

资料手册

Fractogel® 层析介质:

快速、高效地捕获您的目标



引言

300 多年来，默克 KGaA 为化学与制药工业开发了尖端、优质的产品和服务。默克 KGaA 的生命科学部门——默克密理博，延续了这一传统，长期致力于研究和开发，我们的投资屡次产生了改变行业格局的革新。默克密理博提供从发现到制造的一整套创新解决方案和支持服务，目的是让您在生物制药工艺的每个步骤均获得性能优势。



来自默克密理博的层析介质

对于层析，挑战在于有效纯化目标产品，同时尽可能降低成本、缩短上市时间。产品滴定度稳定增加，对下游加工提出了更大的需求。开发适当的纯化策略是成功的重要因素。所选择的层析介质和技术必须稳健，应当能够去除杂质，帮助您得到高纯度的目标分子。

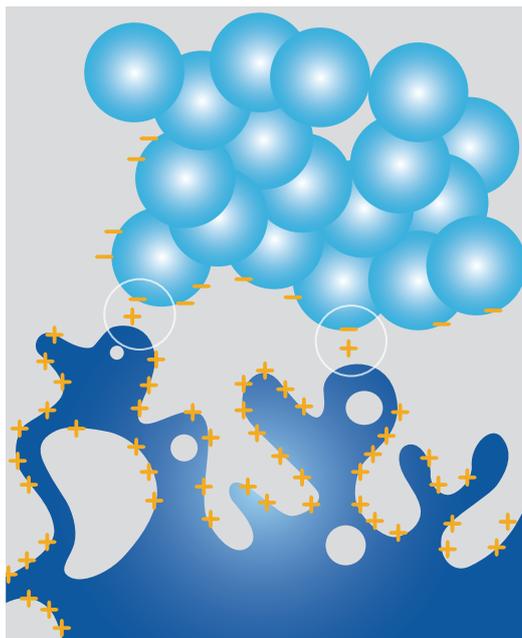
Fractogel® 介质： 可靠的层析工具

基质

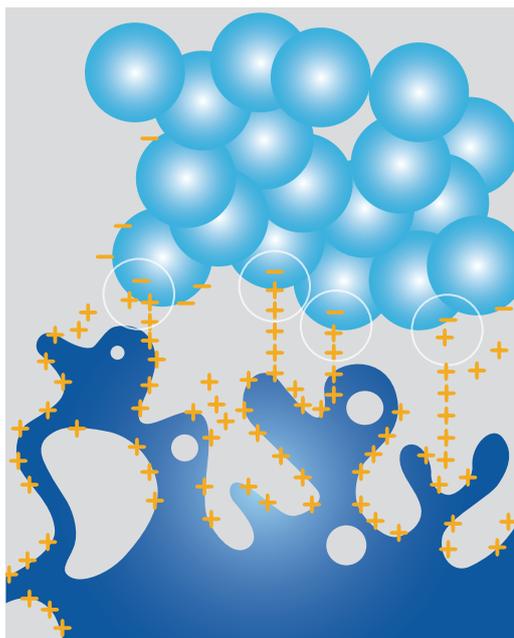
Fractogel® 介质为基于合成甲基丙烯酸酯的聚合物小球，提供优良的压力稳定性，从而能够采用高流率。视您的应用而定，我们可提供中等大小的 M 型填料（粒度 40-90 μm）和较小的 S 型填料（粒度范围 20-40 μm）。

触手

Fractogel® 介质的独特组成，是纯化策略的有力工具。触手是长线形的聚合物链，携带功能配位体。全部触手与 Fractogel® 介质的羟基以共价键连接。该构型提供了高表面积，使生物分子不受空间位阻，与可及的配位体结合。许多配位体可用于各种层析应用（包括离子交换、亲和、疏水性相互作用和分子筛）。



常规离子交换介质



触手型离子交换介质

Fractogel® 介质类型的性质：

粒度	S 型：20-40 μm M 型：40-90 μm
孔径尺寸	约 800 Å
基质	交联聚甲基丙烯酸酯
工作范围	pH 2-12
压力极限	8 bar
储存	20% 乙醇，150mM NaCl

Fractogel® 层析介质的优点

触手介质的一个主要优点是，官能团与目标分子之间的空间位阻最小，更易接触。与常规方法相比，触手介质提供了更高的结合力，特别是对于大型蛋白质、抗体、病毒和质粒。目标生物分子结合得更紧密，但在洗脱阶段，可逆相互作用可以被中和。

更佳的产品收率

独特的表面改性技术的一个结果是，所有 Fractogel® 介质均有高结合力。由于目标分子的结合更紧密，使用 Fractogel® 离子交换介质的捕获步骤，常常比其他介质更高效。与其他类型的层析介质相比，更高效的捕获导致了更大的总收率。

更安全的产品

与基于碳水化合物的介质不同，Fractogel® 介质不易为微生物降解。因此，内毒素污染风险大大减少。此外，Fractogel® 介质可以多次清洁，也延长了其使用寿命。这个特点很重要，特别是在纯化重组蛋白质（由微生物产生）时。

更低的运行费用

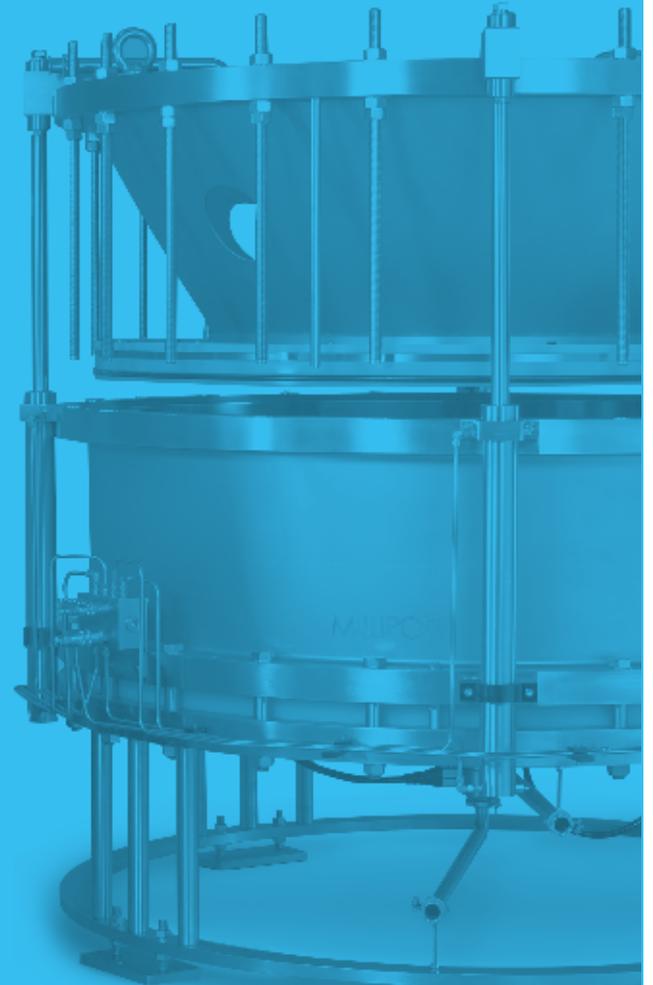
由于 Fractogel® 介质的优良化学耐受性，循环次数可以很多。介质寿命极长，更换频率降至最低，从而减少了运行费用。

益处

- 可靠地纯化大分子
 - 有效捕获目标蛋白质，去除病毒、DNA 和内毒素
 - 优良收率和高处理量
 - 优越的稳定性和质量
 - 允许多次柱再生与消毒循环
 - 切实地节约时间和成本
-

选择正确的 Fractogel® 介质

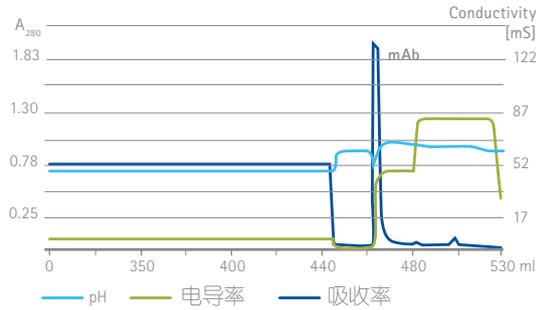
默克密理博为不同的层析技术提供多种 Fractogel® 介质。所有 Fractogel® 介质均是为了生产生物分子而设计的。例如，使用各种 Fractogel® 离子交换介质，以高通过速率，处理天然或重组蛋白质（如血浆因子、单克隆抗体）。M 型 Fractogel® 离子交换介质广泛用于捕获步骤，而最终纯化可使用 S 型离子交换介质或疏水性相互作用层析介质。最终纯化也可使用 Fractogel® EMD BioSEC 分子筛柱。金属螯合亲和层析可以高效地用于特定应用领域。



用于离子交换层析的 Fractogel® 介质

图 1. 使用 Fractogel® EMD S03 介质，捕获单克隆抗体

平衡（25 mM 磷酸钠缓冲液，pH 5.5）后，将含有 415 mg 蛋白质（相当于 30 mg mAb）的样品装入柱内。随后，用平衡缓冲液清洗柱，使用盐梯度（25 mM 磷酸钠缓冲液 / 0.5 M NaCl, pH 7），获得 94% 纯化抗体洗脱液。



离子交换层析 (IEX) 是稳健、有效的技术，基于电荷来分离分子。区分两种交换类型：碱性（带正电荷，或阳离子）和酸性（带负电荷，或阴离子）。它们又可分为带弱碱、弱酸性或强碱、强酸性官能团。后者的官能团通常以离子化形式存在，不受规定操作范围内的 pH 值影响。离子交换层析可采用结合模式或流过模式操作。

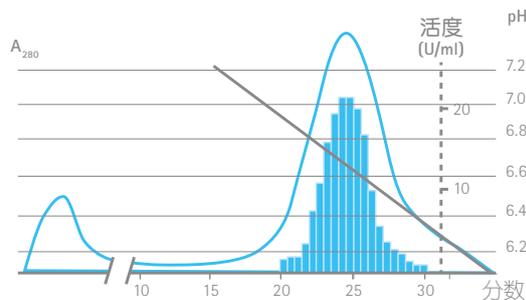
Fractogel® 离子交换介质的主要应用领域

- 从各种来源（例如细胞培养上清液、微生物表达系统、包涵体、血浆、植物、组织等）中分离天然和重组蛋白质
- 有效地纯化肽和低分子量物质（例如 NADP、ATP、神经节苷脂等）
- DNA、内毒素和宿主细胞蛋白质，获得优良的对数减少值
- 安全去除病毒
- 很适用于有效纯化单克隆抗体

用于金属螯合亲和层析的 Fractogel® 介质

图 2. 使用 Fractogel EMD Chelate 介质，纯化葡萄糖激酶（来自酵母）。

在固定的钴离子上，执行金属螯合层析。在由高到低 pH 线性梯度的洗脱过程中，可将纯化酶集中在一个峰处洗脱。含有 1 M KCl 和 10 mM 葡萄糖的 20 mM 磷酸盐缓冲液（pH 7.5），被用作缓冲液 A。将缓冲液 A 调整到 pH 值为 6.0，用于洗脱。



对于 Fractogel® EMD Chelate，选择亚氨基二乙酸作为功能亲和配基。该配基非常适合于金属离子配位作用。金属离子的自由配位点，被用来与各种蛋白质和肽结合。

Fractogel® EMD Metal Chelate 亲和介质的主要应用领域

- 非常适合于分离重组、组氨酸标签蛋白质
- 肽的分离
- 柱内的在位复性

用于分子筛层析的 Fractogel® 介质

分子筛层析 (SEC) 是一种纯化方法，通常不限制缓冲液的选择。使用 Fractogel® EMD BioSEC 介质，可对天然和重组蛋白质、病毒和血浆来源生物药剂进行纯化。Fractogel® EMD BioSEC 介质具有压力稳定性，因而易于填充到高性能、生产规模的层析柱中。益处包括：缩短上市时间，简单直接地从实验室规模放大到生产规模的层析柱。

Fractogel® EMD BioSEC 介质的主要应用领域

- 血浆因子的有效纯化步骤
- 去除二聚体和高分子量聚集体（例如单克隆抗体）
- 病毒的纯化
- 测定蛋白质的表观分子量

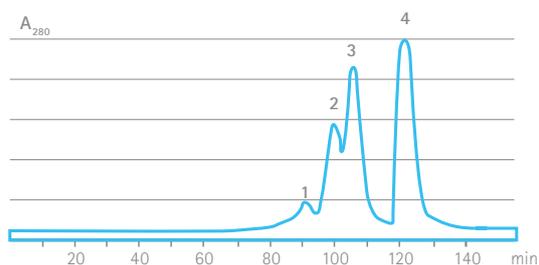


图 3. 使用 Fractogel® EMD BioSEC，分离标准蛋白质混合物。

样品含有 BSA（峰 1 为 BSA 的二聚体，峰 2 为 BSA 单体）、卵清蛋白（峰 3）和细胞色素（峰 4）。以 1.0 ml/min (30 cm/hr) 的流率，将 500 μ l 样品装入 600 x 16 mm Fractogel® EMD BioSEC 柱，使用含有 0.1 M NaCl 的 20 mM 磷酸钠缓冲液 (pH 7.2) 作为洗脱剂。

用于疏水性相互作用层析的 Fractogel® HIC 介质

默克疏水填料 Fractogel® Merck Phenyl 介质带有疏水性较强的配基，可以针对胞质蛋白、抗体、重组蛋白质或膜蛋白质的做纯化分离。

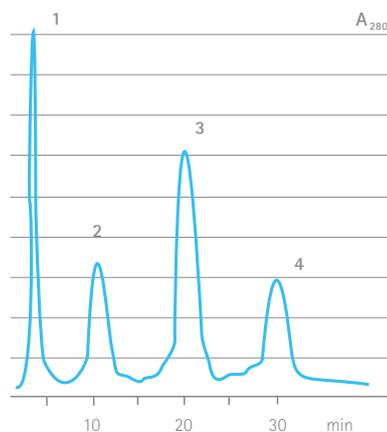


图 4. 以 Fractogel® EMD Phenyl 分离细胞色素 C (cytochrome C) (峰 1), 肌球蛋白 myoglobin (峰 2), 溶解酵素 lysozyme (峰 3), 和胰凝乳蛋白酶原 A chymotrypsinogen A (峰 4)。

层析柱规格 150 x 10 mm, 缓冲液 A: 20 mM 磷酸钠, 1.8M 硫酸铵, pH 7, 缓冲液 B: 20 mM 磷酸钠, pH 7; 流速 1ml/min。

在您的工艺中 使用 Fractogel® 介质

Fractogel® 介质的支持力量，是默克密理博无可比拟的全球专业知识和客户支持服务。64 个国家有我们的专用服务组织，在世界范围内提供技术和应用专门知识。您可以依靠我们提供现场培训与支持，或使用我们在世界各地的生物制药科学与培训设施，将我们的专业知识引入您的工艺。

我们的目标是帮助您：

- 由小试规模，可预测地、有效地转变为制造规模加工
 - 确保以计划速率进行生产，并获得所期望的收率和纯度
 - 建立稳健、一致、可转移的过程
 - 确保长房及时并成功地开始运行
-

优良的制造质量

在生物制药工艺物料的生产与处理中，默克密理博遵守严格的安全标准。默克密理博按照公认的国际质量标准进行操作，目标是提供最高的产品质量和安全性。除了已制定的 DIN ISO 9001:2008 或等效的质量系统，Fractogel® 介质产品系列的生产与处理还额外实行了几项 GMP 要求。



Fractogel® 介质订购信息

说明	数量 [ml]	粒度 [μm]	容量 [每 ml 凝胶]	货号
Fractogel® EMD IEX 介质				
Fractogel® 强阴离子交换介质				
Fractogel® EMD TMAE (M)	10, 100, 500, 5000	40-90	100 mg BSA	1.16881
Fractogel® EMD TMAE Hicap (M)	10, 100, 500, 5000	40-90	180 mg BSA	1.10316
Fractogel® EMD TMAE Medcap (M)	10, 100, 500, 5000	40-90	150 mg BSA	1.16885
Fractogel® EMD TMAE (S)	10, 100, 500, 5000	20-40	100 mg BSA	1.16887
Fractogel® 弱阴离子交换介质				
Fractogel® EMD DEAE (M)	10, 100, 500, 5000	40-90	100 mg BSA	1.16883
Fractogel® EMD DEAE (S)	10, 100	20-40	100 mg BSA	1.16888
Fractogel® EMD DMAE (M)	10, 100, 500, 5000	40-90	100 mg BSA	1.16884
Fractogel® 强阳离子交换介质				
Fractogel® EMD SO3- (M)	10, 100, 500, 5000	40-90	130 mg Lys	1.16882
Fractogel® EMD SE Hicap (M)	10, 100, 500, 5000	40-90	140 mg Lys	1.14894
Fractogel® EMD SO3- (S)	10, 100, 5000	20-40	150 mg Lys	1.16890
Fractogel® 弱阳离子交换介质				
Fractogel® EMD COO- (M)	10, 100, 500, 5000	40-90	100 mg Lys	1.16886
Fractogel® EMD 亲和介质				
Fractogel® EMD Chelate (M)	10, 250, 500, 5000	40-90	80 μmol Cu	1.10338
Fractogel® EMD SEC 介质				
Fractogel® EMD BioSEC	150, 250, 1000, 5000	20-40	5-1,000 kDa	1.10317

SEC = 尺寸排阻 Lys= 溶菌酶 BSA= 牛血清白蛋白

筛选工具包的内容

Fractogel® AEX 筛选工具包

货号 1.50502.0001

Fractogel® DMAE 选型预装柱	1 × 1 ml
Fractogel® DEAE 选型预装柱	1 × 1 ml
Fractogel® TMAE 选型预装柱	1 × 1 ml
Fractogel® TMAE Hicap 选型预装柱	1 × 1 ml
连接器: Luer 锁插口 /1/16" 插头	4 件

Fractogel® CEX 筛选工具包

货号 1.50502.0001

Fractogel® SO3- 选型预装柱	1 × 1 ml
Fractogel® SE Hicap 选型预装柱	1 × 1 ml
Fractogel® COO- 选型预装柱	1 × 1 ml
连接器: Luer 锁插口 /1/16" 插头	3 件

预填充柱订购信息

说明	柱尺寸	货号
MiniChrom Fractogel® TMAE (M) 1ml	8 × 20 mm	1.25054.0001
MiniChrom Fractogel® TMAE (M) 5ml	8 × 100 mm	1.25069.0001
RoboColumn Fractogel® TMAE (M) 0.2ml	5 × 10 mm	1.25084.0001
RoboColumn Fractogel® TMAE (M) 0.6ml	5 × 30 mm	1.25136.0001
MiniChrom Fractogel® TMAE HC (M) 1ml	8 × 20mm	1.25055.0001
MiniChrom Fractogel® TMAE HC (M) 5ml	8 × 100mm	1.25070.0001
RoboColumn Fractogel® TMAE HC 0.2ml	5mm × 10mm	1.25085.0001
RoboColumn Fractogel® TMAE HC 0.6ml	5mm × 30mm	1.25137.0001
MiniChrom Fractogel® SO3 (M) 1 ml	8 × 20mm	1.25061.0001
MiniChrom Fractogel® SO3 (M) 5ml	8 × 100mm	1.25072.0001
RoboColumn Fractogel® SO3 0.2ml	5mm × 10mm	1.25090.0001
RoboColumn Fractogel® SO3 0.6ml	5mm × 30mm	1.25139.0001
MiniChrom Fractogel® DEAE (M) 1 ml	8 × 20mm	1.25058.0001
MiniChrom Fractogel® DEAE (M) 5ml	8 × 100mm	1.25079.0001
MiniChrom Fractogel® DMAE (M) 1 ml	8 × 20mm	1.25059.0001
MiniChrom Fractogel® DMAE (M) 5ml	8 × 100mm	1.25080.0001
MiniChrom Fractogel® SE HC (M) 1 ml	8 × 20mm	1.25060.0001
MiniChrom Fractogel® SE HC (M) 5ml	8 × 100mm	1.25081.0001
MiniChrom Fractogel® COO (M) 1 ml	8 × 20mm	1.25062.0001
MiniChrom Fractogel® COO (M) 5ml	8 × 100mm	1.25082.0001
MiniChrom Fractogel® TMAE MC (M) 5ml	8 × 20mm	1.25078.0001
MiniChrom Fractogel® TMAE MC (M) 1ml	8 × 100mm	1.25056.0001
MiniChrom Fractogel® Chelate (M) 1 ml	8 × 100mm	1.25063.0001
MiniChrom Fractogel® Chelate (M) 5ml	8 × 20mm	1.25083.0001
MiniChrom Fractogel® TMAE (S) 1ml	8 × 20mm	1.25057.0001
MiniChrom Fractogel® TMAE (S) 5ml	8 × 100mm	1.25071.0001
RoboColumn Fractogel® TMAE (S) 0.2ml	5mm × 10mm	1.25086.0001
RoboColumn Fractogel® TMAE (S) 0.6ml	5mm × 30mm	1.25136.0001





上海
上海市浦东张江高科技园区
晨晖路88号2号楼2楼
邮编：201203
电话：021-38529000
传真：021-53060838

北京
北京市朝阳区曙光西里甲5号院
凤凰置地广场A座写字楼18层
邮编：100022
电话：010-59898600
传真：010-57623560

广州
广州市黄埔大道西638号
富力科讯大厦803A室
邮编：510627
电话：020-37883048
传真：020-37883072

成都
成都市芷泉街229号
东方广场C座11楼7号
邮编：610061
电话：028-85288550
传真：028-85288553

www.merckmillipore.com 客服电话：400 889 1988

Merck Millipore and the M logo are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany.
©2014 EMD Millipore Corporation, Billerica, MA, USA. All rights reserved.
BPS201401Fractogel v1