

慧德易电子期刊

H&E Electronic Journal

第八十三期

高性能亲和色谱分析柱

——东曹TSKgel Protein -5PW色谱柱



2016-06

第八十三期 高性能亲和色谱分析柱

——东曹 TSKgel Protein -5PW 色谱柱

高性能亲和色谱分析柱

东曹 TSKgel Protein-5PW 色谱柱——前言

目前，人们对以免疫球蛋白（IgG）为主的抗体药物的需求日益高涨。在抗体药物的研发以及制备工艺建设中，由于 IgG 表达需进行筛选，所以必须快速及准确地定量细胞培养液中的 IgG。而且，即使在工业制备过程中，IgG 的定量也是重要的质量控制项目之一。为此，日本东曹公司特推出以多孔亲水性聚合物为基质，表面键合有重组 Protein A 官能团的 TSKgel Protein A-5PW 亲和色谱柱，用于 IgG 的快速、高分离度分析。

高性能亲和色谱分析柱

东曹 TSKgel Protein-5PW 色谱柱——特点

- 填料粒径 20 μ m，机械强度高，可用于 IgG 的快速分析；
- 柱身为 PEEK 材质，大大减少非特异性吸附；
- 标准流速 2.0ml/min 条件下 2min 内可完成分析，也能在高流速 4.0ml/min 下进行分析；
- 对 IgG 有很高的动态吸附载量，定量范围宽。（IgG 浓度：0.1~10g/L）；
- 色谱柱耐用性好，使用寿命长。（取 CHO 细胞培养液上清液连续进样 2000 次以上色谱柱性能不变）
- 与 TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F 亲和层析介质具有相同的官能团，所以也有着相同的分离选择性，同样耐碱，有利于生产放大；

高性能亲和色谱分析柱

东曹 TSKgel Protein-5PW 色谱柱——分析对象

- IgG
- Fc 融合蛋白

高性能亲和色谱分析柱

东曹 TSKgel Protein-5PW 色谱柱——用途

- 对 CHO 细胞培养上清液中的 IgG 定量；
- 培养条件的摸索；
- 生产工艺的管理；

高性能亲和色谱分析柱

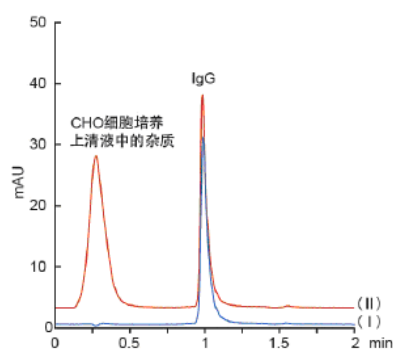
东曹 TSKgel Protein-5PW 色谱柱——规格参数

名称	TSKgel Protein A-5PW
货号	023483
基质	多孔的亲水性聚合物
粒径	20 μ m
孔径	1000Å
官能团	重组 Protein A Hexamer of C domain
色谱柱尺寸	4.6×35mm
色谱柱材质	PEEK

高性能亲和色谱分析柱

东曹 TSKgel Protein-5PW 色谱柱——应用实例

1. 多克隆 IgG 的分离



〈分析条件〉

色 谱 柱: TSKgel Protein A-5PW (4.6 mm I.D. X 3.5 cm)

流 动 相 A: 20 mmol/L 磷酸钠缓冲液 (pH7.4)

B: 20 mmol/L 磷酸钠缓冲液 (pH2.5)

流 动 相 切 换: 0 → 0.5 分钟 流动相A

0.5 → 1.1 分钟 流动相B

1.1 → 2.0 分钟 流动相A (再平衡)

流 速: 2.0 mL/min

检 测: UV (280 nm)

温 度: 25℃

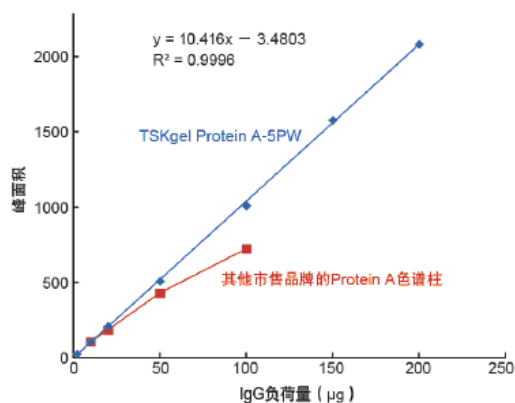
进 样 量: 20μL

样 品: (I) 0.5 g/L IgG (溶于流动相A)

(II) 含有0.5 g/L IgG的CHO细胞培养上清液

CHO细胞培养上清液中的IgG可在最短时间(2分钟以内)内被分离出来。

2. IgG 的校准曲线



〈分析条件〉

(1) TSKgel Protein A-5PW (4.6 mm I.D. X 3.5 cm)

【除样品以外的分析条件均与图1相同】

样品: 0.1 ~ 10 g/L 的多克隆IgG (溶于流动相A)

(2) 其他市售品牌的Protein A色谱柱 (4.6 mm I.D. X 3.5 cm, PEEK)

【除流动相和切换条件以外均与图1相同】

流 动 相 A: 20 mmol/L 磷酸钠缓冲液 + 0.15 mol/L NaCl (pH7.4)

B: 20 mmol/L 磷酸钠缓冲液 (pH2.5) + 0.15 mol/L NaCl (pH2.5)

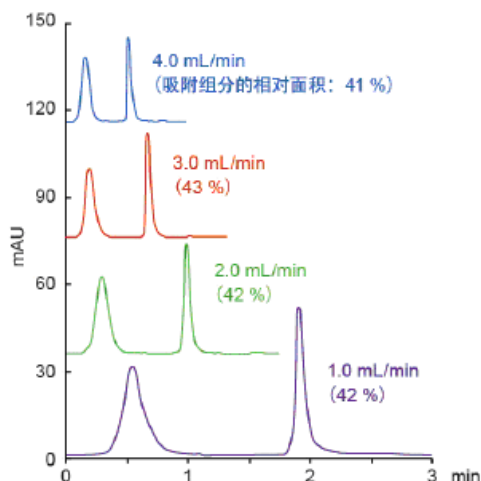
流 动 相 切 换: 0 → 0.2 分钟 流动相A

0.2 → 1.2 分钟 流动相B

1.2 → 2.0 分钟 流动相A (再平衡)

TSKgel Protein A-5PW在很宽的定量范围内线性关系良好。
(IgG: 0.1 ~ 10 g/L、R²=0.999以上)

3. 流速对分离效果的影响



〈分析条件〉

流速和流动相的切换条件

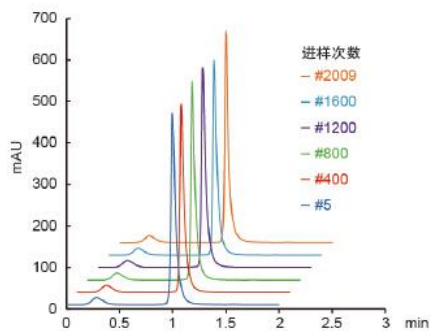
流速	流动相A	流动相B	流动相A
1.0 mL/min	0 → 1.00 分钟	1.00 → 2.20 分钟	2.20 → 4.00 分钟
2.0 mL/min	0 → 0.50 分钟	0.50 → 1.10 分钟	1.10 → 2.00 分钟
3.0 mL/min	0 → 0.33 分钟	0.33 → 0.73 分钟	0.73 → 1.33 分钟
4.0 mL/min	0 → 0.25 分钟	0.25 → 0.55 分钟	0.55 → 1.00 分钟

样品: 含有0.5 g/L 单克隆抗体IgG的CHO细胞培养上清液

【其他分析条件与图1相同】

TSKgel Protein A-5PW在可用于样品的快速分析。
(4.0 mL/min流速下1分钟内完成分析)。

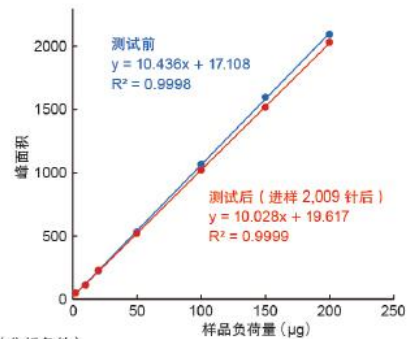
4. 连续进样测试中的色谱图以及进样测试前后的 IgG 校正曲线



〈分析条件〉

【除样品以外的分析条件均与图1相同】

样品：含有10 g/L多克隆IgG的CHO细胞培养上清液



〈分析条件〉

【除样品以外的分析条件均与图1相同】

样品：0.1 ~ 10 g/L多克隆IgG (溶于流动相A)

色谱柱耐用性好，使用寿命长（在连续进样2000针以上的稳定性测试中，色谱图和校正曲线几乎没有变化）。

北京慧德易作为东曹公司（Tosoh）的一级代理，竭诚为您服务。并且可以提供东曹公司聚合物基质填料的小包装试用，欢迎索取。



北京慧德易科技有限责任公司

咨询电话：010-59812370/1/2/3

服务热线：4008-111-326

公司官网：www.prep-hplc.com

微信公众号：北京慧德易