





Название документа: <b>ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ О ПРОДУКТЕ</b>				
Идент код документа: ГД.ПТ-1/21	Составлен/пересмотрен: Елецкая Б.З.	Дата составления/пересмотра: 11.07.2022	Версия документа: v. 1.0	Страница: 1/8



*Аффинный хроматографический сорбент:*

**RUselect-A**

*(протеин А –сефароза)*



<b>Название документа:</b> <b>ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ О ПРОДУКТЕ</b>					
<b>Идент код документа:</b> ГД.ПТ-1/21	<b>Составлен/пересмотрен:</b> Елецкая Б.З.	<b>Дата составления/пересмотра:</b> 11.07.2022	<b>Версия документа:</b> v. 1.0	<b>Страница:</b> 2/8	

	<b>Должность</b>	<b>ФИО</b>	<b>Подпись</b>	<b>Дата</b>
Подготовлен:	Инженер ОКК	Елецкая Б.З.		
Согласован	Начальник ОКК ИБХ РАН	Свешникова Е.В.		
Согласован				
Согласован				
Утвержден	Начальник производства ОБП ИБХ РАН	Степаненко В.Н.		
Утвержден				
Утвержден				

<p>Название документа:</p> <p><b>ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ О ПРОДУКТЕ</b></p>					
<p>Идент код документа:</p> <p>ГД.ПТ-1/21</p>	<p>Составлен/пересмотрен:</p> <p>Елецкая Б.З.</p>	<p>Дата составления/пересмотра:</p> <p>11.07.2022</p>	<p>Версия документа:</p> <p>v. 1.0</p>	<p>Страница:</p> <p>3/8</p>	

## Оглавление

1. Область применения продукта .....	4
2. Технические параметры продукта.....	4
3. Зависимость динамической связывающей ёмкости сорбента RUselect-A (DBC10) от времени удерживания.....	5
4. Изменение динамической ёмкости сорбента RUselect-A после санации.....	6
5. Порядок действий при работе с аффинным сорбентом RUselect-A .....	6
5.1 Упаковка колонны .....	6
5.2 Уравновешивание .....	6
5.3 Нанесение образца.....	6
5.4 Промывка .....	7
5.5 Элюция .....	7
5.6 Санация СІР («очистка-на месте»).....	7
6. Хранение.....	8

Название документа: <b>ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ О ПРОДУКТЕ</b>					
Идент код документа: ГД.ПТ-1/21	Составлен/пересмотрен: Елецкая Б.З.	Дата составления/пересмотра: 11.07.2022	Версия документа: v. 1.0	Страница: 4/8	

## 1. Область применения продукта

Аффинный сорбент **RUselect-A** представляет собой сефарозную матрицу с иммобилизованным рекомбинантным мутантным белком А, способным специфически связывать Fc-фрагмент иммуноглобулинов класса G человека 1, 2 и 4 подтипов (IgG1, IgG2, IgG4). **RUselect-A** предназначен для хроматографического выделения и очистки антител (моноклональных и поликлональных) из различных источников, например, асцита, сыворотки или культуральной жидкости. Сорбент устойчив в щелочной среде, выдерживает многократный контакт с 0.1 М раствором NaOH.

## 2. Технические параметры продукта

Название сорбента	<b>RUselect-A</b>
Тип сорбента	Аффинный сорбент для очистки антител
Лиганд	Устойчивый к щелочам рекомбинантный Белок А
Плотность лиганда	~ 4.5 мг/мл
Внешний вид	Полидисперсные микросферы
Размер частиц <sup>1</sup>	45-165мкм
Матрица	Сшитая агароза, 6%
Максимальная скорость потока	До 350 см/ч
pH стабильность операционная <sup>2</sup>	3~11 (долгосрочная),
pH стабильность CIP <sup>3</sup>	2~13.4 (краткосрочная, CIP)
Применение	Подходит для разделения и очистки антител (моноклональных и поликлональных)
Химическая стабильность	Стабилен в следующих растворах: 8 М мочевины; 6 М гидрохлорида гуанидина; 2% бензилового спирта; 20% этанола
Динамическая емкость сорбента (DBC10) при 10 минутах удерживания, мг/мл <sup>6</sup>	~50 мг/мл сорбента <sup>4</sup> ~55 мг/мл сорбента <sup>5</sup>

<sup>1</sup> медианный размер частиц при совокупном распределении объема.



<sup>2</sup> диапазон pH, при котором сорбент может эксплуатироваться без значительного изменения функциональности.

<sup>3</sup> диапазон pH, при котором сорбент может быть подвергнут очистке на месте без значительного изменения функциональности.

<sup>4</sup> величина, полученная при работе с модельным рекомбинантным гиперхимерным моноклональным антителом (Afgg3456) при температуре 23 °С.

<sup>5</sup> величина, полученная при работе с модельным рекомбинантным гиперхимерным моноклональным антителом (Brtf3421) при температуре 23 °С.

<sup>6</sup> значение максимальной ёмкости зависит от температуры в процессе эксперимента. При увеличении температуры от 17 до 30 °С значение DBC<sub>10</sub> повышается на 20%.

<p>Название документа:</p> <p><b>ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ О ПРОДУКТЕ</b></p>					
<p>Идент код документа:</p> <p>ГД.ПТ-1/21</p>	<p>Составлен/пересмотрен:</p> <p>Елецкая Б.З.</p>	<p>Дата составления/пересмотра:</p> <p>11.07.2022</p>	<p>Версия документа:</p> <p>v. 1.0</p>	<p>Страница:</p> <p>5/8</p>	

### 3. Зависимость динамической связывающей ёмкости сорбента RUselect-A (DBC10) от времени удерживания

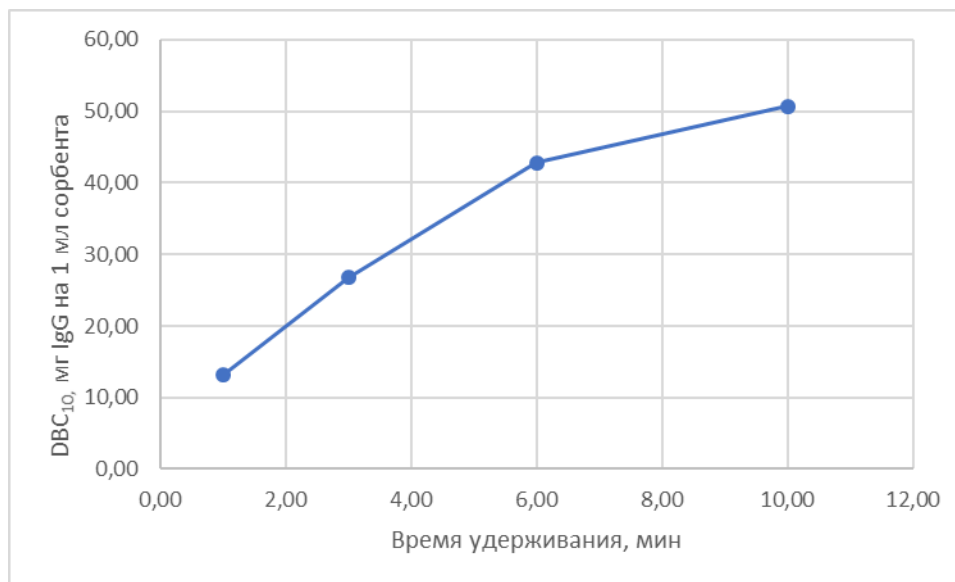


Рис. 1 Хроматографическая система GE (Cytiva) АКТА pure 25, колонка Tricorn 10/100, высота сорбента 2.5 см, время контакта раствора АТ с сорбентом 1, 3, 6 и 10 минут, фосфатно-солевой буфер pH 7.4. Расчет DBC10 (10% проскока) производился программным обеспечением Dynamic Binding capacity calculation UNICORN Extension.

### 4. Зависимость пропускной способности сорбента RuSelect-P от давления в хроматографической системе

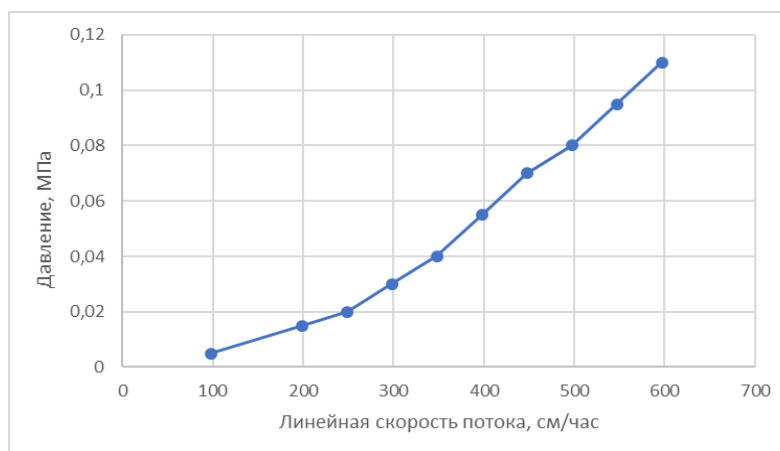




Рис. 2 Хроматографическая система GE (Cytiva) АКТА pure 25, колонка XK 16/40, высота сорбента 15 см, фосфатно-солевой буфер pH 7.4.

<p>Название документа:</p> <p><b>ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ О ПРОДУКТЕ</b></p>					
<p>Идент код документа:</p> <p>ГД.ПТ-1/21</p>	<p>Составлен/пересмотрен:</p> <p>Елецкая Б.З.</p>	<p>Дата составления/пересмотра:</p> <p>11.07.2022</p>	<p>Версия документа:</p> <p>v. 1.0</p>	<p>Страница:</p> <p>6/8</p>	

## 5. Изменение динамической ёмкости сорбента RUselect-A после санации

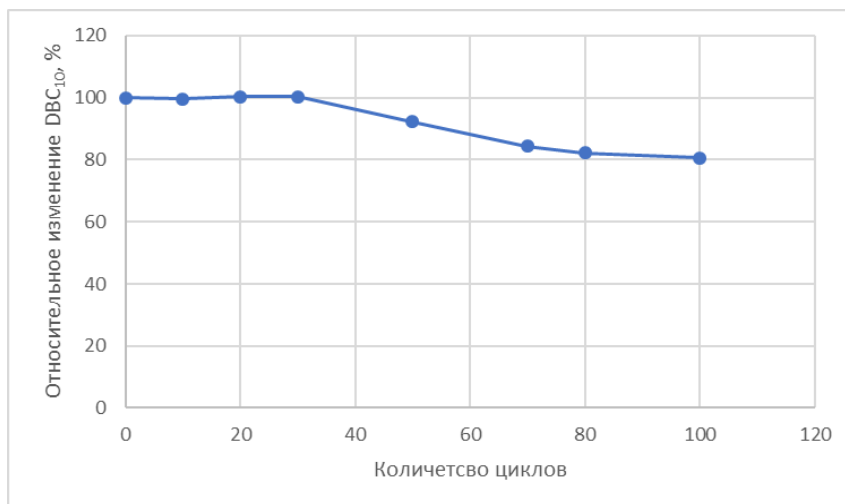


Рис. 3. Изменение DBC10 при времени удерживания 3 минуты после 100 циклов санации 0.1 М NaOH.

## 6. Порядок действий при работе с аффинным сорбентом RUselect-A

### 6.1 Упаковка колонны

Упаковка хроматографической колонны аффинным сорбентом производится в соответствии со стандартными операционными процедурами. Необходимо убедиться, что к моменту начала процесса упаковки сорбент достиг температуры окружающего пространства, равномерно перемешан и не содержит пузырьков воздуха.



*Примечание.* При упаковке хроматографической колонны рекомендуется использовать геометрию рабочего слоя колонки в диапазоне соотношения длины к диаметру 5:3 ~ 2:1.

### 6.2 Уравновешивание

Уравновешивание упакованной сорбентом колонны рабочим буфером рекомендуется вести до постоянных значений pH и проводимости (3 - 5 объемов колонны). Рекомендуется использовать буферный раствор с pH в р-не 7.0-7.5. Пример **стартового буфера**: натрий-фосфатный буфер (PBS) pH 7.4.

### 6.3 Нанесение образца

Перед нанесением рекомендуется отфильтровать исходный раствор для удаления механических примесей, например, с помощью фильтра с пределом отсека 0.45 мкм.

<p>Название документа:</p> <p><b>ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ О ПРОДУКТЕ</b></p>					
<p>Идент код документа:</p> <p>ГД.ПТ-1/21</p>	<p>Составлен/пересмотрен:</p> <p>Елецкая Б.З.</p>	<p>Дата составления/пересмотра:</p> <p>11.07.2022</p>	<p>Версия документа:</p> <p>v. 1.0</p>	<p>Страница:</p> <p>7/8</p>	

Объем нанесения выбирается в соответствии с характером исходного раствора, содержанием в исходном растворе антител и объемом сорбента. Оптимальный объем исходного раствора также может быть установлен с помощью экспериментов.

Если концентрация антител в исходном растворе высокая, рекомендуется разбавить раствор до концентрации антител 1~2 мг/мл рабочим буфером, чтобы избежать высокой концентрационной нагрузки, влияющей на эффективность сорбента.

#### **6.4 Промывка**

После нанесения образца промывку сорбента рекомендуется вести буферным раствором в диапазоне рН 6.0-6.5, например 50 - 100 мМ ацетата натрия. Промывку рекомендуется вести до выхода значений рН и проводимости на постоянные (3 - 5 объемов колонны).

#### **6.5 Элюция**

Рекомендуется осуществлять элюцию антител с применением раствора с низким значением рН < 4. Конкретные условия элюции антител зависят от природы антитела и параметров буферных растворов, используемых для элюции.



##### *Примечание*

Объем пика при элюции зависит от значения рН, типа буферного раствора, природы буфера, из которого ведут элюцию, ионной силы, наличия специальных добавок, температуры и пр. Например, для получения элюата IgG в малом объеме, рекомендуется использование в качестве буферного раствора 100 мМ ацетата натрия с рН 3.5.

Для увеличения срока использования сорбента после элюции целевых антител рекомендуется незамедлительно перевести сорбент в буфер с нейтральным значением рН.

*Долговременное пребывание иммуноглобулинов при низком рН может привести к их денатурации и потере их биологической активности. Полученный раствор очищенных антител следует нейтрализовать до значения рН 7.0 - 7.4. Пример буферного раствора для нейтрализации: 1М Трис-НСl, рН 8.5. Высокая концентрация антител в элюате может привести к их агрегации.*

#### **6.6 Санация СІР («очистка-на месте»)**

Название документа:					
<b>ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ О ПРОДУКТЕ</b>					
Идент код документа:	Составлен/пересмотрен:	Дата составления/пересмотра:	Версия документа:	Страница:	
ГД.ПТ-1/21	Елецкая Б.З.	11.07.2022	v. 1.0	8/8	

Сорбент можно повторно использовать без регенерации, но осаждение некоторых денатурированных веществ и агрегации белков на носитель могут влиять на скорость потока и снижать связывающую способность. При уменьшении производительности колонны рекомендуется проводить процедуру санации.

#### *Процедура SIP*

Сорбент промывают 3 (тремя) колоночными объемами стартового буфера; затем 2-5 колоночными объемами 0,1 М раствора гидроксида натрия (0,1 М NaOH). Рекомендуется не превышать время контакта сорбента с раствором гидроксида натрия более 30 минут. По завершении промывки сорбента гидроксидом натрия, сорбент промывают 0,25-0,5 объемами 100 мМ ацетата натрия рН 3.5 для нейтрализации гидроксида натрия и затем 5 объемами стартового буфера до выхода значений рН и кондуктивности на постоянные (~ 5 объемов колонны).

#### *Примечание*

Ввиду увеличения вязкости раствора при промывке 0.1 М NaOH, возможно увеличение давления в хроматографической системе. Рекомендуется вести санацию на низкой скорости потока, а также использовать промывку обратным током.

### **7. Хранение**

Рекомендуется хранить сорбент в прохладном месте при температуре +4~8°C. Беречь от солнечных лучей. В процессе хранения категорически нельзя допускать заморозки сорбента. Крышку контейнера следует держать плотно закрытой. В качестве консервирующего раствора (в том числе и в упакованных колоннах) рекомендуется использовать 20% раствор этилового спирта.