



在多种自动化液体处理器上对低体积样品进行快速缓冲液置换

Nolan Foreman • Patrick Kates • Gracie Reid • L. Andrew Lee



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

Contact: custserv@micro-sep.com

引言

• SizeX IMCStips® 解决了多种自动化液体处理器上尺寸排阻市场此前未被满足的需求

- 全自动化、集成化，实现无人值守操作
- 可从1个样品扩展至数百个样品
- 在不同系统上实现快速、一致的处理
- 即插即用、无人值守的方法可与现有纯化工作流程无缝集成：
 - 亲和层析
 - 离子交换
 - 质粒纯化
- 关键指标：
 - 目标物回收率 $\geq 80\%$
 - 小分子去除率 $\geq 95\%$
 - 稀释度 $\leq 25\text{-}30\%$
 - 变异系数 CVs < 5-10%
 - $\leq 15\text{ min}$ 运行时间
 - 一次可处理 1~96 个样品

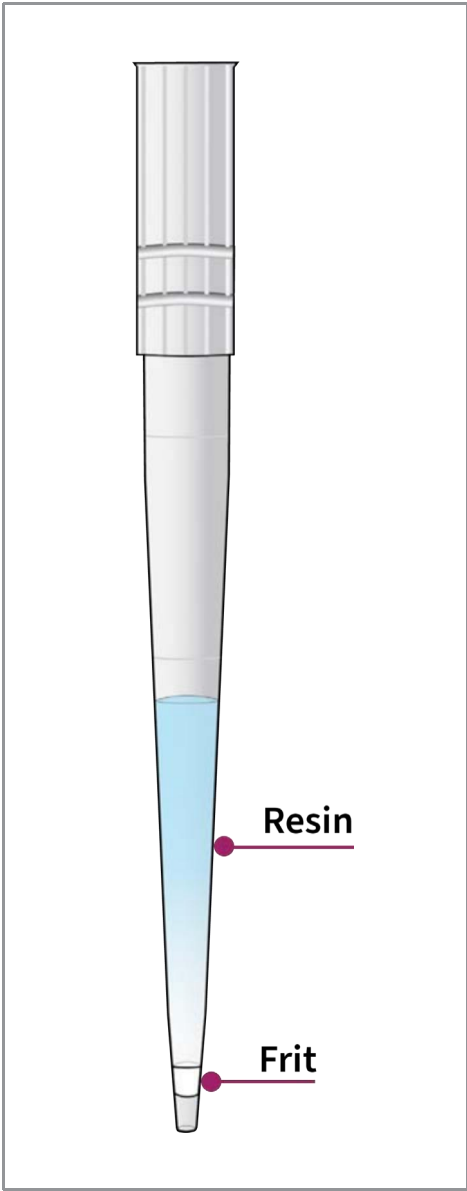


Figure 1. Illustration of a 1 mL SizeX IMCStip for Dynamic Devices.

材料与方法

- 使用 1 mL 或 5 mL SizeX₅₀-SizeX₁₀₀₀ IMCStips® on 在多种液体处理器上执行全自动缓冲液置换，通过A280吸光度和紫外-可见光谱评估不同待测物的回收率
- 待测物：
 - His₆-tagged dasher 绿色荧光蛋白 (GFP)
 - 多克隆 human IgG (huIgG)
 - 6-kbp 质粒
- 评估小分子去除效果，包括：
 - 咪唑 (Imidazole)
 - 柠檬黄 (Tartrazine)
 - 溴酚蓝 (BPB)
- 用 1xPBS (pH 7.4) 进行平衡
- 可在多种自动化液体处理系统上使用

表1：各自动化液体处理器上SizeX产品的可用性兼容性

SizeX Product	Analytik Jena	Dynamic Devices	Hamilton	Opentrons	Tecan
SizeX ₅₀					●
SizeX ₁₀₀		●	●		●
SizeX ₁₅₀	●	●	●	●	●
SizeX ₇₅₀		●			
SizeX ₁₀₀₀		●			

Using 1 mL pipette

Using 5 mL pipette

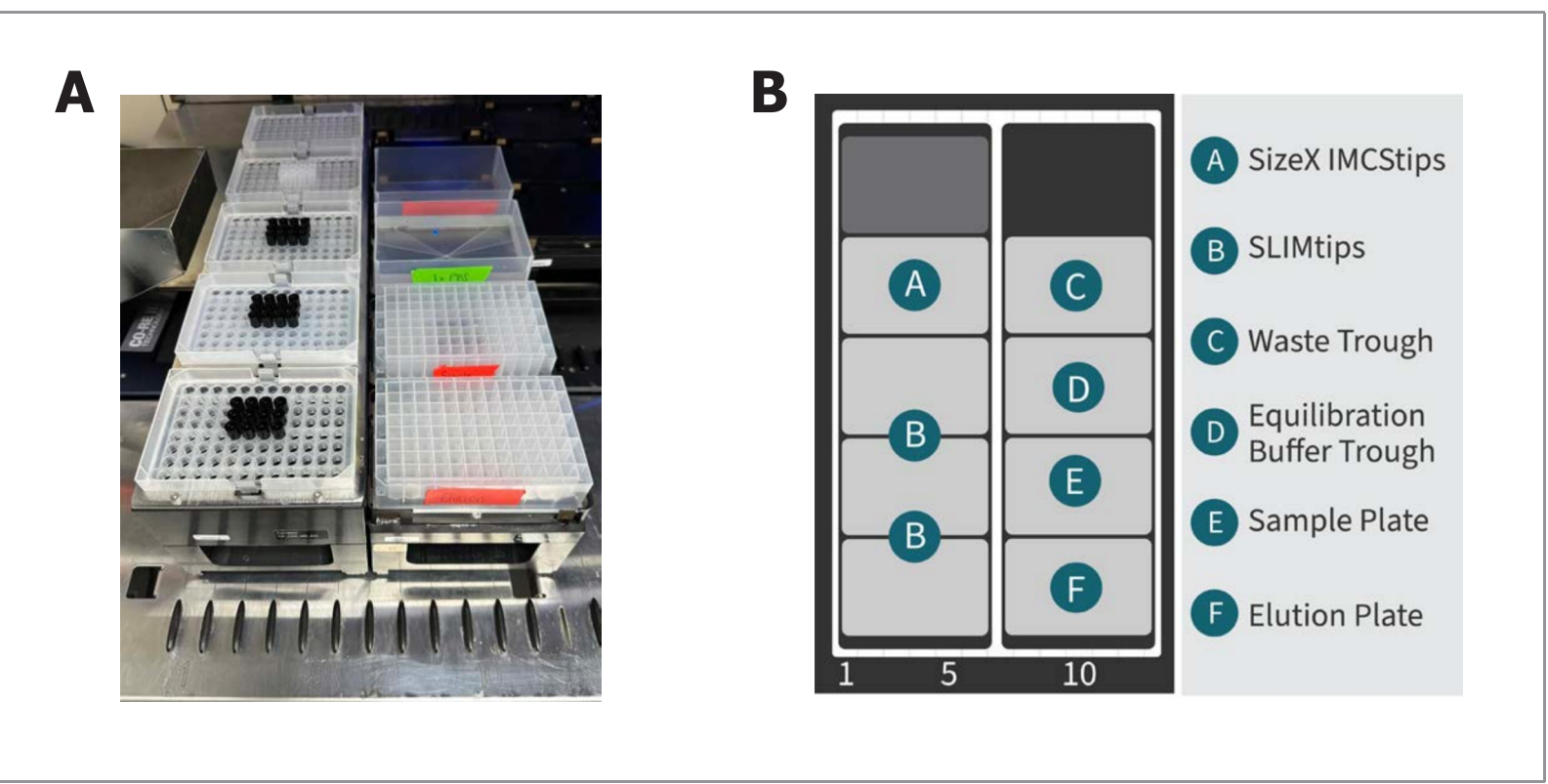


图2：Hamilton STAR 上SizeX的台面空间使用示例

(A) 使用96通道吸头测试12个样品的物理布局

(B) SizeX工作流程的图示及耗材放置

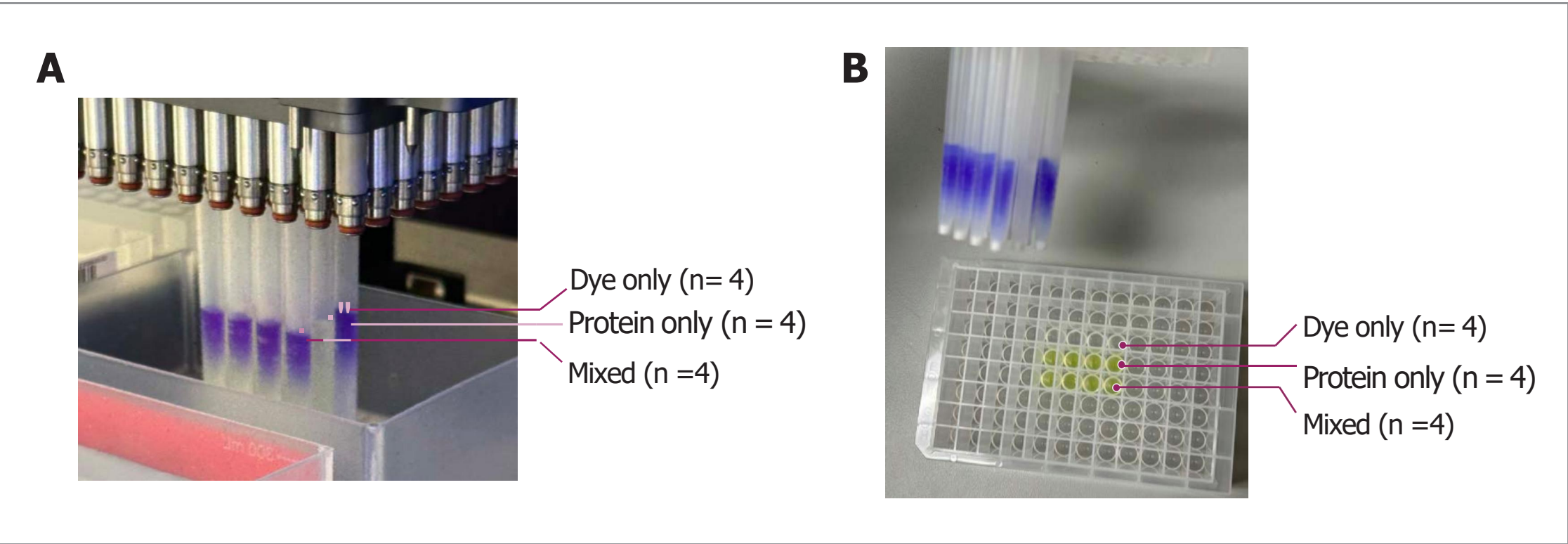


图3：使用SizeX IMCStips® 对蛋白和染料进行尺寸分离

(A) 顶行仅含染料，中间行仅含蛋白，底行为染料与蛋白的混合物

(B) 显示SizeX处理后的洗脱液：第一行几乎没有可检测到的染料（BPB），第二行含有回收的蛋白（GFP），第三行与第二行的纯蛋白洗脱液相似，尽管原始上样液中存在染料

结果

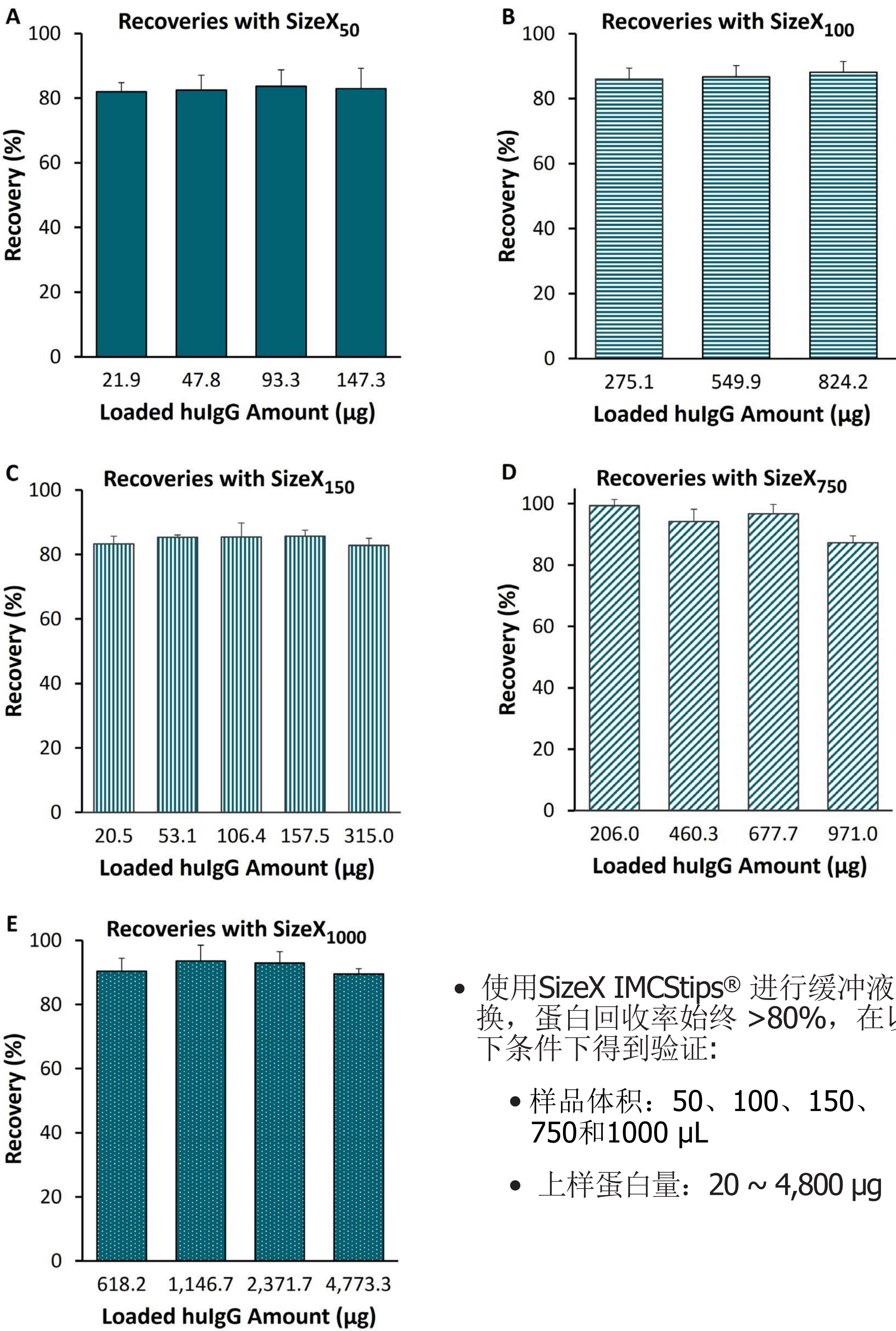


图4：不同SizeX IMCStips® 上多克隆人IgG的回收率
固定上样体积：(A) Tecan 上 SizeX₅₀ 为 50 µL，(B) Hamilton上 SizeX₁₀₀为100 µL，(C) Opentrons上SizeX₁₅₀为150 µL，(D) Dynamic Devices上SizeX₇₅₀为750 µL，(E) Dynamic Devices上SizeX₁₀₀₀为1000 µL
数据表示为均值 $\pm$ SD，n=3~6

总结与结论

- 使用SizeX IMCStips® 的自动化尺寸排阻色谱技术，可在 **15分钟内** 完成多达96个低体积样品（50-1000 µL）的脱盐和缓冲液置换
- 光谱分析显示：待测物回收率 $\geq 80\%$ ，小分子去除率 $\geq 95\%$ ，稀释度控制在 $\leq 25\text{-}30\%$ 以内，且结果一致（变异系数 < 5-10%）

Table 3. Protein recovery pe表3：不同自动化液体处理器上SizeX产品线的蛋白回收率与洗脱体积（数据表示为均值 $\pm$ SD，n=3~6）

SizeX Product	Analytik Jena		Dynamic Devices		Hamilton		Opentrons		Tecan	
	% Recovery	Elution Volume (µL)	% Recovery	Elution Volume (µL)	% Recovery	Elution Volume (µL)	% Recovery	Elution Volume (µL)	% Recovery	Elution Volume (µL)
SizeX ₅₀	---	---	---	---	---	---	---	---	88 $\pm$ 2	54 $\pm$ 1
SizeX ₁₀₀	Coming soon!		82 $\pm$ 1	103 $\pm$ 3	88 $\pm$ 2	100 $\pm$ 6	Coming soon!		84 $\pm$ 5	100 $\pm$ 1
SizeX ₁₅₀	83 $\pm$ 3	160 $\pm$ 1	83 $\pm$ 2	153 $\pm$ 2	83 $\pm$ 2	156 $\pm$ 1	85 $\pm$ 1	157 $\pm$ 0	94 $\pm$ 6	155 $\pm$ 2
SizeX ₇₅₀	---	---	90 $\pm$ 5	748 $\pm$ 41	---	---	---	---	---	---
SizeX ₁₀₀₀	---	---	85 $\pm$ 4	1034 $\pm$ 15	---	---	---	---	---	---

- 附赠的可执行脚本整合了经过实验验证的参数，能够适应广泛的样品类型和滴度。
- 脚本具有直观的可定制性，加上IMCS提供的现场或远程支持，使用户能够通过可修改的变量来精细调整脚本性能。
- 广泛的SizeX产品线可作为理想的精纯步骤，进一步优化多种应用场景下的产率和小分子去除效果，帮助用户简化下游生物分子处理流程，同时最大程度地降低产物异质性。

不同大小的待测物

- SizeX IMCStips® 能够持续地脱盐

并回收多种类型和大小的待测物

- 待测物回收率 $\geq 80\%$
- 测试范围 13.7 kDa ~ 5.6 MDa
- 待测物范围：从常见蛋白和抗体到质粒DNA和病毒颗粒

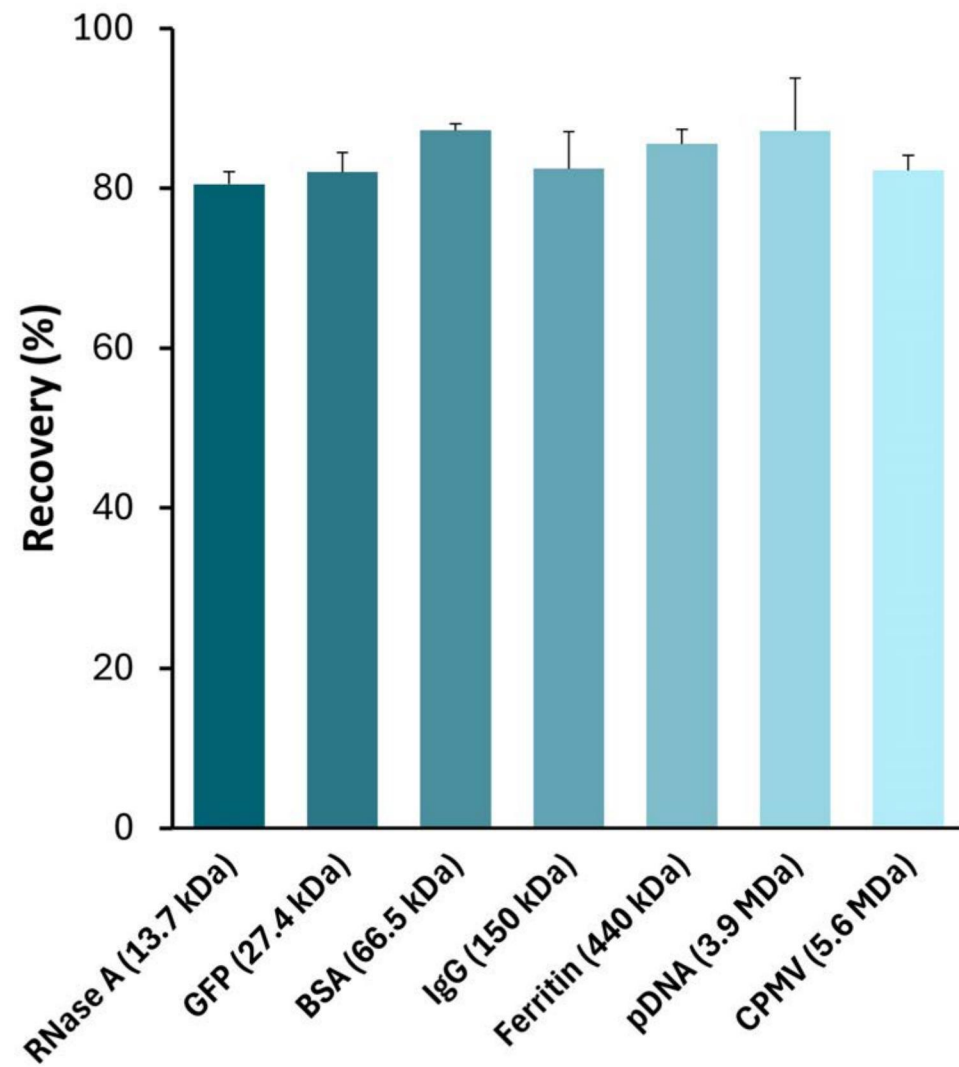


图5：SizeX₅₀ IMCStips® 高效缓冲液置换分子量和尺寸范围广泛的待测物

初始上样量为 50 µg 样品（质粒DNA为2.5 µg）

数据表示为均值 $\pm$ SD，n=3

Desalting Efficiency

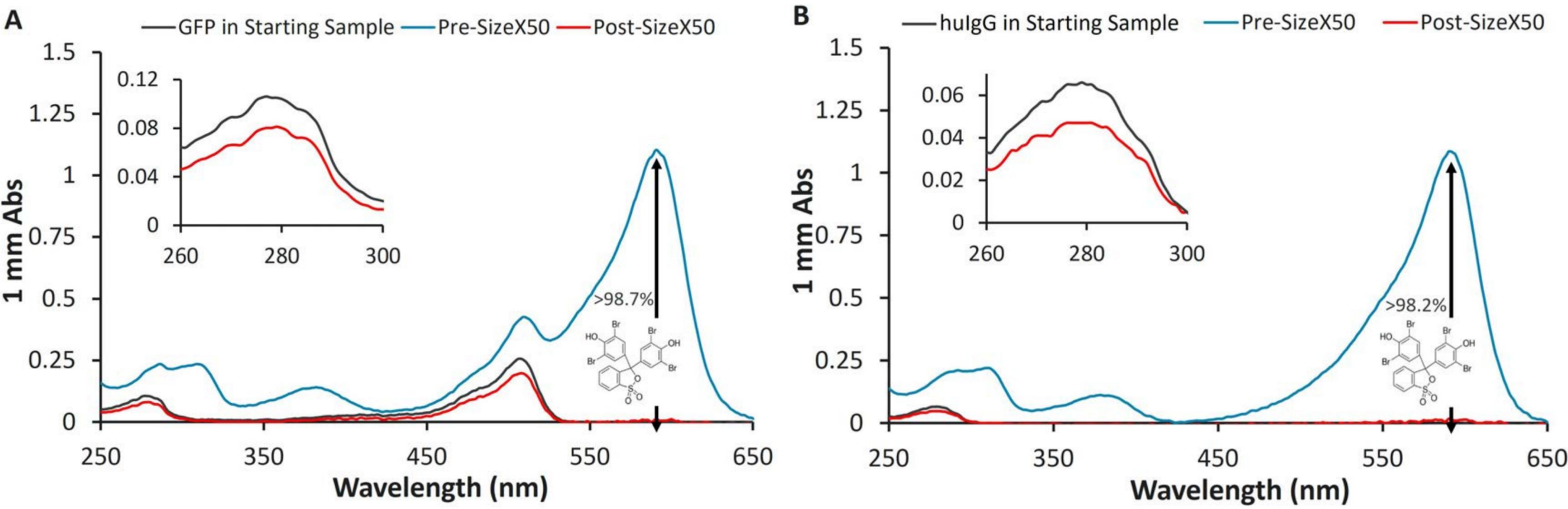


图6：SizeX50处理前后BPB-待测物混合物的光谱评估（蓝色：处理前，红色：处理后洗脱液）

(A) GFP回收率 >91.3%，BPB去除率 98.7%；(B) hulG回收率 >94.0%，BPB去除率 >98.2%

GFP和hulG在280 nm评估，BPB在591 nm评估

表2：不同自动化液体处理器上各种SizeX IMCStips® 的小分子去除率

数据表示为均值 $\pm$ SD，n=3-8

SizeX Product	Analytik Jena	Dynamic Devices	Hamilton	Opentrons	Tecan
SizeX ₅₀	---	---	---	---	98.6 $\pm$ 0.1
SizeX ₁₀₀	Coming soon!	98.0 $\pm$ 0.6	99.8 $\pm$ 0.3	Coming soon!	98.3 $\pm$ 0.1
SizeX ₁₅₀	98.0 $\pm$ 0.5	98.0 $\pm$ 0.6	99.8 $\pm$ 0.1	99.5 $\pm$ 0.3	99.5 $\pm$ 0.1
SizeX ₇₅₀	---	99.7 $\pm$ 0.2	---	---	---
SizeX ₁₀₀₀	---	99.7 $\pm$ 0.1	---	---	---