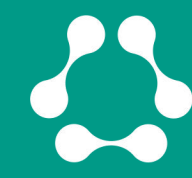


2N1 IMCStips: 全自动化蛋白质纯化、缓冲液置换与样品浓缩 —— 1 只 IMCStips 内完成

Gracie Anderson • [Todd Mullis](#) • L. Andrew Lee • Patrick Kates



Integrated Micro-Chromatography Systems, Inc., Irmo, SC

Contact: custserv@micro-sep.com

引言

- 自动化蛋白质纯化之后的缓冲液置换，通常涉及两个独立的纯化步骤。
- 在本研究中，我们展示了 2N1 IMCStips 技术，该技术能够在单根移液管内完全自动化实现蛋白质纯化、缓冲液置换和样品浓缩。
- 2N1 IMCStips 将传统的蛋白质纯化树脂与体积排阻树脂相结合，适用于各类大分子纯化。我们通过以下应用验证了 2N1 IMCStips 的实用性：
 - Protein A + SizeX：用于 IgG 纯化
 - Ni-IMAC + SizeX：用于 His 标签 GFP 纯化
 - Ion Exchange + SizeX：用于低浓度或无标签蛋白的浓缩

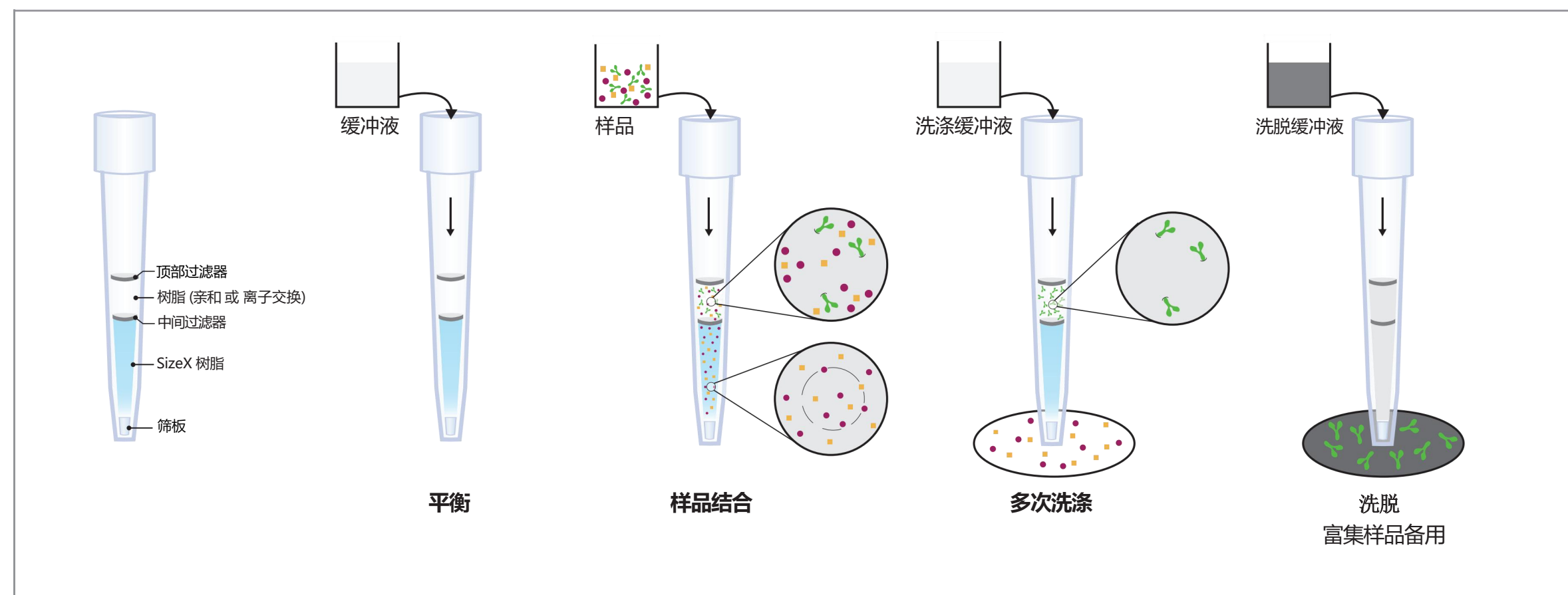


图1: 2N1 IMCStips 及其自动化工作流程示意图

方法

- 基于 2N1 IMCStips 的全自动化纯化分别在 Hamilton STAR 和 Tecan Fluent 两款自动化平台上完成。
 - 1 mL Protein A Hamilton 2N1 IMCStips
 - 50 μ L Protein A
 - 1 mL Ni-IMAC Hamilton 2N1 IMCStips
 - 25 μ L Ni-IMAC
 - 1 mL Ion Exchange Tecan 2N1 IMCStips
 - 50 μ L IEX
- 从澄清的细胞培养上清液中纯化抗体和his标记的GFP
- 使用以下工具分析纯化蛋白的回收率和纯度:
 - A280 测量
 - SDS-PAGE
 - 哺乳动物 HCP ELISA

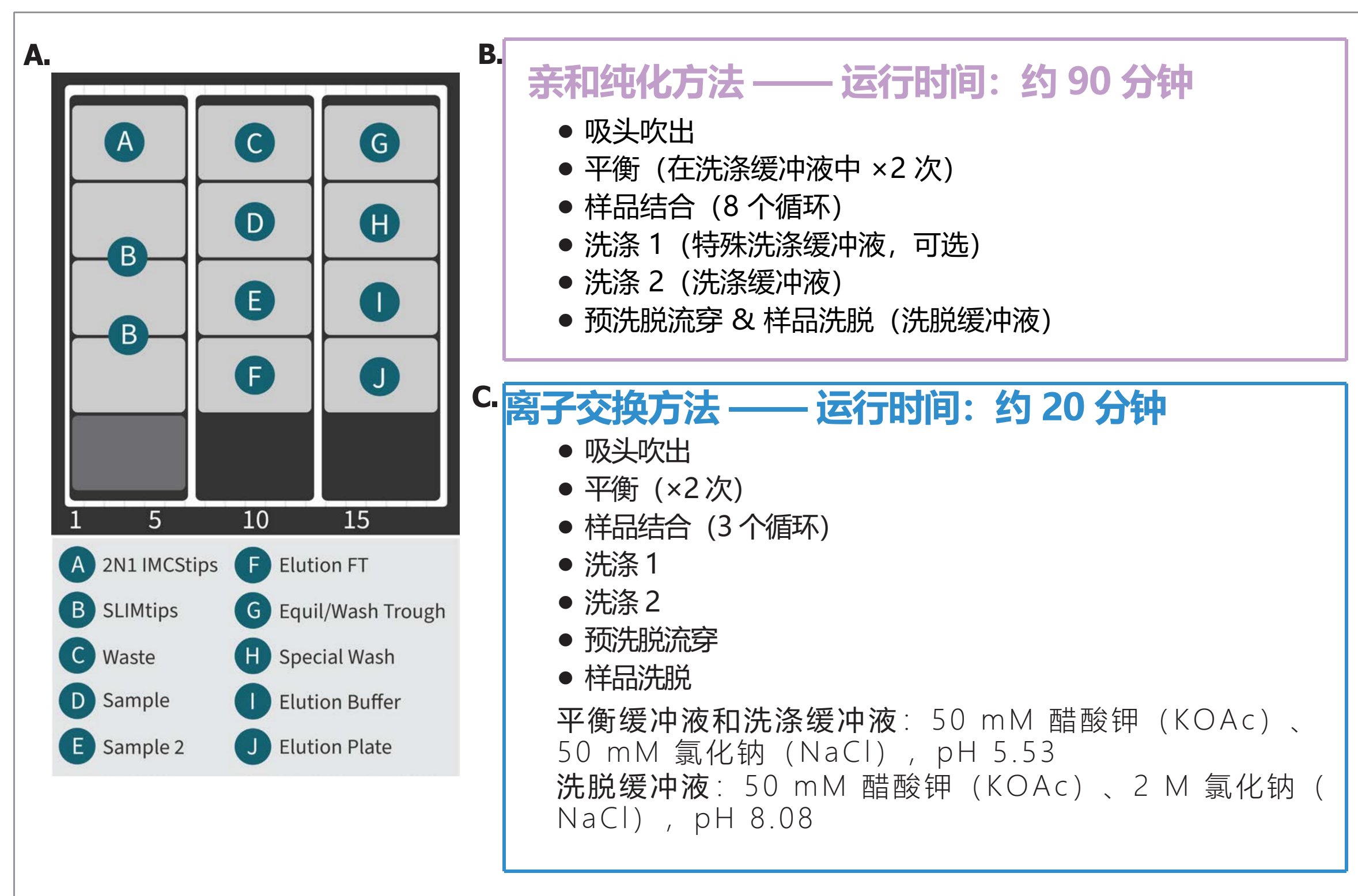


图2: (A) 2N1 IMCStips 纯化的工作台布局。(B) 使用 2N1 亲和 IMCStips 的亲和纯化工作流程概念。(C) 使用 2N1 CEX IMCStips 的离子交换纯化工作流程概念。

结果

Hamilton Microlab STAR

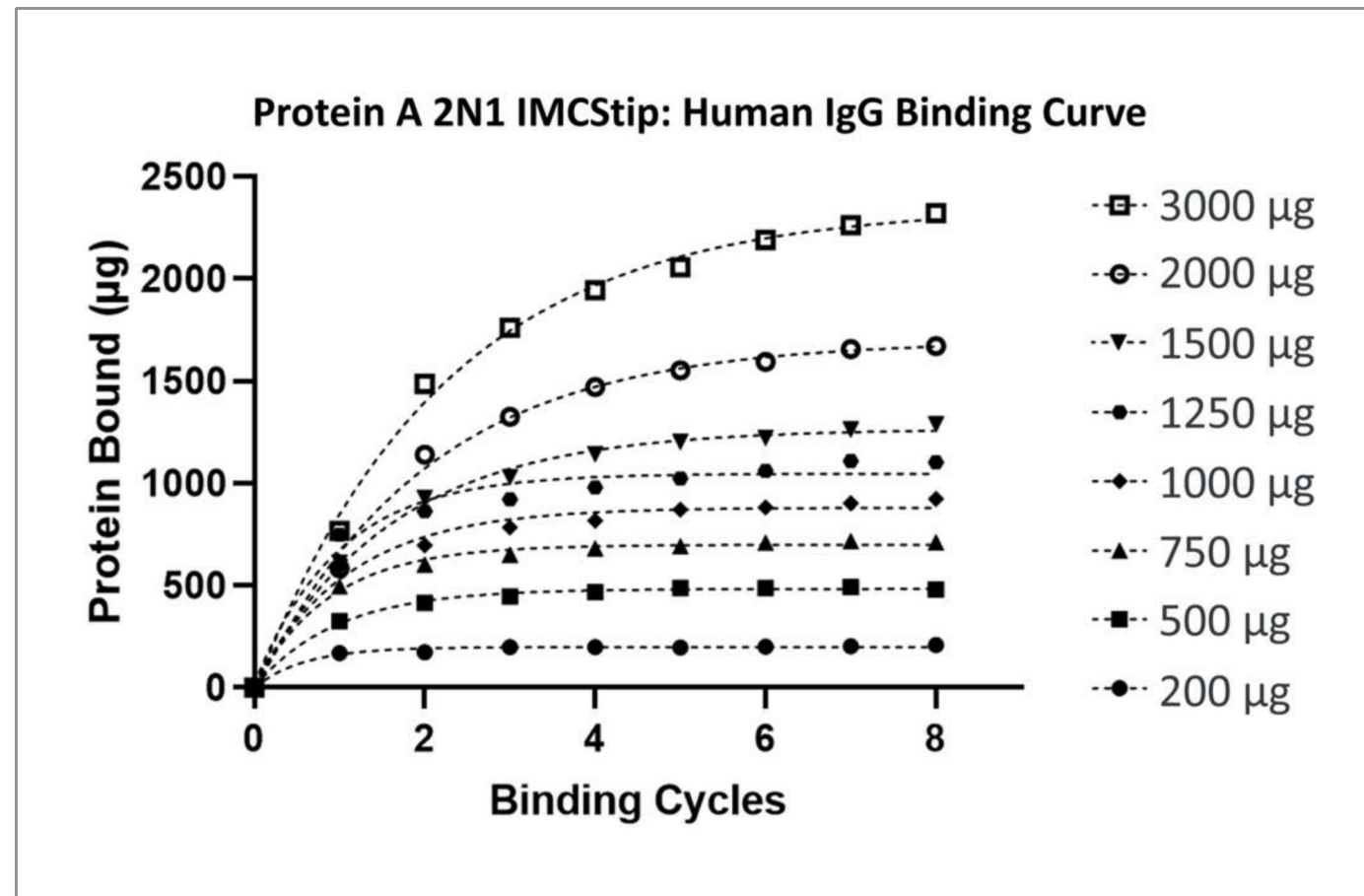


图3: 2N1 Protein A IMCStips 在不同HumanIgG 含量样品中的结合动力学

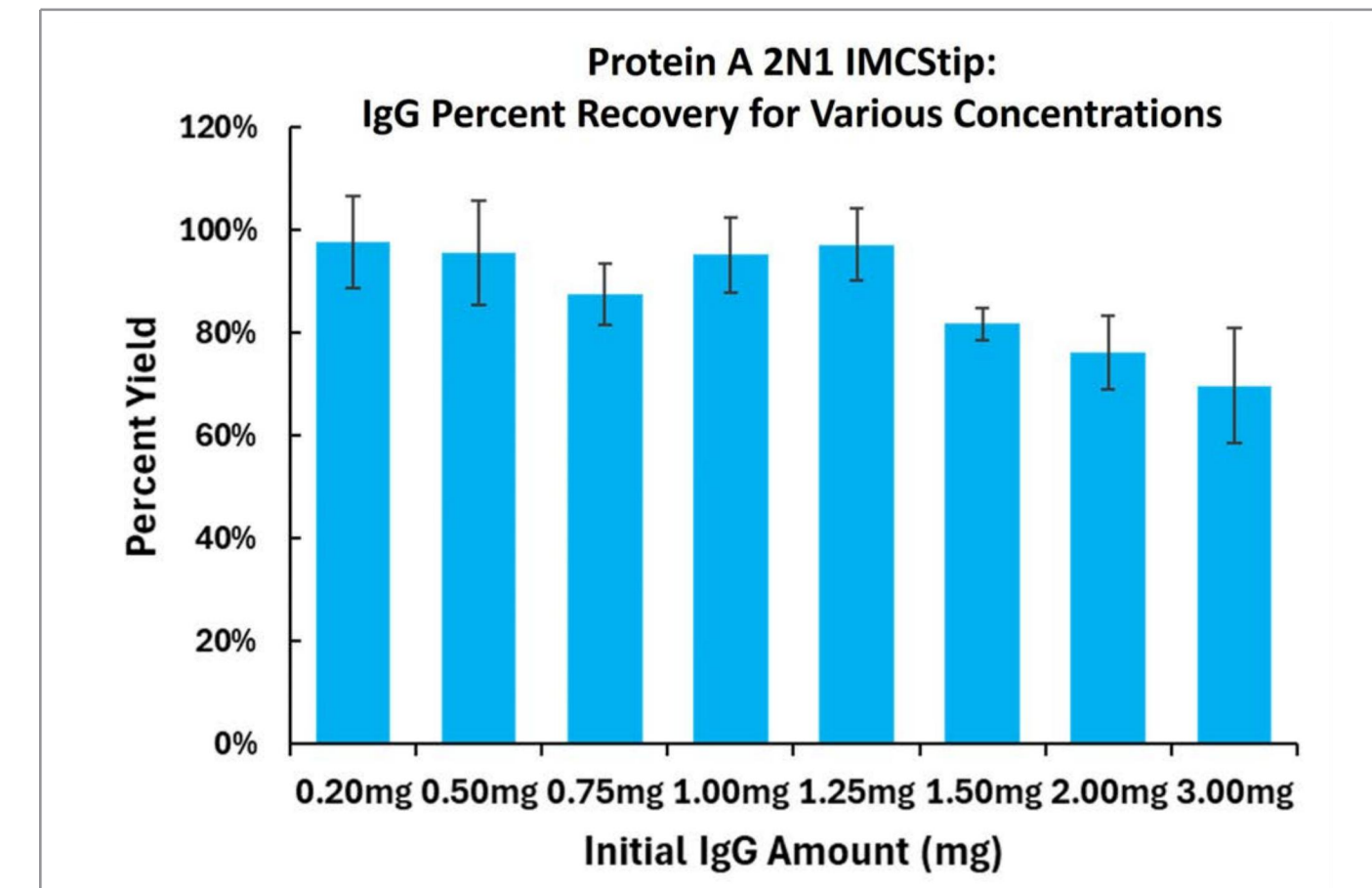


图4: 使用 2N1 Protein A IMCStips 从含不同量 Human IgG 的样品中获得的 IgG 百分比得率

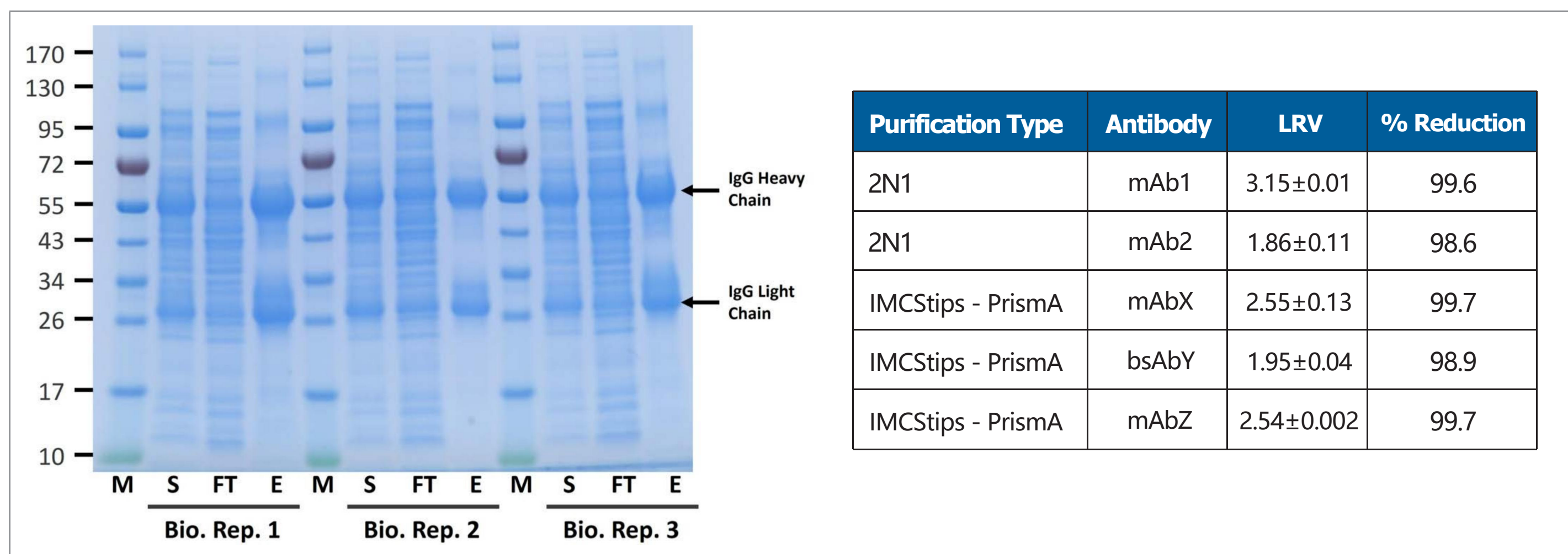


图5: 使用 2N1 Protein A IMCStips 纯化的 IgG 样品的 SDS-PAGE 凝胶电泳图及 HCP 定量结果。M: 分子量标记, S: 起始样品, FT: 流穿液, E: 洗脱样品, Bio. Rep.: 生物学重复

Tecan Fluent

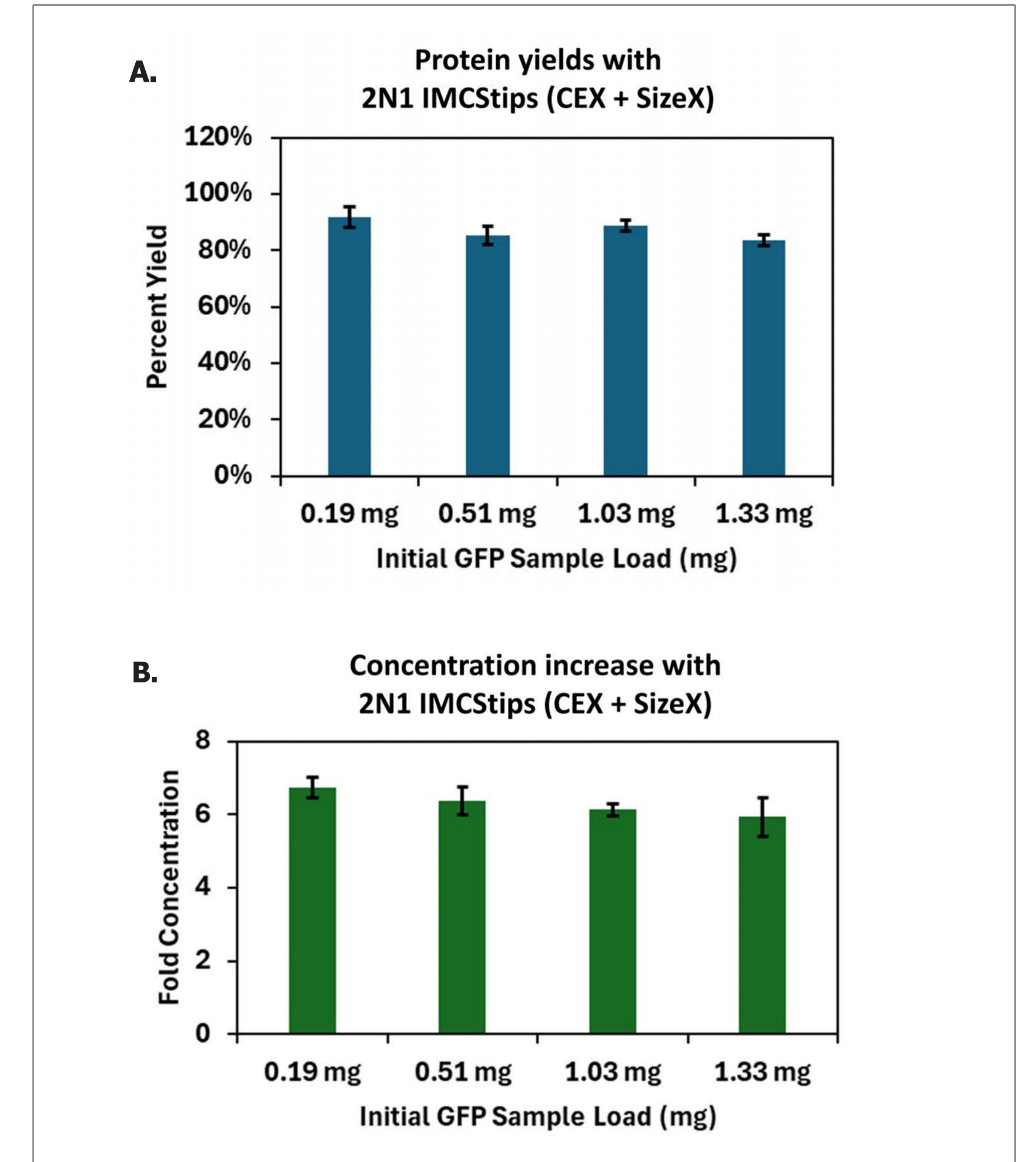


图8: 使用 2N1 IEX IMCStips 在 Tecan Fluent 上浓缩 GFP 的得率百分比 (A) 和浓度增加倍数 (B) 数据。洗脱样品的平均体积为 $142 \pm 7.9 \mu$ L。无 GFP 时的穿透率 $< 1\%$ 。方法参数见图 2C。总运行时间为 20 分钟。

结果总结

- 对于 IgG 和 His 标签 GFP 样品，在不同起始浓度下，蛋白质纯化及缓冲液置换的回收率均超过 80%。
- 经 ELISA 检测，2N1 IMCStips 与传统 IMCStips 在纯度和 HCP (宿主细胞蛋白) 水平上无差异。
- 20 μ L IEX 2N1 IMCStips 在不同起始蛋白浓度下均能实现 > 5 倍的浓缩。

结论

- 在单根移液管 (IMCStips) 内自动完成蛋白质纯化与缓冲液置换，简化了整体纯化流程。
- 减少液体体积，为下游分析提供更高浓度的样品。
- 由于减少了转移步骤，总体得率略高于分步操作流程。
- 非常适合 低浓度样品的浓缩 和 固定体积洗脱。
- 在初始色谱步骤之后立即进行缓冲液置换。

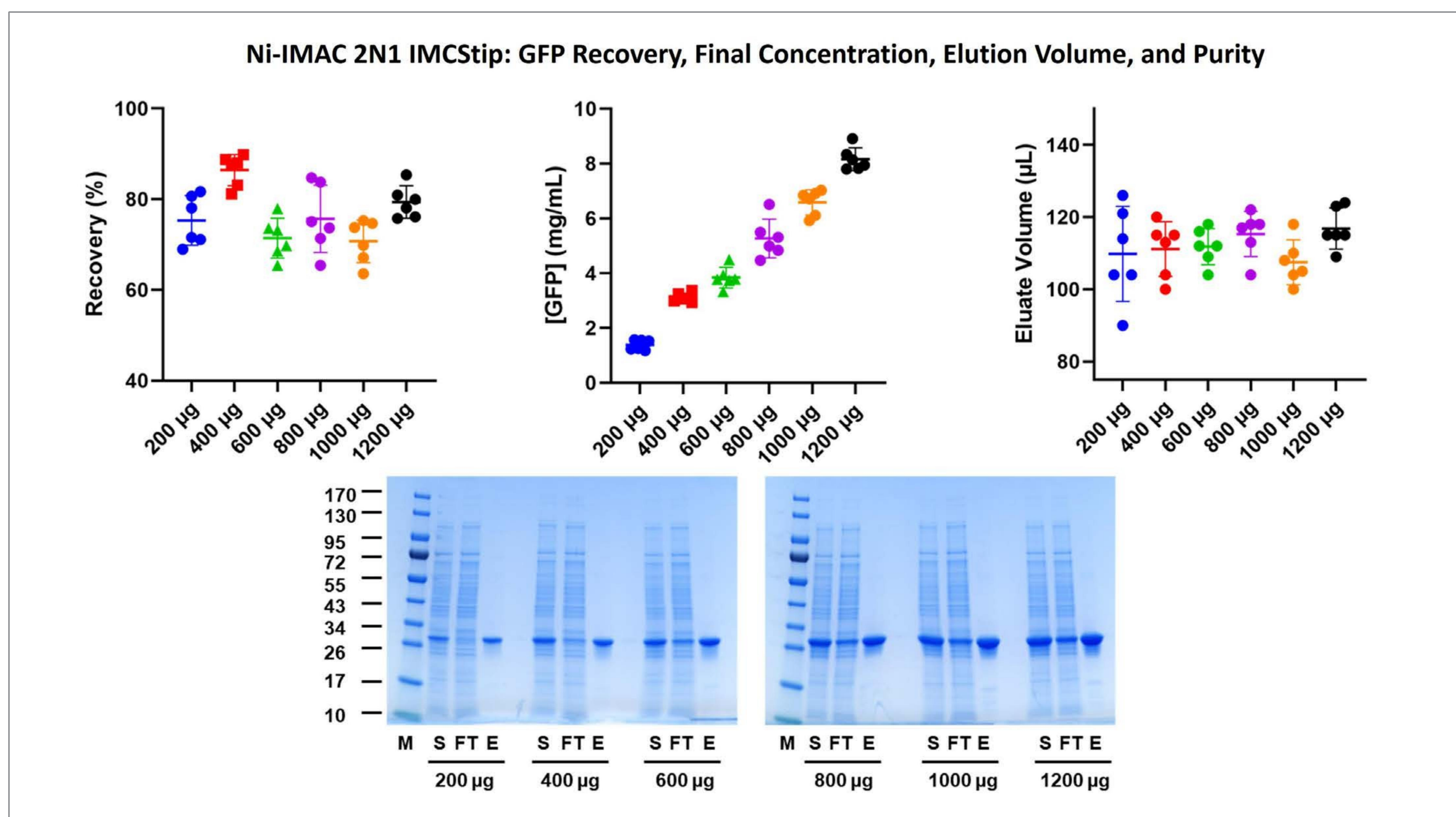


图6: 2N1 Ni-IMAC IMCStips 纯化数据，包括洗脱体积、回收率%、最终 GFP 浓度及 SDS-PAGE。M: 分子量标记, S: 起始样品, FT: 流穿液, E: 洗脱样品

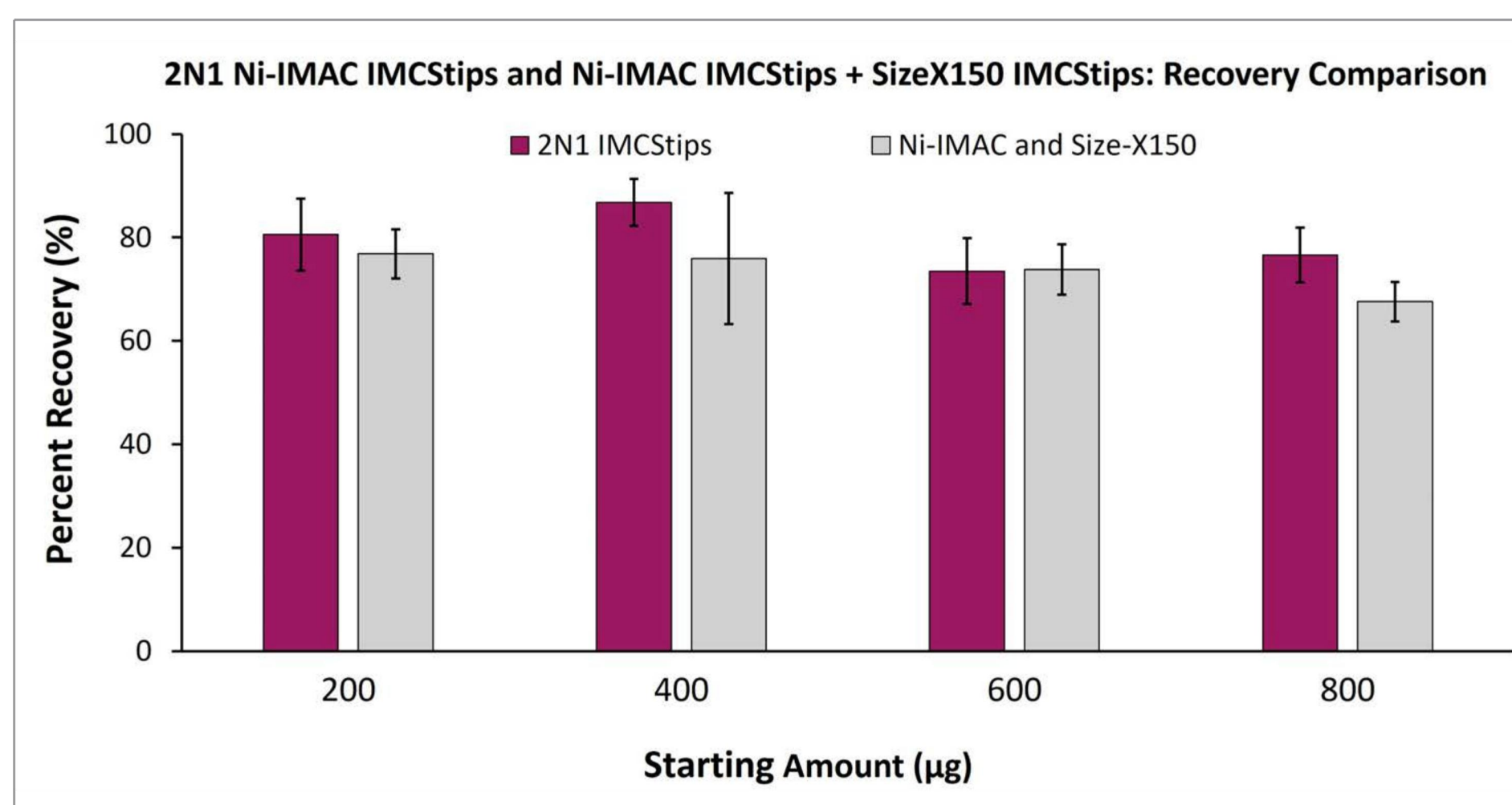


图7: 对于不同蛋白起始量，2N1 Ni-IMAC IMCStips 与 Ni-IMAC IMCStips + SizeX₁₅₀ IMCStips 的回收率比较。

DOWNLOAD POSTER

Scan QR code to get access to this poster online.

