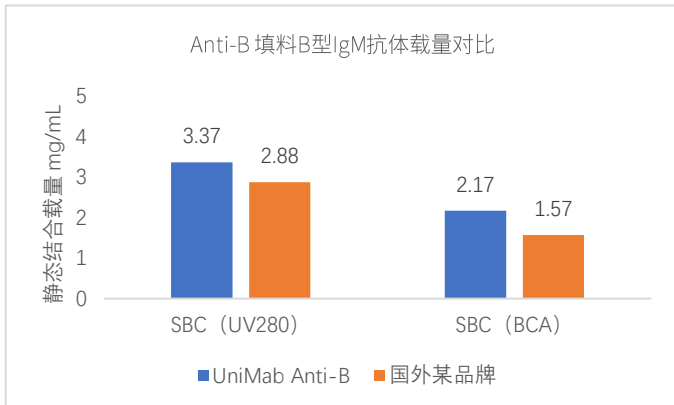
Anti-A 填料静态载量对比实验

UniMab Anti-A 填料的抗 A 单克隆抗体静态吸附载量更高。



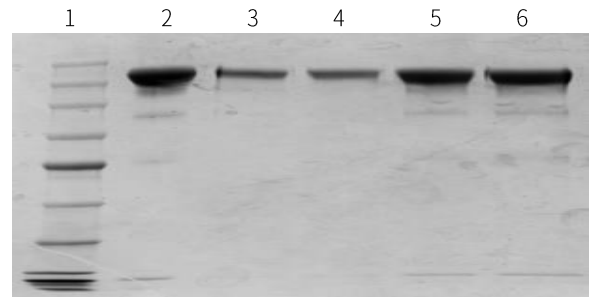
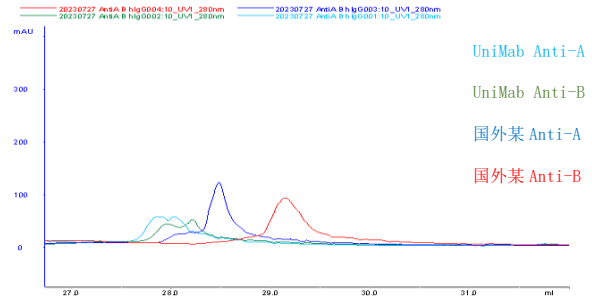
Anti-B 填料静态载量对比实验

UniMab Anti-B 填料的抗 B 单克隆抗体静态吸附载量更高。



高亲水性，非特异性吸附低

UniMab Anti-A & UniMab Anti-B 亲水性优于进口介质，非特异性吸附低，具有更高的回收率以及使用寿命。



1. Marker 2. hlgG Load 3. UniMab Anti-A 洗脱
4. UniMab Anti-B 洗脱 5. 国外某 Anti-A 洗脱 6. 国外某 Anti-B 洗脱

层析柱装填

UniMab Anti-A & UniMab Anti-B 产品储存于 20%乙醇中，1.5 Kg 匀浆液对应 1 L 介质体积，推荐装柱匀浆液流动相为 0.1 M NaCl 或纯水，推荐装填系数为 1.05-1.1。

UniMab Anti-A & UniMab Anti-B 产品是高机械强度“硬胶”，既可装低压柱也可装中高压柱，比较合适的柱子筛板型号为 10-23 μm 。装柱步骤如下：

1) 计算所需层析介质匀浆液质量

所需匀浆液质量 (Kg) = 目标柱体积 (L) \times 1.5 Kg/L \times 1.05。
例如，装填 40 cm I.D \times 20 cm 的 25 L 层析柱所需匀浆液质量为：
25 L \times 1.5 Kg/L \times 1.05 = 39.375 Kg。为保证层析介质体积计量准确度，在称量之前，必须保证匀浆液浓度是均匀的（可以使用塑料

匀缓慢搅拌均匀或使用低于 50 rpm 的机械搅拌均匀浆，匀浆完毕静置时间不可超过 10 分钟)。

2) 装柱匀浆液的准备

开始前，准备足量的 0.1 M NaCl (或纯水) 作为装柱液进行装柱。下文以装柱液代指 0.1 M NaCl (纯水)。

实验室规模的小柱子 (内径≤50 mm)：

将计算所需的 20 %乙醇介质悬液转移到过滤漏斗，抽滤后加入介质 3 倍体积的装柱液，用塑料勺缓慢搅拌均匀后再抽滤。重复上述步骤两次使层析介质悬液中原先的 20%乙醇被充分置换成装柱液，最后补加装柱液定容至目标柱体积的 1.67~2 倍 (浆液浓度 50%~60%)。

大柱子 (内径>50 mm)：

将计算所需的 20 %乙醇介质悬液在匀浆罐中静置沉降 2 小时以上，然后去除上清液 (上清液中可能会有一些轻微浑浊)，加入与去除的上清液相同体积的装柱液。缓慢搅拌均匀后静置沉降 2 小时以上，然后去除上清液。重复上述步骤两到三次使介质悬液充分置换成装柱液，最后补加装柱液定容至目标柱体积的 1.67~2 倍 (浆液浓度 50%~60%)。

注意：在装柱匀浆液的准备过程中，尽量避免碾压摩擦介质，不可用磁力搅拌或挤压式蠕动泵，机械搅拌时桨叶不可离器壁太近，另外层析介质如果需要重新装柱，也须按上述过滤或沉降步骤来准备装柱匀浆液。

3) 装柱

● 流动装填：

- 3-1) 将上述介质悬液充分匀浆，并转移到柱管中。
- 3-2) 用装柱液为流动相开始装柱 (装柱刚开始时流出液有可能观察到一些浑浊现象，随着装柱进行 1-2 个柱体积之后会变清)。

注意：装柱起始流速不要太高。

- 3-3) 待柱床高度稳定后，提高流速至目标最高流速 (推荐最高流速为使用流速的 2 倍) 或者使压强达到目标最高压强 (推荐压强不超过 1.0 MPa)，压力恒定后再稳定 20 分钟。

- 3-4) 将活塞调至胶面以下 2-3 mm 位置即可。

● 轴向压缩装填 (内径>300 mm)：

- 3-1) 将柱子进行清洗，排气。
- 3-2) 将匀浆罐和柱子连接，然后排除柱子内多余的溶液，将活塞降至距下筛板 5 cm。
- 3-3) 打开进料阀向上移动活塞进行抽料。抽料速度 200~300 cm/h。根据料液浓度确定抽料的量，换算活塞移动距离。关闭进料阀，向下移动活塞进行压柱，压柱速度 60~100 cm/h。压至填料全部沉降，柱床高度不再增加，停止移动活塞，读取柱床高度，此时再根据 1.05 的压缩比计算最终活塞最终的位置。

注意：未避免匀浆液在抽料时进气泡，一般按照 120%以上计算填料质量。

柱效评价

装好的色谱柱应使用 2 CV 0.5 M NaCl 溶液平衡，以 100 cm/h 流速进行柱效测试，具体测试参数详见表 2：

表 2. UniMab Anti-A & UniMab Anti-B 层析柱的柱效测试方法。

样品	2 M NaCl
上样量	1~5% 柱体积
洗脱液	0.5 M NaCl
线性流速	100 cm/h
检测	2 M NaCl 上样：电导检测仪
合格标准	As: 0.8-1.5; Plates (N/m) : >1,500

使用方法

缓冲液推荐：

平衡液	100 mM Acetate, pH 5.5
洗脱液	0.1 M Glycine, pH 2.7
淋洗液	100 mM Acetate+0.5 M NaCl, pH 5.5
再生清洗	120 mM Phosphoric acid+167 mM Sodium Acetate+ 2.2% Benzyl alcohol (PAB) ; 0.5 M NaOH

层析步骤

- 1) 平衡。

用 5 CV 以上的平衡缓冲液 (100 mM Acetate, pH 5.5) 平衡层析柱, 至流出液电导率和 pH 不变 (与平衡液一致)。

2) **上样。**

用 5 CV 以上的平衡缓冲液 (100 mM Acetate, pH 5.5) 平衡层析柱, 至流出液电导率和 pH 不变 (与平衡液一致)。固体样品可用平衡液溶解配制; 低浓度样品溶液可提前浓缩; 高浓度样品溶液可用平衡液稀释。为了避免堵塞层析柱, 样品应经离心或膜过滤处理。上样量根据介质的载量和样品中目标蛋白的含量计算, 上样前确保载量缓冲液应尽可能与平衡液一致。

3) **淋洗。**

用平衡缓冲液或中间淋洗缓冲液 (100 mM Acetate, 0.5 M NaCl, pH 5.5) 清洗色谱柱。

4) **洗脱。**

用 5 CV 洗脱液 (0.1 M glycine pH 2.7) 洗脱目的蛋白。

5) **再生清洗 (CIP)。**

用 5-10 CV 0.5 M NaOH 清洗或用 PAB 浸泡 30-60 分钟。

注意: 不要在再生清洗溶液中长时间浸泡;

定期 CIP 清洗可以防止介质床中蛋白质沉淀污染物的积聚, 有助于保持层析介质的载量、分离效果、流动特性等性能。应根据存在的污染物类型为每个工艺设计特定的 CIP 清洗方法。

6) **再平衡。**

用 5-10 CV 平衡液清洗至基线平衡。

储存

使用后的层析介质或预装柱再生完全后, 密封保存在 20%乙醇或 2%苯甲醇中, 建议保存温度 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 Anti-A&UniMab Anti-B 亲和层析产品遇到任何问题，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	重新填装柱子
	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 0.5 M NaOH，或者 1 M 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 Anti-A	30 mL	17060-000001-2030
	50 mL	17060-000001-2050
	100 mL	17060-000001-2100
	300 mL	17060-000001-2300
	500 mL	17060-000001-2500
	1 L	17060-000001-1001
	5 L	17060-000001-1005
	10 L	17060-000001-1010
	50 L	17060-000001-1050
	100 L	17060-000001-1100
UniMab Anti-B	30 mL	17060-000002-2030
	50 mL	17060-000002-2050
	100 mL	17060-000002-2100
	300 mL	17060-000002-2300
	500 mL	17060-000002-2500
	1 L	17060-000002-1001
	5 L	17060-000002-1005
	10 L	17060-000002-1010
	50 L	17060-000002-1050
	100 L	17060-000002-1100

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

2023-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

2023年11月第一版

