



JSR Life Sciences

Описание

Наименование продукта	Amsphere™ A3
Матрица (основа)	Метакриловый полимер
Средний размер частиц	50 мкм
Лиганд	Рекомбинантный белок А экспрессируемый в <i>Escherichia coli</i>
Динамическая обменная емкость* ¹	Около 54 мг/мл для поликлонального IgG
Максимальное рабочее давление	0.8 МПа* ²
Максимальная рабочая скорость	1200 см/ч (зависит от размера колонки)
Рекомендуемая высота слоя	5 - 25 см
Рабочий диапазон pH	1 - 13
Стабильность при очистке	0.1 - 0.5 М NaOH
Рекомендуемый буфер для хранения	50 мМ натрий-фосфатный буфер содержащий 16 % этанола, pH 7.5

*¹ Определяется при 10 % проскоке при линейной скорости 300 см/ч и колонке с высотой слоя 20 см.

*² Не превышать разрешенное давление для колонки.

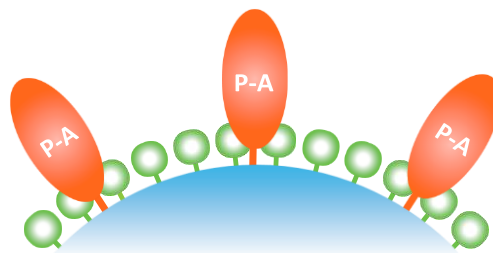
Условия эксплуатации

Общие

Убедиться, что все буферы и исходные образцы отфильтрованы через фильтр 0.22 мкм перед использованием.

Чтобы уравновесить колонку предпочтительнее использовать нейтральные буферы или буферы имеющие аналогичный состав как и в исходном сырье. Например, можно использовать 20 мМ натрия фосфат, pH 7.5 или 25 мМ Tris-HCl, pH 7.0 с концентрацией 0-150 мМ NaCl.

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

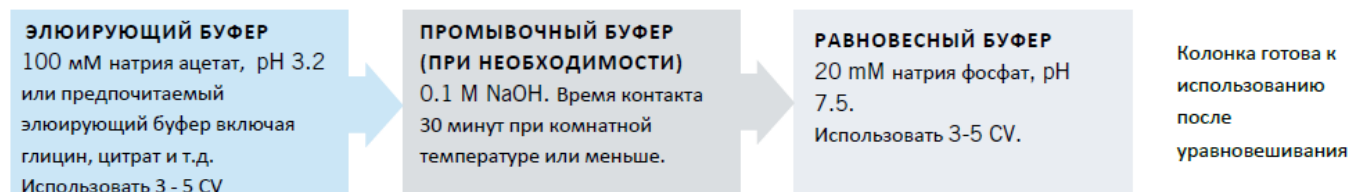
Состав основы

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

Заполнение колонки и ее испытания

Способ заполнения для Amsphere A3 подробно изложен в «Инструкции по заполнению колонки для Amsphere A3», которую можно получить у вашего торгового представителя.

Перед первым использованием колонки рекомендуется выполнить следующий холостой пуск.



Загрузка образца

Емкость смолы будет зависеть от класса антитела, концентрации соли, pH и скорости потока при загрузке. Поэтому до масштабирования процесса рекомендуется разработать условия для небольших загрузок и измерить хроматографические параметры, такие как DBC.

Промывка

Свойства промывочного буфера, такие как объем, проводимость и pH могут изменяться в зависимости от загрузки антитела и предпочтений пользователя. В случаях, когда необходимо удаление большого количества белков клетки-хозяина (НСП) или дезоксирибонуклеиновых кислот (ДНК), рекомендуется использовать следующие буферы в предлагаемом порядке:

- 1 20 мМ натрия фосфат, pH 7.5, 1-2 CV
- 2 20 мМ натрия фосфат, 500 мМ – 1 М NaCl, pH 7.5, 4-6 CV
- 3 20 мМ натрия фосфат, pH 7.5, 2-4 CV

В некоторых случаях в промывочный буфер может быть с более низким pH и большим содержанием соли, с применением далее буфера без соли.

- 1 100 мМ натрия ацетат, pH 6.0, 2 CV
- 2 100 мМ натрия ацетат, 500 мМ до 1М NaCl, pH 6.0, 4 CV
- 3 100 мМ натрия ацетат, pH 6.0, 4 CV

Замечание: Для Amsphere A3 рекомендуется солевая промывка (500 мМ – 1 М раствор).

Элюирование

Для элюирования можно использовать общий кислотный буфер. Рекомендуется использовать ацетат натрия, но можно использовать и цитрат натрия или глицин. Для определения оптимального pH, необходимо использовать линейный градиент при небольших загрузках. Собранные фракции нейтрализовать 1 М Tris и проанализировать количественное содержание mAb в каждой фракции, таким образом можно определить оптимальные условия pH.

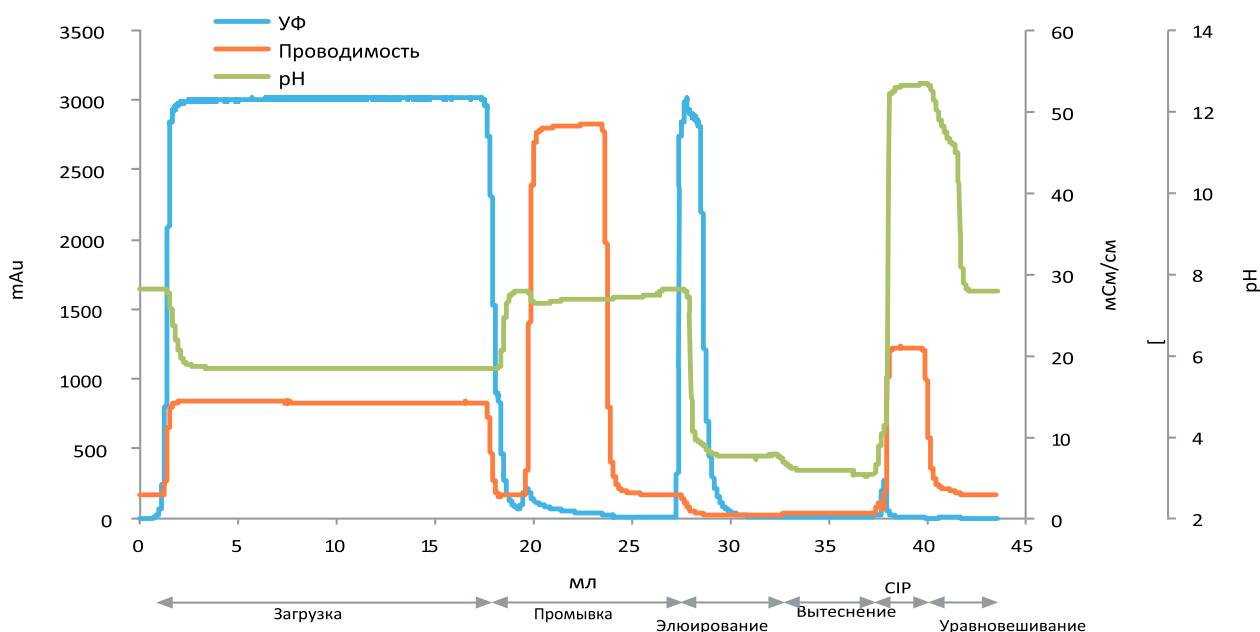
Регенерация

После элюирования антитела колонку необходимо промыть 5 CV буфера более кислого, чем буфер при элюировании, чтобы смыть все остатки с колонки. Предпочтительно использовать для этого ацетатный, солянокислый или фосфорнокислый раствор (pH 1.5 – 3.0, 20 – 200 мМ).

Пример хроматографического разделения

На рисунке 1 показан пример очистки mAb (с применением Amsphere A3) полученного из культуры клеток CHO. Колонка с высотой слоя 5 см и внутренним диаметром 0.5 см (1 мл). Загрузка 44 мг mAb при времени удерживания 4 мин, выход составил 94 % высокоочищенного антитела.

РИСУНОК 1: ОЧИСТКА mAb (С ПРИМЕНЕНИЕ АМСПHERE А3) ПОЛУЧЕННОГО ИЗ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК CHO



Очистка (CIP)

Стандартные условия для очистки: от 0.1 М до 0.5 М NaOH.

Рекомендуемая последовательность очистки:

1. Промыть колонку используя минимум 2 CV 0.1 М NaOH. Время контакта от 15 до 30 минут является достаточным и будет зависеть от исходного сырья для производства, от которого нужно очистить.
2. Промыть колонку с использованием приблизительно 5 CV буфера, который используется для уравновешивания, до момента пока pH стабилизируется.

ВНИМАНИЕ:

- Не используйте высокую скорость потока при подаче раствора NaOH в колонку, так как давление может значительно возрасти
- Несмотря на то, что Amsphere A3 устойчив к щелочам, длительное время контакта с щелочными буферами может снизить DBC. Рекомендуется уравновешивать колонку с применением буфера незамедлительно после CIP. Информация по стабильности в щелочной среде доступна в JSR Life Sciences.

Хранение

Amsphere A3 поставляется в виде суспензии в натрий-фосфатном буфере содержащем 16 % этанола. Смола должна храниться при температуре от 2 °С – 8 °С и не должна замораживаться. Для хранения колонок с Amsphere A3 необходимо их уравновесить с использованием буфера содержащего от 16 – 20 % этанола и хранить при температуре от 2 °С – 8 °С. В качестве альтернативы можно использовать 2 % бензиловый спирт. После длительного хранения рекомендуется выполнить холостой запуск с применением очистки до начала использования.



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