

Analiza spektrometryczna analogów insuliny INSCG(21A)RR na kolejnych etapach produkcji

OPIS TECHNOLOGII

Przedmiotem technologii było monitorowanie procesów biosyntezy i oczyszczania insuliny AKR oraz prekursora insuliny KP (uzyskanych w ramach tematu nr 50.72.16) poprzez wykonywanie pomiarów spektrometrycznych prób dostarczanych na różnych etapach produkcji. Opracowano również i przeprowadzono trawienie za pomocą trypsyny i proteazy V8 frakcji z rozdziału HPLC prekursora insuliny KP w warunkach nieredukujących i redukujących.

PODSTAWOWE DANE

- ✓ BRANŻA: farmaceutyczna
- ✓ WŁASNOŚĆ: Łukasiewicz – Instytut Chemii Przemysłowej (Łukasiewicz – IChP) 100%
- ✓ FORMA OCHRONY: know-how
- ✓ ŹRÓDŁO FINANSOWANIA/ROK: środki własne 2019

ZASTOSOWANIE

Monitoring i identyfikacja ww. białek pozwoliły na wprowadzenie modyfikacji procesu produkcji i oczyszczania insuliny AKR oraz prekursora insuliny KP prowadzonych w ramach tematu 50.72.16, wpływając na zwiększenie wydajności procesu wytwarzania produktu głównego i efektywności jego oczyszczania.

Przedstawione rezultaty analiz zostały przekazane osobom zajmującym się tematem 50.72.16 „Prace nad otrzymywaniem analogów insuliny INSCG(21A)RR w komórkach E. coli IBA”, stanowiąc podstawę do modyfikacji procesu produkcji i oczyszczania analogów insuliny ludzkiej.

Analiza spektrometryczna analogów insuliny INSCG(21A)RR na kolejnych etapach produkcji

PRZEBIEG PROCESU

Wykonanie oznaczenia MALDI-TOF

Widma masowe wykonano za pomocą spektrometru masowego MALDI-TOF/TOF. Próby badane analizowane były poprzez nakładanie na stalową płytkę 0,5 µl badanego roztworu oraz 0,5 µl roztworu matrycy CHCA (nasycony roztwór CHCA w 0,1% TFA, zawierający 50% acetonitrylu) przynajmniej w dwukrotnym powtórzeniu. Kalibracja aparatu wykonywana była w oparciu o wzorzec zewnętrzny 4700 CalMix. Widma masowe rejestrowane były w trybie z reflektorem z pozytywną jonizacją (+) przy zastosowaniu metod optymalizowanych (zakres rejestrowanych mas oraz moc lasera i liczba strzałów) bezpośrednio dla dostarczonej próby. Trawienie wybranych prób proteazą V8 i niezależnie trypsyną prowadzono zarówno w warunkach nieredukujących, jak i redukujących (z zastosowaniem DTT jako odczynnika redukującego i jodoacetamidu – alkilującego).



RYNEK/REFERENCJE

W odpowiedzi na rosnące potrzeby szeroko pojętego rynku spektrometria mas dostarcza kompleksowe rozwiązania w zakresie analiz dla dużych i małych cząsteczek. Zastosowanie nowoczesnych spektrometrów mas umożliwia wykonywanie analiz ilościowych i jakościowych, opracowywanie nowych metod, dostosowanych do szybko zmieniających się potrzeb.