(2) non IgG-like BsAbs：

non IgG-like 双抗需要考虑杂质种类、结构，以及和目的分子的性质差异，选择合理的纯化手段。依据特定结构域选择合适的亲和填料对于提高纯化效过有显著影响。

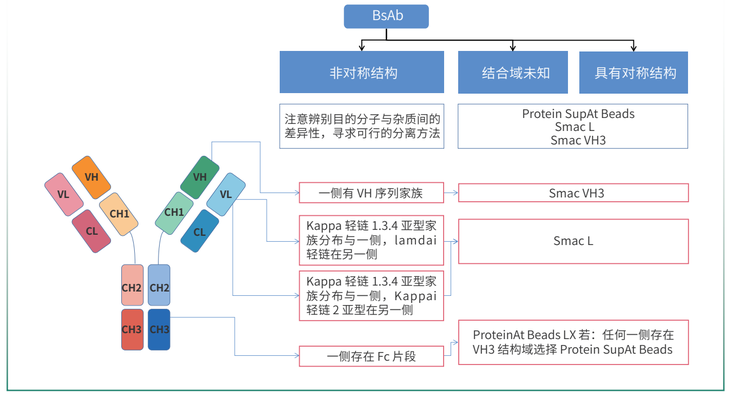


图 9 双抗结构对亲和层析填料的选择有重大影响

Smac L 的配体是耐碱性重组 Protein L，能够特异性结合抗体的κ轻链并具有更广泛的免疫球蛋白类和亚类的结合范围。可使用 NaOH 溶液进行 CIP。

抗体重链可变结构域(VHH/nanobody)：

VHHs具有全抗的部分或全部功能，且分子量较小，具有广泛的应用和发展前景。

在纯化过程中，VHH 比单克隆抗体更多样化，可采用包括Smac VH3 层析和离子交换层析、疏水层析、多模式层析进行纯化。

融合蛋白策略也可以提供一个特定的结合位点。酶水解去除标签后，经 1-2 步纯化即可获得高纯度抗体原液（图 10）。

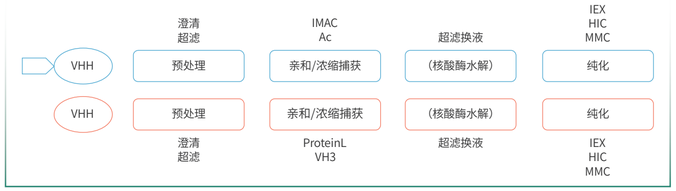


图 10 两种 VHH 的纯化方案

天地人和可以为您提供抗体药领域的全套解决方案，在开发和生产的每个阶段提供工艺开发和人员培训等配套服务。产品涵盖研发阶段使用的小规模预装柱，到千升规模的生产层析填料的全线产品。完全自主开发和生产，并能够实现稳定的供货。

产品优势：

1. 动态载量高
2. 使用寿命长
3. 耐碱易清洁
4. 低非特异性修复
5. 高流速
6. 增值服务

订购信息

产品名称	货号	包装规格
Protein At Beads LX	SA085	(5ml/25ml/100ml/500ml/1L/10L)
Protein SupAt Beads	SA095	(5ml/25ml/100ml/500ml/1L)
rProtein A-ME Beads 4FF	SA073	(5ml/25ml/100ml/500ml/1L)
Smac L	SA100	(5ml/25ml/100ml/500ml/1L)
Smac MMA	S1031	(25ml//100ml/500ml/1L/10L)
Smac MMC	S1033	(25ml/100ml/500ml/1L/10L)
Smac Q	S1019	(25ml/100ml/500ml/1L/10L)
Smac Q 40	SI035	(25ml/100ml/500ml/1L/10L)
Smac SP	S1027	(25ml/100ml/500ml/1L/10L)
Smac SP 40	SI028	(25ml/100ml/500ml/1L/10L)
Q Beads HP	SI010	(50ml/75ml/250ml/1L/10L)
SP Beads HP	SI011	(50ml/75ml/250ml/1L/10L)

常州天地人和生物科技有限公司 Smart-lifesciences Biotechnology Co., Ltd.
网址：www.smart-lifesciences.com 销售/0519-83820182 售后/0519-83736881

官方公众号 Bilibili 小红书

天地人和
Smart-Lifesciences

抗体纯化

前言

抗体药经过数十年的发展，已成为全球新药开发的热点，通过片段重组、药物偶联、位点修饰等方法，科研人员研发了包括单克隆抗体（Monoclonal Antibody，mAb）、双特异性抗体（Bispecific Antibody，BsAb）、多特异性抗体（Polybispecific Antibody，PsAb）、抗体偶联药物（Antibody Drug Conjugate，ADC）、抗体融合蛋白（Antibody fusion protein）等多种抗体药。

单克隆抗体（mAb）：

抗体药物的生产一般采用三步层析法。主要采用 Protein A、阳离子交换和阴离子交换层析来获得合格原料药（图 1）。

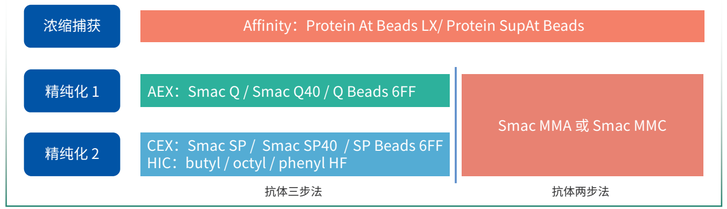


图 1 单克隆抗体抗体三步法和两步法纯化方案

此过程中，通常先使用耐碱的 Protein A 亲和层析捕获。

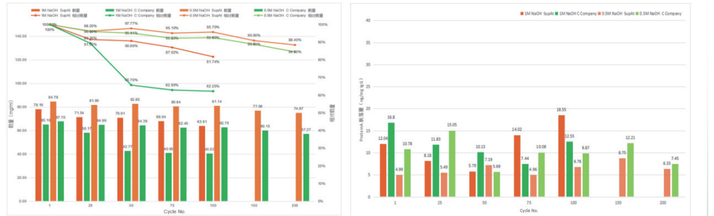
亲和层析是抗体纯化的核心步骤，亲和层析后纯度 >90%。随后使用两步离子交换或复合模式层析去除残留杂质，如：HCP、HCD、内毒素、病毒、聚体和脱落的 Protein A 配体，以满足终产品质量要求。

Smart-Lifesciences 开发了高亲和力、高耐碱的层析介质，包括 Protein At Beads LX 和 Protein SupAt Beads。

Smart-Lifesciences 拥有完善的质量控制体系，使填料拥有最高水平的批间稳定性。持续、稳定、快速地向您提供优秀的抗体纯化产品。

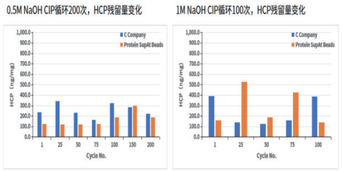
产品参数：

Protein SupAt Beads 经过完善的检测，确保产品性能达到设计标准（图 2 & 3）。

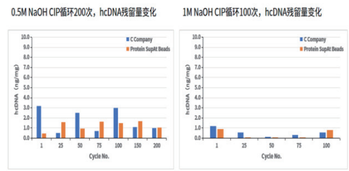


相对初始载量的DBC载量测试

不同清洗条件下的配体脱落率检测



不同清洗条件下的HCP残留量检测



不同清洗条件下的HCD残留量检测

图 2 Protein SupAt Beads 测试数据

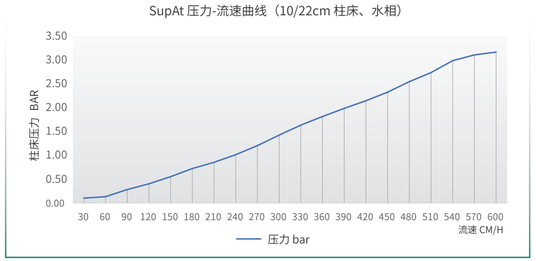


图 3 Protein SupAt Beads 压力流速曲线

Protein At Beads LX 和 Protein SupAt Beads 是优秀的亲和层析填料，已在多个案例中拥有良好的纯化表现。

应用案例 1：

在本案例中，单克隆抗体的纯化采用经典的3步层析工艺。

工艺路线：ProteinAt Beads LX → Smac Q → Smac SP40，总回收率 83%。杂质去除效果良好，纯度接近 100%（表 1 & 图 4）。

表 1 层析结果汇总

层析步骤	模式	纯度 (%)	聚体 (%)	HCP (ng/mg)	HCD (pg/mg)	配体残留 (PPM)
Protein At Besds LX	Binding	98.6	0.87	246.3	437	2
Smac Q	Flow Through	99.16	0.3	98.6	0	0
Smac SP 40	Binding	~100	0	8.3	0	0

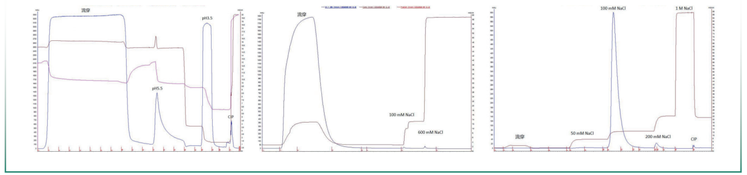


图 4 ProteinAt Beads LX（左），Smac Q 40（中），Smac SP 40（右）层析图谱

双特异性抗体（BsAb）：

双特异性抗体的制备过程与单克隆抗体相似，但更为复杂，纯化工艺难度大。如何有效地去除 DBPs，如同型二聚体、半抗体、轻链/重链相关杂质和聚合物，是一个重大挑战。推荐采用 DOE 方法进行优化，得到最优的层析工艺参数。

双抗结构形式根据 Fc片 段的有无大致可划分 IgG 样（IgG-like）双抗和非 IgG 样（non IgG-like）双抗。也可按为对称/非对称结构分类（见图 5）。

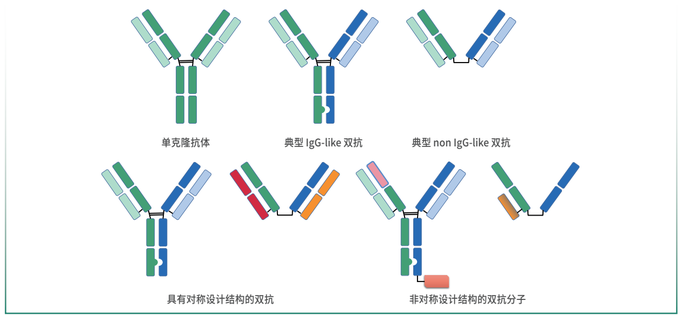


图 5 典型单抗和多抗的结构差异

(1) IgG-like BsAbs：

可以使用 Protein SupAt Beads 进行捕获，之后利用结合力的差异除去轻链杂质、部分聚体和错配分子。之后使用离子、疏水或多模式填料进行精纯化（图 6）。

天地人和可以提供完善的抗体纯化填料选择，以适应不同双抗分子的纯化。

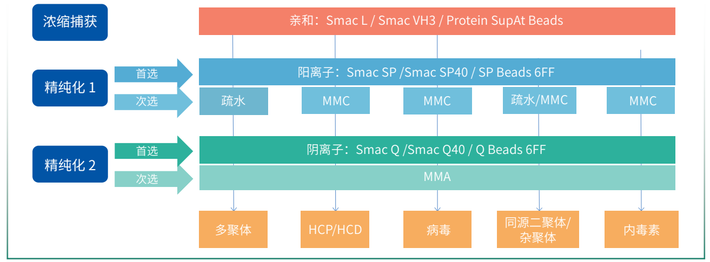


图 6 双特异性抗体纯化方案

应用案例2：

在本案例中，使用亲和和离子交换填料对 IgG-like 双抗进行纯化。

工艺路线：Protein SupAt Beads → Smac SP40 → Smac Q40

使用 Smac SP 40 对双抗进行精纯化，主要除去聚合体和 HCP。精纯化后原液质量完全满足质量要求（图 7 & 8，表 2）。

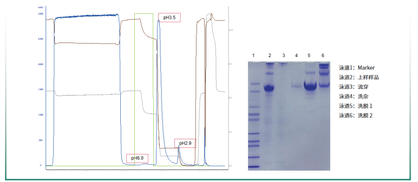


图 7 Protein SupAt Beads 层析图谱及电泳检测

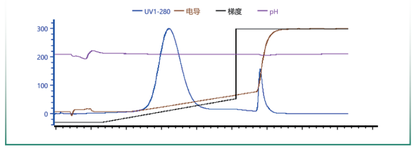


图 8 Smac SP 40 层析图谱

表 2 层析数据汇总

层析步骤	模式	纯度 (%)	聚体 (%)	片段杂质 (%)	HCP (ng/mg)	HCD (pg/mg)	配体残留 (PPM)
Protein SupAt Beads	Binding	93.62	5.42	0.83	347.9	376	3
Smac SP 40	Binding	98.55	0.46	0.74	15.1	336	0
Smac Q 40	Binding	99.53	0.09	0.36	7.6	0	0