

Колонка Bio-Monolith Protein G — больше возможностей для определения титров моноклональных антител

Рекомендации по применению

Биопрепараты и биоаналоги

Автор

Фу Ти Донг (Phu T. Duong)
Agilent Technologies, Inc.

Введение

В последние годы моноклональные антитела (mAb) стали одним из основных видов биофармацевтической продукции ввиду необходимости лечения различных заболеваний. Эти антитела имеют особую генетическую структуру, которая улучшает направленное воздействие антитела на возбудителей заболевания. При разработке этих антител используются аналитические колонки для аффинной хроматографии белков А и G, с помощью которых определяется титр или концентрация этих белков в надосадочных жидкостях различных клеточных культур с целью отбора высокопродуктивного клона. В качестве носителя для обоих видов колонок, Protein A и Protein G, используется инертный полимерный монолит. Оба вида колонок отличаются высокой аффинностью к антителам, а значит, они связывают только антитела в надосадочных жидкостях клеточных культур. Однако они имеют разную селективность, как это отражено в таблице 1.

В данном документе представлена колонка Agilent Bio-Monolith Protein G. Данная колонка разработана для высокоскоростного анализа с большим объемом пробы. Представленные данные демонстрируют линейность наряду с высокой специфичностью. Анализ линейности раскрывает потенциал данной колонки при проведении точного количественного анализа моноклональных антител в надосадочной жидкости клеточной культуры. Кроме того, анализ срока службы данной колонки показал, что она может демонстрировать исключительную воспроизводимость и имеет длительный срок службы при стабильном и низком обратном давлении. Колонка Bio-Monolith Protein G дополняет колонку Bio-Monolith Protein A и тем самым расширяет возможности определения титров моноклональных антител.



Agilent Technologies

Таблица 1. Аффинность связывания колонок Agilent Bio-Monolith Protein A и G с различными подклассами IgG [1,2]

Антитело	Protein A	Protein G
Человека		
IgG1 человека	++++	++++
IgG2 человека	++++	++++
IgG3 человека	–	++++
IgG4 человека	++++	++++
IgA человека	++	–
IgD человека	++	–
IgE человека	++	–
IgM человека	++	–
Мыши		
IgG1 мыши	+	++
IgG2a мыши	++++	++++
IgG2b мыши	++++	+++
IgG3 мыши	+	+++
IgM мыши	+/-	–
Фрагменты антител		
Fab человека	+	+
F(ab') ₂ человека	+	+
scFv человека	+	+
Fc человека	+	+
K человека	+	+
λ человека	+	+

++++ = сильная аффинность
 +++ = умеренная аффинность
 ++ = слабая аффинность;
 + = минимальная аффинность
 – = не обладает аффинностью

Вещества и методики

- Одноосновного фосфата натрия моногидрат (Sigma-Aldrich, Corp., кат. № S3522) (мол. масса 137,99).
- Двухосновного фосфата натрия дигидрат (Sigma, кат. № 71643) (мол. масса 177,99).
- Лимонной кислоты моногидрат (Sigma, кат. № C7129) (мол. масса 210,14).
- Хлорид натрия (Sigma, кат. № S5886) (мол. масса 58,44).
- Фосфорная кислота, 85 % мас. в H₂O, 99,99 % основа для определения следовых металлов (Aldrich, кат. № 345245).
- Раствор гидроксида натрия, 50–52 % в воде, растворитель для ионной хроматографии (FLUKA 72064) (мол. масса 40).
- Глицин, для электрофореза, ≥99 % (Sigma, кат. № G8898) (мол. масса 75,07).
- Ледяная уксусная кислота (Sigma, кат. № A9967) (мол. масса 60,05).
- Соляная кислота, 36,5–38,0 %, BioReagent, для молекулярной биологии (Sigma, кат. № H1758).
- Набор для лизиса клеток кишечной палочки (*Escherichia coli*) (Sigma кат. № CB0500).

- Лизат и надосадочная жидкость клеток яичника китайского хомяка (CHO), надосадочная жидкость клеток насекомых, гуманизированные моноклональные антитела, полученные из клеток CHO (IgG2 и IgG3) от компании CreativeBio Labs.

Методика

Подвижная фаза А представляет собой связывающий и промыочный буферный раствор, который содержит 50 мМ натрий-фосфатный буфер, pH 7,4. Готовят два базовых раствора (0,2 М): 27,6 г моногидрата одноосновного фосфата натрия в 1 л деионизированной воды и 35,6 г дигидрата двухосновного фосфата натрия также в 1 л деионизированной воды.

Для приготовления 2 л раствора фосфата натрия, содержащего 50 мМ натрий-фосфатного буфера и 50 мМ хлорида натрия, pH 7,0, делают следующее:

1. Смешивают 195 мл базового раствора одноосновного фосфата натрия моногидрата и 305 мл базового раствора двухосновного фосфата натрия дигидрата. Перемешивают с помощью магнитной мешалки.
2. Добавляют 5,8 г хлорида натрия и продолжают перемешивание.
3. Добавляют 1 мл деионизированной воды.
4. Измеряют pH раствора и доводят pH до 7,0, используя NaOH или 3 М фосфорную кислоту.
5. Переливают раствор в мерную колбу емкостью 2 л и добавляют воду до отметки.

Подвижная фаза В представляет собой буферный раствор для элюции, содержащий 0,1 М лимонную кислоту, pH 2,0, который приготовлен растворением 21 г моногидрата лимонной кислоты в приблизительно 600 мл воды при аккуратном перемешивании. Используя 1 М HCl, доводят pH до 2,0, а затем в мерной колбе разбавляют раствор водой до 1 л.

Лизат и надосадочная жидкость клеток CHO, лизат клеток насекомых (все пробы центрифугировали), а также гуманизированные моноклональные антитела IgG1, IgG2 и IgG3 были приобретены у компании Creative BioLabs, Нью-Йорк. *Lysam Escherichia coli* был приготовлен в соответствии с рекомендуемым протоколом компании Sigma-Aldrich, Corp [3]. В набор входят CellLytic B, реактив для лизиса бактерий (500 мл), раствор лизоцима (10 ампул Ч 1 мл), бензоназа (25 000 единиц) и смесь ингибиторов протеазы (5 мл). Лизат готовят путем добавления 1,0 г клеточной суспензии к 10 мл реактива CellLytic B, 0,2 мл лизоцима, 0,1 мл ингибиторов протеазы и 500 единиц бензоназы. Смесь быстро встряхивают, затем перемешивают в течение 10 минут (вручную или на шейкере), чтобы дополнительно экстрагировать растворимые белки. Затем смесь центрифугируют со скоростью 5000g в течение 10 минут для осаждения нерастворимых материалов. Фракцию растворимых белков (надосадочную жидкость) аккуратно отделяют от клеточного детрита (осадок на дне пробирки). Концентрацию белков в надосадочной жидкости можно определить методом Бредфорда, в данном случае она составляет 40 мг/мл.

Затем в некоторые части надосадочной жидкости добавили IgG1, IgG2 или IgG3, как описано. Пробы надосадочной жидкости разбавили связывающим буферным раствором (или буфером А) до конечной концентрации 10 мг/мл, а затем в них добавили 2 мг/мл отдельное очищенное гуманизированное моноклональное антитело, например IgG1, IgG2 или IgG3.

Условия

Колонка: Agilent Bio-Monolith Protein G, диаметр 5,2 мм, длина 4,95 мм (кат. № 5190-6900)

Связывающий буфер: А, 50 мМ натрий-фосфатный буфер, pH 7,4

Элюирующий буфер: В, 0,1 мМ лимонная кислота, pH 2,0

Проба: см. хроматограммы

Объем ввода: см. хроматограммы

Скорость потока: 1,0 мл/мин (или см. хроматограммы)

Градиент:

Время (мин)	% А
0	100
0,4	100
0,5	0
2,0	0
2,1	100
4,2	100

Температура: 25 °С

Детектор (дл. волны): УФ, 280 нм

Система: ЖХ Agilent 1260 Infinity Bio-inert с четырехканальным насосом

Результаты и обсуждение

Специфичность и селективность

Как видно из таблицы 1, у колонки Protein G'affинность связывания с различными подклассами гуманизированных моноклональных антител выше, чем у колонки Protein A, и только колонка Protein G обладает'affинностью к подклассу IgG3. Данные на графике 1А демонстрируют специфичность колонки Bio-Monolith Protein G и ее способность регулировать титр, то есть наличие и концентрацию антител в надосадочной жидкости. В колонку вводили пробу, содержащую очищенное рекомбинантное гуманизированное mAb, IgG3, с добавленными в надосадочную жидкость клетками CHO. Это mAb экспрессировалось в клеточной линии CHO. Данные показывают, что IgG3 — единственный белок, который был захвачен и элюировался из колонки приблизительно в период времени 1,6 минуты при скорости потока 1,0 мл/мин, в то время как белки клетки-хозяина не были захвачены и элюировались в пике проточной фракции.

Чтобы продемонстрировать разницу в селективности между колонками Protein A и Protein G, в обе колонки по отдельности ввели моноклональные антитела IgG1, IgG2 и IgG3. Антитела IgG1 и IgG2 были захвачены обеими колонками (данные не представлены). В то же время, антитело IgG3 не было захвачено колонкой Bio-Monolith Protein A и элюировалось в пике проточной фракции, но было захвачено колонкой Bio-Monolith Protein G и элюировалось из нее (сравните графики 1А и 1В).

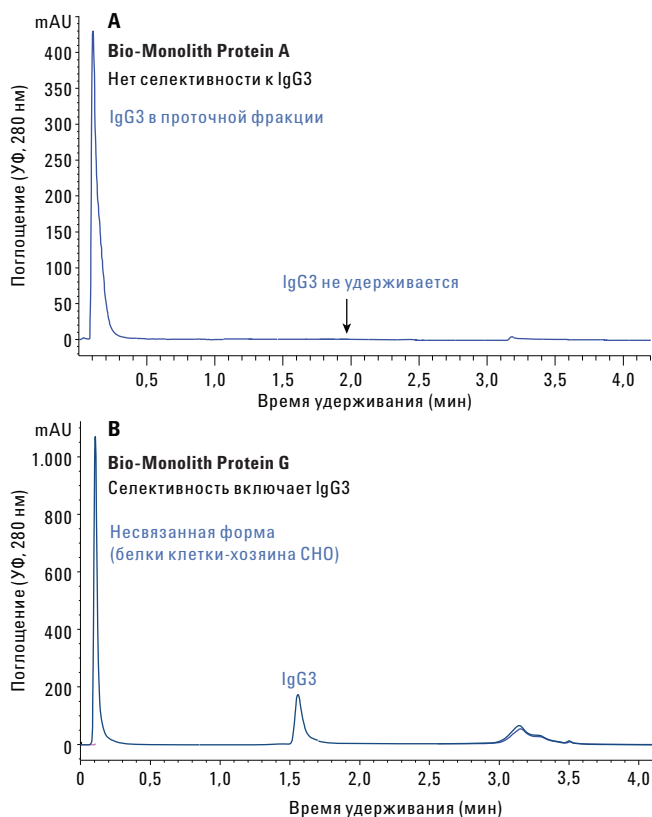


Рис. 1. А) Отсутствует связывание IgG3 на колонке Bio-Monolith Protein A. Антитело IgG3 элюировались в пике проточной фракции. 2 мг/мл гуманизированного IgG3 смешали со связывающим буферным раствором (3 мл ввели в колонку). В) Колонка Agilent Bio-Monolith Protein G быстро захватила только IgG3 из выращенной клеточной культуры с добавлением IgG3 (в колонку вводили 5 мкл 2,0 мг/мл IgG3, смешанного с 10 мг/мл надосадочной жидкости клеток CHO).

Для подтверждения того, что колонка Bio-Monolith Protein G не обладает'affинностью связывания с белками клетки-хозяина, были проведены более углубленные испытания. Для этого использовали пробы белков клетки-хозяина, полученные из лизата клеток *E. coli*, лизата клеток CHO, надосадочной жидкости и лизата клеток насекомых. Эти лизаты содержали белки клетки-хозяина, которые были экстрагированы с помощью лизирующих буферных растворов, содержащих додецилсульфат натрия — химическое соединение, которое сильно влияет на неспецифическое связывание в колонке. Эти пробы не содержали антител, а только белки клетки-хозяина. Данное испытание было проведено в связи с тем, что сложные пробы показывают неспецифические результаты, если колонка недостаточно хорошо подобрана. На рис. 2 не видно никаких признаков того, что какой-либо белок из надосадочной жидкости клетки-хозяина абсорбируется на колонке. Все белки клетки-хозяина элюировались в виде пиков проточной фракции. Данные свидетельствуют о том, что колонка Bio-Monolith Protein G не обладает'affинностью к белкам клетки-хозяина.

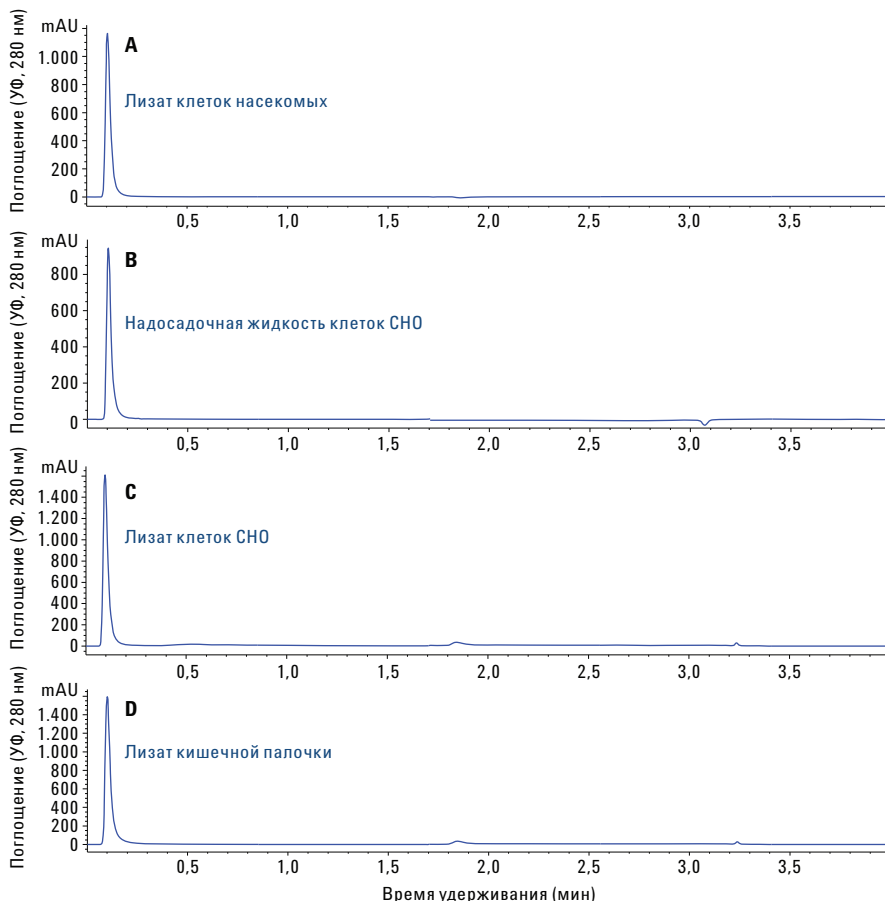


Рис. 2. Анализ специфичности колонки Agilent Bio-Monolith Protein G, выполненный с использованием 10 мг/мл белков клетки-хозяина, разбавленных связывающим буферным раствором. Объем ввода составлял 5 мкл для всех проб. А) лизат клеток насекомых; В) надосадочная жидкость клеток CHO; С) лизат клеток CHO; D) лизат кишечной палочки.

Точность количественного анализа

Точный количественный анализ титра mAb крайне необходим на ранних стадиях разработки, при выборе клеточной линии, а также в процессе производства, когда количество mAb в надосадочной жидкости клеточной культуры определяет оптимальный срок выращивания. Чтобы продемонстрировать способность колонки Bio-Monolith Protein G точно количественно определять моноклональные антитела, в колонку вводили различные количества (мкг) очищенных антител IgG. На основе данных полученной зависимости площади пика от количества IgG построили графики линейности, позволяющие определить точность анализа. Рис. 3 демонстрирует линейность площадей пиков для колонки Protein G, которая подтверждает возможность использования данной колонки для количественного анализа mAb в среде для выращивания клеток в различных диапазонах концентраций. В данную колонку вводили всего 2 мкг IgG. Соотношение сигнал — шум не превышало 1:1 для концентрации 2 мкг (данные не показаны). Максимальная емкость загрузки данной колонки составляет приблизительно 400–500 мкг IgG (данные не показаны), что перекрывает диапазон концентраций, достигаемый при отборе и производстве клеточной линии.

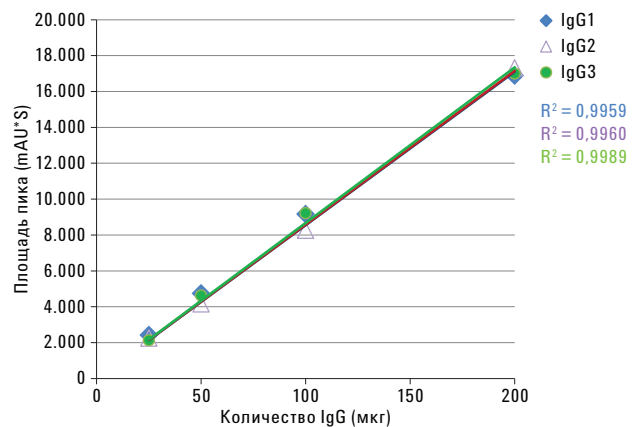


Рис. 3. Количественное определение моноклональных антител с помощью колонки Agilent Bio-Monolith Protein G. Линейность соблюдается для значений площади пика в диапазоне 25–200 мкг IgG.

Диапазон емкости загрузки шире, чем у аналогичных колонок для белка G от других производителей

На рис. 4А показано сравнение линейности в широком диапазоне загрузки IgG3 для колонки Bio-Monolith Protein G и колонки для белка G, 2,1 Ч 30 мм, 4000 Е, от другого производителя. Колонка Agilent показала линейность в диапазоне загрузки 25–200 мг IgG3, в то время как другая колонка сохраняла линейность только в диапазоне 25–100 мг IgG3, в соответствии с рекомендациями ее

производителя. Причина отсутствия линейности в более широком диапазоне загрузки заключалась в том, что эта колонка не могла удерживать весь материал при большей загрузке. Фактически, при загрузке 200 мкг колонка для белка G от другого производителя показала гетерогенный пик для mAb (некоторая часть IgG3 не удерживалась в колонке и элюировалась в пике проточной фракции), как показано на рис. 4В.

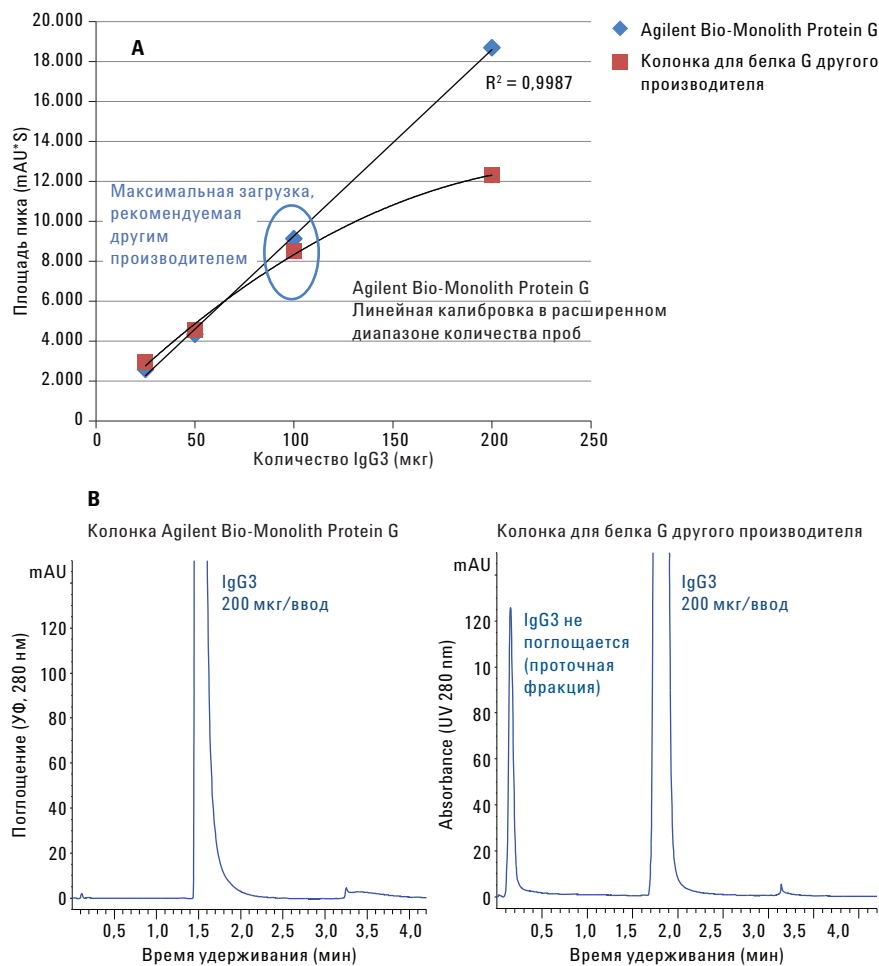


Рис. 4. А) Сравнение линейных диапазонов загрузки для колонки Agilent Bio-Monolith Protein G и колонки для белка G от другого производителя. В) При загрузке 200 мкг колонка другого производителя показывает пик проточной фракции, который не наблюдается при использовании колонки Bio-Monolith Protein G. Таким образом, колонка Bio-Monolith Protein G имеет более высокую емкость загрузки.

Быстрое разделение

Колонка Bio-Monolith Protein G предназначена для быстрого разделения. Ее способность быстро захватывать и элюировать mAb при различных скоростях потока продемонстрирована на примере IgG3 (рис. 5), при скоростях потока 1,0, 1,5, 2,0 и 2,5 мл/мин (данную колонку можно эксплуатировать при скоростях потока до

3,0 мл/мин, данные не показаны). В таблице 2 приведены скорости потока и рабочие градиенты. С повышением скорости потока время удерживания пика IgG3 сократилось. Однако относительные площади пиков остались одинаковыми при всех скоростях потока. Это значит, что колонка, демонстрирует одинаковое извлечение при всех скоростях потока (таблица 3).

Таблица 2. Скорости потока и рабочие градиенты, которые применялись при оценке удерживающей способности колонки Agilent Bio-Monolith Protein G

Время (мин)	%A	%B
1,0 мл/мин		
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 мл/мин		
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 мл/мин		
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 мл/мин		
0	100	0
0,1	100	0
0,3	0	100
0,7	0	100
0,8	100	0
1,7	100	0

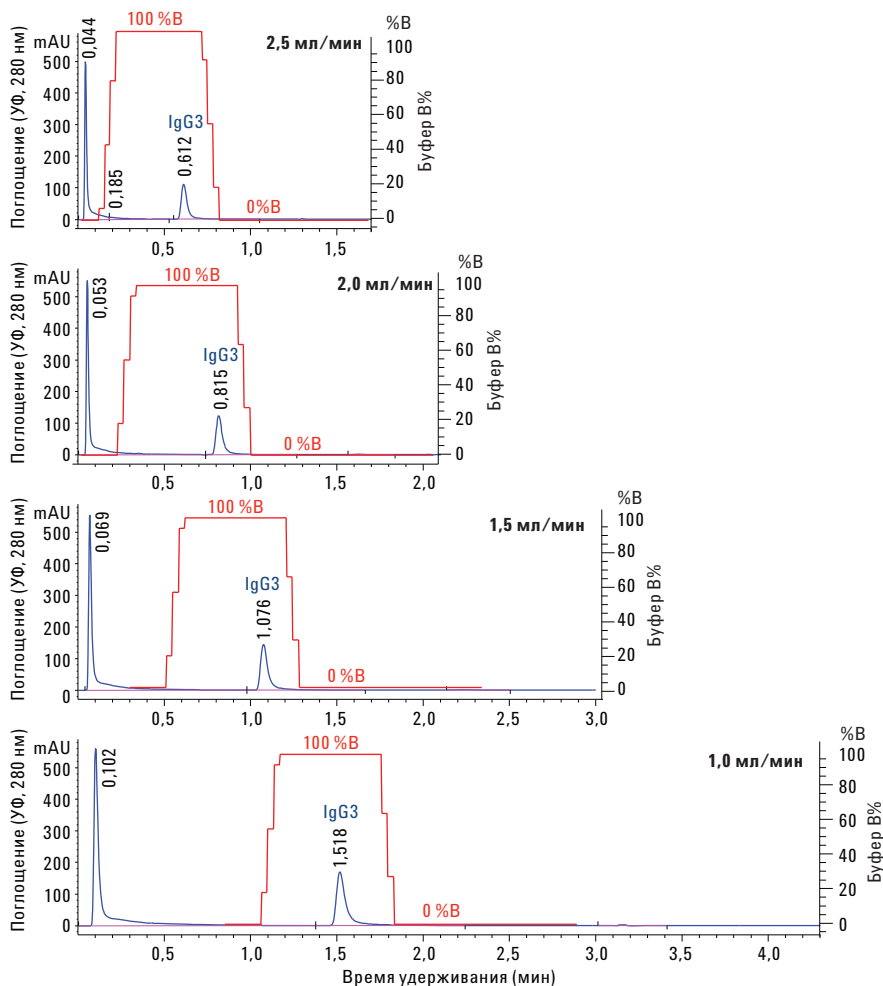


Рис. 5. Связывание IgG3 в колонке Agilent Bio-Monolith Protein G оценивалось при нескольких скоростях потока. Ввод 5 мкл (2,0 мг/мл IgG3, смешанного с 5 мг/мл белками клетки-хозяина CHO).

Таблица 3. Колонка Agilent Bio-Monolith Protein G демонстрирует одинаковое относительное процентное соотношение пиков проточной фракции и IgG3 при всех скоростях потока

Скорость потока (мл/мин)	Общая площадь (mAU*S)	Площадь пика проточной фракции (mAU*S)	Относительная площадь пика проточной фракции (%)	Площадь пика IgG3 (mAU*S)	Относительная площадь пика 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	1.392	67,3	677	32,7

На рис. 6 продемонстрирована линейность обратного давления в колонке. При увеличении скорости потока от 1 до 2,5 мл/мин, с интервалом 0,5 мл/мин, обратное давление в колонке возрастало линейно. Максимальное обратное давление в колонке составляет 150 бар. Стандартная скорость потока разделения на колонке Bio-Monolith Protein G составляет 1,0 мл/мин. Когда скорость потока в приборе установили на 1,0 мл/мин, обратное давление в колонке составило ~24 бар. Когда скорость потока увеличили до 2,5 мл/мин, обратное давление в колонке возросло до ~60 бар. Как было отмечено ранее, при максимальном обратном давлении наблюдалось минимальное связывание IgG в колонке.

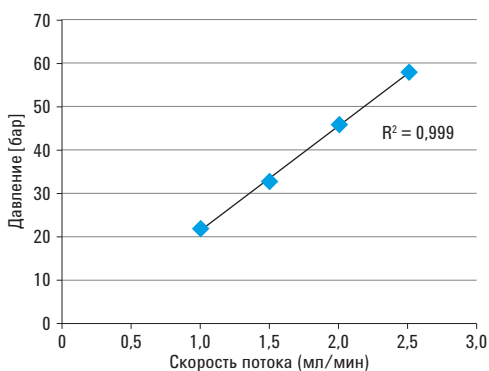


Рис. 6. Зависимость скорости потока от обратного давления. Обратное давление колонки Agilent Bio-Monolith Protein G линейно возрастает при линейном увеличении скорости потока.

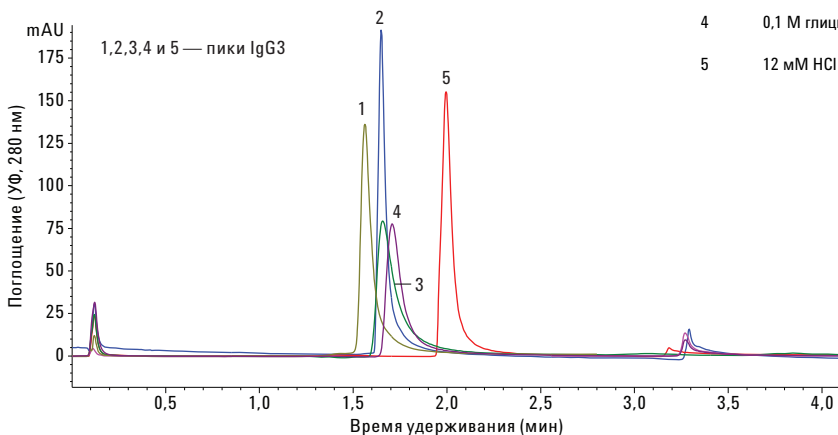


Рис. 7. Пик гуманизованного IgG3, элюируемый из колонки Agilent Bio-Monolith Protein G с помощью различных кислых растворителей

Совместимость различных буферных растворов.

На рис. 7 продемонстрирована совместимость колонки Bio-Monolith Protein G с различными буферными растворами в качестве элюентов. Пик IgG3 можно элюировать, используя много разных кислых растворителей. В таблице 4 приведена сила и pH кислых растворителей. Эти растворители элюировали IgG3 из колонки с одинаковым временем удерживания (аналогичные данные были получены и для других подгрупп антител IgG), за исключением 12 мМ HCl. Удерживание пика IgG3 длилось дольше в сравнении со временем удерживания пика IgG3, элюированного с помощью других буферных растворов. Но при повышении концентрации до 0,1 М этот буферный раствор стал достаточно сильным для того, чтобы элюировать IgG3 с таким же временем удерживания, как и другие буферные растворы.

Также следует отметить, что каждый кислый растворитель давал пик IgG3 с незначительно отличающимися шириной и коэффициентом асимметрии пика. Предположительно, в зависимости от подкласса IgG кислые растворители и их сила будут по-разному влиять на время удерживания, ширину и коэффициент асимметрии пика. Соответственно, кислые растворители и их концентрацию необходимо определять экспериментальным путем, в зависимости от подкласса IgG и типа ожидаемых данных.

Таблица 4. Совместимость и влияние различных кислых растворителей на IgG

Номер пика	Кислота	Ширина пика	Козф. асс. 5 %	Давление (бар) при 1 мл/мин
1	0,1 мМ лимонная кислота, pH 2,0	0,058	1,68	24
2	0,1 М HCl	0,053	1,58	24
3	5 % уксусная кислота	0,071	1,85	24
4	0,1 М глицин	0,075	1,82	24
5	12 мМ HCl	0,068	1,69	24

Восстановление производительности колонки после очистки на месте

Как видно из рис. 8, производительность колонки Bio-Monolith Protein G может полностью восстанавливаться после очистки на месте (CIP). В колонку ввели пробу IgG3 после того, как было произведено более 1.000 вводов проб IgG3 с добавлением лизата и надосадочной жидкости клеток CHO. Данные показывают, что, когда колонка была загрязнена, ширина пика IgG3 была увеличена, а высота — уменьшена (сравните рис. 8А и 8В, до и после очистки на месте). Данные также свидетельствуют о том, что антитело IgG3 не

было удержано колонкой и элюировалось в пике проточной фракции (рис. 8, график А). После очистки колонки ее производительность полностью восстановилась и удержание IgG3 происходило в полном объеме (см. рис. 8В). На рис. 9 показано сравнение линейности в широком динамическом диапазоне загрузки до и после того, как колонку надлежащим образом очистили. Площади пиков IgG3, полученные до и после CIP, были сопоставимы и показали исключительную линейность. Данные свидетельствуют о том, что колонка была очищена качественно, в соответствии с протоколом очистки, который изложен в таблице 5.

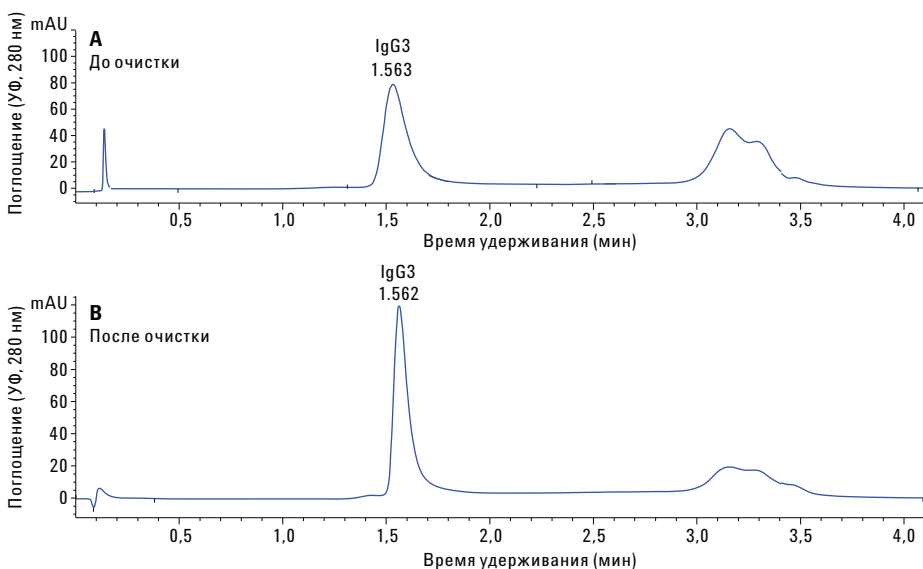


Рис. 8. А) Колонка Agilent Bio-Monolith Protein G, в которую ввели IgG3 после того, как было произведено более 1000 вводов. Колонка была загрязнена. В) Колонка была очищена и производительность полностью восстановлена.

Таблица 5. Протокол очистки на месте для колонки Agilent Bio-Monolith Protein G. Во избежание попадания загрязняющих веществ в остальную часть колонки на первом этапе протокола она должна промываться в обратном направлении потока со скоростью от 0,2 до 0,5 мл/мин.

Этап	Раствор	Промывка, число объемов колонки
1	0,1 М NaOH	от 10 до 20
2	Деионизированная вода	от 10 до 20
3	0,5 М натрий-фосфатный буфер, pH 7,4	от 10 до 20
4	Уравновешивание колонки связывающим буфером	50

В некоторых случаях простой регенерации монолитной колонки не достаточно. Молекулы компонентов пробы могут не полностью элюироваться из колонки или осаждаться в ней. Скопление загрязняющих веществ в колонке может привести к ухудшению разрешения и связывающей способности, повышению обратного давления или полному закупориванию. Следует разработать специальный протокол СІР в соответствии с типом загрязняющих веществ, которые присутствуют в пробе. Подробные рекомендации по регенерации колонки приведены в руководстве пользователя.

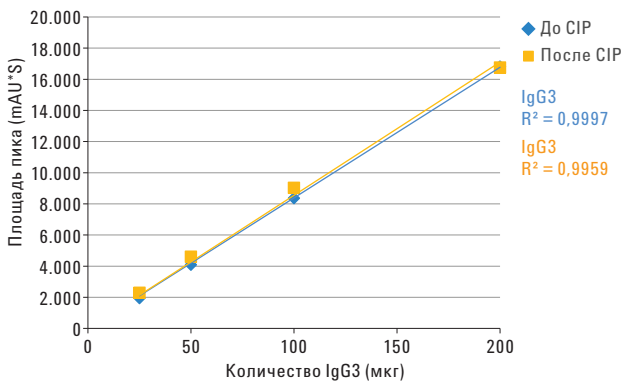


Рис. 9. Сравнение линейности, которую обеспечивает колонка Agilent Bio-Monolith Protein G в широком динамическом диапазоне загрузки до и после очистки на месте.

Срок службы и воспроизводимость

Рис. 10 и 11 демонстрируют результаты 1000 последовательных вводов проб IgG3 и надосадочной жидкости клеток CHO с лизатом в колонку Bio-Monolith Protein G. В колонку производили 40 вводов проб надосадочной жидкости клеток CHO с добавлением лизата, а затем 10 вводов проб IgG3. В этой последовательности произвели 1000 вводов подряд, без перерыва на очистку. Единообразие времени удерживания и площади (рис. 9), а также ширины и коэффициента асимметрии пиков IgG3 (рис. 10) осталось практически неизменным, без ухудшения производительности колонки (способности к связыванию, разделению и элюированию).

Из рис. 11 видно, что ширина и коэффициент асимметрии пика практически не повлияли на ход исследования со вводом 1.000 проб.

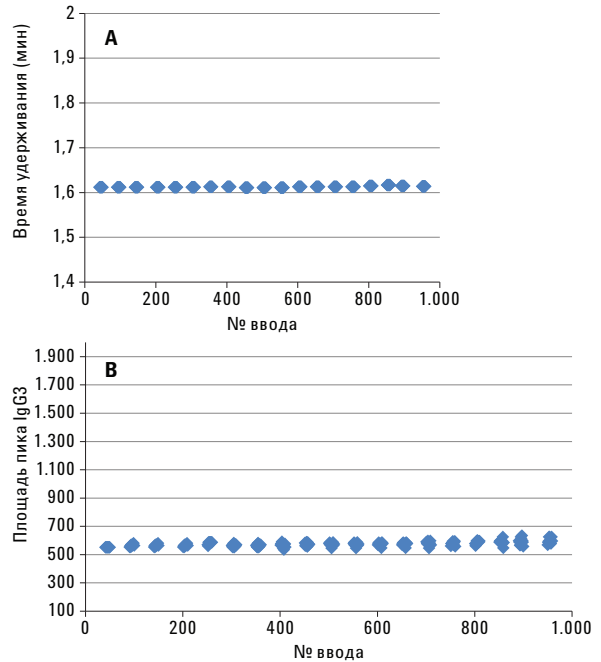


Рис. 10. Воспроизводимость колонки Agilent Bio-Monolith Protein G после 1000 вводов без очистки на месте. А) Время удерживания. Б) Площадь пика IgG3. Было зарегистрировано десять вводов после выполнения 40 вводов, затем было выполнено более 1000 вводов. Время удерживания и ширина пика IgG3 остались без изменений (стандартное отклонение = 2,5, n = 100).

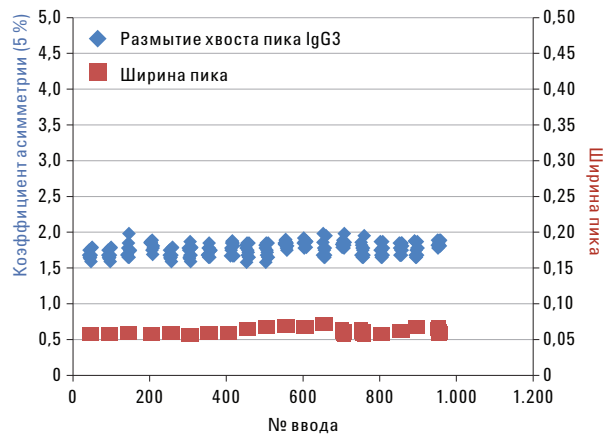


Рис. 11. Единообразие ширины и коэффициента асимметрии пика IgG3 на протяжении 1.000 вводов в колонку Agilent Bio-Monolith Protein G.

Выводы

Колонка Agilent Bio-Monolith Protein G обладает высокой аффинностью к подклассам моноклональных антител. Совершенно очевидно, что данная колонка способна удерживать моноклональные антитела из надосадочной жидкости и подходит для точного количественного определения моноклональных антител в широком диапазоне загрузки. Эти колонки можно эффективно использовать для количественного определения моноклональных антител при различных скоростях потока, без ущерба для качества данных. Рабочее обратное давление остается очень низким, поэтому колонку Bio-Monolith Protein G можно использовать в приборах ВЭЖХ с давлением <600 бар. Совместимость колонки с различными кислыми растворителями позволяет разрабатывать простой и удобный экспериментальный план. Таким образом, колонки Agilent Bio-Monolith Protein A и G дополняют друг друга и, соответственно, колонка Protein G обладает аффинностью к моноклональным антителам, которые не связываются в колонке Protein A и *наоборот*. Данные колонки дают больше возможностей для быстрого определения титров в более широком диапазоне разновидностей моноклональных антител.

Литература

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. Catalog numbers CB0500 and CB0050. Technical Bulletin. Sigma-Aldrich, Corp. St. Louis, MO, USA.

Дополнительная информация

Представленные данные являются стандартными значениями. Дополнительную информацию о продуктах и услугах нашей компании см. на веб-сайте www.agilent.com/chem.

www.agilent.com/chem

Только для исследовательских целей. Не для использования в диагностических процедурах.

Компания Agilent не несет ответственности за возможные ошибки в настоящем документе, а также за убытки, связанные или являющиеся следствием получения настоящего документа, ознакомления с ним и его использования.

Информация, описания и спецификации в настоящем документе могут быть изменены без предупреждения.

компания Agilent Technologies, Inc., 2015, 2017, 2018

Напечатано в США

6 июля 2018 г.

5991-6094RU



Agilent Technologies