

慧德易电子期刊

H&E Electronic Journal

第 156 期 纯化工艺的完美选择

----东曹 Ca++Pure-HA 羟基磷灰石层析介质



第 156 期 纯化工艺的完美选择

----东曹 Ca⁺⁺Pure-HA 羟基磷灰石层析介质

Ca⁺⁺Pure-HA 是一种由钙和磷酸盐组成的、用于分离生物分子的羟基磷灰石 [Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂] 层析介质。Ca⁺⁺Pure-HA 颗粒，包括配基和填料骨架，都是由同一种材料来源同时形成，为工艺开发提供了无与伦比的选择性和分辨率。其高选择性可以分离电泳或其他层析模式难以分离的蛋白。

羟基磷灰石 (HA) 是目前最具有特征的混合模式填料之一，在整个生物分离领域，具有重要的研究和工业应用价值。该填料兼具离子交换和金属亲和力，具有其他填料不具备的特殊分离能力，能够为生物分离领域的新兴挑战提供独特的解决方案。Ca⁺⁺Pure-HA 尤其适用于纯化单克隆和多克隆抗体，分离抗体的多种亚型、同工酶，纯化抗体片段，以及从双链 DNA 中分离单链 DNA。

Ca⁺⁺Pure-HA 层析介质是大孔径的球型羟基磷灰石六方晶体结构 (图 1)。经过高温烧结，提高了机械强度和化学稳定性，能够满足工业规模的应用要求。Ca⁺⁺Pure-HA 的强大特性使其可在高流速和大型层析柱中重复循环使用。

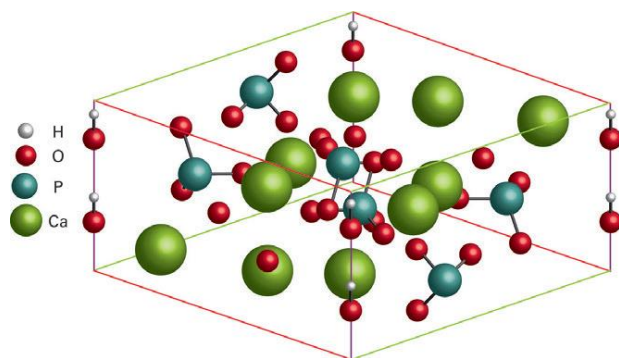
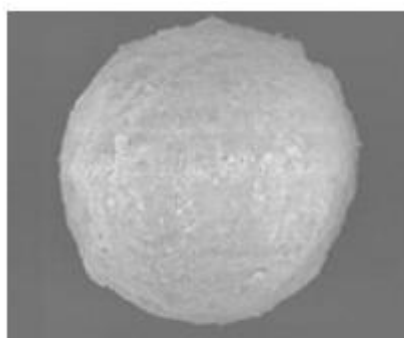
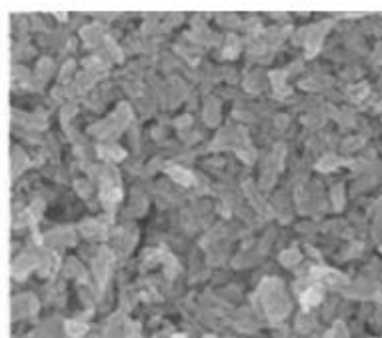


图 1 Ca⁺⁺Pure-HA 的晶体结构



7,000 倍放大
Ca⁺⁺Pure-HA SEM



50,000 倍放大
Ca⁺⁺Pure-HA SEM

图 2 Ca⁺⁺Pure-HA 颗粒显微镜照片

产品参数

骨架	羟基磷灰石 $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
平均粒径	39 μm
动态吸附载量	>30g/L 人源化 IgG (2min 柱留时间)
	>25g/L 溶菌酶 (2min 柱留时间)
压力范围	10 MPa (max)
珠密度	$\geq 0.5\text{g/ml}$
耐碱性	>65CIP cycle in 1.0mol/L NaOH
出货状态	干粉
pH 范围	6.5-14.0

工作原理

1. 与钙基团的相互作用

- ※ 位于表面的钙基团带正电荷
- ※ Ca^{++} -Pure-HA 钙基团的工作原理类似于阴离子交换

2. 与磷酸基团的相互作用

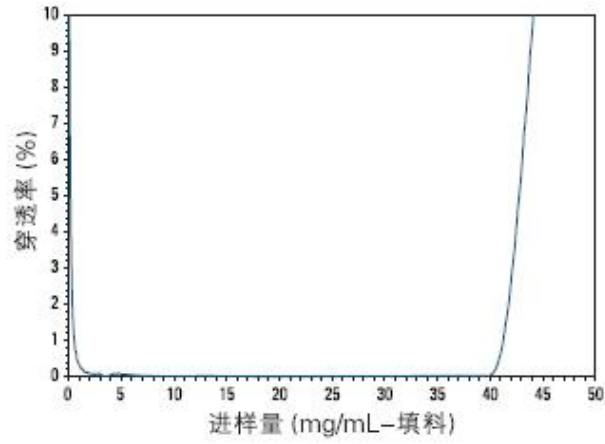
- ※ Ca^{++} -Pure-HA 的磷酸基团带负电荷
- ※ 与磺酸基和羧基等阳离子交换介质一样, Ca^{++} -Pure-HA 的磷酸基团通过与带正电荷的氨基残基通过静电相互作用结合强碱性物质

3. 与羟基的相互作用

- ※ 羟基具有形成氢键的能力, 但是这一途径尚未被证明对生物分子的保留有显著的贡献。羟基的含量远低于磷酸基, 因此即使参与氢键, 也可能比磷酸氧介导的氢键贡献更少的结合能力。

4. 混合模式相互作用

- ※ 混合模式同时也解释了 Ca^{++} -Pure-HA 如何在离子交换作用无法提供的条件下, 依然能够发挥卓越的结合能力。大多数抗体会结合阳离子交换填料, 但需要在低 pH 值和低电导率的条件下进行结合。 Ca^{++} -Pure-HA 在中性 pH 值下具有良好的载量, 有时甚至是在生理电导率下也具有良好的载量。这是 Ca^{++} -Pure-HA 表面化学物质之间协同作用的一个很好例证。金属亲和作用克服了阳离子交换的弱点, 而且两种弱相互作用共同产生了足够的结合能, 非常具有实用价值。



填 料: Ca⁺⁺Pure-HA, 批次 CPBL122716A
 层析柱: 5 mm × 5 cm (1.0 mL)
 平 衡: 20 mmol/L MES, 5 mmol/L KPO₄, pH 6.5
 洗 脱: 500 mmol/L KPO₄, pH 6.5
 消 毒: 1.0 mol/L KOH
 流 速: 75 cm/hr (驻留时间4 min)
 检 测: UV @ 280 nm (mAU), 电导率 (mS/cm)
 温 度: 环境温度
 样 品: IgG @ 2.00 g/L
 设 备: ÄKTA® avant 25

图 3 Ca⁺⁺Pure-HA 的动态吸附载量

如图 3 所示, Ca⁺⁺Pure-HA 具有很高的动态吸附载量 (DBC)。在 5% 的穿透率下, 驻留时间为 4 分钟时, 对人 IgG 的 DBC 大于 40g/L。

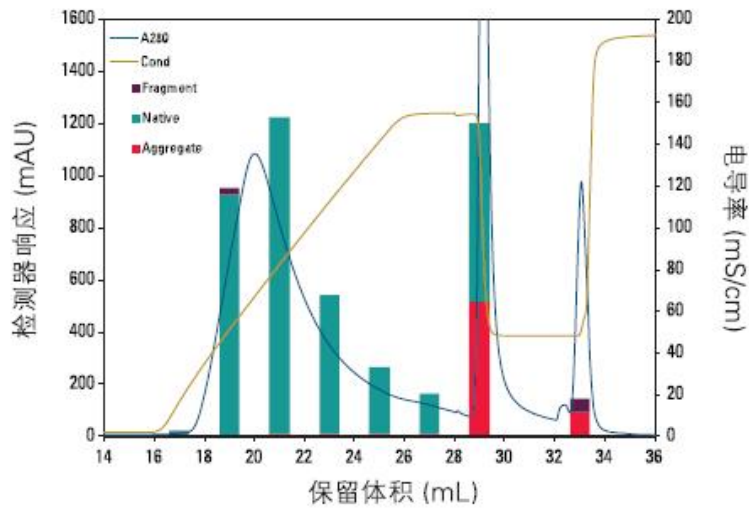


图 4 使用 Ca⁺⁺Pure-HA 精纯 IgG 样品 (来自 Protein A 纯化后收集的组分)

Ca⁺⁺Pure-HA 使用氯化物等洗脱缓冲溶液可有效去除 mAb 中的聚集体和降解物, 如图 4 所示。分析结果显示单体峰和聚集体峰之间具有较高分辨率。

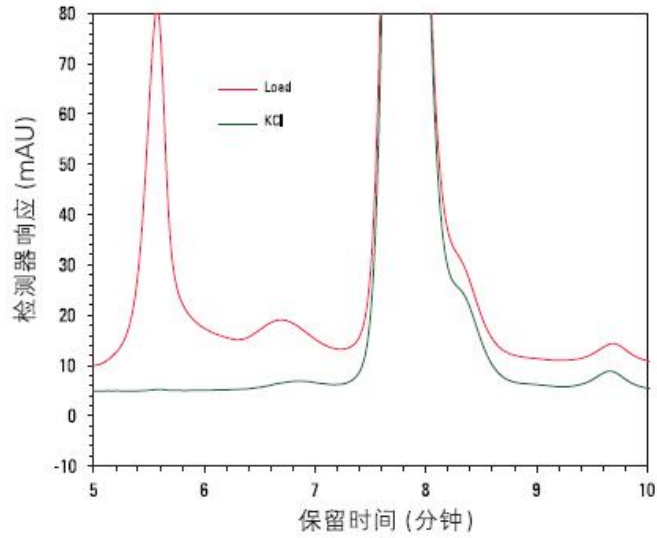


图 5 使用 Ca++Pure-HA 纯化前后 IgG 样品的 SEC 分析

图 5 显示的是在 Ca++Pure-HA 上纯化前后的 SEC 分析谱图，聚集体和降解物明显减少。HPLC 分析的数据汇总如表 1 所示。

条件	填料	样品组分 (ml)	聚集体 (%)	片段 (%)
初始进样量			18.8	1.3
KCl 溶液洗脱	Ca++Pure-HA	8.9	1.1	1.0

表 1 使用 Ca++Pure-HA 及 KCl 洗脱缓冲溶液减少的 IgG 聚集体和片段

Ca++Pure-HA 在 0.5mol/L NaOH 中具有良好的耐碱性，即使超过 65 个 CIP 循环后，其动态吸附载量也没有明显降低（图 6）。图中为使用 1.0 mol/L NaOH，每经过 5 个 CIP 循环后测得的溶菌酶的动态吸附载量。

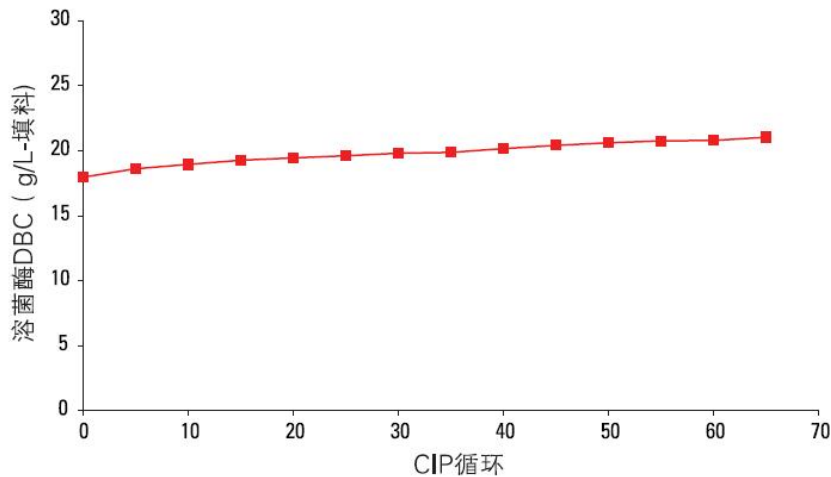


图 6 Ca++Pure-HA 的耐碱性

Ca++Pure-HA 层析介质具有卓越的分选特性以及无与伦比的选择性和分辨率，可以在捕获阶段到最终精纯的任何步骤中灵活应用，为纯化工作者在分离生物分子时提供了更好的选择。

订货信息

货号	产品描述
45045	Ca++Pure-HA, 50g
45039	Ca++Pure-HA, 100g
45040	Ca++Pure-HA, 250g
45041	Ca++Pure-HA, 500g
45042	Ca++Pure-HA, 1kg
45043	Ca++Pure-HA, 5kg

* 如果需要更详细的资料，请联系我们。



北京慧德易科技有限责任公司

咨询电话：010-59812370/1/2/3

公司官网：www.prep-hplc.com

邮 箱：sales@prep-hplc.com

微信公众号：北京慧德易