

Monomix Mab60-SP 填料产品说明书

一、 产品简介

Monomix Mab60-SP 离子交换层析介质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，粒径为 60 μm，粒径更均一，具有良好的物理化学稳定性。Monomix Mab60-SP 层析介质表面经特殊处理，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。通过专有的表面修饰技术，在亲水性基质表面键合离子交换官能团，得到强阳离子交换（SP）层析填料。

层析介质特点

- 📖 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
- 📖 常规装柱条件下，体积变化小
- 📖 产品供应能力：> 100 L

二、 安全

有关本产品安全使用的信息，请参阅安全数据书(SDS)。

三、 产品性质及特征参数

3.1 层析介质化学结构与技术参数

Monomix Mab60-SP 为强阳离子交换层析介质，配基为磺酸基团。结构示意图如图 1 所示，具体产品技术参数见表 1。

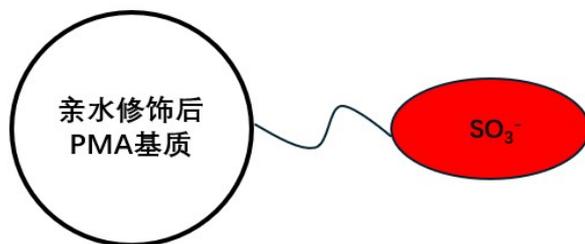


图 1.层析介质配基结构示意图

表 1. Monomix Mab60-SP 层析介质技术参数

| 产品名称 | Monomix Mab60-SP |
|----------|-------------------------------|
| 离子交换种类 | 强阳离子 |
| 官能团 | -SO ₃ ⁻ |
| 平均粒径 | ~60 μm |
| 流速/压力关系* | 400 cm/hr (运行压力 2 bar) |

| | |
|----------------|---|
| 动态载量* (/mL 填料) | ≥ 60 mg Lysozyme |
| pH 稳定性 (操作) | 2-12 |
| pH 稳定性 (CIP) | 1-14 |
| 工作温度 | 4~35°C |
| 耐受压力 | ≤ 1.0 MPa (10 bar) |
| 化学稳定性* | 常规试剂: 常用的水性缓冲液、低浓度有机相与缓冲盐混合液等 其它试剂: 1.0 M NaOH、DMSO、DMAC、6.0 M 盐酸胍、30%异丙醇和 70%乙醇 |
| 保存条件 | 具体见“八、产品储存”内容 |
| 运输条件 | 4-35°C, 保存于 20%乙醇 |
| 典型应用方向 | 抗体、ADC、疫苗、重组蛋白 |

*注: 1. DBC 测试方法: 线性流速为 360 cm/h, 上样液为含 1.0 mg/mL 溶菌酶的 50 mM 磷酸盐缓冲液(pH = 6.0);

2. 流速测试方法: Column Height: 200 mm, Operating Pressure 2.0 bar, 500 mM NaCl;

3. 1.0 M NaOH 只能作为短期清洗目的使用; 填料分别在表中其它试剂中 40°C 浸泡一周后测试, 结果: 载量在原载量的 90%以上。

3.2 Monomix Mab60-SP 高分辨率纯化应用

3.2.1 某多抗样品纯化实验方案

层析柱信息: Monomix Mab60-SP (6.6 × 100 mm, CV=6.842 mL)

检测器: UV 280 nm

样品: 某多抗样品

上样量: 30 mg/mL 填料

| 纯化步骤 | 流动相 | 驻留时间 | 冲洗体积 |
|------|---|------|------|
| | | min | CV |
| 平衡 | 20 mM Na ₃ Cit-H ₃ Cit, 50mM NaCl, pH 5.0 | 5 | 5 |
| 上样 | 上样液 | 5 | — |
| 洗杂 | 20 mM PB, 80 mM NaCl, pH 6.5 | 5 | 5 |
| 后平衡 | 20 mM Na ₃ Cit-H ₃ Cit, 50mM NaCl, pH 5.0 | 5 | 5 |
| 洗脱 | 20-55% 20 mM Na ₃ Cit-H ₃ Cit, 500mM NaCl, pH 5.0 | 5 | 25 |
| 再生 | 20 mM Na ₃ Cit-H ₃ Cit, 500mM NaCl, pH 5.0 | 5 | 5 |
| CIP | 0.1 M NaOH | 5 | 5 |

3.2.2 多抗样品纯化实验结果及纯化图谱

Monomix Mab60-SP 具有高分辨率, 纯化图谱中 (图 2) 可观察片段与聚集体被很好的去除, 有效提升目标产物纯度, 纯化前样品 SEC 纯度为 50.5%, 纯化后有效提升样品纯度 98.4%。

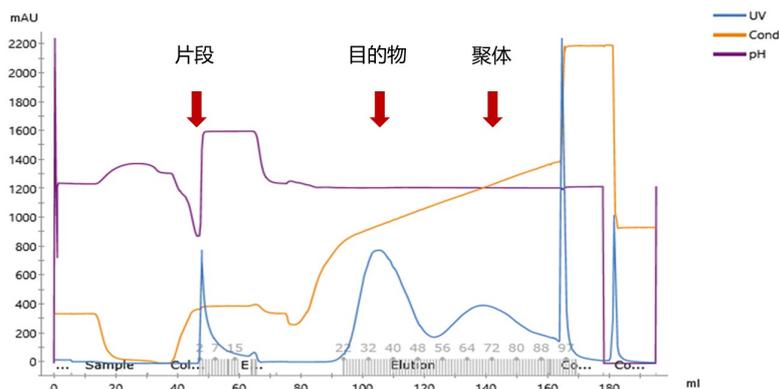
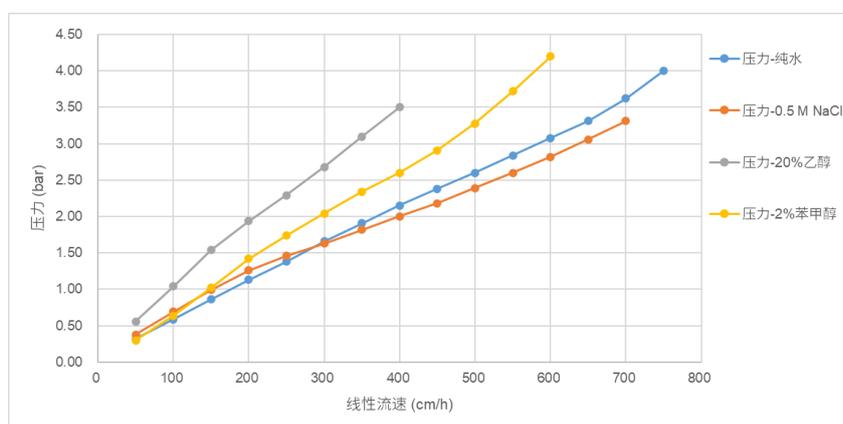


图 2. Monomix Mab60-SP 纯化某多抗样品图谱

四、层析柱装柱

层析介质在不同场景下适用不同装柱方法，实验室装柱方法与规模化生产用装柱有较大差异。装柱与压力-流速相关信息相关，装柱时也需注意压力变化，图 3 为该填料压力-流速变化曲线。



(层析柱规格: ID100 mm, H200 mm)

图 3. Monomix Mab60-SP 填料压力流速曲线图

4.1 实验室用装柱方法 (内径 ID 6.6 mm ~25 mm 实验室用层析柱)

4.1.1 准备工作

4.1.1.1 装柱设备及层析柱: 检查蛋白纯化仪是否正常, 特别是压力检测模块和电导检测模块;

4.1.1.2 装柱液配制: 配制足量的装柱缓冲液 0.1 M NaCl 水溶液、1.0 M NaCl 水溶液。

4.1.2 置换保存溶剂

Monomix Mab60-SP 填料出厂时保存在 20% 乙醇中, 体积比为 50%, 装柱前需将 20% 乙醇置换为 0.1 M NaCl。快速置换方法: 将填料混合后取所需匀浆液倒入柱管中, 安装好柱头并用 0.1 M NaCl 冲 5.0 CV, 将填料打出至广口瓶中, 添加 0.1 M NaCl 至填料体积比为 50~70% 之间, 也可采用沉降的方法置换保存溶剂。

4.1.3 填料匀浆比测算

将置换好的填料混匀, 取 20 mL 加入到玻璃柱管中, 如 Generik FPLC 10 × 400 mm 玻璃柱管, 打开下堵头, 让水漏出, 直至填料沉降高度不再变化, 用直尺测量柱床高度, 计算填料体积, 例如柱床高度为 14 cm, 填料体积则为 $14 \times 0.7854 = 10.9956$ mL, 匀浆比则为 54.98%。也可用在量筒中沉降过夜的方式测算匀浆比, 沉降时间要保持在 14~16 h。

4.1.4 填料需求量计算

$$V_{\text{slurry}} = V / P = S \times H \times F / P$$

V: 目标柱体积

P: 匀浆比

H: 目标装柱高度

S: 柱管横截面积

F: 压缩系数

H: 装柱高度

例如: 内径为10 mm的手动柱横截面积为 0.7854 cm^2 , 装柱目标高度为20 cm, 则填料的需求量为 $V_{\text{slurry}} = 0.7854 \text{ cm}^2 \times 20 \text{ cm} \times 1.15 / 54.98\% = 32.9 \text{ mL}$

*注: 实验室规模、用盐水装柱条件下, 填料的用量按照1.15压缩系数计算。

4.1.5 具体操作步骤

4.1.5.1 用移液器吸取 32.9 mL 匀浆液, 加入到 Generik FPLC 10 × 250 mm-AF 层析柱管中 (使用装柱连接环);

4.1.5.2 开启 100 cm/h 流速, 将上柱头拧紧至柱管上, 以 100 cm/h、200 cm/h、300 cm/h...线流速压缩填料, 每级流速保持 3.0 min, 直到柱压达到 3.0 bar 后保持 15 min, 关闭层析系统, 然后以 1: 1.04 的压缩系数 (标记的柱床高度为基准) 下降柱头至目标高度, 装柱完成。

4.2 中试装柱方法 (内径 ID 100 mm ~300 mm 手动柱填装)

4.2.1 准备工作

4.2.1.1 场所: 装柱场所应清洁、无尘, 室温 $18^{\circ}\text{C} \sim 35^{\circ}\text{C}$, 湿度 45%~65%;

4.2.1.2 装柱设备及管道: 蛋白纯化设备及层析柱管路冲洗干净, 管道连接完毕, 检查设备管路是否漏液, 必要时试漏, 压力等各参数显示正常;

4.2.1.3 层析柱排气泡: 层析柱清洗干净, 排除上下筛板处气泡待用;

4.2.1.4 QC 检测设备: 低压层析系统;

4.2.1.5 装柱液配制: 配制足量的装柱缓冲液 0.1 M NaCl 水溶液、1.0 M NaCl 水溶液。

4.2.2 置换保存溶剂

Monomix Mab60-SP填料出厂时保存在20%乙醇中, 体积比为50%, 装柱前需将20%乙醇置换为0.1 M NaCl。对于直径为100 mm ~300 mm内径手动柱置换方式可以为: 将填料混合后取所需匀浆液倒入柱管中, 打开出口阀, 使液体漏出, 用0.1 M NaCl置换三次。

4.2.3 填料需求量计算

$$V_{\text{slurry}} = V / 50\% = S \times H \times F / 50\%$$

V: 目标柱体积

H: 目标装柱高度

S: 柱管横截面积

F: 压缩系数

H: 装柱高度

例如: 内径为200 mm的手动柱横截面积为 314 cm^2 , 装柱目标高度为18 cm, 则填料的需求量为

$$V_{\text{slurry}} = 314 \text{ cm}^2 \times 18 \text{ cm} \times 1.20/50\% = 13.6 \text{ L}$$

*注：填料保存在20%乙醇水中，填料的用量按照1.20压缩系数计算。

4.2.4 具体操作步骤

4.2.4.1 如置换保存溶剂过程中所述，重新匀浆后关好底阀使填料自然沉降，待胶面下降距离大于 5.0 cm 后安排好气泡的柱头，拧紧密封圈，打开底阀，开启低压层析系统，以 0.1 M NaCl 水溶液为流动相、100 cm/h 线速度加速填料沉降，柱床沉降稳定后标记柱床高度；

4.2.4.2 关闭层析系统，等柱压降为零后关闭底阀，旋转柱头上的四通阀至排液管，然后以 1: 1.13 的压缩系数（标记的柱床高度为基准）下降柱头至目标高度，装柱完成。

4.3 生产层析柱装柱（ID 450 mm 及以上内径电动柱填装）

4.3.1 准备工作

4.3.1.1 场所：装柱场所应清洁、无尘，室温 18°C ~35°C，湿度 45% ~65%；

4.3.1.2 装柱设备及管道：蛋白纯化设备及层析柱管路冲洗干净，管道连接完毕，检查设备管路是否漏液，必要时试漏，压力等各参数显示正常；

4.3.1.3 层析柱排气泡：层析柱清洗干净，排除上下筛板处气泡待用；

4.3.1.4 QC 检测设备：低压层析系统；

4.3.1.5 装柱液配制：配制足量的装柱缓冲液 0.1 M NaCl 水溶液、1.0 M NaCl 水溶液。

4.3.2 置换保存溶剂

Monomix Mab60-SP填料出厂时保存在20%乙醇中，体积比为50%，装柱前需将20%乙醇置换为 0.1 M NaCl。根据以下方法计算所需填料倒入匀浆罐中，待沉降好后倒出上清，加入等体积0.1 M NaCl，混匀后继续沉降，置换三次。

4.3.3 填料需求量计算

$$V_{\text{slurry}} = V / 50\% = S \times H \times F / 50\%$$

V：目标柱体积

H：目标装柱高度

S：柱管横截面积

F：压缩系数

H：装柱高度

例如：内径为600 mm的手动柱横截面积为2826 cm²，装柱目标高度为18 cm，则填料的需求量为 $V_{\text{slurry}} = 2826 \text{ cm}^2 \times 18 \text{ cm} \times 1.20/50\% = 122 \text{ L}$

*注：填料保存在20%乙醇水中，填料的用量按照1.20压缩系数计算。

4.3.4 具体操作步骤

4.3.4.1 排除吸胶口管道内气泡；

4.3.4.2 以 300 cm/h 线速度上抬柱头吸取所需填料；

4.3.4.3 吸胶结束后用水冲洗管道中的填料

4.3.4.4 压胶：以 60 cm/h 线速度下降柱头压胶，当柱头下降至距离胶面 2~3 cm 时读取胶面高度，按照 1: 1.12 的压缩系数压紧柱床，完成装柱。

4.4 柱效测试及评价参考标准

Monomix Mab60-SP 填料装柱后，层析柱柱效测试方法及评价标准可参考表 2 操作。

表 2.柱效测试方法及评价参考标准

| | |
|------|--------------------------|
| 流动相 | 0.1-0.5 M NaCl |
| 样品 | 1 M NaCl |
| 样品体积 | 1-2% CV |
| 流速 | 60-180 cm/h |
| 检测器 | Cond. |
| 合格标准 | 拖尾因子：0.8-1.8；柱效：≥2000 /m |

4.5 非理想柱效的解决办法

4.5.1 出现拖尾峰时，解决方法包括：

降低浆液浓度：降低填料在总体积占比

提高装填流速：增加装柱最高压力

4.5.2 出现前沿峰时，解决方法与拖尾峰相反。

4.5.3 柱效低：重装层析柱，降低测试流速

4.5.4 峰分裂：清洗更换滤片，检查测试样品

4.5.5 层析柱裂开：装柱时提高装柱压力，检查流动相是否脱气，连接柱头时充分排除气泡

五、纯化方法优化简介

在实际纯化过程中，可能会出现以下常见问题，现对常见问题和解决方法给出建议（表 3），可根据建议查找和排除相应问题，顺利推进方法开发或者生产。

表 3.纯化过程中常见问题参考解决方案

| 常见问题 | 解决方法 |
|----------|--|
| 运行过程中背压高 | 1、层析柱筛板堵塞，清洗筛板或更换筛板；2、填料有污染物堵塞，执行 CIP 操作。 |
| 载量低 | 1、上样 pH 和电导较高，推荐上样 pH 为 5.0，Cond < 6 ms/cm；2、装柱不合格，出现早流穿现象，测试柱效和对称性是否正常。 |
| 收率低 | 1、样品上样过高，减少上样量；2、上样流速体积不准，校准仪器流速；3、洗脱 pH 和电导较低，优化洗脱条件。 |
| CIP 峰高 | 1、洗脱或者 CIP 不充分；2、优化洗脱条件、CIP 方案或者更频繁的执行 CIP。 |

六、在位清洗（CIP）

CIP 的目的是去除柱子上和系统中的顽固结合的杂质、沉淀物或者变性蛋白。这些杂质的累积会影响色谱柱的性能，污染填料。严重的话，会导致柱子堵塞，增加背压。可通过正向或反向的在线清洗来恢复层析柱的性能。常规 CIP 程序可以防止这些杂质在柱子上残留，从而保持色谱柱的载量和分离性能。具体在线清洗方法应视杂质的特性而定：

普通杂质及常规清洗

每次实验可用 0.1 M~0.5 M NaOH 清洗 3-5 CV，NaOH 清洗后建议先用纯水清洗后用平衡液冲洗以快

速降低 pH。

疏水性杂质清洗

可用 3-5 CV 70%乙醇或 30% 异丙醇进行洗涤。若仍达不到清洗效果可用 0.5 M NaOH+30%异丙醇强清洗条件清洗。在清洁过程中使用低流速（大约是工作流速的一半）。此外，在高盐缓冲液与有机相溶液替换时中间需要用纯化水冲洗层析柱，以避免盐析出产生沉淀。

其它杂质清洗

对于层析柱中的沉淀，可以用变性剂（如尿素或盐酸胍）洗涤，再按正常 CIP 条件清洗。

七、 灭菌

由于 20%乙醇或 10 mM NaOH 保存液不具有杀菌、除热原作用，建议 Monomix Mab60-SP 在使用前及使用过程中，可以采用 0.5 M NaOH 处理 0.5~1.0 h 以减少微生物污染风险。

八、 产品储存

产品用 20%乙醇为保存液进行销售。收到填料后请按以下条件进行保存：

未拆封填料：4-35℃，整个包装桶密闭保存，有效期 60 个月；

使用后填料：

1) 层析柱保存：4-35℃，20%乙醇或 10 mM NaOH 冲洗 3-5 CV 后密闭保存，为了防止乙醇挥发以及微生物滋生，建议每两个月更换一次新鲜的保存液。因有机溶剂、碱、纯化水等对层析柱管材质可能存在影响且层析柱长期保存柱床容易干裂，不建议长期将填料放在层析柱中保存；

2) 层析柱拆卸后填料：拆卸前层析柱需经过常规的再生及灭菌处理步骤，无菌注射用水冲洗 3-5 CV，用保存溶液 20%乙醇冲洗 3-5 CV，取出层析填料置于已经清洗干净并消毒后的包装容器中，加入保存液 20%乙醇使保存液体积与填料体积接近，4-35℃密闭保存。

九、 销毁及回收

由于 Monomix Mab60-SP 在自然界很难降解，为了保护环境建议采用焚烧处理或者第三方委外处理。

十、 产品订购信息

| 产品名称 | 类型 | 粒径 | 订货号 |
|------------------|--------|-------|-----------|
| Monomix Mab60-SP | 强阳离子交换 | 60 μm | 284760950 |

预装柱规格：4.2 mL、5.0 mL；层析介质包装规格：1.0 L、5.0 L、10 L、50 L。



扫码关注公众号

公司信息：

苏州赛分科技股份有限公司

联系电话：400-636-8880

官网网站：<http://www.sepax-tech.com.cn/>