

# 病毒及类病毒颗粒纯化专用层析介质制备工艺及其产品

## 1 背景及意义

病毒及类病毒颗粒物作为疫苗及基因治疗药物载体，因其具有高效的免疫原性，近年来在生物制药领域受到越来越多的重视。但由于该类生物颗粒物本身结构复杂(分子量上千万)、尺寸庞大(20-500 nm)，又加之表达体系复杂，伴生杂蛋白多，故常需要多步纯化，导致最终产品活性收率低，这一问题已成为制约该类生物制品大规模生产制备的瓶颈。层析技术具有过程温和、分辨率高、选择性好以及易于放大等特点，逐渐成为病毒及类病毒颗粒纯化的主要技术之一，其层析工艺的核心在于层析介质的选择。目前的层析介质多针对常规蛋白分子而设计，多存在介质孔径尺寸小、选择性差的问题。本技术针对该类大颗粒与其表达体系中其他杂蛋白分子尺寸差异大的特点，设计了核壳异质的复合型聚合物层析介质，将体积排阻谱和其它色谱模式相复合实现一步组合层析，提高病毒及类病毒颗粒收率和纯度。

## 2 技术优势

本技术开发了一种具有核壳结构的新型聚合物复合层析介质及其制备工艺(中试规模100升/批次)。该技术所制备的层析介质主要特点如下：1) 介质具有核壳结构，表面孔径小(小于100 nm)，可以有效截留尺寸较大的病毒及类病毒颗粒物进入介质内部，而介质内部孔径尺寸大(500 nm)，利于杂质蛋白内部快速传质；2) 介质壳层亲水中性且厚度可控，对目标物及杂蛋白均无吸附，而核心层则具有吸附功能基团，可以快速吸附分离体系中的杂蛋白，除杂效率高；3) 介质壳/核结构及表面性质均可独立分别控制，可根据不同病毒表达体系量身定制，保证目标物高活性收率以及高纯度；4) 国内首创制备聚合物基质的复合型层析介质(体积排阻+X)，目前国内外未见文献报道。

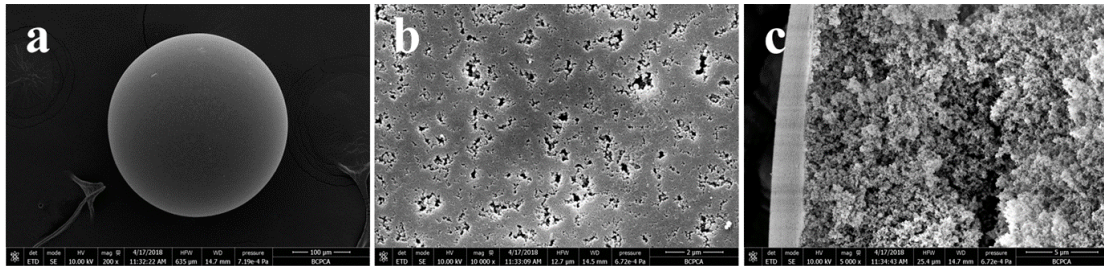


图 1 核壳聚合物微球表面形貌图 (a,微球全貌; b,壳层结构; c,核心结构 )

图 1 为自主研发的核壳结构聚合物层析介质表面形貌图，从表面形貌图上可见该层析介质具有核壳结构，壳层孔径尺寸小且相互独立，而核心孔径尺寸大且孔道之间相互连通。目前应用于生物制药企业生产中的类似层析介质仅有美国通用公司的 Capto Core-700，其详细性能参数对比见表 1，在耐压强度和蛋白结合载量方面，自主研发的该类介质与进口介质相比均有显著优势。

表 1 国外同类材料性能参数对比

参数	基质类型	孔径范围 (nm)	壳层截留分子量 (Da)	耐压强度 (MPa)	最大操作流速 (cm/h)	核心基团类型	动态结合载量 <sup>1</sup> (mg/mL)
自主研发	聚丙烯酸酯类	50-500	>70 万	<0.3	<300	按需定制不同色谱模式	50-80
美国通用	琼脂糖类	20-30	>100 万	<5	<300	疏水+阴离子交换	10-12

<sup>1</sup> 仅以核心为阴离子交换功能的介质为对比对象，测试条件 78 cm/h 流速下，5%流穿值对应的牛血清白蛋白结合量

### 3 推广应用

(1) 苏州某生物制药企业采用本技术所制备复合层析介质（壳层体积排阻+核心阴离子交换），纯化基因重组禽流感病毒，将经离心除杂、超滤浓缩后的收集液一次上样，即可得到纯度 90%以上病毒颗粒，抗原收率 90%以上，显著提升了该企业产品品质。

(2) 山东某动物疫苗生产企业，采用本技术所制备的复合层析介质（壳层体积排阻+核心（疏水+阴离子交换）），纯化重组狂犬病毒，将经离心除杂、超滤浓缩后的收集液一次上样，即可获得 95%抗原收率，相较原工艺（Capto Core-700）抗原收率提高近 20%，目前试用和分离工艺开发阶段。

(3) 该制备技术可有效控制聚合物微球的壳层和核心的物理结构，壳层孔径可从 0-200 nm 任意可控，同时其壳层表面生物相容性好，适合作为油溶性药物包埋材料，期望在药物载体和药物缓释领域有进一步推广应用。

#### 基于该技术的发明专利：

专利名称	专利号
一种具有核壳结构的多孔聚合物微球的制备方法	ZL 201810615178.5
一种复合型聚合物层析介质的制备方法	ZL 201910132716.X

### 4 对接联系

联系人：张荣月（新材料与化工学院应用化学专业 副教授）

邮 箱：zhangrongyue@bipt.edu.cn