





<p>Название документа:</p> <p>ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ О ПРОДУКТЕ</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>1/8</p>	

Аффинный хроматографический сорбент:



RUselect-A

(протеин А –сефароза)

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

Оглавление

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

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

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	RUselect-A
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 ¹	45-165мкм
Матрица	Сшитая агароза, 6%
Максимальная скорость потока	До 300 см/ч
pH стабильность операционная ²	3~11 (долгосрочная),
pH стабильность СIP ³	2~13.4 (краткосрочная, СIP)
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 (DVC10) при 10 минутах удерживания, мг/мл ⁴	60±3,5 мг/мл сорбента

¹ медианный размер частиц при совокупном распределении объема.

² диапазон pH, при котором сорбент может эксплуатироваться без значительного изменения функциональности.

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

⁴ величина, полученная при работе с модельным рекомбинантным гиперхимерным моноклональным антителом (AT1756).

Название документа: ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ О ПРОДУКТЕ					
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	

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

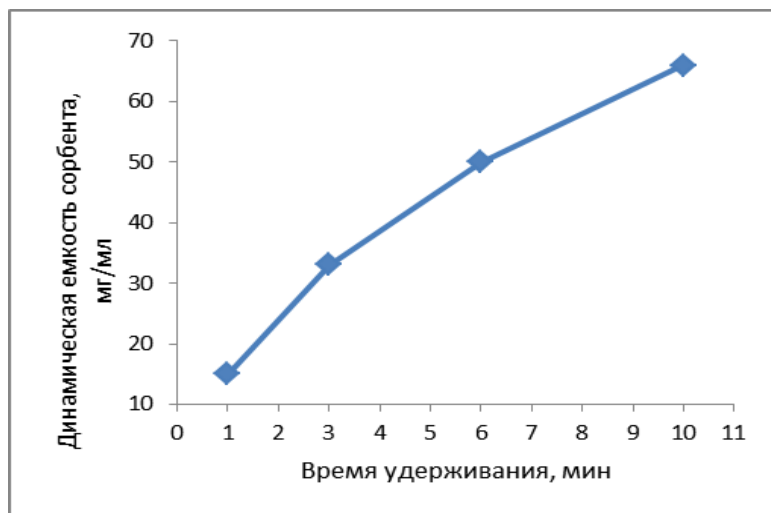


Рис. 1 Хроматографическая система GE (Cytiva) АКТА pure 25, колонка Tricorn 10/100, линейный поток 25.6 см/ч, высота сорбента 2.5 см, время контакта раствора АТ с сорбентом 1, 3, 6 и 10 минут, фосфатно-солевой буфер рН 7.4. Расчет DBC10 (10% проскока) производился программным обеспечением Dynamic Binding capacity calculation UNICORN Extension.

4. Изменение динамической ёмкости сорбента RUselect-A после санации

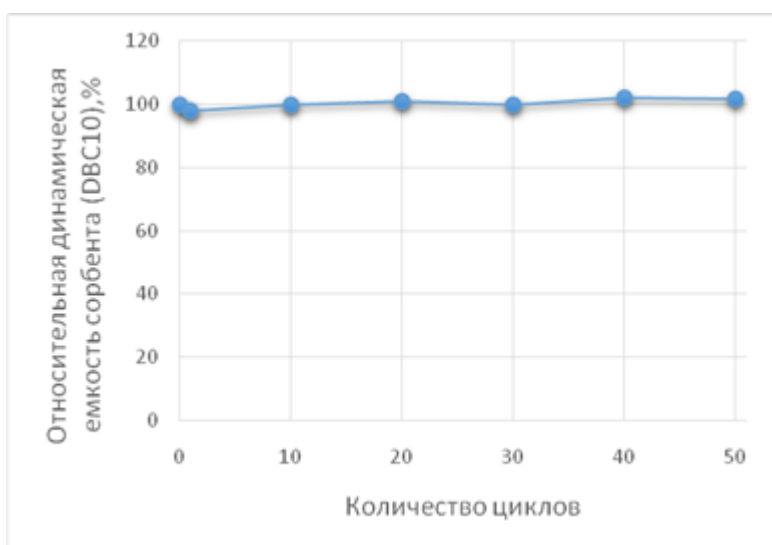


Рис. 2 Изменение DBC10 при времени удерживания 3 минуты после 50 циклов санации 0.1 М NaOH.

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

5. Порядок действий при работе с аффинным сорбентом RUselect-A

5.1 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.

5.2 Уравновешивание

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

5.3 Нанесение образца

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



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.

5.4 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).

5.5 Элюция

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

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

Примечание

Объем пика при элюции зависит от значения pH , 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 pH 3.5.

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



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

5.6 Санация СІР («очистка-на месте»)

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 СІР

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 pH 3.5 для нейтрализации гидроксида натрия и затем 5 объемами стартового буфера до выхода значений pH и кондуктивности на постоянные (~ 5 объемов колонны).

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

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.

6. 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.