

Product: SHP648,SHP654
 Experiment: HPLC,IEX
 Sample: FF648FDP17096; PP754_1919; L754_1919
 Remark: 190802_AAV8_FC_IEX_DFM10012
 Keyword: FFP; SOP051008
 Autor: Bock, Lucas

Startdate: 02.08.2019

DFM10012

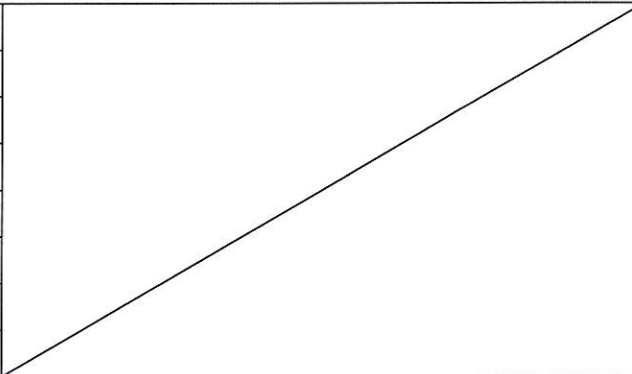
Ionenaustauschchromatographie von TAK754 und TAK748 Proben zur Analyse von vollen Viruscapsiden

1 Ziel

Analytik zur Bestimmung von vollen und leeren AAV8-Capsiden. Die Trennung erfolgt durch IEX HPLC. Die Auswertungen erfolgt mittels FLD (Ex: 280 nm, Em: 340 nm).

2 Durchführung

2.1 HPLC-Anlage

HPLC-Anlage:	Agilent <u>1204</u>			
Software:	Agilent Technologies Open Lab			
HPLC-Methode:	SHP648_FC_IEX.amx			
Säule/n:	Name	Size (L x ID; particle)	Serial. No.	Product No.
	Agilent Bio-Monolith-Säule für QA	5,2 mm x 4,95 mm	<u>SICJH00151</u>	5069-3635
Eluent A	20mM Tris pH8.5		LOT: <u>260719/1/bockl</u>	
Eluent B	20mM Tris pH8.5; 100mM MgCl2		LOT: <u>260719/2/bockl</u>	
Gradient:	Time	A%	B%	
	0	100	0	
	2	100	0	
	27	37,5	62,5	
	28	0	100	
	30	0	100	
	34	100	0	
	35	100	0	
Flussrate	1 mL/min			
Stop Time (min)	35			
Autosampler:	Injektionsvolumen:	100 µl		
	Temperatur:	4°C		
Säulenofen:	Temperatur:	25°C		
DAD-Detektor:	Wellenlängen:	254nm / 280nm Ref380nm		
	Spektren:	210-400nm		
FLD-Detektor:	Wellenlängen:	Ex280nm Em340nm;		
	PMT-Wert:	10		

Ablaufdaten wurden geprüft und haben entsprochen.

LUCAS BOCK

07. Aug. 2019

LB

2.1.1 Sonstige Geräte

- kalibrierte Pipetten, Eppendorf
- Vials für Proben und Kontrollprobe:
Qsert Vials screw cap and presli Lectra Bond PTFE/silicone septa, Fa. Waters P/N 186001128c
- Vials für Blank bzw. Wasser:
2ml Screw cap vials, clear, Fa. Agilent Technologies, Part.No.5182-0714
- Cap, 9mm blue screw PTFE/RS, Fa. Agilent Part. No. 5185-5820

2.2 Kontrollprobe

Nr.	Name	[µL] Probe	[µL] Eluent A	Gesamtvolumen [µL]	Anmerkung
1	PP648_1828TMAE_E_FILT	20	580	600	control sample

2.3 Proben und Probenvorbereitung

Die Proben werden im Verhältnis 1:5 verdünnt und 100 µL injiziert. (30 µL Probe + 120 µL Eluent A)

Nr.	Name	[µL] Probe	[µL] Eluent A	Gesamtvolumen [µL]	Anmerkung
1	FF648FDP17096 (GTV0092S01) cycle 24 months	30	120	150	Eva Fritscher
2	FF648FDP17096 (GTV0092S01) ≤-60°C 24 months	30	120	150	
3	PP754_1919TMAE_E2	30	120	150	Peter Mayer
4	PP754_1919TMAE_E_FILT	30	120	150	
5	L754_1919_TMAE_E1	30	120	150	Michael Feldhofer
6	L754_1919_TMAE_E2	30	120	150	
7	L754_1919_TMAE_E3	30	120	150	
8	L754_1919_TMAE_E	30	120	150	
9	L754_1919_TMAE_NE	30	120	150	

2.4 Spiking Versuch

Nr.	Name	[µL] Probe	[µL] Eluent A
1	PPTest_1904_UCE F05	60	240
2	PP073_1918TMAE_E_FILT	60	240

Nr.	Name	[µL] PPTest_1904_UCE F05 (1:5 verd.)	[µL] PP648_1828TMAE_E_FILT (1:30 verd.)	[µL] PP073_1918TMAE_E_FILT (1:5 verd.)
1	Spiking 1	60	60	
2	Spiking 2	60		60

Es werden je 100 µL injiziert.

3 Sequenzen

location	sample name	method	inj/locatio	inj volume	sample info
	blank	SHP648_FC_IEX.amx	1		
92	Control sample	SHP648_FC_IEX.amx	1	100	
	blank	SHP648_FC_IEX.amx	1		
1-10	Sample set	SHP648_FC_IEX.amx	1	100	
	blank	SHP648_FC_IEX.amx	1		
92	Control sample	SHP648_FC_IEX.amx	1	100	
	blank	SHP648_FC_IEX.amx	1		

Eine Column Clean Injektion nach spätestens 20 Probenmessungen!

LUCAS BOCK

07. Aug. 2019