

Colonna Bio-Monolith Protein G: nuove possibilità per la determinazione dei titoli di mAb

Nota applicativa

Biologici e biosimilari

Autore

Phu T. Duong
Agilent Technologies, Inc.

Introduzione

Negli ultimi anni, gli anticorpi monoclonali (mAb) sono diventati uno dei principali prodotti biofarmaceutici, ideati in risposta alla necessità di un trattamento per varie patologie. Questi anticorpi sono stati progettati con un codice genetico specifico per un migliore targeting degli agenti patogeni. Durante lo sviluppo di questi anticorpi, le colonne analitiche di affinità Protein A e G sono utilizzate per determinare il loro titolo o la loro concentrazione da vari soprannatanti di coltura cellulare, per selezionare il clone ad alto rendimento. Un monolite polimerico inerte viene utilizzato come supporto per entrambe le colonne Protein A e Protein G. Entrambe le colonne presentano un'alta affinità per gli anticorpi, pertanto si legano unicamente agli anticorpi nel soprannatante di coltura cellulare. Tuttavia hanno diversa selettività, come indicato nella Tabella 1.

Questa nota applicativa introduce la colonna Agilent Bio-Monolith Protein G. La colonna è progettata per ottimizzare velocità e capacità di caricamento. I dati sono presentati per mostrare la linearità con elevata specificità. L'analisi della linearità rivela la capacità della colonna di un'accurata analisi quantitativa degli anticorpi monoclonali nel soprannatante di coltura cellulare. Inoltre, i dati di analisi sulla durata indicano che la colonna può essere altamente riproducibile e a lunga durata con contropressione stabile e bassa. La colonna Bio-Monolith Protein G è complementare alla colonna Bio-Monolith Protein A, per fornire più possibilità per la determinazione del titolo degli anticorpi monoclonali.



Agilent Technologies

Tabella 1. Affinità di legame di Agilent Bio-Monolith Protein A e G per le diverse sottoclassi di IgG [1,2].

Anticorpo	Protein A	Protein G
Uomo		
IgG1 umana	++++	++++
IgG2 umana	++++	++++
IgG3 umana	–	++++
IgG4 umana	++++	++++
IgA umana	++	–
IgD umana	++	–
IgE umana	++	–
IgM umana	++	–
Topo		
IgG1 murina	+	++
IgG2a murina	++++	++++
IgG2b murina	++++	++++
IgG3 murina	+	+++
IgM murina	+/-	–
Frammenti di anticorpo		
Fab umano	+	+
F(ab') ₂ umano	+	+
scFv umano	+	+
Fc umano	+	+
K umano	+	+
I umano	+	+

++++ = Forte affinità
 +++ = Moderata affinità
 ++ = Debole affinità
 + = Lieve affinità
 – = Nessuna affinità

Materiali e metodi

- Sodio fosfato monobasico monoidrato (Sigma-Aldrich, Corp., codice S3522) (PM 137,99)
- Sodio fosfato dibasico diidrato (Sigma, codice 71643) (PM 177,99)
- Acido citrico monoidrato (Sigma, codice C7129) (PM 210,14)
- Cloruro di sodio (Sigma, codice S5886) (PM 58,44)
- Acido fosforico, 85% in H₂O, metalli in tracce 99,99% (Aldrich, codice 345245)
- Soluzione di idrossido di sodio, da 50 a 52% in acqua, eluente per IC (FLUKA 72064) (PM 40)
- Glicina, per elettroforesi, ≥99% (Sigma, codice G8898) (PM 75,07)
- Acido acetico glaciale (Sigma, codice A9967) (PM 60,05)
- Acido cloridrico, da 36,5 a 38,0%, BioReagent, per biologia molecolare (Sigma, codice H1758)
- Kit per lisi cellulare di *escherichia coli* (Sigma, codice CB0500).

- Sopranatante e lisato di cellule ovariche di criceto cinese (CHO), sopranatante di cellule di insetto, anticorpo monoclonale derivato da cellule CHO umanizzate (IgG2 e IgG3) di CreativeBio Labs.

Metodo

La fase mobile A è il tampone di legame e di lavaggio, contenente 50 mM di tampone fosfato di sodio, pH 7,4. Due soluzioni madre (0,2 M) sono realizzate da 27,6 g di fosfato di sodio monobasico monoidrato in 1 L di acqua deionizzata, e 35,6 g di fosfato di sodio dibasico diidrato, anch'esso in 1 L di acqua deionizzata.

Per produrre 2 L di fosfato di sodio contenente 50 mM di tampone fosfato di sodio e 50 mM di cloruro di sodio, pH 7,0:

1. Miscelare 195 mL di soluzione madre di sodio fosfato monobasico monoidrato e 305 mL di soluzione madre di sodio fosfato dibasico diidrato. Agitare con un agitatore magnetico.
2. Aggiungere 5,8 g di cloruro di sodio e continuare ad agitare.
3. Aggiungere 1 L di acqua deionizzata.
4. Misurare il pH della soluzione e regolare al pH 7,0 con NaOH o acido fosforico 3 M.
5. Versare la soluzione in un matraccio tarato da 2 L e aggiungere acqua fino a portare a volume.

La fase mobile B è un tampone eluente contenente acido citrico 0,1 M, pH 2,0, ottenuto sciogliendo 21 g di acido citrico monoidrato in circa 600 mL di acqua con leggera agitazione. Regolare a pH 2,0 con HCl 1 M, quindi diluire la soluzione con acqua fino a 1 L in un matraccio tarato.

Il sopranatante e il lisato di cellule CHO, il lisato di cellule d'insetto (tutti i campioni sono stati centrifugati) e IgG1, IgG2 e IgG3 monoclonali umanizzati sono stati acquistati da Creative BioLabs, New York. Il lisato di *escherichia coli* è stato preparato secondo il protocollo raccomandato da Sigma-Aldrich, Corp [3]. Il kit contiene CellLytic B, un reagente della lisi batterica (500 mL), soluzione di lisozima (10 × 1 mL), benzonasi (25.000 unità) e cocktail di inibitori della proteasi (5 mL). Il lisato viene preparato aggiungendo 1,0 g di pasta di cellule a 10 mL di reagente CellLytic B, 0,2 mL di lisozima, 0,1 mL di inibitori della proteasi e 500 unità di benzonasi. La miscela è brevemente agitata in vortex e miscelata per 10 minuti (a mano o mediante agitatore) per garantire l'ulteriore estrazione delle proteine solubili. La miscela viene quindi centrifugata a 5000 g per 10 minuti per far sedimentare eventuali materiali insolubili. La frazione proteica solubile (sopranatante) viene accuratamente separata dai frammenti di cellule (pellet sul fondo della provetta). La concentrazione proteica nel sopranatante può essere stimata usando l'analisi delle proteine di Bradford, in questo caso 40 mg/mL.

Alcuni sopranatanti sono stati poi arricchiti con IgG1, IgG2, o IgG3 come descritto. I sopranatanti sono stati diluiti con tampone di legame (o tampone A) a una concentrazione finale di 10 mg/mL, e addizionati con 2 mg/mL di un singolo anticorpo monoclonale umanizzato purificato, come IgG1, IgG2 o IgG3.

Condizioni

Colonna:	Agilent Bio-Monolith Protein G, diametro 5,2 mm, lunghezza 4,95 mm (codice 5190-6900)														
Tampone di legame:	A, fosfato di sodio 50 mM, pH 7,4														
Tampone di eluzione:	B, Acido citrico 0,1 M, pH 2,0														
Campione:	vedere cromatogrammi														
Vol. iniez.:	vedere cromatogrammi														
Velocità di flusso:	1,0 mL/min (o vedere cromatogrammi)														
Gradiente:	<table border="0"> <thead> <tr> <th>Tempo (min)</th> <th>% A</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>0,4</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>0,5</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>2,0</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>2,1</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>4,2</td> <td>100</td> </tr> </tbody> </table>	Tempo (min)	% A	0	100	0,4	100	0,5	0	2,0	0	2,1	100	4,2	100
Tempo (min)	% A														
0	100														
0,4	100														
0,5	0														
2,0	0														
2,1	100														
4,2	100														
Temperatura:	25 °C														
Rivelatore:	UV, 280 nm														
Sistema:	Sistema LC quaternario Bio-Inert Agilent serie 1260 Infinity														

Risultati e discussione

Specificità e selettività

Come indicato nella Tabella 1, la colonna Protein G ha una maggiore affinità di legame per diverse sottoclassi di anticorpi monoclonali umanizzati rispetto alla colonna Protein A, e solo la colonna Protein G ha affinità per la sottoclasse IgG3. I dati in Figura 1A dimostrano la specificità della colonna Bio-Monolith Protein G e la sua capacità di monitorare il titolo, cioè la presenza e la concentrazione di anticorpi nel sopranatante. Nella colonna è stato iniettato il campione contenente mAb ricombinante umanizzato purificato, IgG3, che è stato aggiunto al sopranatante di cellule CHO. Questo mAb è stato espresso nella linea di cellule CHO. I dati mostrano che IgG3 era l'unica proteina catturata ed eluita dalla colonna, a circa 1,6 minuti a 1,0 mL/min, mentre tutte le proteine della cellula ospite non sono state catturate dalla colonna, e sono state eluite al picco di flow-through.

Per mostrare la diversa selettività tra colonne di Protein A e Protein G, in entrambe sono stati iniettati separatamente anticorpi monoclonali IgG1, IgG2 e IgG3. Sia l'IgG1 che l'IgG2 sono stati catturati dalle due colonne (dati non riportati), ma l'IgG3 non è stato catturato dalla Bio-Monolith Protein A. L'IgG3 è stato eluito come picco di flow-through e l'IgG3 è stato catturato ed eluito solo dalla colonna Bio-Monolith Protein G (confrontare le Figure 1A e 1B).

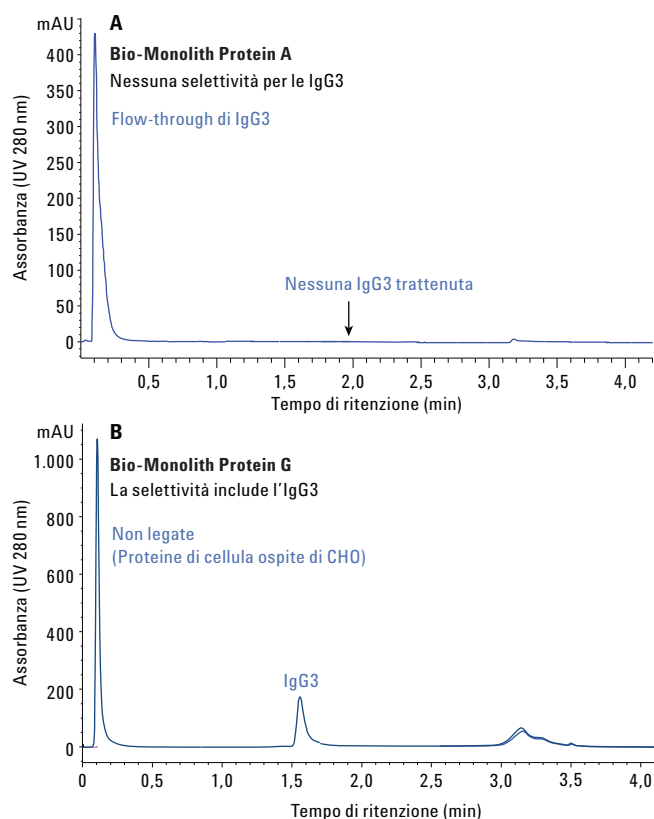


Figura 1. A) Nessun legame di IgG3 su colonna Bio-Monolith Protein A. L'IgG3 è stato eluito come il picco di flow-through. 2 mg/mL di IgG3 umanizzato miscelati con tampone di legame (3 μ L sono stati iniettati nella colonna). B) La colonna Agilent Bio-Monolith Protein G ha catturato rapidamente solo IgG3 da una coltura cellulare raccolta aggiunta a IgG3 (5 μ L di 2,0 mg/mL di IgG3 miscelati con 10 mg/mL di sopranatante di cellule CHO sono stati iniettati nella colonna).

Per confermare che la specificità della colonna Bio-Monolith Protein G non possedeva affinità di legame per le proteine della cellula ospite è stato eseguito un test più efficace. Sono stati usati campioni di proteine di cellula ospite da lisato cellulare di *e. coli*, lisato di cellule di CHO, surnatante e lisato di cellule d'insetto. Questi lisati contenevano proteine di cellula ospite estratti da tamponi lisanti contenenti sodio dodecil solfato, una sostanza chimica che influenza notevolmente il legame non specifico con la colonna. Questi campioni non contenevano anticorpi, solo proteine di cellula ospite. Il test è stato eseguito perché i campioni significativi danno risultati non specifici, se la colonna non è ben progettata. La Figura 2 non mostra alcuna evidenza di proteine da un sopranatante di cellula ospite assorbito dalla colonna. Tutte le proteine di cellula ospite sono state eluite come picchi di flow-through. I dati suggeriscono che la colonna Bio-Monolith Protein G non ha alcuna affinità per le proteine di cellula ospite.

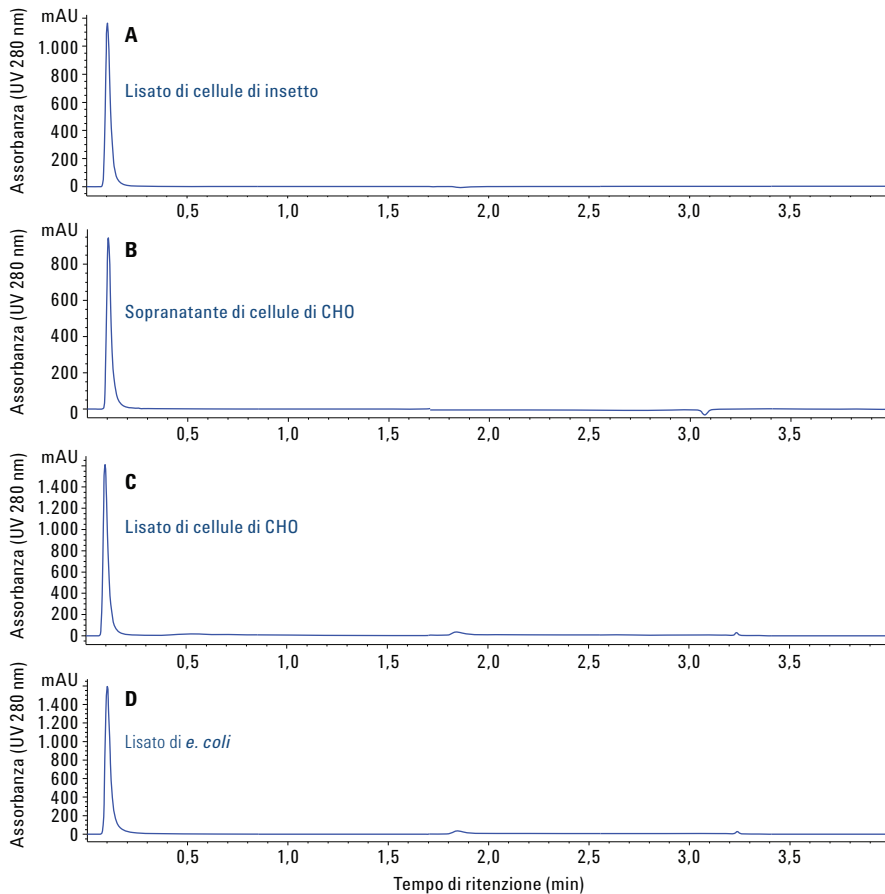


Figura 2. Analisi di specificità utilizzando la colonna Agilent Bio-Monolith Protein G con 10 mg/mL di proteine di cellule ospiti diluiti con tampone di legame. Il volume di iniezione era di 5 μ L per tutti i campioni. A) lisato di cellule d'insetto, B) sopranatante di cellule di CHO, C) lisato di cellule di CHO, D) lisato di *e. coli*.

Quantificazione accurata

Una quantificazione accurata del titolo di mAb è essenziale durante le prime fasi di sviluppo quando viene selezionata la linea cellulare, e anche durante la produzione quando la quantità di mAb nel sopranatante di coltura cellulare determina il tempo di raccolta ottimale. Per dimostrare l'efficacia della colonna Bio-Monolith Protein G nella quantificazione accurata di mAb, nella colonna sono state iniettate quantità diverse (μ g) di IgG purificati. Per costruire le linee di linearità sono state usate le aree del picco rispetto a quantità di IgG generati, per determinare l'accuratezza dell'analisi. La Figura 3 mostra la linearità delle aree del picco dalla colonna Protein G, mostrando che la colonna può essere utilizzata per la quantificazione degli mAb nella raccolta di colture cellulari con differenti intervalli di concentrazione. Nella colonna sono stati iniettati almeno 2 μ g di IgG. Il rapporto segnale-rumore non era superiore a 1:1 per 2 μ g (dati non mostrati). La capacità massima di caricamento per questa colonna va approssimativamente da 400 a 500 μ g di IgG (dati non mostrati), che copre l'intervallo delle concentrazioni raggiunte durante la selezione e la produzione di linee cellulari.

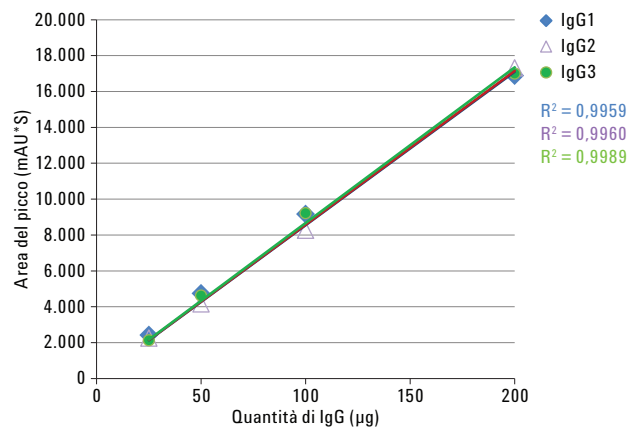


Figura 3. La colonna Agilent Bio-Monolith Protein G quantifica gli anticorpi monoclonali. Le linee di linearità includono l'area del picco da 25 a 200 μ g di IgG.

Un range di caricamento più ampio di quello della colonna di proteine G di un altro fornitore

La Figura 4A mostra il confronto di linearità per una vasta gamma di caricamento di IgG3 tra la colonna Bio-monolith Protein G e la colonna di proteine G 2,1 × 30 mm, 4000 Å di un altro fornitore. La colonna Agilent ha generato un range di caricamento lineare da 25 a 200 µg di IgG3, mentre l'altra colonna ha potuto generare solo dati lineari compresi tra 25 e

100 µg IgG3, come raccomandato dalla letteratura dell'altro fornitore. Il motivo della non linearità nel range di caricamento più elevato era che la colonna non era in grado di trattenere tutto il materiale al range di caricamento più alto. Infatti, a un intervallo di caricamento di 200 µg, la colonna di proteine G dell'altro fornitore presentava un picco di break-through per l'mAb (alcuni IgG3 non sono stati trattenuti sulla colonna ed eluiti come picco di flow-through), come mostrato nella Figura 4B.

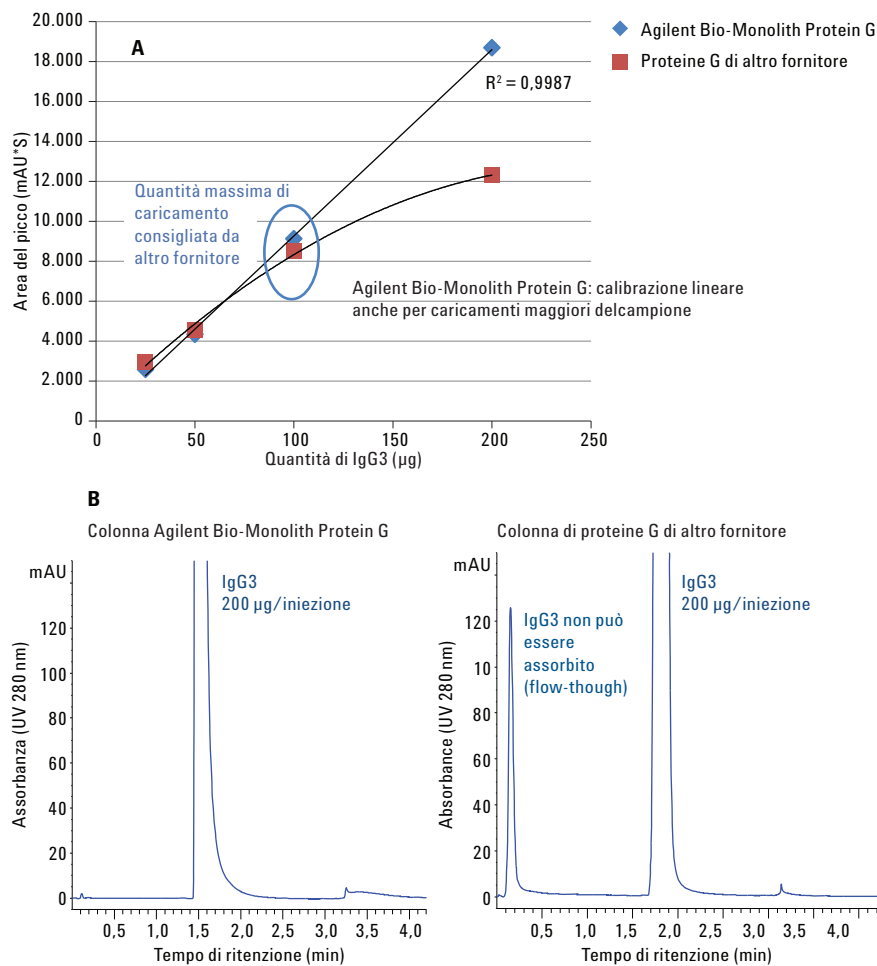


Figura 4. A) Confronto del range di caricamento lineare tra la colonna Agilent Bio-Monolith Protein G e un'altra colonna di proteine G. B) A un caricamento di 200 µL, la colonna di altro fornitore mostra un flow-through che non si osserva con la colonna Bio-Monolith Protein G, pertanto la Bio-Monolith Protein G ha una maggiore capacità di caricamento.

Separazioni rapide

Il Bio-Monolith Protein G è progettato per separazioni rapide. La sua capacità di cattura rapida ed eluizione di mAb a varie velocità di flusso è dimostrata con l'IgG3 in Figura 5, con velocità di flusso di 1,0, 1,5, 2,0 e 2,5 mL/min (la colonna può essere utilizzata fino a 3,0 mL/min, dati non mostrati). La

Tabella 2 mostra le velocità di flusso e i gradienti di utilizzo. La ritenzione del picco di IgG3 si riduce all'aumento della velocità del flusso. Tuttavia, le aree di picco relative tra tutte le velocità di flusso risultano simili. Ciò indica che la colonna ha generato un recupero simile a tutte le velocità di flusso (Tabella 3).

Tabella 2. Velocità di flusso e gradienti operativi utilizzati in una valutazione della capacità di ritenzione della colonna Agilent Bio-Monolith Protein G.

Tempo (min)	%A	%B
1,0 mL/min		
0	100	0
0,4	100	0
0,5	0	100
1,7	0	100
1,8	100	0
4,2	100	0
1,5 mL/min		
0	100	0
0,3	100	0
0,4	0	100
1,3	0	100
1,4	100	0
3,0	100	0
2,0 mL/min		
0	100	0
0,2	100	0
0,3	0	110
0,9	0	100
1,0	100	0
2,1	100	0
2,5 mL/min		
0	100	0
0,1	100	0
0,3	0	100
0,7	0	100
0,8	100	0
1,7	100	0

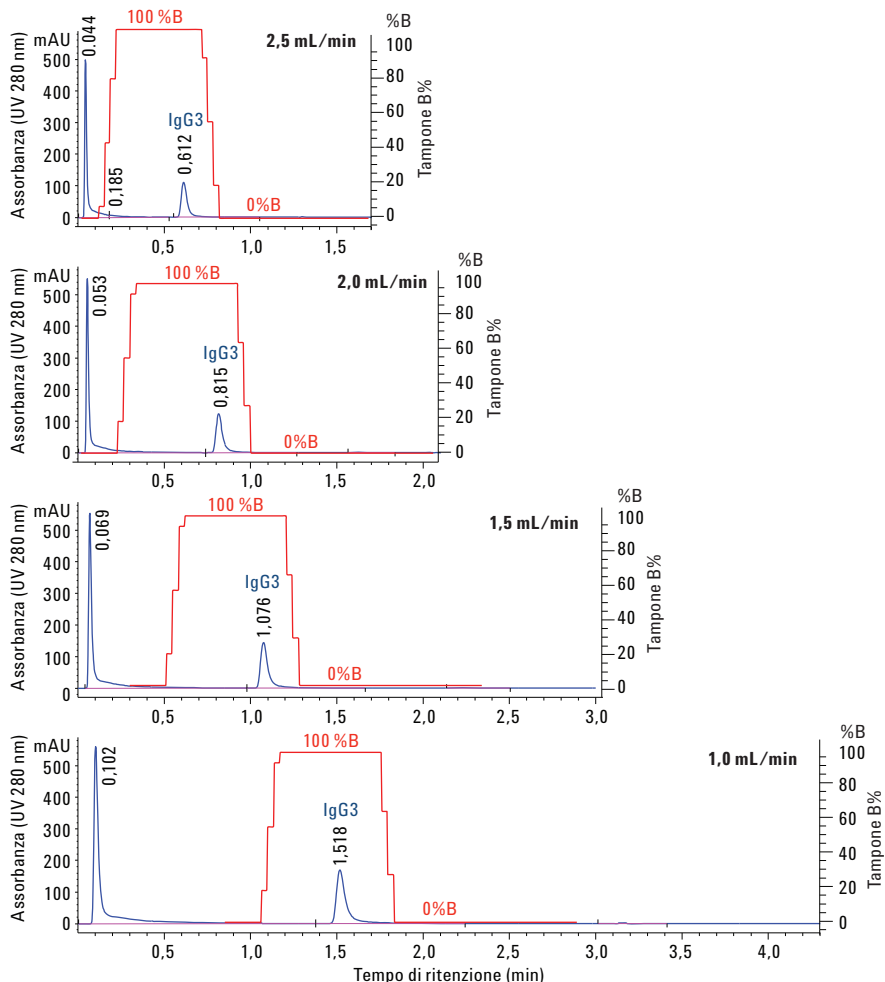


Figura 5. Legame di IgG3 sulla colonna Agilent Bio-Monolith Protein G valutata a diverse velocità di flusso. Iniezione di 5 µL (2,0 mg/mL di IgG3 miscelati con 5 mg/mL di proteine ospiti di cellule CHO).

Tabella 3. La colonna Agilent Bio-Monolith Protein G fornisce percentuali relative di picchi di flow-through e IgG3 simili per tutte le velocità di flusso.

Velocità di flusso (mL/min)	Area totale (mAuU'S)	Area del picco flow-through (mAuU'S)	Area relativa del picco flow-through (%)	Area del picco IgG3 (mAuU'S)	Area relativa del picco IgG3 (%)
2,5	798	521	65,3	277	34,7
2,0	1.056	709	67,1	347	32,9
1,5	1.390	932	67,1	458	32,9
1,0	2.069	1392	67,3	677	32,7

La Figura 6 mostra la linearità della contropressione della colonna. Quando la colonna veniva testata a intervalli di 0,5 mL/min, crescendo da 1 a 2,5 mL/min, la contropressione aumentava in modo lineare. La colonna ha una contropressione massima di 150 bar. La velocità di flusso tipica della colonna Bio-Monolith Protein G è 1,0 mL/min. Con un flusso fissato a 1,0 mL/min, la contropressione della colonna era di ~24 bar. Quando la velocità di flusso aumentava a 2,5 mL/min, la contropressione della colonna aumentava a ~60 bar. C'era effetto minimo sul legame dell'IgG sulla colonna alla massima contropressione, come indicato in precedenza.

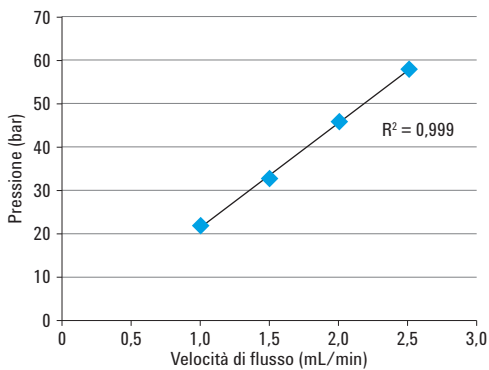


Figura 6. Velocità di flusso contro contropressione. La contropressione della colonna Agilent Bio-Monolith Protein G è aumentata linearmente quando la velocità di flusso è aumentata linearmente.

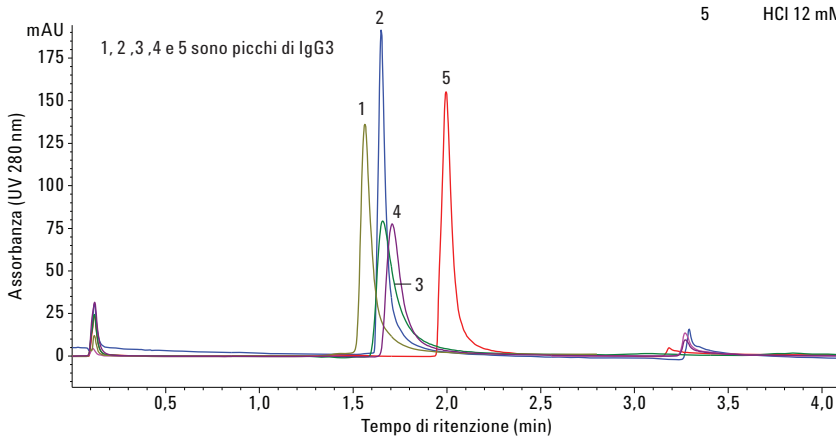


Figura 7. IgG3 umanizzato picco eluito da diversi eluenti acidi dalla colonna Agilent Bio-Monolith Protein G.

Compatibilità di diversi tamponi di eluizione

La Figura 7 mostra compatibilità con diversi tamponi di eluizione per la colonna Bio-Monolith Protein G. Il picco di IgG3 può essere eluito da molti e diversi eluenti acidi. La Tabella 4 mostra forza e pH degli eluenti acidi. Questi eluenti sono stati in grado di eluire l'IgG3 dalla colonna con tempi di ritenzione simili (sono stati osservati anche dati simili per gli altri IgG), tranne che con 12 mM di HCl. Il tempo di ritenzione del picco di IgG3 era maggiore rispetto al quello del picco di IgG3 eluito da altri tamponi di eluizione. Questo tampone di eluizione, quando la sua concentrazione era aumentata a 0,1 M, guadagnava sufficiente forza da eluire l'IgG3 con ritenzione simile ad altri tamponi di eluizione.

È anche interessante notare che ogni eluente acido ha generato un picco di IgG3 con larghezza di picco e scodamento leggermente diversi. Ciò suggerisce che, a seconda dell'IgG, gli eluenti acidi e le loro forze influiranno in modo differente sul tempo di ritenzione, così come sulla larghezza del picco e lo scodamento. Pertanto, a seconda dell'IgG e delle aspettative dei dati, gli eluenti acidi e le relative concentrazioni devono essere determinati sperimentalmente.

Tabella 4. Compatibilità ed effetto di diversi eluenti acidi sull'IgG.

N. picco	Acido	PW	5% TF	Pressione (bar) a 1 mL/min
1	Acido citrico 0,1 M, pH 2,0	0,058	1,68	24
2	HCl 0,1 M	0,053	1,58	24
3	5% acido acetico	0,071	1,85	24
4	Glicina 0,1 M	0,075	1,82	24
5	HCl 12 mM	0,068	1,69	24

Recupero delle prestazioni della colonna dopo pulizia

La Figura 8 mostra che la colonna Bio-Monolith Protein G può recuperare la sua piena prestazione dopo la pulizia (CIP). Nella colonna è stato iniettato IgG3 dopo oltre 1000 iniezioni di IgG3 aggiunto a soprannatante e lisato di cellule di CHO. I dati mostrano che quando la colonna era sporca, la larghezza del picco di IgG3 era maggiore e l'altezza del picco si riduceva (confrontare le Figure 8A e 8B, prima e dopo la pulizia). I dati mostrano anche che alcuni IgG3 non erano catturati dalla

colonna e venivano eluiti come un picco di flow-through (Figura 8, riquadro A). Dopo che la colonna era pulita, riconquistava la sua piena prestazione e l'IgG3 era completamente catturato (vedere la Figura 8B). La Figura 9 mostra i dati di confronto della linearità di un vasto range dinamico di caricamento prima e dopo la corretta pulizia della colonna. Aree del picco di IgG3 prima e dopo CIP erano molto simili e molto lineari. I dati indicavano che la colonna era pulita in modo efficace e compatibile con il protocollo di pulizia descritto nella Tabella 5.

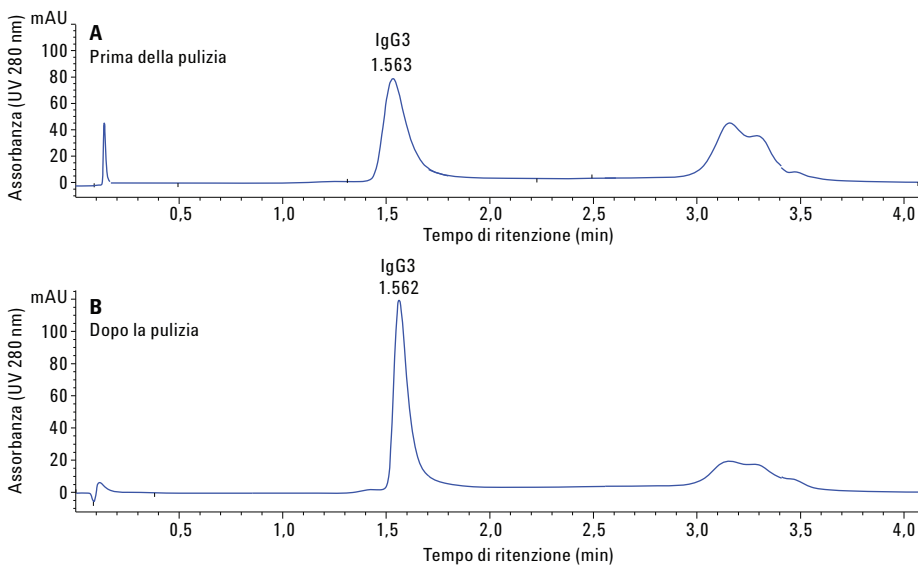


Figura 8. A) Colonna Agilent Bio-Monolith Protein G iniettata con IgG3 dopo più di 1000 iniezioni. La colonna era sporca. B) La colonna è stata pulita e ha riacquisito la sua completa prestazione.

Tabella 5. Protocollo per pulizia per la colonna Agilent Bio-Monolith Protein G. Per evitare che contaminanti penetrino nel resto della colonna, dovrebbe essere lavata in controflusso per la prima fase del protocollo da 0,2 a 0,5 mL/min.

Passaggio	Soluzione	Volumi colonna di lavaggio (VC)
1	NaOH 0,1 M	Da 10 a 20
2	Acqua deionizzata	Da 10 a 20
3	Tampone di fosfato di sodio 0,5 M, pH 7,4	Da 10 a 20
4	Riequilibrare la colonna con tampone di legame	50

In alcuni casi, la semplice rigenerazione della colonna monolitica non è sufficiente. Molecole dei campioni potrebbero non eluire completamente dalla colonna o potrebbero precipitare al suo interno. Questo accumulo di contaminanti nella colonna può causare perdita di risoluzione e capacità di legame, maggiore contropressione o blocco completo. Deve essere ideato un protocollo CIP specifico secondo il tipo di contaminanti presenti nel campione. Altri suggerimenti di rigenerazione sono nella Guida utente.

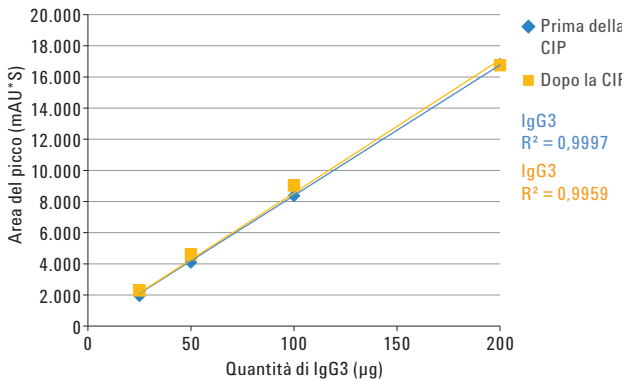


Figura 9. Confronto della linearità fornita dalla colonna Agilent Bio-Monolith Protein G attraverso un range di caricamento dinamico prima e dopo la pulizia in loco.

Durata e riproducibilità

Le Figure 10 e 11 mostrano i risultati di 1000 iniezioni consecutive di IgG3 e sopranatante più lisato di cellule di CHO nella colonna Bio-Monolith Protein G. La colonna ha ricevuto 40 iniezioni con sopranatante più lisato di cellule di CHO, seguite da 10 iniezioni di IgG3. Questa sequenza è stata impostata per 1000 iniezioni continue senza fermarsi per la pulizia. L'integrità del tempo di ritenzione del picco e della sua area (Figura 9), così come il fattore di scodamento e la larghezza del picco di IgG3 (Figura 10) sono rimasti pressoché invariati senza compromettere le prestazioni della colonna in termini di legame, separazione e capacità di eluizione.

La Figura 11 mostra che la larghezza del picco e il fattore di scodamento avevano un impatto minimo nel corso dello studio con 1000 iniezioni.

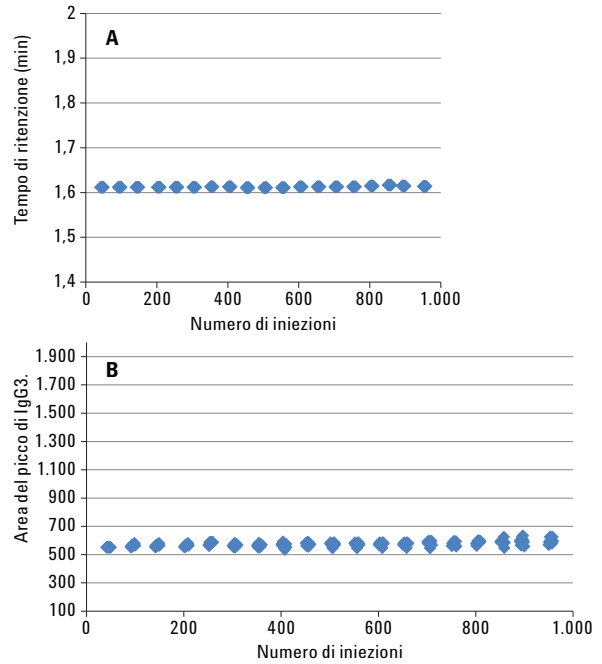


Figura 10. Riproducibilità della colonna Agilent Bio-Monolith Protein G oltre 1000 iniezioni senza pulizia. A) Tempo di ritenzione. B) Area picco di IgG3. Sono state registrate dieci iniezioni dopo 40 iniezioni, e sono state effettuate oltre 1000 iniezioni. Il tempo di ritenzione e la larghezza del picco di IgG3 sono rimasti invariati (deviazione standard = 2,5, n = 100).

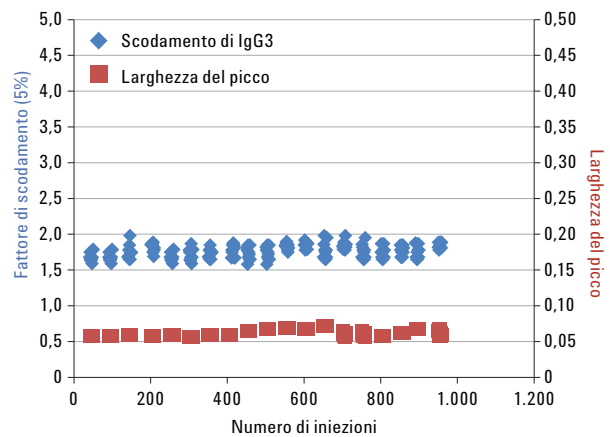


Figura 11. Costanza della larghezza del picco e del fattore di scodamento del picco dell'IgG3 su 1000 iniezioni sulla colonna Agilent Bio-Monolith Protein G.

Conclusioni

La colonna Agilent Bio-Monolith Protein G ha un'alta affinità per le sottoclassi di anticorpi monoclonali. È evidente che la colonna può catturare e quantificare con precisione in un ampio range di caricamento per mAb da sopranatanti. Le colonne possono essere utilizzate efficacemente per quantificare la quantità di anticorpo monoclonale con varie velocità di flusso, senza sacrificare dati. La contropressione operativa era significativamente bassa, dimostrando che la colonna Bio-Monolith Protein G può funzionare con strumenti di HPLC da 600<bar. La flessibilità della colonna con diversi eluenti acidi consente un design sperimentale facile e diretto. Le colonne Agilent Bio-Monolith Protein A e G sono pertanto complementari, quindi la proteina G ha affinità per anticorpi monoclonali che non si legano alla proteina A e *viceversa*. Queste colonne offrono più opzioni per una rapida determinazione del titolo per una più ampia gamma di varianti di mAb.

Riferimenti

1. Richman, D. D.; Cleveland, P. H.; Oxman, M. N.; Johnson, K. M. The binding of 1. Staphylococci protein A by the sera of different animal species. *J. Immunol.* **1982**, *128*, 2300-2305.
2. Frank, M. B. Antibody Binding to Protein A and Protein G beads; 5. In *Molecular Biology Protocols*; Frank, M. B., Ed.; Oklahoma Medical Research Foundation, Oklahoma City, USA, **1997**.
3. Anon. CellLytic B Plus Kit. Codici prodotto CB0500 e CB0050. Technical Bulletin. Sigma-Aldrich, Corp. St. Louis, MO, USA.

Per maggiori informazioni

Questi dati rappresentano risultati tipici. Per maggiori informazioni sui nostri prodotti e servizi, visitate il nostro sito Web all'indirizzo www.agilent.com/chem.

www.agilent.com/chem

Solo per scopi di ricerca. Non utilizzabile per procedure diagnostiche.

Agilent non può essere ritenuta responsabile per errori contenuti nella presente pubblicazione o per danni accidentali o consequenziali derivanti dalla fornitura, dalle prestazioni o dall'utilizzo del presente materiale.

Le informazioni, descrizioni e specifiche fornite possono variare senza preavviso.

© Agilent Technologies, Inc. 2015, 2017, 2018
Stampato negli Stati Uniti
mercoledì 6 luglio 2018
5991-6094ITE



Agilent Technologies