

# 慧德易电子期刊

H&E Electronic Journal

第 119 期

连续流层析在血液制品纯化的应用

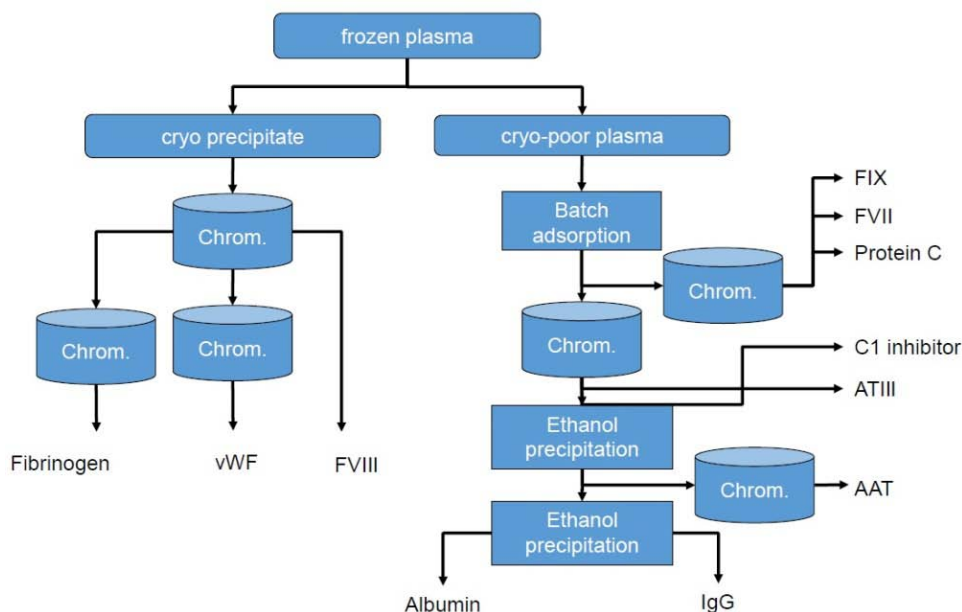


2019 年 5 月

## 第 119 期 连续流层析在血液制品纯化的应用

血液制品是指从人体血浆中分离提取出的各种人血浆蛋白制品，主要包括人血白蛋白、免疫球蛋白、凝血因子和其他蛋白成分。

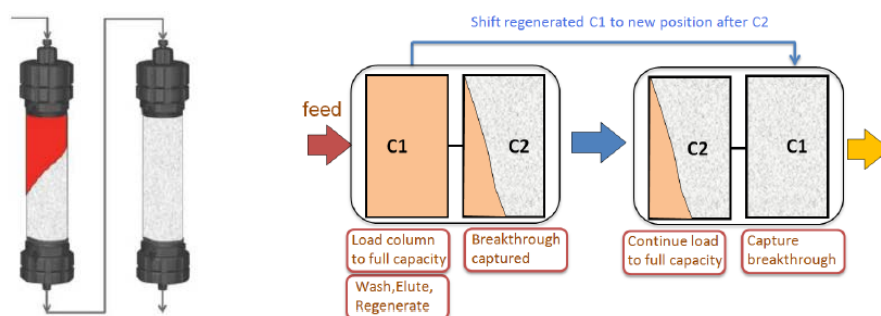
血液制品分离需采用低温乙醇沉淀分离法，各种蛋白在不同的条件下分步从溶液中析出。各组分离则需采用层析方法，主要包括亲和层析和离子交换层析。



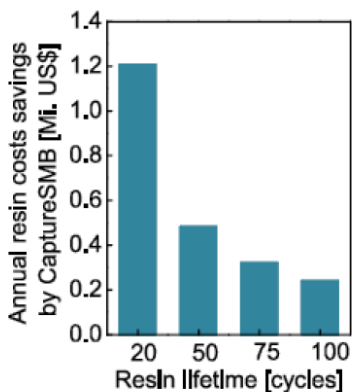
### 【Capture SMB 应用于亲和层析】

传统亲和层析工艺，由于流穿效应，有 40-60%的填料是无法被利用的，从而使得载量和处理量大为受限。Capture SMB 用于优化捕获环节，作为最简单和最强大的 2 柱位设计，可使纯化效率显著提高，并且使填料用量大为缩减。

Capture SMB 是在第一根层析柱出现样品流穿时，继续上样至第二根层析柱，待第一根层析柱完全满载后，方结束其上样，进行洗脱、清洗等操作，而此时第二根层析柱仍继续上样。通过切换柱位操作，保证 2 根层析柱的洗脱、再生、上样等操作交替衔接进行，保证连续上样，从而实现工艺与系统硬件设计的完美结合，使填料利用率最大化，纯化效率显著提高。



从预处理血浆中捕获 AT-III 通常采用肝素亲和层析法。将单柱 Batch 工艺与 Capture SMB 进行对比实验，使用亲和填料 TOYOPEARL® AF-Heparin HC-650M，用血浆上清液（AT-III: 0.08-0.24 g/L）进行上样，采用 TSKgel Heparin-5PW 分析柱进行浓度测定，最终研究表明，采用 Capture SMB，可使填料载量提高 45%，产率提高 38%，同时使缓冲液消耗量降低 29%。



Plasma processed per year	[L]	492800
Pool size	[L]	1600
Pool processing time	[h]	24
AT III concentration	[g/L]	0.1
AT III amount per pool	[kg]	0.16
Effective production per year	[Kg]	49.28
Heparin affinity resin costs	[US\$/L]	8200*

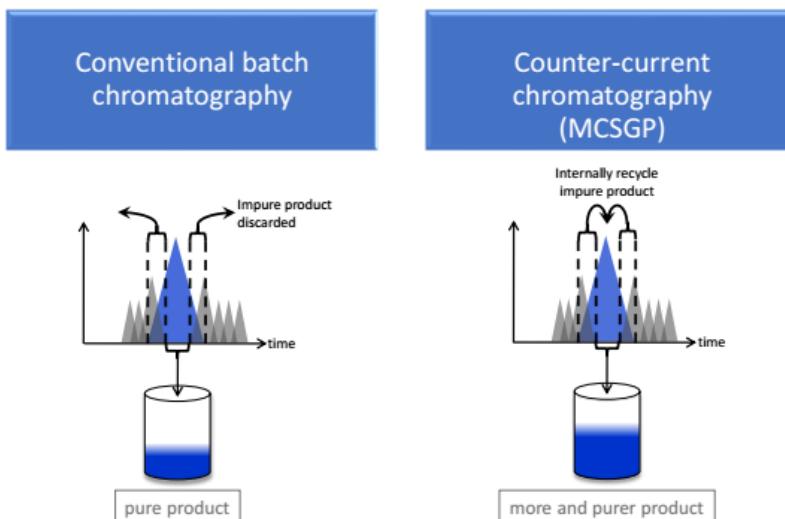
#### Materials and Methods

- Feed: cryo-supernatant from human plasma (AT III: 0.08-0.24 g/L)
- Column dimensions: Batch (ID 0.5cm x BH 10cm)  
CaptureSMB (ID 0.5cm x BH 5cm).
- Resin: Toyopearl® AF-Heparin HC-650 M (Tosoh bioscience)
- Analytics: TSKgel Heparin-5PW (Tosoh bioscience)
- Chromatographic equipment: ContiChrom® Lab-10 (ChromaCon AG)

### 【MCSGP 应用于离子交换层析】

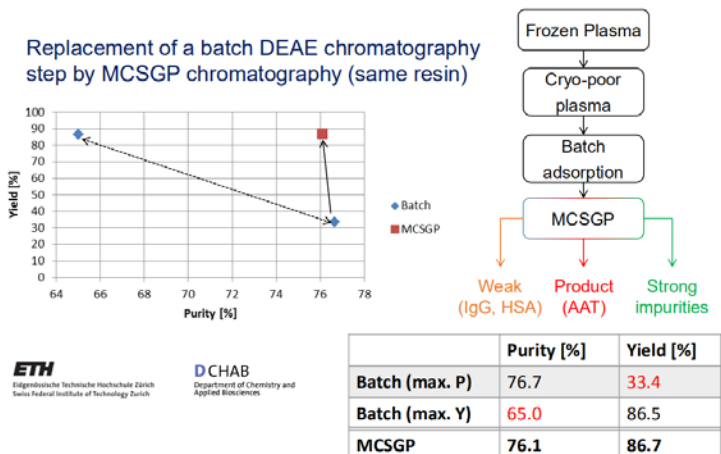
MCSGP (Multi-column Counter-current Solvent Gradient Purification) 是采用双柱进行连续纯化，可以解决单柱层析时纯度和收率无法同时保障的问题。

采用 MCSGP，可将含有不纯组分的产品回收再纯化，进行循环式的层析操作，从而最大限度地提纯产品，使得纯度和收率二者兼得。



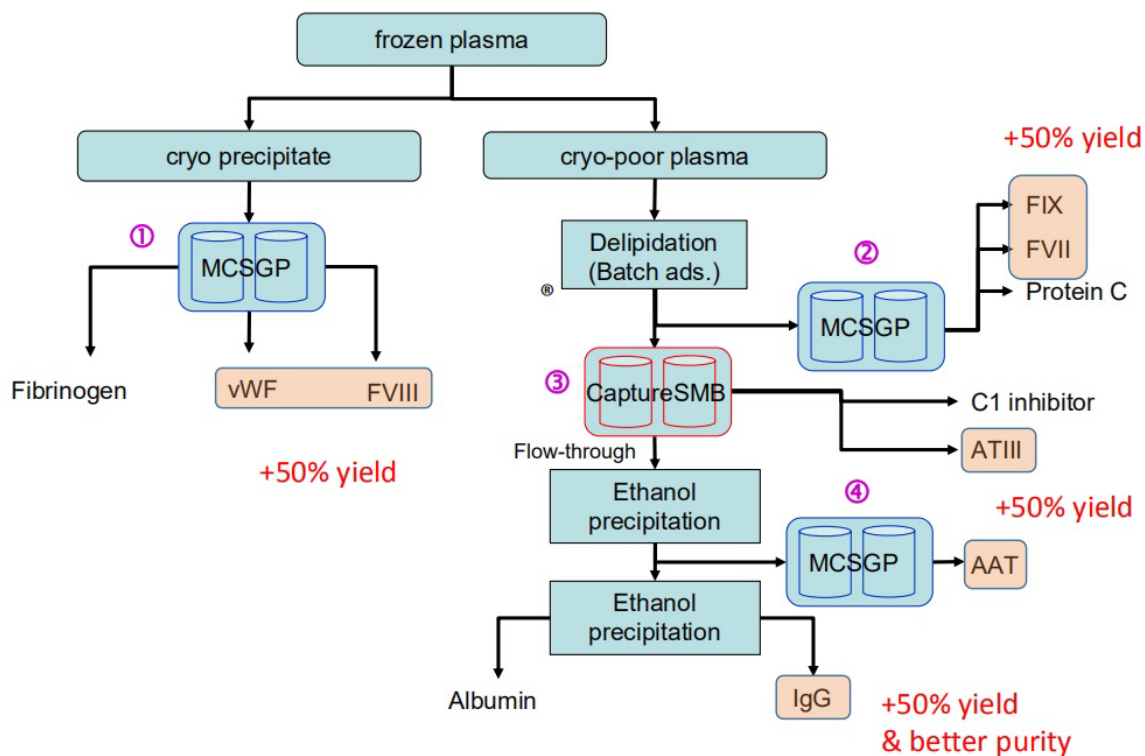
传统单柱层析 (左): 重叠组分被舍弃; MCSGP (右): 重叠组分被在线回收, 再次纯化。

从血浆中纯化 AAT 需采用 DEAE 离子交换层析，有研究表明，采用单柱 Batch 工艺纯化 AAT，产品纯度 76.7% 时，收率为 33.4%；产品纯度 65.0% 时，收率为 86.5%，纯度和收率此消彼长。采用 MCSGP 工艺后，可在产品纯度 76.1% 时，仍保证收率为 86.7%。



**【整体解决方案】**

连续流层析可应用于血液制品纯化的多个阶段，有效提高纯化效率，改善收率和纯度，详见下图：



北京慧德易专注于层析领域十余年，可提供从层析设备、层析填料，到纯化工艺、分析方法的整体解决方案。



## 【TOSOH 填料选择指南】

分离方式		典型应用	推荐填料型号
尺寸排阻法		分离二聚体，多聚体，抗体降解物，融合蛋白，膜蛋白，不同碱基对的核苷酸，多糖	Toyopearl HW 系列
		脱盐	HW-40 系列
		抗生素	HW-40C
离子交换法	阴离子交换介质	去除内毒素	Toyopearl Giga Cap Q-650M, Toyopearl Giga Cap DEAE-650M
		血浆蛋白	Toyopearl Giga Cap Q-650M, Toyopearl Giga Cap DEAE-650M
	阳离子交换介质	八因子	Toyopearl DEAE-650M
疏水层析法	疏水性差异的蛋白或核酸		Toyopearl Phenyl-650, Toyopearl Butyl-650
	脂肪酶		Toyopearl Phenyl-650,
亲和层析法	单抗，抗原		Toyopearl AF-rProtein AHC-650F
	重组蛋白		Toyopearl AF-Chelate-650M
	抗凝血酶		Toyopearl AF- Heparin HC-650M

## 【慧德易实验室&培训中心】

北京慧德易已于 2017 年在北京昌平生命科学园蛋白质药物国家工程研究中心成立慧德易实验室&培训中心，现已成功举办多期连续流技术培训班及层析技术应用培训班。



北京慧德易实验室&培训中心可为广大客户提供工艺开发、产品展示及培训服务，欢迎广大客户莅临指导！



北京慧德易科技有限责任公司

咨询电话：010-59812370/1/2/3

公司官网：www.prep-hplc.com

邮 箱：sales@prep-hplc.com

微信公众号：北京慧德易