

HIGH QUALITY & EXPERT



慧德易电子期刊

H&E Electronic Journal

第九十三期

单抗下游纯化及分析整体解决方案

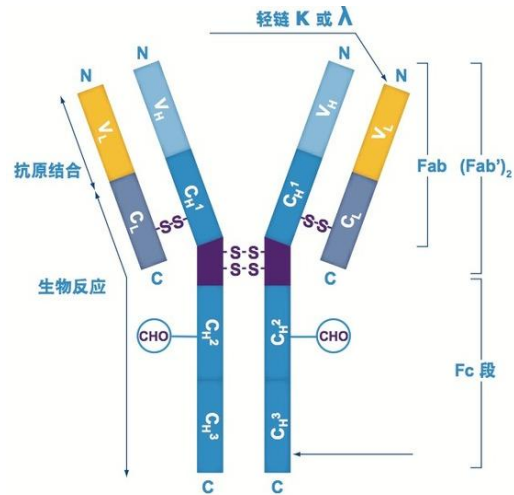
2017-04

第九十三期 单抗下游纯化及分析整体解决方案

单抗下游纯化及分析整体解决方案

单抗的概念

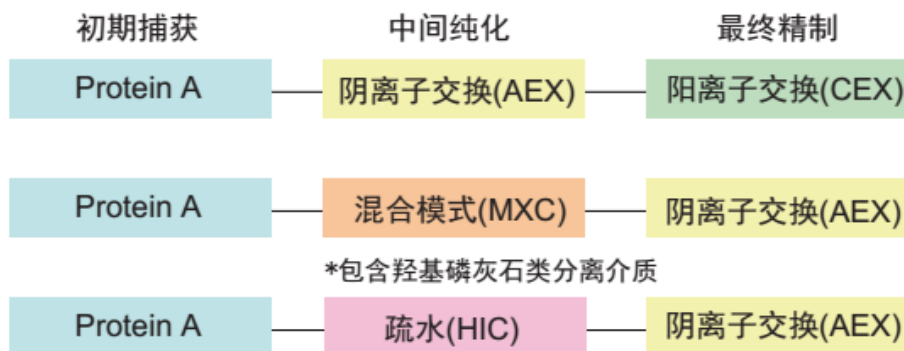
一种抗体分子是由一个 B 淋巴细胞分化增殖而形成的浆细胞系产生的。由一个细胞增殖而形成的具有相同遗传特征的细胞群叫做“克隆”。由一个浆细胞大量增殖形成的克隆产生的抗体称单克隆抗体 (Monoclonal antibody , McAb) , 简称单抗。这种抗体分子组成均匀 , 特异性单一。用杂交瘤技术制备出来的单克隆抗体纯度高、专一性强、效价高。



单抗下游纯化及分析整体解决方案

层析工艺的确定

各种模式中，Protein A 亲和层析法可获得高纯度的单抗，因此普遍用于初始纯化步骤（即初期捕获）中。离子交换层析法（IEC）的高载量特点也使之在抗体的制备纯化中被广泛采用。疏水相互作用层析法（HIC）具有去除抗体多聚体以及脱落的蛋白 A 配体等杂质的性能。混合模式层析法（MXC，含羟基磷灰石类分离介质）也被运用到了抗体的层析纯化工艺之中。



单抗下游纯化及分析整体解决方案

层析填料的选择

聚合物基质具有一定的疏水性，非特异性吸附低，回收率高；刚性好，高流速下柱床体积稳定，易于工业放大使用。



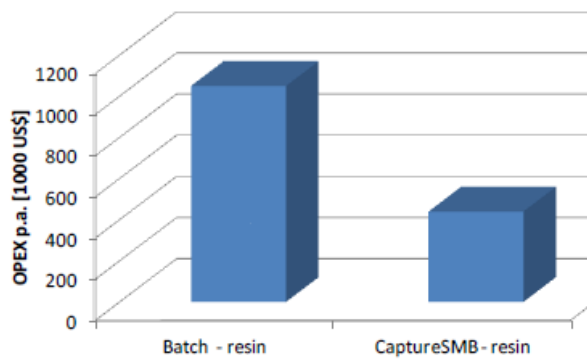
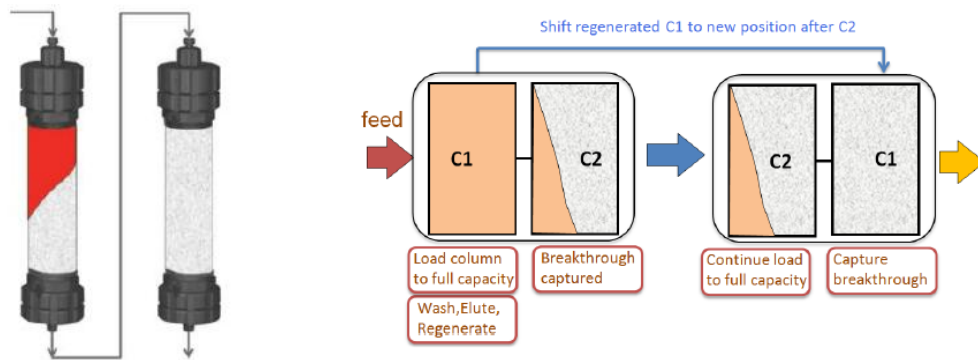
分离模式	特长及用途	层析填料
亲和层析 (AFC)	专为单克隆抗体的分离纯化而设计的亲和层析填料,是目前比较主流的用于捕获阶段的层析模式。	推荐型号： TOSOH 聚合物基质： Toyopearl AF-rProtein A -650F , Toyopearl AF-rProtein A HC-650F 参考型号： GE 琼脂糖基质： rProtein A Sepharose FF , nProtein A Sepharose 4FF MabSelect , MabSelect SuRe
离子交换 (IEC)	去除抗体中的多聚体,以及一般蛋白、血浆蛋白、病毒、疫苗等生物大分子样品的分离纯化。	阳离子交换 推荐型号： TOSOH 聚合物基质： Toyopearl GigaCap S-650M , Toyopearl MX-Trp-650M 参考型号： GE 琼脂糖基质：Capto S
		阴离子交换 推荐型号： TOSOH 聚合物基质： Toyopearl GigaCap Q-650M , Toyopearl NH2-750F 参考型号： GE 琼脂糖基质：Capto Q , Capto adhere
疏水相互作用 (HIC)	去除抗体中的多聚体	推荐型号： TOSOH 聚合物基质： Toyopearl PPG-600M , Butyl-600M , Phenyl-600M 参考型号： GE 琼脂糖基质：Phenyl Sepharose 4FF

单抗下游纯化及分析整体解决方案

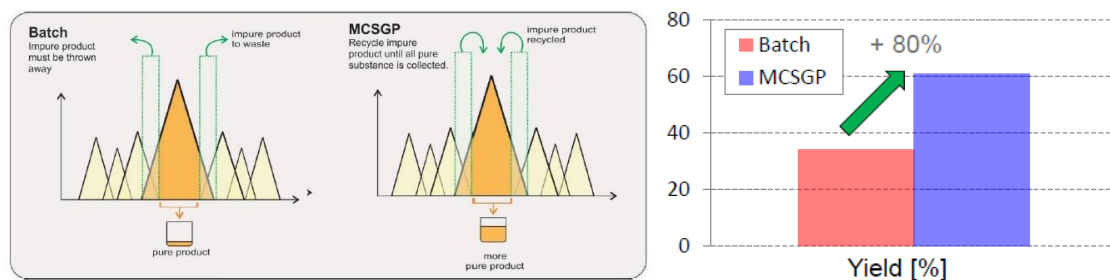
层析设备的选择

选用 Contichrom 层析系统，可运行多种层析模式，如标准批处理过程、Capture SMB、MCSGP（多柱逆流溶剂梯度纯化）、N-Rich 等，可使层析填料、缓冲液等成本投入大为节省，同时也使得纯化周期大为缩短。

Capture SMB 应用于 Protein A 捕获环节，采用连续上样，可保证填料利用率最高，填料用量节省 50%，从而使得成本投入大为缩减。

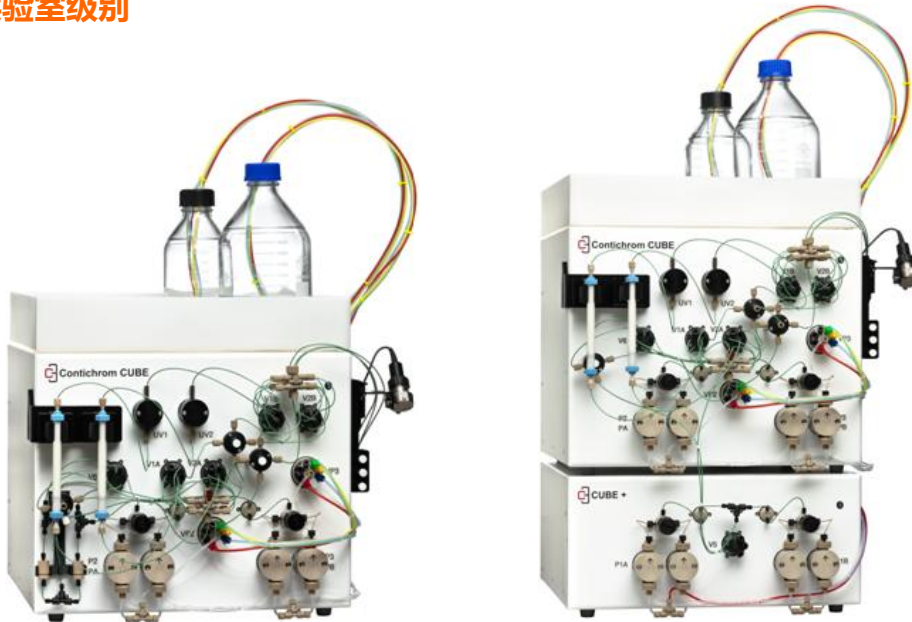


MCSGP 工艺应用于去除降解物和聚合体的精纯环节，可将含有不纯组分的产品回收在一个封闭的环内，进行循环式的层析操作，从而最大限度地提取纯产品，使收率和纯度二者兼得。



Contichrom 系列产品线齐全，具有可满足高压制备的规格，最高系统耐压为 100 bar（10 MPa），也具有为工业层析分离设计的产品，实现工艺的有效线性放大。

■ 实验室级别



■ 工业用级别



单抗下游纯化及分析整体解决方案

层析设备的选择

单抗 HPLC 分析中色谱柱的选择



分离模式	分离原理	特长及用途	推荐色谱柱
尺寸排阻 (SEC)	分子的空间尺寸	单抗分子量通常在 150kDa 左右。适用于抗体的单体与多聚体（二聚体以上）的分离，或者单体与抗体降解产物的分离。有时也可将 2 根色谱柱串联使用。	TSKgel SuperSW mAb HTP TSKgel SuperSW mAb HR TSKgel UltraSW Aggregate TSKgel G3000SWXL TSKgel SuperSW3000
离子交换 (IEC)	分子的离子性	抗体纯化产物中，即使是分子量相同的组分也可能存在电荷异构体（脱酰胺化、末端氨基酸突变）和糖链构造异构体等杂质。此类色谱柱采用非多孔类填料，可获得高分辨率、快速的分析。	TSKgel CM-STAT TSKgel SP-STAT TSKgel Q-STAT
疏水相互作用 (HIC)	分子的表面疏水性	在抗体药物中，对于一些由于等电点相同而无法通过离子交换色谱法实现分离的、但表面疏水性有差异的结构同分异构体、二聚体和多聚体等，可以考虑使用 HIC 实现分离。	TSKgel Butyl-NPR TSKgel Phenyl-5PW
反相 (RPC)	分子的疏水性	适用于分析还原后的抗体重链轻链以及其他的降解产物。	TSKgel Protein C4-300
亲水相互作用 (HILIC)	分子的亲水性	适用于分析结合在抗体上的糖链的结构差异性。	TSKgel Amide-80 TSKgel NH2-100

北京慧德易可以提供填料的小包装试用，慧德易实验室可以提供纯化工艺开发服务，若您有相关需要，欢迎及时与我们联系！北京慧德易真诚期待与您的合作！



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