



Инструкция по заполнению колонки для Amsphere A3

Данная инструкция для маленьких колонок (1 – 20 мл, внутренним диаметром равным 0.5 – 1 см). Рекомендуемый метод заполнения – потоковый.

Приготовление суспензии

Суспензия Amsphere A3 поставляется в буфере для хранения, состав буфера 16 % этанола в 20 мМ натрия фосфате, pH 7.5. Необходимо декантировать раствор для хранения после отстаивания смолы, добавить 0.1 М хлорид натрия, чтобы получить суспензию с концентрацией 50 % (об.) (можно использовать буферы отличные от 0.1 М хлорида натрия, но они могут повлиять на качество заполнения).

Внимание: Не перемешивайте и не суспендируйте при помощи магнитной мешалки.

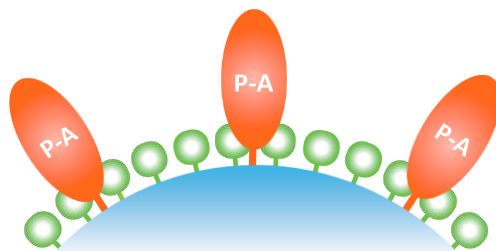
Примечание: Заполнение колонки с применением воды или 1 М хлорида натрия возможно, но не рекомендуется.

Объем суспензии для заполнения можно рассчитать по формуле:

Объем суспензии = объем уплотненного слоя × (100/концентрацию суспензии % × коэффициент сжатия)

Коэффициент сжатия для Amsphere A3: 1.10 (±0.02)

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

ТАБЛИЦА 1: РЕКОМЕНДУЕМЫЕ УСЛОВИЯ ЗАПОЛНЕНИЯ (ДЛЯ ВЫСОТЫ СЛОЯ 20 см)

Колонка	Внутренний диаметр	1.0 см	0.5 см
	Высота слоя	20 см	
Заполняющий буфер	0.1 М хлорид натрия		
Уравновешивающий буфер	20 мМ фосфат натрия; 150 мМ хлорид натрия pH 7.5		
Скорость потока	600-750 см/ч		900-1200 см/ч
Максимальная скорость работы (Когда смола упакована при скорости потока выше)	500-600 см/ч		600-800 см/ч

Заполнение колонки

Рекомендуется дегазировать все буферы перед началом использования.

- 1) Присоедините колонку в соответствии с инструкцией. Если в колонке не помещается 50 % суспензия, либо объем заполняющего буфера в 2 раза больше по сравнению с объемом при отстаивании, прикрепите резервуар для заполнения.
- 2) Добавьте 0.5 мл заполняющего буфера в пустую колонку и затем вылейте суспензию в колонку (избегайте образования воздушных пузырей).
- 3) Заполните колонку нисходящим потоком. Расход должен составлять 120-200% от рабочего расхода или соответствовать рекомендуемым условиям уплотнения.
- 4) Оставьте поток пока слой не скрепится.
- 5) Измерьте высоту слоя.
- 6) Остановите поток и отсоедините резервуар для заполнения (если использовался). Установите верхний адаптер, в соответствии с инструкцией, опускайте его пока он не коснется слоя смолы. Убедитесь, что не был захвачен воздух и давление не возрастает. Не превышайте рекомендуемое давление смолы и колонки.
- 7) Промойте колонку на максимальной рабочей скорости от 2 – 5 CV для подготовки слоя.

Перед анализом: Промойте 2-5 CV уравнивающего буфера, например, 20 мМ натрия фосфата, 150 мМ натрия хлорида, 7.5 рН при 120-200% рабочей скорости.

Внимание: Иногда смена буфера приводит к небольшому изменению высоты слоя. Если это происходит, необходимо отрегулировать адаптер.

До начала использования: Промойте колонку 5 CV элюирующего буфера. Затем промойте колонку уравнивающим буфером пока рН и проводимость не будет стабильной.

Оценка эффективности заполнения колонки

Оценка эффективности может быть выполнена при помощи числа теоретических тарелок (N) и асимметрии пика (A_s).

ТАБЛИЦА 2

$N = 5.14 (V_R/W\frac{1}{2}h)^2$
V_R = Объем или время удерживания вещества
$W\frac{1}{2}h$ = Ширина пика на половине высоты в объеме или времени
$A_s = b/a$
a = фронтальная полуширина пика измеренная на 10 % высоты пика
b = тыльная полуширина пика измеренная на 10 % высоты пика

Чтобы измерить A_s , используют (i) 1 М хлорид натрия в качестве сравнительного маркера проводимости и (ii) ацетон (или другое вещество с низкой молекулярной массой, которое не задерживается на смоле) как сравнительный маркер для УФ (поглощение при 280 нм). Перед оценкой необходимо уравновесить колонку 150 мМ хлоридом натрия. Объем ввода сравнительного маркера должен составлять 1 – 3 % объема колонки.

Примечание: Допустимый диапазон A_s обычно находится между 0.7-1.5, но критерий зависит от применения.

Пример заполнения колонки

Ниже описан пример заполнения колонки с использованием способа описанного на предыдущей странице.

Материалы и Методы

Колонка	Tricorn 5/200 (4 мл)
Заполняющий раствор	0.1 М хлорид натрия
Уравновешивающий буфер	20 мМ фосфат натрия, 150 мМ хлорид натрия, 7.5 рН
Скорость заполнения	3.9 мл/мин (1200 см/ч)
Оборудование	АКТА система

Условия оценки

Загрузка	Уравновешивающий буфер
Раствор для инъекции	1% ацетона в 1 М хлориде натрия
Раствор для инъекции	100 µL
Скорость потока	1.0 мл/мин (300 см/ч)

Результаты оценки

Хроматограммы и результаты оценки представлены ниже.

Высота слоя в колонке после заполнения составила 20.6 см, объем 4.03 мл. Ассиметрия и число теоретических тарелок в пределах спецификации (см. ниже).

Ассиметрия

РИСУНОК 1 : ПРИМЕР ОЦЕНКИ ЗАПОЛНЕНИЯ

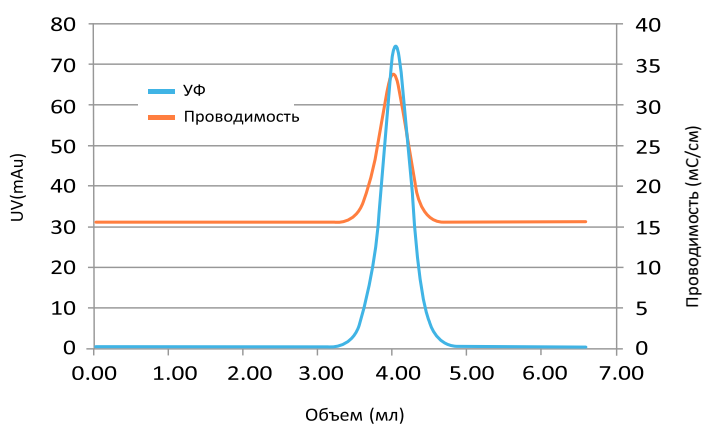


Таблица 3

	УФ	Проводимость
Ассиметрия	0.98	0.87
N (/m)	2481	2262

Колонка заполнена хорошо.

Хранение

Для хранения колонки заполненной Amsphere A3, необходимо уравновесить колонку с использованием 16 - 20% этанола, и хранить при температуре 2 - 8 °С. Вместо 16 - 20% этанола может быть использован 2 % бензиловый спирт. После длительного хранения рекомендуется выполнить холостой запуск включая очистку. За более подробной информацией обратитесь к инструкции.



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