

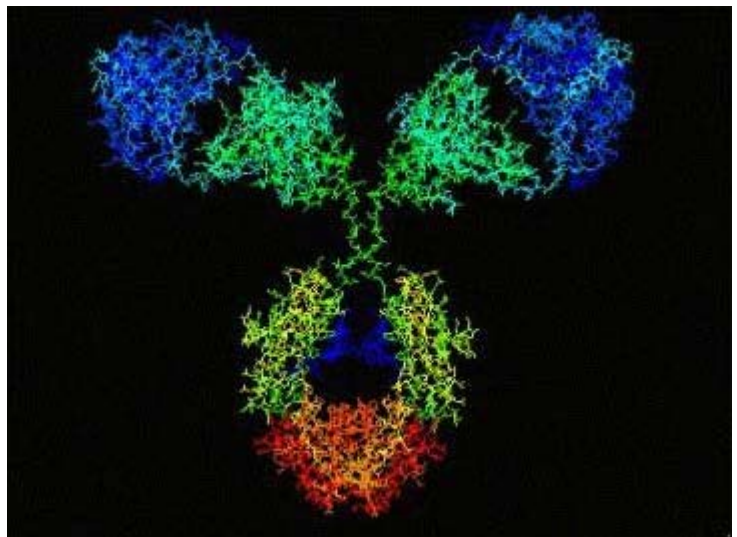
# 慧德易电子期刊

H&E Electronic Journal

第一百零七期

抗体纯化用填料

---- Toyopearl NH<sub>2</sub>-750F



2018年5月

## 第一百零七期 抗体纯化用填料---- Toyopearl NH2-750F

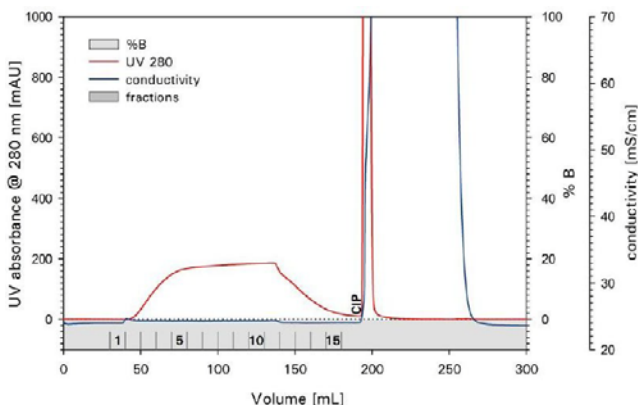
## 阴离子交换填料 Toyopearl NH2-750F 通过流穿模式能有效去除多聚体及其他杂质！

## 前言

抗体药物纯化工艺中最关键的第一步使用Protein A填料进行亲和分离。通过这一步，抗体纯度可达到95%左右。但作为抗体药物，纯度还远远不够，需要进行进一步纯化。主要杂质包含多聚体、抗体片段，来自宿主细胞的蛋白质（HCP）和DNA、病毒、以及自Protein A填料脱落下来的Protein A配基。这些杂质可以通过阴离子交换填料和阳离子交换填料（或混合模式填料）或疏水填料去除。最近，抗体纯化工艺中流穿模式（FT；原理：目标抗体单体流穿，多聚体以及其他杂质吸附）正在成为主流。其中，Toyopearl NH<sub>2</sub>-750F填料能够在流穿模式下有效去除多聚体，病毒以及内毒素等杂质。

## 高载量·耐盐型阴离子交换填料 Toyopearl NH<sub>2</sub>-750F 的产品特性

### ● 流穿模式纯化抗体（1）



#### 纯化条件

层析柱：TOYOPEARL NH<sub>2</sub>-750F,

6.6 mm ID × 5.85 cm (2.0 mL)

流动相：10 mmol/L Tris-HCl (pH 7.0), 0.25 mol/L NaCl

CIP; 1 mol/L NaCl 溶液（洗脱多聚体以及其他杂质）

流速：300 cm/hr

检测：UV (280 nm)

温度：室温

样品：酸处理后的单抗 (1 mg/mL)

# 流穿条件：10 mmol/L Tris-HCl (pH 7.0)，0.25 mol/L NaCl，多聚体从28%降低到0%。（回收率75%）

### ● 流穿模式纯化抗体（2）

TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F填料纯化后收集的组分，在第二步使用TOYOPEARL NH<sub>2</sub>-750F填料，通过流穿模式有效去除了多聚体、HCP、DNA和脱落Protein A配基等杂质。

MCC Process	条件	单体回收率(%)	多聚体 (%)*	HCP Log Red.	DNA (pg/mg)	Protein A (ppm)
TOYOPEARL NH <sub>2</sub> -750F (流穿模式)	Starting material **	N/A	3.1	1.7	0.3	<0.05
	条件 A	95	2.6	2.3	not detected***	<0.05
	条件 B	88	1.0	2.5	not detected***	<0.05

\* Aggregate determined according to Bond et al.

\*\* Starting material; TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F 填料纯化后收集的组分。

\*\*\* Less than the lower limit of quantification using resDNASEQ Quantitative CHO DNA Kit (Life Tech).

参考文献: Multi-Column Continuous Chromatography for Protein A Capture and Orthogonal Polishing of Monoclonal Antibodies, A. Grabski et al., PREP 2016, Poster, presentation data.

## TOYOPEARL NH<sub>2</sub>-750F 的优势

- 填料孔径大，可以有效去除多聚体、内毒素、病毒等大分子杂质。
- 耐碱性优秀，可用0.1-0.5N NaOH溶液进行清洗，并且可重复使用。
- **病毒去除效果：以Log reduction表示，降低4~6个数量级。**
- 作为耐盐型（salt-tolerant）离子交换填料，即使样品溶液中的盐浓度高，也可以实现高载量吸附。
- 具备1 mL和5 mL规格的填料筛选用预装柱。
- 还有TOYOPEARL Sulfate-650F, TOYOPEARL Hexyl-650C和TOYOPEARL MX-Trp-650M等优秀的抗体纯化用填料，可实现更高纯度的抗体纯化效果。

## TOYOPEARL NH<sub>2</sub>-750F的产品特性

项目	规格
官能团	一级氨基
离子交换容量 (meq./L)	0.07 - 0.13
粒径 (um)	30 - 60
静态吸附载量 (IgG)	≧ 70
菌体数 (CFU/mL)	≧ 100
内毒素 (EU/mL)	≧ 10
异物	≧ 6
溶出物	≧ 0.2 %

流穿模式纯化条件（例）

流动相：10 mmol/L Tris-HCl (pH 7.0-8.0)

流动相盐浓度：0 - 500 mmol/L NaCl

抗体上样量参考值：50 g/L-gel

根据抗体的不同性质，需要适当调节或优化pH和盐浓度

## TOYOPEARL NH<sub>2</sub>-750F填料以及筛选用预装柱产品一览表

货号	产品名	离子交换容量 (eq/L)	吸附载量 (g/L)	粒径 (μm)	包装 (mL)	备注
0023439	TOYOPEARL NH <sub>2</sub> -750F	0.07-0.13	≧ 70	30-60	250	散装填料
0023443	ToyoScreen NH <sub>2</sub> -750F	0.07-0.13	≧ 70	30-60	1 mL × 6	筛选用预装柱；需要同时使用

						ToyoScreen Holder (柱套)
0023444	ToyoScreen NH <sub>2</sub> -750F	0.07-0.13	≧ 70	30-60	5 mL × 6	筛选用预装柱; 需要同时使用 ToyoScreen Holder (柱套)
0045108	MiniChrom NH <sub>2</sub> -750F	0.07-0.13	≧ 70	30-60	5 mL	预装柱: 8 mm ID × 10 cm
0021400	ToyoScreen Holder	-	-	-	-	预装柱配套用柱套

## TOYOPEARL NH<sub>2</sub>-750F填料去除多聚体相关论文和海报

1. Salt tolerant chromatography provides salt tolerance and a better selectivity for protein monomer separations, N. Yoshimoto et al., Biotechnol. J., 10 (2015) 1.
2. Multi-Column Continuous Chromatography for Protein A Capture and Orthogonal Polishing of Monoclonal Antibodies, A. Grabski et al., PREP 2016, Poster presentation.
3. IgG Purification, Better, Faster, Cheaper, P. Gagnon et al., Bioprocess International Conference, 2016, Poster presentation.
4. Purification of monoclonal antibodies entirely flow-through mode, T. Yamada et al., J. Chromatogr., B 1061-1062 (2017) 110-116.



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