

# Валидация антител к остаточным белкам клетки-хозяина



Белки клетки-хозяина (БКХ) — основная примесь в биотехнологических препаратах, полученных с использованием генетически модифицированных клеток.

Комбинирование методов 2-D электрофореза и вестерн-блоттинга позволяет валидировать антитела для оценки БКХ с помощью ИФА всего за 2 дня.

ШАГ ПОТОКОЛА	ПРОДУКТ	НАЗНАЧЕНИЕ
<b>01</b> Подготовка образца 	> Набор для селективной преципитации ReadyPrep™ 2-D Cleanup Kit	<ul style="list-style-type: none"> <li>Удаляет ионные примеси, например, детергенты и липиды;</li> <li>Концентрирует разбавленные образцы;</li> <li>Улучшает воспроизводимость и разрешение 2-D форе́за.</li> </ul>
	> Набор реагентов для подготовки образцов и стрипов ReadyPrep™ 2-D Starter Kit	<ul style="list-style-type: none"> <li>Включает все необходимое для регидратации, фокусирования и уравнивания стрипов.</li> </ul>
<b>02</b> 2-D электрофорез 	> Стрипы ReadyStrip™ IPG	<ul style="list-style-type: none"> <li>Для изоэлектрофокусирования на стрипах с иммобилизованным градиентом pH;</li> <li>Доступно множество диапазонов pH.</li> </ul>
	> Система для изоэлектрофокусирования PROTEAN® i12 IEF	<ul style="list-style-type: none"> <li>Система для изоэлектрофокусирования в 12 стрипах с независимыми источниками питания для каждой дорожки стрипа.</li> </ul>
	> Камера для вертикального электрофореза на 12 гелей Criterion™ Dodeca™ Готовые гели Criterion™ TGX™ Стандарты Precision Protein Plus™	<ul style="list-style-type: none"> <li>Для разделения белков по молекулярной массе после изоэлектрофокусирования.</li> </ul>
	> Краситель для белков SYPRO Ruby или Oriole™	<ul style="list-style-type: none"> <li>Для анализа эффективности разделения.</li> <li>Не влияет на дальнейший протокол переноса.</li> </ul>
	> Гель-документирующая система ChemiDoc™ MP или ChemiDoc™	<ul style="list-style-type: none"> <li>Для визуализации и анализа данных.</li> </ul>
<b>03</b> Перенос белков на мембрану 	> Система для быстрого полусухого переноса Trans-Blot® TURBO™	<ul style="list-style-type: none"> <li>Для быстрого высокоэффективного переноса на PVDF-мембрану.</li> </ul>
	> Набор PVDF мембран для переноса Trans-Blot® TURBO™ RTA Midi LF PVDF с низкой аутофлуоресценцией	
<b>04</b> Визуализация 	> Субстрат Clarity™ Western ECL или Clarity™ MAX Western ECL	<ul style="list-style-type: none"> <li>Детектирование белков на уровне фемтограмм с помощью HPR-конъюгированных вторичных антител;</li> <li>Продолжительность сигнала до 24 часов.</li> </ul>
	> Краситель для блота SYPRO Ruby Protein Blot	<ul style="list-style-type: none"> <li>Для полного окрашивания блота.</li> </ul>
	> Гель-документирующая система ChemiDoc™ MP или ChemiDoc™	<ul style="list-style-type: none"> <li>Для визуализации и анализа данных.</li> </ul>
<b>05</b> Анализ результатов 	> Программное обеспечение для 2-D гелей PDQuest™ 	<ul style="list-style-type: none"> <li>Позволяет автоматически определять пятна, проводить сравнение, наложение и анализ.</li> </ul>



## Зачем использовать 2-D электрофорез (2-DE) и вестерн-блоттинг для оценки антител, используемых для определения БКХ методом ИФА?

В рекомендациях для аналитических методик и критериев приемлемости биологических/биотехнологических средств (ICH Q6B) указано, что для уверенности в результатах оценки БКХ методом ИФА используемые поликлональные антитела должны связывать максимально возможное количество белков-антигенов. Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) рекомендует использовать для валидации антител методы 2-DE и вестерн-блоттинга, которые традиционно используют для анализа сложных белковых смесей благодаря возможности разделять белки как по изоэлектрической точке, так и по молекулярному весу. При этом, согласно замечаниям FDA, методы 1-DE и вестерн-блоттинга недостаточно информативны для валидации антител, а другие методы могут быть использованы только после консультации с агентством, если эти методы настолько же чувствительны и дают сопоставимую с 2-DE и вестерн-блоттингом разрешающую способность.

## Каково минимальное рекомендуемое значение соотношения процента пятен, выявленных анти-БКХ антителами, к общему числу пятен, обнаруженных с помощью высокочувствительного окрашивания общего белка?

На этот счет рекомендаций нет, но подразумевается, что чем выше это соотношение, тем лучше антитела к БКХ. Некоторые исследователи считают, что значение должно быть порядка 80% для пригодности антител к БКХ в ИФА. Значения ниже 80% могут быть приемлемы, если будет доказано, что примеси, не обнаруживаемые используемым методом квалификации антител, не очищаются вместе с конечным продуктом. В таком случае примеси должны контролироваться дополнительными методами, отличными от ИФА. Bio-Rad предлагает надежное решение для достоверной и быстрой оценки антител к БКХ на основе 2-DE и вестерн-блоттинга, которое позволяет менее, чем за 2 дня принять решение о пригодности антител к использованию в мониторинге БКХ методом ИФА.

### ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА

	Кат. номер	Наименование
ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦА	<b>1632130</b>	Набор для селективной преципитации ReadyPrep™ 2-D Cleanup Kit
	<b>1632105</b>	Набор реагентов для подготовки образцов и стрипов ReadyPrep™ 2-D Starter Kit
2-D ЭЛЕКТРОФОРЕЗ	<b>1646000</b>	Система для изоэлектрофокусирования PROTEAN® i12 IEF Стрипы ReadyStrip™ IPG <b>7 см                      11 см                      17 см                      18 см                      24 см</b>
	pH 3-10	1632000                      1632014                      1632007                      1632032                      1632042
	pH 3-10 NL	1632002                      1632016                      1632009                      1632033                      1632043
	pH 3-6	1632003                      1632017                      1632010                      1632035                      1632045
	pH 4-7	1632001                      1632015                      1632008                      1632034                      1632044
	pH 5-8	1632004                      1632018                      1632011                      1632036                      1632046
	pH 7-10	1632005                      1632019                      1632012                      1632037                      1632047
	NL, нелинейный градиент.	
	<b>1656001</b>	Камера для вертикального электрофореза на 12 гелей Criterion™ Dodeca™ Готовые гели Criterion™ TGX™ <b>18%                      4-15%                      4-20%                      8-16%                      10-20%                      AnyKD</b>
	<b>1610378</b>	5671071                      5671081                      5671091                      5671101                      5671111                      5671121
<b>1610496</b>	Стандарты Precision Protein Plus™	
<b>1703125</b>	Краситель для белков SYPRO Ruby Краситель для белков Oriole™	
ПЕРЕНОС БЕЛКОВ НА МЕМБРАНУ	<b>1704155</b>	Система для быстрого полусухого переноса Trans-Blot® TURBOTM
	<b>1704275</b>	Набор PVDF мембран для переноса Trans-Blot® TURBO™ RTA Midi LF PVDF с низкой аутофлуоресценцией
ВИЗУАЛИЗАЦИЯ	<b>1705060</b>	Субстрат Clarity™ Western ECL, 200 мл
	<b>1705062</b>	Субстрат Clarity™ MAX Western ECL, 100 мл
	<b>17001402</b>	Гель-документирующая система ChemiDoc™ MP
	<b>17001401</b>	Гель-документирующая система ChemiDoc™
АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ	<b>1709630</b>	Программное обеспечение для 2-D гелей PDQuest™

**helicon**

**Центральный офис:**  
119234 г. Москва,  
Ленинские Горы, МГУ  
д. 1, стр. 40  
Тел. 8 (800) 770-71-21  
Факс +7 (495) 930-00-84  
mail@helicon.ru

[www.helicon.ru](http://www.helicon.ru)

**Представительство в Сибирском регионе:**  
630090 г. Новосибирск,  
ул. Инженерная, д. 28  
Тел. +7 (383) 207-84-85, novosibirsk@helicon.ru

**Представительство в Северо-Западном Регионе:**  
195220 г. Санкт-Петербург,  
ул. Гжатская, д. 22 корп. 1  
Тел. +7 (812) 244-85-52, spb@helicon.ru

**Представительство в Приволжском регионе:**  
420107 г. Казань, ул. Университетская,  
д. 22, оф. 107 Тел. +7 (843) 202-33-37,  
volga@helicon.ru

**Представительство в Южном регионе:**  
344116 г. Ростов-на-Дону, ул. 2-ая  
Володарская, д. 76/23а  
Тел. +7 (863) 209-88-89,  
rostov@helicon.ru

**BIO-RAD**

