

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

*Аффинный хроматографический сорбент:*

**RUselect-P**

*(протеин А –полиакрилат)*

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

<p>Название документа:</p> <p><b>ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ О ПРОДУКТЕ</b></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-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 0.1-0.5 М раствором NaOH.

## 2. Технические параметры продукта

Название сорбента	<b>RUselect-P</b>
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 <sup>1</sup>	~ 70 мкм
Матрица	Полиакрилат, сферический
Максимальная скорость потока	До 400 см/ч
pH стабильность операционная <sup>2</sup>	3~12 (долгосрочная),
pH стабильность CIP <sup>3</sup>	2~13,7 (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 6 минутах удерживания, мг/мл	~45 мг/мл сорбента <sup>4</sup> ~50 мг/мл сорбента <sup>5</sup>

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 0C.

5 величина, полученная при работе с модельным рекомбинантным гиперхимерным моноклональным антителом (Brtf3421) при температуре 23 0C.

<p>Название документа:</p> <p><b>ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ О ПРОДУКТЕ</b></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>

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

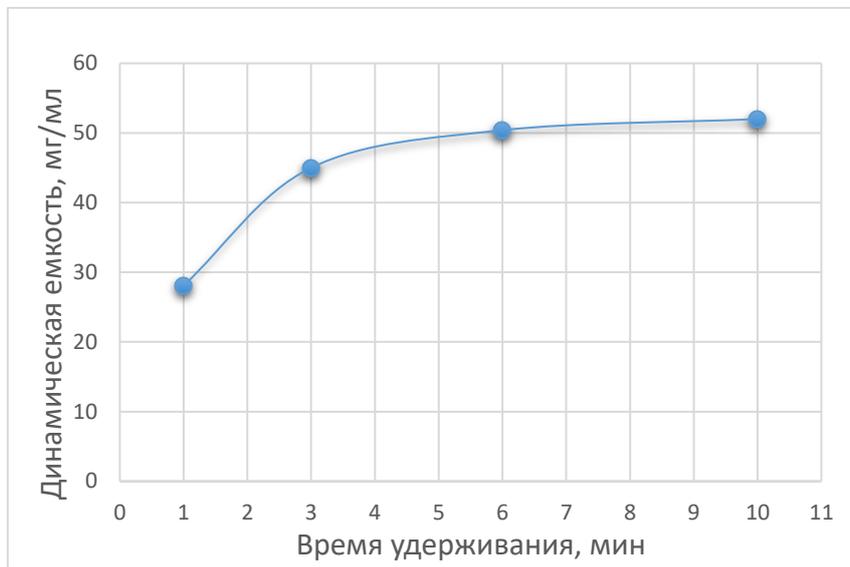


Рис. 1 Хроматографическая система GE АКТА PURE, колонка Tricorn 10/100, линейный поток 25,6 см/ч, высота сорбента 2,55 см, время контакта раствора IgG с сорбентом 1, 3, 6 и 10 минут, фосфатно-солевой буфер pH 7,4. Расчет DBC10 (10% проскока) производился программным обеспечением Dynamic Binding capacity calculations UNICORN Extension.

### 4. Зависимость пропускной способности сорбента RUselect-P от давления.

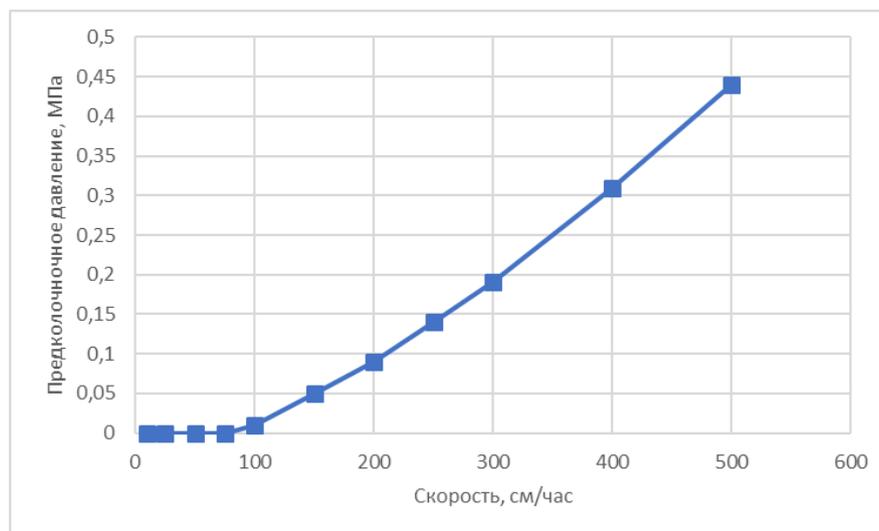


Рис. 2 Хроматографическая система GE АКТА PURE, колонка XK 16/40, высота сорбента 15 см, фосфатно-солевой буфер pH 7,4.

<p>Название документа:</p> <p><b>ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ О ПРОДУКТЕ</b></p>				
<p>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>

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

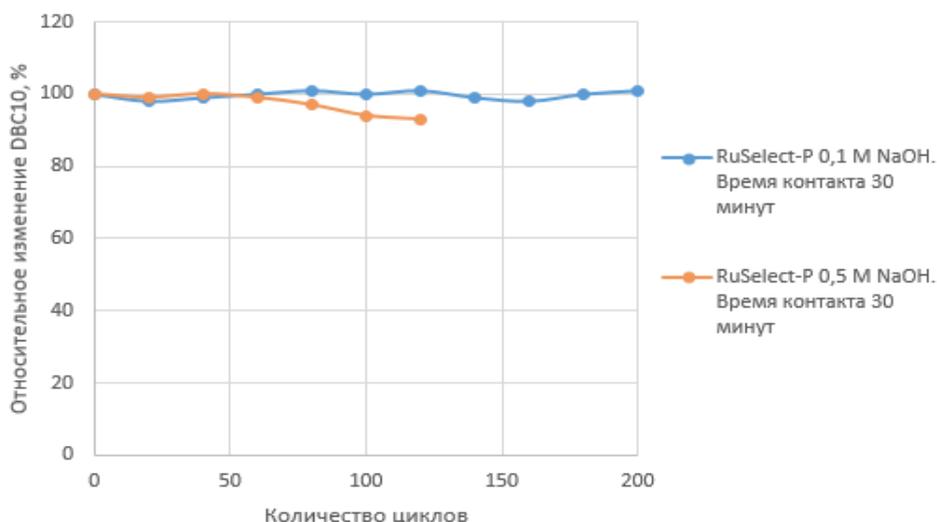


Рис. 3 Изменение DBC10 при времени контакта раствора IgG с сорбентом 3 минуты после 200 циклов санации 0,1 М NaOH (время контакта сорбента с щелочью 30 минут) и 120 циклов санации 0,5 М NaOH (время контакта сорбента с щелочью 30 минут)

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

### 6.1 Упаковка колонны.

Упаковка хроматографической колонны аффинным сорбентом производится в соответствии со стандартными рабочими процедурами. Необходимо убедиться, что сорбент имеет температуру окружающей среды, 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.

Перед работой следует уравновесить упакованную сорбентом колонну рабочим буфером до постоянных значений pH и проводимости (3 - 5 объемов колонны). Рекомендуется использовать буфер нейтрального pH и ионной силы. Пример рабочего 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.

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

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 следует промыть колонну буфером рН 6,0-6,5 до постоянных значений рН и проводимости (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»).**

<p style="text-align: center;">Название документа:</p> <p style="text-align: center;"><b>ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ О ПРОДУКТЕ</b></p>			
<p style="text-align: center;">Составлен/пересмотрен: Мелихова Т.Д.</p>	<p style="text-align: center;">Дата составления/пересмотра: 06.07.2024</p>	<p style="text-align: center;">Версия документа: v. 2.0</p>	<p style="text-align: center;">Страница: 8/8</p>

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:*

Промойте сорбент 3 колоночными объемами рабочего буфера; затем промойте сорбент 2-5 колоночными объемами 0,1-0,5 М раствора гидроксида натрия (NaOH). Рекомендуется не превышать время контакта сорбента с гидроксидом натрия свыше 30 минут. По завершении промывки сорбента гидроксидом натрия, промойте сорбент 5 объемами рабочего буфера для нейтрализации pH.

*Примечание.*

Ввиду увеличения вязкости раствора при промывке 0,1-0,5 М NaOH, в том числе за счет десорбции неспецифически связавшихся примесей, возможно увеличение давления в хроматографической системе. Рекомендуется не задавать высокую скорость потока элюентов при санации или использовать промывку обратным током.

**7. Хранение.**

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