



## Facilitando o seu Sucesso

### Dicas dos nossos Mestres Zen em Separação de Proteínas

# Exclusão de Tamanho e um Tampão bem salgado



**Dani Xing**

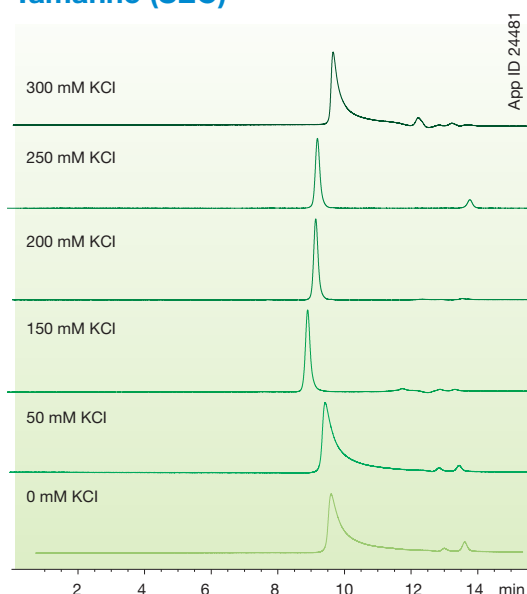
Técnica Guru - Bioseparações



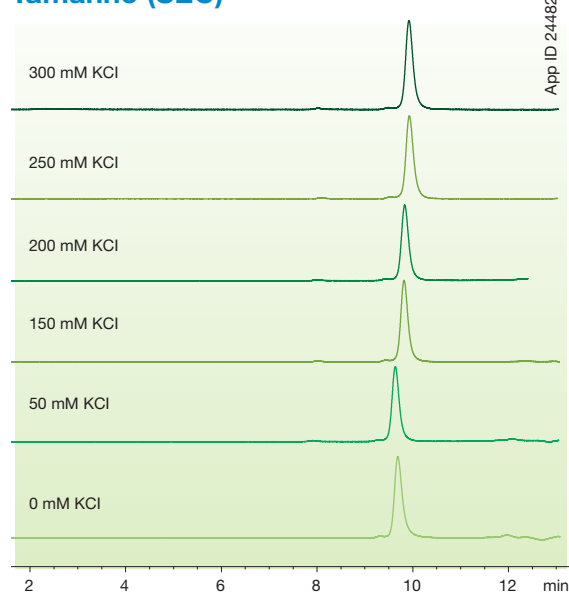
Quando se desenvolve um Método para Análise de Agregados de mAbs em Exclusão por Tamanho - SEC, é importante otimizar as condições da Fase Móvel, de modo a prevenir interações Secundárias não específicas. Abaixo é possível ver o efeito da alteração da concentração de Sal na Fase Móvel para dois mAbs Biossimilares diferentes. O primeiro mAb necessitou de uma quantidade moderada de Sal para obter um Formato de Pico aceitável. O segundo mAb teve bom desempenho, mesmo sem Sal. Entretanto, o aumento de Sal mostrou melhorias incrementais no Formato do pico.

O ideal é que as concentrações do Tampão e do Sal sejam otimizadas com base nas necessidades do Método ou da Análise. Entretanto, quando há necessidade de um método genérico, assim como quando há a necessidade de se avaliar vários mAbs diferentes, um bom ponto de partida para o desenvolvimento do método é o Fosfato Monopotássico a 50 mM e o Cloreto de Potássio a 250 mM, com pH 6,8.

#### mAb 1, Perfis - Exclusão por Tamanho (SEC)



#### mAb 2, Perfis - Exclusão por Tamanho (SEC)



Condições iguais para ambas as amostras exceto quando indicadas:

**Coluna:** bioZen 1,8 µm SEC-3  
**Dimensões:** 300 x 4,6 mm  
**Referência:** 00H-4772-E0  
**Fase Móvel:** 50 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 6,8  
KCl (conforme indicado)  
**Fluxo:** 0,3 mL/min  
**Deteção:** UV-Vis a 280 nm  
**Temperatura:** Ambiente  
**Sistema HPLC:** Agilent 1100

