



lexCap Hydroxyapatite 20 (CHT II 20)

lexCap Hydroxyapatite 40 (CHT II 40)

lexCap Hydroxyapatite 60 (CHT II 60)

目录

1. 产品介绍.....	1
2. 纯化流程.....	1
3. 填料清洗与保存.....	2
4. 问题及解决方案.....	2
5. 订购信息及相关产品.....	2

1. 产品介绍

羟基磷灰石介质 (Hydroxyapatite, CHT) 是下游纯化中一种独特的复合模式刚性填料, 具有离子交换与金属亲和两种结合方式, 拥有其他填料所不具备的特殊分离能力。可以通过钙离子捕获目的蛋白, 也可以通过磷酸根去捕获带正电的基团。羟基磷灰石介质由无机物在高温下烧结制成, 不含任何动植物成分。该介质可以应用于不同类型单克隆和多克隆抗体、双抗及抗体片段、重组蛋白、疫苗、酶、核酸、病毒颗粒等各类生物大分子的纯化。CHT II 因其孔径更大, 更适合于 IgM、病毒、VLP、质粒等大颗粒生物分子 (>400KD) 的纯化。羟基磷灰石介质强大的功能, 使其可以胜任捕获至精纯的任一阶段, 具体性能见表 1。

lexCap Hydroxyapatite (CHT II) 是一种中压预装柱, 有 1 ml 和 5 ml 两种规格的预装柱, 分别填装 1 ml 和 5 ml Hydroxyapatite (CHT II)。预装柱具有标准接口, 可以适配商品化的各类中低压色谱系统, 如 AKTA 等, 方便客户操作。

表 1. lexCap Hydroxyapatite (CHT II) 产品性能

产品型号	CHT II
官能团	Ca ²⁺ 、PO ₄ ³⁻ 、-OH
微球平均粒径	20 μm、40 μm、60 μm
孔径	70-90 nm
振实密度	0.6-0.8 g/ml
推荐流速	50-1000 cm/h
动态载量	>12.5 mg lysozyme/g CHT
pH 稳定性	6.5-14, 可在 1M NaOH 中存储 1 年以上
试剂耐受	1 M NaOH, 8 M 尿素, 6 M 盐酸胍, 乙醇, 甲醇, 100% 乙腈
消毒	1-2 M NaOH
再生	0.4 M 磷酸钠缓冲液, pH7-7.5; 1 M 磷酸三钠缓冲液, pH11-12; 如需更高磷酸盐浓度, 可采用 0.4 -1 M 磷酸钾缓冲液
最大压力	3 bar (43 psi) *
存储条件*	0.1 M NaOH+10 mM 磷酸盐, 2-8℃

*因柱管材质受限, 建议使用过程柱压差不超过 3bar。

2. 纯化流程

2.1 缓冲液的准备

所用水和缓冲液在使用之前建议用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤。

所使用的平衡液和洗脱液, 根据不同离子交换填料自行选择。基本原则是低盐上样, 高盐洗脱。

2.2 样品准备

上样之前确保样品溶液有合适的离子强度和 pH 值, 样品可以用平衡或洗脱液进行透析或稀释。样品在上样前建议离心或用 0.22 μm 或 0.45 μm 滤膜过滤, 减少杂质, 调高蛋白纯化效率和防止堵塞柱子。





2.3 样品纯化

lexCap Hydroxyapatite (CHT II) 是一种独特的复合模式刚性填料预装柱产品，可以用各种常规的中低压色谱系统，以ÄKTA 仪器使用为例介绍使用方法。

- 1) 将泵管道中注满去离子水。去掉上塞子，将层析柱连接至色谱系统中，打开下出口，将预装柱接到色谱系统中，并旋紧；
- 2) 用 3-5 倍柱体积的去离子水冲洗出储存缓冲液；
- 3) 使用至少 5 倍柱床体积的平衡液平衡色谱柱；
- 4) 利用泵或样品环上样（上样量不要超过介质载量的 80%）。注：样品的粘度增加使得即使上样体积很少，也会导致层析柱很大的反压，大量的样品体积也可能造成很大的反压，使得进样器更难使用；
- 5) 用淋洗液冲洗柱子，直到紫外吸收达到一个稳定的基线（一般至少 10-15 个柱体积）；
- 6) 线性洗脱：0-100%洗脱液洗脱至少 20 个柱体积，收集洗脱液，即目的蛋白组分；
等度洗脱：洗脱液洗脱至少 15 个柱体积，首次测试后，后续放大纯化，可使用 5-10 倍柱体积的选定盐浓度洗脱液洗脱，该方法有利于抗体在一个比较集中的浓度洗脱，从而减少洗脱液的使用和循环纯化时间；
- 7) 洗脱结束后，使用 5-10 倍柱体积的清洗缓冲液对介质进行清洗，去除结合较强的杂质。

2.4 SDS-PAGE 检测

将使用纯化产品得到的样品（包括流出组分、洗杂组分和洗脱组分）以及原始样品使用 SDS-PAGE 检测纯化效果。

3. 填料清洗与保存

层析介质在使用一段时间后柱效可能下降，分离效果下降，可采用下面的流程进行清洗和再生。

- 1) 用平衡液冲洗 2 个柱体积；
- 2) 用 400 mM 磷酸盐冲洗 3-5 个柱体积（如需更高浓度磷酸盐去除结合紧密的杂质，考虑到磷酸钠溶解度和溶解速度，可使用磷酸钾；也可以使用含 5 mM 磷酸盐的 1-2 M KCl/NaCl、8 M 尿素或 6 M 盐酸胍、pH6.5-7.5 下进行清洗）；
- 3) 用小于 20 mM 磷酸盐冲洗 1-2 个柱体积；
- 4) 用 1.0 M NaOH 冲洗 1-2 个柱体积；
- 5) 用平衡液冲洗 4 个柱体积。

4. 问题及解决方案

问题	原因分析	推荐解决方案
柱子反压过高	填料被堵塞	按照第3部分进行填料清洗。
		裂解液中含有微小的固体颗粒，建议上柱前使用滤膜（0.22或0.45 μm）过滤，或者离心去除。
洗脱样品较杂	填料重复多次使用	按照第3部分进行填料清洗或更换新填料
	洗杂不充分	增加洗杂液体积，确保填料充分平衡/洗杂
	样品带电性能相似	优化洗脱条件

5. 订购信息及相关产品

产品名称	货号	规格
Hydroxyapatite 20 (CHT II 20)	SA114005	5g
	SA114020	20g
	SA114100	100g
	SA114500	500g
	SA1141kg	1kg
lexCap Hydroxyapatite 20 (CHT II 20)	SA114C11	1*1 ml
	SA114C15	1*5 ml
	SA114C51	5*1 ml
	SA114C55	5*5 ml





Hydroxyapatite 40 (CHT II 40)	SA107005	5g
	SA107020	20g
	SA107100	100g
	SA107500	500g
	SA1071kg	1kg
lexCap Hydroxyapatite 40 (CHT II 40)	SA107C11	1*1 ml
	SA107C15	1*5 ml
	SA107C51	5*1 ml
	SA107C55	5*5 ml
Hydroxyapatite 60 (CHT II 60)	SA112005	5g
	SA112020	20g
	SA112100	100g
	SA112500	500g
	SA1121kg	1kg
lexCap Hydroxyapatite 60 (CHT II 60)	SA112C11	1*1 ml
	SA112C15	1*5 ml
	SA112C51	5*1 ml
	SA112C55	5*5 ml

