

MabPurix Infinite A HipH 填料产品说明书

一、 产品简介

MabPurix Infinite A HipH 亲和层析填料以高交联度琼脂糖微球为基质，具有天然的高度亲水性，其表面经过独特的化学修饰后与耐碱性重组 Protein A 配基键合，专门用于单克隆抗体、双特异性抗体和含有 Fc 片段的重组蛋白类生物大分子的分离纯化。耐碱重组 Protein A 经过改造后耐碱性更强，可耐受 0.5M NaOH CIP，同时也适用于较高 pH 洗脱（推荐 pH3.0-4.5），推荐淋洗 pH 不低于 6.5。耐碱重组 Protein A 经过改造后对双抗具有更高的载量。

层析介质特点

- 📖 高载量
- 📖 高亲水性
- 📖 高耐碱性，使用寿命长
- 📖 高交联度，反压低，流速快
- 📖 高批间重现性，易于放大
- 📖 高 pH 洗脱，适用于低 pH 不稳定样品

二、 安全

有关本产品安全使用的信息，请参阅安全数据书(SDS)。

三、 产品性质及特征参数

3.1 层析介质化学结构与技术参数

MabPurix Infinite A HipH 为亲和层析介质，配基为重组耐碱蛋白 A。结构示意图如图 1 所示，具体产品技术参数见表 1。

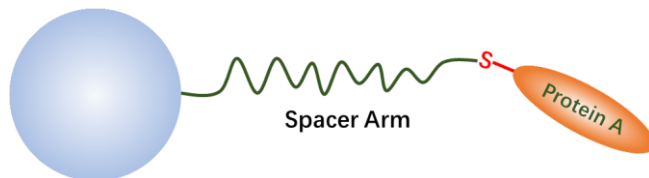


图 1.MabPurix Infinite A HipH 亲和层析介质结构示意图

表 1.MabPurix Infinite A HipH 亲和层析介质技术参数

产品名称	MabPurix Infinite A HipH
基质	高交联度琼脂糖微球
配基	耐碱性重组 Protein A
键合方式	硫醚键
平均粒径*	~75 μm
动态载量*	65 mg Human IgG/mL resin (6 min 驻留时间)

操作压力	≤0.5 MPa (5 bar)
流速/压力关系*	500 cm/hr (运行压力 2 bar)
pH 稳定性 (操作)	3-12
pH 稳定性 (CIP)	2-14
CIP	0.1-1 M NaOH
工作温度	10 - 30°C, 避免冷冻
化学稳定性*	所有常用试剂: 常用的磷酸、醋酸等缓冲盐体系 其它试剂: 8.0 M 尿素、6.0 M 盐酸胍、20% 乙醇, 乙腈, 1.0 M 乙酸, 5%异丙醇等
保存条件	2-8°C, 20%乙醇或 2%苯甲醇
运输条件	2-8°C, 保存于 20%乙醇或 2%苯甲醇
典型应用方向	抗体、Fc 融合蛋白、ADC

*注: 1. 颗粒大小呈正态分布, MabPurix Infinite A HipH 平均粒径约为 75 μm。

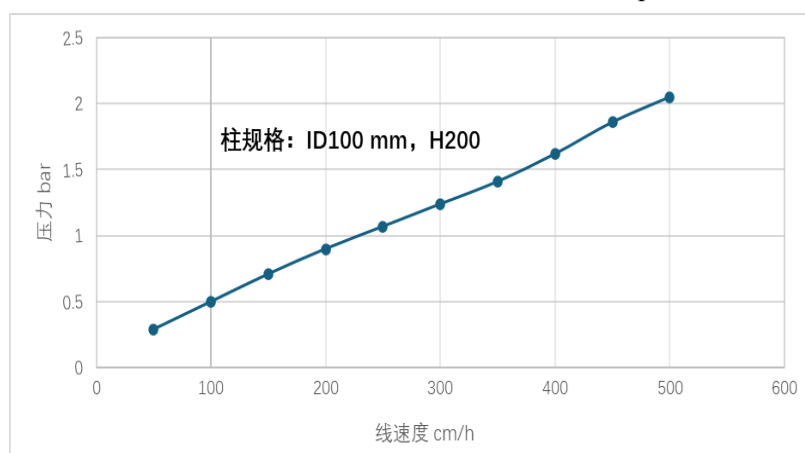
2. DBC 测试方法: 2 mg/mL Human IgG, 6 min 驻留时间, 载量以 10%流穿计。

3. 最大流速测试方法: 柱高 200 mm, 直径 100 mm, 运行压力: ≤2.0 bar, 溶剂: 水, 室温测试 (25°C)。

4. 化学稳定性适用条件: 介质用其它试剂在 25°C条件下浸泡 24 h。

四、层析柱装柱

层析介质在不同场景下适用不同装柱方法, 实验室装柱方法与规模化生产用装柱有较大差异。装柱与压力-流速相关, 装柱时也需注意压力变化, 图 3 为 MabPurix Infinite A HipH 的压力流速曲线图。



(流动相: 20 mM Na-phosphate, 150 mM NaCl, pH 7.4)

图 3. MabPurix Infinite A HipH 压力流速曲线图

4.1 实验室用装柱方法 (内径 ID 6.6 mm -25 mm 实验室用层析柱)

4.1.1 装柱前的准备工作

4.1.1.1 装柱设备及层析柱: 检查蛋白纯化仪 (例如 AKTA Pure 150) 是否正常, 特别是压力检测模块和电导检测模块。

4.1.1.2 配制足量缓冲液 0.1 M NaCl 水溶液; 1 M NaCl 水溶液。

4.1.2 置换保存溶剂

MabPurix Infinite A HipH 填料出厂时保存在 20%乙醇中, 体积比为 50%, 装柱前需将 20%乙醇置换为纯化水。快速置换方法: 将填料混用后取所需匀浆液倒入柱管中, 安装好柱头并用纯化

水冲 5 CV，将填料打出至广口瓶中，添加纯化水至填料体积比为 50-70%之间。也可采用沉降的方法置换保存溶剂。

4.1.3 填料匀浆比测算

快速测算方法：将置换好的填料混匀，取 20 mL 加入到玻璃柱管中，如 Generik FPLC 10*400 mm 玻璃柱管，打开下堵头，让水漏出，直至填料沉降至高度不再变化，此过程大约 20 min，用直尺测量柱床高度，计算填料体积，例如柱床高度为 14 cm，填料体积则为 $14 \times 0.7854 = 10.9956$ mL，匀浆比则为 54.98%。也可用在量筒中沉降过夜的方式测算匀浆比，沉降时间要保持在 14-16 h。

4.1.4 填料需求量计算

$$V_{\text{slurry}} = V/P = S \times H \times F/P$$

V：目标柱体积

P：匀浆比

H：目标装柱高度

S：柱管横截面积

F：压缩系数

H：装柱高度

例如：内径为 10 mm 的手动柱横截面积为 0.7854 cm^2 ，装柱目标高度为 18 cm，则填料的需求量为 $V_{\text{slurry}} = 0.7854 \text{ cm}^2 \times 18 \text{ cm} \times 1.11 / 54.98\% = 28.5 \text{ mL}$

*注：实验室规模、用水装柱的条件下，填料的用量按照 1.11 压缩系数计算。

4.1.5 具体操作步骤（以填装 10 mm*180 mm 规格层析柱为例）

4.1.5.1 用移液器吸取 28.5 mL 匀浆液，加入到 Generik FPLC 10*250 mm-AF 层析柱管中（使用装柱连接环）；

4.1.5.2 开启 100 cm/h 流速，将上柱头拧紧至柱管上，以 100、200、300 cm/h...线流速压缩填料，每级流速保持 3 min，直到柱压达到 2-3 bar 后保持 15 min，关闭层析系统，将上柱头向下拧至目标高度，装柱完成。

4.2 中试装柱方法（内径 ID 100 mm -300 mm 手动柱填装）

4.2.1 装柱前的准备工作

4.2.1.1 场所：装柱场所应清洁、无尘，室温 18°C-35°C，湿度 45%-65%；

4.2.1.2 装柱设备及管道：蛋白纯化设备及层析柱管路冲洗干净，管道连接完毕，检查设备管路是否漏液，必要时试漏，压力等各参数显示正常；

4.2.1.3 层析柱排气泡：层析柱清洗干净，排除上下塞板处气泡待用；

4.2.1.4 QC 检测设备：低压层析系统（例如 AKTA Process）；

4.2.1.5 其他：配制足量缓冲液 0.1 M NaCl 水溶液；1 M NaCl 水溶液。

4.2.2 置换保存溶剂

MabPurix Infinite A HipH 填料出厂时保存在 20%乙醇中，体积比为 50%，装柱前需将 20%乙醇置换为纯化水。对于直径为 100 mm-300 mm 内径手动柱置换方式可以为：将填料混用后取所需匀浆液倒入柱管中，打开出口阀，使 20%乙醇漏出，然后补加等体积纯化水重新匀浆，打开出口阀，使纯化水漏出，用水置换三次。

4.2.3 填料需求量计算

$$V_{\text{slurry}} = V / 50\% = S \times H \times F / 50\%$$

V: 目标柱体积

H: 目标装柱高度

S: 柱管横截面积

F: 压缩系数

H: 装柱高度

例如: 内径为 200 mm 的手动柱横截面积为 314 cm², 装柱目标高度为 18 cm, 则填料的需求量为 $V_{\text{slurry}} = 314 \text{ cm}^2 \times 18 \text{ cm} \times 1.20 / 50\% = 13.6 \text{ L}$

*注: 填料保存在 20%乙醇中, 计算填料用量时按照 1.20 压缩系数计算。

4.2.4 装柱方法一 (以填装 200 mm 内径手动柱为例)

4.2.4.1 填料保存溶剂置换结束后重新在柱管中匀浆, 关闭底阀后使填料自然沉降, 待胶面下沉距离大于 5 cm 后安装排好气泡的柱头, 拧紧密封圈, 打开底阀, 开启低压层析系统, 以纯水 100 cm/h 线速度加速填料沉降, 柱床稳定后逐步提高流速压缩柱床, 如 150 cm/h、200 cm/h..., 每级流速保持 3 min, 直到柱前压达到 2 bar±0.1 bar 后保持 30 min, 柱床沉降稳定后标记柱床高度;

4.2.4.2 关闭层析系统, 等柱压降为零后关闭底阀, 旋转柱头上的四通阀至排液管, 然后以 1:1.03 的压胶比 (以 4.2.4.1 步骤中标记的柱床高度为基准) 下降柱头至目标高度, 装柱完成。

4.2.5 装柱方法二 (以填装 200 mm 内径手动柱为例)

4.2.5.1 如置换保存溶剂过程中所述, 重新匀浆后关好底阀使填料自然沉降, 待胶面下沉距离大于 5 cm 后安装排好气泡的柱头, 拧紧密封圈, 打开底阀, 开启低压层析系统, 以纯化水为流动相、100 cm/h 线流速加速填料沉降, 柱床沉降稳定后标记柱床高度;

4.2.5.2 关闭层析系统, 等柱压降为零后关闭底阀, 旋转柱头上的四通阀至排液管, 然后以 1:1.15 的压缩系数 (标记的柱床高度为基准) 下降柱头至目标高度, 装柱完成。

4.3 生产层析柱装柱 (内径 ID 450 mm 及以上电动柱装柱)

4.3.1 装柱前的准备工作

4.3.1.1 场所: 装柱场所应清洁、无尘, 室温 18°C-35°C, 湿度 45%-65%;

4.3.1.2 装柱设备及管道: 蛋白纯化设备及层析柱管路冲洗干净, 管道连接完毕, 检查设备管路是否漏液, 必要时试漏, 压力等各参数显示正常;

4.3.1.3 层析柱排气泡: 层析柱清洗干净, 排除上下塞板处气泡待用;

4.3.1.4 QC 检测设备: 低压层析系统 (例如 AKTA Process);

4.3.1.5 其他: 配制足量缓冲液 0.1 M NaCl 水溶液; 1 M NaCl 水溶液。

4.3.2 置换保存溶剂

MabPurix Infinite A HipH 填料出厂时保存在 20%乙醇中, 体积比为 50%, 装柱前需将 20%乙醇置换为水。根据以下方法计算所需填料倒入匀浆罐中, 待沉降好后倒出上清, 加入等体积水, 混匀后继续沉降, 置换 3 次。

4.3.3 填料需求量计算:

$$V_{\text{slurry}} = V / 50\% = S \times H \times F / 50\%$$

V: 目标柱体积

H: 目标装柱高度

S: 柱管横截面积

F: 压缩系数

H: 装柱高度

例如: 内径为 600 mm 的层析柱横截面积为 2826 cm², 装柱目标高度为 18 cm, 则填料的需求量为 $V_{\text{slurry}} = 2826 \text{ cm}^2 \times 18 \text{ cm} \times 1.20 / 50\% \approx 122 \text{ L}$ 。

*注: 填料保存在 20%乙醇中, 计算填料用量时按照 1.20 压缩系数。

4.3.4 装柱步骤

排除吸胶口管道内气泡;

以 300 cm/h 线速度上抬柱头吸取所需填料;

吸胶结束后用水冲洗管道中的填料;

压胶: 以 60cm/h 线速度下降柱头压胶, 当柱头下降至距离胶面 2-3cm 时读取胶面高度, 按照 1.14 的压缩系数压紧柱床。

4.4 柱效测试及评价参考标准

MabPurix Infinite A HipH 填料装柱后, 层析柱柱效测试方法及评价标准可参考表 2 操作。

表 2.柱效测试方法及评价参考标准

样品	1.0 M NaCl
样品体积	1.0-2.0%CV
流动相	0.1-0.5 M NaCl
流速	60-180 cm/h
检测	Cond
合格标准	非对称因子As: 0.8-1.8; 理论塔板数: $\geq 2000 \text{ N/m}$

4.5 非理想柱效的解决办法

4.5.1 出现拖尾峰时, 解决方法包括:

降低浆液浓度

提高压缩比

4.5.2 出现前沿峰时, 解决方法与拖尾峰相反。

4.5.3 柱效低: 重装层析柱, 降低测试流速

4.5.4 峰分裂: 清洗更换滤片, 检查测试样品

4.5.5 层析柱裂开: 检查柱头气泡是否排干净。

五、故障排除

在实际纯化过程中, 可能会出现以下常见问题, 现对常见问题和解决方法给出建议, 可根据表 3 建议查找和排除相应问题, 顺利推进方法开发或者生产。

表 3.纯化过程中常见问题参考解决方案

可能的故障	可能出现的原因/纠正故障
运行过程中背压高	层析柱筛板堵塞，清洗筛板或更换筛板 填料孔径有污染物堵塞，执行 CIP 操作
洗脱峰变宽	多次使用使填料老化，柱效降低，需重新装柱或更换填料； 流动相洗脱能力不足或者是柱内污染物累积，需要优化洗脱条件，CIP 方案或者更频繁的执行 CIP； 流动相流速和柱温过低，需优化流速和柱温。
收率下降	样品上样过高，减少上样量； 层析柱堵塞，及时清洗填料； 配基脱落，使用次数接近寿命时建议更换填料； 洗脱过程中样品聚集，优化洗脱条件； 优化洗脱条件、CIP 方案或者更频繁的执行 CIP。
CIP 峰越来越高	洗脱或者 CIP 不充分； 优化洗脱条件、CIP 方案或者更频繁的执行 CIP。
第一次纯化过程中蛋白脱落高	按照纯化流程空运行一次，包括 CIP 过程。

六、 再生与 CIP

层析介质在使用后会有污染物附着，再生和 CIP 能有效清除附着的污染物，使层析介质保持清洁状态而不影响使用。客户可根据使用过程中介质的污染程度确定再生和 CIP 的强度和时间。以下为 MabPurix Infinite A HipH 层析介质常规的再生和 CIP 方法，可根据实际情况进行调整：

- 1) 用 0.5-1.0 M HAC 冲洗层析柱 3 CV，驻留时间 5-8 min；
- 2) 用水冲洗层析柱 3 CV，驻留时间 5-8 min；
- 3) 用 0.1 M NaOH 冲洗层析柱 3 CV，驻留时间 10 min，层析柱污染严重时，可采用 0.1 M NaOH+0.5-1.0 M NaCl 加强清洗，也可采用每 10 个循环使用一次 0.5 M NaOH 加强清洗；
- 4) 用平衡液冲洗层析柱 5 CV，驻留时间 5-8 min。

注：MabPurix Infinite A HipH 可耐受 0.5M NaOH。NaOH 浓度、接触时间和接触频率 均会影响清洗效果，高浓度、长时间可增加 CIP 效果，但是相应会加速 IgG 结合载量下降的趋势，故一般选择 0.1~0.5M NaOH，若污染较严重，可选择 0.5~1.0M NaOH。

七、 灭菌

由于 20%乙醇或 2%苯甲醇保存液不具有杀菌、除热原作用，建议 MabPurix Infinite A HipH 介质在使用前及使用过程中，可采用 0.1 M NaOH 处理 30 min 或者 0.5 M NaOH 处理 15 min 以减少微生物污染风险。

八、 产品储存

MabPurix Infinite A HipH 用 20%乙醇或 2%苯甲醇为保存液进行销售，收到填料后请按以下条件保存：

未拆封填料：未拆封介质可长期保存于 2-8℃环境中，有效期 60 个月。

使用后填料：

1) 对于需要保存在层析柱中，短期内会再次使用的填料，建议用 0.1 M NaAc-HAc，2%苯甲醇作为保存液，pH 5.0 冲洗层析柱 5 CV，密封后在≤25℃条件下保存，并且每两个月更换一次保存液。

2) 装好的层析柱如果长期不使用，建议取出置于保存容器中。取出前采用 20%乙醇冲洗 5 CV 后将柱子拆卸，填料置于桶中，密封后于 2-8℃保存，为防止乙醇挥发或者微生物滋生，建议每 3 个月更换一次新鲜的保存液。

九、 销毁及回收

由于 MabPurix Infinite A HipH 基架在自然界很难降解，为保护环境建议采用焚烧处理或第三方委外处理。

十、 产品订购信息

产品名称	类型	粒径	订货号
MabPurix Infinite A HipH	亲和层析介质	75 μm	271975990

预装柱规格：4.2 mL、5.0 mL；层析介质包装规格：1.0 L、5.0 L、10 L、50 L



扫码关注公众号

公司信息：

苏州赛分科技股份有限公司

联系电话：400-636-8880

官网网站：<http://www.sepax-tech.com.cn/>