





Название документа: ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ О ПРОДУКТЕ				
Идент код документа: ГД.ПТ-1/21	Составлен/пересмотрен: Елецкая Б.З.	Дата составления/пересмотра: 18.02.2022	Версия документа: v. 2.0	Страница: 1/8



Аффинный хроматографический сорбент:

RUselect-P

(протеин А –полиакрилат)



Название документа: ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ О ПРОДУКТЕ				
Идент код документа: ГД.ПТ-1/21	Составлен/пересмотрен: Елецкая Б.З.	Дата составления/пересмотра: 18.02.2022	Версия документа: v. 2.0	Страница: 2/8

	Должность	ФИО	Подпись	Дата
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>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>18.02.2022</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-P (DBC10) от времени удерживания.....	5
4.	Зависимость пропускной способности сорбента RuSelect-P от давления в хроматографической системе.	5
5.	Изменение динамической ёмкости сорбента RuSelect-P после санации.....	6
6.	Порядок действий при работе с афинным сорбентом RuSelect-P.....	6
6.1	Упаковка колонны.	6
6.2	Уравновешивание.	6
6.3	Нанесение образца.....	6
6.4	Промывка.	7
6.5	Элюция.	7
6.6	Санация. СІР («очистка-на месте»).....	8
7.	Хранение.....	8

Название документа: ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ О ПРОДУКТЕ					
Идент код документа: ГД.ПТ-1/21	Составлен/пересмотрен: Елецкая Б.З.	Дата составления/пересмотра: 18.02.2022	Версия документа: v. 2.0	Страница: 4/8	

1. Область применения продукта

Аффинный сорбент **RUselect-P** представляет собой полиакрилатную 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-P** 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-P
Тип сорбента	Аффинный сорбент для очистки антител
Лиганд	Устойчивый к щелочам рекомбинантный Белок А
Плотность лиганда	~ 4.5 мг/мл
Внешний вид	Твердые монодисперсные микросферы
Размер частиц ¹	~ 70 мкм
Матрица	Полиакрилат, сферический
Максимальная скорость потока	До 400 см/ч
pH стабильность операционная ²	3~12 (долгосрочная),
pH стабильность SIP ³	2~13.7 (краткосрочная, SIP)
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	~45 мг/мл сорбента ⁴ ~50 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.

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

Название документа: ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ О ПРОДУКТЕ					
Идент код документа: ГД.ПТ-1/21	Составлен/пересмотрен: Елецкая Б.З.	Дата составления/пересмотра: 18.02.2022	Версия документа: v. 2.0	Страница: 5/8	

3. Зависимость динамической связывающей ёмкости сорбента RuSelect-P (DBC10) от времени удерживания

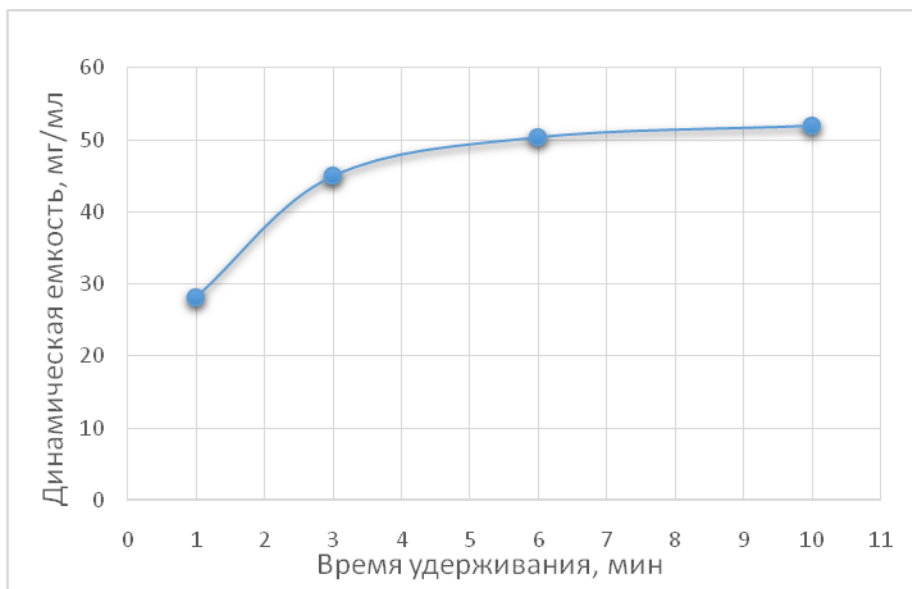


Рис. 1 Хроматографическая система GE (Cytiva) АКТА pure 25, колонка Tricorn 10/100, высота сорбента 2.5 см, время контакта раствора АТ с сорбентом 1, 3, 6 и 10 минут, фосфатно-солевой буфер pH 7.4. Расчет DBC10 (10% проскока) производился программным обеспечением Dynamic Binding capacity calculation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

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

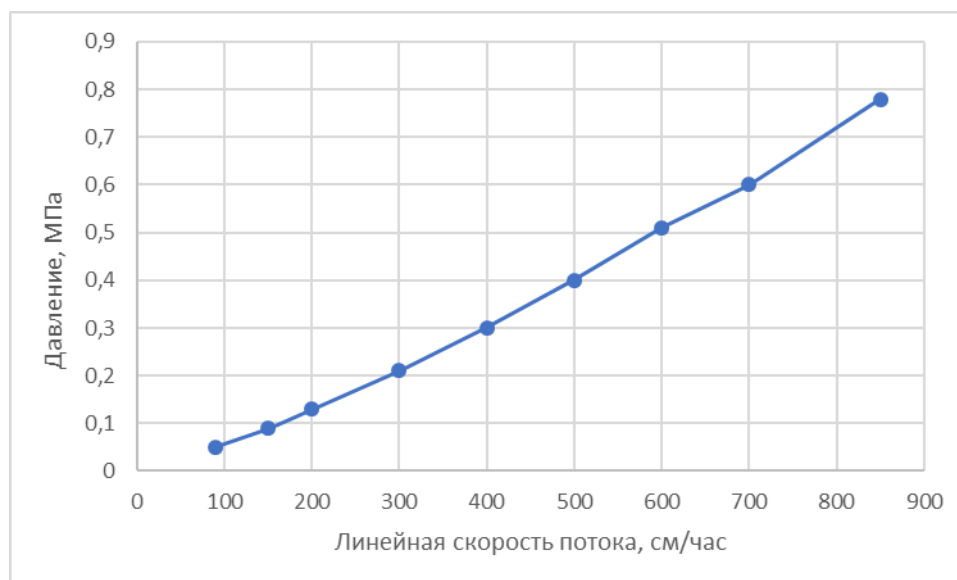




Рис. 2 Хроматографическая система GE (Cytiva) АКТА pure 25, колонка XK 16/40, высота сорбента 15 см, фосфатно-солевой буфер pH 7.4.

<p>Название документа:</p> <p>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>18.02.2022</p>	<p>Версия документа:</p> <p>v. 2.0</p>	<p>Страница:</p> <p>6/8</p>	

5. Изменение динамической ёмкости сорбента RuSelect-P после санации

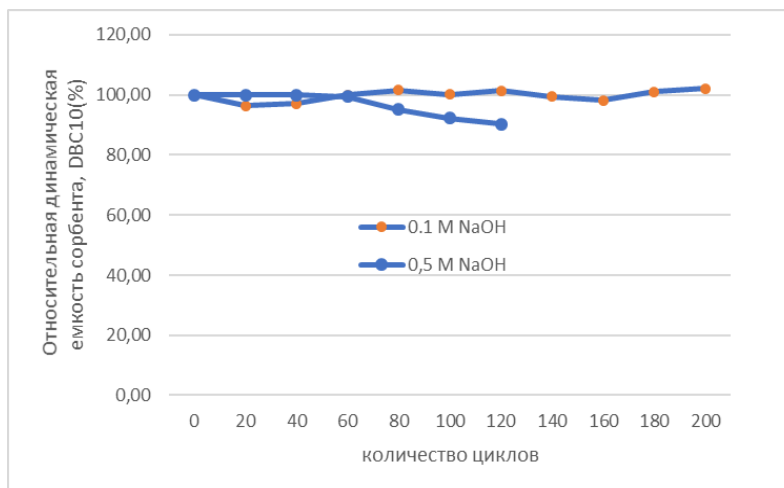


Рис. 3 Изменение DBC10 при времени удерживания 3 минуты после 200 циклов санации 0,1 М NaOH и 120 циклов санации 0,5 М NaOH..

6. Порядок действий при работе с аффинным сорбентом RuSelect-P

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

<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>18.02.2022</p>	<p>Версия документа:</p> <p>v. 2.0</p>	<p>Страница:</p> <p>7/8</p>	

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



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.

Название документа:					
ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ О ПРОДУКТЕ					
Идент код документа:	Составлен/пересмотрен:	Дата составления/пересмотра:	Версия документа:	Страница:	
ГД.ПТ-1/21	Елецкая Б.З.	18.02.2022	v. 2.0	8/8	

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 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.