



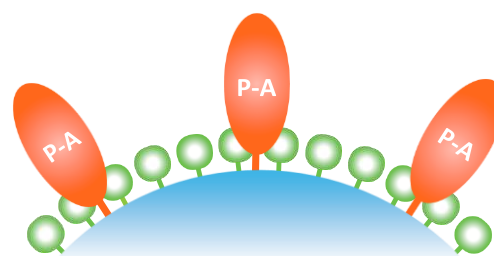
## Сравнение эффективности очистки Amsphere A3 с другими коммерчески доступными смолами на основе белка А

Аффинная хроматография на основе белка А является ключевым методом первоначального захвата в очистке моноклональных антител (mAb). Существует три основных типа смолы на основе белка А, отличающихся химическим составом матрицы – стекло, агароза и синтетический полимер. Современные смолы должны иметь высокую специфичность, хороший массоперенос и связывающую способность, низкую неспецифичную адсорбцию, низкую утечку лиганда, низкое сопротивление при высокой скорости потока и хорошую химическую стабильность – особенно в щелочной очистке. До настоящего времени выбор смолы для применения в биотехнологии должен балансировать между высокой специфичностью, высоким массопереносом и связывающей способностью, низкой неспецифической адсорбцией и утечкой лиганда, несжимаемостью, устойчивостью в щелочных условиях при очистке, химической стабильностью и конкурентной стоимостью. Результаты испытаний новой смолы Amsphere A3 в сравнении с Polymer H и Agarose показали, что строение Amsphere A3 сводит к минимуму компромиссы в представленных критериях.

ТАБЛИЦА 1: СОДЕРЖАНИЕ БЕЛКОВ КЛЕТКИ ХОЗЯИНА В ЗАГРУЖАЕМЫХ ОБРАЗЦАХ

НАИМЕНОВАНИЕ	МОЛЕКУЛА	НСП (ppm)
mAb1	Трастузумаб	350,000
mAb2	Адалимумаб	220,000
mAb3	Бевацизумаб	315,000
mAb4	Паливизумаб	1,170,000
mAb5	Ритуксимаб	560,000

## 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 (ДВЕ) благодаря контролируемой конформации (постоянной) и ориентации
- Высокая щелочная стабильность благодаря белковой инженерии

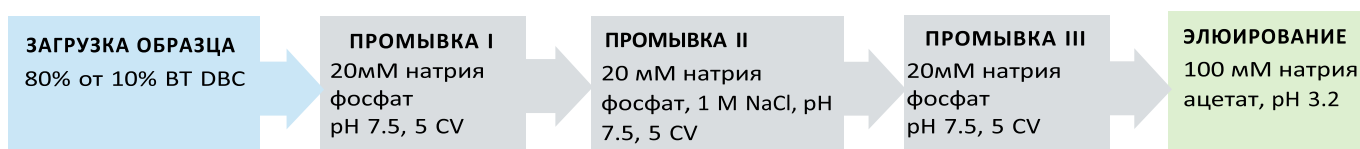
### Поверхностная модификация

- Низкий уровень загрязнения (НСП) благодаря гидрофилизации поверхности

### Состав основы

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

Рисунок 1: Условия проведения испытаний

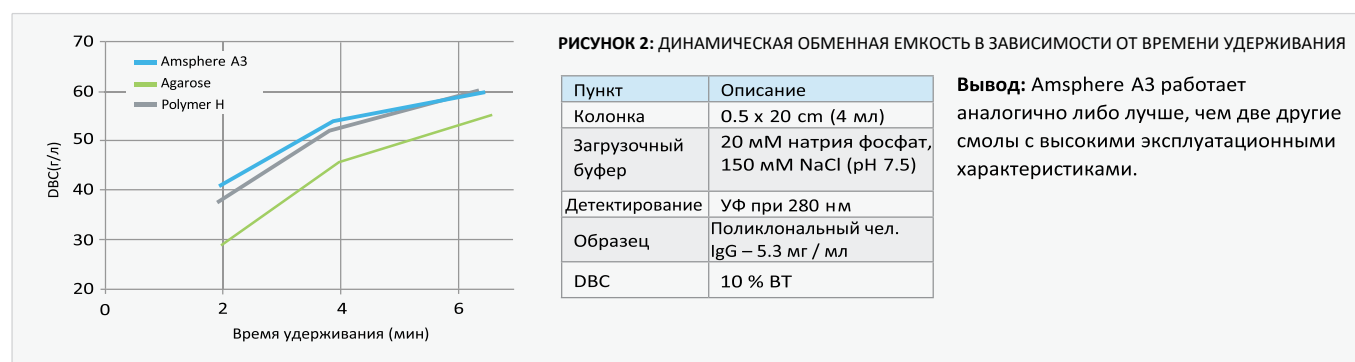


## Методы изучения и материалы

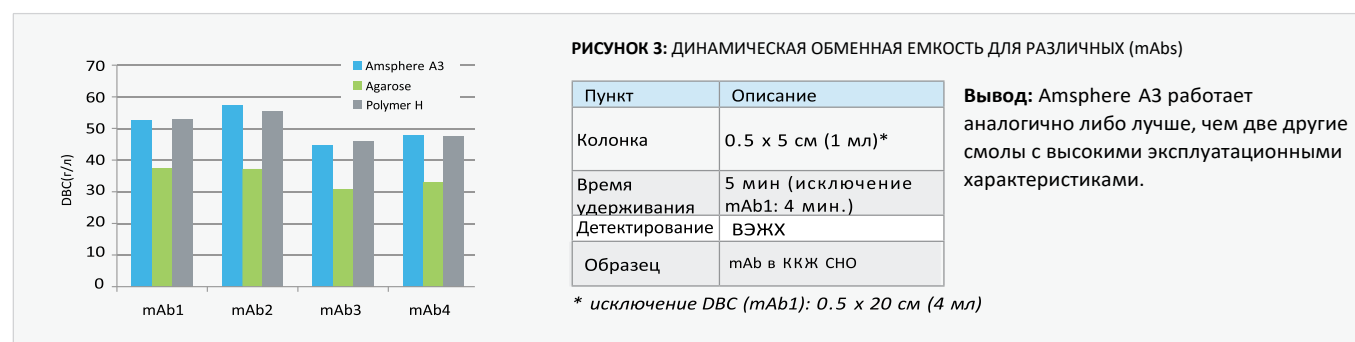
Проводились сравнительные испытания для Agarose и Polymer H относительно Amsphere A3. Пять образцов mAb (в таблице 1), экспрессированные в клетках CHO и очищенные центрифугированием и фильтрованием на фильтре 0.22 мкм, использовались для тестирования. Также использовался поликлональный очищенный человеческий IgG. Динамическую обменную емкость (DBC) при 10 % прококе в зависимости от времени удерживания, щелочную стабильность (0.5 M NaOH), удаление белков клетки хозяина (HCP), свойства потока и утечку лиганда белка А изучали в соответствии с общепринятыми стандартами. Подробное описание процесса хроматографии с белком А представлено на рисунке 1. Другие детали эксперимента вместе с результатами представлены ниже.

## Результаты

### 1. ДИНАМИЧЕСКАЯ ОБМЕННАЯ ЕМКОСТЬ



### 2. ДИНАМИЧЕСКАЯ ОБМЕННАЯ ЕМКОСТЬ mAbs ПРИ ВРЕМЕНИ УДЕРЖИВАНИЯ 5 МИНУТ



### 3. УДАЛЕНИЕ НСР – УРОВЕНЬ НСР В ЦЕЛЕВОМ ПУЛЕ

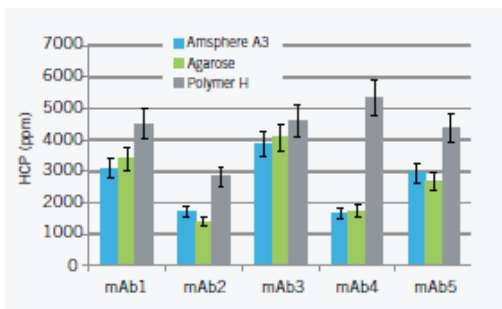


РИСУНОК 4: ОЧИСТКА ОТ БЕЛКОВ КЛЕТКИ ХОЗЯИНА (ppm) В ЦЕЛЕВОМ ПУЛЕ

Пункт	Описание
Колонка	0.5 × 5 см (1 мл)
Время удерживания	5 мин
Детектирование	комплект Cygnus F550 HCP ELISA

Значения (НСР) измерялись при помощи иммуноферментного анализа и выражали относительно извлекаемого соединения в ppm. Содержание НСР ppm в образцах представлены в таблице 1.

**Вывод:** Amsphere A3 работает аналогично либо лучше, чем две другие смолы с высокими эксплуатационными характеристиками.

### 4. ВЫЩЕЛАЧИВАНИЕ БЕЛКА А В ЦЕЛЕВОМ ПУЛЕ

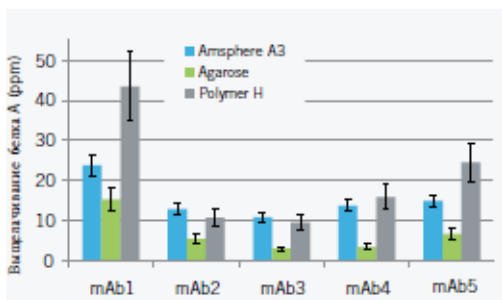


РИСУНОК 5: ВЫЩЕЛАЧИВАНИЕ БЕЛКА А (ppm) В ЦЕЛЕВОМ ПУЛЕ

Пункт	Описание
Колонка	0.5 × 5 см (1 мл)
Время удерживания	5 мин
Детектирование	Комплект Cygnus F740 ELISA

Значения выщелачивания белка А измерялись при помощи иммуноферментного анализа и выражали относительно извлекаемого соединения в ppm.

**Вывод:** Все три три смолы демонстрируют достаточно низкие уровни выщелачивания белка А с целевыми mAb.

### 5. ЩЕЛОЧНАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ (% СОХРАНЕНИЯ DBC) ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ 0.5 М NaOH

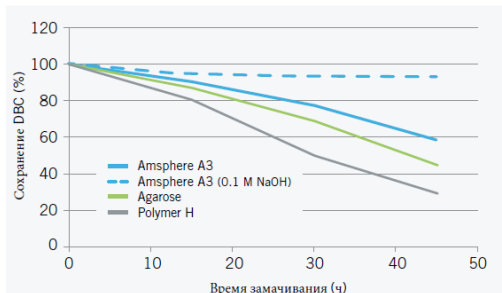


РИСУНОК 6: СОХРАНЕНИЕ DBC ПОСЛЕ ЗАМАЧИВАНИЯ В 0.5 М NaOH

Пункт	Описание
Колонка	0.5 × 20 см (4 мл)
Загрузочный буфер	20 мМ натрия фосфат, 150 мМ NaCl (pH 7.5)
Детектирование	УФ при 280 нм
Образец	Поликлональный человеческий Ig – 5.3 мг/мл
DBC	10 % проскок

Это жесткое ускоренное изучение проводилось, чтобы продемонстрировать устойчивость к высоким концентрациям NaOH в рамках эксперимента в течение 45 часов. Эти данные могут наглядно продемонстрировать устойчивость различных смол. Смолы в колонках подвергались воздействию 0.5 М NaOH в течение различного времени и затем проверялись на DBC при 10% проскоке.

**Вывод:** Amsphere A3 предлагает лучшую в классе производительность. Смола сохранила более 90 % начального DBC после 12 часов в 0.5 М NaOH и более 80% после 25 часов контакта.

### 6. ПЕРЕПАД ДАВЛЕНИЯ

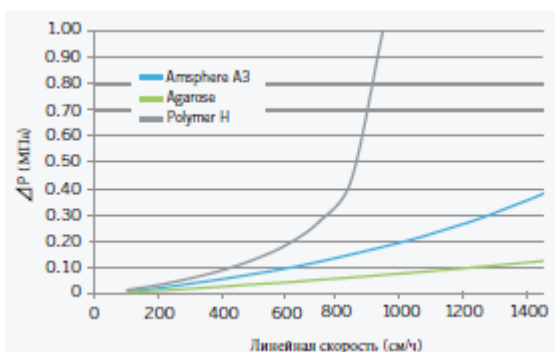


РИСУНОК 7: ПЕРЕПАД ДАВЛЕНИЯ

Пункт	Описание
Колонка	1.6 × 10 см (20 мл)
Подвижная фаза	Вода
Оборудование	AKTA avant 150

**Вывод:** Приемлемое значение перепада давления при высокой линейной скорости наблюдается для Amsphere A3 и Agarose.

## Общие выводы

Amsphere A3 объединяет в себе множество свойств смолы, которые минимизируют компромиссы при выборе смолы, такие как: DBC, удаление НСР и щелочная стабильность. Подбор лиганда, разработка и поверхностная модификация основы позволили получить превосходный продукт, подходящий для широкого диапазона условий эксплуатации и масштабирования.



JSR Life Sciences

Amsphere™ является глобальной торговой маркой JSR Corporation  
©2017 JSR Corporation – Все права защищены.  
Больше информации на [www.jsrlifesciences.com](http://www.jsrlifesciences.com)

### ЕВРОПА

JSR Life Sciences JSR Micro NV  
Technologielaan 8  
3001 Leuven  
Belgium  
+32-16-668-721 [bioprocess.eu@jsrlifesciences.com](mailto:bioprocess.eu@jsrlifesciences.com)

### СТРАНЫ ЕАЭС

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](mailto:info@aka-logic.ru)