



Amsphere A3 – смола на основе белка А: оптимизированная среда для уменьшения влияния элюирующего буфера

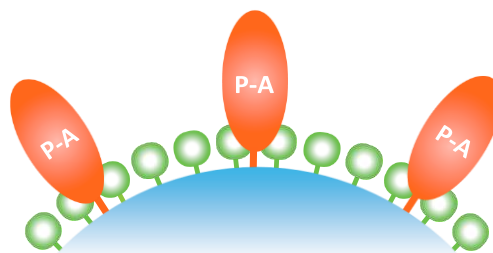
Хроматография с использованием белка А широко используется как стадия выделения для mAbs и Fc-фрагментов белков из-за высокой селективности. Изменение закономерностей элюирования на стадии выделения с использованием белка А требует большого количества времени для разработки и оказывает влияние на дальнейшие процессы очистки. Таким образом, например, сведение к минимуму изменения pH при элюировании разных молекул, позволяет упростить разработку платформенного процесса.

Amsphere A3 был разработан таким образом, чтобы различия в промыочных и элюирующих буферах (тип, проводимость и pH) не оказывали значительного воздействия на элюирующиеся фракции (pH, содержание примесей, выход и т.д.). В данных указаниях по применению исследовались влияние: противоиона буфера, pH и молярности на ключевые параметры эффективности (удаление НСР, выход, объем элюирования и pH фракций) Amsphere A3. Всего в исследовании были использованы 5 различных mAbs.

ТАБЛИЦА 1: mAbs ИСПОЛЬЗОВАННЫЕ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

МОЛЕКУЛА	ИСХОДНОЕ НСР (ppm)
Трастузумаб	350,000
Адалимумаб	220,000
Бевацизумаб	315,000
Паливизумаб	1,170,000
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 (DBC) благодаря контролируемой конформации (постоянной) и ориентации
- Высокая щелочная стабильность благодаря белковой инженерии

Поверхностная модификация

- Низкий уровень загрязнения (НСР) благодаря гидрофилизации поверхности

Состав основы

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

Методы изучения и материалы

В сравнении с Amsphere A3 исследовалась Agarose. Были протестированы пять образцов mAbs (таблица 1), экспрессированных в клетках яичника китайского хомячка (CHO) и осветленных центрифугированием. Влияние количества антитела на pH элюирования исследовалось с использованием Трастузумаба при 3 загрузках (10, 20, 30 мг), условия эксперимента представлены на рисунке 1. Актуальное значение pH, измеренное при максимальной высоте пика элюирования (УФ 300 нм). Было исследовано влияние загрузки на отношение УФ300/pH.

Условия воздействия различных буферов (тип, молярность, pH) на производительность очистки с использованием Amsphere A3 представлены совместно с результатами ниже.

Результаты

1. ОЦЕНКА ВОЗДЕЙСТВИЯ КОЛИЧЕСТВА ЗАГРУЗКИ АНТИТЕЛА НА pH ЭЛЮИРОВАНИЯ

РИСУНОК 1: ЗАВИСИМОСТЬ pH ЭЛЮИРОВАНИЯ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ЗАГРУЗКАХ

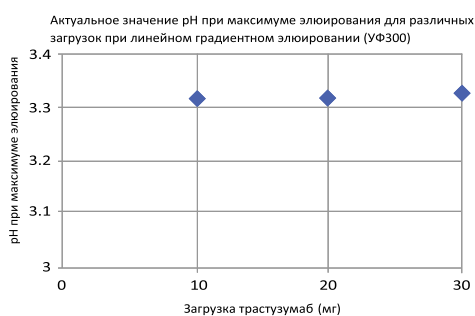


ТАБЛИЦА 2: УСЛОВИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ДЛЯ ТЕСТИРОВАНИЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ pH ЭЛЮИРОВАНИЯ

ПУНКТ	ОПИСАНИЕ
Колонка	Amsphere A3 (0.5 см x 5 см (1 мл))
mAb	Трастузумаб
Количество загрузки	10 мг, 20 мг, 30 мг
Время удерживания	1 минута
Промывка	50 мМ цитрат натрия pH 6 (5CV)
Элюирование	Линейный градиент 50 мМ цитрат натрия pH 6-2.5 (15CV)

Вывод: Наблюдается незначительное влияние количества антитела на pH элюирования при десорбции антитела.

2. ИЗУЧЕНИЕ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ pH ПРИ ЭЛЮИРОВАНИЯ

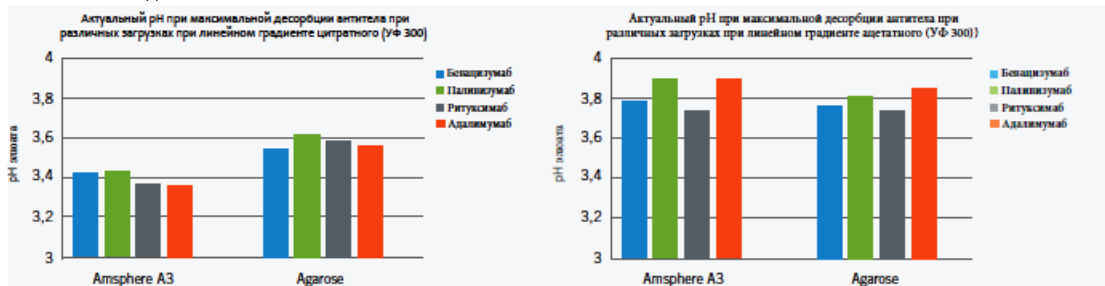
ТАБЛИЦА 3: СТАНДАРТНЫЕ ОТКЛОНЕНИЯ В pH ЭЛЮИРОВАНИЯ

	Цитратное элюирование	Ацетатное элюирование
Amsphere A3	pH 3.41 ± 1.0%	pH 3.85 ± 2.1 %
Agarose	pH 3.59 ± 0.85 %	pH 3.8 ± 1.2 %

ТАБЛИЦА 4: УСЛОВИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ДЛЯ ТЕСТИРОВАНИЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ pH ЭЛЮИРОВАНИЯ

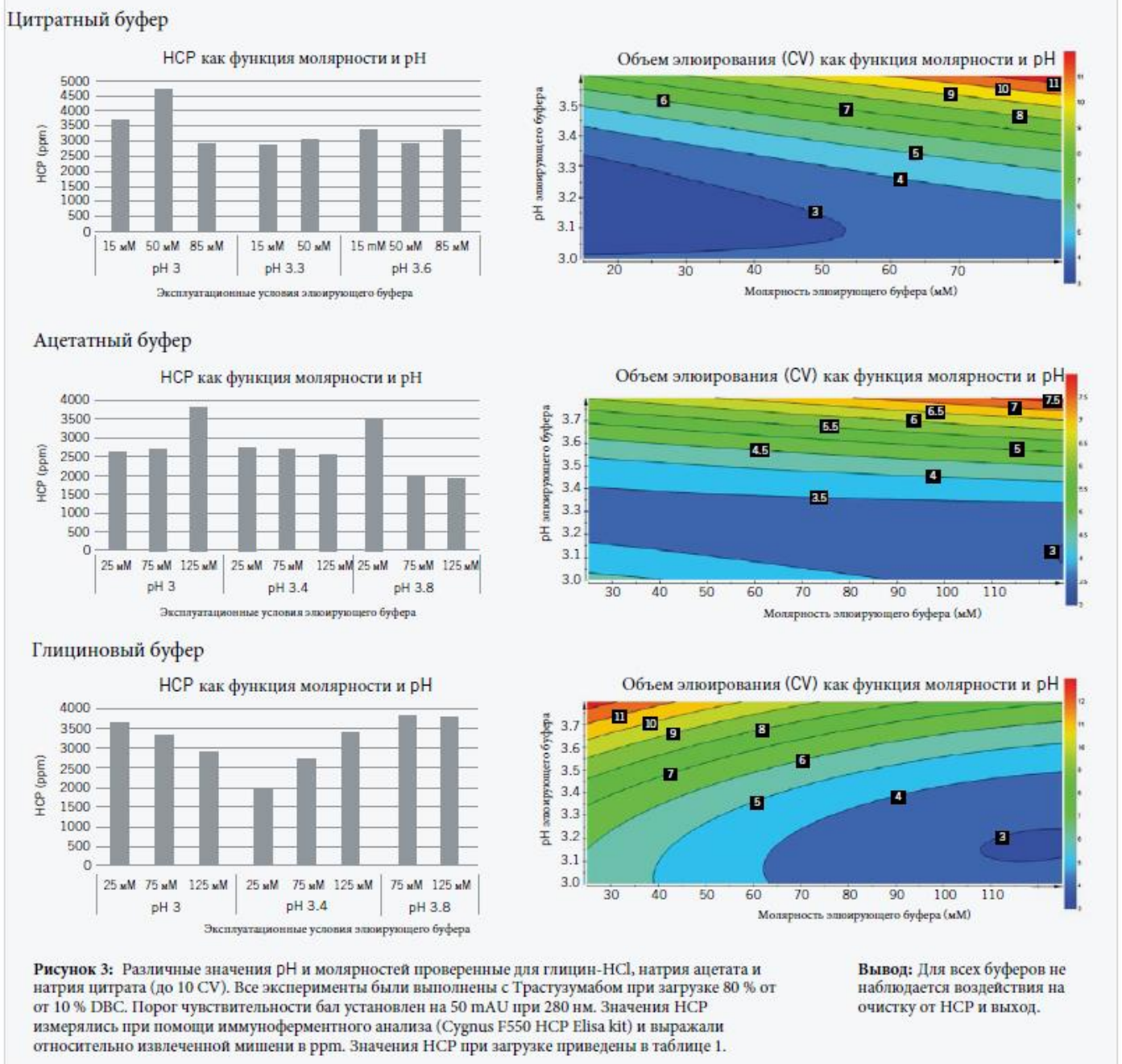
ПУНКТ	ОПИСАНИЕ
Колонка	Amsphere A3 (0.5 см x 5 см (1 мл)) Agarose (0.5 см x 5 см (1 мл))
mAb	Бевацезумаб, Паливизумаб, Ритуксимаб, Адалимумаб
Количество загрузки	10 мг
Время удерживания	1 минута
Промывка	50 мМ цитрат натрия pH 6 (5CV)
Элюирование	Линейный градиент 50 мМ ацетат натрия pH 5-3 (10CV) Линейный градиент 50 мМ цитрат натрия pH 6-2.5 (15CV)

РИСУНОК 3: ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ В pH ЭЛЮИРОВАНИЯ ДЛЯ ЧЕТЫРЕХ РАЗЛИЧНЫХ mAbs ДЛЯ AMSPHERE И AGAROSE



Вывод: Amsphere A3 имеет сравнимое с Agarose стандартное отклонение pH элюирования.

3. ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ЭЛЮИРУЮЩИХ БУФЕРОВ (ТИП, МОЛЯРНОСТЬ, pH) НА ПРОИЗВОДИТЕЛЬНОСТЬ AMSPHERE A3



Общие выводы

Были исследованы влияние противоиона элюирующего буфера, pH и молярности на ключевые параметры производительности Amsphere A3. Для всех протестированных mAbs удаление НСП является приемлемым. Также было установлено отсутствие зависимости между противоионом буфера, pH, молярностью и удалением НСП.

Amsphere A3 – смола готовая к платформенной работе с высокой производительностью. Это позволяет использовать предпочтительные условия элюирования при этом сохраняя высокие характеристики. Кроме того, почти нет необходимости подбирать или оптимизировать буферы, что позволяет быстро разрабатывать процессы.



JSR Life Sciences

Amsphere™ является глобальной торговой маркой JSR Corporation
©2017 JSR Corporation – Все права защищены .
Больше информации на www.jsrlifesciences.com

ЕВРОПА

JSR Life Sciences JSR Micro NV
Technologielaan 8
3001 Leuven
Belgium
+32-16-668-721 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