



JSR Life Sciences

Платформенная очистка шести биоподобных молекул с использованием Amsphere A3 – смолы на основе белка А

В настоящее время более 70 биоподобных моноклональных антител (mAbs) находятся в разработке, также на многие оригинальные mAbs истекает срок патентной защиты в ближайшие 3 – 4 года. Смолы на основе белка А остаются самой важной платформой для очистки моноклональных антител. Смолы на основе белка А оказывают большое влияние на стоимость разработки и производства, особенно на ранних клинических стадиях. Данное руководство обобщает ключевые параметры высокопроизводительной смолы, Amsphere A3, для обработки 6 биоподобных молекул, пять из которых являются mAbs, а одна представляет собой Fc-фрагмент.

Материалы и методы

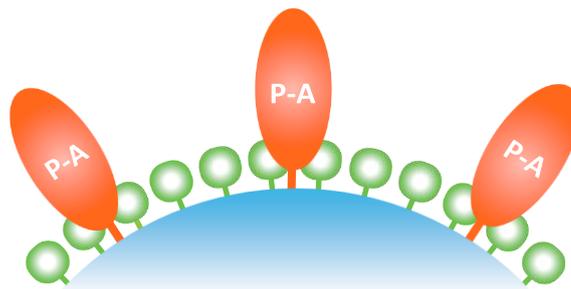
ТАБЛИЦА 1: МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА И Fc-ФРАГМЕНТ – ВСЕ БИОПОДОБНЫЕ МОЛЕКУЛЫ ПОЛУЧЕНЫ ИЗ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК СНО, ОЧИЩЕНЫ ЦЕНТРИФУГИРОВАНИЕМ И ФИЛЬТРОВАНИЕМ ЧЕРЕЗ МЕМБРАНУ 0,22 МИКРОМЕТРА

НАИМЕНОВАНИЕ	МОЛЕКУЛА
mAb1	Трастузумаб
mAb2	Адалимумаб
mAb3	Бевацизумаб
mAb4	Паливизумаб
mAb5	Ритуксимаб
Fc-фрагмент	Этанерцепт

РИСУНОК 1: УСЛОВИЯ ПРОВЕДЕНИЯ ИСПЫТАНИЙ



Amsphere™ A3



Amsphere A3 – это новая смола на основе белка А, разработанная с использованием поверхностно-модифицированной основы и модифицированного, стабильного в щелочной среде лиганда.

Лиганд белка А

- высокая динамическая обменная емкость (DBC) благодаря контролируемой конформации (постоянной) и ориентации
- Высокая щелочная стабильность благодаря белковой инженерии

Поверхностная модификация

- Низкий уровень загрязнения (НСП) благодаря гидрофилизации поверхности

Состав основы

- Высокий уровень DBC при высокой скорости потока
- Постоянная скорость потока и устойчивость к колебаниям давления благодаря жесткому сшиванию

ТАБЛИЦА 2: МЕТОДЫ ПРОВЕДЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА И МАТЕРИАЛЫ

НАИМЕНОВАНИЕ	ОПИСАНИЕ
Колонка	0.5 x 5 см (1 мл); кроме DBC (mAb1) 0.5 x 20 см (4 мл)
Время удерживания	5 мин; Кроме DBC (mAb1): 4 мин
Детектирование	УФ при 280 нм
Образец	mAb из СНО, очищенная культуральная жидкость

Результаты

РИСУНОК 2: ОЧИСТКА ПЯТИ БИОПОДОБНЫХ АНТИТЕЛ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ AMSPHERE A3

Рисунок 2 изображает емкость динамического связывания (DBC) для 4 mAbs и 1 Fc-фрагмента. DBC для mAb5 (Ритуксимаб) не был определен.

DBC находился на уровне от 43 г/л до 57 г/л при времени удерживания 5 минут (за исключением Fc-фрагмента).

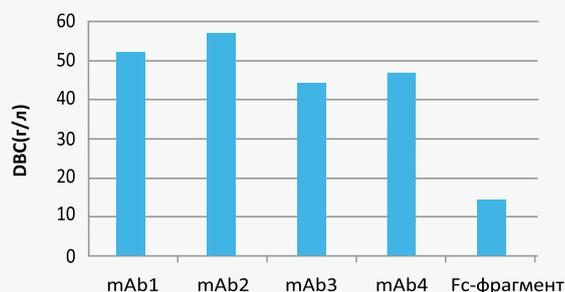


ТАБЛИЦА 3: УДАЛЕНИЕ НСР

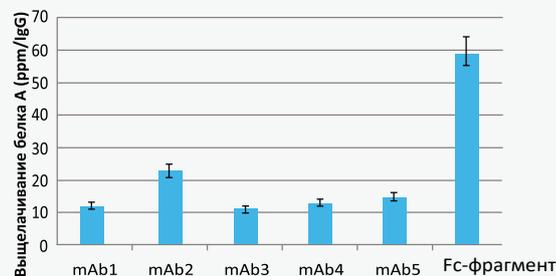
Таблица 3 демонстрирует степень удаления НСР, которую удалось последовательно достигнуть более 2 LRV (разность Log концентраций) для всех mAb. Для Fc-фрагмента LRV составляла около 1.8.

МОЛЕКУЛА	HCCF (ppm)	ЭЛЮАТ (ppm)	LRV
mAb1	350,000	3,100	2.05
mAb2	220,000	1,700	2.10
mAb3	315,000	3,850	1.91
mAb4	1,170,000	1,650	2.85
mAb5	560,000	2,950	2.27
Fc-фрагмент	628,000	10,200	1.78

*Детектирование при помощи НСР ELISA (Cygnus F550)

РИСУНОК 3: ВЫЩЕЛАЧИВАНИЕ БЕЛКА А

Как можно увидеть на рисунке 3 значение выщелачивания белка А составляло от 10 до 20 ppm для всех mAbs. Для Fc-фрагмента значение выщелачивания составляло 58 ppm. Ожидается, что после следующего этапа очистки выщелачивание будет иметь меньшее значение во всех случаях.



*Детектирование при помощи Protein A ELISA (Cygnus F740)



JSR Life Sciences

Amsphere™ является глобальной торговой маркой JSR Corporation
©2017 JSR Corporation – Все права защищены.

Больше информации на www.jsrlifesciences.com

ЕВРОПА

СТРАНЫ ЕАЭС

JSR Life Sciences JSR Micro NV
Technologielaan 8
3001 Leuven
Belgium
+32-16-668-721 bioprocess.eu@jsrlifesciences.com

ООО «АКА-Лоджик»
143405, Московская область, г. Красногорск,
Ильинское шоссе, 1А, этаж 6, пом. 14.2
Тел.: +7 (969) 077-72-72
E-mail: info@aka-logic.ru

Обсуждение и Выводы

Amsphere A3 одновременно обеспечивает высокую связывающую способность и прекрасную очистку от примесей для множества биоподобных молекул. Amsphere A3 выделяется сравнительно высоким DBC, что позволяет улучшить экономические показатели процесса разработки и производства биоподобных молекул. Кроме того, представленные данные подтверждают пригодность Amsphere A3 в качестве платформы для очистки, так как для всех исследованных молекул использовались одинаковые условия, и во всех случаях были получены высокие результаты производительности с использованием стандартных буферов для промывки и элюирования.