



Сорбент для ионообмена HyperCel™ STAR AX



Солеустойчивый сорбент с повышенной отдачей для анионной ионообменной хроматографии

Сорбент анионной ионообменной хроматографии промышленного назначения для высокопродуктивного выделения белка и удаления примесей при умеренной или повышенной проводимости соли (2 - 15 мСм/см), типичной для неразбавленного биологического сырья (т.е. надосадочных жидкостей культуры клеток млекопитающих, сырья с *E. coli* (кишечная палочка), плазмы, прочее...).

Сорбент HyperCel STAR AX производится в промышленных масштабах и отвечает требованиям промышленных производителей и регулирующих органов. Компанией разработан Файл нормативно-правовой поддержки (RSF), призванный помочь пользователям в разработке процедур валидации. Данный сорбент обеспечивает:

- ▶ Способность высокого динамического связывания (DBC) при коротком времени пребывания (2 минуты или меньше)
- ▶ Прямое выделение белка или удаление примесей из неразбавленного сырья при средней или высокой проводимости
- ▶ Отличные характеристики скорости потока при быстрой обработке сырья
- ▶ Особую селективность, остающуюся неизменной при широком диапазоне проводимости (2 – 15 мСм/см)
- ▶ Улучшенную экономику процесса

Описание

Сорбент HyperCel STAR AX состоит из жесткой целлюлозной матрицы, обладающей выдающейся производительностью при низком сопротивлении потоку, что соответствует требованиям, предъявляемым к производству белков в промышленных объемах. Предлагаются различные варианты упаковки сорбента, такие как пластины с 96 ячейками AscoPrep™ ScreenExpert, рассчитанные для предварительного подбора сорбентов, подходящих для очистки белка, а также удобные предупакованные колонки PRC по 1 мл и 5 мл, предназначенные для быстрой оптимизации метода, оценки селективности или небольшой препаративной работы. Сорбент HyperCel STAR AX поставляется в виде жидкой субстанции или суспензии в 1 М растворе NaCl с содержанием этанола об. 20% или в виде влажного брикета для промышленного применения (сорбент в виде влажного брикета способствует переносу сорбента, избегая перемешивания и суспендирования больших объемов материала).

Сорбент HyperCel STAR AX обладает химической стабильностью, которая гарантирует простую «очистку на месте» (CIP) и хранение. Для стандартной процедуры CIP рекомендуется использовать 0,5 - 1 М NaOH, хотя также возможно долгосрочное хранение в 10 – 100 мМ раствора NaOH.

Таблица 1

Основные характеристики

Средний размер частицы	80 мкм
Ионообменный лиганд	Первичный амин
Динамическое связывание ¹	>100 мг бычьего сывороточного альбумина (BSA)/мл при диапазоне pH 7,5 – 8,0 и проводимости 15 мСм/см
Типичный рабочий диапазон проводимости сырья	2 – 15 мСм/см
Рекомендуемые условия очистки ²	1 М NaOH

1. Установлено с использованием BSA 5 мг/мл в 25 мМ Трис-HCl, 0,14 М NaCl при времени пребывания 2 минуты.

2. Впрыскивание 5 объемов колонок (CV) 0,5-1 М NaOH, время контакта – 1 час.

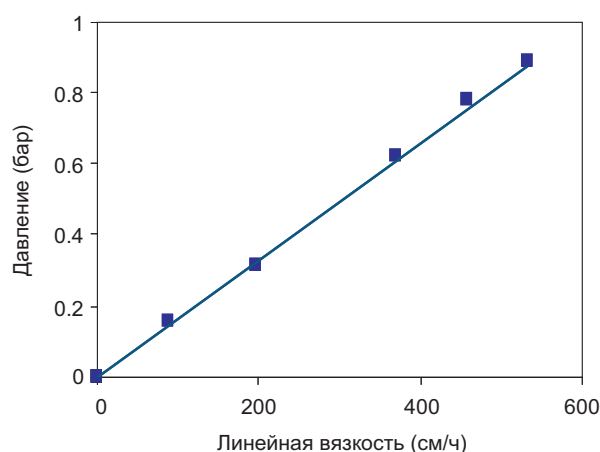
Сорбент HyperCel STAR AX очень легко упаковывать в колонки для лабораторных, пилотных и промышленных нужд, также и распаковывать. Он обладает отличной производительностью, совместим с требованиями передовых производственных процессов.

Сорбент может быть помещен в стандартные недорогие буферные растворы. Например, с колонкой, имеющей внутренний диаметр 200 мм и высоту 150 мм, упакованной в 10 мМ буферный раствор NaCl, можно работать при перепаде давления менее 1,5 бар (Рисунок 1).

Стабильность упаковки остается неизменной у лабораторных и промышленных колонок (с внутренним диаметром 400 мм). Типичные показатели N/m > 2000 пластин, а факторы асимметрии (AF): 1,0 < AF < 1,4.

Рисунок 1

Давление от линейной скорости для сорбента HyperCel STAR AX



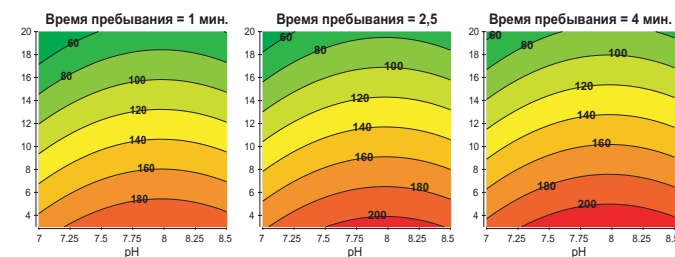
Колонка: внутренний диаметр 200 мм x 150 мм высота слоя. Буферный раствор для хранения: 10 мМ NaCl

Характеристики и преимущества

Высокое динамическое связывание в широком диапазоне рабочих условий проводимости: без разбавления сырья, снижение общего времени процесса

Рисунок 2

Динамическое связывание от времени пребывания как функции pH и проводимости сорбента HyperCel STAR AX



Колонка: внутренний диаметр 0,5 см x толщина слоя 5 см (~1 мл). Образец: 5 мг/мл BSA в равновесном буфере. Равновесный буфер: 25 мМ Трис-HCl, pH 7,0 – 8,5. Проводимость 3 – 20 мСм/см. Время пребывания: 1 – 4 мин. (0,25 – 1 мл/мин). Числа показывают связывающую способность для BSA в мг/мл сорбента.

Для исследования влияния различных уровней pH (7,0 – 8,5), проводимости (3 – 20 мСм/см) и времени пребывания (от 1 до 4 минут) на способность к динамическому связыванию BSA, используемого в качестве модели, был проведен модельный опыт (DoE).

Полученные данные демонстрируют влияние pH и проводимости на динамическое связывание BSA на сорбенте HyperCel STAR AX. Контурные графики на Рис.2 показывают, что сорбент достигает высокой DBC (> 100 мг/мл) в широких диапазонах pH и проводимости при коротком времени пребывания, обеспечивая оптимальную гибкость и производительность.

Рисунок 3

Динамическое связывание сорбента HyperCel STAR AX для Сывороточного альбумина человека (HSA) из неразбавленной и разбавленной плазмы

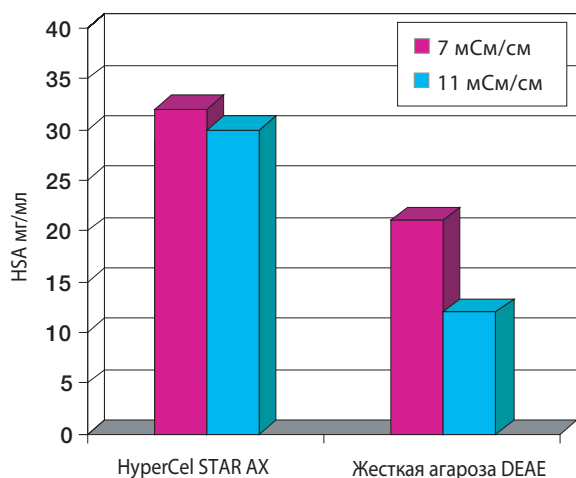


Рисунок 3 показывает DBC для HSA сорбента HyperCel STAR AX в сравнении с традиционным анионным ионообменным сорбентом - жесткой агарозой DEAE при проводимости, соответствующей неразбавленной (11 мСм/см) и разбавленной (7 мСм/см) плазме.

Данные, представленные на Рисунке 3, подтверждают, что на DBC меньше влияет проводимость в диапазоне 7 – 11 мСм/см в сравнении с традиционным сорбентом. Это позволяет осуществлять прямую загрузку неразбавленной плазмы на сорбент HyperCel STAR AX.

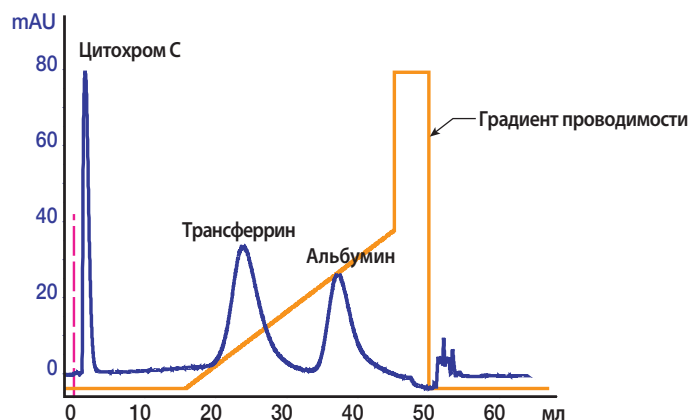
Сочетание высокой производительности с низким перепадом давления (Рис.1), большие объемы сырья могут обрабатываться непосредственно и быстро, увеличивая общую пропускную способность процесса и снижая риск деградации протеина.

Высокая связывающая способность ускоряет работу с использованием колонок среднего объема и площади дна, позволяя еще больше снизить требования к объему буферного раствора, и приводя к экономии на оборудовании и снижении инвестиционных затрат на сорбенты.

Отличная селективность и эффективность разделения в широком диапазоне проводимости

Рисунок 4

Разделение протеиновой смеси на сорбенте HyperCel STAR AX при 10 мСм/см.



Заполненная колонка PRC HyperCel STAR AX объемом 1 мл; смесь 100 μ л (2 мг/мл Цитохром С, человеческий трансферрин 10 мг/мл, 10 мг/мл BSA). Загрузка: 25 мМ Трис-НСl pH=8,0, 10 мСм/см. Элюат: градиент 0 – 50% 25 мМ трис гидрохлорид, pH=8,0 + 1 М NaCl.

Селективность сорбента является ключевым параметром для выделения целевого протеина из примесей в сырье. Скрининг селективности сорбента является исключительно важным и должен проводиться на ранних стадиях разработки технологического процесса.

Быстрый скрининг и оптимизация условий могут быть достигнуты при использовании заполненной колонки Pall PRC объемом 1 мл. После выбора оптимального химического состава условия использования могут быть оптимизированы в колонке PRC объемом 5 мл удвоением высоты. Две 5 мл колонки могут соединяться последовательно для увеличения высоты слоя колонки до 20 см и наиболее точно смоделировать реальные условия в экспериментальном или промышленном масштабе. Колонки с объемом 1 мл также могут быть соединены последовательно.

Вследствие разницы в структуре зерна, химическом составе лиганда и плотности конкретного ионного заряда, как показано на Рисунке 4, селективность и эффективность разделения сорбента HyperCel STAR AX поддерживаются в широком спектре проводимости.

Применение и примеры

Применяется для прямого выделения рекомбинантных белков, моноклональных (МАВ) и поликлональных (РАВ) антител, производных плазмы или иных биофармацевтических препаратов.

Благодаря своей способности выделять белки напрямую из неразбавленного биологического сырья сорбент HyperCel STAR AX может также использоваться для удаления примесей на ранней стадии (напр., белков клетки-хозяина CHO) до целевой очистки, т.е. до выделения МАВ на аффинной стадии Протеина А.

Применение 1. Прямое выделение альбумина из неразбавленной плазмы

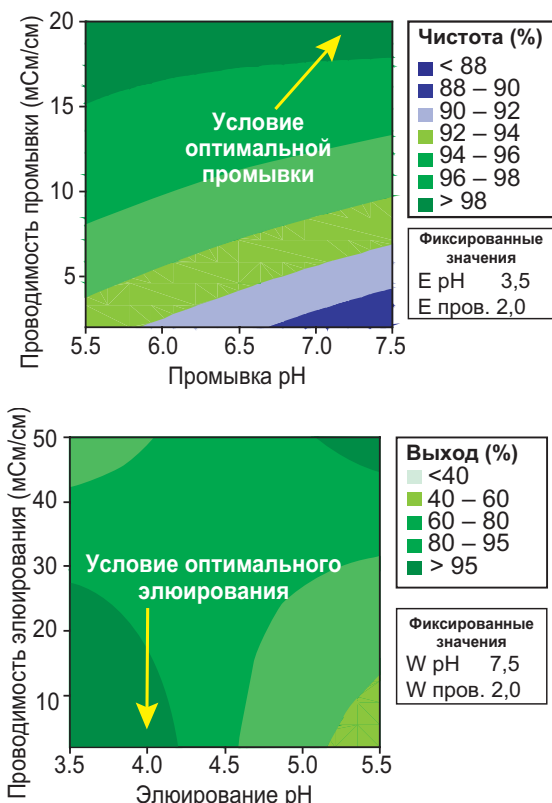
Целью является оценка эффективности сорбента HyperCel STAR AX на первой стадии двухфазного процесса очистки по выделению HSA из неразбавленной плазмы (проводимость 11 мСм/см). Сорбент HyperCel STAR AX использовался на первой фазе выделения до ортогональной катионообменной фазы, при которой использовался сорбент S HyperCel без регулировки pH или проводимости плазмы. Чистая неразбавленная плазма (pH=7,6, 11 мСм/см) была загружена с DBC, равным 30 мг/мл (см. Рис.3).

Для определения оптимальных условий достижения наилучшего соотношения выход/чистота (пример оптимизации условий промывка/элюирования показан на Рис.5) было выполнено моделирование опыта (DoE) на фильтрующих пластинах из 96 ячеек (пластины AcroPrep™ Pall).

Затем данные условия были перенесены в колонную хроматографию с использованием преупакованных колонок Pall PRC (Рис.6).

Рисунок 5

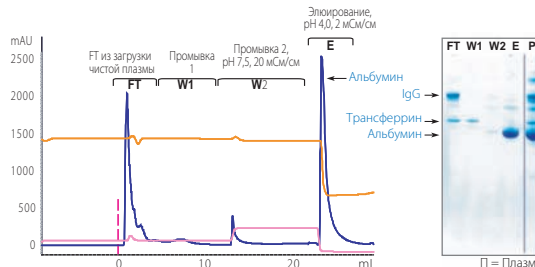
Влияние условий промывки (W) и элюирования (E) на чистоту HSA и выход элюированием (в процентах) при использовании сорбента HyperCel STAR AX (опыт на пластинках из 96 ячеек)



На Рис.5 показано, что на выход HSA в основном, влияют условия элюирования (оптимальная зона: pH 3,5 – 4,2 и проводимость 2 – 27 мСм/см), в то время, как чистота зависит главным образом от условий промывки (промывка при высокой проводимости >15 мСм/см повышает чистоту).

Рисунок 6

Применение условий, полученных на пластинках из 96 ячеек, к колонке HyperCel STAR AX PRC объемом 1 мл.



Условия, полученные на пластинках из 96 ячеек, были применены к хроматографии неразбавленной плазмы на сорбенте HyperCel STAR AX в колонке PRC объемом 1 мл. Хроматограф (Рис.6) и анализ фракций SDS-PAGE подтвердили, что большинство примесей было удалено промывкой при высокой проводимости, дающей чистоту фракции HSA 99% за одну стадию при выходе 90%.

Помимо этого, как показано на Рисунке 3, сорбент HyperCel STAR AX, использованный на стадии выделения с нерастворенной плазмой, имел показатель DBC >30 мг/мл, что более чем в 2 раза выше, чем у традиционного сорбента – агарозы DEAE, испытанной в тех же условиях.

HSA был элюирован простым снижением уровня pH (4,0), без добавления соли, поэтому возможна прямая загрузка на ортогональную катионообменную колонку (сорбент S HyperCel).

Последняя стадия доочистки на сорбенте S HyperCel привела к получению очищенной фракции элюированного HSA при pH 7,0 с чистотой >99%, и емкостью около 65 мг/мл (Таблица 2).

Таблица 2

Двухфазное очищение человеческого сывороточного альбумина из неразбавленной плазмы.

	Загрузка	Емкость (мг/мл)	Выход	Чистота
Выделение на сорбенте HyperCel STAR AX	Неразбавленная плазма	> 30 мг/мл	90%	99%
Доочистка на сорбенте S HyperCel	Элюат pH 4,0 из сорбента HyperCel STAR AX	65 мг/мл	95%	> 99%

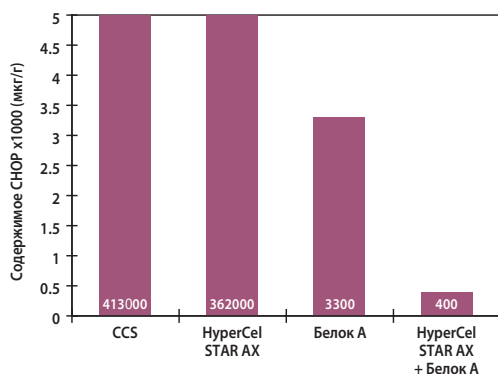
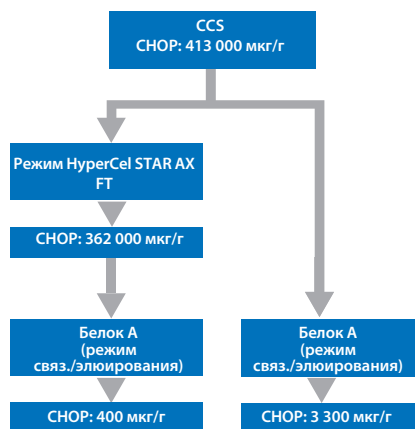
Применение 2. Удаление протеина клеток из яйчников китайского хомячка (СНОР) на ранней стадии до выделения Протеина А моноклонального антитела (Маб).

Целью данного исследования была оценка воздействия предварительной стадии очистки с использованием сорбента HyperCel STAR AX до традиционного выделения сорбентом Протеина А моноклонального тела (Маб) из надосадочной жидкости культуры клеток млекопитающих (Рис.7).

Содержимое загрязняющих СНОР сравнивалось с использованием коммерческого образца ELISA при двух схемах очистки, показанных на Рис.7.

Рисунок 7

Традиционная и альтернативная схема очистки Маб, включая фазу предварительной очистки на сорбенте HyperCel STAR AX



Полученные данные показывают, что использование сорбента HyperCel STAR AX до Протеина А приведет к большему снижению СНОР (>8-кратно). Благодаря данному эффекту синергии, начиная с исходного содержимого Протеина клетки-хозяина (НСП) 413 000 мкг/г, окончательный уровень СНОР снижен до ~400 мкг/г (3-е логарифмическое уменьшение), с выходом Маб 90%.

Фаза предварительной очистки может положительно влиять на экономику процесса, увеличивая срок годности дорогой колонки с Протеином А, используемым на стандартной фазе выделения Маб.

Информация для заказа

Сорбент HyperCel STAR AX

Описание	Серийный номер
5 mL	20197-018
25 mL	20197-026
100 mL	20197-032
1 L	20197-046
5 L	20197-058
10 L	20197-064

Предупакованные колонки PRC HyperCel STAR AX

Описание	Серийный номер
Колонка PRC 5x50 HyperCel STAR AX, 1 мл	PRCSTARAX1ML
Колонка PRC 8x100 HyperCel STAR AX, 5 мл	PRCSTARAX5ML

Пластины с сорбентом HyperCel STAR AX

Описание	Серийный номер
Пластины AcroPrep ScreenExpert: сорбент для анионного ионообмена HyperCel STAR AX	96WPSTARAX50



Life Sciences

Головной офис корпорации
Порт Вашингтон, шт. Нью-Йорк, США
+1.800.717.7255 бесплатный номер (США)
+1.516.484.5400 телефон
biopharm@pall.com e-mail

Головной офис в Европе
Фрибург, Швейцария
+41 (0)26 350 53 00 телефон
адрес электронной почты - LifeSciences.EU@pall.com

Головной офис по России и СНГ
Москва
+ 495 787-76-16 телефон
sgcustomerservice@pall.com e-mail

Filtration.Separation.Solution.sm


Посетите наш сайт www.pall.com/biopharm

Свяжитесь с нами по электронной почте inforussia@europe.pall.com

Международные офисы

Корпорация Pall имеет офисы и заводы по всему миру, включая такие страны как: Аргентина, Австралия, Австрия, Бельгия, Бразилия, Канада, Китай, Франция, Германия, Индия, Индонезия, Ирландия, Италия, Япония, Корея, Малайзия, Мексика, Нидерланды, Новая Зеландия, Норвегия, Польша, Пуэрто-Рико, Россия, Сингапур, Южная Африка, Испания, Швеция, Швейцария, Тайвань, Таиланд, Соединенное Королевство, США и Венесуэла. Дистрибьюторы находятся во всех крупных промышленных областях мира. Для того чтобы найти ближайший к вам офис или дистрибьютора компании Pall посетите наш веб-сайт www.pall.com/contact.

Информация, представленная в данной брошюре, является точной на момент публикации. Информация об изделии может изменяться без предварительного уведомления. По поводу актуальной информации, пожалуйста, обращайтесь к вашему местному дистрибьютору продукции Pall или непосредственно в компанию Pall.

© 2013, Pall Corporation. Pall, , AcroPrep, и HyperCel являются торговыми марками Pall Corporation. * указывает на торговую марку, зарегистрированную в США, а ТМ указывает на торговую марку, регулируемую законами общего права.

Filtration. Separation. Solution. – является знаком обслуживания корпорации Pall.

03/13, PDF, GN13.8668

USD 2831⁽²⁾