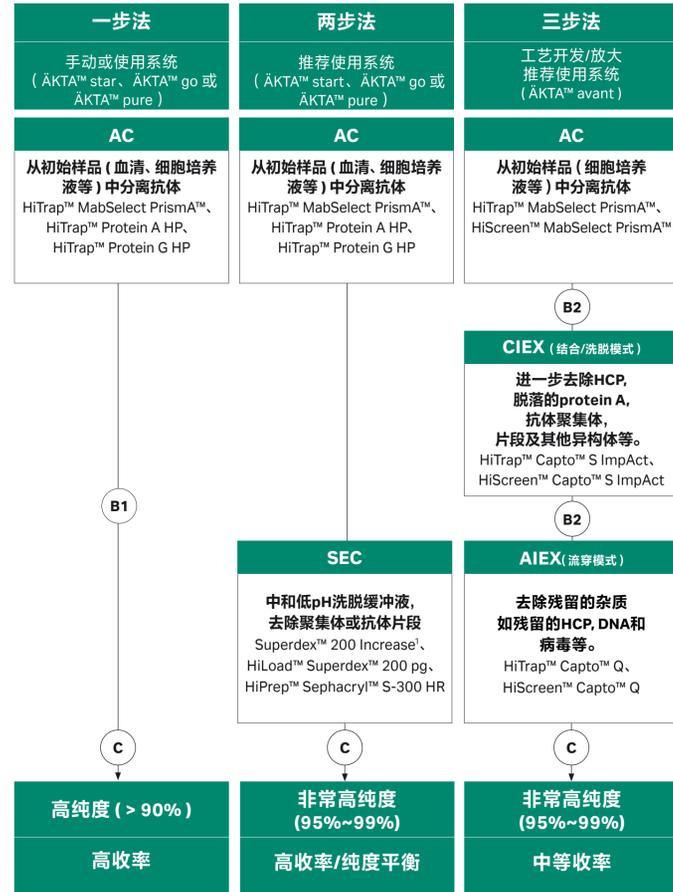


组合层析技术优化蛋白纯化

获得合适纯度和收率的典型纯化策略

抗体纯化



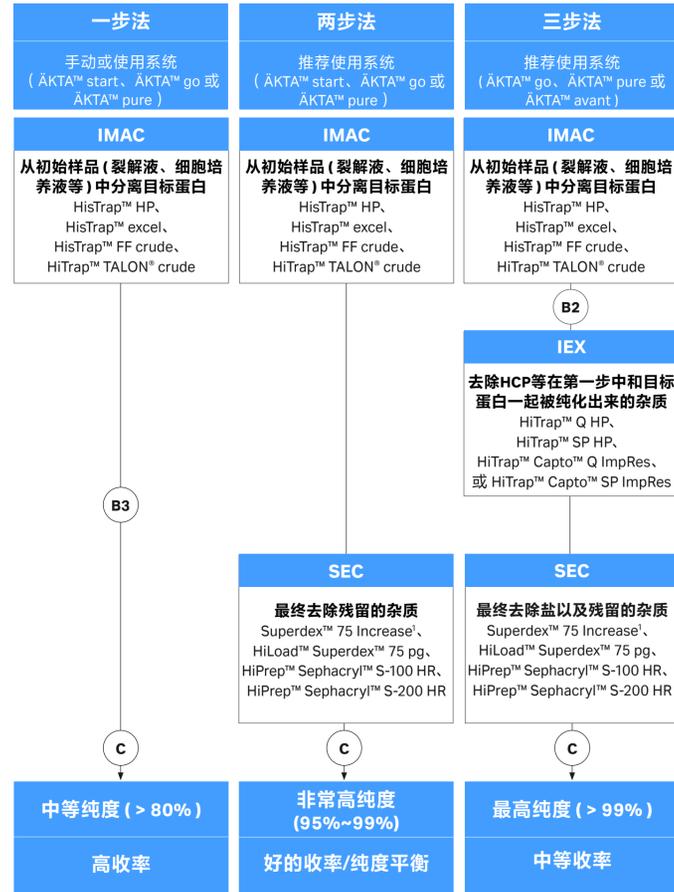
抗体纯化中如何选择 protein A 或 protein G?

Protein G: 实验室规模, 用于一般目的的抗体纯化的第一选择;
Protein A/Prisma: 纯化人源抗体或可能放大到生产规模的工艺开发中普遍选择使用。

纯化不同来源或批次的多种的抗体?

HiTrap™ MabSelect PrismA™ 层析柱: 使用 1M NaOH 进行有效的清洗。最大程度降低交叉污染风险。抗体纯化的收率不受 NaOH 清洗的影响。

His 标签蛋白纯化



咪唑浓度: 达到纯度/收率的平衡

提高纯度: 在样品和结合 buffer 中使用高的咪唑浓度 (> 20 mM)。
提高收率: 在样品和结合 buffer 中使用较低的咪唑浓度 (0 ~ 5 mM)。

您使用的Ni柱颜色是否会逐渐变浅?

样品中存在导致 Ni²⁺ 脱落的试剂, 可以选择 HiTrap™ excel 层析柱, 该柱子和填料有较强的结合 Ni²⁺ 的能力。

非标签蛋白



三步法中为何使用硫酸铵沉淀?

硫酸铵沉淀用于浓缩和净化样品, 可稳定蛋白并防止蛋白变性。硫酸铵沉淀后的样品含有高盐浓度, 不需要其他额外处理可直接使用疏水层析进行纯化。

组合使用离子交换层析技术?

离子交换通过使用阳离子或阴离子层析提供不同的选择性, 一个纯化流程中可以阴离子和阳离子层析结合使用。离子交换柱的洗脱顺序取决于目标蛋白和您需要去除的杂质的等电点 (pI)。考虑使用第一根层析柱结合和浓缩目标蛋白, 第二根层析柱结合残留的杂质 (目标蛋白流穿)。

开始前检查清单

- 确定您所需要的纯度

应用类型	纯度要求
质谱 免疫用抗原	中等到高等纯度, 80% ~ 90%
功能研究 结构研究	非常高 95% ~ 99%
结构研究 治疗性蛋白	极高 > 99%
- 确定已经建立了稳定的纯化后的分析方法;
- 合理组合层析技术, 用最少的步骤, 实现预期的纯度和收率的平衡;
- 防止活性降低: 快速, 低温 4°C, 尽早的去蛋白酶等。

使用预设方法作为方法指南

- 创建方法²**
在 *Method editor* 中选择 *File: New method* 根据应用选择合适的方法模板
- 调整方法**
在 *Phase properties* 中通过以下选项调整方法:
 - Method settings* 中选择层析柱
 - Method settings* 中选择柱位
 - Elution* 中设置收集
- 准备 ÄKTA™**
根据所选的层析柱、样品、缓冲液、管道和相应的组件做好相应的准备。
- 运行方法**
 - 在 *System control* 的 *Method navigator* 中选择相应的方法。
 - 点击 *Run* 运行方法

² 适用于 ÄKTA™ go, ÄKTA™ pure 和 ÄKTA™ avant。对于 ÄKTA™ start, 步骤相同但软件中的名称可能有所不同。

访问 cytiva.com.cn/proteinresearch

获得 **Cytiva 应用手册**
cytiva.com.cn/proteinhandbooks

层析柱选择
cytiva.com.cn/purify

网上商城
cytiva.com.cn/shop

¹ Superdex™ Increase 和 Superose™ Increase 层析柱不适用于 ÄKTA™ start 层析系统, 建议使用 ÄKTA™ go, ÄKTA™ pure 或 ÄKTA™ avant 层析系统进行纯化。

B1 缓冲液置换中和低 pH 的抗体洗脱缓冲液 (PD-10 Desalting, HiTrap™ Desalting 层析柱)

B2 缓冲液置换为离子交换层析做准备 (HiTrap™ Desalting, HiPrep™ 26/10 Desalting 层析柱)

B3 缓冲液置换去除咪唑或盐 (PD-10 Desalting, HiTrap™ Desalting)

C 浓缩降低样品体积, 在 SEC 之前也需要进行。 (Vivaspin 样品超滤管)

圆圈中的步骤为可选步骤, 需要时可以进行。

cytiva.com.cn

Cytiva 和 Drop 标识是 Global Life Sciences IP Holdco LLC 或其附属公司的注册商标。ÄKTA, Capto, HiTrap, HiLoad, HiTrap, HiScreen, MabSelect PrismA, MabSelect SuRe, Sephacryl, Superdex 和 Superose 是 Global Life Sciences Solutions USA LLC 或作为 Cytiva 开展业务的附属公司的商标。

TALON 是 Clontech Laboratories Inc 的注册商标。Vivaspin 是 Sartorius Stedim Biotech GmbH 的商标。所有其他第三方商标都是其各自所有者的财产。

IMAC Sepharose 产品、Ni Sepharose 产品和 Fe Sepharose 产品: 这些产品在 Sigma-Aldrich 的许可下销售, 专利号为 EP 1276716 (金属螯合组合物) 以及在其他国家/地区的等效专利和专利申请。

© 2021 Cytiva

如需查看当地办公室的联系信息, 请访问 cytiva.com.cn/contact

CY23997-26Aug21-PO

AC = 亲和层析
AIEX = 阴离子交换层析
CIEX = 阳离子交换层析
HCP = 宿主蛋白
HIC = 疏水层析
IEX = 离子交换层析
IMAC = 固定金属离子的亲和层析
PD = 工艺开发

SEC = 尺寸排阻层析
本文中用到的方法 (包括推荐的产品) 可以作为您在开始开发纯化方法时的初始选择, 所有的产品和方法都经过了 Cytiva 研发团队的测试, 并最大化纯度/收率的平衡。

本文未列出所有的可选产品, 更多产品信息请访问 cytiva.com.cn

