



赛分科技

抗体纯化&分析方案手册





赛分科技

赛分科技的业务板块包括：分析色谱、工业纯化、医疗诊断等领域。作为一家深耕色谱材料技术近二十年的企业，赛分科技掌握大量核心技术，拥有国际顶尖的研发能力和全球化的运营及销售，色谱柱及层析介质产品全球客户数量超5000家。赛分科技以全球顶尖的色谱技术能力和国内领先的色谱材料规模化生产基地，致力于为中国生物医药产业创造价值。

苏州赛分科技股份有限公司

2002年 在美国特拉华州创立，致力于开发和生产用于药物及生物大分子分离纯化的液相色谱材料和技术，是一家集研发、生产和全球销售为一体的科技型企业

2009年 苏州赛分科技有限公司作为赛分科技中国总部在苏州工业园区成立，并入选国家级人才工程企业、高新技术企业，专注打造色谱材料领域中国民族工业品牌

2017年 赛分科技扬州有限公司成立，专注于色谱层析介质的大规模生产。一期工程已建成四条生产线，年产量达100,000升，在国内处于领先地位



 苏州总部大楼
26,000 m²

 扬州基地一期年产能
100,000 升

 全球客户超过
5,000 家

 已授权专利
35+ 项

 自主创新技术能力
超一流

 发表国际文献
1000+ 篇

A SPECIALIZED AND INNOVATIVE
CHROMATOGRAPHY EXPERT

专注创新的色谱层析技术专家



目录

抗体纯化填料方案

MabPurix系列亲和层析填料 02

MabPurix P45系列聚合物基质亲和层析填料-----	02
MabPurix A45&A65系列琼脂糖基质亲和层析填料-----	04
Mab Purix亲和填料应用测试-----	06

Monomix MC/HC离子交换填料 08

Monomix MC/HC离子交换填料-----	08
--------------------------	----

赛分科技疏水层析填料 15

赛分科技疏水层析填料-----	15
-----------------	----

抗体分析色谱方案

体积排阻色谱柱 20

抗体SEC分析推荐方案-----	20
Zenix体积排阻色谱柱-----	21
Zenix-C体积排阻色谱柱-----	25

离子交换色谱柱 27

Proteomix离子交换色谱柱-----	27
Antibodix离子交换色谱柱(抗体分离专用柱)-----	29

疏水作用色谱柱 34

Proteomix HIC疏水作用色谱柱-----	34
---------------------------	----

疏水反相色谱柱 36

Proteomix RP疏水反相色谱柱-----	36
--------------------------	----

亲和色谱柱 37

ProAqa Excel 抗体亲和色谱柱-----	37
---------------------------	----

双抗分析方案

Proteomix CV-1色谱柱(双抗分离专用柱) 41

BioMix SEC-300色谱柱(双抗错配专用柱) 42

双抗分析解决方案 43

电荷异质体分析制备方案

电荷异质体分析及制备解决方案

47

柱管、配件及解决方案

52

Generik FPLC层析柱	53
仪器配件耗材	55
生物药CMC中HPLC平台方法推荐	56

抗体纯化填料方案

MabPurix系列亲和层析填料

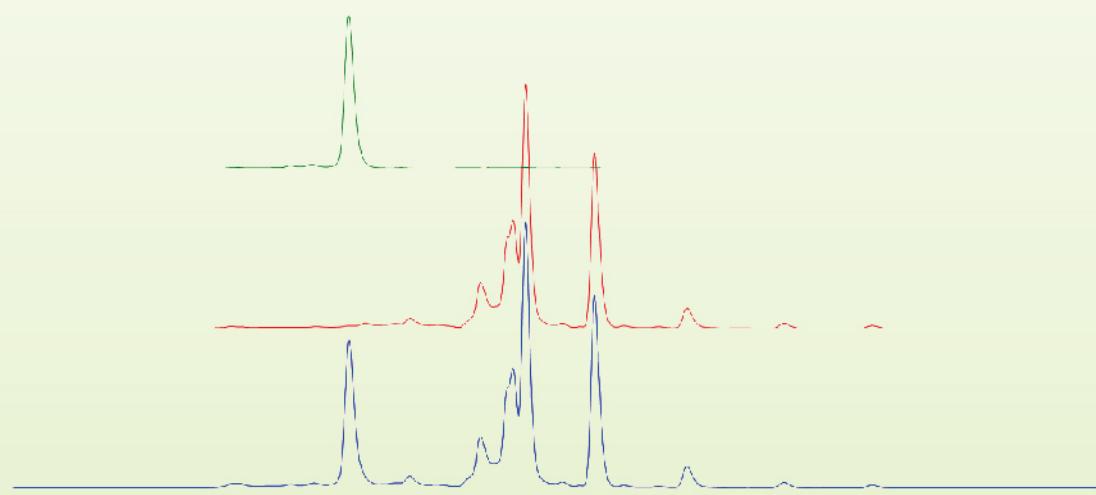
- MabPurix P45 系列聚合物基质亲和层析填料
- MabPurix A 45&A65 系列琼脂糖基质亲和层析填料

Monomix IEX离子交换填料

- Monomix IEX 离子交换填料

赛分科技疏水层析填料

- 赛分科技疏水层析填料



MabPurix P45

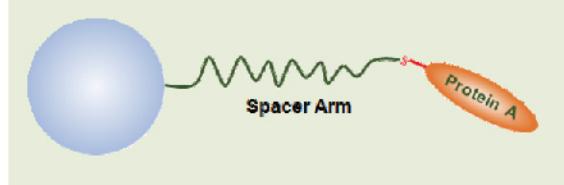
聚合物基质亲和层析填料

概述

MabPurix P45亲和填料以单分散多孔型聚甲基丙烯酸酯为基质，粒径为45 μm ，通过赛分科技的独特技术将聚合物基质与耐碱性重组Protein A配基键合，专门用于单克隆抗体和含有Fc片段的重组蛋白类生物大分子的分离纯化。填料表面经过专有技术的处理，具有更好的亲水性，最大程度地避免了与生物样品的非特异性吸附。

填料结构

图1. MabPurix 亲和填料结构示意图



填料特性

- 高载量
- 良好的耐碱性能 (0.5 M NaOH)
- Protein A脱落和HCP控制在很低水平
- 抗体的亲和结合速度快、效率高、更短的驻留时间
- 较低的反压
- 高亲水性，可忽略的非特异性吸附
- 供应能力:200 L/批次

技术参数

填料类型	MabPurix P45
基质	聚甲基丙烯酸酯
粒径	45 μm
配基	耐碱性重组Protein A
动态载量	50 mg hIgG/mL
操作压力	1 MPa
pH范围	1-13
耐碱性	0.5 M NaOH
CIP	0.5 M NaOH
保存方法	50% (V/V)，保存于20%乙醇或2%苯甲醇中，-2-8°C

1. 动态载量(DBC)测试条件：以2.0 mg/mL Human IgG in 20 mM Na-phosphate+150 mM NaCl, pH 7.4为样品，使用6.6 mm x 30 mm层析柱，流速为0.257 mL/min (4 min 驻留时间)，载量以10%流穿计。
2. 耐碱性测试条件：接触25 h, DBC > 80%。

图2. MabPurix P45微球电镜扫描图像

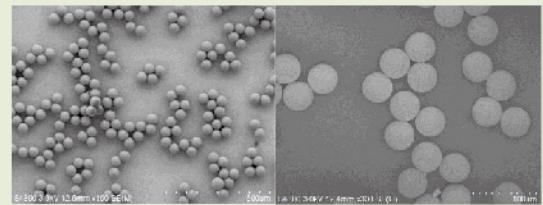


图3. MabPurix P45 基球的粒径分布



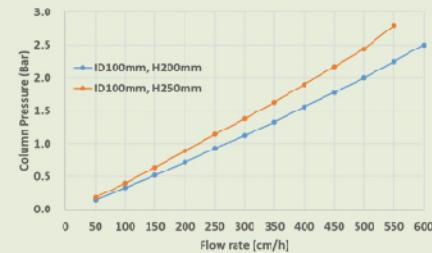
性能特点

(1) 均一的粒径分布：微球高度交联、表面光滑、高度球形。粒径与45 μm ，且分布较窄， $D_{90}/D_{10} \leq 1.3$ 。均一的粒径产生更稳定的柱床，节省填装色谱柱的时间。

(2) 更快的蛋白传质：在1.5-6 min驻留时间内，动态载量的变化小。实际使用中，在同样的柱子尺寸和填料体积下，可缩减生物样品下游纯化生产过程，提高生产效率。

(3) 更快的操作流速：相比于传统的琼脂糖基质，采用聚甲基丙烯酸酯基质可以提高填料的耐压性能，能够在更快的流速下实现样品纯化（或者可以装更长的柱子，可以批次处理更多的生物样品），节省宝贵时间，提高生产效率。对于不稳定的生物样品（要求快速分离纯化母液），在提高生产效率的同时可以提高产品的收率和质量控制。

图4. MabPurix P45压力相对流速曲线

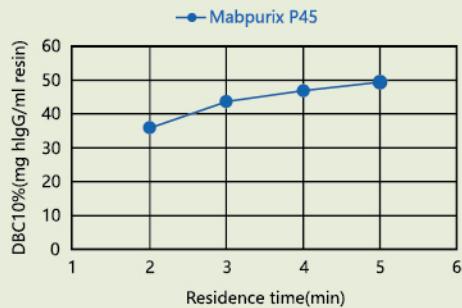


层析柱:100 mm x 200 mm

100 mm x 250 mm

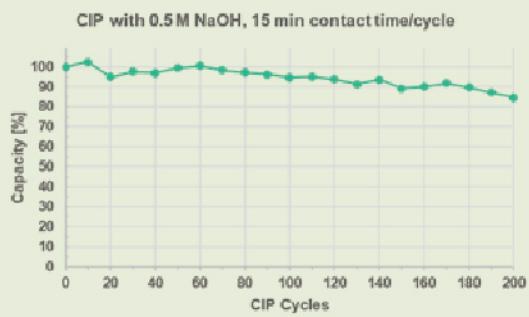
流动相:1 M NaCl

图5. MabPurix P45动态载量和驻留时间关系



层析柱: Generik 6.6 mm × 30 mm
 检测器: 280 nm
 样品: 20 mM Na-phosphate, 150 mM NaCl, pH 7.4 + 2 mg/mL Human IgG
 平衡缓冲液: 20 mM Na-phosphate, 150 mM NaCl, pH 7.4
 洗脱缓冲液: 100 mM Gly-HCl, pH 3.0
 流速: 0.513 mL/min (2 min), 0.342 mL/min (3 min), 0.257 mL/min (4 min), 0.205 mL/min (5 min)

图6. MabPurix P45耐0.5 M NaOH CIP性能



柱体积: 1.11 mL (6.6 × 32.5 mm)

R T: 20°C

每次CIP流程

1) 20 mM PB+150 mM NaCl, pH 7.4, 15 min

2) 0.5 M NaOH, 15 min

3) 20 mM PB+150 mM NaCl, pH 7.4, 15 min

4) 0.1 M Gly-HCl, pH 3.0, 15 min

5) 20 mM PB+150 mM NaCl, pH 7.4, 15 min

流速: 0.5 mL/min

在开始及每10次0.5 M NaOH CIP后测试

动态载量(以10%流穿计)

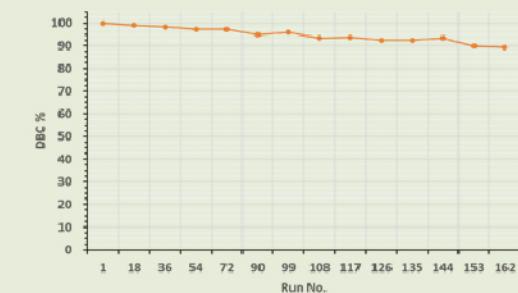
上样缓冲液: 2 mg/mL Human IgG in 20 mM PB + 150 mM NaCl, pH 7.4

流速: 0.278 mL/min (4分钟驻留时间)

平衡缓冲液: 20 mM PB+150 mM NaCl, pH 7.4

洗脱缓冲液: 0.1 M Gly-HCl, pH 3.0

图7. MabPurix P45单抗发酵液寿命实验



层析柱: Generik 6.6 × 200 mm

样品: 某单抗发酵液

CIP: 0.1 M NaOH 30 min (前90次每隔18次使用0.5 M NaOH, 90次后每隔9次使用0.5 M NaOH)

订购信息

产品名称	粒径 (μm)	订货号
MabPurix P45	45	270845990
*MabPurix P45-FC	45	271245990

*MabPurix P45-FC对Fc融合蛋白纯化更具有针对性，具体情况请咨询赛分科技
 预装柱规格为1、4.2 & 5mL，包装规格包含5 L以下及5 L、10L、50 L。

Mabpurix A45&A65

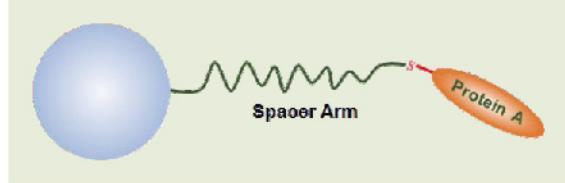
琼脂糖基质亲和层析填料

概述

MabPurix A45和MabPurix A65亲和填料以球形、窄分散，高交联度的琼脂糖凝胶为基质，通过赛分科技的独特技术将琼脂糖基质与耐碱性重组Protein A配基键合，专门用于单克隆抗体和含有Fc片段的重组蛋白类生物大分子的分离纯化。相比普通的琼脂糖凝胶，MabPurix A亲和填料的耐压性能更好。

填料结构

图1. MabPurix 亲和填料结构示意图



填料特性

- 高载量
- Protein A脱落和HCP控制在很低水平
- 抗体的亲和结合速度快、效率高、更短的驻留时间
- 良好的耐碱性能
- 良好的亲水性，优异的生物相容性
- 常规装柱条件下，体积变化小
- 较低的反压
- 供应能力：200L/批次

技术参数

填料类型	MabPurix A45	MabPurix A65
基质	高交联度琼脂糖微球	
粒径	45 μm	65 μm
配基	耐碱性重组Protein A	
键合方式	单点键合	
静态载量 ¹	70 mg IgG/mL	53 mg IgG/mL
动态载量 ² (5 min 驻留时间)	70 mg IgG/mL	53 mg IgG/mL
操作压力	$\leq 0.3 \text{ MPa}$ (3 bar)	
pH范围	3-12	
使用温度	10~30°C	
耐碱性 ³	浸泡于 0.5 M NaOH 25 h 后载量 大于初始载量的 70%	
CIP	0.5 M NaOH	
保存方法	50% (v/v)，保存于20%乙醇中，2-8°C	

1. 静态载量测试方法：以3 mg/mL Human IgG in 100 mM Na-phosphate, pH 7.4为样品，30 min结合时间。

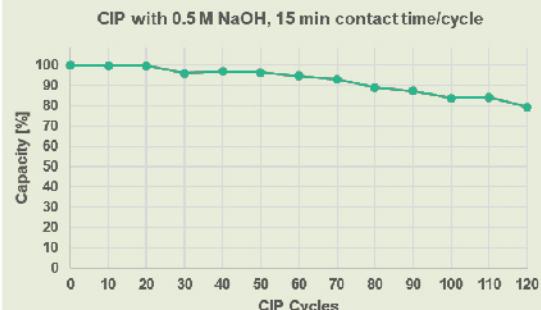
2. 动态载量测试方法：以2.0 mg/mL Human IgG in 20 mM Na-phosphate+150 mM NaCl, pH 7.4为样品，使用6.6 mm×30 mm层析柱，5 min 驻留时间，载量以10%流穿计。

3. Mabpurix A45的耐碱性测试见图2。

性能特点

- (1) 与其它市售琼脂糖亲和填料相比有更好的耐压性能。
- (2) 蛋白载量高。

图2. MabPurix A45亲和填料耐0.5 M NaOH CIP性能



填料: MabPurix A45

柱体积: 1.1118 mL (6.6×32.5 mm)

操作温度: 20 °C

上样缓冲液: 2 mg/mL hIgG溶于 20 mM PB + 150 mM NaCl, pH 7.4

流速: 0.278 mL/min (4 min停留时间)

结合缓冲液: 20 mM PB+150 mM NaCl, pH 7.4

洗脱缓冲液: 0.1 M 甘氨酸-HCl

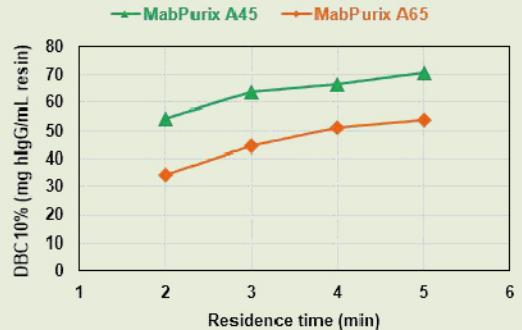
每个CIP循环

20 mM PB+150 mM NaCl, pH 7.4, 15 min
0.5 M NaOH, 15 min

20 mM PB+150 mM NaCl, pH 7.4, 15 min
0.1 M Gly-HCl, pH 3.0, 15 min

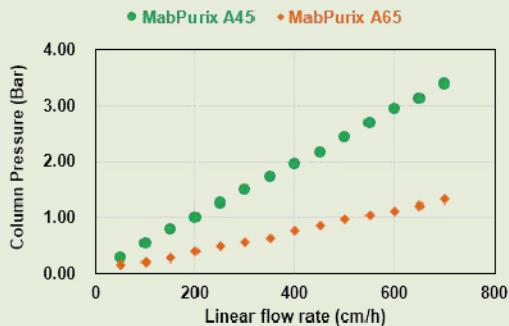
20 mM PB+150 mM NaCl, pH 7.4, 15 min
流速: 0.5 mL/min

图3. MabPurix A45和MabPurix A65亲和填料动态载量和驻留时间关系



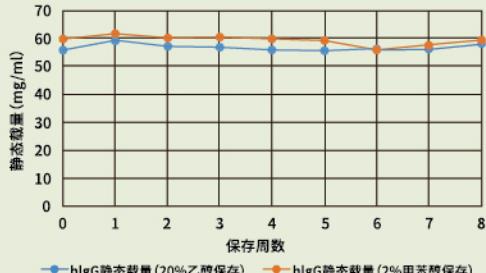
层析柱 : Generik 6.6 mm×30 mm
 检测波长 : UV 280 nm
 样品 : 20 mM Na-phosphate, 150 mM NaCl, pH7.4 + 2.0 mg/mL Human IgG
 平衡缓冲液 : 20 mM Na-phosphate, 150 mM NaCl, pH7.4
 洗脱缓冲液 : 100 mM Gly-HCl, pH3.0
 流速 : 0.513 mL/min (2 min), 0.342 mL/min (3 min), 0.257 mL/min (4 min), 0.205 mL/min (5 min)

图4. MabPurix A45和MabPurix A65亲和填料压力相对流速曲线



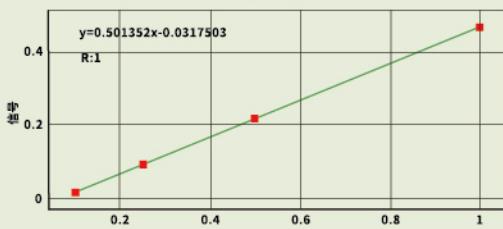
层析柱 : Generik 6.6 mm×200 mm
 流动相 : 20 mM Na-phosphate, 150 mM NaCl, pH7.4

图5 MabPurix A45温度稳定性数据



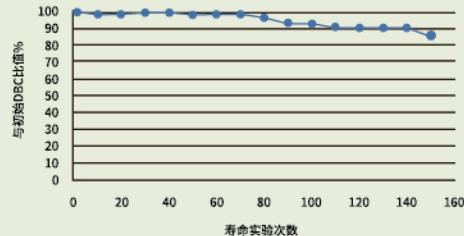
将MabPurix A45亲和填料分别保存在20%乙醇和2%苯甲醇中(50% v/v), 置于40°C保温箱保存, 每周测试一次静态载量, 评估填料的温度稳定性。如图5所示, MabPurix A45亲和填料在两种溶剂中可以在40°C条件下至少保存八周。

图6 MabPurix亲和填料内毒素控制



如图6所示, MabPurix A45 (Lot: S21052701) 的内毒素活性为0.51 EU/mL

图7 MabPurix A45寿命实验
寿命实验DBC



色谱柱: MabPurix A45 (6.6×50 mm, CV=1.71mL)

流速: 0.28 mL/min (6 min residence time)

检测器: UV 280 nm

柱温: RT

纯化步骤:

- ① 使用平衡液 buffer 1平衡, 3CV;
- ② 发酵液离心, 上清液上样, 上样10CV;
- ③ 使用平衡液 buffer 1, 4CV;
- ④ 使用淋洗液 buffer 2淋洗, 4CV;
- ⑤ 使用淋洗液 buffer 3淋洗, 2CV;
- ⑥ 使用洗脱液 buffer 4洗脱, 8CV;
- ⑦ 使用清洗液 buffer 5清洗, 3CV;
- ⑧ 使用平衡液 buffer 1平衡, 1CV;
- ⑨ 使用 0.1M NaOH 进行CIP, 3CV;
- ⑩ 使用buffer 1平衡2CV。

检测:

每10个循环检测一次, 分别检测浓度, 回收率, 纯度, HCP, Protein A脱落。

每10个循环做一次 DBC, DBC使用0.5M NaOH CIP。

订购信息

产品名称	粒径 (μm)	订货号
MabPurix A45	45	270745990
MabPurix A65	65	270765990

预装柱规格为1、4.2 & 5mL, 包装规格包含5 L以下及5 L、10L、50 L。

MabPurix 亲和填料应用测试

图1 MabPurix 耐0.5 M NaOH -泡碱数据

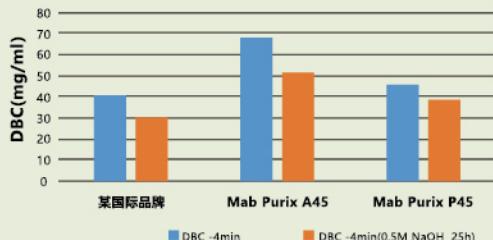
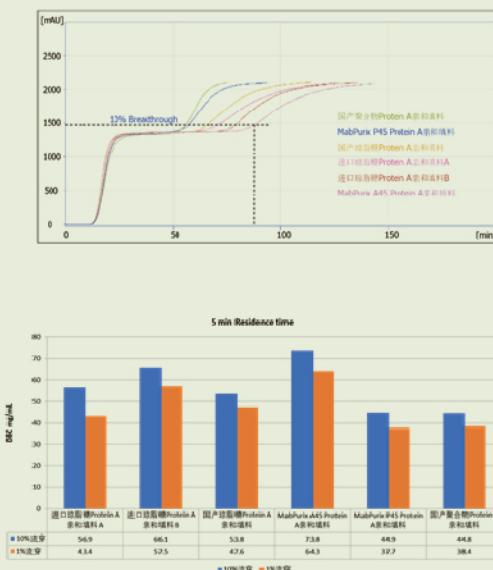
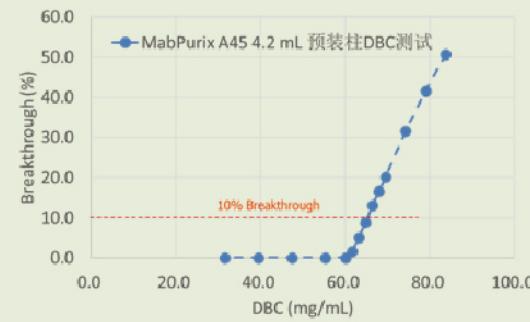
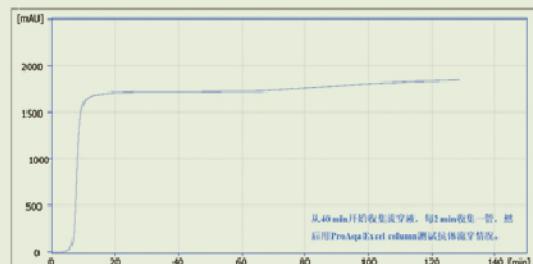


图2 MabPurix亲和填料载量测试 (方法一)



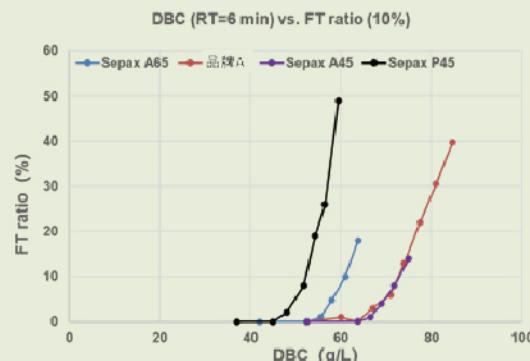
色谱柱 : Generik 6.6*30 mm
流动相 : 20 mM PB+150 mM NaCl, pH 7.4 ;
0.1M Gly-HCl, pH3.5
样品 : 某单抗发酵液, 4.60 mg/mL
保留时间: 5 min
检测器 : 280 nm

图3 MabPurix亲和填料载量测试 (方法二)



色谱柱 : MabPurix A45 4.2 mL 预装柱
流动相 : 20 mM PB+150 mM NaCl, pH 7.4;
0.1M Gly-HCl, pH3.5
样品 : 某单抗发酵液, 3.95 mg/mL
保留时间: 5 min
检测器 : 280 nm

图4 MabPurix亲和填料对比 (用户反馈数据)



Resin	DBC(g/L)	Capacity(g/L)
品牌A	70.7	60.1
Sepax A45	72.1	61.2
Sepax A65	61.0	51.8
Sepax P45	50.8	43.2

Sepax A45同国际知名品牌的DBC基本一致

图5 MabPurix亲和填料对比(用户反馈数据)

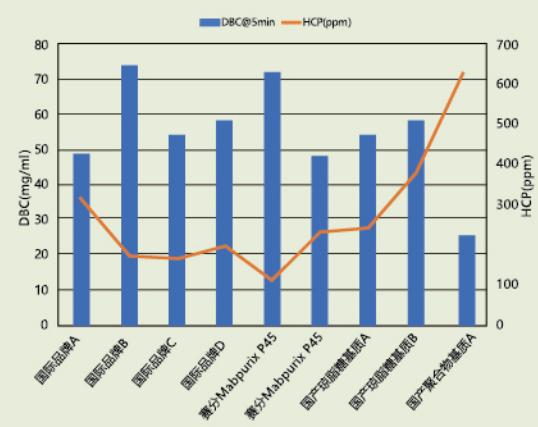
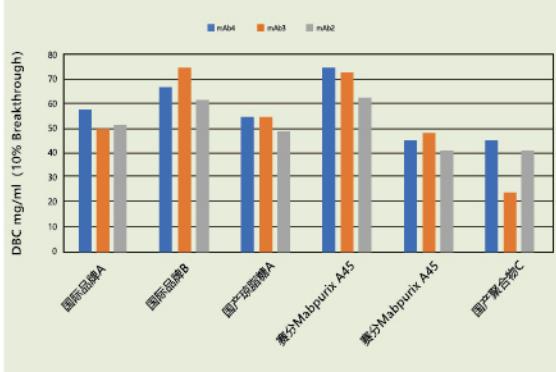


图6 MabPurix 亲和填料对比
(单抗2 & 单抗3 & 单抗4(DBC@5min))



Monomix MC/HC 离子交换填料

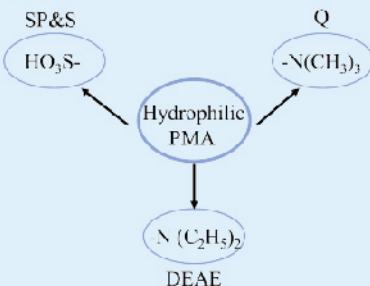
概述

Monomix MC/HC离子交换填料专为生物样品的分离纯化而设计。其以亲水性聚甲基丙烯酸酯为基质，粒径有15、30、45 & 60 μm 三种规格，粒径分布更均一。其中Monomix MC填料孔径500 \AA ，为中等载量离子填料。Monomix HC孔径1000 \AA ，为高载量离子填料，动态载量大于80 mg/ml。

Monomix MC/HC离子交换填料具有良好的物理化学稳定性，介质表面经赛分科技特殊处理，具有更好的亲水性，最大程度地避免了与生物类样品的非特异性吸附。并通过专有的表面修饰技术，在亲水性基质表面键合不同的离子交换官能团得到强阳离子交换 (SP&S)、强阴离子交换 (Q)、弱阴离子交换 (DEAE) 三种层析介质，并确保了表面离子交换层的高密度和均一性。Monomix MC/HC离子交换填料可广泛适用于抗体、疫苗、胰岛素、蛋白、核酸、肝素等生物样品的分离和纯化。

介质表面化学组成

图1. Monomix HC/MC-SP&S, Q和DEAE介质的表面化学组成示意图



介质特性

- 高结合载量和极好的生物相容性
- 刚性基质可耐受高压和高流速
- 高分辨率、高柱效和高回收率
- 高批间重现性
- 易于放大
- 高度亲水性表面，可忽略的非特异性吸附
- 常规装柱条件下，体积变化小
- 产品供应能力: 500 L/批次
- Monomix HC-S产品可高电导上样

图2. Monomix MC30(粒径30 μm)的电镜扫描图像。
高度均一分散的介质具有很窄的颗粒分布
(D90/D10<1.3)

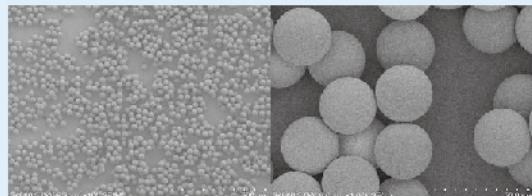
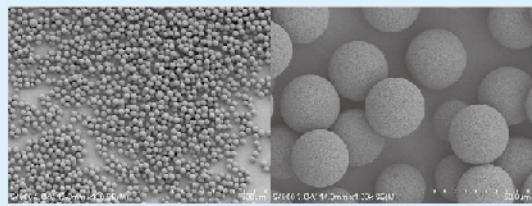


图3. Monomix HC30(粒径30 μm)的电镜扫描图像。



介质技术参数

表1. Monomix HC-IEX技术参数

填料类型	Monomix HC-Q				Monomix HC-DEAE				Monomix HC-SP			
基质	亲水性聚甲基丙烯酸酯											
官能团	-N ⁺ (CH ₃) ₃				-N(C ₂ H ₅) ₂				-SO ₃ H			
粒径大小(μm)	15		30		45		60		15		30	
孔径大小(\AA)	1000											
动态载量* (/mL填料)	\geq 95mg BSA	\geq 90mg BSA	\geq 80mg BSA	\geq 70mg BSA	\geq 95mg BSA	\geq 90mg BSA	\geq 80mg BSA	\geq 80mg BSA	\geq 110mg Lysozyme	\geq 90mg Lysozyme	\geq 85mg Lysozyme	\geq 80mg Lysozyme
最大线性流速	1000 cm/h											
操作温度	$\leq 40^\circ\text{C}$											
pH适用范围	2-12											
操作压力	1.5 $\mu\text{m} \leq 2 \text{ Mpa (20 bar)} ; 3.0 \mu\text{m 以上} \leq 1 \text{ Mpa (10 bar)}$											
流动相兼容性	适用于缓冲盐体系 (Tris、磷酸盐、醋酸盐缓冲液等)，常规有机相/水体系 (乙腈、乙醇等)											
长期保存方法	50% (v/v)，保存于20%乙醇中											
再生	1-2 M NaCl											
清洗	0.5 M HCl or 0.5-1.0 M NaOH，强疏水性结合的杂质可用0.1-1%的吐温或Triton X-100清洗											

表2. Monomix MC-IEX技术参数

填料类型	Monomix MC-Q		Monomix MC-DEAE		Monomix MC-SP	
基质	亲水性聚甲基丙烯酸酯					
官能团	$-N^+(CH_3)_3$		$-N(C_2H_5)_2$		$-SO_3H$	
粒径大小(μm)	15	30	15	30	15	30
孔径大小(Å)	500		500		500	
动态载量* (/mL填料)	≥ 50 mg BSA	≥ 40 mg BSA	≥ 50 mg BSA	≥ 40 mg BSA	≥ 60 mg Lysozyme	≥ 40 mg Lysozyme
最大线性流速	1000 cm/h					
操作温度	$\leq 40^\circ C$					
pH适用范围	2-12					
操作压力	$1.5 \mu m \leq 2 Mpa (20 bar)$; $3.0 \mu m$ 以上 $\leq 1 Mpa (10 bar)$					
流动相兼容性	适用于缓冲盐体系 (Tris、磷酸盐、醋酸盐缓冲液等)，常规有机相/水体系 (乙腈、乙醇等)					
长期保存方法	50% (v/v)，保存于20%乙醇中					
再生	1-2 M NaCl					
清洗	0.5 M HCl或0.5-1.0 M NaOH，强疏水性结合的杂质可用0.1-1%的吐温或Triton X-100清洗					

表3. Monomix HC-IEX二代产品技术参数

填料类型	Monomix HC45-S	Monomix HC60-Q-II	Monomix BR60-SP
基质	亲水性聚甲基丙烯酸酯		
官能团	$-SO_3H$	$-N^+(CH_3)_3$	$-SO_3H$
粒径大小(μm)	45	60	60
孔径大小(Å)	1000	1000	1000
动态载量* (/mL填料)	≥ 90 mg Lysozyme	≥ 80 mg BSA	≥ 80 mg Lysozyme
最大线性流速	1000 cm/h		
操作温度	$\leq 40^\circ C$		
pH适用范围	2-12		
操作压力	$\leq 1 Mpa (10 bar)$		
流动相兼容性	适用于缓冲盐体系 (Tris、磷酸盐、醋酸盐缓冲液等)，常规有机相/水体系 (乙腈、乙醇等)		
长期保存方法	50% (v/v)，保存于20%乙醇中		
再生	1-2 M NaCl		
清洗	0.5 M HCl或0.5-1.0 M NaOH，强疏水性结合的杂质可用0.1-1%的吐温或Triton X-100清洗		

* 动态载量 (Dynamic Binding Capacity) 测试方法：

Monomix HC/MC-Q : 线性流速为180 cm/h，上样液为含2 mg/mL牛血清蛋白的50 mM Tris缓冲液 (pH=8.5)。

Monomix HC/MC-DEAE : 线性流速为180 cm/h，上样液为含2 mg/mL牛血清蛋白的20 mM Tris缓冲液 (pH=8.0)。

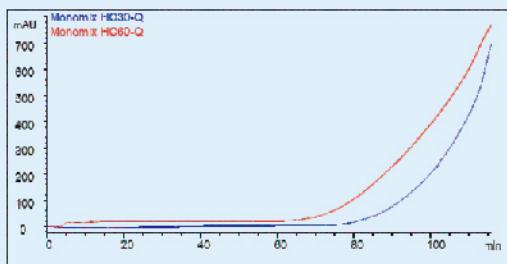
Monomix HC/MC-SP : 线性流速为360 cm/h，上样液为含1 mg/mL溶菌酶的50 mM磷酸盐缓冲液 (pH=6.0)。

高动态载量

Monomix IEX层析介质以聚甲基丙烯酸酯微球为基质，在低驻留时间条件下仍然具有很高的动态结合载量。在实际使用过程中，在同样的柱子尺寸和填料体积下，Monomix IEX可以缩减生物样品生产下游纯化的时间，提高生产效率；在同样的下游纯化的时间内，Monomix IEX可以装更长的柱子（填料体积大），可以批次处理更多的生物样品，从而提高生产效率。

图4. Monomix HC30/60-Q、DEAE和SP离子交换层析介质动态载量比较图

a) HC30/60-Q



填料 : Monomix HC-Q (30&60 μm , 1000 \AA)

柱尺寸 : 4.6 mm ID \times 50 mm (不锈钢)

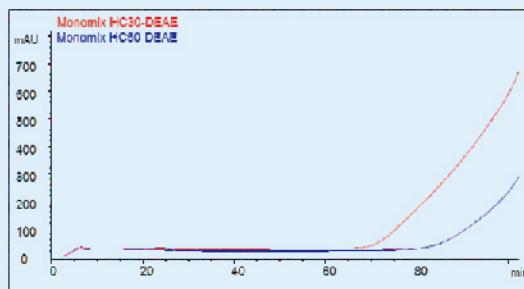
流动相 : 含2 mg/mL牛血清蛋白的50 mM Tris缓冲液 (pH8.5)

流速 : 0.5 mL/min (180 cm/h)

检测波长 : UV 280 nm

检测温度 : 室温

b) HC30/60-DEAE



填料 : Monomix HC-DEAE (30&60 μm , 1000 \AA)

柱尺寸 : 4.6 mm ID \times 50 mm (不锈钢)

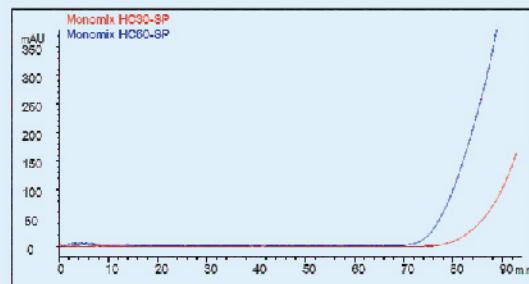
流动相 : 含2 mg/mL牛血清蛋白的20 mM Tris缓冲液 (pH8.0)

流速 : 0.5 mL/min (180 cm/h)

检测波长 : UV 280 nm

检测温度 : 室温

c) HC30/60-SP



填料 : Monomix HC30-SP & Monomix HC60-SP (30&60 μm , 1000 \AA)

柱尺寸 : 4.6 mm ID \times 50 mm (不锈钢)

流动相 : 含1 mg/mL溶菌酶的50 mM 磷酸盐缓冲液 (pH6.0)

流速 : 1.0 mL/min (360 cm/h)

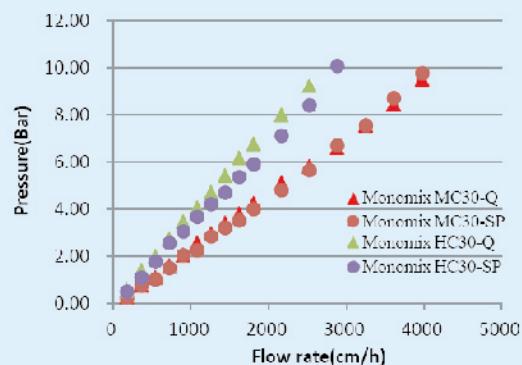
检测波长 : UV 280 nm

检测温度 : 室温

更快的操作流速

相比于传统的琼脂糖基质，采用聚甲基丙烯酸酯基质可以提高填料的耐压性能，能够在更快的流速下实现样品纯化，（或者可以装更长的柱子，可以批次处理更多的生物样品）节省宝贵的时间，提高生产效率。对于不稳定的生物样品（要求快速分离纯化母液），在提高生产效率的同时可以同时提高产品的收率和质量控制。

图5. Monomix IEX填料背压与流速的线性关系。由于表面结构的不同，在相同流速下，MC介质能显示更低的背压



柱尺寸 : 10 mm ID \times 150 mm (不锈钢)

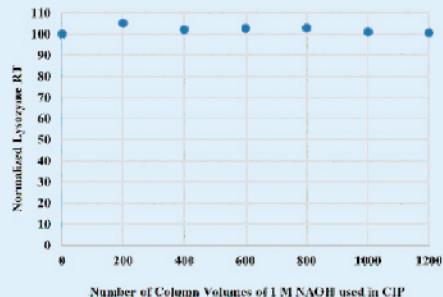
流动相 : Monomix HC/MC-Q : 50 mM Tris缓冲液 (pH8.0)

Monomix HC/MC-SP : 20 mM磷酸盐缓冲液 (pH7.0)

超高的耐碱性能

Monomix IEX 层析介质可在pH2-12之间正常使用, 对在线清洗的1.0 M NaOH也显示出良好的耐碱性。如图6所示, 以1200个柱体积的1.0 M NaOH进行在线清洗, 溶菌酶(Lysozyme)保留时间的变化可以忽略不计。

图6. Monomix IEX层析介质耐1.0 M NaOH CIP性能



填料: Monomix HC30-SP (30 μm , 1000 \AA)

柱尺寸: 4.6 mm ID \times 50 mm (不锈钢)

流动相: A: 20 mM磷酸盐缓冲液(pH 6.0)

B: A+1.0 M NaCl

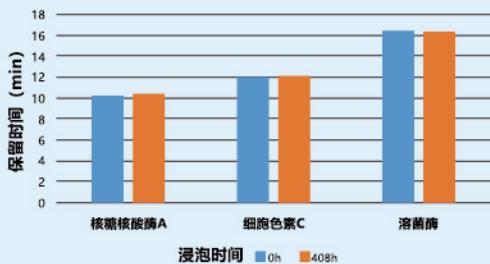
梯度: 0-75% B in 10 min

流速: 0.4 mL/min (144 cm/h)

样品: 1 mg/mL溶菌酶(Lysozyme)

在线清洗: 1.0 M NaOH

图7 Monomix HC60-SP 填料耐0.5 M NaOH QC性能



填 料: Monomix HC60-SP (60 μm , 1000 \AA)

柱尺寸: 4.6 \times 50 mm

流动相: A: 20 mM PB, pH 6.0;

B: A+1.0 M NaCl, pH 6.0

梯 度: 0-25 min, 0-75% B

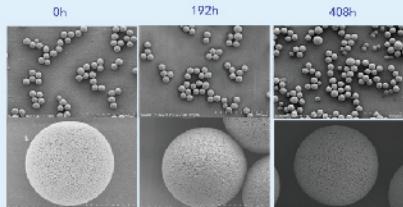
流 速: 1.0 mL/min

样 品: 核糖核酸酶 A&细胞色谱C&溶菌酶 (5 mg/mL)

进样量: 10 μL

如图7所示, 0.5 M NaOH碱泡408h后, QC保留时间RSD%在2.0%以内。

图8 Monomix HC60-SP 填料耐0.5 M NaOH性能

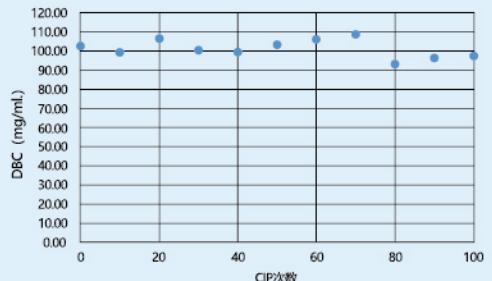


填料: Monomix HC60-SP (60 μm , 1000 \AA)

0.5 M NaOH碱泡408h后, 电镜观察到的

填料球形形状及孔结构完整。

图9 Monomix HC60-SP 填料耐1 M NaOH CIP性能 (DBC)



填 料: Monomix HC60-SP (60 μm , 1000 \AA)

柱尺寸: 4.6 \times 50 mm

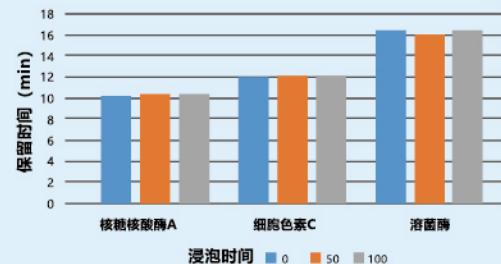
流动相: LYS (1 mg/mL) 溶解于 50 mM PB, pH 6.0

流 速: 1 mL/min

柱 温: 室温

1 M NaOH CIP100次DBC基本不变, 测试结果RSD%为3.3%。

图10 Monomix HC60-SP 填料耐1 M NaOH CIP性能 (QC)



填 料: Monomix HC60-SP (60 μm , 1000 \AA)

柱尺寸: 4.6 \times 50 mm

流动相: A: 20 mM PB, pH 6.0;

B: A+1.0 M NaCl, pH 6.0

梯 度: 0-25 min, 0-75% B

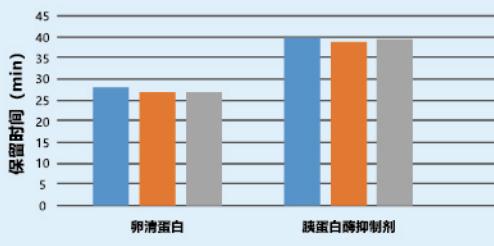
流 速: 1.0 mL/min

样 品: 核糖核酸酶 A&细胞色谱C&溶菌酶 (5 mg/mL)

进样量: 10 μL

1 M NaOH CIP100次后QC保留时间基本不变, RSD%在1.0%以内

图11 Monomix HC60-Q耐0.5 M NaOH CIP性能 (QC)



填 料: Monomix HC60-Q (60 μm , 1000 \AA)

柱尺寸: 4.6 \times 50 mm

流动相: A: 50 mM Tris, pH 8.5;

B: A+0.5 M NaCl, pH 8.5

梯 度: 0-60 min, 0-75% B

流 速: 1.0 mL/min

样 品: 卵清蛋白&胰蛋白酶抑制剂 (5 mg/mL)

进样量: 20 μL

0.5 M NaOH CIP100次后保留时间基本不变, 测试结果RSD%分别为1.6%和2.0%。

图12 Monomix HC60-Q耐0.5 M NaOH CIP性能 (DBC)

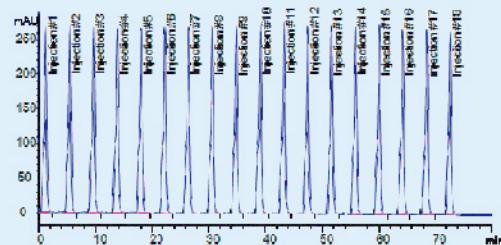


填料: Monomix HC60-Q (60 μm , 1000 \AA)
 柱尺寸: 4.6 \times 50 mm
 流动相: 50 mM Tris 中含 2 mg/mL BSA, pH 8.5
 流速: 0.50 mL/min
 柱温: 室温

可忽略的非特异性吸附

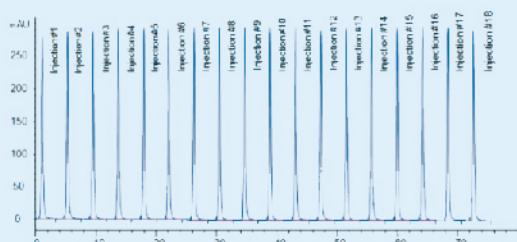
Monomix IEX 表面含有多个亲水结构域, 当用来进行生物分析时, 能使其非特异性吸附最小化。如图7和图8所示, 无论是Monomix HC30-Q还是SP都对样品(溶菌酶和牛血清蛋白)显示出最小的非特异性吸附。

图13. 在Monomix HC30-SP层析柱连续进样牛血清蛋白(BSA)样品18次



填料: Monomix HC30-SP (30 μm , 1000 \AA)
 柱尺寸: 4.6 mm ID \times 50 mm (不锈钢)
 流动相: 20 mM 磷酸盐缓冲液+0.3 M NaCl, pH 7.0
 流速: 0.5 mL/min (180 cm/h)
 样品: 1 mg/mL 牛血清蛋白(BSA)
 进样量: 5 μL

图14. 在Monomix HC30-Q层析柱连续进样溶菌酶(Lysozyme)样品18次

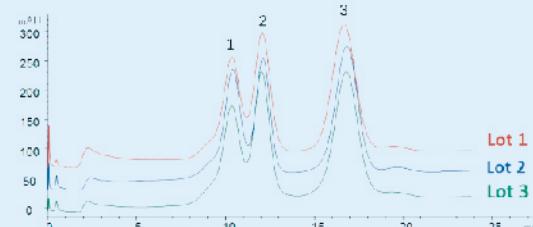


填料: Monomix HC30-Q (30 μm , 1000 \AA)
 柱尺寸: 4.6 mm ID \times 50 mm (不锈钢)
 流动相: 20 mM 磷酸盐缓冲液+0.3 M NaCl, pH 7.0
 流速: 0.5 mL/min (180 cm/h)
 样品: 0.5 mg/mL 溶菌酶(Lysozyme)
 进样量: 5 μL

高批间重现性

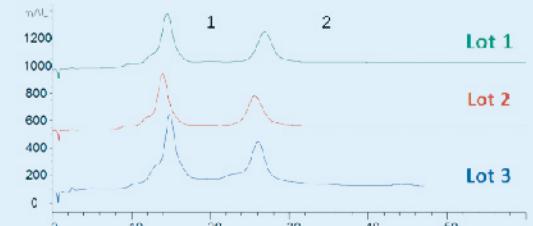
Monomix IEX 通过严格控制的程序进行生产, 因此具有较高的批间重现性。

图15. Monomix HC30-SP的批间重现性测试



填料: Monomix HC30-SP (30 μm , 1000 \AA)
 柱尺寸: 4.6 mm ID \times 50 mm (不锈钢)
 流动相: A: 20 mM 磷酸盐缓冲液(pH 6.0)
 B: A+1.0 M NaCl
 流速: 1.0 mL/min (360 cm/h)
 梯度: 0-75% B in 25 min
 样品: 1) 核糖核酸酶A;
 2) 细胞色素C;
 3) 溶菌酶 (1 mg/mL)
 进样量: 20 μL

图16. Monomix HC30-Q的批间重现性测试

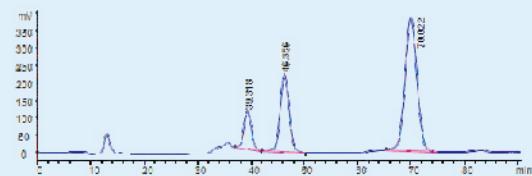


填料: Monomix HC30-Q (30 μm , 1000 \AA)
 柱尺寸: 4.6 mm ID \times 50 mm (不锈钢)
 流动相: A: 50 mM Tris缓冲液(pH 8.5)
 B: A+0.5 M NaCl
 流速: 1.0 mL/min (360 cm/h)
 梯度: 0-75% B in 25 min
 样品: 1) 卵清蛋白;
 2) 胰蛋白酶抑制剂 (1 mg/mL)
 进样量: 20 μL

易于放大生产

Monomix IEX层析介质具有易于放大的特性。如图11所示，在50x220 mm的柱上实现了三种蛋白质混合物的放大分离，同时具备高分离度和高效率（未显示分析柱的色谱图）。

图17. 从小规格分析柱到较大规格制备柱的放大生产



填料：Monomix HC30-SP (30 μm , 1000 \AA)

柱尺寸：50 mm ID \times 220 mm FPLC

流动相：A: 20 mM 磷酸盐缓冲液 (pH 6.0)

B: A+1.0 M NaCl

梯度：20%-100% B in 90 min

流速：20 mL/min (61 cm/h)

进样量：4 mL

样品：1) 核糖核酸酶A (5 mg)；

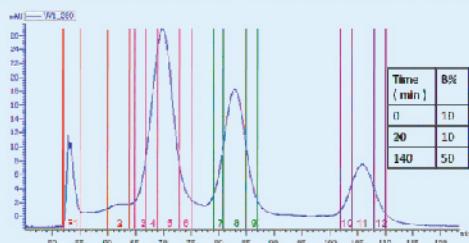
2) 细胞色素C (5 mg)；

3) 溶菌酶 (10 mg)

单克隆抗体纯化应用

1) Monomix HC15-SP

图18a. Monomix HC15-SP填料分离纯化单抗样品



填料：Monomix HC15-SP (30 μm , 1000 \AA)

柱尺寸：25 mm ID \times 250 mm FPLC

流动相：A: 10 mM 磷酸盐缓冲液 (pH 8.0)

B: A+100 mM NaCl (pH 8.0)

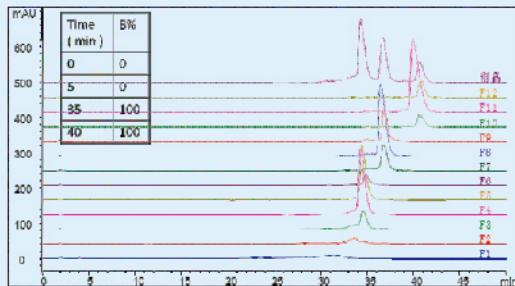
流速：12.0 mL/min

检测波长：UV 280 nm

样品：某单抗 (2.4 mg/mL)

进样量：0.2 mg mAb/mL resin

图18b. Monomix HC15-SP填料分离纯化单抗样品的效果



分析柱：Antibodix WCX-NP5 (5 μm , 4.6 \times 250 mm)

流动相：A: 20 mM 磷酸盐缓冲液 + 50 mM NaCl, pH 6.5

B: 20 mM 磷酸盐缓冲液 + 90 mM NaCl, pH 6.5

流速：0.8 mL/min

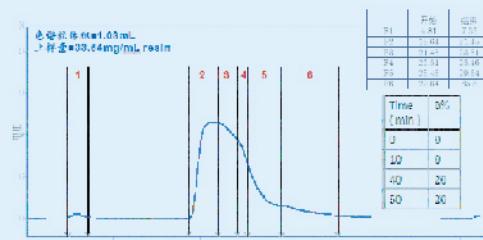
检测波长：UV 280 nm

样品：浓缩后的样品

进样量：100 μL

2) Monomix MC30-SP

图19a. Monomix MC30-SP填料分离纯化单抗样品



填料：Monomix MC30-SP (30 μm , 500 \AA)

柱尺寸：6.6 mm ID \times 30 mm FPLC

流动相：A: 50 mM 醋酸钠缓冲液 (pH 5.3)

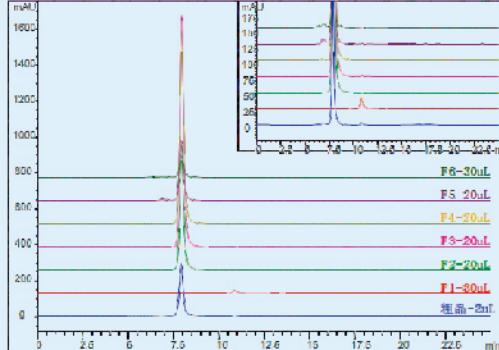
B: A+1.0 M NaCl (pH 5.3)

流速：1 mL/min

进样量：3 mL

样品：某单抗收集液 (11.55 mg/mL)

图19b. Monomix MC30-SP填料分离纯化单抗样品的效果



分析柱：Zenix SEC-300 (3 μm , 300 \AA , 4.6 \times 300 mm)

流动相：150 mM 磷酸盐 (pH 7.0)

流速：0.35 mL/min

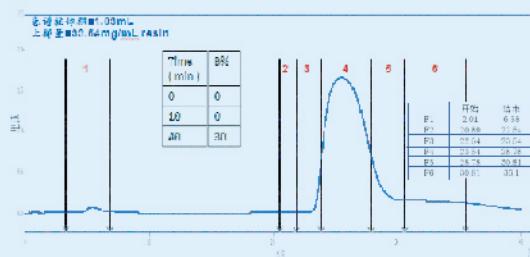
检测波长：UV 280 nm

样品：洗脱液

进样量：2 μL

3) Monomix HC30-SP

图20a. Monomix HC30-SP填料分离纯化单抗样品



填料 : Monomix HC30-SP (30 μ m, 1000 \AA)

柱尺寸 : 6.6 mm ID x 30 mm FPLC

流动相 : A: 50 mM 醋酸钠缓冲液 (pH 5.3)

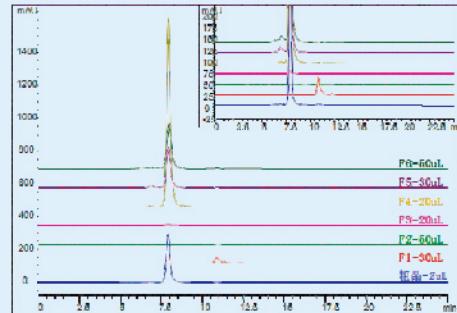
B: A+1.0 M NaCl (pH 5.3)

流速 : 1 mL/min

进样量 : 3 mL

样品 : 某单抗收集液 (11.55 mg/mL)

图20b. Monomix HC30-SP填料分离纯化单抗样品的效果



分析柱 : Zenix SEC-300 (3 μ m, 300 \AA , 4.6 x 300 mm)

流动相 : 150 mM 磷酸盐 (pH 7.0)

流速 : 0.35 mL/min

检测波长 : UV 280 nm

样品 : 洗脱液

进样量 : 2 μ L

订购信息

填料种类	产品名称	官能团种类	粒径/孔径	
Monomix HC15	Monomix HC15-Q	强阴离子交换	15 μ m, 1000 \AA	280815950
	Monomix HC15-DEAE	弱阴离子交换		280915950
	Monomix HC15-SP	强阳离子交换		280615950
Monomix MC15	Monomix MC15-Q	强阴离子交换	15 μ m, 500 \AA	280415500
	Monomix MC15-DEAE	弱阴离子交换		280515500
	Monomix MC15-SP	强阳离子交换		280215500
Monomix HC30	Monomix HC30-Q	强阴离子交换	30 μ m, 1000 \AA	280830950
	Monomix HC30-DEAE	弱阴离子交换		280930950
	Monomix HC30-SP	强阳离子交换		280630950
Monomix MC30	Monomix MC30-Q	强阴离子交换	30 μ m, 500 \AA	280430500
	Monomix MC30-DEAE	弱阴离子交换		280530500
	Monomix MC30-SP	强阳离子交换		280230500
Monomix HC45	Monomix HC45-Q	强阴离子交换	45 μ m, 1000 \AA	280845950
	Monomix HC45-DEAE	弱阴离子交换		280945950
	Monomix HC45-SP	强阳离子交换		280645950
	Monomix HC45-S	强阳离子交换		284545950
Monomix HC60	Monomix HC60-Q	强阴离子交换	60 μ m, 1000 \AA	280860950
	Monomix HC60-Q-II	强阴离子交换		283860950
	Monomix HC60-DEAE	弱阴离子交换		280960950
	Monomix HC60-SP	强阳离子交换		280660950
Monomix BR60	Monomix BR60-SP	强阳离子交换	60 μ m, 1000 \AA	284460950

*Monomix HC60-Q-II为Monomix HC60-Q二代产品, 具体应用条件请咨询赛分科技

预装柱规格为1、4.2 & 5mL, 包装规格包含5 L以下及5 L、10L、50 L。

赛分科技疏水层析填料

产品介绍

疏水层析 (HIC) 填料可应用于捕获、中度纯化、精细纯化等蛋白纯化的各个阶段。赛分科技可提供三种类型的HIC产品: Monomix MC-HIC、Generik MC-HIC和Polar MC-HIC。这三种填料的基质均为聚甲基丙烯酸酯, Generik MC-HIC比Polar MC-HIC疏水性更强, 而Monomix MC-HIC相比其他两种填料孔径更大, 更适用于分子量较大的蛋白。

三种HIC填料粒径为30和60 μm , 其中Monomix MC-HIC粒径更均一。Generik MC-HIC及Polar MC-HIC填料为多分散型, 孔径为800 \AA , Monomix MC-HIC填料为单分散型, 孔径为1000 \AA 。

三种HIC填料都具有良好的物理化学稳定性, 表面经赛分科技特殊处理, 具有更好的亲水性, 最大程度地避免了与生物类样品的非特异性吸附。

填料结构

赛分科技Monomix MC-HIC和Polar MC-HIC填料表面覆盖了一层亲水性的纳米涂层, 再通过化学修饰键合上不同官能团, 如Butyl (丁基)、Ether (乙醚基) 和芳香基 (如苯基), 如图1。不同的基团提供不同的疏水性能, 疏水性由弱至强为-Ether、-Butyl、Phenyl。

Generik MC-HIC 为直接在具有疏水官能团的基球表面通过化学修饰键合上不同官能团, 如Butyl (丁基)、Ether (乙醚基) 和芳香基 (如苯基), 所以其疏水作用最强。

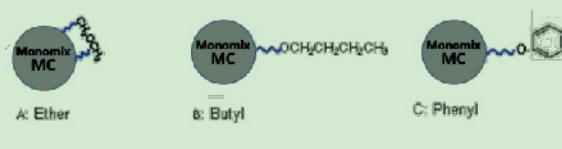
技术参数

表1. Monomix MC-HIC技术参数

填料类型	Monomix MC-HIC Ether	Monomix MC-HIC Butyl	Monomix MC-HIC Phenyl
基质	亲水性聚甲基丙烯酸酯		
粒径大小	30 μm	30 μm	30 μm
孔径大小	1000 \AA		
动态载量* (mg/mL填料)	>20	>40	>45
pH适用范围	2-13		
最高操作温度	40°C		
最大操作压力	1 MPa (10 bar)		
流动相兼容性	一般水溶液兼容, 也可兼容于水和乙腈、丙酮或甲醇的混合液。 常用缓冲液体系: Tris、磷酸盐、醋酸盐缓冲液等		
最大线性流速	1800 cm/h		
保存	50%(v/v)匀浆保存于20%乙醇中		

*DBC测试方法: 1 mg/mL溶菌酶溶于25 mM磷酸盐缓冲液(pH 7) + 2 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 线性流速360 cm/h, 检测波长280 nm, 载量以10%流穿计。

图1. Monomix MC-HIC的 Ether (A), Butyl (B) and Phenyl (C)结构



填料特性

高的机械稳定性保证了填料的耐压性能, 在工业纯化工艺开发中可以满足高流速和减少操作时间的要求。高的化学稳定性保证填料能耐受pH 14的清洗操作。这些优异的填料性能使其满足从实验室工艺开发、工艺放大到完成生产等各阶段的分离纯化需求。

表2. Generik MC-HIC技术参数

填料类型	Generik MC-HIC Ether		Generik MC-HIC Butyl		Generik MC-HIC Phenyl	
基质	亲水性聚甲基丙烯酸酯					
粒径大小	30 μm	60 μm	30 μm	60 μm	30 μm	60 μm
孔径大小	800 \AA					
动态载量* (mg/mL填料)	>15	>13	>40	>30	>45	>40
pH适用范围	2-13					
最高操作温度	40°C					
最大操作压力	3 MPa (30 bar)					
流动相兼容性	一般水溶液兼容，也可兼容于水和乙腈、丙酮或甲醇的混合液。 常用缓冲液体系：Tris、磷酸盐、醋酸盐缓冲液等					
最大线性流速	1800 cm/h					
保存	50%(v/v)匀浆保存于20%乙醇中					

*DBC测试方法：1 mg/mL溶菌酶溶于25 mM磷酸盐缓冲液(pH 7) + 2 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ，线性流速360 cm/h，检测波长280 nm，载量以10%流穿计。

表3. Polar MC-HIC技术参数

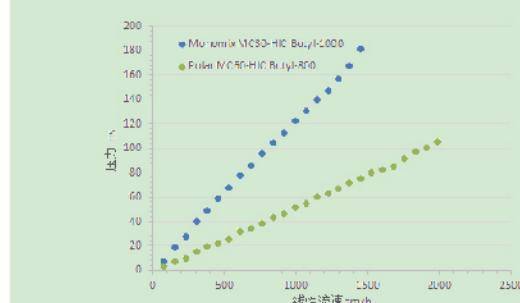
填料类型	Polar MC-HIC Ether		Polar MC-HIC Butyl		Polar MC-HIC Phenyl	
基质	亲水性聚甲基丙烯酸酯					
粒径大小	60 μm		60 μm		60 μm	
孔径大小	800 \AA					
动态载量* (mg/mL填料)	>13		>25		>40	
pH适用范围	2-13					
最高操作温度	40°C					
最大操作压力	3 MPa (30 bar)					
流动相兼容性	一般水溶液兼容，也可兼容于水和乙腈、丙酮或甲醇的混合液。 常用缓冲液体系：Tris、磷酸盐、醋酸盐缓冲液等					
最大线性流速	1800 cm/h					
保存	50%(v/v)匀浆保存于20%乙醇中					

* DBC测试方法：1 mg/mL溶菌酶溶于25 mM磷酸盐缓冲液(pH 7) + 2 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ，线性流速360 cm/h，检测波长280 nm，载量以10%流穿计。

更快的操作流速

相比于传统的琼脂糖基质，采用聚甲基丙烯酸酯基质可以提高填料的耐压性能，能够在更快的流速下实现样品纯化（或者可以装更长的柱子，可以批次处理更多的生物样品），节省宝贵时间，提高生产效率。对于不稳定的生物样品（要求快速分离纯化母液），在提高生产效率的同时可以提高产品的收率和质量控制。

图2. 两种HIC填料压力相对流速曲线

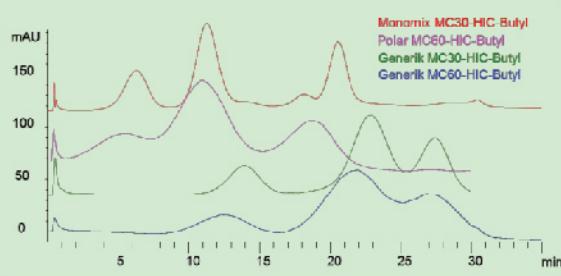


层析柱：10.0 mm×200 mm

流动相：25 mM Na-phosphate, pH 7.0

不同HIC填料的选择性比较

图3. 不同HIC填料的分析性能比较



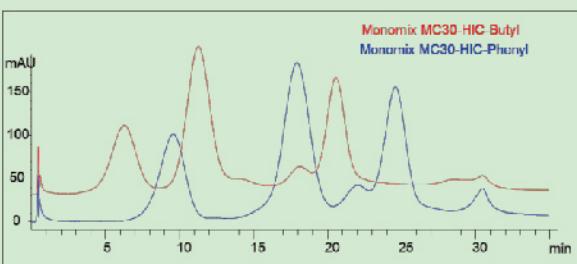
流动相: A: 25 mM Na-Phosphate + 2 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, pH 7.0
 B: 25 mM Na-Phosphate pH 7.0
 梯度: 0-30 min 0-100% B, 30-45 min 100% B
 流速: 1.5 mL/min 检测波长: UV 214 nm
 柱温: 25°C 进样量: 20 L
 样品: 核糖核酸酶A、溶菌酶、胰凝乳蛋白酶原(2 mg/mL)

层析柱: 6.6 mm×30 mm FPLC

样品: 11 mL某单抗洗脱混合液, 2.59 mg/mL
 流动相: A: 1 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0.1 M NaH_2PO_4 (pH 7.0),
 B: 0.1 M NaH_2PO_4 (pH 7.0)
 流速: 1 mL/min 检测波长: UV 280 nm

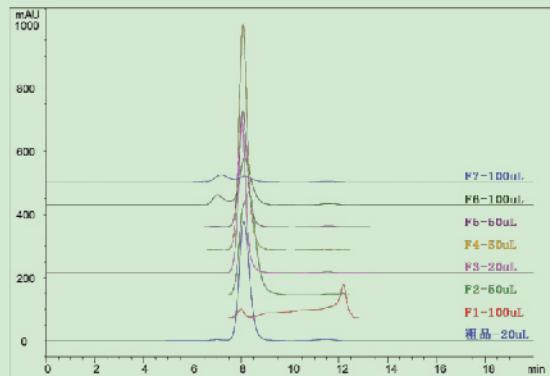
不同官能团的选择性比较

图4. Monomix MC-HIC不同官能团填料的分析性能比较



流动相: A: 25 mM Na-Phosphate + 2 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, pH 7.0,
 B: 25 mM Na-Phosphate pH 7.0
 梯度: 0-30 min 0-100% B, 30-45 min 100% B
 流速: 1.5 mL/min 检测波长: UV 214 nm
 柱温: 25°C 进样量: 20 L
 样品: 核糖核酸酶A、溶菌酶、胰凝乳蛋白酶原(2 mg/mL)

图5b. Monomix MC30-HIC Butyl填料纯化单抗样品效果



色谱柱: Zenix SEC-300 (4.6×300 mm)
 流动相: 150 mM Na-phosphate, pH 7.0
 流速: 0.35 mL/min
 进样体积: 20 L
 检测波长: UV 280 nm

单克隆抗体纯化应用

1) Monomix MC30-HIC Butyl

图5a. Monomix MC30-HIC Butyl填料纯化单抗样品

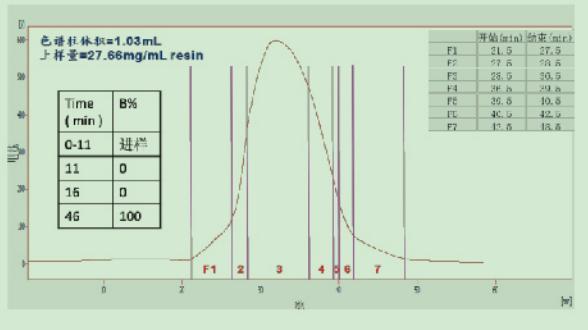
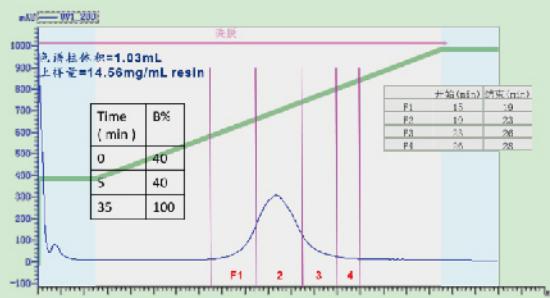
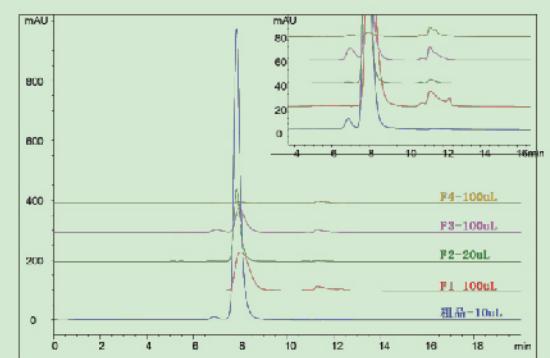


图5c. Monomix MC30-HIC Butyl填料纯化IgG4样品



层析柱: 6.6 mm×30 mm FPLC
 样品: 200 L某IgG4原液, 75 mg/mL
 流动相: A: 2 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0.1 M NaH_2PO_4 (pH 7.0),
 B: 0.1 M NaH_2PO_4 (pH 7.0)
 流速: 1 mL/min
 检测波长: UV 280 nm

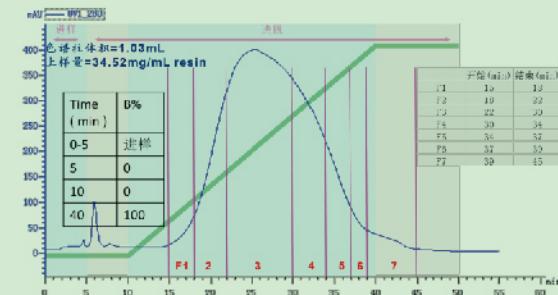
图5d. Monomix MC30-HIC Butyl填料纯化IgG4样品效果



色谱柱: Zenix SEC-300 (4.6×300 mm)
 流动相: 150 mM Na-phosphate, pH 7.0
 流速: 0.35 mL/min
 进样体积: 20 L
 检测波长: UV 280 nm

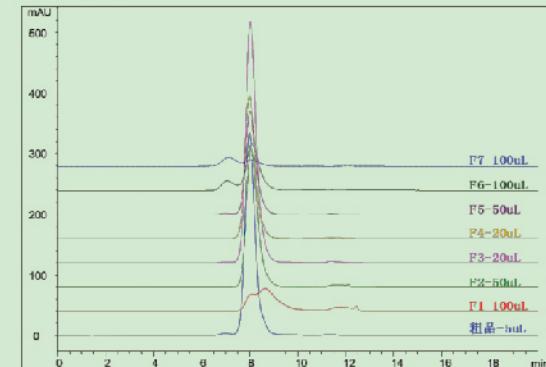
2) Monomix MC30-HIC Phenyl

图6a. Monomix MC30-HIC Phenyl填料纯化单抗样品



层析柱: 6.6 mm×30 mm FPLC
 样品: 4 mL某单抗洗脱混合液, 8.89 mg/mL
 流动相: A: 1 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0.1 M NaH_2PO_4 (pH 7.0),
 B: 0.1 M NaH_2PO_4 (pH 7.0)
 流速: 1 mL/min
 检测波长: UV 280 nm

图6b. Monomix MC30-HIC Phenyl填料纯化单抗样品效果



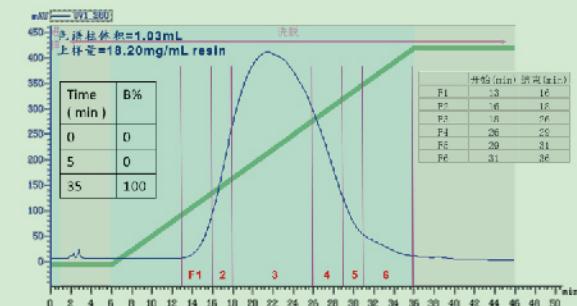
色谱柱: Zenix SEC-300 (4.6×300 mm)
 流动相: 150 mM Na-phosphate, pH 7.0
 流速: 0.35 mL/min
 进样体积: 20 L
 检测波长: UV 280 nm

订货信息

产品名称	粒径/孔径	订货号	产品名称	粒径/孔径	订货号
Monomix MC30-HIC Ether	30 μm,1000 Å	281730950	Generik MC30-HIC Ether	30 μm,800 Å	281730950
Monomix MC30-HIC Butyl		281630950	Generik MC30-HIC Butyl		281630950
Monomix MC30-HIC Phenyl		281930950	Generik MC30-HIC Phenyl		281930950
Polar MC60-HIC Ether	60 μm,800 Å	191160800	Generik MC60-HIC Ether	60 μm,800 Å	191160800
Polar MC60-HIC Butyl		191060800	Generik MC60-HIC Butyl		191060800
Polar MC60-HIC Phenyl		191360800	Generik MC60-HIC Phenyl		191360800

预装柱规格为1、4.2 & 5mL, 包装规格包含5 L以下及5 L、10L、50 L。

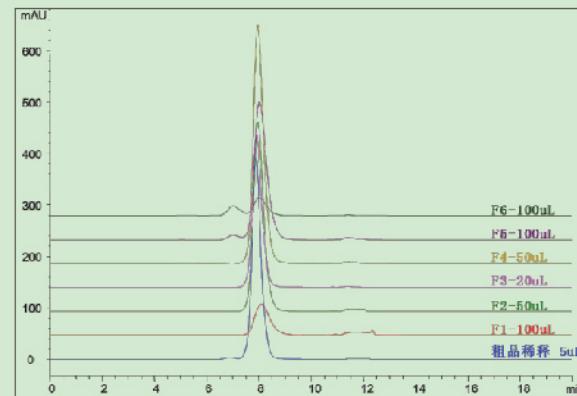
图6c. Monomix MC30-HIC Phenyl填料纯化IgG4样品



层析柱: 6.6 mm×30 mm FPLC

样品: 200 L某IgG4原液, 75 mg/mL
 流动相: A: 2 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0.1 M NaH_2PO_4 (pH 7.0),
 B: 0.1 M NaH_2PO_4 (pH 7.0)
 流速: 1 mL/min
 检测波长: UV 280 nm

图6d. Monomix MC30-HIC Phenyl填料纯化IgG4样品效果



色谱柱: Zenix SEC-300 (4.6×300 mm)

流动相: 150 mM Na-phosphate, pH 7.0

流速: 0.35 mL/min

进样体积: 20 L

检测波长: UV 280 nm

抗体分析色谱方案

体积排阻色谱柱

- 抗体SEC分析推荐方案
- Zenix体积排阻色谱柱
- Zenix-C体积排阻色谱柱

离子交换色谱柱

- Proteomix离子交换色谱柱
- Antibodix离子交换色谱柱(抗体分离专用柱)

疏水作用色谱柱

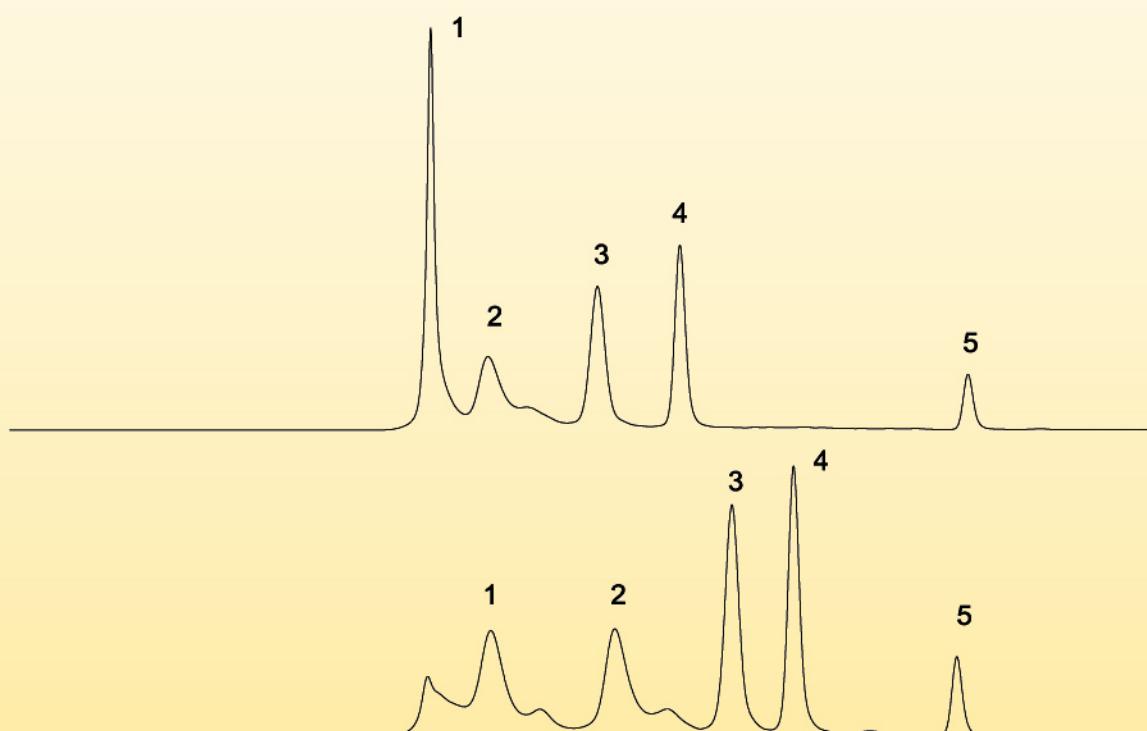
- Proteomix HIC疏水作用色谱柱

疏水反相色谱柱

- Proteomix RP疏水反相色谱柱

亲和色谱柱

- ProAqa Excel抗体亲和色谱柱



抗体SEC分析推荐方案

概述

SRT、Zenix、SRT-C和Zenix-C系列体积排阻色谱柱均采用经特殊表面修饰的高纯硅胶作为填料，其修饰方式为在硅胶表面化学键合一层均一、亲水、纳米厚度的中性聚合物薄膜。SRT、Zenix和SRT-C、Zenix-C键合方式的不同之处在于：前两者固定相表面键合的是一层“站立”着的单分子层，而后两者则是一层“平躺”着的单分子层。Zenix和Zenix-C为3 μm 粒径，SRT和SRT-C为5 μm 粒径，SRT-10为10 μm 粒径。

图1. 固定相修饰的差异

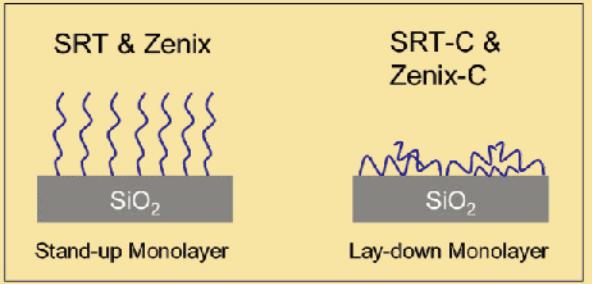


图2. 粒径的差异

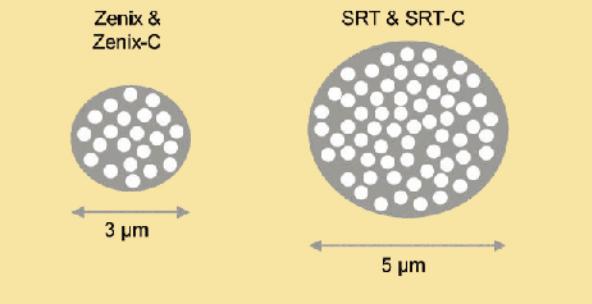


表1. Sepax SEC色谱柱的主要特点

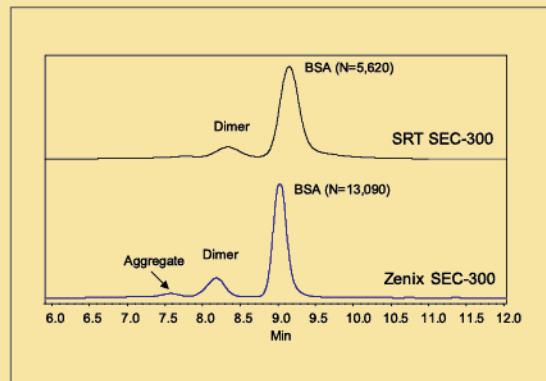
特性	SRT	SRT-10	Zenix	SRT-C	Zenix-C
粒径	5 μm	10 μm	3 μm	5 μm	3 μm
孔径 (\AA)	100,150,300, 500,1000&2000	150,300,500	80,100,150,300	100,150,300,500, 1000 &2000	80,100,150,300
分辨率	高	更高，更短的柱子 得到更快的分离	高	更高，更短的柱子得到 更快的分离	
效率	高	为5 μm 柱的两倍	高	为5 μm 柱的两倍	
表面结构	化学键合一层“站立”的单分子层		化学键合一层“平躺”的单分子层		
典型应用领域	单克隆抗体、蛋白、多肽、核酸、寡核苷酸、病毒 和水溶性聚合物等		“棘手的样品”：包括胰岛素、膜蛋白等疏水性蛋白， 聚合物（如PEG肽链等）修饰的单克隆抗体蛋白		

Zenix和Zenix-C的独特优点

赛分科技的五款体积排阻柱相互配合，可满足客户对分辨率及柱效的不同要求。赛分科技完整的产品线为生物分子体积排阻分离提供了稳定、重现和高分辨率的选择。

相比之下，Zenix和Zenix-C色谱柱采用3 μm 粒径的填料，能为抗体的分离提供更高的柱效。

图3. 孔径为300 \AA 的SRT SEC柱与Zenix SEC柱对BSA分离效果的对比。



色谱柱：7.8 \times 300 mm

流动相：150 mM 磷酸盐缓冲液，pH 7.0

流速：1.0 mL/min

检测波长：UV 214 nm

进样量：10 μL (5.0 mg/mL)

对于抗体样品（单抗、双抗、多抗等），赛分科技推荐Zenix SEC-300和Zenix-C SEC-300两款体积排阻色谱柱，可以完美解决抗体样品分析和质量检测的需求。

Zenix体积排阻色谱柱

概述

Zenix体积排阻色谱柱采用单分散、球形、表面键合了一层纳米厚度中性亲水性薄膜的3 μm硅胶作为填料。赛分科技独有的表面键合技术保证了填料表面键合的最大化，使其具有高的化学稳定性和极低的非特异性吸附。Zenix系列体积排阻色谱柱有80、100、150及300 Å四种孔径选择，广泛应用于生物分子及水溶性聚合物的分离与分析。其中Zenix SEC-300广泛应用于抗体分析和质量检测。

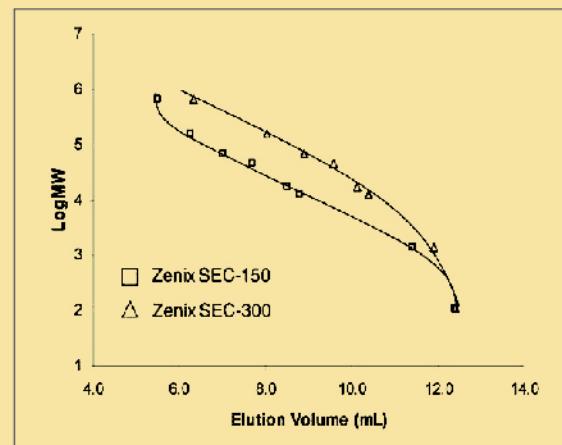
优异的特性

- 采用3 μm粒径填料
- 高柱效及分辨率
- 稳定的批间重现性
- 高的蛋白回收率，且蛋白不易失活
- 极低的非特异性吸附
- 适用于常规生物样品的分离与制备，包括：蛋白、核酸、寡核苷酸、多肽和病毒等。
- 适用于抗体样品分析和检测。

表1. Zenix SEC 色谱柱技术参数表

固定相	Zenix SEC-80	Zenix SEC-150	Zenix SEC-300
材料	表面键合亲水薄膜的硅胶		
颗粒大小	3 μm		
孔径	~80 Å	~150 Å	~300 Å
蛋白分子量范围	100-50,000	500-150,000	5,000-1,250,000
水溶性聚合物分子量范围	500-5,000	500-25,000	1,000-100,000
pH稳定性	2-8.5, 短时间内可耐受8.5-9.5		
反压对于7.8x300 mm柱	~1,500 psi	~1,500 psi	~1,500 psi
最大压力	~4,500 psi	~4,500 psi	~3,500 psi
盐浓度范围	20 mM-2.0 M		
最高使用温度	~80°C		
流动相兼容性	常规水相及有机相溶剂		

图1. Zenix SEC的蛋白分子量校正曲线



色谱柱: Zenix SEC (3 μm, 7.8×300 mm)

流动相: 150 mM Phosphate buffer, pH 7.0

流速: 1.0 mL/min

检测波长: UV 214 nm

进样量: 10 μL

样品: 1. 甲状腺球蛋白, 670 kD 2. γ-球蛋白, 158 kD

3. 牛血清白蛋白, 66 kD 4. 卵清蛋白, 44 kD

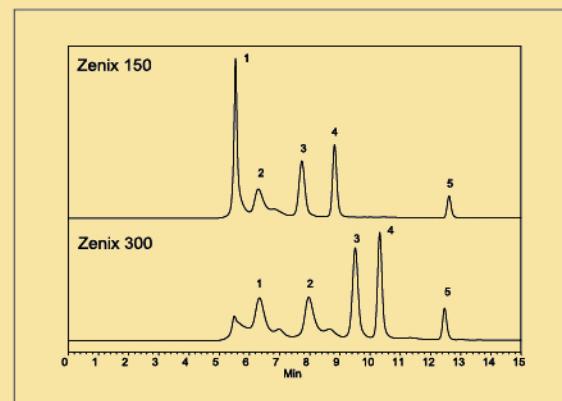
5. 肌红蛋白, 17.6 kD

6. 核糖核酸酶A, 13.7 kD

7. 维生素B12, 1.35 kD 8. 尿嘧啶, 120 D

高分辨率

图2. Zenix SEC-150和Zenix SEC-300分离标准蛋白



色谱柱: Zenix SEC (3 μm, 7.8×300 mm)

流动相: 150 mM phosphate buffer, pH 7.0

流速: 1.0 mL/min

反压: Zenix SEC-300为1,375 psi;

Zenix SEC-150为1,100 psi

柱温: 室温 (~23°C)

检测波长: UV 214 nm

进样量: 10 μL

样品: 1) 甲状腺球蛋白, 670 kD; 2) γ-球蛋白, 158 kD;

3) 卵清蛋白, 44 kD;

4) 核糖核酸酶A, 13.7 kD;

5) p-氨基苯甲酸, 137 D

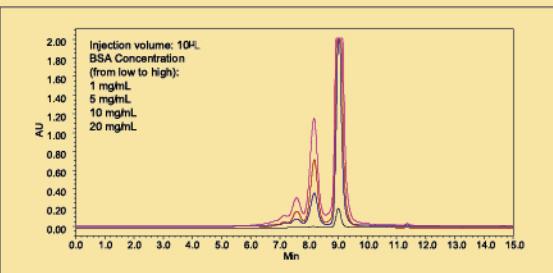
表2. Zenix SEC-150和Zenix SEC-300分辨率 (内径为7.8 mm)

峰	蛋白	Zenix 150	Zenix 300
1	甲状腺球蛋白	12850	1450
2	γ -球蛋白	2860	3650
3	卵清蛋白	6780	11760
4	核糖核酸酶A	17730	21690
5	p-氨基苯甲酸	41900	39400

高载样量

载样量是衡量体积排阻色谱柱性能的重要指标之一, 下图表明Zenix系列分析色谱柱在BSA上样量高达500 μ g的情况下, 仍保持着完美的分析峰形。

图2. Zenix SEC-300色谱柱对BSA载样量的测试图谱



色谱柱: Zenix SEC-300 (3 μ m, 7.8 \times 300 mm)
流动相: 150 mM phosphate buffer, pH 7.0
流速: 1.0 mL/min
进样量: 10 μ L
检测波长: UV 214 nm

高稳定性

赛分科技独有的表面修饰技术使得硅胶表面的键合密度达到最大化, 从而阻止了能够促进键合相脱落的溶剂分子向薄膜内侧的扩散, 保证了其在pH 2-8.5范围的稳定使用。Zenix体积排阻柱适用于大多数水性及有机溶剂, 包括: 醋酸、磷酸、Tris缓冲盐体系、甲醇、乙醇、THF、DMF、DMSO等, 同时可耐受高盐溶液, 如2.0 M的NaCl。

流动相的兼容性

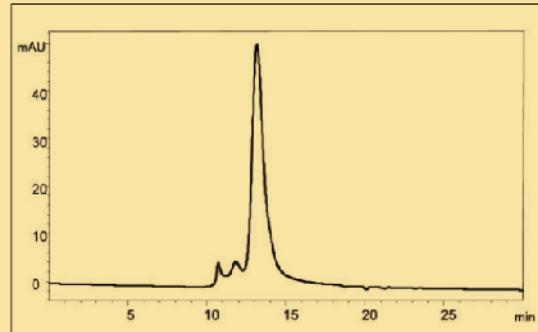
Zenix SEC固定相能与大多数水相缓冲液兼容, 如醋酸铵、磷酸盐、Tris等。Zenix SEC固定相能够承受高浓度盐, 如2.0 M。同时Zenix SEC柱在有机溶剂中, 如甲醇、乙醇、四氢呋喃、2, 5-二甲基呋喃、二甲基亚砜等, 水和有机溶剂混合相中均能保持稳定。

高的蛋白回收率

Zenix SEC固定相为亲水性和中性纳米厚度薄膜键合硅胶, 蛋白和其他生物分子与固定相之间的非特异性吸附可忽略。可抑制蛋白吸附到硅胶固定相表面的作用, 从而能够实现蛋白高的回收率, 在分离后能够保持蛋白的活性。酸性和碱性蛋白的代表BSA和溶菌酶的回收率能够高于95%。

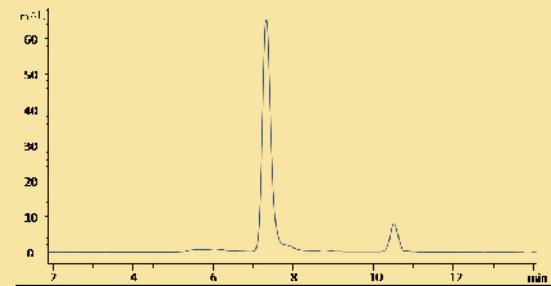
抗体样品应用实例

图4. 抗体融合蛋白的分析



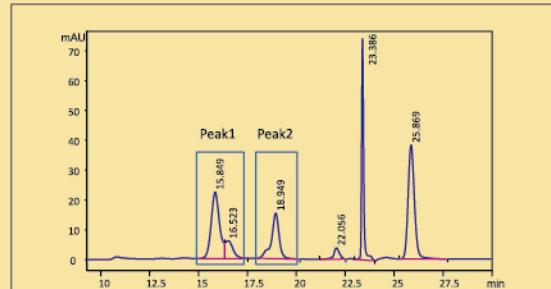
色谱柱: Zenix SEC-150 (3 μ m, 7.8 \times 300 mm)
流动相: 50 mM PB+100 mM NaCl (pH: 7.0 \pm 0.1)
流速: 0.5 mL/min
进样量: 30 μ L
检测波长: UV 280 nm

图5. 单克隆抗体的分析



色谱柱: Zenix SEC-300 (3 μ m, 4.6 \times 300 mm)
流动相: 150 mM phosphate buffer, pH 7.0
流速: 0.35 mL/min
检测波长: UV 280 nm; 进样量: 2 μ g 完整单抗

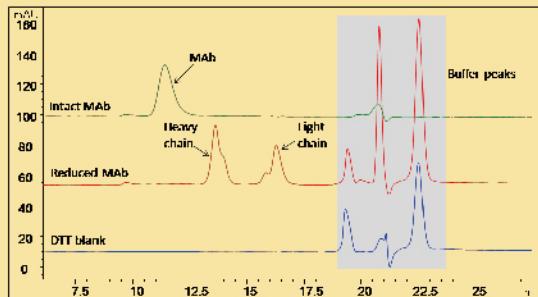
图6. 单抗重链、轻链的分离



色谱柱: Zenix SEC-150 (3 μ m, 7.8 \times 300 mm)
流动相: 0.1% TFA, 0.1% Formic acid, 20% ACN
流速: 0.5 mL/min
进样量: 30 μ g 降解后的单抗
样品: 重链50 kD, 轻链 25 kD
检测波长: UV 280 nm

抗体分析方法开发

图7. 单抗降解后的分析



色谱柱: Zenix SEC-300 (3 μ m, 4.6 \times 300 mm)

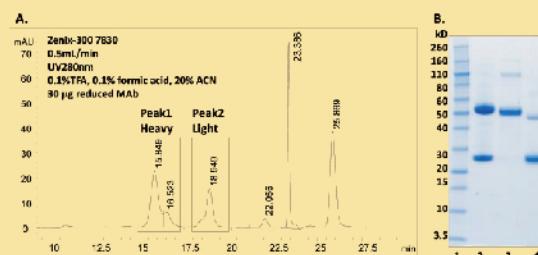
流动相: 0.1% TFA, 0.1% 甲酸, 20% 乙腈

流速: 0.2 mL/min

检测波长: UV 280 nm

进样量: 5 μ g完整单抗; 20 μ g DTT降解后的单抗

图8. 单抗降解后重链和轻链的分离



色谱柱: Zenix SEC-300 (3 μ m, 7.8 \times 300 mm)

A图是降解后的单抗样品在Zenix™ SEC-300, 7.8 \times 300 mm柱上的分离图谱

7峰1和峰2分别收集后经过真空快速干燥, 干燥后的样品

溶解在Invitrogen生产的LDS样品缓冲液中
B图是降解后的单抗样品在4-12% Bis-Tris 凝胶上的电泳图

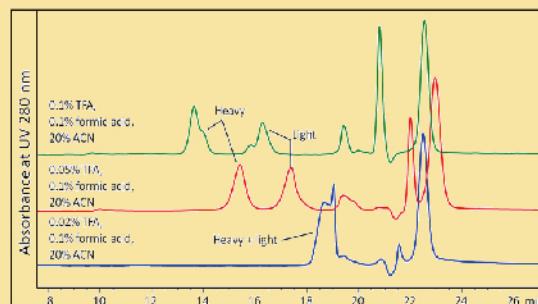
第一列: 标记蛋白

第二列: 降解后的MAb混合样

第三列: 峰1/重链

第四列: 峰2/轻链

图9. TFA浓度对分离降解后单抗的影响



色谱柱: Zenix SEC-300 (3 μ m, 4.6 \times 300 mm)

流速: 0.2 mL/min

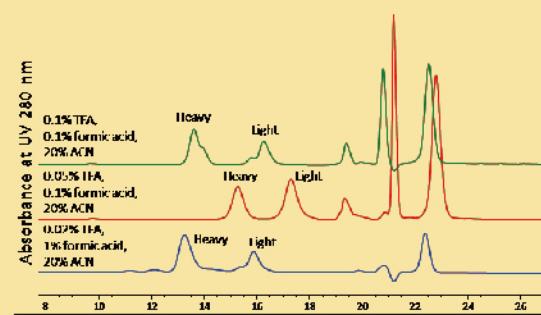
检测波长: UV 280 nm

进样量: 20 μ g 降解后的单抗

当0.05% TFA时, 重链和轻链达到基线分离;

然而, 当0.02% TFA时, 重链和轻链没有分开。

图10. TFA和甲酸浓度对分离降解后单抗的影响



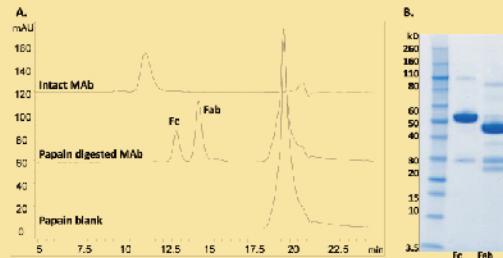
色谱柱: Zenix SEC-300 (3 μ m, 4.6 \times 300 mm)

流速: 0.2 mL/min

检测波长: UV 280 nm

显示了20 μ g降解后的单抗在图示不同流动相下分离情况的重叠图

图11. 单抗Fab/Fc片段的分离



A图是木瓜蛋白酶酶切后 (3.5 h反应时间) 单抗的Fab和Fc片段在Zenix SEC-300, 4.6 x 300 mm上的分离图谱

流动相: 0.1% TFA, 0.1% 甲酸, 20% 乙腈

流速: 0.2 mL/min

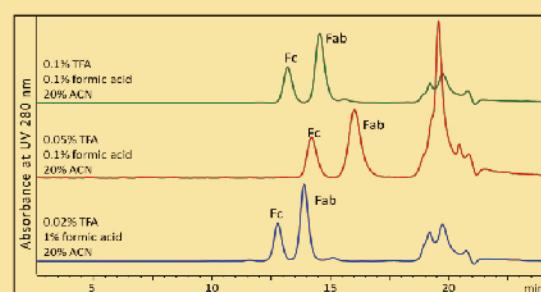
检测波长: UV 280 nm

进样量: 5 μ g完整单抗; 5 μ g 木瓜蛋白酶酶切后的单抗

B图是Fab 和 Fc片段在4-12% Bis-Tris 凝胶上的电泳图

Fab 和 Fc 片段采用Zenix™ SEC-300, 7.8 x 300 mm色谱柱, 以0.5 mL/min流速分离后收集, 色谱图未显示

图12. TFA和甲酸浓度对分离Fab/Fc的影响



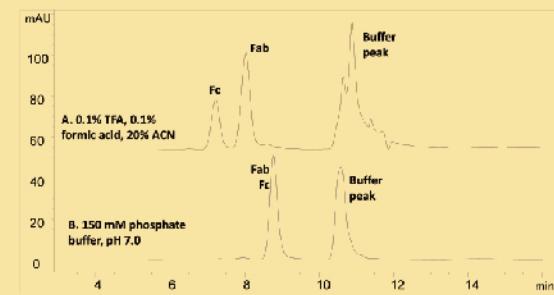
色谱柱: Zenix SEC-300 (3 μ m, 4.6 \times 300 mm)

流速: 0.2 mL/min

检测波长: UV 280 nm

色谱图显示了5 μ g木瓜蛋白酶酶切后的单抗在图示不同流动相下分离情况的重叠图

图13. 使用不同流动相分离Fab/Fc



色谱柱: Zenix SEC-300 (3 μ m, 4.6 \times 300 mm)

流速: 0.35 mL/min

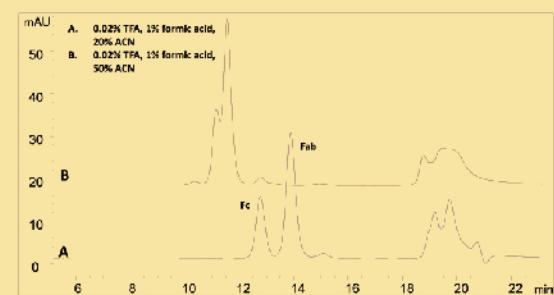
检测波长: UV 280 nm

进样量: 5 μ g 木瓜蛋白酶酶切后的单抗 (两者均是)

谱图A在0.1%TFA, 0.1%甲酸, 20%乙腈条件下测得;

谱图B在150 mM 磷酸钠缓冲液, pH 7.0条件下测得

图14. 乙腈浓度对分离Fab/Fc的影响



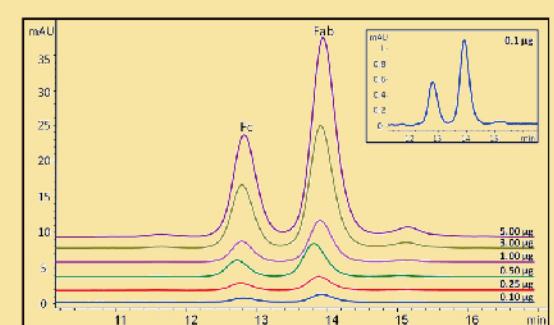
色谱柱: Zenix SEC-300 (3 μ m, 4.6 \times 300 mm)

流速: 0.2 mL/min

进样量: 5 μ g 木瓜蛋白酶酶切后的单抗 (两者均是)

谱图A是在20%乙腈条件下测得;

谱图B是50%乙腈条件下测得

图15. 不同进样量 (从0.1 μ g到5 μ g) 对分离Fab/Fc的影响

色谱柱: Zenix SEC-300 (3 μ m, 4.6 \times 300 mm)

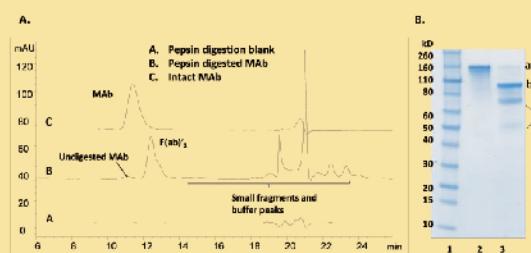
流动相: 0.02% TFA, 1% 甲酸, 20% 乙腈

流速: 0.2 mL/min

检测波长: UV 280 nm

嵌入的色谱图是0.1 μ g载量下的分离图谱, 此时Fab和Fc维持基线分离

图16. 单抗F(ab')2的分离



色谱柱: Zenix SEC-300 (3 μ m, 4.6 \times 300 mm)

流动相: 0.02% TFA, 1% 甲酸, 20% 乙腈

流速: 0.2 mL/min

检测波长: UV 280 nm

进样量: 5 μ g完整单抗

15 μ g 胃蛋白酶酶切后的单抗

B图是5 μ g 进样量下4-12% Bis-Tris 凝胶上的电泳图

第一列: 标记蛋白

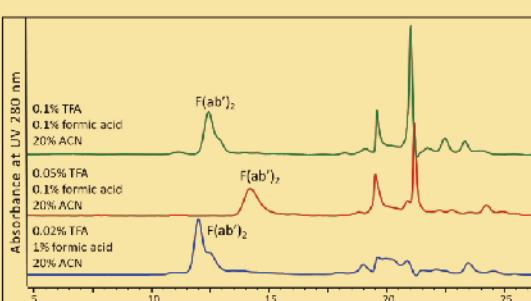
第二列: 完整单抗

第三列: 胃蛋白酶酶切后的单抗条带a: 完整单抗;

条带b: F(ab')2;

条带c: 酶切后的小碎片

图17. TFA和甲酸对分离F(ab')2 的影响



色谱柱: Zenix SEC-300 (3 μ m, 4.6 \times 300 mm)

流速: 0.2 mL/min;

检测波长: UV 280 nm

显示了15 μ g胃蛋白酶酶切后的单抗在图示不同流动相下分离情况的重叠图

订购信息

产品名称	孔径	规格	货号
Zenix SEC-80	80 \AA	4.6 \times 300 mm	213080-4630
Zenix SEC-80	80 \AA	7.8 \times 300 mm	213080-7830
Zenix SEC-150	150 \AA	4.6 \times 300 mm	213150-4630
Zenix SEC-150	150 \AA	7.8 \times 300 mm	213150-7830
Zenix SEC-300	300 \AA	4.6 \times 300 mm	213300-4630
Zenix SEC-300	300 \AA	7.8 \times 300 mm	213300-7830
Zenix SEC-300 PEEK	300 \AA	4.6 \times 300 mm	213300P-4630

注: 以上为部分订货信息, 其它规格或特殊定制产品, 请来电咨询。

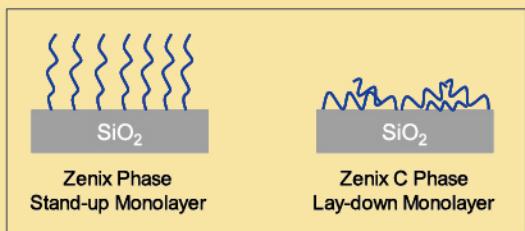
Zenix-C体积排阻色谱柱

概述

Zenix-C系列是在Zenix系列的基础上，专门推出用于高疏水性蛋白的新型色谱柱。该键合固定相采用3 μm 高纯硅胶作为基质，通过专利的表面修饰技术，在硅胶表面键合一层均匀的纳米厚度中性亲水涂层而制备得到。由于采用可控的化学修饰技术，确保了填料批间有着可靠的重现性。Zenix-C填料采用化学键合技术，表面亲水涂层覆盖完全，因此不仅具有优异的稳定性，而且对蛋白等生物样品的非特异性吸附作用也非常小。同时，大的孔体积保证了高的载样量及优异的分辨率。Zenix C-300广泛应用于各种抗体的分离和质量检测。

独特的固定相结构

图1. 固定相修饰的差异



Zenix在硅胶表面修饰了一层“站立”着的亲水中性单分子层，Zenix-C在硅胶表面修饰了一层“平躺”着的亲水中性单分子层。

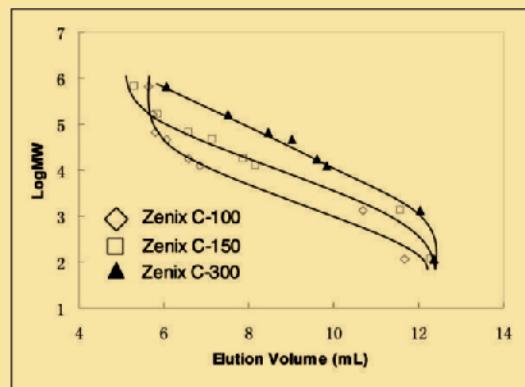
表1. Zenix-C SEC 色谱柱技术参数表

固定相	Zenix-C SEC-80	Zenix-C SEC-150	Zenix-C SEC-300
材料	表面键合亲水薄膜的硅胶		
粒径	3 μm		
孔径	~80 \AA	~150 \AA	~300 \AA
蛋白分子量范围	100-50,000	500-150,000	5,000-1,250,000
水溶性聚合物分子量范围	500-5,000	500-25,000	1,000-100,000
pH稳定性	2-8.5, 短时间内可耐受8.5-9.5		
反压对于7.8x300mm柱	~1,500 psi	~1,500 psi	~1,500 psi
最大压力	~4,500 psi	~4,500 psi	~3,500 psi
盐浓度范围	20 mM-2.0 M		
最高使用温度	~80°C		
流动相兼容性	常规水相及有机相溶剂		

优异的特性

- 高载量及高分辨率
- 稳定的批间重现性
- 高的蛋白回收率，且蛋白不易失活
- 极低的非特异性吸附
- 专为疏水性蛋白及改性蛋白（如PEG化抗体）设计
- 适用于ADC、双抗、多抗等复杂的抗体样品。

图2. Zenix-C SEC的蛋白分子量校正曲线



色谱柱: Zenix -C SEC (3 μm , 7.8×300 mm)

流动相: 150 mM Phosphate buffer, pH 7.0

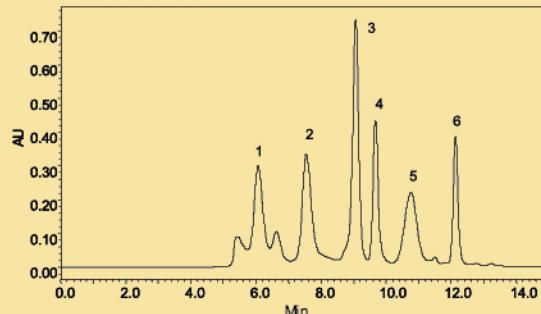
流速: 1.0 mL/min

检测波长: UV 214 nm

样 品: 1) 甲状腺球蛋白, 670 kD 2) γ -球蛋白, 158 kD
 3) 牛血清白蛋白, 66 kD 4) 卵清蛋白, 44 kD
 5) 肌红蛋白, 17.6 kD 6) 核糖核酸酶A, 13.7 kD
 7) 维生素B12, 1.35 kD 8) 尿嘧啶, 120 D

应用实例

图3. 混合蛋白的分离



色谱柱: Zenix-C SEC-300 (3 μm , 7.8×300 mm)

流动相: 150 mM Phosphate buffer, pH 7.0

流速: 1.0 mL/min

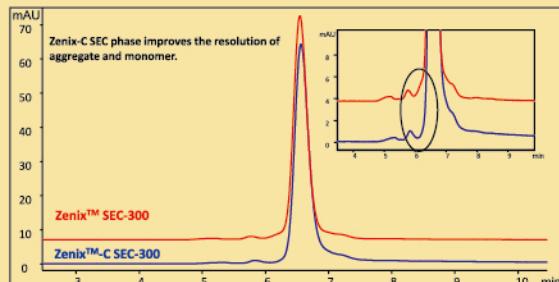
柱温: 室温 (~23°C)

检测波长: UV 214 nm

进样量: 10 μL

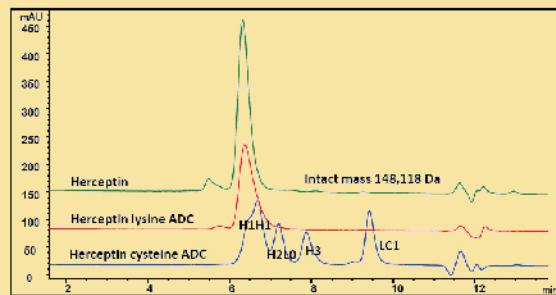
样 品: 1) 甲状腺球蛋白, 670 kD; 2) γ -球蛋白, 158 kD;
 3) 卵清蛋白, 44 kD; 4) 肌红蛋白, 17.6 kD;
 5) 聚-DL-丙氨酸, 1-5 kD; 6) 维生素B12, 1.35 kD

图4. FC融合蛋白：肿瘤坏死因子受体



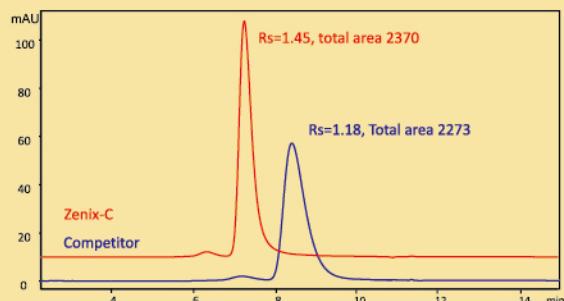
色谱柱: Zenix-C SEC-300 (3 μ m, 7.8 \times 300 mm)
Zenix SEC-300 (3 μ m, 7.8 \times 300 mm)
流动相: 150 mM Phosphate buffer, pH 7.0
流速: 1.0 mL/min
检测波长: UV 280 nm
进样量: 10 μ L
样 品: 重组人肿瘤坏死因子受体Fc (rhTNFR-Fc)水溶液, 2 mg/mL

图7. 挥发性流动相体系下对半胱氨酸及赖氨酸连接的ADC分析



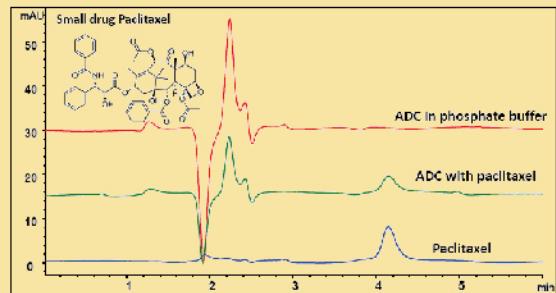
色谱柱: Zenix-C SEC-300 (3 μ m, 4.6 \times 300 mm)
流动相: 0.1% TFA, 0.1% formic acid and 20% ACN
流速: 0.35 mL/min
柱温: 25°C
检测波长: UV 214 nm
进样量: 2 μ L
样 品: 赫赛汀 ADCs 1mg/mL

图5. 赫赛汀-赖氨酸偶联药 (ADC) 的分离



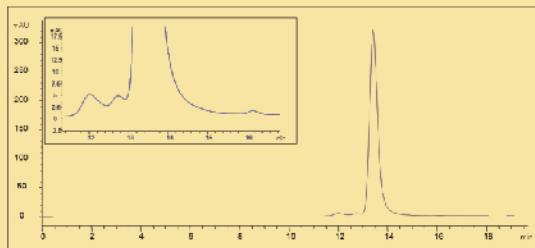
色谱柱: Zenix-C SEC-300 (3 μ m, 7.8 \times 300 mm)
其他厂家SEC (5 μ m, 7.8 \times 300 mm)
流动相: 150 mM Phosphate buffer, pH 7.0
流速: 1.0 mL/min
检测波长: UV 280 nm
进样量: 10 μ L
样 品: 赫赛汀-赖氨酸偶联药, 2.05 mg/mL

图8. 对抗体未偶联小分子的分析检测



色谱柱: Zenix-C SEC-80 (3 μ m, 4.6 \times 50 mm)
流动相: 50 mM NH4Ac : ACN=80:20
流速: 0.3 mL/min
柱温: 25°C
检测波长: UV 228 nm
进样量: 2 μ L
样 品: 如图所示

图6. Zenix-C SEC-300分析双抗



色谱柱: Zenix-C SEC-300 (3 μ m, 300 \AA , 7.8 \times 300 mm)
流速: 0.5 mL/min
柱温: 室温
检测波长: UV 280 nm
进样量: 10 μ L
样 品: 双抗

订购信息

产品名称	孔径	规格	货号
Zenix-C SEC-80	80 \AA	4.6 \times 50 mm	233080-4605
Zenix-C SEC-80	80 \AA	7.8 \times 300 mm	233080-7830
Zenix-C SEC-150	150 \AA	4.6 \times 300 mm	233150-4630
Zenix-C SEC-150	150 \AA	7.8 \times 300 mm	233150-7830
Zenix-C SEC-300	300 \AA	4.6 \times 300 mm	233300-4630
Zenix-C SEC-300	300 \AA	7.8 \times 300 mm	233300-7830
Zenix-C SEC-300 PEEK	300 \AA	4.6 \times 300 mm	233300P-4630

注: 以上为部分订货信息, 其它规格或特殊定制产品, 请来电咨询。

Proteomix离子交换色谱柱

概述

Proteomix离子交换色谱柱填料为刚性、均匀、球形、高交联度的聚苯乙烯/二乙烯苯 (PS/DVB) 颗粒。无孔填料的粒径有1.7、3、5和10 μm 等多种规格。PS/DVB填料表面键合有一层高度亲水的纳米级中性聚合物薄膜。疏水的PS/DVB填料表面完全被这种亲水材料覆盖，从而消除了PS/DVB对生物分子的不可逆吸附，保证了其具有很高的分离效率和生物样品活性回收率。运用赛分独有的化学键合技术，可将离子交换官能基团致密、均匀地键合在亲水层的表面，获得高容量的离子交换层。

离子交换固定相有强阳离子交换 (SCX) 、弱阳离子交换 (WCX) 、强阴离子交换 (SAX) 、弱阴离子交换 (WAX) 四种。分别是将磺酸基、羧基、季铵基和叔胺基化学键合在无孔PS/DVB树脂亲水涂层表面而形成的。

填料结构

图1. Proteomix离子交换相的化学结构示意图

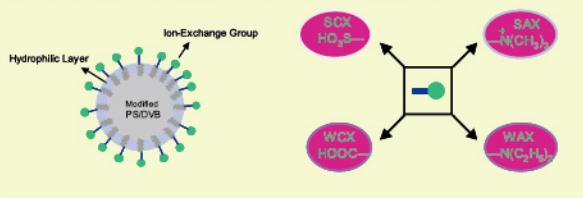
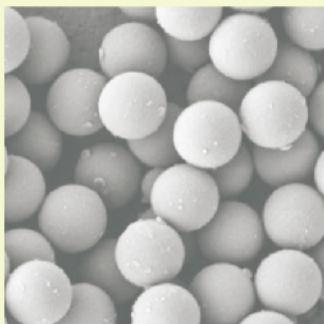


图2. Proteomix树脂登上Lab plus International 期刊 (2006, September, Vol.20) 的封面



固定相	不同粒径的动态载量(mg/mL)			
	1.7 μm	3 μm	5 μm	10 μm
Proteomix SCX	~60	~54	~38	~20
Proteomix WCX	~25	~19	~15	~10
Proteomix SAX	~43	~35	~28	~17
Proteomix WAX	~35	~26	~18	~12

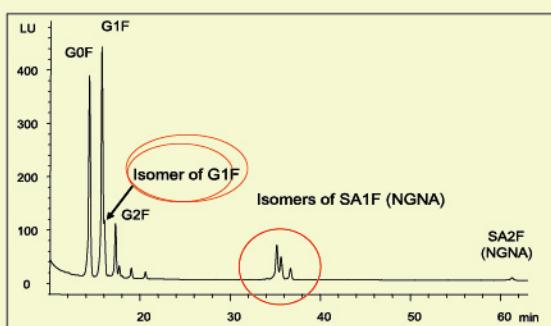
Proteomix色谱柱的优点

- 单分散型填料颗粒
- 宽的pH范围: 2-12
- 优异的分离效率、选择性和分离能力
- 高批次间重复性

- 耐受高压: 10、5、3&1.7 μm 分别可以耐受4000, 6000, 8000&12000 psi
- SCX适用于单抗及电荷异质体的分离和分析
- SAX适用于双抗及电荷异质体的分离和分析
- 常用的粒径为5 μm 和10 μm
- 广泛应用于研发和质量控制
- 适合实验室规模的样品分离和制备

填料结构

图4. 邻氨基苯甲酸和N标记的IgG1寡糖的分离



色谱柱: Proteomix SAX-NP5 (5 μm , 4.6x150 mm)
流动相: A, 2.5% (v/v) acetic acid, 0.5% TEA in H₂O; B, 0.5% acetic acid in ACN

梯度条件: 0-100% B (60 min); 流速: 0.30 mL/min

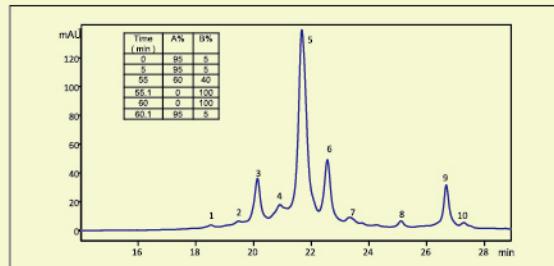
检测器: Fluorescence Ex/Em=360/425 nm

样品: G0F: asialo, agalacto, core-fucosylated biantennary glycan; G1F: asialo, mono-galacto, core-fucosylated biantennary glycan;

G2F: asialo, di-galacto, core-fucosylated biantennary glycan; SA1F: mono-sialylated, galactosylated, core-fucosylated biantennary glycan;

SA2F: di-sialylated, galactosylated, core-fucosylated biantennary glycan; NGNA: N-glycolylneuraminic acid.

图5. Proteomix SCX对单抗的分析



色谱柱: Proteomix SCX-NP5 (5 μm , 4.6x250 mm)

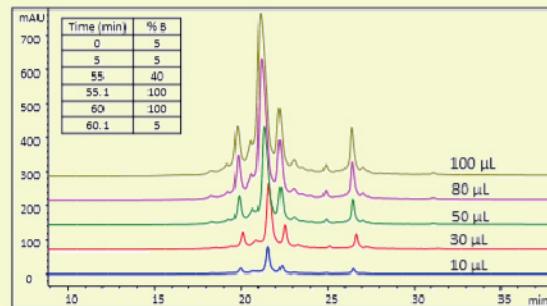
流动相: A: 2.4 mM Tris, 1.5 mM 咪唑, 11.6 mM 氨基酸, pH 6.0 B: A+0.5 M 氢氧化钠, pH 10.5

柱温: 30°C; 流速: 0.8 mL/min

检测波长: UV 280 nm

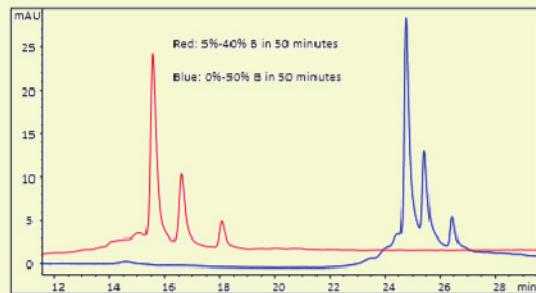
进样量: 100 μg

图6. Proteomix SCX对单抗样品的载量测试



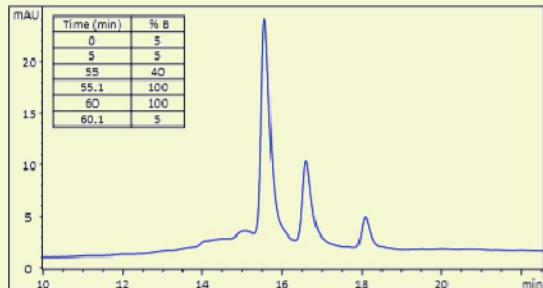
色谱柱: Proteomix SCX-NP5 (5 μ m, 4.6x250 mm)
 流动相: A: 2.4 mM Tris, 1.5 mM咪唑, 11.6 mM哌嗪, pH 6.0
 B: A+0.5 M氯化钠, pH 10.5
 柱温: 30°C
 流速: 0.8 mL/min
 检测波长: UV 280 nm
 样品: 5 mg/mL

图8. Proteomix SCX对单抗分析的梯度优化



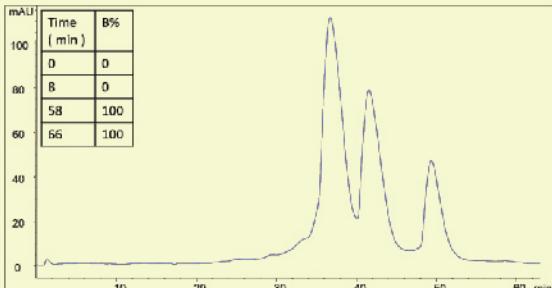
色谱柱: Proteomix SCX-NP5 (5 μ m, 4.6x250 mm)
 流动相: A: 2.4 mM Tris, 1.5 mM咪唑, 11.6 mM哌嗪, pH 6.0
 B: A+0.5 M氯化钠, pH 10.5
 柱温: 30°C
 流速: 0.8 mL/min
 检测波长: UV 280 nm
 进样量: 10 μ g单抗

图7. Proteomix SCX对单抗的分析



色谱柱: Proteomix SCX-NP5 (5 μ m, 4.6x250 mm)
 流动相: A: 2.4 mM Tris, 1.5 mM咪唑, 11.6 mM哌嗪, pH 6.0
 B: A+0.5 M氯化钠, pH 10.5
 柱温: 30°C
 流速: 0.8 mL/min
 检测波长: UV 280 nm
 进样量: 10 μ g

图9. 阿达木单抗及其酸碱变体在阳离子交换柱上的分离表现



色谱柱: Proteomix SCX-NP10 (10 μ m, 4.6 x 250 mm)
 流动相: A: 20 mM PB, 50 mM NaCl, pH 6.5
 B: 20 mM PB, 90 mM NaCl, pH 6.5
 流速: 1 mL/min
 检测波长: UV 280 nm
 进样量: 0.2 mg mAb/mL resin
 样品: 阿达木单抗(2.7 mg/mL)

订购信息

色谱柱规格: 粒径, 内径x长度, 材质	Proteomix SCX	Proteomix WCX	Proteomix SAX	Proteomix WAX
5 μ m, 4.6x250 mm, PEEK	401NP5P-4625	402NP5P-4625	403NP5P-4625	404NP5P-4625
10 μ m, 4.6x250 mm, PEEK	401NP10P-4625	402NP10P-4625	403NP10P-4625	404NP10P-4625

注: 以上为部分订货信息, 其它规格或特殊定制产品, 请来电咨询。

Antibodix离子交换色谱柱 (抗体分离专用柱)

概述

Antibodix离子交换色谱柱是专为抗体分离而设计，具有高分辨率、高柱效、高回收率的特点。填料基质为刚性、球形、高交联度的无孔聚苯乙烯-二乙烯苯(PS/DVB)颗粒，颗粒大小有1.7、3、5和10 μm 。表面附有一层纳米级厚度、高亲水性的中性聚合物薄膜。亲水涂层的顶端键合有一层具有特殊化学性质的弱阳离子交换基团，具有高离子交换容量。

图1. Antibodix填料化学结构示意图

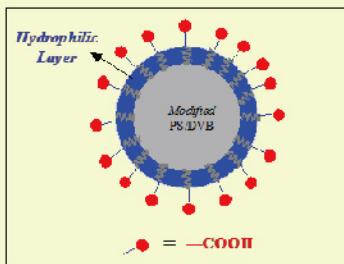
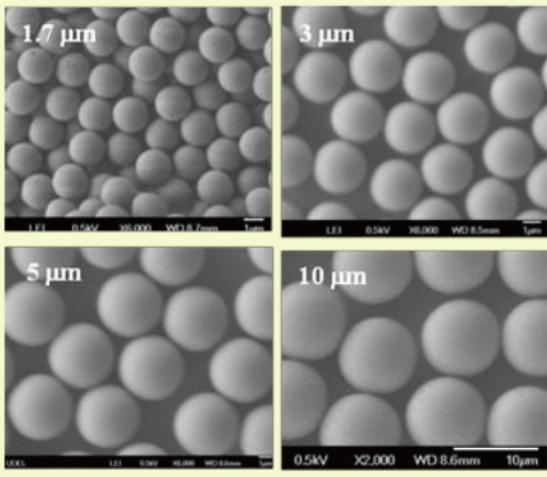


图2. Antibodix填料电镜图



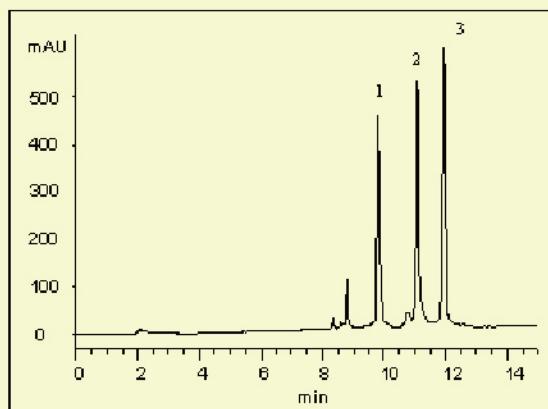
Antibodix色谱柱的优点

- 单分散型填料颗粒
- 宽的pH范围: 2-12
- 优异的分离效率，对单抗结构微小差异的高分辨力
- 高批次间重复性
- 耐受高压: 10、5、3和1.7 μm 分别可以耐受4000, 6000, 8000&12000 psi
- 常用的粒径为5 μm 和10 μm
- 广泛应用于抗体研发和质量控制
- 适合实验室规模的抗体样品分离和制备

高分辨率

Antibodix离子交换填料有三个特点：无孔颗粒、亲水表面、均匀的弱阳离子交换涂层，实现了抗体的高效分离。图3是Antibodix NP5 (无孔，粒径5 μm) 分离三种标准蛋白的实例：核糖核酸酶A、细胞色素C和溶菌酶。三种蛋白的平均理论塔板数达到了132,000/米。

图3. Antibodix NP5分离三种标准蛋白混合物



色谱柱: Antibodix-NP5 (5 μm , 4.6x250 mm)

流动相: A: 10 mM Na-phosphate, pH 6.0; B: A + 1.0 M NaCl

梯度条件: 10-100% B in 25 min 流速: 0.7 mL/min

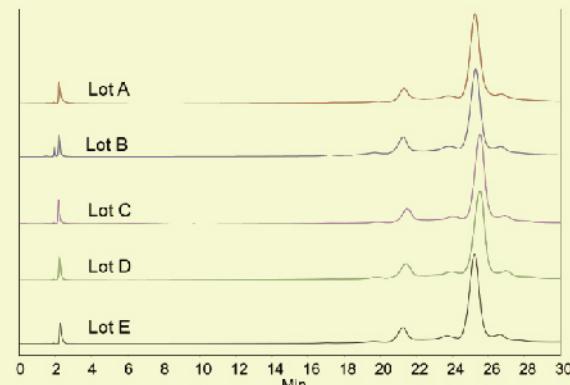
样 品: 1) 细胞色素C, 2) 溶菌酶, 3) 核糖核酸酶 A

进样量: 5 μL (1 mg/mL)

温 度: 25 °C; 检测波长: UV 280 nm

批间重现性

图4. Antibodix NP10色谱柱三个不同批次的重现性



色谱柱: Antibodix-NP10 (10 μm , 4.6x250 mm)

流动相: A: 10 mM Na-phosphate, pH 7.5;

B: A + 100 mM NaCl

梯度条件: 15-55% B (30 min)

流 速: 0.8 mL/min

样 品: 单抗 (5 mg/mL)

进样量: 5 μL

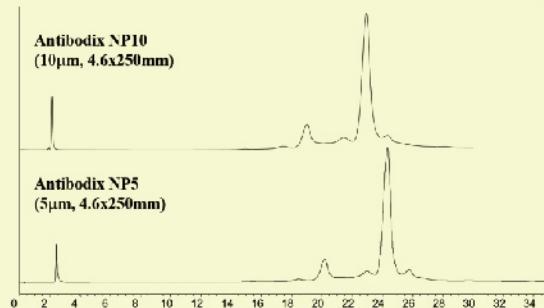
温 度: 室温

检测波长: UV 214 nm

良好的可操控性生产工艺以及表面修饰技术使得Antibodix填料具有最佳的批间重现性，批次间保留时间差异不超过5%，图4展示了Antibodix NP10填料五个不同批次的良好重现性。

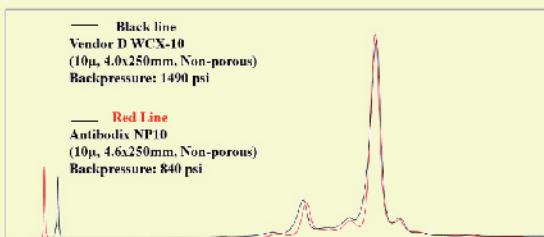
不同产品间的比较

图5. Antibodix NP10与NP5的比较



流动相: A: 10 mM Na-phosphate, pH 7.5;
B: A + 100 mM NaCl
梯度条件: 15-55% B (30 min) 流速: 0.8 mL/min
样 品: 单抗 (5 mg/mL) 进样量: 5 μL
温 度: 室温 检测波长: UV 214 nm

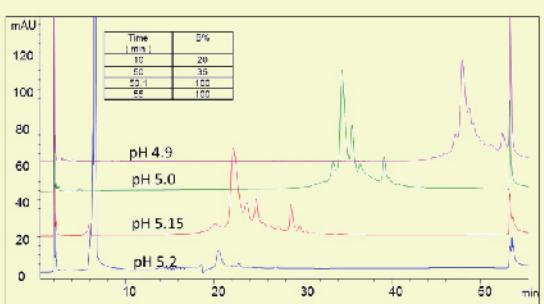
图6. Antibodix NP10色谱柱分离抗体与某公司产品的对比



流动相: A: 10 mM Na-phosphate, pH 7.5;
B: A + 100 mM NaCl
梯度条件: 15-55% B (30 min) 流速: 0.8 mL/min
样 品: 单抗 (5 mg/mL) 进样量: 5 μL
温 度: 室温 检测波长: UV 280 nm

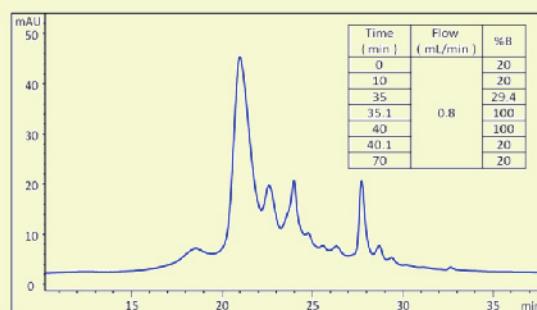
不同产品间的比较

图7. 不同pH条件下Antibodix对单克隆抗体的分离图谱



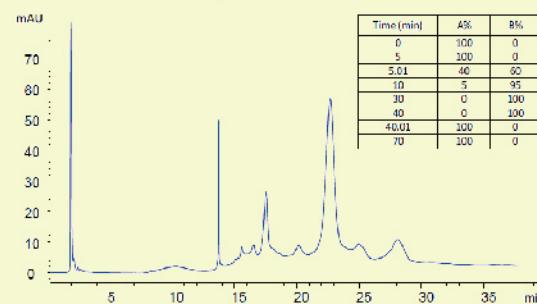
色谱柱: Antibodix-NP5 (5 μm, 4.6x250 mm)
流动相: A: 20 mM Na-acetate, pH 4.9-5.2;
B: A + 1.0 M LiCl
流速: 0.8 mL/min
样 品: 5.0 mg/mL 单抗 in Tris 进样量: 20 μL
温 度: 30°C; 检测波长: UV 280 nm

图8. Antibodix盐梯度洗脱分离单克隆抗体



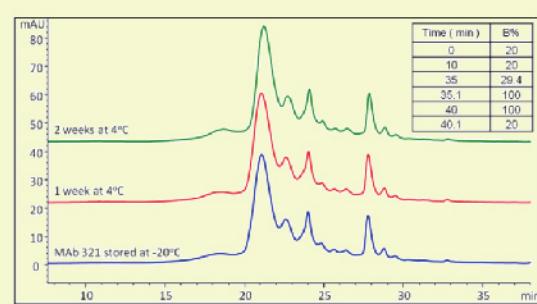
色谱柱: Antibodix-NP5 (5 μm, 4.6x250 mm)
流动相: A: 20 mM Na-acetate, pH 5.15;
B: A + 1.0 M LiCl
梯度条件: 0-75% B (25 min) 流速: 0.8 mL/min
样 品: 单抗 (5 mg/mL) 进样量: 5 μL
温 度: 30°C; 检测波长: UV 280 nm

图9. Antibodix盐溶液pH洗脱分离单克隆抗体

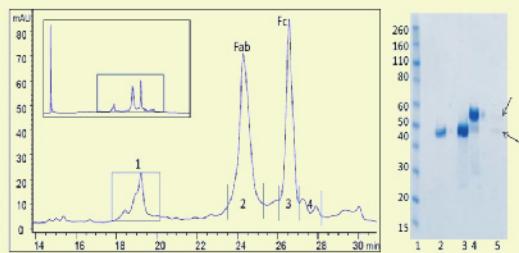


色谱柱: Antibodix-NP5 (5 μm, 4.6x250 mm)
流动相: A: 20 mM Na-sulfate, pH 5;
B: A + 10 mM NaCl, pH 7.5
流速: 0.8 mL/min
样 品: 单抗 (5 mg/mL)
进样量: 20 μL
温 度: 30 °C
检测波长: UV 280 nm

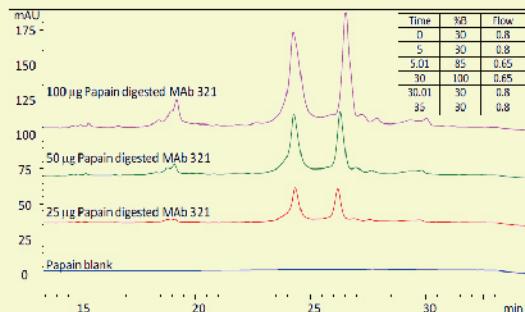
图10. Antibodix分离单克隆抗体的稳定性测试



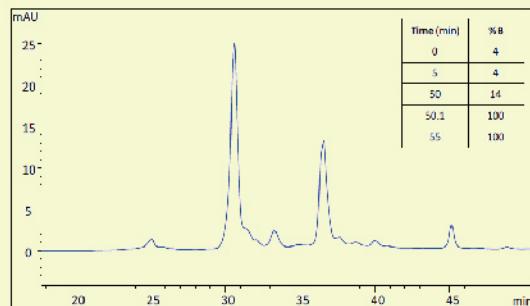
色谱柱: Antibodix-NP5 (5 μm, 4.6x250 mm)
流动相: A: 20 mM Na-acetate, pH 5.15;
B: A + 1.0 M LiCl
梯度条件: 0-75% B (25 min) 流速: 0.8 mL/min
样 品: 单抗 (5 mg/mL) in Tris 进样量: 20 μL
温 度: 30°C; 检测波长: UV 280 nm

图11. 木瓜蛋白酶酶切后的单抗在Antibodix上的分离

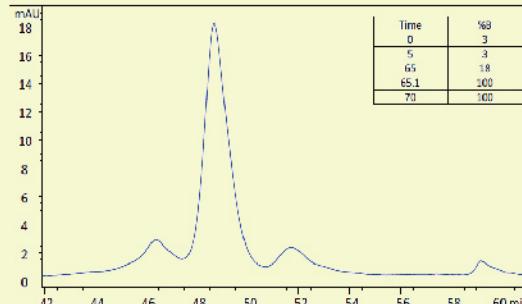
色谱柱: Antibodix-NP5 (5 μ m, 4.6x250 mm)
 流动相: A: 20 mM Acetate + 50 mM NaCl, pH 3.5;
 B: 20 mM Na-succinate + 50 mM NaCl, pH 6.0;
 梯度条件: 5 min 30% B, 0.8 mL/min;
 25 min 85%-100% B, 0.65 mL/min
 流速: 0.8 mL/min
 进样量: 100 μ g酶切后的单抗
 温度: 30°C
 检测波长: UV 280 nm
 木瓜蛋白酶酶切反应: 1.0 mg/mL单抗(单抗和蛋白酶的比例为100:1)在2.0 mM EDTA, 5.0 mM 半胱氨酸和100 mM Tris-HCl缓冲液(pH 7.6)中, 37°C的条件下反应3.5小时
 右图为Fab和Fc片段在4-12% Bis-Tris凝胶上的电泳图
 第一列: 标记
 第二列: 峰1/Fab
 第三列: 峰2/Fab
 第四列: 峰3/Fc
 第五列: 峰4/Fc

不同进样量Fab/Fc在Antibodix上的分离**图12. 木瓜蛋白酶酶切后的MAb321在Antibodix上的分离**

色谱柱: Antibodix NP5 (5 μ m, 4.6x250 mm)
 流动相: A: 20 mM Acetate + 50 mM NaCl, pH 3.5;
 B: 20 mM Na-succinate + 50 mM NaCl, pH 6.0;
 检测波长: UV 280 nm
 木瓜蛋白酶酶切反应: 1.0 mg/mL单抗(单抗和蛋白酶的比例为100:1)在2.0 mM EDTA, 5.0 mM 半胱氨酸和100 mM Tris-HCl缓冲液(pH 7.6)中, 37°C的条件下反应3.5小时

Antibodix分离Fab/Fc**图13. 木瓜蛋白酶酶切后的MAb在Antibodix上的分离图谱**

色谱柱: Antibodix-NP5 (5 μ m, 4.6x250 mm)
 流动相: A: 20 mM Phosphate, pH 5.5; B: A + 1.0 M NaCl
 梯度条件: 5 min 30% B, 0.8 mL/min;
 25 min 85%-100% B, 0.65 mL/min
 流速: 0.8 mL/min
 检测波长: UV 280 nm
 进样量: 25 μ g酶切后的单抗
 木瓜蛋白酶酶切反应: 1.0 mg/mL单抗(单抗和蛋白酶的比例为100:1)在2.0 mM EDTA, 5.0 mM 半胱氨酸和100 mM Tris-HCl缓冲液(pH 7.6)中, 37°C的条件下反应3.5小时

Antibodix分离F(ab')2**图14. 胃蛋白酶酶切后的单抗在Antibodix上的分离**

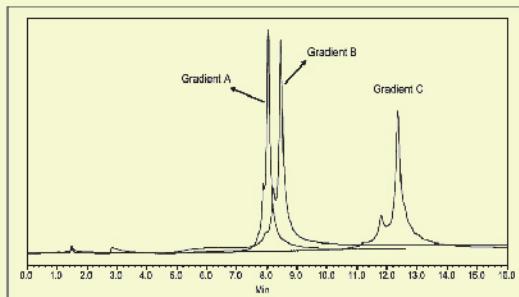
色谱柱: Antibodix-NP5 (5 μ m, 4.6x250 mm)
 流动相: A: 20 mM Phosphate, pH 5.5;
 B: A + 1.0 M NaCl
 梯度条件: 5 min 30% B, 0.8 mL/min;
 25 min 85%-100% B, 0.65 mL/min
 流速: 0.8 mL/min
 检测波长: UV 280 nm
 进样量: 50 μ g酶切后的单抗
 胃蛋白酶酶切反应: 1.0 mg/mL单抗(单抗和蛋白酶的比例为40:1)在2.0 mM 醋酸钠(pH 4.0), 37°C的条件下反应15.5小时, 以25 μ L 2.0 M Tris终止反应

抗体分析方法开发实例

a) 盐浓度、pH和盐梯度的优化

对于单克隆抗体的纯化, 分离条件的选择、优化是至关重要的。这些条件的关键参数包括盐浓度、pH和盐梯度。图16展示了商业抗体MAb-X22在以pH6.0, 50 mM磷酸盐缓冲液为流动相, 不同梯度下的分离情况。显而易见, 在这些条件下分离效果很差。

图15. 未优化条件下MAb-X22的分离图谱



色谱柱: Antibodix-NP10 (10 μ m, 4.6x250 mm)

流动相: A: 50 mM Phosphate, pH 6.0;

B: A + 0.25 M NaCl

梯度条件: A) 0-100% B in 30 min

B) 0-100% B in 45 min

C) 0-30% B in 30 min

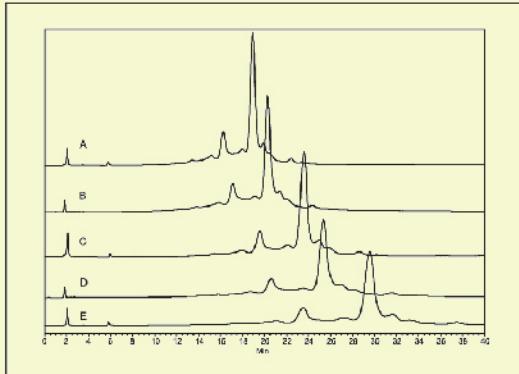
流速: 0.8 mL/min 样品: MAb-X22

进样量: 10 μ L (1.5 mg/mL) 柱温: 25°C

检测波长: UV 214 nm

在我们对分离条件进行优化后, Mab-X22的分离效果明显比图15所示情况好许多(见图16)。同时我们考察了梯度对分离效果的影响, 结果表明更加平缓的梯度能够得到更高的分辨率。但是随着梯度的变缓, 保留时间变长了。

图16. MAb-X22分离条件的优化图谱



色谱柱: Antibodix-NP10 (10 μ m, 4.6x250 mm)

流动相: A: 10 mM Phosphate, pH 7.5;

B: A + 0.1 M NaCl

梯度条件: A) 15-75% B in 30 min

B) 15-65% B in 30 min

C) 15-55% B in 30 min

D) 15-47.5% B in 30 min

E) 15-40% B in 30 min

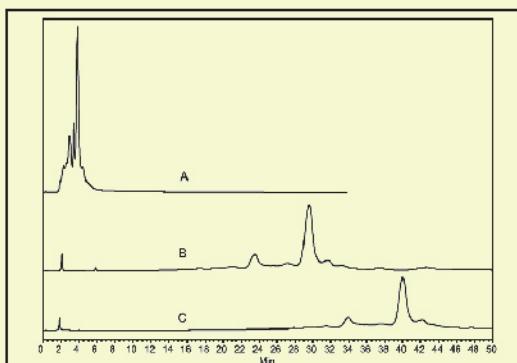
流速: 0.8 mL/min 样品: MAb-X22

进样量: 10 μ L (1.5 mg/mL) 柱温: 25°C

检测波长: UV 214 nm

梯度的起始浓度对单抗样品分辨率有很大影响。图16展示了pH 7.5, 20 mM磷酸缓冲液条件下, 梯度起始浓度分别为5、10和20 mM磷酸缓冲液时MAb-X22的分离情况。当梯度的起始浓度为20 mM盐浓度时, 效果较差, 这说明梯度的起始盐浓度对于保持单抗样品良好的结构, 从而保证得到良好的分离效果至关重要。

图17. 梯度初始盐浓度对MAb-X22分离的影响



色谱柱: Antibodix-NP10 (10 μ m, 4.6x250 mm)

流动相: A: Phosphate, pH 7.5;

B: A + 0.1 M NaCl

起始盐浓度: A) 20 mM Phosphate

B) 10 mM Phosphate

C) 5 mM Phosphate

梯度条件: 15-65% B in 60 min

流速: 0.8 mL/min

样品: MAb-X22

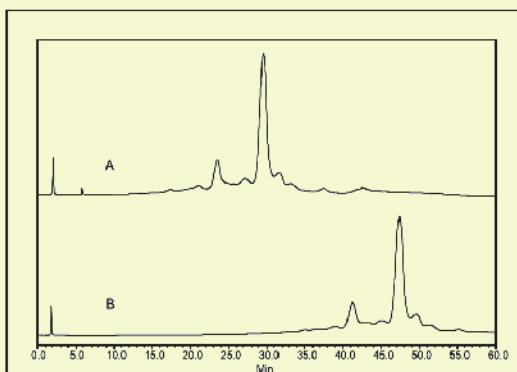
进样量: 10 μ L (1.5 mg/mL)

柱温: 25°C

检测波长: UV 214 nm

图17显示了pH对单抗样品影响的情况。当pH从7.5降到7.0时, 样品中碱性物质与主组分的分离度提高, 同时保留时间延长。

图18. 流动相pH对MAb-X22分离的影响



色谱柱: Antibodix-NP10 (10 μ m, 4.6x250 mm)

流动相: A) A: 10 mM Phosphate, pH 7.5;

B: A + 0.1 M NaCl

B) A: 10 mM Phosphate, pH 7.0;

B: A + 0.1 M NaCl

梯度条件: 15-65% B in 60 min

流速: 0.8 mL/min

样品: MAb-X22

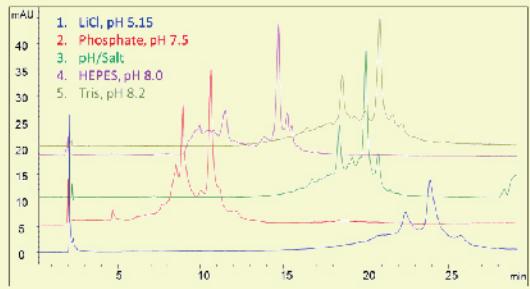
进样量: 10 μ L (1.5 mg/mL)

柱温: 25°C

检测波长: UV 214 nm

b) 流动相优化——不同缓冲体系的选择

图19. 不同缓冲体系对Antibodix分离效果的影响

色谱柱: Antibodix-NP5 (5 μ m, 4.6x250 mm)

流动相及梯度条件:

- 1) A: 20 mM NaAc, pH 5.15
B: A + 1 M LiCl, 20-29.4% from 10-35 min
 - 2) A: 20 mM Phosphate buffer, pH 7.5
B: A + 1 M NaCl, 0-6% in 30 min
 - 3) A: 2.4 mM Tris, 1.5 mM Imidazole, 11.6 mM
Piperazine, pH 6.0
B: A + 0.5 M NaCl, pH 10.5, 5-19% from 5-25 min
 - 4) A: 20 mM Tris, pH 8.0
B: 20 mM Tris, 100 mM NaCl, pH 8.2, 2-62% from
2-32 min, 0.7 mL/min
 - 5) A: 20 mM HEPES, pH 8.0
B: A + 1 M NaCl, 0-10% from 2-30 min
- 流速: 0.8 mL/min
样品: 抗体(1.0 mg/mL)
进样量: 20 μ L
柱温: 30°C
检测波长: UV 280 nm

订购信息

名称	柱体材质	粒径	内径x长度	货号
Antibodix-NP5 PEEK	PEEK	5 μ m	4.6mm x 250 mm	602NP5P-4625
Antibodix-NP10 PEEK	PEEK	10 μ m	4.6mm x 250 mm	602NP10P-4625

以上为部分规格订货信息, 其他规格或特殊定制产品, 请来电咨询。

Proteomix HIC疏水作用色谱柱

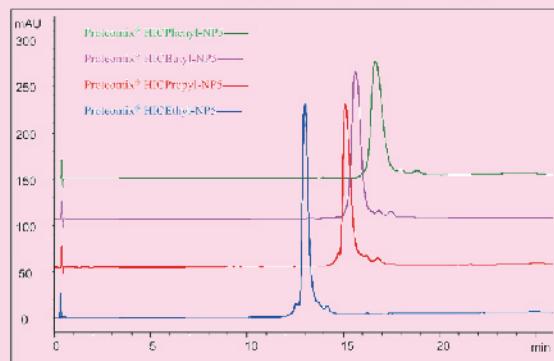
概述

赛分科技Proteomix HIC疏水作用色谱柱的填料为刚性、均匀、球形、高交联度的聚苯乙烯/二乙烯基苯(PS/DVB)颗粒，无孔填料的粒径有1.7、5、10 μm 等多种规格，具有高分辨、高柱效、重现性好的特点。运用赛分独有的化学键合技术，分别将疏水配基乙基(ethyl)、丙基(propyl)、丁基(butyl)和苯基(phenyl)均匀、致密地键合在PS/DVB的表面，获得四种由低到高具有不同疏水性差异的疏水作用色谱柱——Proteomix HIC Ethyl、HIC Propyl、HIC Butyl、HIC Phenyl。无孔单分散的疏水填料使得Proteomix HIC系列疏水作用色谱柱特别适合于分离单克隆抗体(MAb)、抗体偶联物(ADC)及相关存在疏水性差异的蛋白片段等。

优异的特性

- 单分散颗粒填料，具有高柱效、高分辨率的特点
- 三种粒径：1.7、5、10 μm ，满足UPLC分析及半制备需求
- 宽pH值范围：2 ~ 12
- 耐高压：1.7和5、10 μm 粒径填料分别耐受8000和6000 psi
- 最高使用温度：80°C
- 适用流动相：常规水相及有机溶剂
- 特别适合于单抗及其抗体偶联物(ADC)的分离分析

图1. Proteomix HIC四种配基的疏水性对比效果

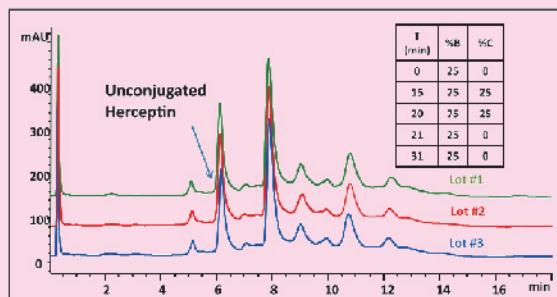


色谱柱：Proteomix HIC Phenyl-NP5 (5 μm , 4.6×35 mm)
 Proteomix HIC Butyl-NP5 (5 μm , 4.6×35 mm)
 Proteomix HIC Propyl-NP5 (5 μm , 4.6×35 mm)
 Proteomix HIC Ethyl-NP5 (5 μm , 4.6×35 mm)
 流动相：A: 25 mM Sodium phosphate buffer, 2.0 M Ammonium sulfate, pH7.0
 B: 25 mM Sodium phosphate buffer, pH7.0
 流速：0.8 mL/min 柱温：25°C
 检测波长：UV 280 nm 进样体积：5 μL
 样品：10 mg/mL Mab 254

良好的批间重现性

赛分科技严格监控聚合物树脂合成及表面化学修饰工艺，保证产品批间良好的重现性。

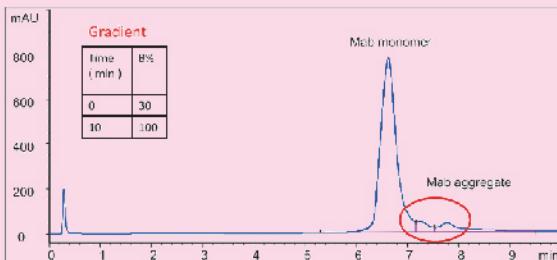
图2. Proteomix HIC Butyl 色谱柱批间重现性



色谱柱：4Proteomix HIC Butyl-NP5(5 μm , 4.6×35 mm)
 流动相：A: 2 M Ammonium sulfate in 0.025 M sodium phosphate, pH7.0
 B: 0.025 M sodium phosphate, pH7.0
 C: 100% IPA
 流速：0.8 mL/min 柱温：25°C
 检测波长：UV 214 nm 进样体积：10 μL
 样品：ADC, 1 mg/ml in Ammonium sulfate

a) 单抗

图3. HIC对抗体的检测应用



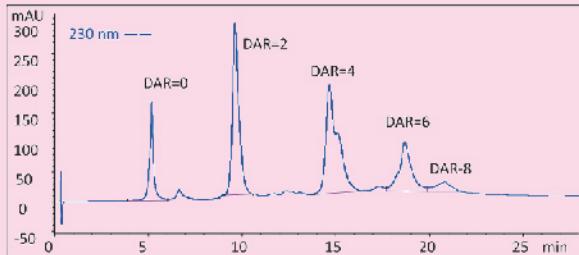
色谱柱：Proteomix HIC Phenyl-NP5 (5 μm , 4.6×35 mm)
 流动相：A: 100 mM Sodium phosphate buffer, 2.0 M Ammonium sulfate, pH7.0;
 B: 100 mM Sodium phosphate buffer, pH7.0
 流速：1.0 mL/min
 柱温：25°C 检测波长：UV 214 nm
 进样体积：6 μL 样品：单抗2.5 mg/mL

b) ADC

抗体药物用于肿瘤治疗已取得突破性进展。将小分子抗癌药物与抗体相结合，利用抗体对靶细胞的特异性结合能力，将药物特异性地输送到肿瘤部位，从而降低药物的毒副作用并增强抗体药物的治疗作用——构建抗体偶联药物(ADC)已成为近年来抗体药物的研发趋势。因偶联的药物分子数目会直接影响ADC在体内药效作用，因此，控制偶联物的位置和数量是ADC药物研究的重点之一。

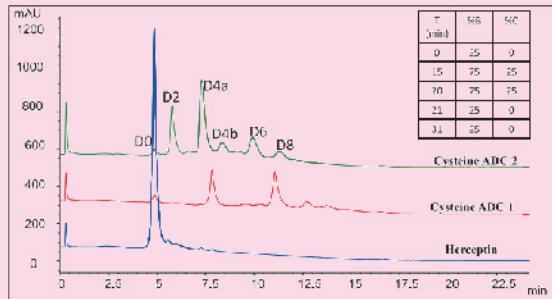
疏水作用色谱，利用抗体偶联小分子药物的疏水性差异，对偶联数目不同的ADC药物进行有效分离。赛分Proteomix HIC系列色谱柱，在ADC检测方面具有独特的应用。

图4. 抗体偶联物ADC样品图谱



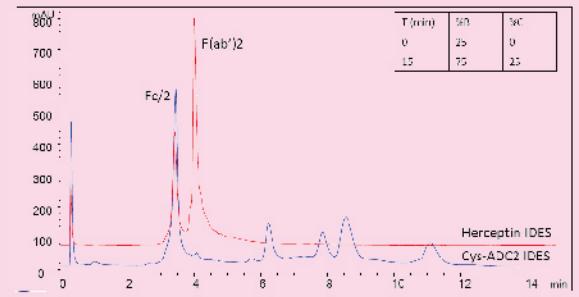
色谱柱: Proteomix HIC Butyl-NP5 (5 μ m, 4.6 \times 35 mm)
 流动相: A: 25 mM sodium phosphate buffer, 1.5 M Ammonium sulfate, pH7.0 (by 5 M NaOH)
 B: 25 mM sodium phosphate buffer, 30% isopropanol, pH7.0 (by Phosphoric acid)
 流速: 0.8 mL/min 柱温: 25°C
 检测波长: UV 214 nm 进样体积: 10 μ L
 样品: 6 mg/mL ADC

图5. Proteomix HIC Butyl 分离Herceptin-ADCs



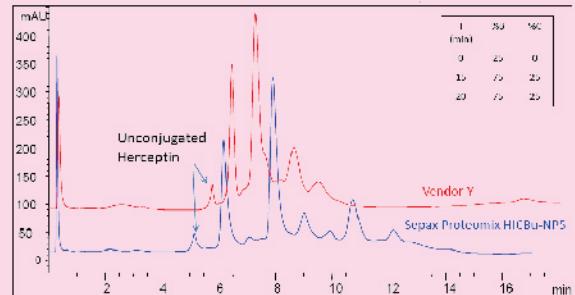
色谱柱: Proteomix HIC Butyl-NP5 (5 μ m, 4.6 \times 35 mm)
 流动相: A: 2 M Ammonium sulfate in 0.025 M sodium phosphate, pH7.0,
 B: 0.025 M sodium phosphate, pH7.0,
 C: 100% IPA
 流速: 0.8 mL/min 柱压: 100 bar
 柱温: 25°C 检测波长: UV 214 nm
 进样体积: 10 μ L
 样品: Herceptin/ADC/ADC2, 1 mg/ml in 25 mM Sodium phosphate

图6. 赫赛汀及半胱氨酸ADC经IdeS酶切后的片段在Proteomix HIC Butyl上的分离



色谱柱: Proteomix HIC Butyl-NP5 (5 μ m, 4.6 \times 35 mm)
 流动相: A: 2 M Ammonium sulfate in 0.025 M sodium phosphate, pH7.0,
 B: 0.025 M sodium phosphate, pH7.0
 C: 100% IPA
 流速: 0.8 mL/min 柱温: 25°C
 检测波长: UV 214 nm 进样体积: 10 μ L
 样品: 10 μ L for Herceptin, 20 μ L for cysteine-ADC 1 mg/mL in 750 mM ammonium sulfate 25 mM sodium phosphate pH7.0

图7. Proteomix HIC Butyl 与其他柱子对ADC分析效果对比



色谱柱: Proteomix HIC Butyl-NP5 (5 μ m, 4.6 \times 35 mm)
 Vendor Y Butyl HIC 4.6 \times 35 mm
 流动相: A: 2 M Ammonium sulfate in 0.025 M sodium phosphate, pH7.0,
 B: 0.025 M sodium phosphate, pH7.0,
 C: 100% IPA
 流速: 0.8 mL/min 柱温: 25°C
 检测波长: UV 214 nm 进样体积: 10 μ L
 样品: Cysteine ADC, 1 mg/ml in 25 mM Sodium phosphate

Proteomix HIC-NP5	粒径, 内径x长度	
	5 μ m, 4.6 \times 35 mm	5 μ m, 4.6 \times 100 mm
Proteomix HIC Ethyl	432NP5-4603	432NP5-4610
Proteomix HIC Propyl	434NP5-4603	434NP5-4610
Proteomix HIC Butyl	431NP5-4603	431NP5-4610
Proteomix HIC Phenyl	433NP5-4603	433NP5-4610

注: 以上为部分订货信息, 其它规格或特殊定制产品, 请来电咨询。

Proteomix RP疏水反相色谱柱

概述

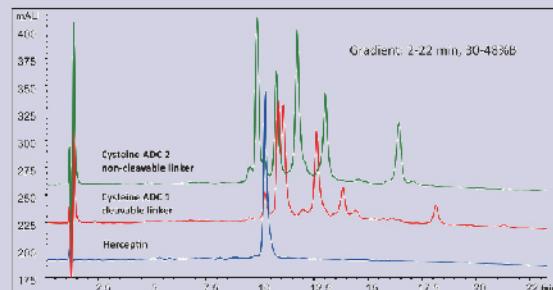
赛分科技Proteomix RP疏水反相色谱柱填料为刚性、均匀、球形、高交联度的多孔聚苯乙烯/二乙烯基苯(PS/DVB)颗粒，填料粒径有5和10 μm两种规格，孔径有500 Å和1000 Å两种规格。Proteomix RP填料通过苯基及表面修饰的烷基基团与待测物发生疏水相互作用，用于反相液相色谱分离，尤其适用于多肽、单克隆抗体(MAb)、抗体偶联物(ADC)等蛋白及其片段的分离分析。

优异的特性

- 单分散颗粒填料，具有高柱效、高分辨率的特点
- 与硅胶反相填料比，可耐受宽pH值范围：1 ~ 14
- 最大耐受压力：100 bar
- 耐高温：可在80°C条件下使用
- 适用纯水相、水与乙腈、丙酮、甲醇及THF的混合溶剂
- 特别适合于单抗及其抗体偶联物(ADC)的分离分析

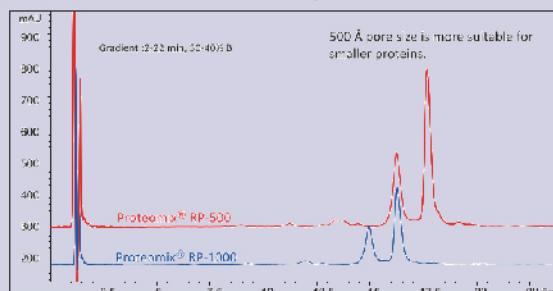
应用实例

图1. 单克隆抗体赫赛汀(Herceptin)及其偶联物(ADCs)在Proteomix RP-1000上的分离分析



色谱柱: Proteomix RP-1000 (5 μm, 1000 Å, 4.6×100 mm)
流动相: A: 0.1% TFA in water
B: 0.1% TFA in 100% ACN
流速: 1.0 mL/min 柱温: 80°C
检测波长: UV 210 nm 进样量: 10 μL
样 品: Herceptin and ADCs 1 mg/mL diluted in 0.1% TFA/H₂O

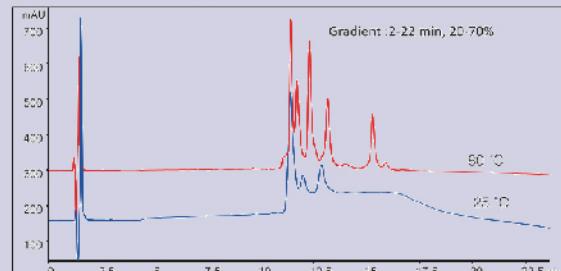
图2. 高温条件下赫赛汀(Herceptin)偶联物ADC的分析



色谱柱: Proteomix RP-1000 (5 μm, 1000 Å, 4.6×100 mm)
流动相: A: 0.1% TFA in water
B: 0.1% TFA in 100% ACN

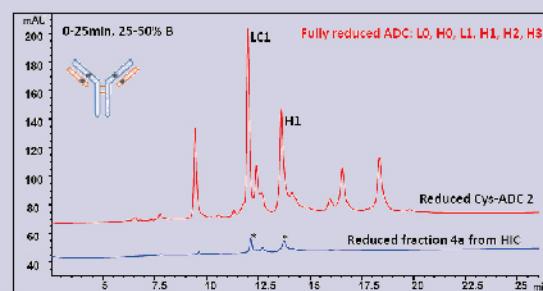
流速: 1.0 mL/min 柱温: 25/80°C
检测波长: UV 210 nm 进样量: 20 μL
样 品: 赫赛汀半胱氨酸ADC2, 1 mg/mL, 在0.1% TFA水溶液中稀释

图3. 单克隆抗体片段Fab/Fc在不同孔径Proteomix RP谱柱上的分离效果



色谱柱: Proteomix RP-1000 (5 μm, 1000 Å, 4.6×100 mm)
Proteomix RP-500 (5 μm, 500 Å, 4.6×100 mm)
流动相: A: 0.1% TFA in water
B: 0.1% TFA in 100% ACN
流速: 1.0 mL/min 柱温: 40°C
检测波长: UV 210 nm 进样量: 20 μL
样 品: 酶切后的单抗, 1 mg/mL, 在0.1% TFA水溶液中稀释

图4. Proteomix RP-1000对ADC重轻链片段的药物结合分析



色谱柱: Proteomix RP-1000 (5 μm, 1000 Å, 2.1×250 mm)
流动相: A: 0.1% TFA in water;
B: 0.1% TFA in 100% ACN
流速: 0.4 mL/min 柱温: 80°C
检测波长: UV 214 nm
进样量: 30 μL for cysteine ADC separated on HIC, fraction 4a concentrated to 45 μL, reduced with 20mM DTT

订购信息

色谱柱规格	Proteomix RP-500	Proteomix RP-1000
粒径, 内径x长度	孔径500 Å	孔径1000 Å
5 μm, 4.6×100 mm	465500-4610	465950-4610
10 μm, 4.6×100 mm	469500-4610	469950-4610

注: 以上为部分订货信息, 其它规格或特殊定制产品, 请来电咨询。

ProAqa Excel 抗体亲和色谱柱

概述

ProAqa Excel 亲和色谱柱专门适用于细胞系筛选或上游生物工艺优化和质量控制过程中快速准确的单克隆抗体定量。填料是由平均粒径 20 μm 、孔径 1000-2000 \AA 的均一的 PS/DVB 填料颗粒与重组蛋白 A 配体偶联而成，该配体能与除 IgG3 以外的免疫球蛋白以及含 Fc 的融合蛋白结合。填料具有机械强度，可以承受高流速和高压操作。

技术参数

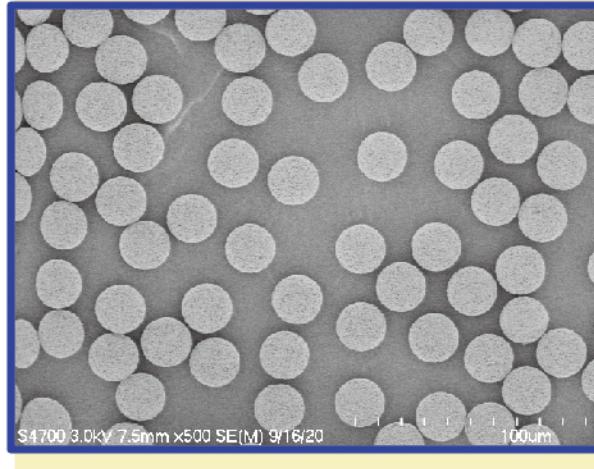
ProAqa Excel	参数
填料基质(粒径, 孔径)	均一的 PS/DVB (20 μm , 1000-2000 \AA)
固定配体	重组蛋白A
色谱柱尺寸 (内径×长度)	2.1 mm × 30 mm
色谱柱材质	不锈钢
最大压力	200 bar
pH 范围	1.2-13.0
最大流速	5 mL/min
推荐流速	1-3 mL/min
CIP	0.1 M NaOH
结合缓冲液 pH	6.6-7.5
寿命	>2000次进样
标准进样量	10 μL
IgG 检测浓度	0.029-40 mg/mL*
LOD	0.29 μg

(*UV 280 nm: 0.029 - 7.500 mg/mL, UV 300 nm: 0.117-40.000 mg/mL)

填料特性

- 快速的抗体滴度测定
流速快达 3 mL/min
总循环(含平衡)时间可小于 0.5 min
- 线性响应范围高达 40 mg/mL
UV 280 nm: 0.029 - 7.50 mg/mL, LOD 0.294 μg
UV 300 nm: 0.117 - 40.0 mg/mL
- 耐用性: > 2000 次进样
- 重现性: 优良的批间一致性
- 适用于不同含量的 CHO 细胞中蛋白的含量测定
- 兼容 HPLC、UPLC 和 FPLC 系统

图1. ProAqa Excel 填料扫描电镜图
均一的Sepax填料颗粒(20 μm) D90/D10<1.3

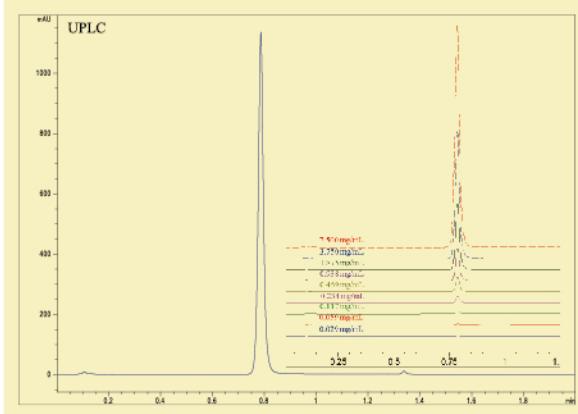


应用实例

实验条件

仪器	UPLC Agilent 1290; HPLC Agilent 1260
色谱柱	20 μm , 2.1 mm×30 mm; 271120980-2103S
结合缓冲液	50 mM 磷酸盐, 150 mM NaCl, pH 7.0
洗脱缓冲液	100 mM 甘氨酸, pH 2.5
梯度	0.00-0.10 min: 结合缓冲液 0.11-0.60 min: 洗脱缓冲液 0.60-2.00 min: 结合缓冲液
流速	1.0 mL/min
hIgG浓度	0.029-30 mg/mL
样品	2.0 mg/mL hIgG + 上清液
柱温	23°C
进样量	10 μL
检测器	HPLC-UV@280 nm HPLC-UV@280 nm和300 nm

图2. hIgG分析-线性范围和LOD



ProAqa Excel 亲和色谱柱可用来对抗体以及能结合 Protein A 的融合蛋白进行定量。图 2 是 hIgG 分析图谱。

图3. 线性范围和批间一致性 (UV 280 nm)

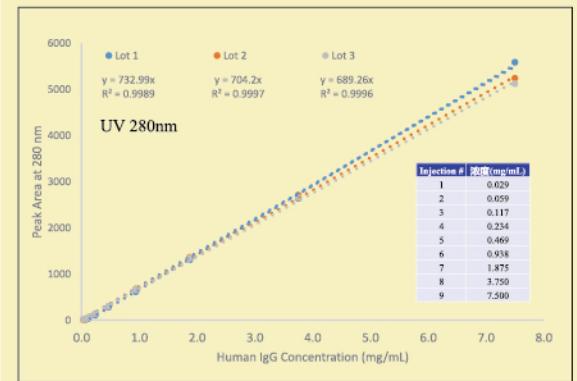
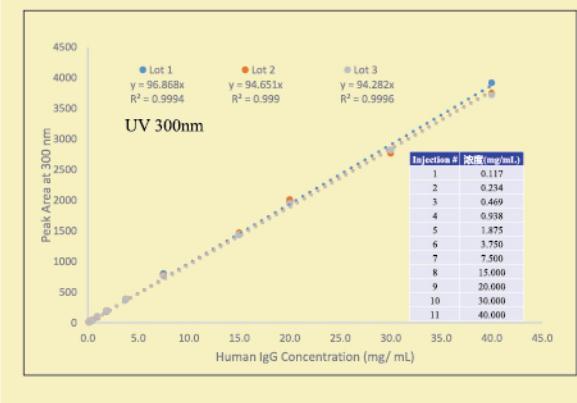
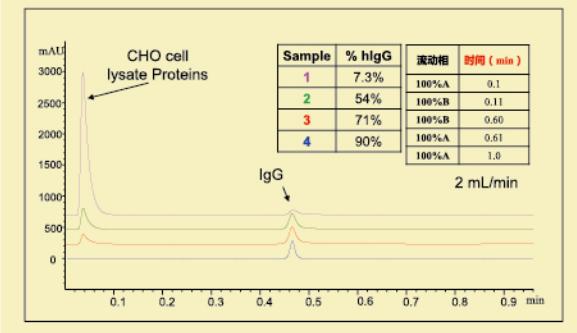


图4. 线性范围和批间一致性 (UV 300 nm)



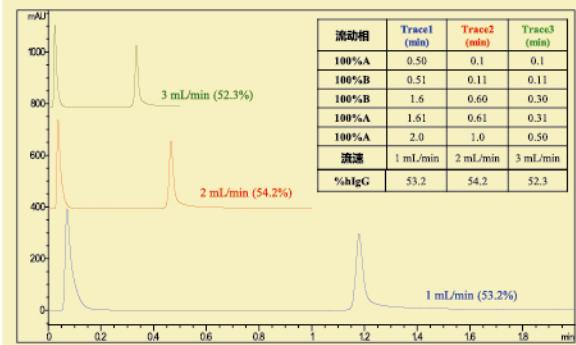
如图 3 和图 4 所示, ProAqa Excel 柱实现了宽线性范围响应: 检测波长为 280 nm 时响应范围为 0.029 - 7.500 mg/mL, 300 nm 时响应值高达 40 mg/mL。ProAqa Excel 柱在 280 和 300 nm 下的批间一致性实验体现了它优异的重现性。

图5. 不同含量CHO细胞培养上清液蛋白



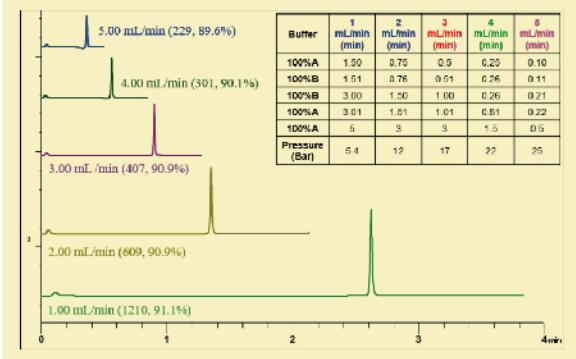
该研究发现, ProAqa Excel 色谱柱在不同 CHO 细胞培养上清液蛋白浓度(7.3%, 54%, 71%, 90%)下均表现出优异的分离性能。

图6. CHO细胞培养上清液蛋白中的hIgG快速分析



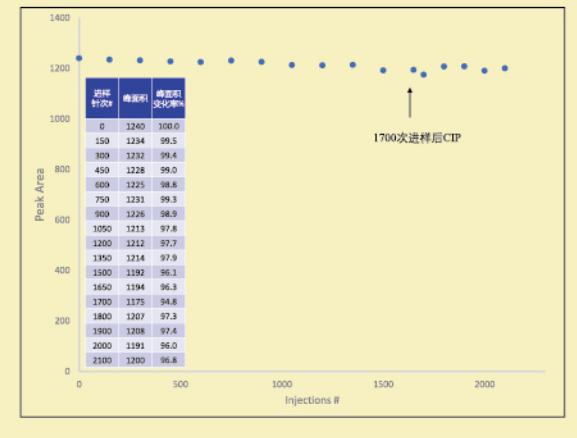
ProAqa Excel 色谱柱能够承受高流速和高压操作。从 1 mL/min 到 3 mL/min 的流速下检测了 CHO 细胞培养上清液蛋白中的 hIgG, 流速为 3 mL/min 时, 总循环时间小于 0.5 min, 并且 hIgG 的浓度没有显著变化。

图7. 快速检测研究-流速&平衡



通过优化色谱条件(包括流速和平衡)完成进行滴度分析。如图 7 所示, 分析了 1-5 mL/min 的不同流速。高流速能够减小总分析时间, 但会导致信号和灵敏度降低。

图8. 色谱柱寿命时间测试



ProAqa Excel 色谱柱十分耐用, 进样 2000 多次后在保留时间、峰面积和对称性上变化微小。图 8 展示了进样 1700 针后用 0.1 M NaOH CIP 15 min 的研究。

订购信息

规格 内径×长度 (mm×mm)	材质	柱体积 (mL)	订货号
标准规格			
2.1×30	不锈钢	0.1	271120980-2103S
定制规格			
2.1×50	不锈钢	0.17	271120980-2105S
4.6×35	不锈钢	0.58	271120980-4603S
4.6×50	不锈钢	0.83	271120980-4605S
4.6×100	不锈钢	1.66	271120980-4610S

图9. CIP后耐用性和线性范围研究

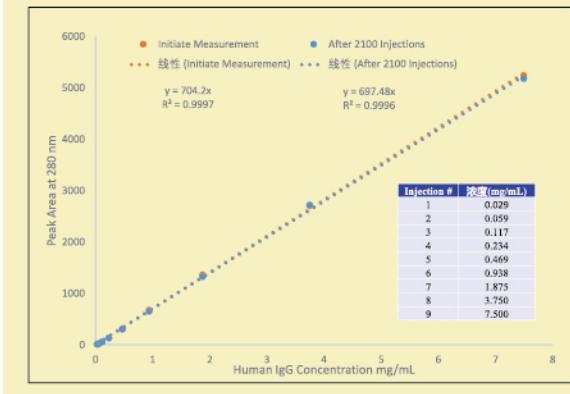


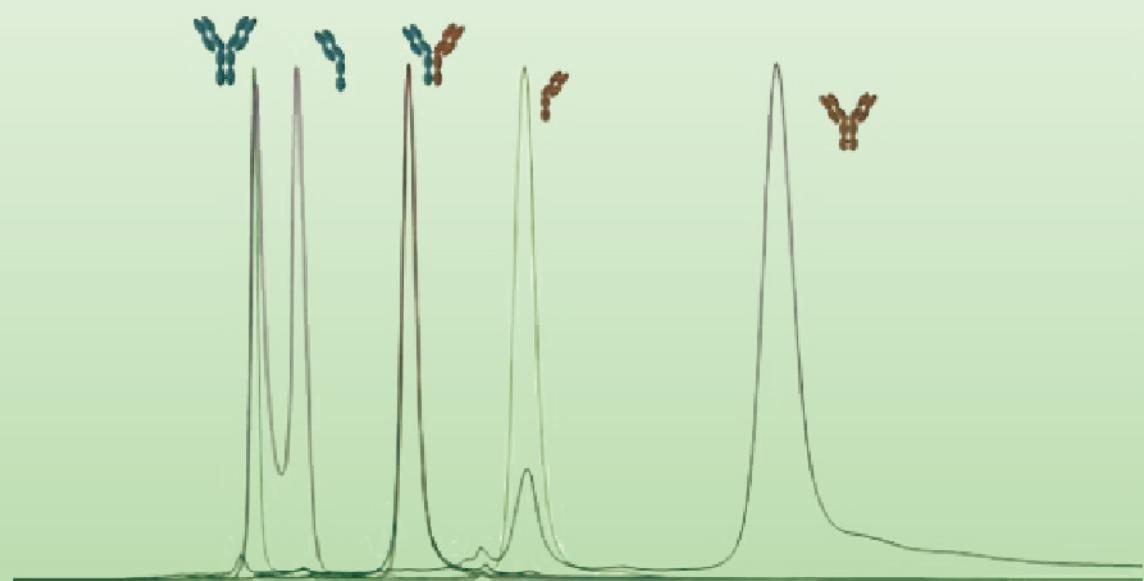
图 9 展示了 ProAqa Excel 色谱柱进样 2000 针后的线性范围性能研究, 在 hIgG 的平衡曲线中没有发现显著变化, 色谱柱依旧保持它的高载量和优异线性。

双抗分析方案

Proteomix CV-1色谱柱 (双抗分离专用柱)

BioMix SEC-300色谱柱 (双抗错配专用柱)

双抗分析解决方案



Proteomix CV-1色谱柱 (双抗分离专用柱)

概述

Proteomix CV-1色谱柱是专为双抗分离而设计，具有高分辨率、高柱效、高回收率的特点。填料基质是高交联度、均匀的刚性无孔PS/DVB球形颗粒。无孔填料粒径为5 μm 。PS/DVB填料表面键合一层高度亲水、纳米级厚度的中性聚合物薄膜。疏水的PS/DVB填料表面被亲水材料完全覆盖，它能够避免PS/DVB对生物分子不可逆吸附，保证了其具有高分离效率和生物样品回收率。

优异的特性

- 高稳定性
- 与大多数水性缓冲液兼容
- 高分离效率、高分离效率和生物样品回收率
- 填料基质高交联度、均匀无孔

填料稳定性和性能

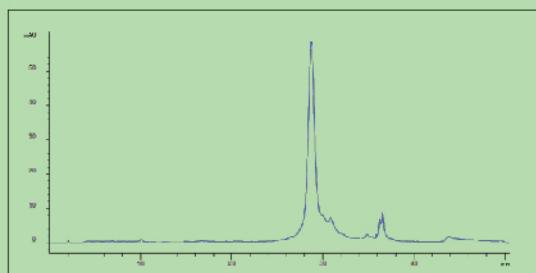
Proteomix CV-1色谱柱基于无孔PS/DVB颗粒，表面涂有赛分独有的亲水、均匀的离子交换功能基团。这些填料有3个特性：首先，纳米级厚度的亲水层完全避免了对生物样品的非特异性吸附；其次，无孔颗粒结构使生物样品的横向扩散达到最小，并且阻止了其向柱床的扩散；第三，赛分科技的专有技术合成了均匀致密的离子交换层。独具匠心设计的Proteomix CV-1填料可为双抗提供最高的分辨率和分离效率。

技术参数

产品名称	柱体材质
填料	高度交联的PS/DVB树脂载体接枝有致密堆积的纳米厚亲水涂层，该涂层与均匀的离子交换层化学键合
粒径	无孔：5 μm
DBC	28 mg/mL 树脂
pH稳定性	2-12
操作温度	< 80°C
操作压力极限	5000 psi (344 bar)
流动相兼容性	兼容于水溶液、水和乙腈、丙酮或甲醇的混溶物，典型的缓冲剂：磷酸盐、Tris和乙酸盐
流速	色谱柱内径为4.6 mm时通常为0.1-1.0 mL/min

应用实例

图1. Proteomix CV-1色谱柱分离双抗酸碱变体



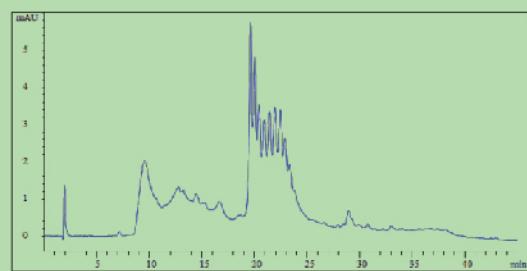
色谱柱：Proteomix CV-1 (5 μm , 4.6×250 mm)

进样量：15 μL

流速：0.8 mL/min

检测波长：UV 280 nm

图2. Proteomix CV-1色谱柱分离双抗酸碱变体



色谱柱：Proteomix CV-1 (5 μm , 4.6×250 mm)

进样量：5 μL

流速：1.0 mL/min

检测波长：UV 280 nm

订购信息

产品名称	粒径	内径×长度	订货号
Proteomix CV-1	5 μm	10×250 mm	405005-10025
Proteomix CV-1	5 μm	4.6×250 mm	405005-4625
Proteomix CV-1 PEEK	5 μm	4.6×250 mm	405005P-4625

注：以上为部分订货信息，其它规格或特殊定制产品，请来电咨询。

BioMix SEC-300色谱柱 (双抗错配专用柱)

概述

赛分科技BioMix SEC-300色谱柱填料基质为孔径300 Å、粒径3 μm的高纯度、高机械稳定性的球形二氧化硅颗粒，表面键合一层均一、亲水、中性的纳米厚膜。专有的表面技术能较好地控制薄膜形成的化学过程，从而产生高的柱间重现性。BioMix SEC-300色谱柱能够对多种样品（如双特异性抗体、疏水性样品等）实现高分辨率和高回收率的分离。

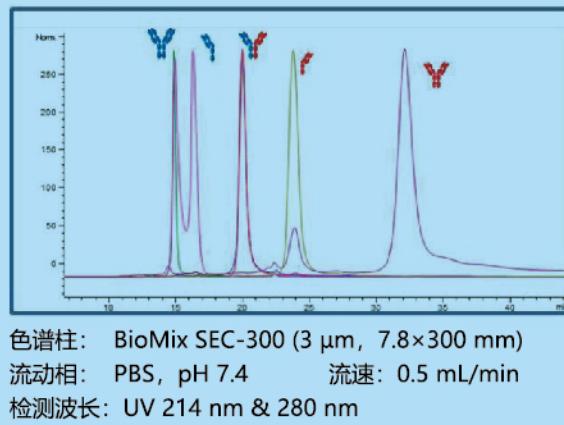
填料特性

- 高分辨率及高回收率
- 兼容大多数水性缓冲液
- 适宜筛选不同表达的细胞培养克隆抗体、监测其纯化和评价药物纯度

高分辨率

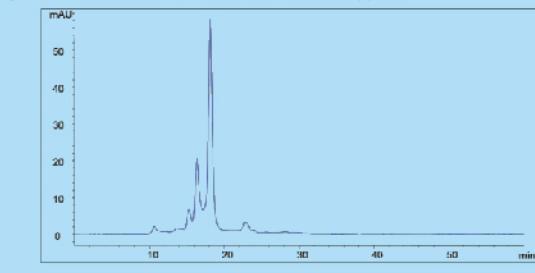
Biomix在分离双抗错配体方面表现出了强大的能力，峰分辨率其他方法无法比拟，可以将目标双抗与同源二聚体、半抗以及轻链或重链错配体进行较好的分离。该方法可以定量检测即使是低丰度存在的抗体，为筛选细胞培养克隆体的不同表达、监测其纯化和评价药物纯度都提供了新的工具。

图1. 双抗和其他次要形式抗体（含同源二聚体和错配抗体）分离



应用实例

图2. BioMix SEC-300分离出双抗错配



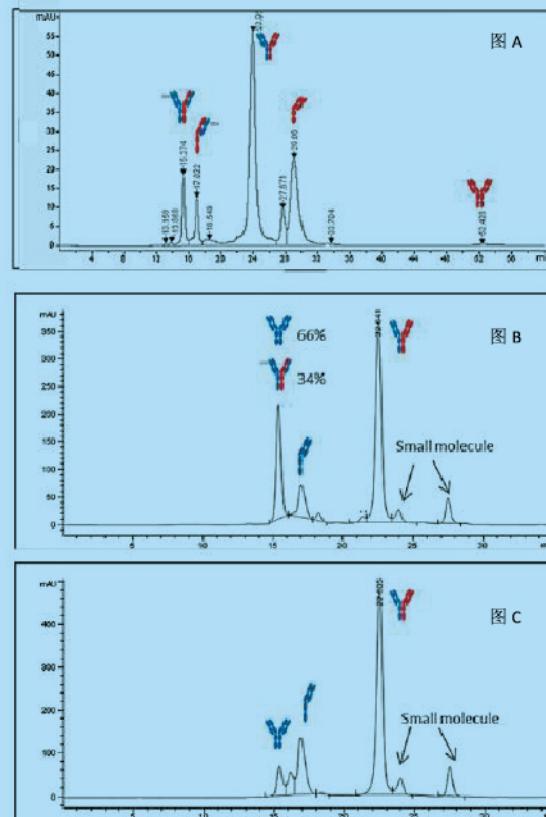
色谱柱: BioMix SEC-300 (3 μm, 300 Å, 7.8×300 mm)

进样体积: 100 μL

流速: 0.5 mL/min

检测波长: UV 280 nm

图3. 双抗的不同细胞培养样品分析



色谱柱: BioMix-300 (3 μm, 7.8×300 mm)

流动相: PBS, pH 7.4

流速: 0.5 mL/min

检测波长: UV 214 nm & 280 nm

以Biomix对同一双抗的三种主要类型细胞培养样品做分析，观察得到：在1型样品（图A）中，存在大量各种半抗；双抗的组装效率不高，双抗含量低至30%。并且能观察到相当数量的非目标产物，包括错配的全聚体和半抗（重链-轻链错配）。在2型样品（图B）中，主要形式是所需的双抗，还有一些单抗A的半抗，以及大量的单抗A同源二聚体和一些一起洗脱的错配体。然而，几乎没有产生单抗B的半抗。3型样品（图C）与2型样品相似，只是单抗A的同源二聚体占比要低得多，且未见错配体。

订购信息

产品名称	粒径	孔径	内径×长度	订货号
Biomix SEC-300	3 μm	300 Å	7.8×300 mm	214300-7830

注：以上为部分订货信息，其它规格或特殊定制产品，请来电咨询。

双抗分析解决方案

概述

双特异性抗体是含有两种特异性抗原结合位点的人工抗体，双位点的能力和协同效应让双抗能够提供更多的治疗潜力，现已成为抗体工程领域的热点，在肿瘤的免疫治疗中具有广阔的应用前景。

双抗的分析具有挑战性，相比单克隆抗体而言，双抗多聚体和片段的种类更多，存在形式更复杂，需要更高的分辨率才能对其进行检测和分离。

由于双抗结构复杂多变，其末端的改变、糖基化等都会引起表面电荷的改变。电荷变异会影响药物的组织分布及药代动力学，在开发和生产的全过程中，需要密切监控和研究双抗的电荷异质体以确保产品质量。

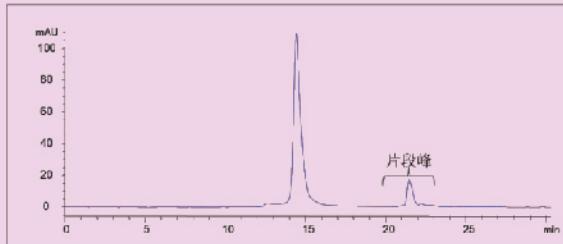
此外，在双抗的细胞培养过程中，表达所产生的轻链和重链会通过杂交重组配对产生一些非目标产物的错配形式，不仅降低了双抗的产量，而且给分析和纯化过程带来很大的困难。

双抗聚体和片段的分离常用体积排阻色谱柱进行，电荷异质体的分离需要离子交换色谱柱，检测双抗错配则会用到疏水作用和混合模式的色谱柱。双抗结构复杂，对于每个色谱柱都有各自的适用特性，赛分科技不同类型色谱柱能为分离和鉴定双抗提供有效的解决方案。

分离双抗的多聚体和片段

赛分科技Zenix体积排阻柱采用单分散、球形、表面键合了一层纳米厚度重型亲水性薄膜的3 μm 硅胶作为填料。3 μm 的粒径结合大的孔体积，使其具有很高的分辨率，适用于双抗多聚体和片段的检测和分离。

图1. Zenix SEC-300 分析双抗



分析柱: Zenix SEC-300 (3 μm , 300 \AA , 7.8×300 mm)

流速: 0.5 mL/min

检测波长: UV 280 nm

检测温度: 27 °C

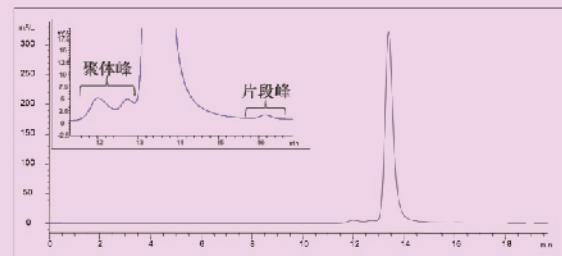
样 品: 双抗

进样量: 10 μL

如图1所示，Zenix SEC-300可以分离出双抗样品的片段峰，减小片段峰导致的拖尾。

赛分科技Zenix-C系列体积排阻色谱柱是在Zenix系列的基础上，专门推出用于高疏水性蛋白的新型色谱柱。其填料采用化学键合技术，表面亲水涂层覆盖完全，因此不仅具有优异的稳定性，而且对蛋白等生物样品的非特异性吸附作用也非常小。

图2. Zenix-C SEC-300分析双抗



分析柱: Zenix-C SEC-300 (3 μm , 300 \AA , 7.8×300 mm)

流速: 0.5 mL/min

检测波长: UV 280 nm

检测温度: 室温

样 品: 双抗

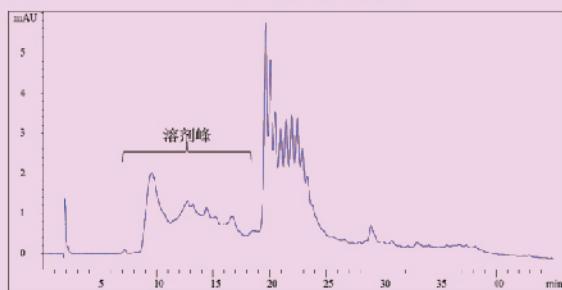
进样量: 10 μL

从图2中可以看到，Zenix-C SEC-300可以从结构复杂的双抗样品分离出多聚体及片段。

分离双抗的电荷异质体

赛分科技Proteomix CV-1色谱柱专为双抗分离而设计，在高交联度、均匀的刚性无孔PS/DVB球形颗粒表面键合了一层高度亲水、纳米厚度的中性聚合物薄膜，避免了对生物分子的非特异性吸附，加上赛分科技专有技术合成的离子交换层，可为双抗提供高分辨率和高效率的分离。

图3. Proteomix CV-1分离双抗酸碱变体



分析柱: Proteomix CV-1 (5 μm , 4.6×250 mm)

流速: 1.0 mL/min

检测波长: UV 280 nm

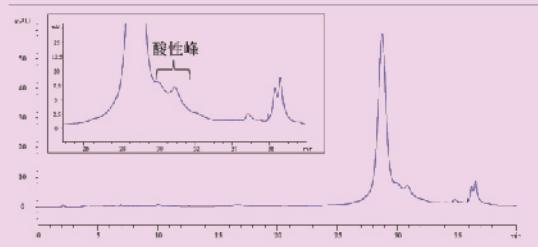
检测温度: 室温

样 品: 双抗, 1.8 mg/mL

进样量: 5 μL

如图3所示，Proteomix CV-1能有效分离双抗的酸碱变体，分析结果能与iCIEF图进行有效对比。

图4. Proteomix CV-1分离双抗酸碱变体

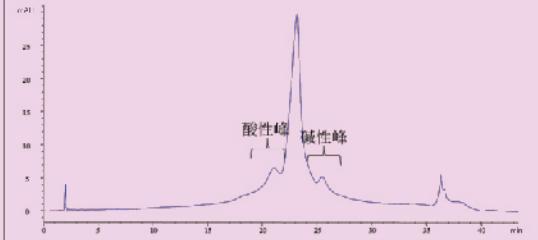


分析柱: Proteomix CV-1 (5 μ m, 4.6×250 mm)
流速: 0.8 mL/min 检测器: 280 nm
检测温度: 室温
样 品: 双抗, 4.1 mg/mL 进样量: 15 μ L

从图4中可以看到, 赛分Proteomix CV-1柱能够达到酸性峰、碱性峰与主峰分离的效果

赛分科技Proteomix离子交换色谱柱填料为刚性、均匀、球形、高交联度的聚苯乙烯/二乙烯基苯(PS/DVB)颗粒。无孔填料的粒径有1.7、3、5和10 μ m等多种规格。PS/DVB填料表面键合有一层高度亲水的纳米级中性聚合物薄膜。疏水的PS/DVB填料表面完全被这种亲水材料覆盖, 从而消除了PS/DVB对生物分子的不可逆吸附, 保证了其具有很高的分离效率和生物样品活性回收率。运用赛分独有的化学键合技术, 可将离子交换官能基团致密、均匀地键合在亲水层的表面, 获得高容量的离子交换层。

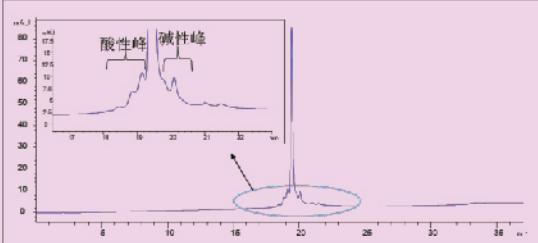
图5. Proteomix SCX-NP5分离双抗酸碱变体



分析柱: Proteomix SCX-NP5 (5 μ m, 4.6×250 mm)
流速: 0.8 mL/min;
检测波长: UV 280 nm
检测温度: 30°C
样 品: 双抗, 4.8 mg/mL; 进样量: 10 μ L

从图5中可以看到, 赛分Proteomix SCX-NP5柱能够达到酸性峰、碱性峰与主峰分离的效果。

图6. Proteomix-SCX-NP5分离双抗酸碱变体



分析柱: Proteomix-SCX-NP5 (5 μ m, 4.6×250 mm)

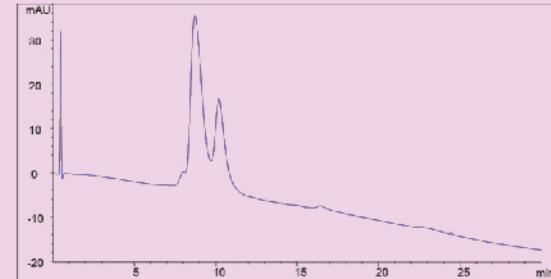
流速: 0.8 mL/min
检测波长: UV 280 nm
检测温度: 30°C
样 品: 双抗, 5 mg/mL(D5a)
进样量: 5 μ L

从图6中可以看到, 赛分Proteomix-SCX-NP5柱能够分离出较多的酸性峰及碱性峰。

疏水作用色谱柱分析双抗

赛分科技Proteomix HIC疏水作用色谱柱的填料为刚性、均匀、球形、高交联度的聚苯乙烯/二乙烯基苯(PS/DVB)颗粒, 无孔填料的粒径有1.7、3、5和10 μ m等多种规格, 具有高分辨、高柱效、重现性好的特点。无孔单分散的疏水填料使得Proteomix HIC系列疏水作用色谱柱特别适合于分离存在疏水性差异的双抗片段等。

图7. Proteomix HIC Butyl分析双抗



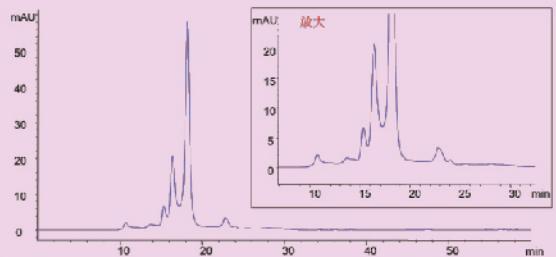
分析柱: Proteomix HIC Butyl-NP5 (5 μ m, 4.6×30 mm)
流速: 0.6 mL/min 检测波长: UV 280 nm
检测温度: 室温
样 品: 双抗, 26.1 mg/mL
进样量: 2 μ L

从图7中可以看出, Proteomix HIC Butyl-NP5能够分离出双抗中疏水性不同的成分。

BioMix色谱柱分离双抗错配

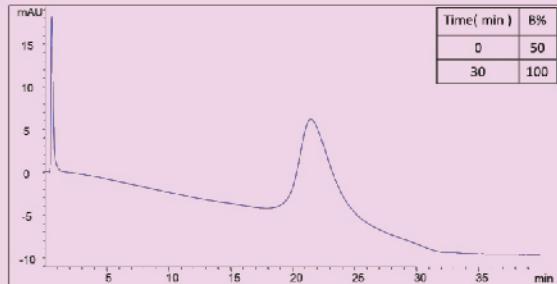
赛分科技BioMix SEC-300色谱柱填料基质为孔径300 \AA 、粒径3 μ m的高纯度、高机械稳定性的球形二氧化硅颗粒, 表面键合一层均一、亲水、中性的纳米厚膜, 专有的表面技术能较好地控制薄膜形成的化学过程。混合模式体积排阻方法具有独特的分离机理, 其中分子分离的主要驱动力是表面疏水团簇与色谱填料的特殊相互作用。BioMix SEC-300色谱柱能够准确地定量检测双抗和其他次要形式的抗体, 包括同源二聚体和错配的抗体。BioMix在分离双抗错配体方面表现出了强大的能力, 峰分辨率是其他方法无法比拟, 可以将目标双抗与同源二聚体、半抗以及轻链或重链错配体进行较好的分离。

图8. BioMix SEC-300分析双抗



分析柱: BioMix SEC-300 (3 μ m, 300 \AA , 7.8 \times 300 mm)
流速: 0.5 mL/min
检测波长: UV 280 nm
检测温度: 室温
样品: 双抗, 0.23 mg/mL
进样量: 100 μ L

图9. Proteomix HIC Butyl分析双抗



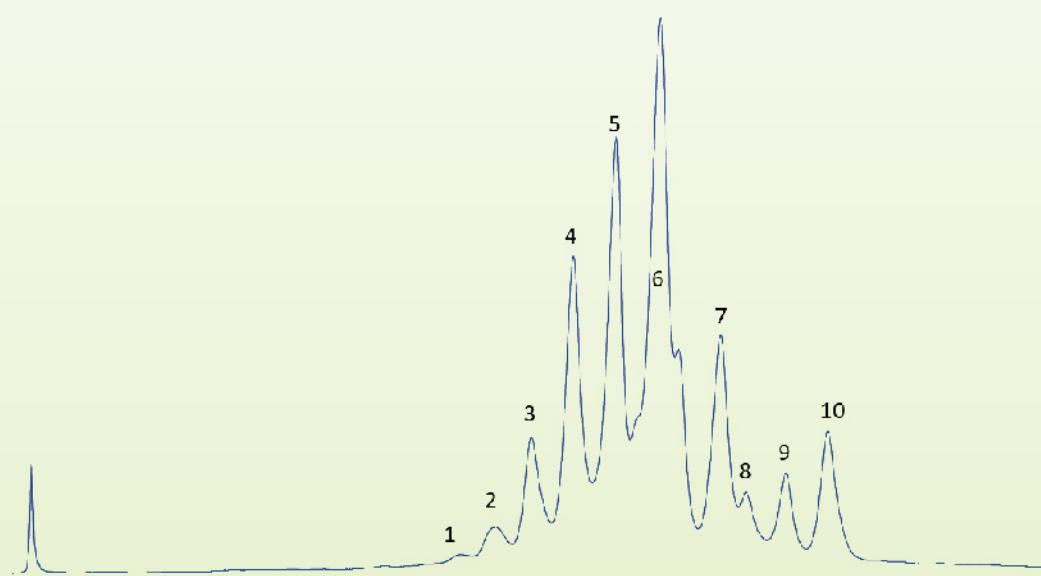
分析柱: Proteomix HIC Butyl-NP5 (5 μ m, 4.6 \times 30 mm)
流速: 0.6 mL/min
检测波长: UV 280 nm
检测温度: 室温
样品: 双抗, 0.23 mg/mL
进样量: 100 μ L
对比图8和图9可以看到, 赛分BioMix SEC-300能够分离出双抗错配, 而Proteomix HIC Butyl-NP5不行。

订购信息及方案推荐

货号 (P/N)	色谱柱	规格	分离模式	适用性
405005-4625	Proteomix CV-1	5 μ m, 4.6 mm \times 250 mm	离子交换	适用于分离双抗生产过程中产生的电荷异质体, 能有效对比iCIEF图
401NP5-4625	Proteomix SCX-NP5	5 μ m, 4.6 mm \times 250 mm	离子交换	适用于分离大部分双抗生产过程中产生的电荷异质体
214300-7830	Biomix SEC-300	3 μ m, 300 \AA , 7.8 mm \times 300 mm	复合模式	适用于解决双抗生产过程中产生的错配问题
431NP5-4603	Proteomix HIC Butyl	5 μ m, 4.6 mm \times 35 mm	疏水作用	有效分离双抗疏水性差异样品
213300-7830	Zenix SEC-300	3 μ m, 300 \AA , 7.8 mm \times 300 mm	体积排阻	适用于分离双抗生产过程中产生的聚体及片段峰
233300-7830	Zenix-C SEC-300	3 μ m, 300 \AA , 7.8 mm \times 300 mm	体积排阻	针对性解决个别具有特异性吸附的双抗的聚体峰及片段峰

电荷异质体分析制备方案

电荷异质体分析及制备解决方案



电荷异质体分析及制备解决方案

概述

单克隆抗体的结构变异（异质体）通常与该抗体的生物活性和副作用相关。由于抗体分子所带电荷差异造成的异质性称为电荷异质体，一般分为酸性异质体和碱性异质体。

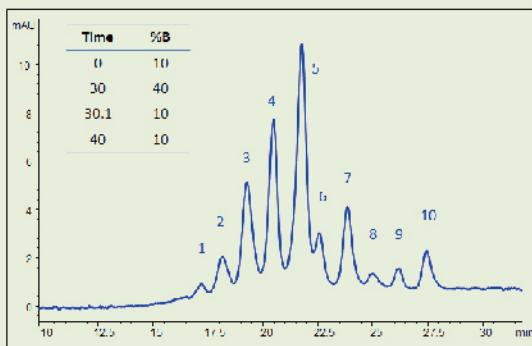
电荷变异会影响药物的组织分布及药代动力学：增加正电荷，会提高药物的组织滞留，降低血液清除；降低正电荷，会减少药物的组织滞留，提高药物的全身清除。因此，在开发和生产的全过程中，需要密切监控和研究单克隆抗体的电荷异质体以确保产品质量。

电荷异质体的分离常使用磺酸基填料的强阳离子交换柱或羧基填料的弱阳离子交换柱进行。洗脱则常采用盐梯度或pH梯度方法进行。单抗的种类多，结构复杂，对于每个色谱柱都有各自的适用特性。将赛分科技的Proteomix SCX强阳离子交换柱和Antibodix 弱阳离子交换柱作为一个组合，能为分离和鉴定电荷异质体提供有效的解决方案。

pH梯度洗脱

1) Proteomix SCX对西妥昔单抗的分析对比

图1. Proteomix SCX对西妥昔单抗进行pH梯度洗脱



分析柱: Proteomix SCX-NP5 PEEK, 4.6×250 mm

流动相: A: CX-1 pH Buffer A

B: CX-1 pH Buffer B

流速: 480 cm/h

检测波长: UV 280 nm

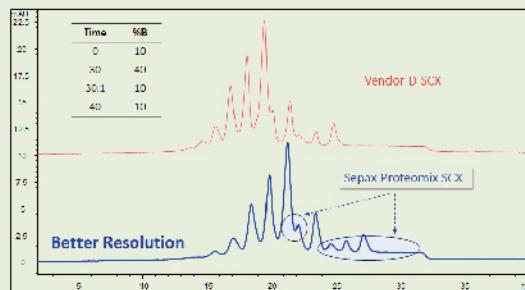
检测温度: 30°C

样 品: 西妥昔单抗, 2 mg/mL

进样量: 10 μL

如图1所示，除单体外，还分离出9种电荷异质体，其中酸性的电荷异质体在1-4出峰，碱性电荷异质体在6-10出峰。

图2. Proteomix SCX和其他强阳离子交换柱的对比



分析柱: Proteomix SCX-NP5 PEEK, 4.6×250 mm

Vendor D SCX PEEK, 5 μm NP 4.0×250 mm

流动相: A: CX-1 pH Buffer A;

B: CX-1 pH Buffer B

流 速: 480 cm/h

检测波长: UV 280 nm

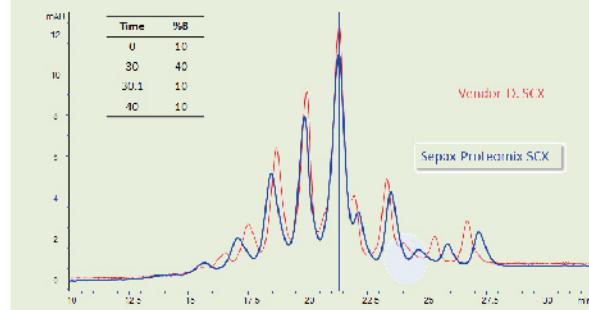
检测温度: 30°C

样 品: 西妥昔单抗 2 mg/mL

进样量: 10 μL

从图2的对比中可以看到，Vendor D SCX分析柱只分离出4种碱性电荷异质体，而赛分Proteomix SCX分析柱分离出5种碱性电荷异质体，分离效果更好。

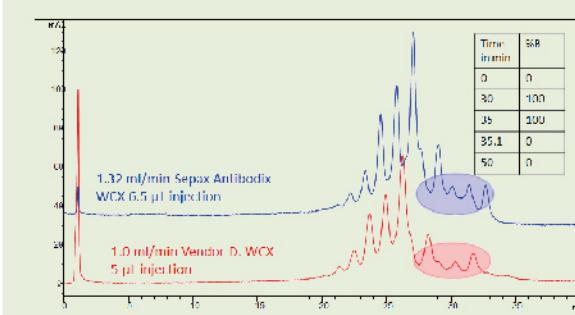
图3. Proteomix SCX和其他强阳离子交换柱的对比叠加



通过叠加后，从图3中也可看到，赛分Proteomix SCX柱对西妥昔单抗的分离效果要优于Vendor D SCX分析柱。

2) Antibodix对西妥昔单抗的分析对比

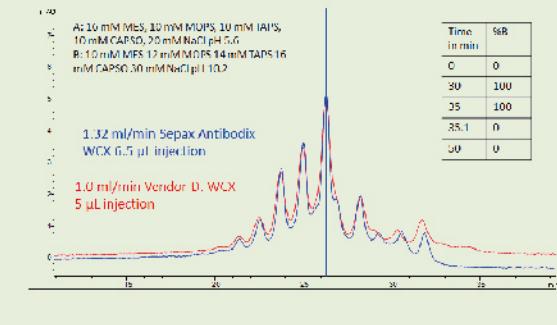
图4. Antibodix和其他弱阳离子交换柱的对比



分析柱: Antibodix-NP5 PEEK, 4.6×250 mm
 Vendor D WCX PEEK, 5 μ m NP 4.0×250 mm
 流动相: A: CX-1 pH Buffer A; B: CX-1 pH Buffer B
 流速: 相同的线性流速
 检测波长: UV 280 nm
 检测温度: 30°C
 样品: 西妥昔单抗 2 mg/mL

如图4所示, Vendor D WCX分析柱只分离出3种碱性电荷异质体, 而赛分Antibodix分析柱分离出4种碱性电荷异质体, 分离效果更好。

图5. Antibodix和其他弱阳离子交换柱的对比叠加

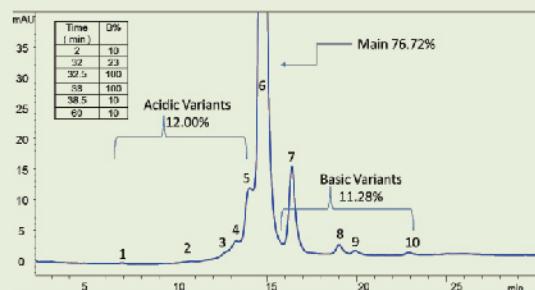


通过叠加后, 从图5中也可看到, 赛分Antibodix柱对西妥昔单抗的分离效果要优于Vendor D WCX分析柱。

盐梯度洗脱

1) Proteomix SCX对NIST MAb的分析对比

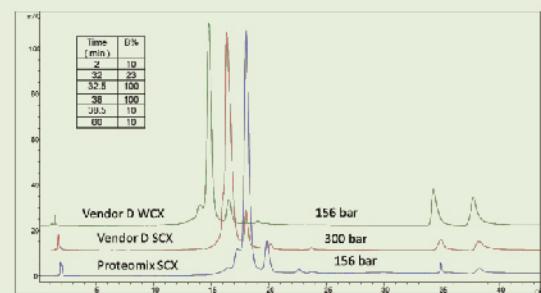
图6. Proteomix SCX对NIST MAb进行盐梯度洗脱



分析柱: Proteomix SCX-NP5 PEEK, 4.6×250 mm
 流动相: A: 10 mM磷酸盐缓冲液 pH 7.0,
 B: A+0.5 M NaCl
 流速: 1 mL/min
 检测波长: UV 280 nm
 检测温度: 30°C
 样品: NIST MAb 10 mg/mL
 进样量: 60 μ g (pI 9.18 in 12.5 mM histidine, pH 6.0)

如图6所示, 对色谱图进行局部放大, 可以看到酸性电荷异质体在1、2、3、4、5各有出峰, 碱性电荷异质体在7、8、9、10出峰。这些电荷异质体都得到了明显的分离。

图7. Proteomix SCX和其他离子交换柱的对比

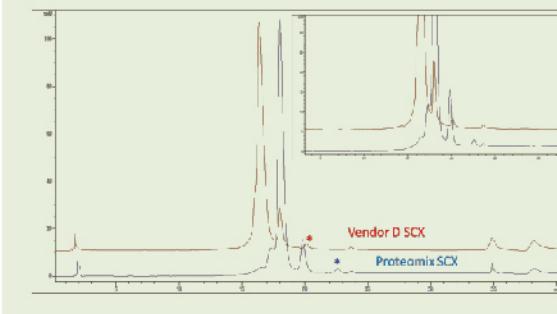


分析柱: Proteomix SCX-NP5 PEEK, 4.6×250 mm
 Vendor D SCX PEEK, 5 μ m NP 4.0×250 mm
 Vendor D WCX PEEK, 5 μ m NP 4.0×250 mm
 流动相: A: 10 mM磷酸盐缓冲液 pH 7.0,
 B: A+0.5 M NaCl
 流速: Proteomix SCX 1 mL/min, 其他0.75 mL/min,
 线性流速相同
 检测波长: UV 280 nm 检测温度: 30°C
 样品: NIST MAb 10 mg/mL
 进样量: Proteomix SCX 60 μ g (pI 9.18 in 12.5 mM histidine, pH 6.0), 其他 45 μ g

从图7的对比中可以看到, 赛分Proteomix SCX分析柱的分离效果优于Vendor D SCX分析柱, 且背压明显小于Vendor D SCX分析柱。

同Vendor D WCX分析柱比较, 赛分Proteomix SCX分析柱的回收率较高。

图8. Proteomix SCX和其他离子交换柱的对比-局部放大

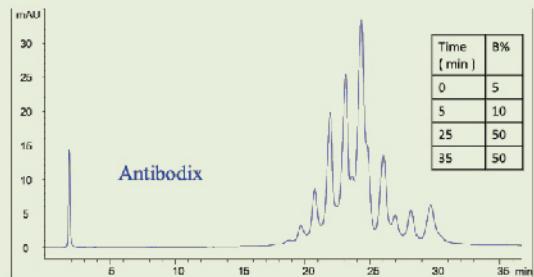


如图8所示, 赛分Proteomix SCX分析柱在酸性和碱性区域分离效果均优于Vendor D SCX分析柱。

Vendor D SCX分析柱在碱性区的一个较小异构体中分离效果稍好, 但是用*表示的峰与左侧峰的分离度较低。

3) Proteomix SCX和Antibodix对西妥昔单抗的分析对比

图9. Antibodix对西妥昔单抗进行盐梯度洗脱



分析柱: Antibodix-NP5 PEEK, 4.6×250 mm

流动相: A: 10 mM磷酸盐缓冲液 pH 6.8,
B: A+0.1 M NaCl pH 6.8

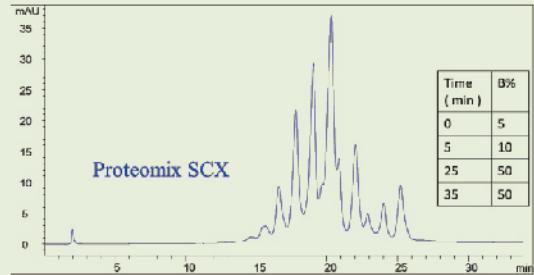
流速: 0.8 mL/min

检测波长: UV 280 nm 检测温度: 25°C

样 品: 西妥昔单抗 5 mg/mL 进样量: 10 μL

如图9所示, 赛分Antibodix 分析柱对西妥昔单抗的分离效果很好, 在酸性区域分离出5个电荷异质体, 在碱性区域分离出4个电荷异质体。

图10. Proteomix SCX对西妥昔单抗进行盐梯度洗脱



分析柱: Proteomix SCX-NP5 PEEK, 4.6×250 mm

流动相: A: 10 mM磷酸盐缓冲液 pH 6.8,
B: A+0.1 M NaCl pH 6.8

流速: 0.8 mL/min

检测波长: UV 280 nm 检测温度: 25°C

样 品: 西妥昔单抗 5 mg/mL 进样量: 10 μL

如图10所示, 赛分Proteomix SCX分析柱对Erbitux的分离效果同样很好, 在酸性区域分离出5个电荷异质体, 在碱性区域分离出4个电荷异质体。

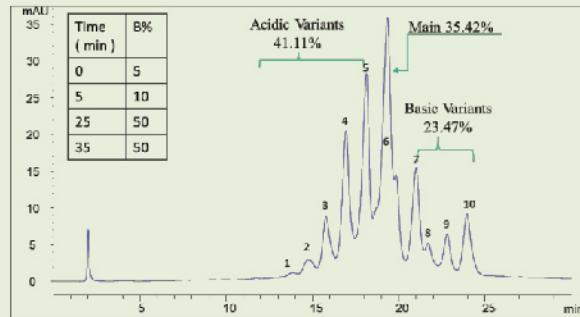
对比图9和图10后可以看到, 针对西妥昔单抗而言, Proteomix SCX分析柱对主峰的右侧杂峰分离效果稍好一些。

制备方案

在单克隆抗体的研发和临床实验中, 需要分离得到单一电荷异质体的单克隆抗体。赛分科技生产的10 μm粒径Proteomix SCX强阳离子交换填料和Antibodix弱阳离子交换填料具有高分离度和反压适中的特性, 能够成功地应用到半制备柱和制备柱当中, 非常适用于电荷异质体的制备解决方案。

1) Proteomix SCX-NP10对西妥昔单抗的制备分离

图11. Proteomix SCX-NP10对西妥昔单抗进行盐梯度洗脱



分析柱: Proteomix SCX-NP10, 10 μm, 4.6×250 mm

流动相: A: 10 mM磷酸盐缓冲液 pH 6.8,

B: A+0.1 M NaCl pH 6.8

流速: 0.8 mL/min

检测波长: UV 280 nm

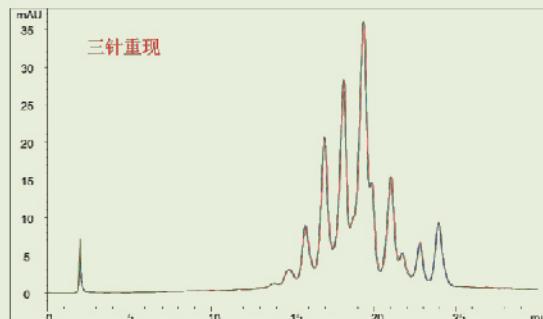
检测温度: 25°C

样 品: 西妥昔单抗 5 mg/mL

进样量: 10 μL

Proteomix SCX-NP10分析柱(采用10 μm粒径填料)对Erbitux单抗的分离效果很好, 在酸性区域分离出5个电荷异质体, 在碱性区域分离出4个电荷异质体, 对Erbitux单抗具有高分辨率以及较低的背压, 能够适用于中高压纯化系统纯化(例如: Sepax Generik, AKTA, Waters等制备液相)。

图12. Proteomix SCX-NP10对西妥昔单抗盐梯度洗脱重现性



分析柱: Proteomix SCX-NP10, 10 μm, 4.6×250 mm

流动相: A: 10 mM磷酸盐缓冲液 pH 6.8

B: A+0.1 M NaCl pH 6.8

流速: 0.8 mL/min

检测波长: UV 280 nm

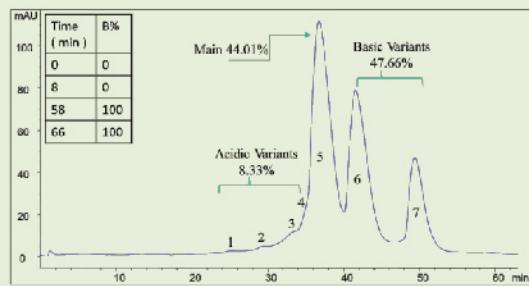
检测温度: 25°C

样 品: 西妥昔单抗 5 mg/mL

进样量: 10 μL

通过叠加后的色谱图可以看到, Proteomix SCX-NP10分析柱的重现效果非常出色, 稳定度高。

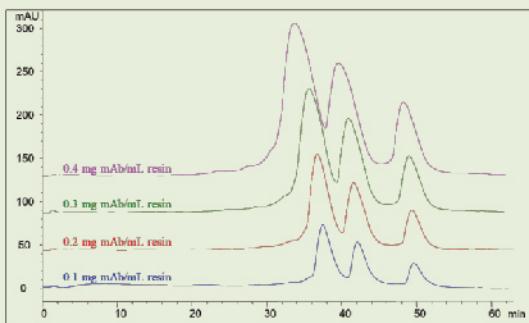
2) Proteomix SCX-NP10柱对阿达木单抗的制备分离
**图13. Proteomix SCX-NP10应用于阿达木单抗纯化的
方法**



分析柱: Proteomix SCX-NP10, 10 μ m, 4.6 \times 250 mm
 流动相: A: 20 mM PB, 50 mM NaCl, pH 6.8
 B: 20 mM PB, 90 mM NaCl, pH 6.5
 流速: 1 mL/min
 检测波长: 280 nm
 样品: 阿达木单抗 2.7 mg/mL
 进样量: 0.2 mg mAb/mL resin

从色谱图中看到, Proteomix SCX-NP10分析柱对阿达木单抗具有很好的分离效果, 分离出4种含量较小的酸性电荷异质体和2种含量较大的碱性电荷异质体。

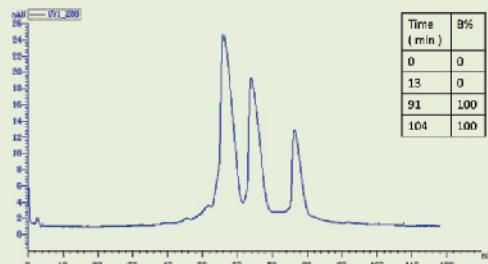
**图14. Proteomix SCX-NP10对阿达木单抗不同上样量
分析**



分析柱: Proteomix SCX-NP10, 10 μ m, 4.6 \times 250 mm
 流动相: A: 20 mM PB, 50 mM NaCl, pH 6.8
 B: 20 mM PB, 90 mM NaCl, pH 6.5
 流速: 1 mL/min
 检测波长: UV 280 nm
 样品: 阿达木单抗 2.7 mg/mL
 进样量: 0.2 mg mAb/mL resin

通过不同上样量的叠加图可以看到, 随着上样量的增加, Proteomix SCX-NP10分析柱的分离效果保持稳定。

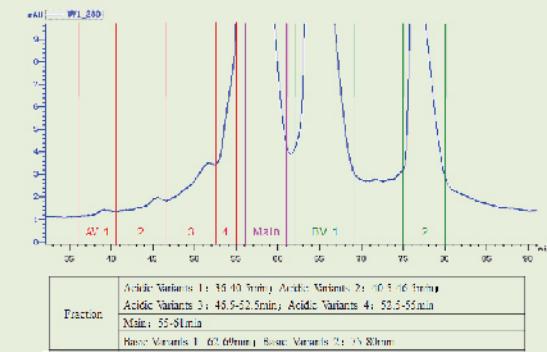
图15. Proteomix SCX-NP10对阿达木单抗的纯化



分析柱: Proteomix SCX-NP10, 10 μ m, 21.2 \times 250 mm
 流动相: A: 20 mM sodium phosphate, 50 mM NaCl, pH 6.5
 B: 20 mM sodium phosphate, 90 mM NaCl, pH 6.5
 流速: 13.53 mL/min 检测波长: UV 280 nm
 样品: 阿达木单抗 2.7 mg/mL
 进样量: 0.2 mg mAb/mL resin

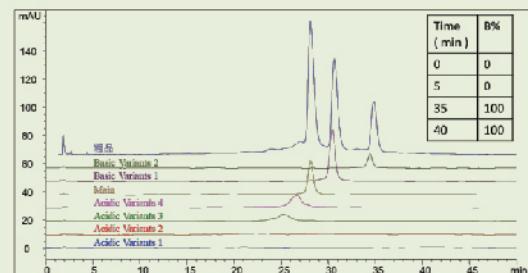
由色谱图可以看出, 采用内径为21.2 mm的Proteomix SCX-NP10制备柱对阿达木单抗进行纯化分离时, 依然保持高分离度。

图16. Proteomix SCX-NP10纯化、分离阿达木单抗



对样品组分按不同时间进行接样, 除目标产品外, 分别收集到4种酸性电荷异质体和2种碱性电荷异质体。

图17. 对浓缩后的单抗样品进行分析



分析柱: Sepax Antibodix (5 μ m, NP, 4.6 \times 250 mm)
 流动相: A: 20 mM sodium phosphate, 50 mM NaCl, pH 6.5
 B: 20 mM sodium phosphate, 90 mM NaCl, pH 6.5
 流速: 0.8 mL/min 检测波长: UV 280 nm
 样品: 浓缩阿达木单抗 进样量: 100 μ L

应用赛分科技Antibodix分析柱对浓缩后的阿达木单抗样品进行分析，目标产品和分离出的每种电荷异质体纯度都很高，确认Proteomix SCX-NP10制备柱对阿达木单抗样品达到纯化分离的效果。

* 浓缩方法：将层析分离实验所收集的组分分别用超滤管进行浓缩，5000 rpm离心10 min。

用超微量分光光度计对浓缩产物进行浓度检测及CEX-HPLC分析，结果如下：

检测结果汇总：

	收集体积 (mL)	浓缩后体积 (mL)	浓缩倍数	浓缩后浓度 (mg/mL)	蛋白含量 (mg)
Acidic Variants 1	60.89	5	12.18	0.01	0.05
Acidic Variants 2	81.18	10	8.12	0.03	0.3
Acidic Variants 3	81.18	9	9.02	0.04	0.36
Acidic Variants 4	33.83	5	6.77	0.09	0.45
Main	81.18	35	2.32	0.16	5.6
Basic Variants 1	94.71	15	6.31	0.18	2.7
Basic Variants 2	67.65	30	2.26	0.06	1.8
浓缩后的总量					11.26

结果表明，21.2×250 mm层析柱的分离效果较为理想，经超滤浓缩后，可以得到各个酸性变体和碱性变体。上样单抗约17.6 mg，各收集组分经浓缩后，可得到11.26 mg蛋白，总收率为63.98%。

订购信息

一、分析方案

名称	柱体材质	粒径	内径x长度	货号
Antibodix-NP5	不锈钢	5 μm	4.6 mm x 250 mm	602NP5-4625
Antibodix-NP5 PEEK	PEEK	5 μm	4.6 mm x 250 mm	602NP5P-4625
Proteomix SCX-NP5	不锈钢	5 μm	4.6 mm x 250 mm	401NP5-4625
Proteomix SCX-NP5 PEEK	PEEK	5 μm	4.6 mm x 250 mm	401NP5P-4625

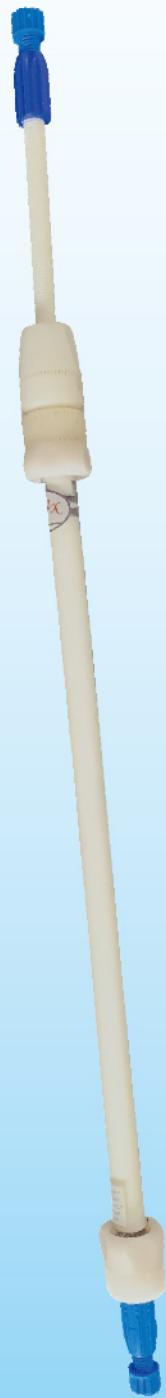
二、半制备及制备方案

名称	柱体材质	粒径	内径x长度	货号
Antibodix-NP10	不锈钢	10 μm	10 mm x 250 mm	602NP10-10025
Antibodix-NP10	不锈钢	10 μm	21.2 mm x 250 mm	602NP5P-21225
Proteomix SCX-NP10	不锈钢	10 μm	10 mm x 250 mm	401NP5-10025
Proteomix SCX-NP10 PEEK	不锈钢	10 μm	21.2 mm x 250 mm	401NP5P-21225

以上为部分规格订货信息，其他规格或特殊定制产品，请来电咨询。

柱管、配件及解决方案

- Generik FPLC层析柱
- 仪器配件耗材
- 生物药CMC中HPLC平台方法推荐



Generik FPLC层析柱

概述

赛分Generik FPLC玻璃层析柱适用于中、低压液相层析色谱的分析纯化，最大的耐受压力可以达到900 psi (60 bar)。玻璃柱管内径最大50 mm，最小6.6 mm，长度最大可达到500 mm。柱管末端有三种型号可供选择：两端均可调节 (AA型)，一端可调另一端固定 (AF型)，两端均固定不可调节 (FF型)。一根可调末端的最大调节高度为80 mm，便捷的设计使柱床高度的调节更加方便。任何一款都可以给您以下的功能体验：

1、标准液相系统：

柱体均为硼硅玻璃制成，并标配25微米 (PTFE或者PE) 滤片，使用范围广泛；

2、抗化学溶剂系统：

只需更换PE滤片，使用PTFE滤片就可以使整个液体接触部分成为全PTFE通路，非常适用于化学溶剂应用；

3、柱管及连接头选择：

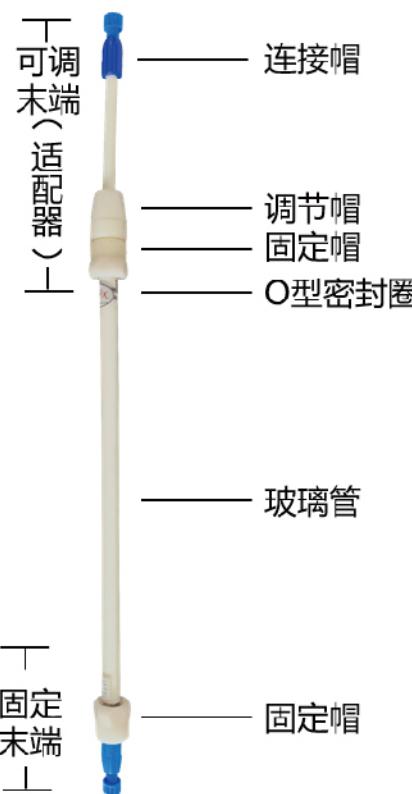
所有柱子均标配接头一套（两个1/4"-28UNF安装接头及垫圈），来连接柱子两端和管线。我们也可提供M6接头，方便部分用户接系统内M6螺纹的其他管件。

4、替换部件及相关配件

我们有偿提供可替换的玻璃柱管、柱管末端及各种滤片和O型密封圈，另外还可以有偿提供滤片更换装置、管线和接头等配件。

技术参数

操作参数	
操作温度	4-20°C
pH范围	1-14
化学稳定性	耐受：常规水溶液及大部分有机溶液； 不耐受：丙酮，酮类，氯化烃类，脂肪酯类，苯酚，>10%NaOH, 10%HCl, >5%的乙酸以及强无机酸。
材质	
玻璃管	硼硅玻璃
适配器柱塞	聚四氟乙烯，8 cm调节范围
筛板	聚丙烯
O型密封圈	FKM/FPM (氟橡胶)
调节帽	Acetal (缩醛)
固定帽	Acetal (缩醛)
连接帽	玻璃填充聚丙烯
管线	聚四氟乙烯
耐受压力	
ID-6.6 mm	900 psi (62 bar=6.2 MPa)
ID-10 mm	600 psi (41 bar=4.1 MPa)
ID-15 mm	300 psi (21 bar=2.1 MPa)
ID-25 mm	150 psi (10 bar=1 MPa)
ID-35 mm	150 psi (10 bar=1 MPa)
ID-50 mm	100 psi (6.9 bar=0.69 MPa)



订购信息

一、分析方案

层析柱	规格	粒径		AA		FF	
		货号	内径x长度 (mm)	柱床高度 (cm)	柱床体积 (mL)	柱床高度 (cm)	柱床体积 (mL)
202000-0605-AF/AA/FF	6.6x50	0.24-2	0.1-0.7	0.24-0.2	0.1-0.7	2	0.7
202000-0610-AF/AA/FF	6.6x100	0.24-7	0.1-2.4	0.24-7	0.1-2.4	7	2.4
202000-0615-AF/AA/FF	6.6x150	4-12	1.4-4.1	0.24-12	0.1-4.1	12	4.1
202000-0625-AF/AA/FF	6.6x250	14-22	4.8-7.5	6-22	2.1-7.5	22	7.5
202000-0640-AF/AA/FF	6.6x400	29-37	9.9-12.7	21-37	7.2-12.7	37	12.7
202000-1010-AF/AA/FF	10x100	0.24-7	0.2-5.5	0.24-7	0.2-5.5	7	5.5
202000-1015-AF/AA/FF	10x150	4-12	3.1-9.4	0.24-12	0.2-9.4	12	9.4
202000-1025-AF/AA/FF	10x250	14-22	11-17.3	6-22	3.1-17.3	22	17.3
202000-1040-AF/AA/FF	10x400	29-37	22.8-29.1	21-37	16.5-29.1	37	29.1
202000-1050-AF/AA/FF	10x500	39-47	30.6-36.9	31-47	24.3-36.9	47	36.9
202000-1510-AF/AA/FF	15x100	0.24-7	0.4-12.4	0.24-7	0.4-12.4	7	12.4
202000-1515-AF/AA/FF	15x150	4-12	7.1-21.2	0.24-12	0.4-21.2	12	21.2
202000-1525-AF/AA/FF	15x250	14-22	24.7-38.9	6-22	10.6-38.9	22	38.9
202000-1540-AF/AA/FF	15x400	29-37	51.2-65.4	21-37	37.1-65.4	37	65.4
202000-1550-AF/AA/FF	15x500	39-47	68.9-83.0	31-47	54.8-83.0	47	83
202000-2510-AF/AA/FF	25x100	0.24-7	1.2-34.4	0.24-7	1.2-34.4	7	34.4
202000-2515-AF/AA/FF	25x150	4-12	19.6-58.9	0.24-12	1.2-58.9	12	58.9
202000-2525-AF/AA/FF	25x250	14-22	68.7-108.0	6-22	29.4-108.0	22	108
202000-2540-AF/AA/FF	25x400	29-37	142.3-181.6	21-37	103.1-181.6	37	181.6
202000-2550-AF/AA/FF	25x500	39-47	191.4-230.7	31-47	152.1-230.7	47	230.7
202000-3515-AF/AA/FF	35x150	4-12	38.5-115.4	0.24-12	2.3-115.4	12	115.4
202000-3525-AF/AA/FF	35x250	14-22	134.7-211.6	6-22	57.7-211.6	22	211.6
202000-3540-AF/AA/FF	35x400	29-37	279.0-355.9	21-37	202.0-355.9	37	355.9
202000-5025-AF/AA/FF	50x250	14-22	280.4-440.6	6-22	120.2-440.6	22	440.6
202000-5040-AF/AA/FF	50x400	29-37	580.7-741.0	21-37	420.5-741.0	37	741
202000-5050-AF/AA/FF	50x500	39-47	781.0-941.2	31-47	620.8-941.2	47	941.2

注：AF：表示柱管一端为固定末端，另一端配一个适配器

AA：表示两端各配一个适配器

FF：表示两端均为固定末端，柱高不可调节。

仪器配件耗材

通用仪器耗材，适合于广泛的液相色谱仪器

名称	描述内容
溶剂过滤器	OD. 1/8 ", 不锈钢或高分子聚合物, 10 μm , 最大 100 mL/min
不锈钢管	OD. 1/16 ", ID. 0.03 "/0.75 mm, 10 m可选
Peek 管	OD. 1/16 ", ID. 0.003 "/0.005 "/0.007 "/0.010 " /0.03 ", 10 m可选
PTFE管	OD. 1/8 ", ID. 0.063 "/2.4 mm, 10 m可选
PEEK定量环	OD. 1/16 ", 100 μL /2 mL/5 mL/10 mL可选
PEEK接头	OD. 1/16 ", 一体式手拧接头
Peek 三通	OD. 1/16 ", 0.75 mm
不锈钢三通	OD. 1/16 ", 0.25 mm
进样针接头	OD. 1/16 ", 六通阀制备上样制备器 (带过滤)
进样针接头	OD. 1/16 ", 六通阀制备上样制备器
背压调节器	OD. 1/16 ", 20 psi, 60 psi, 75 psi可选

通用仪器耗材，适合于广泛的液相色谱仪器

名称	描述内容
单向阀	不锈钢/Peek 入口出口单向阀
柱塞杆密封垫	水溶性系、有机系
清洗密封垫	
柱塞杆	
在线过滤片	5 μm , 高分子聚合物
转子密封垫	六通阀转子密封垫
制备流通池	
氙灯	

广泛可选的色谱柱，适合不同应用需求

可以提供4.6 mm, 10 mm, 20 mm, 50 mm, 100 mm, 200 mm等规格制备色谱柱



生物药CMC中HPLC平台方法推荐

检测项目	对应的Sepax色谱柱	常用的流动相信息
抗体的酸碱电荷异构体	Antibodix WCX NP5 Proteomix SCX NP5	A: 10 mM Phosphate buffer, pH 7.5 B: A + 0.5 M NaCl
抗体的聚体以及碎片的检测	Zenix SEC-300 Zenix-C SEC 300	150 mM Phosphate buffer (pH 7.0)
ADC 疏水性 DAR值测定	proteomix HIC Butyl	A:2M硫酸铵, 0.025M磷酸钠, pH 7.0 B: 0.025M磷酸钠, pH 7.0 C: 100% IPA
ADC药物中小分子脱落残留检测	Zenix-C SEC 80	50 mM NH ₄ Ac:ACN=80:20
双抗的同源二聚体、半抗的测定	Biomix SEC 300	PBS (8.1 mM磷酸钠, 1.5 mM磷酸钾, 2.7 mM氯化钾, 137 mM氯化钠, pH 7.4) PS:优化分离可适当提高氯化钠盐浓度
抗体肽图测定	Bio-C18 300 (3μm)	A:0.1% TFA in water; B: 0.1% TFA in 100% ACN,可适当提高柱温
IgM聚体碎片的检测	SRT SEC-500	150 mM Phosphate buffer, pH 7.0
抗体表达量的检测	ProAqa excel	A: 50 mM 磷酸钠, 150 mM NaCl (pH 7.0) B: 100 mM 甘氨酸 (pH 2.5)
生物制剂中吐温检测	Monomix H2P SAX	A: 2% formic acid in water; B: 2% formic acid in IPA;
生物制剂中蔗糖的检测	Carbomix Ca-NP5 : 8% (5 μm, 7.8 x 300 mm)	Water
生物制剂中海藻糖的检测	Carbomix-H (10 μm, 5%, 7.8 x 300 mm) Carbomix-Na柱(10 μm, 5%, 7.8 x 300 mm)	2.5 mM H ₂ SO ₄ (H柱) Water (Na柱)
生物制剂泊洛沙姆的检测	Poly RP-100 SRT-C SEC-150	A: 0.1% TFA水溶液 B: 0.1% TFA乙腈(PolyRP) 20 mM NH ₄ Ac (pH 7.0 SRT-C SEC-150)
生物制剂中消泡剂残留检测	Mono GPC-100	THF
等电点较复杂的融合蛋白或者双抗酸碱异构体的检测	proteomix CV-1	pH梯度
抗体酸碱异构体制备	Antibodix WCX NP5 (21.2*250mm) Proteomix SCX NP5 (21.2*250mm)	A: 10 mM Phosphate buffer, pH 7.5 B: A+0.5 M NaCl
抗体反相方法 (重轻链、片段等)	Proteomix RP	A:0.1% TFA in water; B: 0.1% TFA in 100% ACN , 柱温推荐80°C
抗体的聚体以及碎片的制备	SRT-10 SEC-300 (21.2*300mm)	150 mM Phosphate buffer (pH 7.0)

合作伙伴

COOPERATIVE PARTNER

• 超5000家全球客户共同见证 •

致力于为中国生物制药企业提供从**研发、质控**到**临床前、临床、生产**
全流程的分析色谱和工业级分离纯化解决方案



Better Surface Chemistry For Better Separation

苏州赛分科技股份有限公司
Suzhou Sepax Technologies, Inc.
地址:苏州市工业园区集贤街11号
邮编:215123
电话:0512-69369056
www. sepax-tech. com. cn

赛分(美国)科技有限公司
Sepax Technologies, Inc.
5 Innovation Way
Newark, Delaware, USA
Tel : (302)366-1101
Toll free: 1-877-SEPAX-US
www. sepax-tech. com

赛分科技扬州有限公司
Sepax Technologies Yangzhou, Inc
地址: 扬州市邗江区怡康路19号
邮编: 225100
电话: 0514-80326988
www. sepax-tech. com. cn

全国免费服务热线: 400-636-8880
邮件: sales@ sepax-tech. com. cn
service@ sepax-tech. com. cn
marketing@ sepax-tech. com. cn



赛分科技微信公众号