



生物制药工业中 生产规模的生物分离

*PROCESS SCALE BIOSEPARATIONS
FOR THE BIOPHARMACEUTICAL INDUSTRY*

主编 【美】 Abhinav A. Shukla
Mark R. Etzel
Shishir Gadam

主译 凌沛学

 中国轻工业出版社

生物制药工业中生产规模的 生物分离

**PROCESS SCALE BIOSEPARATIONS FOR
THE BIOPHARMACEUTICAL INDUSTRY**

 中国轻工业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

生物制药工业中生产规模的生物分离/ (美) 舒克拉
(Shukla, A. A.), (美) 埃策尔 (Etzel, M. R.) 主编;
凌沛学等译. —北京: 中国轻工业出版社, 2011. 3

ISBN 978 - 7 - 5019 - 8007 - 9

I. ①生… II. ①舒… ②埃… ③凌… III. ①生物制
品: 药物 - 分离法 (化学) IV. ①TQ464

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 253159 号

PROCESS SCALE BIOSEPARATIONS FOR THE BIOPHARMACEUTICAL INDUSTRY/ by Abhinav A.
Shukla, Mark R. Etzel and Shishir Gadam/ISBN 1 - 57444 - 517 - 0

Authorized translation from English language edition published by CRC Press, part of Taylor & Francis Group LLC, All Rights Reserved. China Light Industry Press is authorized to publish and distribute exclusively the Chinese (Simplified Characters) Language edition. This edition is authorized for sale throughout Mainland of China. No part of the publication may be reproduced or distributed by any means, or stored in a database or retrieval system, without the prior written permission of the publisher. Copies of this book sold without a Taylor & Francis sticker on the cover are unauthorized and illegal.

本书原版由 Taylor & Francis 出版集团旗下 CRC 出版公司出版, 并经其授权翻译出版, 版权所有, 侵权必究。本书中文简体翻译版授权由中国轻工业出版社独家出版并只限在中国大陆地区销售, 未经出版者书面许可, 不得以任何方式复制或发行本书的任何一部分。本书封面贴有 Taylor & Francis 公司防伪标签, 无标签者不得销售。

策划编辑: 江 娟 责任终审: 唐是雯 封面设计: 锋尚设计
责任编辑: 江 娟 版式设计: 宋振全 责任监印: 张 可

出版发行: 中国轻工业出版社 (北京东长安街 6 号, 邮编: 100740)

印 刷: 航远印刷有限公司

经 销: 各地新华书店

版 次: 2011 年 3 月第 1 版第 1 次印刷

开 本: 787 × 1092 1/16 印张: 27.5

字 数: 630 千字

插 页: 1

书 号: ISBN 978 - 7 - 5019 - 8007 - 9 定价: 56.00 元

著作权合同登记 图字: 01 - 2009 - 4088

邮购电话: 010 - 65241695 传真: 65128352

发行电话: 010 - 85119835 85119793 传真: 85113293

网 址: <http://www.chlip.com.cn>

Email: club@chlip.com.cn

如发现图书残缺请直接与我社邮购联系调换

090362K1X101ZYW

译者序

近年来，生物制药工业获得了飞速发展，该产业已成为全球经济的重要增长点。虽然经过多年的发展，我国生物制药产业已经具备了良好的基础，但是与世界先进国家的生物制药产业相比，还存在着一定差距。为了方便国内投身于生物制药工业的广大科技工作者的学习和工作，中国轻工业出版社邀请我们对《Process Scale Bioseparations for the Biopharmaceutical Industry》一书进行翻译，将国外生物制药工业中应用的分离纯化技术介绍给广大读者，以促进我国生物制药产业的持续发展。

与以往本领域的专著不同，本书最主要的特点是不仅介绍了各种生物分离技术的基本原理，还重点关注了各种技术的工艺放大过程，并列举了多个生产规模的操作实例。因此，本书对生物药物的工业化生产具有很高的指导意义。另外，本书对生物药物的申报中所涉及的一些共性问题也进行了介绍，并提出了解决方案。

本书由凌沛学研究员主译，并经张天民教授、林秀坤研究员、王革研究员和金艳博士审核和修改。其他译者包括：樊志萍、段荣帅、贺艳丽、郭学平、朱希强、张玉华、蒋秋燕、陈祥娥、荣晓花、生举正、张青、黄思玲。在翻译过程中，我们尽可能保持与原著一致，力求译文的正确表述。但限于我们的知识面和水平，难免会有疏漏和不当之处，恳请广大读者指正。

希望本书能为我国生物药物领域的广大科技工作者提供有意义的指导，为促进我国生物制药产业的发展做出贡献。

译者

2010. 12

序 言

近年来生物制药工业迅速发展，无论是其产值还是新产品多样性方面，均使得这一新兴产业发展成为全球经济的重要组成部分。生物技术药物的商业化成功依赖于稳健、可靠和经济的生产工艺的成功开发与实施。在生物制药产业中，生物工艺开发越来越被视为竞争优势的关键来源。这一趋势将随着该产业的成熟而持续发展。生物分离（通常被称为下游工程）是指从生物原料中回收和纯化生物分子的多种生产过程及其组合。因生物分子的多样性及其生物化学性质的复杂性，生物分离领域的丰富和多变性也是不足为奇的。

然而，大多数生物分离领域的发展记载于范围极广的科技论文、专利和会议报告中，这些文献提供的信息对工艺开发的入门者和想要学习新技术的富有经验的科学家和工程师来说都是比较混乱的。生物系统本质上是复杂的，往往不能用数学模型精确地界定。因此，生物工艺的开发既是一门技术，又是一门科学。另外，生物药物的生产受到严格监管，所以在工艺开发中常需考虑多项法规的要求。本书首先阐明了理解每一主题所必需的基本概念和基本原理，然后提供了一系列经验法则，这些法则来源于现行的大规模工艺的实际产业化经验，从规模放大问题中接受的教训，以及在开发和审批中产生的监管问题。此书简明、实用，以大量的表格、流程图和示意图阐明在生物制药产业中如何进行工艺开发的全貌。每章中作者试图集中呈现与本领域密切相关的各项科学原则、实际问题和实验方法，为读者提供在生物制药工业中如何进行纯化工艺开发的全景。从这种意义上来说，本书显著不同于此前本领域的著作，相应著作或者主要提供理论上的观点，或者将关于某一课题科技进展的论文进行汇编。

本书内容集中于三个大的领域。首先介绍了下游单元操作、操作基本原理和工艺开发中的注意事项。有关章节介绍了生物工艺界广泛接受的单元操作和未来可能获得更广泛认可的方法。其后的几章讨论了下流工艺开发中极为重要的辅助工作，包括病毒验证和中间过程分析方法。最后几章详述了各种生物分子的下流开发，以及所采取的工艺开发策略。

第一章概括地综述了收集-澄清技术的原理（离心、深层过滤和切向流过滤），并提供了从高细胞密度发酵液中收集蛋白质治疗产品的实例。本章全面的文献综述会为从业者提供有价值的指导，使从业者能够遨游于下游工程这个广阔的研究领域。膨胀床吸附可作为第一章提到的传统技术的替代方法。第二章提出了膨胀床吸附工艺开发的理论和实验框架，以及一项真实的个案研究。在过去的十年中，人们对这项综合技术的兴趣不断增长，且该项技术具有降低产品总成本的潜力，因此我们相信本章对许多读者来说都是极有价值的。第三章介绍了另一项新技术（高梯度磁钓技术），可将收集-澄清和色谱捕获以及纯化各步骤整合为一体。磁力吸附剂具有强有力的、独特的“钓钩”，可简单地通过磁场的应用，将产品从粗细胞培养液和发酵液中“钓”出来。因高梯度磁

钓技术能够快速处理大量的细胞收集液，所以具有鲜明的工业化应用前景。

第四章清楚地说明了蛋白质复性的基本原理，并为读者提供了开发和优化复性工艺的实验策略。本章提供了大规模蛋白质复性操作开发中的各项注意要点。

第五章介绍了蛋白质批量结晶技术，因为该技术能够：① 在早期阶段回收产品；② 在下游工艺的精细纯化阶段生产超高纯度的产品；③ 提高产品的稳定性，延长贮存期；④ 为蛋白质治疗药物提供新剂型，所以引起了日益增长的关注。本章为新入门的研究者介绍了该方法的基本原理和实验设计所需的关键公式，说明了数据分析方法，并提供了工业实践中的研究实例。

色谱分离广泛应用于生物药物的生产中。因此，以下三章提供了指导性的实用性建议，并对生产规模的色谱进行了讨论。第六章主要介绍了不同的色谱模式。对所有主要的生产规模的色谱进行了讨论：亲和色谱、离子交换色谱、疏水作用色谱、反相色谱、羟磷灰石色谱、固定化金属离子亲和色谱、嗜疏作用色谱、混合模式和分子排阻色谱。每一部分都为读者提供了基于大规模生产经验的经验法则和启发式指导。

第七章列出了工业化分离工艺中色谱树脂的筛选和选择中的实际问题和方法。其中特别指出了极大地推进固定相筛选工作的工具，如高通量筛选、retentate 色谱系统和累积产率-纯度图。

第八章介绍了一种可能完全改变现行工艺开发模式的技术，即从蛋白质结构数据预测色谱分离。前两章集中于目前应用的色谱单元操作实验方法，本章则描述了通向研究者“圣杯”的重大进展，即能够仅通过模拟预测色谱性能。本章介绍了预测蛋白质色谱参数的方法，并概述了这种技术在小分子领域以外的拓展应用方面的最新进展。

其后的三章详述了基于膜的单元操作。第九章提供了预测膜色谱系统中穿透曲线的简单数学模型，并解释了如何应用这些模型分析实验室和大规模生产数据。这种分析方法被拓展至用于预测膜色谱系统的病毒清除率。第十章集中于工业规模工艺中超滤步骤的设计和实施。超滤/渗滤广泛应用于下游工程中的浓缩、缓冲液更换和最终制剂。超滤系统的放大中面临着工程学方面的限制，本章对其解决方法给予了特别关注。第十一章系病毒过滤工艺的设计和实施，概述了病毒过滤器的选择、工艺设计和优化（垂直流模式和切向流模式），并详述了工业规模实施中的实际操作程序。

认识到生物药物生产中转基因原料的经济潜力，本书第十二章的内容介绍了从转基因原料中回收蛋白质的新兴技术，概述了转基因来源的蛋白质的生产和回收，并讨论了未来将成为现实的转基因来源产品所面临的亟待解决的挑战，本章内容广泛，具有一定的指导意义。

本书以下几章内容介绍了生物药物生产的下游工艺开发中旨在确保纯度、有效性和安全性的附加工作。其中的关键为中间过程分析方法，这是下游工艺开发者的“眼睛和耳朵”。第十三章介绍了生物药物的不同质量和有效性属性，并提供了有关属性评价分析方法的实际指导。第十四章对确保下游工艺中产品免受病毒污染，保证安全性的各项措施提供了良好指导。本章概述了病毒引入工艺流体的各种可能方式，合适的病毒清除研究的设计，选择合适的模型病毒应注意的问题，以及缩比模型的设计。第十五章描述了病毒清除的最新趋势，该领域的监管全景和实现病毒清除的各种已确立的方法和新

兴方法之间的深入比较。

本书的最后几章集中讨论了不同种类的生物分子，并对其生产规模的纯化进行了介绍。现在，单克隆抗体属于最重要的生物药物之一，本书有三章内容对其下游工程进行了介绍。第十六章对这种治疗药物进行了全面阐述，并为抗体下游工程的关键纯化步骤——蛋白 A 亲和色谱的开发提供了详细的实际指导。第十七章介绍了单克隆抗体下游工程的精细纯化色谱步骤的开发。除了实用性建议，本章还提供了几种有用的工艺模板。当使用传统的色谱树脂对生物大分子如基因治疗载体进行纯化时，其低结合容量对工艺的规模放大提出了极大的挑战。第十八章提供了一种已批准的生物药物（Remicade®）的工业化个案研究，详细介绍了审批后的工艺变更和用于获得监管部门批准的申报策略。

第十九章描述了细菌多糖疫苗的纯化。对这种分子的超滤规模放大中出现的意外问题及其解决方案进行了研究，这使得我们对超滤工艺有了更好的了解。

第二十章进一步强调了对于较大分子的纯化，膜色谱的对流转运在克服传统珠状树脂的容量限制方面的优势。本章也提供了关于另一类新兴生物药物——基因治疗载体纯化的全面的文献综述。

我们希望本书能够为生物制药和生物技术产业、学术界和政府实验室中越来越多的工艺开发科技人员提供有价值的资料。生物药物领域的从业者迫切需要一本将基本原理与源于生物分离领域大规模生产经验的实验指导原则相结合的全面的指导性著作，这是编者和作者的共有愿望，在某种程度上，本书的出版受到了这种愿望的激励。这使我们确信，这本书会给那些准备在生物工程领域执业的毕业生和高年级学生提供及时的指导。生物制药领域正在快速发展，我们相信，本书将在世界范围内找到致力于该行业的热心读者。

Abhinav A. Shukla

Mark R. Etzel

Shishir Gadam

中译本前言

20 世纪 50 年代以来,生物化学和分子生物学在 DNA 双螺旋结构、遗传密码、基因克隆、单克隆抗体、PCR 技术等方面取得了一系列突破性进展。这些重大成果为生物药物的研究和开发开辟了广阔的天地。一些上市的生物药物对代谢综合征和癌症等已经显示出专一而明确的疗效。尽管如此,目前国内外已经开发出来的生物药物不仅价格昂贵,而且数量有限。也就是说,许多有潜在应用价值的生物药物尚有待开发,同时其生产成本和价格有待降低,以造福于更多患者。纵观一种生物药物的研发过程,大致可分为上下游两个阶段,上游包括基因表达和发酵,下游包括产物的分离、复性、纯化、结晶等一系列步骤。实际上,生物药物研发的关键是如何提高下游各步骤的产率和进行大规模生产。正是为了突破影响生物制药发展的这一瓶颈,美国一些著名药厂和大学的有关专家编写了《Process Scale Bioseparations for the Biopharmaceutical Industry》一书。本书的特点是侧重介绍生物药物在生产规模的分离中应用的一些先进技术和设备,并附有操作实例。我国生物制药企业近年来的发展十分迅速,但因起步较晚,具有自主知识产权的药物品种和数量还比较少,因此本书介绍的先进经验对我国生物制药的从业者具有重要的参考和借鉴价值。此外,本书除详尽叙述一些行之有效的技术以外,也提到目前尚不成熟但可能有发展前途的新方法,如膨胀床吸附、高梯度磁钓、色谱参数预测等。这些方法及其所涉及的理论可以启发我们在生物制药方面进一步创新。

本书由山东省药学科学院凌沛学研究员和张天民教授组织山东省药学科学院和山东福瑞达医药集团公司等单位近二十位译审者通力合作完成。他们在生物制药上积累了丰富的实践经验,因此其译文忠实于原著并简明扼要。我相信中译本的出版必将有力促进我国生物制药的发展。

張友尚

中国科学院生物化学与细胞生物学研究所 研究员

中国科学院院士

2010 年 12 月 30 日

编者

Abhinav A. Shukla 是华盛顿西雅图 Amgen 公司纯化工艺开发团队的首席科学家。他所领导的团队主要负责生物药物前期和后期的开发、表征、验证及下游工艺的转化。Shukla 博士在 Amgen 公司的治疗用单克隆抗体纯化平台战略的建立中起到了非常重要的作用。他启动了 Amgen 公司的多项技术创新，并发表了大量有关生物分离的出版物和报告。2000 年加入 Amgen 公司之前，Shukla 博士在华盛顿巴索的 ICOS 公司从事类似的工艺开发工作，进行细菌和哺乳动物细胞培养来源产品的下游工程研究。Shukla 博士获得了纽约特洛伊伦斯勒理工学院的化学工程专业博士学位，并获得印度理工学院的生物化学工程和生物技术专业的理学学士和理学硕士学位。

Mark R. Etzel 是美国威斯康辛大学麦迪逊分校的化学和生物工程专业教授。Etzel 博士在生物分离过程，包括膜吸附和过滤、冷冻干燥和喷雾干燥、离子交换和亲和色谱、蛋白质结晶方面拥有 17 年的教学、研究和咨询经验。Etzel 教授拥有美国普渡大学的化学工程系理学学士学位和加利福尼亚大学伯克利分校的化学工程博士学位。Etzel 博士在从事学术工作之前，曾在工业领域工作 6 年。

Shishir Gadam 是美国宾夕法尼亚州西点 Merck 公司生物工程研究和开发部门的成员，负责利用 Merck 公司生物制品中试车间的现有技术，进行疫苗和治疗用蛋白质的临床生产。在 Merck 公司工作的最近 9 年来，他在生物制品的多个不同领域，包括工艺开发、规模放大、技术转化至生产、临床用产品的 GMP 生产和工艺验证，都做出了贡献。1997 年加入 Merck 公司前，Gadam 博士在马萨诸塞州贝德福德的 Millipore 公司工作了 3 年，从事新型膜纯化技术的开发。Gadam 博士拥有纽约特洛伊伦斯勒理工学院的化学工程专业博士学位。

为本书做出贡献者

Mahesh K. Bhargat

Amgen Inc.

West Greenwich, Rhode Island

Merck Research Laboratories

Merck & Co. , Inc.

West Point, Pennsylvania

Glen Bolton

Purification Development

Wyeth

Andover, Massachusetts

Niklas Ebner

Institute for Technical Chemistry

Forschungszentrum Karlsruhe

Eggenstein – Leopoldshafen, Germany

Curt M. Breneman

Department of Chemistry and

Chemical Biology

Rensselaer Polytechnic Institute

Troy, New York

Mark R. Etzel

Department of Chemical and

Biological Engineering

University of Wisconsin

Madison, Wisconsin

Kurt Brorson

Division of Monoclonal Antibodies

CDER/FDA

Bethesda, Maryland

Matthias Franzreb

Institute for Technical Chemistry

Forschungszentrum Karlsruhe

Eggenstein – Leopoldshafen, Germany

Cynthia Cowgill

Regulatory Affairs

Chiron Corporation

Emeryville, California

Shishir Gadam

Bioprocess Research and

Development

Merck Research Laboratories

Merck & Co. , Inc.

West Point, Pennsylvania

Steven M. Cramer

Department of Chemical and

Biological Engineering

Rensselaer Polytechnic Institute

Troy, New York

Pete Gagnon

Bio – Rad Laboratories

Hercules, California

Christopher Daniels

Bioprocess Research and

Development

Marshall G. Gayton

Bioprocess Research and

Development

Merck Research Laboratories
Merck & Co. , Inc.
West Point, Pennsylvania

Sanchayita Ghose
Purification Process
Development
Amgen Inc.
Seattle , Washington

Brian Gierl
University of Pittsburgh School of
Medicine
Pittsburgh , Pennsylvania

Xuejun Sean Han
Purification Process Development
Amgen Inc.
Seattle , Washington

Timothy J. Hobley
Center for Microbial Biotechnology
BioCentrum – DTU
Technical University of Denmark
Kgs. Lyngby, Denmark

Mani Krishnan
Millipore Corporation
Bedford, Massachusetts

Amitava Kundu
Manufacturing Sciences and
Engineering
PDL BioPharma, Inc.
Brooklyn Park , Minnesota

Robert Kutner
Gene Therapy Vector Core
Louisiana State University Health

Sciences Center
New Orleans, Louisiana

Asif Ladiwala
Department of Chemical and
Biological Engineering
Rensselaer Polytechnic Institute
Troy , New York

Ajay R. Lajmi
Pall Life Sciences
Pensacola , Florida

Timothy Lavery
Centocor Research and
Development, Inc. ,
Malvern , Pennsylvania

Ann L. Lee
Process Development
Genentech Inc.
San Francisco , California

Brian Hubbard
Purification Process Development
Amgen Inc.
Seattle , Washington

Drew N. Kelner
Amgen Inc.
Thousand Oaks , California

Herb Lutz
Millipore Corporation
Billerica , Massachusetts

Thomas McNerney
Purification Process Development
Amgen Inc.

Seattle, Washington

Michele M. Myers

Global Biologics Supply Chain, LLC
Malvern, Pennsylvania

Asuman G. Ozturk

Pharmaceutical Development
Centocor, Inc.
Radnor, Pennsylvania

Mark Perreault

GTC Biotherapeutics
Framingham, Massachusetts

Michael W. Phillips

Millipore Corporation
Bedford, Massachusetts

John J. Lewnard

Millipore Corporation
Bedford, Massachusetts

Anurag S. Rathore

Manufacturing Science and
Technology
Amgen Inc.
Thousand Oaks, California

Karl Reindel

Manufacturing Sciences and
Engineering
PDL BioPharma, Inc.
Brooklyn Park, Minnesota

Jakob Reiser

Gene Therapy Vector Core
Louisiana State University Health

Sciences Center

New Orleans, Louisiana

William T. Riordan

Department of Chemical and
Biological Engineering
University of Wisconsin
Madison, Wisconsin

John Rozembersky

Bioprocess Research and
Development
Merck Research Laboratories
Merck & Co., Inc.
West Point, Pennsylvania

Narahari S. Pujar

Bioprocess Research and
Development
Merck Research Laboratories
Merck & Co., Inc.
West Point, Pennsylvania

Bala Raghunath

Millipore Corporation
Billerica, Massachusetts

R. Andrew Ramelmeier

Centocor Research and
Development, Inc.
Global Biologics Supply Chain, LLC
Malvern, Pennsylvania

Abhinav A. Shukla

Purification Process Development
Amgen Inc.
Seattle, Washington

Richard C. Siegel

Centocor Research and
Development, Inc.
Global Biologics Supply Chain, LLC
Malvern, Pennsylvania

Martin Siemann – Herzberg

Institute of Biochemical Engineering
University of Stuttgart
Stuttgart, Germany

Elisabeth Russell

Manufacturing Science and
Technology
Amgen Inc.
Thousand Oaks, California

David Serway

Chemical Technology and
Engineering
Merck Manufacturing Division
Merck & Co. , Inc.
West Point, Pennsylvania

Kevin E. Van Cott

Department of Chemical and
Biomolecular Engineering
Biological Process Development
Facility
University of Nebraska – Lincoln
Lincoln, Nebraska

Paul J. Voronko

Centocor Research and
Development Inc.
Global Biologics Supply Chain, LLC
Malvern, Pennsylvania

Alice Wang

Manufacturing Science and
Technology
Amgen Inc.
Thousand Oaks, California

Peter W. Wojciechowski

Global Biologics Supply Chain, LLC
Malvern, Pennsylvania

Hendrik I. Smit

Centocor B. V.
Leiden, The Netherlands

Alan Sonnenfeld

Project Management
Merck & Co. , Inc.
Rahway, New Jersey

Richard St. John

Process Development
Chiron Corporation
Emeryville, California

Owen R. T. Thomas

Department of Chemical
Engineering, School of Engineering
The University of Birmingham
Birmingham, United Kingdom

Jörg Thömmes

Department of BioProcess
Development
Biogen Idec Inc.
San Diego, California

P. K. Yegneswaran

Science and Technology

Merck Manufacturing Division

Merck & Co. , Inc.

West Point, Pennsylvania

Yinges Yigzaw

Purification Process Development

Amgen, Inc.

Seattle, Washington

Chenming (Mike) Zhang

Department of Biological Systems

Engineering

Virginia Polytechnic Institute and

State University

Blacksburg, Virginia

目 录

1 高细胞密度发酵液中治疗用蛋白质产物的收集：原理和实例	
Elisabeth Russell, Alice Wang, and Anurag S. Rathore	1
1.1 引言	1
1.2 原理	4
1.2.1 离心	4
1.2.1.1 固液分离原理	4
1.2.1.2 影响固液分离的因素	8
1.2.1.3 澄清效率	10
1.2.1.4 关键参数的定义	10
1.2.2 过滤	12
1.2.2.1 垂直流过滤	12
1.2.2.2 切向流过滤	18
1.2.2.3 膜污染	21
1.2.2.4 关键参数的定义	22
1.3 实例：毕氏酵母中表达的治疗用蛋白质的收集	23
1.3.1 材料	23
1.3.2 方法	25
1.3.3 结果与讨论	26
1.3.3.1 离心	26
1.3.3.2 深层过滤（方法 1A）	29
1.3.3.3 助滤剂辅助过滤（方法 1B）	32
1.3.3.4 微滤（方法 2）	33
1.4 结论	36
致 谢	37
术 语	37
参考文献	37
2 从粗液中捕获产品的膨胀床吸附技术	
Alan Sonnenfeld and Jörg Thömmes	41
2.1 引言	41
2.2 基本原理	42
2.2.1 流态化	42
2.2.1.1 实验方法学	42
2.2.1.2 流化床的稳定性	43

2.2.1.3	生物质存在时床的稳定性测定	45
2.2.2	流化床吸附蛋白质的动力学	45
2.2.2.1	液侧传质	45
2.2.2.2	颗粒侧传质	45
2.3	流化床吸附工作曲线图	46
2.3.1	整合液侧和颗粒侧传质	46
2.4	缓冲液消耗量	46
2.4.1	密度置换	47
2.5	设备改进	47
2.5.1	传统平板分布系统	47
2.5.2	替代分布系统	48
2.6	案例研究	48
2.6.1	工艺开发方法学	48
2.6.1.1	流态化	49
2.6.1.2	床的稳定性	49
2.6.1.3	建模期	49
2.6.1.4	小试	49
2.6.2	分步举例说明（蛋白 A 亲和 EBA 纯化抗体）	50
2.6.2.1	流态化	50
2.6.2.2	生物质传输	51
2.6.2.3	膨胀床的稳定性	51
2.6.2.4	吸附动力学	52
2.7	结论和展望	54
	参考文献	55
3	高梯度磁钓技术在产品回收中的应用	
	Matthias Franzreb, Niklas Ebner, Martin Siemann – Herzberg, Timothy J. Hobley, and Owen R. T. Thomas	
	J. Hobley, and Owen R. T. Thomas	56
3.1	基本概念	56
3.1.1	使用无孔磁力吸附剂进行分批吸附	56
3.1.2	实例 I：磁力吸附剂产品结合行为的简单表征	57
3.1.3	高梯度磁力分离（HGMS）	58
3.1.4	高梯度磁钓技术（HGMF）	59
3.1.5	HGMF 过程设计	62
3.2	适合于 HGMF 的吸附剂及其使用条件	63
3.2.1	磁力载体	63
3.2.2	配体的选择	66
3.2.3	实例 II：采用小规模分批实验测定 HGMF 吸附剂的使用条件	67
3.3	磁力分离系统的设计与建立	68

3.4 影响系统性能的参数	71
3.4.1 概述	71
3.4.2 简化吸附率估算	71
3.4.3 多组分系统	72
3.4.4 实例Ⅲ：容量比的优化	74
3.4.5 过程产率	76
3.4.6 实例Ⅳ：清洗和洗脱步骤的影响	78
3.4.7 吸附剂的重复利用	78
3.4.8 实例Ⅴ：中试设备的效率	80
3.5 总结	81
参考文献	81
4 蛋白质复性及其放大	
Cynthia Cowgill, Asuman G. Ozturk, and Richard St. John	84
4.1 引言	84
4.2 复性基础	84
4.2.1 增溶	85
4.2.2 复性	85
4.2.3 二硫键	86
4.2.4 复性添加剂	86
4.3 复性过程设计	87
4.3.1 决定是否复性	88
4.3.2 有无纯化的蛋白质?	88
4.3.3 目标蛋白质是否含有二硫键?	89
4.3.3.1 无二硫键蛋白质的复性	89
4.3.3.2 含二硫键蛋白质的复性	89
4.3.4 复性的分析	90
4.3.5 复性结果和提高复性产率的策略	90
4.3.5.1 不溶性产物	90
4.3.5.2 可溶性产物	91
4.3.5.3 实验设计的应用	91
4.3.6 预制的试剂盒	91
4.3.7 其他复性方法	91
4.3.7.1 分级稀释	92
4.3.7.2 渗滤	92
4.3.7.3 固相复性	92
4.4 复性反应的工艺放大	92
4.4.1 复性反应的组成部分	93
4.4.1.1 导致蛋白质微观不均一性的因素	93