
NMab Titan

Protein A 亲和层析介质

产品使用说明书

文件编号：NM-W-DF-0604

版本号：A0

NMab Titan

亲和层析介质

在全球医药市场中，抗体药物销售持续领先，市场竞争日益激烈。降低抗体生产成本是提高市场竞争力的关键因素之一。在下游纯化领域，Protein A 亲和层析不仅是决定药物质量的重要环节，也是控制成本的关键步骤。为满足抗体企业高效率生产对亲和层析介质的高机械强度、低反压、良好化学稳定性和耐碱性的需求，纳微科技开发了第三代软胶 Protein A 亲和层析介质。

NMab Titan 是纳微科技利用自主专利技术生产的第三代高性能、耐碱型重组 Protein A 亲和层析介质。该填料以高交联琼脂糖微球为基质，利用专有的表面修饰技术并通过环氧偶联键合 Protein A 蛋白配基制得，适用于单抗、双抗、多抗及含有 Fc 片段的重组蛋白类生物大分子的分离纯化。NMab Titan 亲和层析介质具有机械强度高、反压低、化学稳定性好、耐碱性强等特点，即使在高流速下仍然能保持较高动态吸附载量，满足从实验室制备到中试及工业化生产的各种需求。

优势：

- ✓ 高刚性琼脂糖基质，机械强度高，更适合放大生产；
- ✓ 高效传质，高动态结合载量，节省成本，提高效率；
- ✓ 表面亲水性好，非特异吸附低，抗体回收率高；
- ✓ 改良的耐碱配基，配基脱落低，使用寿命长；



高动态载量



压力流速性能好



高耐碱性



HCP残留低



寿命长

表 1. 纳微科技 NMab Titan Protein A 亲和层析介质技术参数

产品型号	NMab Titan
分离原理	Protein A 亲和
基质	琼脂糖
平均粒径	~75 μm
配基键合方式	环氧键合
动态结合载量	~70 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ (人 IgG, 6 min 驻留时间)
最大耐压	0.5 MPa
CIP 在位清洗	0.1- 0.5 M NaOH
推荐最高流速	500 cm/h (柱型: 600 \times 250mm)
pH 稳定性	3-12 (工作), 2-14 (CIP)
化学稳定性	所有常用缓冲液, 10 mM 盐酸, 0.1M 柠檬酸 (pH3), 6M 尿素, 6M 盐酸胍, 30% 异丙醇, 20% 乙醇。
使用温度	2-40 $^{\circ}\text{C}$
存储	20% 乙醇或 2% 苯甲醇, 2-8 $^{\circ}\text{C}$

良好压力流速曲线

NMab Titan 介质具有优异的机械性能，可以承受更高流速条件产生的压力，支持更高的柱床，有利于增加抗体批处理量，提高抗体生产效率，减少设备。

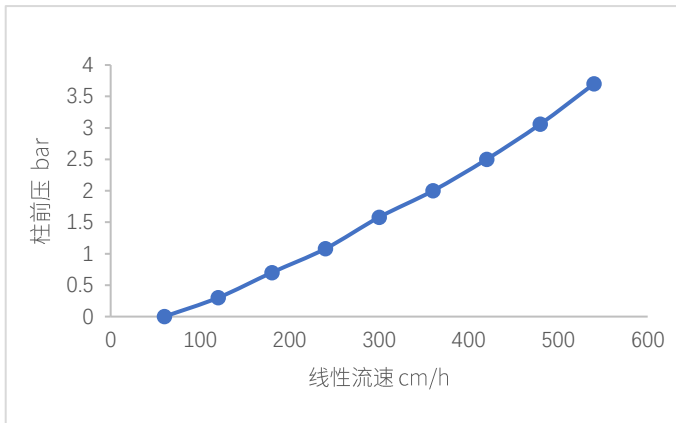


图 2. NMab Titan 介质压力流速变化示意图 (测试柱型: ID: 600mm H: 247mm; 流动相: 水溶液)

高单抗动态载量

对不同单抗料液的测试显示，新一代的 ProteinA 亲和层析介质 NMab Titan 动态载量 DBC_{10%} 更高，有效降低生产成本，提高生产效率。

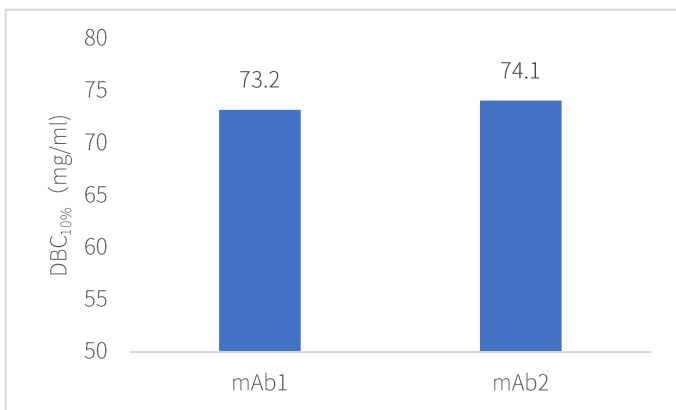


图 3. NMab Titan 介质用于单抗纯化的动态载量

有效捕获双靶点抗体

对不同双抗料液的测试显示，NMab Titan 针对不同双抗的动态结合载量提升显著，用更少的填料就能保证相同的产出，提高样品处理效率。

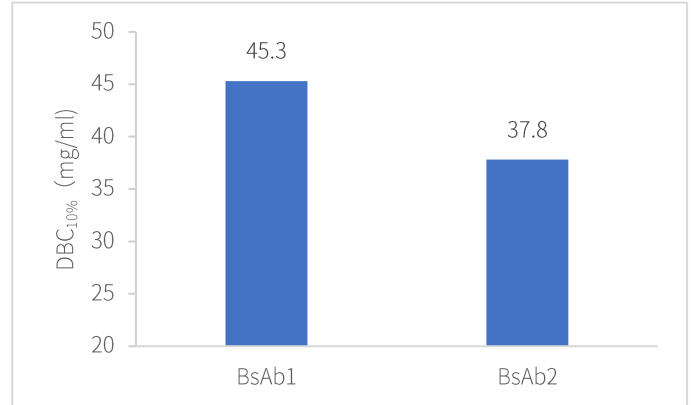


图 4. NMab Titan 介质用于双抗纯化的动态载量

优异的耐碱性

25°C下 0.5M NaOH 浸泡 24 小时结果显示 (样品: 单抗), NMab Titan 载量仅下降 2.5%，具有优异的耐碱性，将大幅度提高抗体生产中介质的使用寿命，提高抗体的生产效率，降低生产成本。

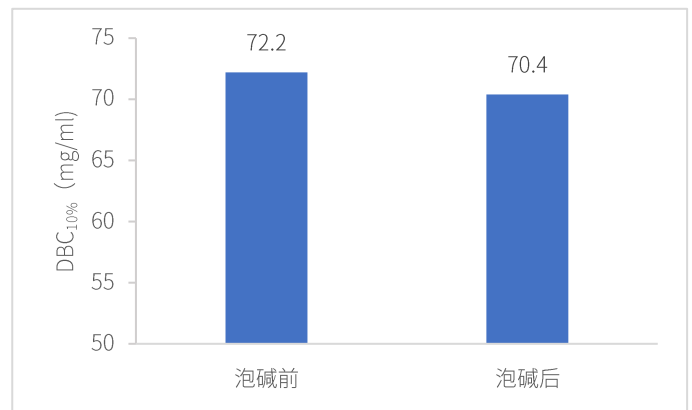


图 5. NMab Titan 在 25°C下 0.5M NaOH 浸泡 24h 载量保持稳定

优异的耐碱性，更长的使用寿命，提高生产效率及节省成本

本

对比 NMab Titan 和 NMab Pro 在某单抗 HCCF 寿命验证:

碱运行程序:

- 1) 每个循环 0.1M NaOH CIP 30min;
- 2) 120 次循环后，每 20 个循环用 0.5M NaOH 冲洗 30min 并浸泡 30min;
- 3) 160 次循环后，每 10 个循环用 0.5 M NaOH 冲洗 30min 并浸泡 30min，共计 16 次。

NMab Titan 介质在 300 个循环后，DBC_{10%}下降 24%。优异的耐碱性，将大幅提高 NMab Titan 在抗体生产中的使用寿命，降低生产成本。

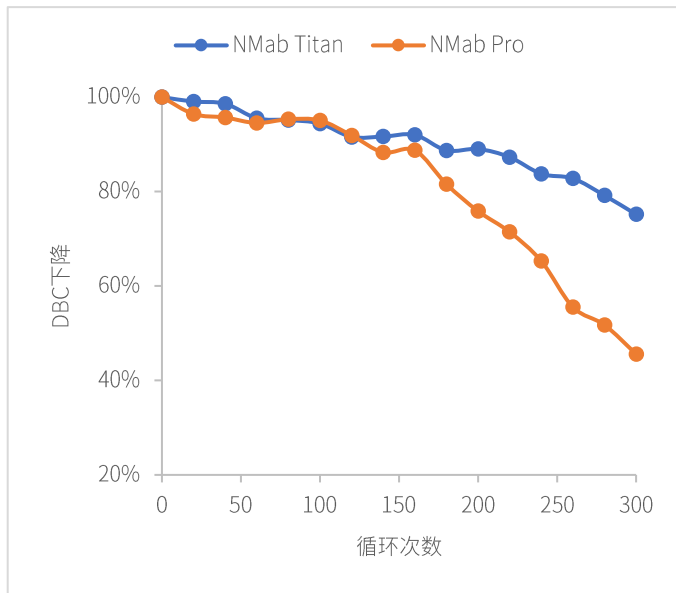


图 5. NMab Titan 在某单抗上的寿命验证

细胞培养液单克隆抗体(mAb)捕获应用

以下是对 NMab Titan 亲和介质在捕获细胞培养液中单克隆抗体的洗脱体积、回收率及杂质如宿主蛋白 (HCP) 和脱落配基片段 (ProA) 的清除效率等性能评价。

实验条件:

样品: 单克隆抗体上清培养液

平衡: 20 mM PB+150 mM NaCl, pH7.4

淋洗: 20mM HAc-NaAc, pH5.5

洗脱: 20mM HAc-NaAc, pH3.6

再生: 0.1 M NaOH

驻留时间: 5 min

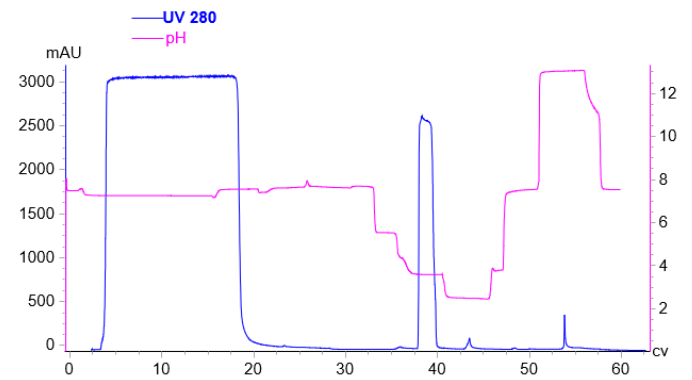


图 6. NMab Titan 在细胞培养液中单克隆抗体纯化分离性能

表 2. NMab Titan 介质亲和层析性能评估结果

纯度 (%)	回收率 (%)	洗脱体积 (CVs)	HCP (ppm)	ProA (ppm)
98.5%	95.1%	2.07	332.0	5.0

操作指南

匀浆浓度测定

NMab Titan 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 (V_c) :

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

h: 色谱层析柱高度; r: 色谱层析柱半径

计算所需匀浆体积 (V_s): 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 1.15-1.2。

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

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 V_s 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. N Mab Titan 层析柱的柱效测试条件

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;

进样:

样品的上样量不超过介质 DBC_{10%} 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。

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 个月更换一次保存溶剂。

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。

故障排除

如果您在使用 NAb Titan 时遇到任何问题，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
	仪器的在线过滤器堵塞	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
NMab Titan	30 mL	17013-080100-2030
	50 mL	17013-080100-2050
	100 mL	17013-080100-2100
	300 mL	17013-080100-2300
	500 mL	17013-080100-2500
	1 L	17013-080100-1001
	5 L	17013-080100-1005
	10 L	17013-080100-1010
	50 L	17013-080100-1050
	100 L	17013-080100-1100

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

2024年2月第一版

