

低丰度宿主残留蛋白富集试剂盒

（磁珠法）

说明书

研发测试装

在实验前请完整阅读本说明书，务必重视注意点和常见问题！

版本：测试版

仅供研究用

湖州申科生物技术股份有限公司

■ 规格

2~3 测试/盒

■ 预期用途

低丰度宿主残留蛋白（Host Cell Protein, HCP）富集试剂盒适用于生物制品（单抗、融合蛋白等）中 HCP 的富集和去高丰度蛋白。

该试剂盒仅供研究使用，不可用于诊断。

■ 检测原理

在生物制剂的生产过程中，HCP 是由宿主生物（通常是哺乳动物细胞或微生物）产生的蛋白质。这些蛋白质具有潜在的免疫原性，可能会影响药物的安全性和有效性。因此，对 HCP 的监测是生物药物生产中一个关键质量属性（Critical Quality Attribute, CQA），它要求在药物的开发和生产阶段对 HCPs 的存在进行严格的监控、管理和记录。

随着生产流程，生物制品的纯度逐渐提高，相应地，HCP 的含量也在持续降低。这使得对 HCP 的分析和监测工作变得更加具有挑战性。在这种情况下，开发高效的 HCP 富集材料和技术变得尤为关键。

本试剂盒利用磁珠法构建了一个多样化且复杂的亲和配体库，旨在高效地识别并结合目标蛋白。其设计不仅针对传统的单一蛋白，还能适用于融合蛋白、单克隆抗体等多种生物样本类型，展现了卓越的适用性和灵活性。由于磁性纳米颗粒的独特性质，本试剂盒能够快速且有选择性地捕获 HCP，从而极大地提高了检测的灵敏度。此外，亲和配体库的广泛适用性使得该试剂盒在处理多种生物样本时都能表现出出色的富集效率，同时确保了对样本中低浓度蛋白质进行质谱分析、电泳等检测的准确性和可靠性。

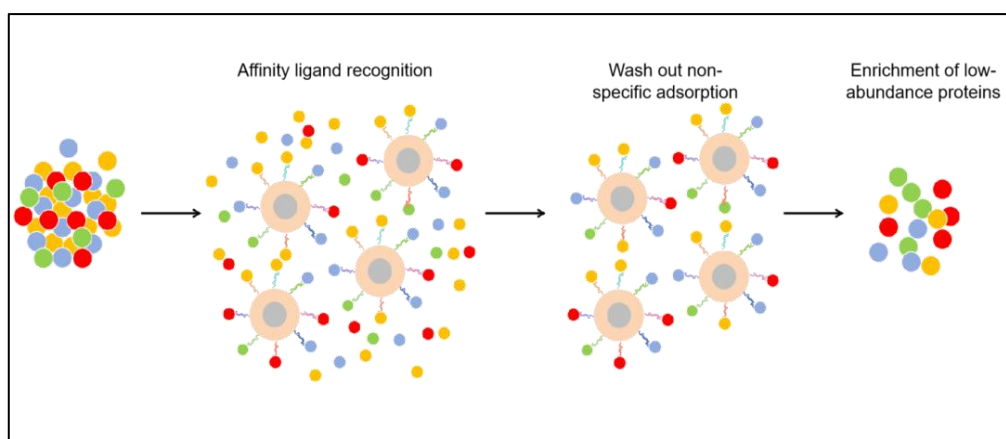


图 1 检测原理示意图

■ 试剂盒组分

表 1 试剂盒组分

组分	产品号	装量	储存条件
去高丰度蛋白磁珠	PNR004	300 μL $\times$ 1 管	2-8 $^{\circ}\text{C}$
10 $\times$ 洗涤液	PNJ002	500 μL $\times$ 1 管	2-8 $^{\circ}\text{C}$
洗脱液 A*	PNR002	0.5 g $\times$ 1 管	2-8 $^{\circ}\text{C}$
洗脱液 B	PNR003	1 mL $\times$ 1 管	2-8 $^{\circ}\text{C}$

*使用前与洗脱液 B 混合组成洗脱液

■ 储存条件及有效期

未开封试剂盒置 2-8 $^{\circ}\text{C}$ 保存，有效期为 6 个月。

洗脱液建议现配现用，配制好的洗脱液储存在 -18 $^{\circ}\text{C}$ 及以下，有效期为 6 个月。

■ 实验所需但试剂盒中未含材料

- 10 mM Tris (pH 7.0)
- 去离子水

■ 相关设备

- 磁板或磁力架
- 实验室超声波清洗机
- 垂直混匀仪
- 漩涡振荡器

■ 实验操作流程

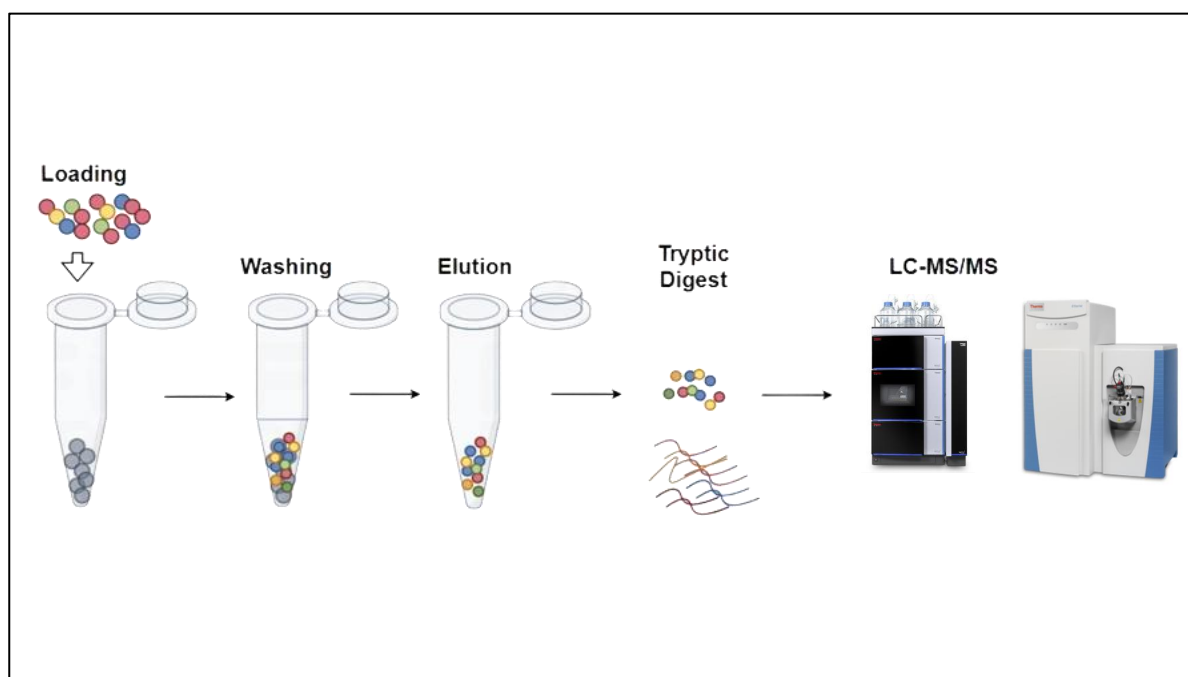


图 2 操作流程示意图

一、操作步骤

（一）样品前处理

由于样品中的表面活性剂、盐（NaCl、KCl 等）会影响到 HCP 提取效果，因此建议在使用产品前先将样品通过超滤、透析等方式将以上干扰物去除、溶液置换成去离子水或 10 mM Tris（pH 7.0）。或是将样品使用 10 mM Tris 进行稀释再进行下步实验，以保证提取效果为最佳。

（二）分离去高丰度蛋白磁珠储存液

每 10 mg 生物样品，建议取 100 μ L~200 μ L 去高丰度蛋白磁珠（10 mg/mL）以达到较佳的富集效率。将去高丰度蛋白磁珠利用磁力架进行磁分离，去除上清，直至肉眼无可见的液滴残留。加入 500 μ L 去离子水或 10 mM Tris（pH 7.0），水浴超声分散并快速洗涤磁珠（超声频率为 40 kHz，每超声 3 秒拿起试管晃动 2 秒，观察磁珠分散情况直至磁珠完全分散未肉眼可见的聚沉现象。）磁分离后去除上清，直至离心管底部未有肉眼可见的液滴残留，再重复此洗涤步骤 2 次。

（三）样品结合

在 2 mL 的蛋白低吸附离心管中，将磁分离后去除溶液的 1mg~2 mg

磁珠, 加入 10 mg 已前处理的样品 (样品蛋白质浓度范围为: 1 mg/mL-100 mg/mL)。在室温下, 使用垂直混匀仪 (30 转/分钟, 切记勿长时间剧烈混匀) 孵育 4 小时。

(四) 样品洗涤

使用磁力架将孵育后的样品磁分离并去除上清。加入 100 μ L 1 $\times$ 洗涤液 (10 $\times$ 洗涤液用去离子水稀释成 1 $\times$ 洗涤液) 水浴超声分散磁珠, 并使用垂直混匀仪 (30 转/分钟) 在室温下孵育 5 分钟, 磁分离后去除上清, 再重复此洗涤步骤 2 次。

(五) 洗脱

去除洗涤液后, 加入 60 μ L 洗脱液 (洗脱液组成为洗脱液 A 和洗脱液 B 混合), 将磁珠良好水浴超声分散于洗脱液中, 并使用垂直混匀仪 (30 转/分钟) 在室温下孵育 15 分钟。磁分离后收集上清液, 并再重复此洗脱步骤 1 次。合并两次收集的上清液, 此即为 HCP 的富集液。

(六) 表征和分析

将洗脱液保存在 -20°C 或进行下游分析 (为了获得最佳结果, 我们建议在分析前处理样品, 可使用超滤的方式置换溶液, 对于质谱分析的使用者建议采用 Filter Aided Sample Preparation (FASP) 前处理方式。)

■ 重要事项提醒

- ✧ 在将磁珠与生物样品孵育时建议将溶液使用超滤的方式去除样品干扰物，并将溶液置换成去离子水或是 10 mM Tris（pH 7.0），不可为 PBS，以利 HCP 的富集。也可将样品利用 10 mM Tris（pH 7.0）进行稀释后以降低干扰物浓度再与磁珠孵育，进行 HCP 富集。
- ✧ 样品与磁珠的比例最优比是 10：1~5：1，可随着实验需求增加或降低材料用量。
- ✧ 在每一步加入溶液时，要将磁珠分散均匀，以达到最佳纯化效果。
- ✧ 进入质谱分析前建议使用 FASP 方式进行酶解，去除富集液中的表面活性剂还有可能残留的杂质，获得最佳的检测效果。
- ✧ 在进行任何下游分析之前，您需要定量样品中的蛋白质含量。为此，我们建议使用 Bradford 蛋白质定量法进行快速定量。
- ✧ 在磁分离去除上清时，观察磁珠状态，勿让磁珠过于干燥，以免磁珠聚沉不易后续磁分散。

附表

常见问题	可能原因	解决方案
纯化效率低	样品中含表面活性剂或盐	超滤、透析或是稀释
	磁珠分散不完全，影响 HCP 富集	可短暂且快速的使用超声机使磁珠分散
	洗涤过程中磁珠有损失	增加磁分离时间，减少磁珠损失
	磁珠附着于管壁上	将离心管换成低吸附管，并借助超声机的使用使磁珠在溶液中良好分散。
分析效果不佳	HCP 富集液中存在的表面活性、低 pH 影响检测	使用超滤的方式去除干扰

生效日期：2024 年 05 月 10 日

服务支持



湖州申科生物技术股份有限公司
www.shenkebio.com
地址：浙江省湖州市红丰路 1366 号 6 号楼
Email: Info@shenkebio.com
电话：400-878-2189