

Название документа: ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ О ПРОДУКТЕ			
Составлен/пересмотрен: Мелихова Т.Д.	Дата составления/пересмотра: 06.07.2024	Версия документа: v. 2.0	Страница: 1/8

Аффинный хроматографический сорбент:

RUselect-A

(протеин А –агароза)

Название документа: ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ О ПРОДУКТЕ			
Составлен/пересмотрен: Мелихова Т.Д.	Дата составления/пересмотра: 06.07.2024	Версия документа: v. 2.0	Страница: 2/8

	Должность	ФИО	Подпись	Дата
Подготовлен:	Инженер- технолог	Мелихова Т.Д.		
Согласован	Инженер- технолог	Терешин М.Н.		
Согласован				
Утвержден		Степаненко В.Н.		

<p>Название документа:</p> <p>ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ О ПРОДУКТЕ</p>			
<p>Составлен/пересмотрен:</p> <p>Мелихова Т.Д.</p>	<p>Дата составления/пересмотра:</p> <p>06.07.2024</p>	<p>Версия документа:</p> <p>v. 2.0</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.	Зависимость пропускной способности сорбента RuSelect-A от давления в хроматографической системе	6
5.	Изменение динамической ёмкости сорбента RUselect-A после санации.....	6
6.	Порядок действий при работе с аффинным сорбентом RUselect-A	7
6.1	Упаковка колонны	7
6.2	Уравновешивание	7
6.3	Нанесение образца.....	7
6.4	Промывка	7
6.5	Элюция	7
6.6	Санация СІР («очистка-на месте»).....	8
7.	Хранение.....	9

<p>Название документа:</p> <p>ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ О ПРОДУКТЕ</p>			
<p>Составлен/пересмотрен:</p> <p>Мелихова Т.Д.</p>	<p>Дата составления/пересмотра:</p> <p>06.07.2024</p>	<p>Версия документа:</p> <p>v. 2.0</p>	<p>Страница:</p> <p>4/8</p>

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 CIP ³	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 (DVC ₁₀) при 6 минутах удерживания, мг/мл	~50 мг/мл сорбента ⁴ ~55 мг/мл сорбента ⁵

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 (Afgg3456) при температуре 23 °С.

<p>Название документа:</p> <p>ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ О ПРОДУКТЕ</p>			
<p>Составлен/пересмотрен:</p> <p>Мелихова Т.Д.</p>		<p>Дата составления/пересмотра:</p> <p>06.07.2024</p>	<p>Версия документа:</p> <p>v. 2.0</p>
		<p>Страница:</p> <p>5/8</p>	

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

6 значение максимальной ёмкости зависит от температуры в процессе эксперимента. При увеличении температуры от 17 до 30 °С значение DBC_{10} повышается на 20%.

3. Зависимость динамической связывающей ёмкости сорбента RUselect-A (DBC_{10}) от времени удерживания

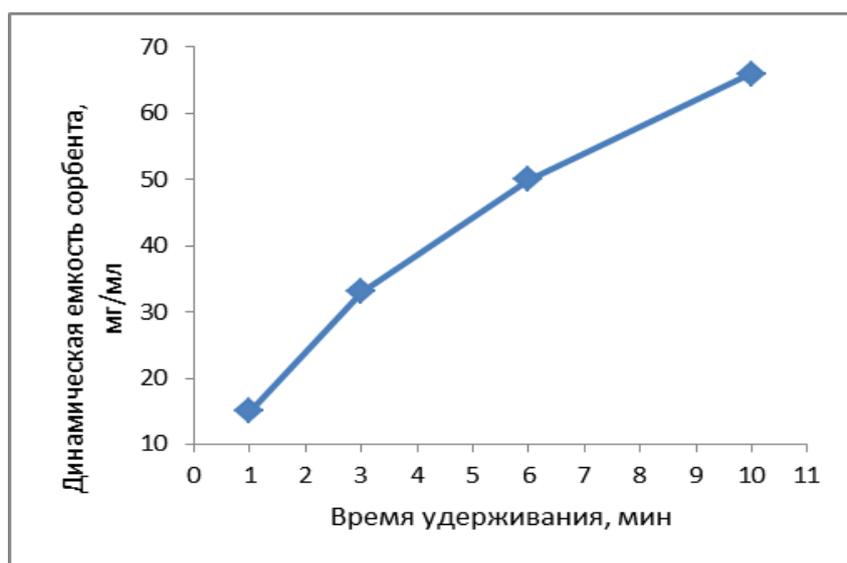


Рис. 1 Хроматографическая система GE АКТА PURE, колонка Tricorn 10/100, линейный поток 25,6 см/ч, высота сорбента 2.55 см, время контакта раствора IgG с сорбентом 1, 3, 6 и 10 минут, фосфатно-солевой буфер pH 7.4. Расчет DBC_{10} (10% проскока) производился программным обеспечением Dynamic Binding capacity calculations UNICORN Extension

<p>Название документа:</p> <p>ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ О ПРОДУКТЕ</p>			
<p>Составлен/пересмотрен:</p> <p>Мелихова Т.Д.</p>	<p>Дата составления/пересмотра:</p> <p>06.07.2024</p>	<p>Версия документа:</p> <p>v. 2.0</p>	<p>Страница:</p> <p>6/8</p>

4. Зависимость пропускной способности сорбента RuSelect-A от давления.

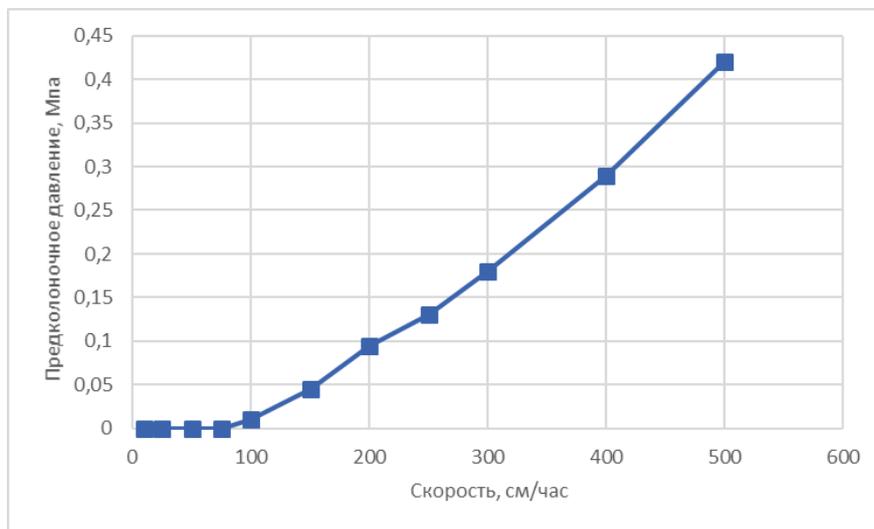


Рис. 3 Хроматографическая система GE (Cytiva) АКТА pure 25, колонка ХК 16/40, высота сорбента 15 см, фосфатно-солевой буфер pH 7.4.

5. Изменение динамической ёмкости сорбента RuSelect-A после санации

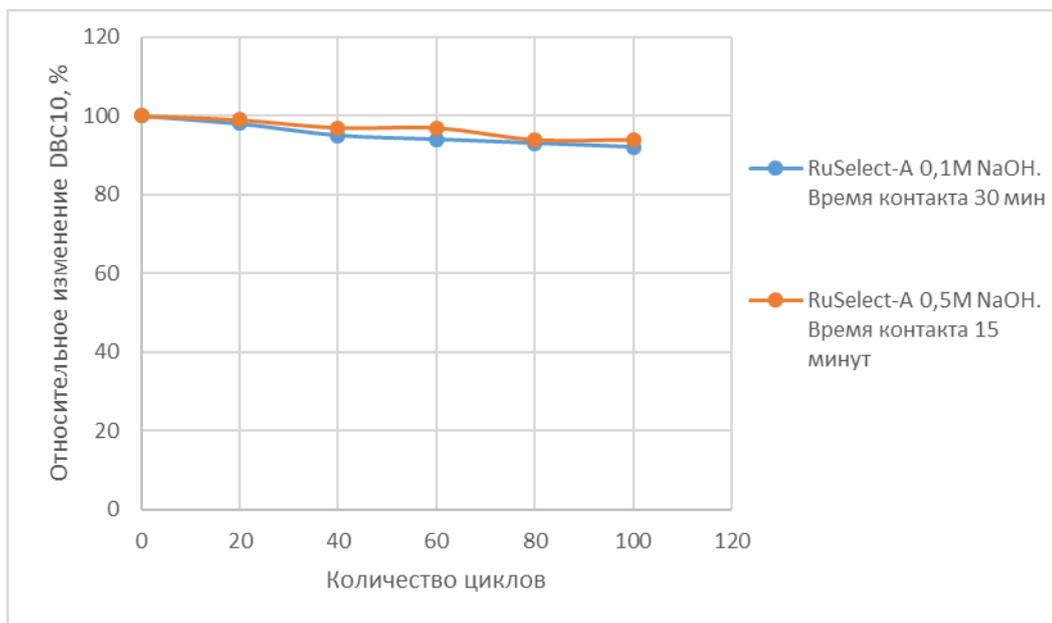


Рис. 3 Изменение DBC10 при времени контакта раствора IgG с сорбентом 3 минуты после 100 циклов санации 0,1 М NaOH (время контакта сорбента с щелочью 30 минут) и 100 циклов санации 0,5 М NaOH (время контакта сорбента с щелочью 15 минут)

<p>Название документа:</p> <p>ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ О ПРОДУКТЕ</p>			
<p>Составлен/пересмотрен:</p> <p>Мелихова Т.Д.</p>	<p>Дата составления/пересмотра:</p> <p>06.07.2024</p>	<p>Версия документа:</p> <p>v. 2.0</p>	<p>Страница:</p> <p>7/8</p>

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 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.

6.3 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.

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

<p>Название документа:</p> <p>ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ О ПРОДУКТЕ</p>			
<p>Составлен/пересмотрен:</p> <p>Мелихова Т.Д.</p>	<p>Дата составления/пересмотра:</p> <p>06.07.2024</p>	<p>Версия документа:</p> <p>v. 2.0</p>	<p>Страница:</p> <p>8/8</p>

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.

6.6 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).

<p>Название документа:</p> <p>ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ О ПРОДУКТЕ</p>			
<p>Составлен/пересмотрен:</p> <p>Мелихова Т.Д.</p>	<p>Дата составления/пересмотра:</p> <p>06.07.2024</p>	<p>Версия документа:</p> <p>v. 2.0</p>	<p>Страница:</p> <p>9/8</p>

Примечание

Ввиду увеличения вязкости раствора при промывке 0,1-0,5 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.