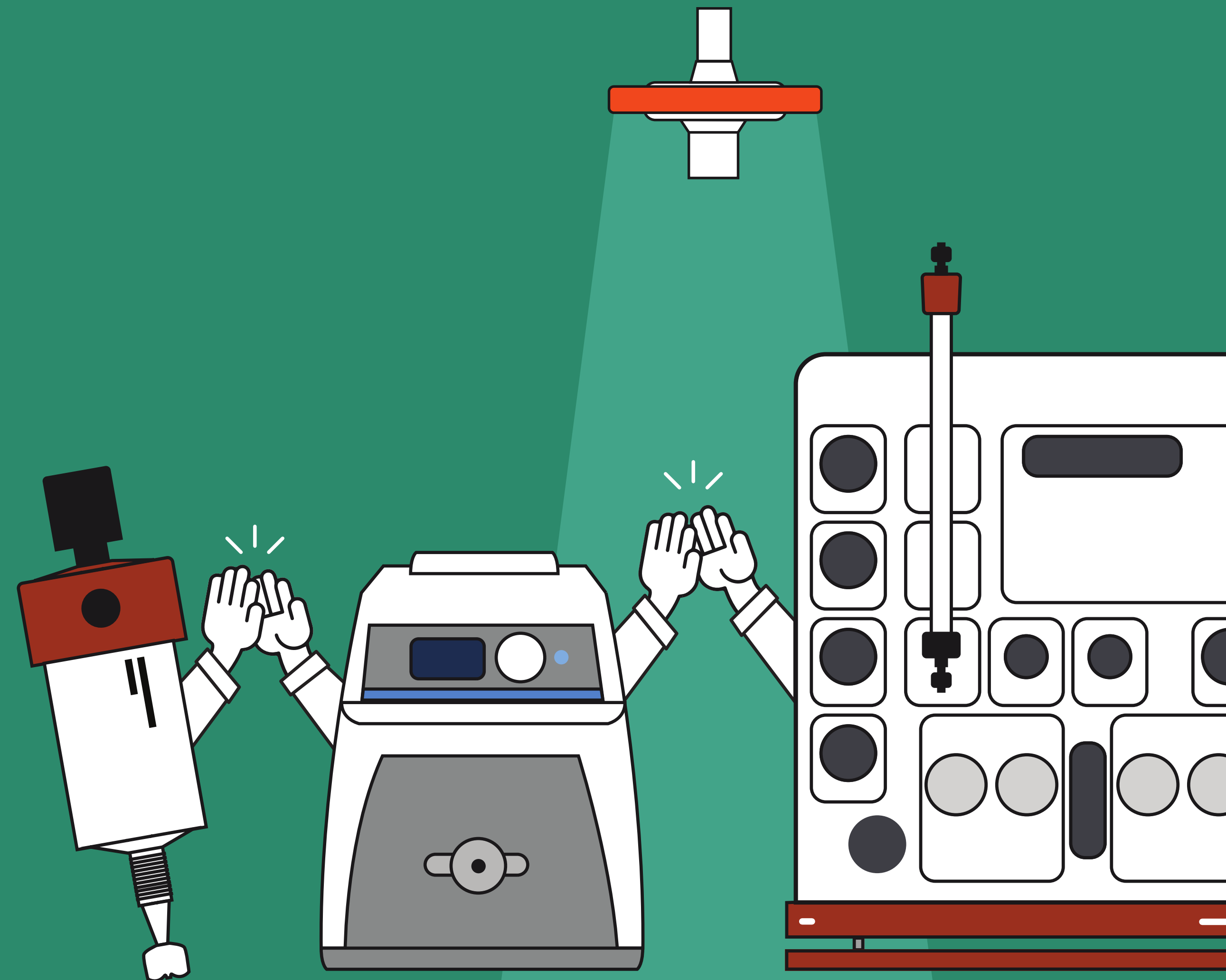


Get into the flow

Optymalizacja oczyszczania białek
za pomocą systemów ÄKTA z
wykorzystaniem rozwiązań
filtracyjnych



Wstęp

Próbki białek są bezcenne i kluczowe dla osiągnięcia celu, jakim jest odkrycie nowych środków terapeutycznych i zrozumienie mechanizmów chorobowych. Zapewniają one istotny wgląd w cele biologiczne, krytyczne dla tych mechanizmów.

Filtrowanie próbek białek usuwa zanieczyszczenia i pozostałości, dzięki czemu można uzyskać dokładne i wiarygodne wyniki w dalszych badaniach. Usuwanie cząstek stałych z próbek za pomocą filtracji zapobiega zatykaniu kolumn chromatograficznych, chroni przewody w systemie ÄKTA i pomaga uniknąć przedwczesnej wymiany kolumn.

Urządzenia filtracyjne mogą być również wykorzystywane do optymalnego doboru złożeń chromatograficznych. Inne techniki filtracji, takie jak ultrafiltracja lub diafiltracja, są często stosowane do wstępnego i końcowego oczyszczania, zatężania, odsalania lub wymiany buforów.

Produkty Cytiva do filtracji laboratoryjnej idealnie współpracują ze złożami chromatograficznymi i systemami ÄKTA, dzięki czemu Cytiva jest dostawcą kompleksowych rozwiązań do badań nad białkami.

1. Klaryfikacja

Wstępne klarowanie za pomocą filtracji w celu usunięcia zanieczyszczeń w buforach stosowanych w systemach chromatograficznych.

2. Wybór złożeń

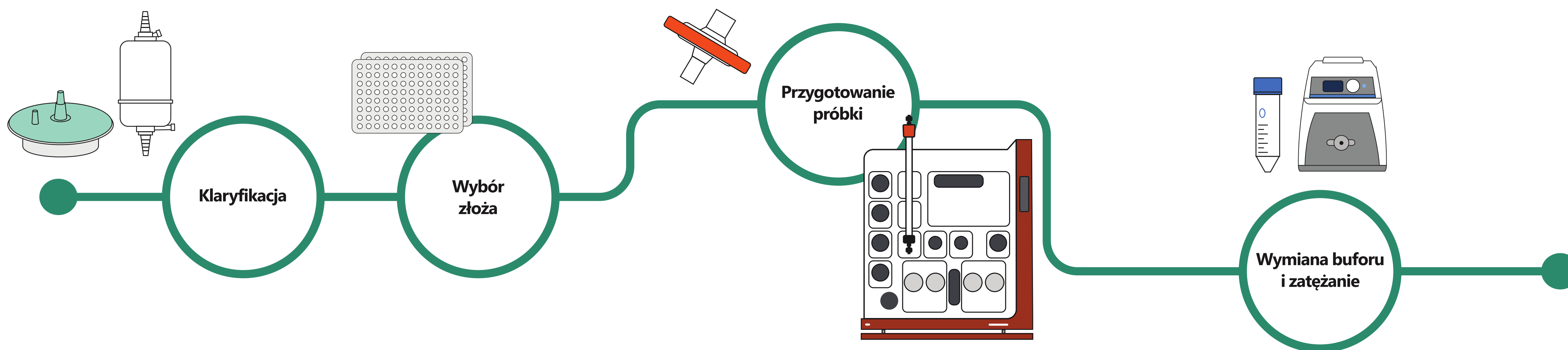
Wybór i optymalizacja właściwego rodzaju złożeń chromatograficznych i warunków ma kluczowe znaczenie dla wydajności procesu.

3. Przygotowanie próbki

Filtracja próbki przed oczyszczaniem w systemie ÄKTA zapobiega przedostawaniu się niepożądanych cząstek do kolumny, przedłużając jej żywotność i zapewniając wyraźne i ostre piki.

4. Wymiana buforu i zatężanie

Po zakończeniu etapów oczyszczania, do usuwania soli, wymiany buforu i zatężania frakcji białkowych może zostać zastosowana ultrafiltracja i filtracja z przepływem stycznym (filtracja tangencjalna).



Filtracja buforu i wybór złoża

Klaryfikacja

Klaryfikacja przez filtrację jest krytycznym etapem w procesie oczyszczania białek. Filtracja usuwa nierozpuszczalne cząstki ze złożonych próbek biologicznych. Cząstki te obejmują resztki komórek i agregaty białek.

Zmniejszenie ilości zanieczyszczeń usprawnia kolejne etapy oczyszczania oraz zwiększa czystość i wydajność białka docelowego. Ponadto, filtracja może zapobiegać utracie białka poprzez usuwanie nierozpuszczalnych cząstek, które w przeciwnym razie mogłyby wchłonąć lub uwięzić białka.

Filtracja jest również stosowana w celu przygotowania roztworów buforowych do etapów chromatografii, zapewniając usunięcie wszelkich cząstek stałych lub zanieczyszczeń, które zakłócałyby analizę.

Oferujemy szeroką gamę filtrów membranowych do oczyszczania roztworów biologicznych. Obejmuje ona filtry strzykawkowe, urządzenia próżniowe i filtry kapsułowe.



Filtry nabutelkowe do filtracji próżniowej VacuCap™

Innowacyjne filtry nabutelkowe do szybkiej filtracji próżniowej roztworów wodnych od 100 ml do 5 l.

- Filtracja bezpośrednio do wybranego pojemnika, eliminuje możliwość zanieczyszczenia podczas transferu.
- Opcjonalny filtr wstępny zwiększa przepustowość roztworów zawierających cząstki stałe.
- Zrównoważona konstrukcja z minimalną ilością odpadów z tworzyw sztucznych w porównaniu do innych filtrów nabutelkowych.



Filtry kapsułowe AcroPak™

Filtry kapsułowe AcroPak zostały zaprojektowane z myślą o wydajnej, ekonomicznej filtracji i wysokiej przepustowości płynów o objętości do 150 litrów.

- Kapsuły zapewniają wyższą przepustowość i większe natężenia przepływu niż konkurencyjne rozwiązania o podobnych rozmiarach.
- Niska wiązalność białek minimalizuje straty próbki.



Zapoznaj się z kapsułami z membraną PES

Wybór złoża

Wybór najlepszego złoża może być trudny i czasochłonny. Podczas opracowywania procesu oczyszczania, każdy etap wymaga optymalizacji w celu osiągnięcia maksymalnej wydajności i czystości produktu końcowego. Oferujemy szeroki asortyment wielodołkowych płytek filtracyjnych, które mogą być zastosowane do badań.

Płytki filtracyjne AcroPrep™ Advance można łączyć ze złożami, tworząc wysokowydajne platformy do chromatografii skriningowej. Zawiesina złoża może być wprowadzana do poszczególnych dołków multi-płytki filtracyjnej, umożliwiając badanie przesiewowe wielu rodzajów złożeń i analizę różnych parametrów - wiązalności, wymywania i elucji.

Podczas przeprowadzania skriningowych badań chromatograficznych zalecamy stosowanie płytek filtracyjnych AcroPrep Advance zawierających membranę Supor™. Membrana zapewnia optymalne zatrzymywanie złożeń chromatograficznych, umożliwiając jednocześnie płynny przepływ buforów.



AcroPrep Advance

Przygotowanie próbek

Czy ciśnienie wsteczne spowalnia Twoją pracę?

Dobrą praktyką w chromatografii ciekłowej (LC) jest filtrowanie próbek przed ich nastrzyknięciem na kolumnę. Filtracja próbki zapobiega przedostawaniu się niepożądanych cząstek stałych na kolumnę. Zanieczyszczenie cząstkami stałymi może skrócić żywotność kolumny, wydłużyć czas badania i zniekształcić kształt pików. Oprócz wpływu na jakość wyników, cząstki stałe mogą zatykać wlot kolumny, powodując zwiększenie ciśnienia wstecznego i przedwczesne zakończenie przebiegu chromatografii.

Chociaż filtracja przed chromatografią jest powszechną praktyką, czynniki wpływające na idealny wybór filtra często nie są brane pod uwagę i mogą skutkować uzyskaniem gorszych wyników. Wybór najlepszego filtra zależy od metody, do której przygotowana jest próbka, właściwości chemicznych stosowanego rozpuszczalnika oraz właściwości fizycznych i chemicznych samej próbki.

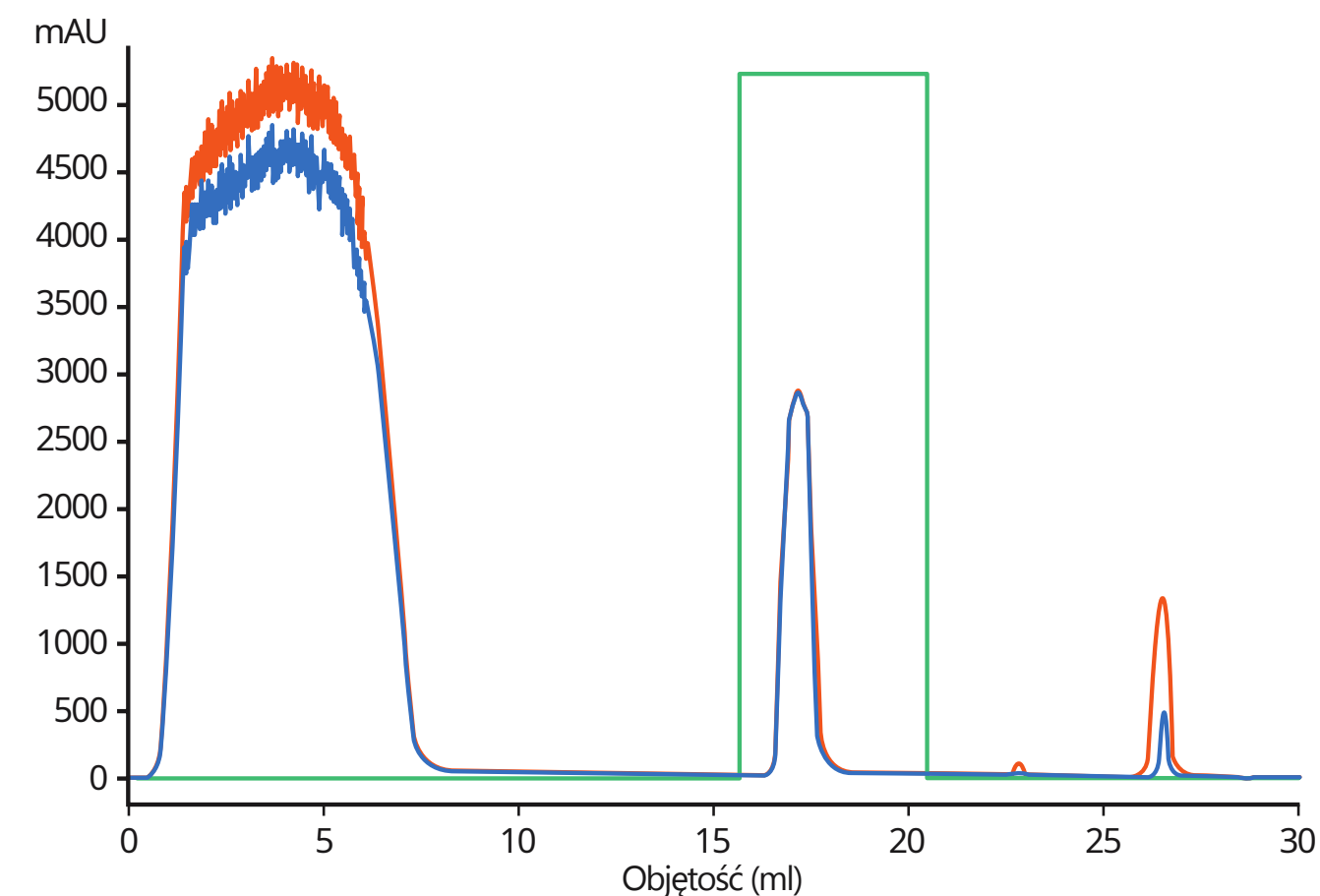
Aby zademonstrować skuteczność filtracji próbek przed wykonaniem LC, zastosowano 6 ml supernatantu komórkowego zawierającego ludzkie przeciwciało monoklonalne na kolumnie HiTrap™ MabSelect Prisma™, z i bez filtracji. Przetworzona próbka została przygotowana przy użyciu filtra strzykawkowego 30 mm zawierającego membranę z regenerowanej celulozy 0,45 µm.

Po 30-minutowym przebiegu chromatografii kolumnę oczyszczono 1M wodorotlenkiem sodu, widocznym na chromatogramie jako pik clean-in-place (CIP) (rys. 1).

Pik CIP (eluowany przy ~27 ml) był znacznie większy po oczyszczeniu niefiltrowanego mAb, co wskazuje, że materiał absorbujący promieniowanie UV pozostał na kolumnie i usunięto go za pomocą wodorotlenku sodu. Aby uniknąć poddawania kolumn dodatkowym cyklom czyszczenia, zalecamy filtrowanie próbek przed umieszczeniem ich na kolumnach chromatograficznych. Filtracja w celu usunięcia cząstek stałych może zabezpieczyć kolumnę i wydłużyć jej żywotność (rys. 2).



Dowiedz się więcej:
Przeczytaj informację na temat wydłużenia żywotności systemu ÄKTA dzięki filtrom strzykawkowym Protein Prep.

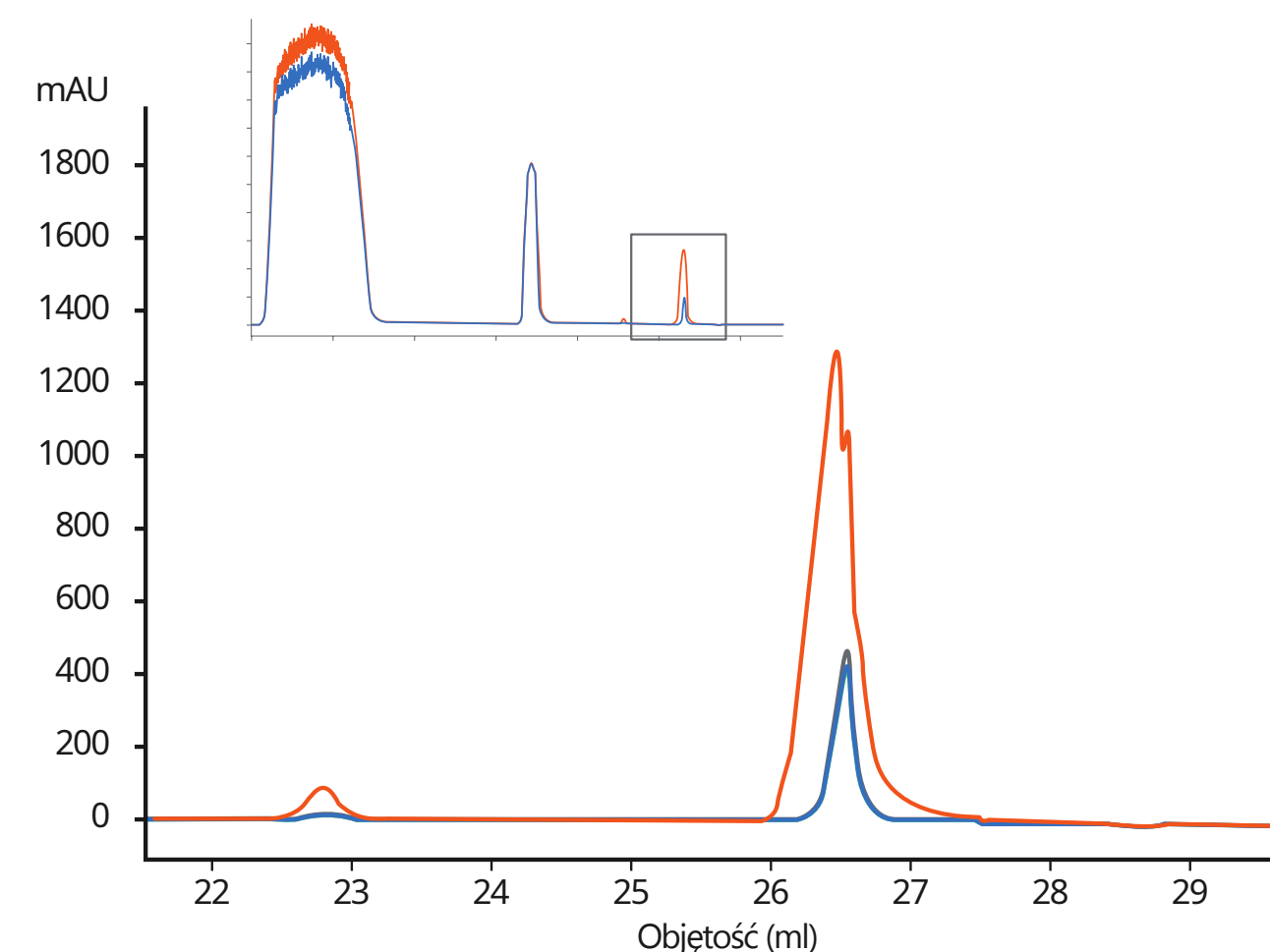


— Przetworzona próbka mAb przez Protein Prep 0,45 µm
— Stężenie B
— Niefiltrowana próbka mAb

Kolumna: HiTrap MabSelect Prisma 1 mL
Próbka: 6 ml przesącza komórkowego zawierającego ludzkie przeciwciało monoklonalne, niefiltrowanego lub przetworzonego przez filtr strzykawkowy z membraną z regenerowanej celulozy 0,45 µm, 30 mm.

Bufor wiążący: 20 mM fosforanowy, 150 mM NaCl, pH 7,4
Bufor elucyjny: 50 mM fosforanowy i octanowy (mieszanka), pH 3,5
Przepływ: 0,5 ml/min
Czas przebywania: 2 min
System: ÄKTA pure 25

Rys. 1. Oczyszczanie mAb na kolumnie HiTrap MabSelect Prisma o pojemności 1 ml prowadzonej w systemie chromatograficznym ÄKTA pure™ 25. Detekcję przeprowadzono przy długości fali A280 nm.



Rys. 2. Pik clean-in-place (CIP) po oczyszczeniu niefiltrowanych (pomarańczowy) i filtrowanych: (zielony i niebieski) próbek mAb.



Filtry strzykawkowe Protein Prep dla systemu ÄKTA stosowane w celu wydłużenia żywotności kolumny i czasu pracy

Ultrafiltracja

Jak skoncentrowane jest twoje białko?

Ultrafiltracja to technika separacji membranowej stosowana do oddzielania bardzo małych cząstek i cząsteczek rozpuszczonych w płynach.

Membrany ultrafiltracyjne o małych rozmiarach porów od 0,001 μm do 0,1 μm są stosowane do zatężania i odsalania rozpuszczonych cząsteczek, wymiany buforów i frakcjonowania.

Membrany ultrafiltracyjne są zazwyczaj klasyfikowane według tzw. molecular weight cut-off (MWCO), a nie wielkości porów.

Podstawową wartością separacji jest wielkość cząsteczki, chociaż inne czynniki, takie jak kształt cząsteczki i ładunek mogą również mieć znaczenie. Cząsteczki większe niż pory membrany zostaną zatrzymane, ale nie związane, na powierzchni membrany i zatężone podczas procesu ultrafiltracji.

Filtry wirówkowe Cytiva wyposażone są w membranę Omega™, która jest dostępna w szerokim zakresie MWCO, zapewniająca stałe zatężenie i odzysk docelowego białka na poziomie powyżej 90%.

Filtracja z przepływem stycznym (TFF), znana również jako filtracja tangencjalna, jest szybką i skuteczną metodą separacji i oczyszczania biomolekuł.

Płyn procesowy przechodzi stycznie przez powierzchnię membrany filtracyjnej, a gdy do układu zostanie przyłożona różnica ciśnień, składniki próbki, które są wystarczająco małe, aby przejść przez strukturę porów membrany, przejdą do filtratu. Większe składniki zostaną zatrzymane i będą krążyć wokół ścieżki przepływu systemu.

System Minimate™ EVO TFF został zaprojektowany w celu uproszczenia procesów ultrafiltracji.

- System TFF typu „plug-and-play” przeznaczony do wysokowydajnej wymiany buforu lub zatężania próbek o objętości do 1l. Umożliwia prowadzenie ciągłej lub nieciągłej diafiltracji w tym samym systemie bez przenoszenia próbki.
- Zaprojektowany do pracy z kapsułami Minimate TFF, dostępnych z membraną Omega o różnych wartościach MWCO.
- Niska objętość robocza systemu uzyskana dzięki zastosowaniu stożkowego dolnego zbiornika i kompaktowej konstrukcji umożliwia osiągnięcie wysokich współczynników zatężania. Koncentracja próbki do zaledwie 15 ml.



Fitry wirówkowe Nanosep™

Proste, niezawodne przetwarzanie próbek o objętości od 50 do 500 μl



Fitry wirówkowe Microsep™

Zatężanie z objętości początkowych do 5,0 ml



Fitry wirówkowe Macrosep™

Błyskawiczne zatężanie próbek o objętości 20 ml do 0,5 ml



Fitry wirówkowe Jumbosep™

Wygodne i niezawodne zatężanie i diafiltracja od 15 do 60 ml



Minimate™ EVO TFF system

Usprawnia laboratoryjne procesy zatężania, odsalania i wymiany buforowej próbek o objętości do 1 l



Zapoznaj się z rozwiązaniami dla ultrafiltracji

Zabezpieczenie powierzchni

Czy Twoja aparatura jest zabezpieczona przed zalaniem?

Arkusze bibuły Benchkote™ do systemów ÄKTA chronią górne tace roztworów buforowych przed wyciekami i osadami soli. Arkusze Benchkote są produkowane z chłonnego, hydrofobowego materiału przeznaczonego do ochrony powierzchni laboratoryjnych przed niebezpiecznymi wyciekami.

Wysokiej jakości, gładki i chłonny papier Whatman™ szybko wchłania rozlane płyny, a laminowana warstwa polietylenowa zapobiega przedostawaniu się ich na powierzchnię roboczą.

- Upraszcza codzienną i cotygodniową konserwację górnej tacy roztworów buforowych.
- Laminowana warstwa polietylenu zapobiega przedostawaniu się zanieczyszczeń na powierzchnię roboczą.
- Wygodne opakowania po 10, 25 i 50 arkuszy
- Pasuje do systemów oczyszczania białek ÄKTA start™, ÄKTA pure, ÄKTA avant™ i ÄKTA go™.
- Bibuła wygodna i łatwa w użyciu.



Arkusze Benchkote chronią tace roztworów buforowych przed wyciekami i osadami soli



Podsumowanie

Kompleksowe rozwiązania filtracyjne zwiększające czystość białek

Filtracja jest integralną częścią laboratoryjnych procesów oczyszczania białek.

Urządzenia do filtracji membranowej wspomagają przygotowanie buforów i wstępne etapy klarowania próbek. Filtry strzykawkowe, urządzenia próżniowe i filtry kapsułowe oferują szereg skutecznych metod filtracji, które pozwalają sprostać różnym wymaganiom wynikającym z objętości próbek.

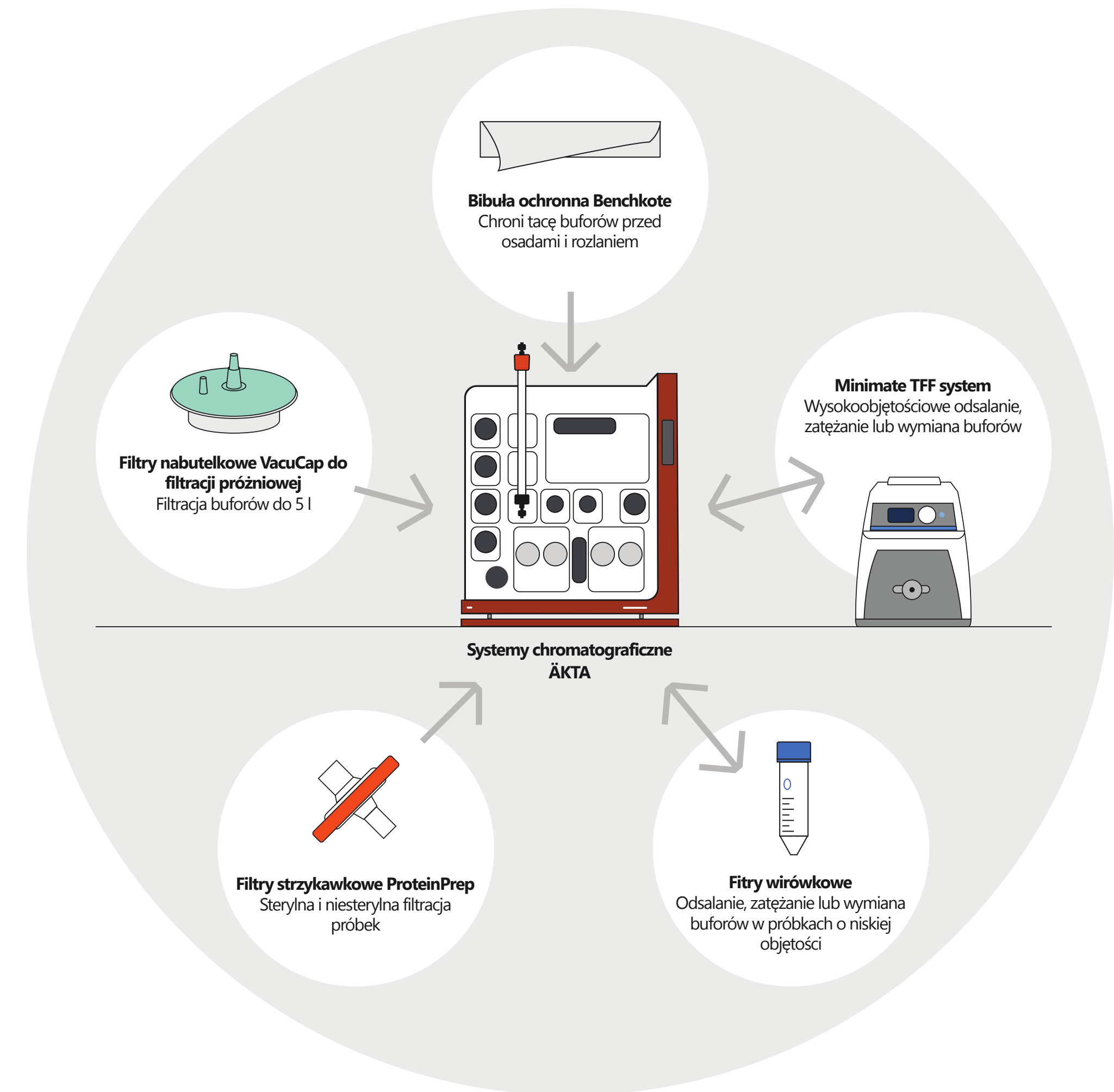
Wielodołkowe płytki filtracyjne wspomagają skринing źródeł i kontrolę warunków chromatograficznych, co pozwala zaoszczędzić czas analityczny i zmniejszyć potencjalne straty próbek.

Filtry strzykawkowe Protein Prep są certyfikowane i zaprojektowane z myślą o niezawodności analitycznej, chroniąc systemy chromatograficzne przed przedostawaniem się niepożądanych cząstek na kolumnę. Zapewniają spójną, dokładną i powtarzalną filtrację przed chromatografią cieczową w systemach ÄKTA, wydłużając żywotność kolumny i czas pracy.

Filtry wirówkowe do ultrafiltracji i systemy do filtracji z przepływem stycznym (TFF) ułatwiają wymianę buforów i umożliwiają zatężanie roztworów białek. System Minimate EVO TFF został zaprojektowany w celu uproszczenia procesów ultrafiltracji w skali laboratoryjnej i charakteryzuje się prostym i elastycznym montażem typu plug-and-play.

Sterylnie filtry sprawiają, że oczyszczony roztwór białka jest wolny od zanieczyszczeń mikrobiologicznych.

Filtracja jest wszechstronną i niezbędną techniką, która poprawia ogólną wydajność i odzysk oczyszczonego białka.

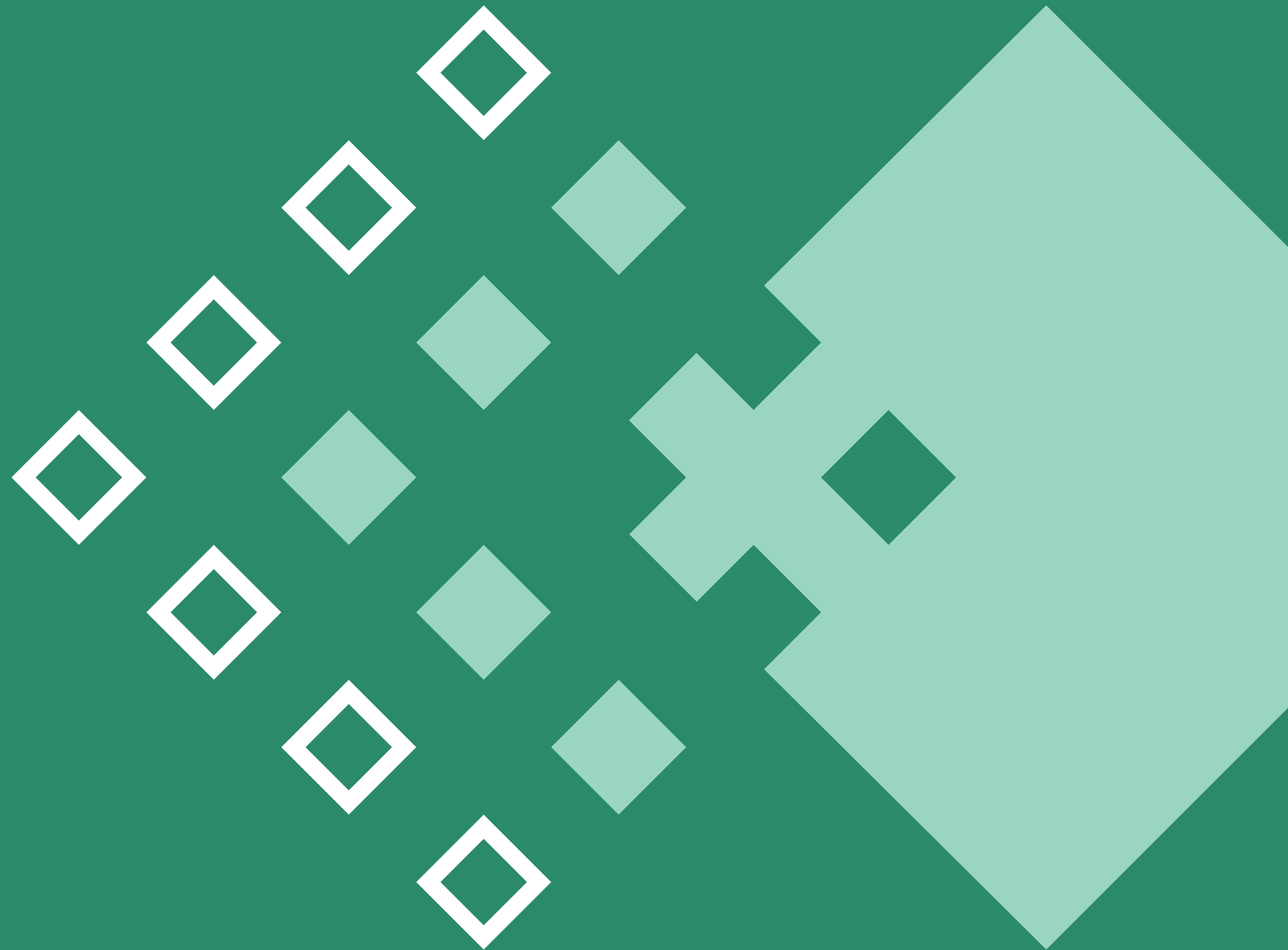


Skontaktuj się z nami w celu uzyskania informacji i próbek

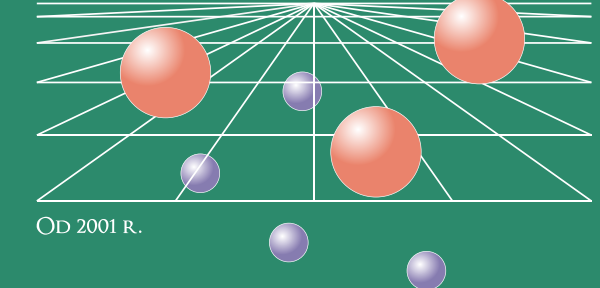


Cytiva and the Drop logo are trademarks of Global Life Sciences IP Holdings Corporation or an affiliate doing business as Cytiva.

AcroPak, AcroPrep, ÄKTA, ÄKTA avant, ÄKTA go, ÄKTA pure, ÄKTA start, Benchkote, HiTrap, Jumbosep, MabSelect Prisma, Macrosep, Microsep, Minimate, Nanosep, Omega, PreDicator, Supor, VacuCap, and Whatman are trademarks of Global Life Sciences Solutions USA LLC or an affiliate doing business as Cytiva.



LAB-SYSTEM-SERVICE



OD 2001 R.

www.s-und-s.pl
ul. Relaksowa 7
70-892 Szczecin
tel. 91 46 223 23, 91 46 217 63
e-mail: biuro@s-und-s.pl