

人血清白蛋白纯化技术研究进展

路秀玲 苏志国*

(中国科学院过程工程研究所生化工程国家重点实验室,北京 100080)

摘 要 本文综述了国内外关于血浆人血清白蛋白(pHSA)和基因重组人血清白蛋白(rHSA)分离纯化的进展和发展趋势。以冷乙醇沉淀为主的 pHSA 分离方法仍是目前多数工业采用的工艺,但近年来发展的离子交换色谱、凝胶过滤色谱、亲和色谱等多种色谱分离技术具有自动化程度高、生产周期短、更符合 GMP 等特点,正在逐步取代传统的冷乙醇沉淀法。当前用基因工程技术表达的人血清白蛋白对分离纯化提出了新的挑战。为获得高纯度、安全、稳定的产品,各种色谱分离技术得到更多的应用,其中扩张床离子交换色谱可以省去离心、过滤等传统固液分离操作。尽管 rHSA 的纯化技术已有一定的发展,但纯化过程仍需进一步优化以提高产品纯度及收率。

关键词 人血清白蛋白,纯化,重组人血清白蛋白,色谱

中图分类号 Q81 **文献标识码** C **文章编号** 1000-3061(2002)06-0761-06

人血清白蛋白(Human serum albumin, HSA)是迄今为止产量最大、用量最大的蛋白质药物。在人体内,血清白蛋白具有维持血液渗透压和携带血液中多种配基(包括脂肪酸、氨基酸、类固醇、金属离子及药物)与组织进行交换等生理功能,临床用于手术输血和危重病人补液,治疗创伤休克、发烧、水肿、低蛋白血症和红细胞过多症等,而且能增强人体抵抗能力,是重要的临床药物^[1]。目前, HSA 的市场需求量很大,国际市场年需求量达 600 吨,我国需求量已达 70 吨,并将随着农村生活水平和医疗条件的改善不断增加。

HSA 临床使用量大,每针剂量通常达 10g,而大多数蛋白质药物如细胞因子、激素的剂量仅为 μg 或 ng 级,因此相对其它蛋白质药物来说 HSA 的纯度要求更为严格。产品中即使有害杂质为 0.001%,每针剂仍会有 0.1mg 的杂质被注入人体,可能造成极大的危害。HSA 的纯化技术在此是关键因素。国内外已有许多科研机构致力于此方面的研究,并将其进行了大幅度改进。本文将对 HSA 纯化技术的进展及发展趋势进行综合分析。

1 血浆 HSA(pHSA)的纯化技术

目前市场上销售的 HSA 商品均由人血浆纯化而得。血浆中白蛋白含量约占总血浆蛋白质含量的 60%,纯化的目标主要是分离除去血浆中其它二百多种杂蛋白和可能存在的污染物质,得到无热原、无多聚体、无抗原抗体反应、无污染的纯品。

1946 年 Cohn 等人首先研究出大规模分级分离人血浆蛋

白的办法,利用乙醇的低介电常数性质以及蛋白质在一定温度、pH、离子强度及浓度条件下在不同浓度乙醇中溶解度不同分离血浆蛋白质,可以生产出多种血浆医用蛋白,成为著名的 Cohn 乙醇沉淀法。1971 年 Newman 等人对此方法进行了改进,将血浆在 $2\sim 4^{\circ}\text{C}$ 进行沉淀分离,可在同一过程中得到更多产物如血液第八因子、血纤维蛋白原等,成为目前广泛使用的冷乙醇沉淀法。其它沉淀方法如硫酸铵、利凡诺、辛酸盐沉淀法,也都获得应用。我国早期使用硫酸铵盐析法生产 HSA,但由于硫酸铵腐蚀性强,生产过程繁琐,所以后来也采用冷乙醇沉淀法。冷乙醇沉淀法过程相对简单(尽管设备可能较为复杂),生产白蛋白产量较高;乙醇具有杀菌能力,可得到无热原的产品;更重要的是冷乙醇沉淀法有助于除去或抑制 HIV 等病毒^[2],因而其改进工艺至今在工业上仍作为主要的生产方法。利用冷乙醇沉淀法也有一些不足:乙醇是一种非特异性沉淀剂,尽管对 HSA 生产效果显著,但产品纯度不是很高;作为有机溶剂的乙醇还可能使蛋白质发生聚集或变性;乙醇易燃,生产上造成安全隐患;生产不易实现自动化,生产周期长,在非封闭式的环境中有机溶剂对工作人员危害也较大,同时也有可能由于环境不洁造成产品污染。为此也有人改用 PEG 沉淀法^[3]以避免蛋白质聚集或变性,但 PEG 价格较贵,而且不易从白蛋白溶液中除去,工业生产有一定困难。

为解决这些蛋白质沉淀法生产 HSA 的问题,1977 年 Culing 等人提出用色谱技术纯化白蛋白,但当时仅仅进行了实验室尝试。1983 年 Berglöf 等人应用色谱集成技术进行了

收稿日期 2002-04-08,修回日期 2002-07-10。

基金项目 国家自然科学基金资助项目 基金资助 No.20136020。

* 通讯作者。 Tel:86-10-62561817; Fax 86-10-62561813; E-mail: zgsu@home.icm.ac.cn

HSA 的试验性生产(图 1),该方法有效地减少了蛋白质聚集及变性,聚集蛋白低于 1%,纯度达 99%。Yap 等人将冷乙醇沉淀法(Cohn)及多级色谱法生产的 HSA 进行了对比(表 1)^[4]。利用多级色谱法生产的 HSA 其纯度、产量、单体含量均高于冷乙醇沉淀法,而且生产条件温和,生产周期较短,可以进行封闭式生产,并能实现流程自动化。但单纯采用色谱法难以有效地抑制或除去热原、HIV 等病毒,产品的安全性为人们所担忧。

为弥补色谱法的不足,近期发展了色谱与冷乙醇沉淀相结合的方法,二者优势互补,应用于 HSA 工作化生产后效果显著。澳大利亚 CSL 公司就是成功的例子(图 2)。该公司 1995 年全部投产以后,现已成为世界最大的色谱法生产 HSA 的基地。其产品纯度达 99.5%,年产约 300 吨,生产稳定,并

实现完全自动化控制^[5]。

近年来发展的离子交换色谱、凝胶过滤色谱、亲和色谱、膜色谱等多种色谱分离技术具有自动化程度高、生产周期短、更符合 GMP 等特点,正在逐步取代传统的冷乙醇沉淀法。同时高效、集成型生产工艺成为研究的重点。作者采用自己合成的染料亲和配基,成功地应用一步亲和色谱法从人胎盘血中提取 HSA,收率可达 90% 以上,纯度达到电泳纯,其一步纯化效果优于传统沉淀方法十几步的分离结果,大大提高了生产效率^[6]。为了加强集成化操作,本实验室研究利用扩张床吸附技术采用 Streamline SP 阳离子交换介质从全血中直接分离提纯 HSA,集离心分浆与离子交换一体,缩短了纯化周期,纯度与提取收率均较高,是一项新的尝试^[7]。各种血浆制备 HSA 的纯化方法比较见表 2。

表 1 冷乙醇沉淀法与多级色谱法生产的 HSA 比较

Table 1 Comparison of albumin solutions produced by Cohn process and chromatographic process

COMPONENT	COHN PROCESS	CHROMATOGRAPHIC PROCESS
Albumin(% W/W)	96.8 ± 1.14	97.6 ± 1.6
Monomer content(% distribution)	95.4 ± 0.5	98.4 ± 1.2
Prekallikrein activator(PKA)(IU/mL)	1.1 ± 0.3	2.4 ± 0.9
PKA Potentia(IU/mL)	3.9 ± 4.7	7.6 ± 3.3
Endotoxin(EU/mL)	0.11 ± 0.12	0.51 ± 0.39
Pyrogen(°C)	0.38 ± 0.23	0.43 ± 0.33
Aluminium(µg/L)	33 ± 19	10.9 ± 6.2
Transferrin(g/L)	0.23	< 0.014
Haptoglobin(g/L)	0.16	< 0.018
α ₁ proteinase inhibitor(g/L)	0.08	0.035 0.006
α ₁ acid glycoprotein(g/L)	0.13	< 0.014
α ₂ macropotein A(g/L)	< 0.033	< 0.033
Apolipoprotein A(g/L)	< 0.007	0.027 0.024
Inter-α-trypsin inhibitor(g/L)	< 0.012	< 0.012

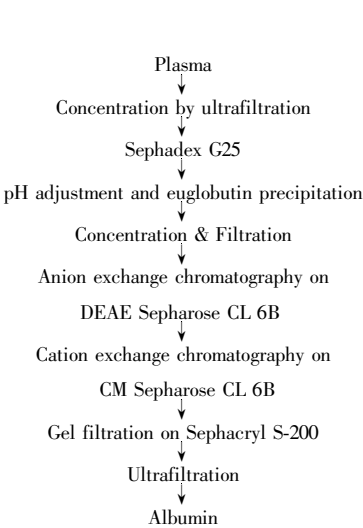


图 1 多级色谱法制备 HSA

Fig. 1 Chromatographic preparation of albumin

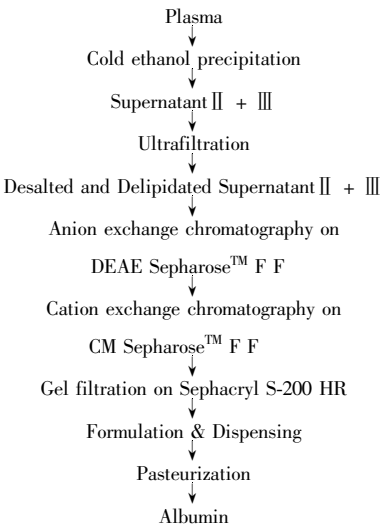


图 2 CSL 公司白蛋白生产流程

Fig. 2 Schematic diagram of the albumin process in CSL company

表 2 血浆制备 HSA 纯化方法比较

Table 2 Comparison of methods for HSA purification from plasma

纯化方法	优点	缺点
蛋白质沉淀： 通过冷乙醇、硫酸铵、PEG 等沉淀蛋白质实现分离	操作简单 ,快速 ,可大规模生产 ,可通过分级沉淀得到 HSA、IgG 等多种产品 冷乙醇沉淀后再用巴氏灭菌法可抑制 HIV 及其它病毒 ^[2,8] PEG 可降低 Hb 表面抗原 ^[9]	蛋白质聚沉可能产生聚合体或蛋白质变性 ,影响药用效果 自动化程度低 ,生产周期长 收率低 非封闭式生产容易使产品污染 PEG 不易从蛋白质中除去
多级色谱分离 ^[10] ： 依次通过阴离子交换色谱、阳离子交换色谱、凝胶过滤色谱	易于自动化操作 纯度较高	需要严格无菌 ,避免污染 速度较慢 ,处理量有限 步骤多 ,需预处理及色谱柱再生
染料配基亲和色谱 ^[6,11~12] ： 魔芋葡甘聚糖或 Sepharose 4B 凝胶活化 ,偶联染料 Cibacron Blue F3GA ,制成染料亲和吸附剂	方法简便 成本低(2.68 美元/gHSA) 产品可达电泳纯 ,回收率高	处理量低 染料可能会脱落 ,造成污染
扩张床吸附 全血直接经扩张床吸附 ,通过阳离子交换作用一步提纯白蛋白	操作步骤少 生产周期短 易实现工业化规模生产	再结合一步色谱纯化方可达到电泳纯
金属螯合吸附色谱 ^[13] ： 将金属螯合配基如亚氨二乙酸(IDA)-Cu ²⁺ 和 IDA-Ni ²⁺ 固定在琼脂糖凝胶上	配基价廉 ,合成方便 可选择的金属离子多 容易再生	凝胶压缩易变形 处理速度慢 不适于大规模生产
膜色谱分离 (1)用环氧法对纤维素微孔滤膜进行化学改性 ,再结合活性红染料配基 K-2BF ^[14] (2)复合纤维素膜为载体 ,金属螯合配基为亲和配基 ^[15] (3)依次经过强阴、阳离子吸附微滤膜处理 ^[16]	压降低 ,处理速度快 成本低 较色谱柱生产能力强 可以得到电泳纯产品	死体积是吸附色谱的两倍 ,流体在分离设备中流动情况不理想会影响处理量及 HSA 的纯度 ,需优化层析过程使样品在膜上迅速平均分配 ,并使死体积减到最小 ^[16] 处理量大时发生显著的膜堵塞

上述的分析表明 ,血浆提取白蛋白的纯化技术研究已取得较大进展 ,pHSA 的大规模生产在医疗事业中发挥了非常重要的作用。然而 HSA 需求量大 ,人血来源有限 ,同时艾滋病及肝炎病毒蔓延速度的加快 ,更威胁人血液制品的安全性。而且成品中可能仍然含有白蛋白二聚体等微量杂质 ,造成使用者产生不良反应。这些存在于人血浆 HSA 生产中的问题 ,促使人们在继续努力缩短生产周期 ,提高收率 ,加强产品安全性的同时 ,也更多地关注注射用基因重组白蛋白的开发与研制。

2 重组人血清白蛋白(Recombinant HSA , rHSA)的纯化技术

近 20 年以来 ,国际上许多实验室和公司已陆续尝试通过遗传工程方法制备 HSA。在 1989 年已有微生物产重组人血清白蛋白的专利^[17] ,至今 HSA 基因已被引入细菌、真菌、植物以及动物中进行表达。目前的研究集中于用细胞外分泌型的毕氏酵母(*Pichia pastoris*)发酵法制备 HSA ,其表达量高 ,分泌的杂蛋白较少 ,易于纯化 ,是目前比较好的 HSA 生产方式 ,并且有进行大规模生产的潜力^[18]。我国已有华北制药集团、上海生物化学研究所、中科院过程工程研究所、华东理工大学等单位对 rHSA 进行了研究 ,采用毕氏酵母为宿主细胞 ,表达量已经达到每升发酵液克级水平 ,有的单位称已经

达到更高水平 ,但 rHSA 的纯化方面我国的研究仍远不及日本等国家。

rHSA 的纯化不同于 pHSA 等血浆蛋白及其它的重组蛋白 ,主要在于：

(1)纯化体系复杂。rHSA 由酵母发酵生产 ,发酵液中会含有酵母细胞组分及其分泌物 ,如蛋白酶、杂蛋白、核酸、脂肪酸、色素、多糖及热原物质等。发酵液中的蛋白酶若不及时除去 ,会降解 rHSA ;终产物中若含有酵母细胞组分 ,输入人体内则成为抗原 ,对于这种不同物种之间的相互作用 ,即使 rHSA 中仅含有痕量的杂质也可能产生意想不到的严重后果 ,而 pHSA 所含杂质仍为原血浆组分 ,造成危害的可能性小得多。

(2)常用剂量大 ,纯度要求极高。对于疫苗等微量输入的重组蛋白质来说 ,99.999% 的纯度已经足够 ,但对于 rHSA 该纯度仍然很低。因为白蛋白每次注射量至少 10g ,这意味着将至少有 0.1mg 的杂质被同时输入人体 ,若其为有害杂质 ,将可能产生致命的危险。

(3)HSA 单位成本低 ,需求量大。1 克 pHSA 的成本不到 3 美元 ,rHSA 的成本不高于 pHSA 才能对其具有足够的竞争力。rHSA 纯化的成本占其生产总成本的大部分 ,需要降低纯化成本 ,实现大规模生产。

由此可见 ,rHSA 走向工业化并商业化的两大难点——

成本和质量(即纯度)将是对 rHSA 纯化技术的一大挑战。rHSA 的纯化主要包括细胞分离和发酵清液 rHSA 纯化两部分。由于 rHSA 的纯化体系复杂,因此不能如同 pHSA,仅用有机溶剂沉淀或再辅以简单的色谱进行分离纯化即可达到要求,rHSA 需要采用多步选择性高的纯化方法。为获得高纯度、安全、稳定的产品,各种色谱分离技术得到更多的应用。利用各种蛋白质疏水基团的多寡和分布的不同而形成的与疏水性填料亲和力差异来分离活性蛋白的疏水相互作用色谱(Hydrophobic interaction chromatography, HIC),结合阴阳离子交换色谱,可以除去发酵液中大部分杂质。发酵液中除蛋白酶、脱色、除热原及抗原性物质等问题是纯化中的重点及难点,经过多年的实验,已研究出一些较为有效的纯化方法(表 3)。

日本的 Green Cross 公司对 rHSA 的研究虽然不是起步最早,但发展很快,对高效表达、分泌 rHSA 的重组菌株构建、发酵条件优化、rHSA 的分离纯化、纯品的鉴定、rHSA 结构分析以及 rHSA 的工业化生产进行了大量系统性研究,并申请多项相关专利,仅美国专利就达 25 项之多,占据 rHSA 相关专利的大部分。该公司生产的 rHSA 已经通过 III 期临床试

验^[18]。

他们创建了 STREAMLINE 纯化方法^[19],发酵液于 68℃ 热处理灭活蛋白酶后进行阳离子扩张床床吸附得到较纯的 rHSA,再 60℃ 热处理、脱色,Phenyl-cellulofine 疏水层析除杂蛋白,再经整合树脂吸附、阴离子交换、超过滤后即得到纯 rHSA。其流程如图 3 中下面的流程(STREAMLINE)所示。应用 STREAMLINE™ 扩张床阳离子吸附一步分离杂质,直接获得目标产物,酵母细胞及其它杂质直接通过。该方法免去了离心、膜过滤等固液分离操作,缩短了生产周期,并使发酵罐直接与 STREAMLINE 相连,在封闭的情况下去除重组微生物,避免了微生物污染。这也是生物制品纯化预处理中较为有效的新方法。该纯化方法的整个流程只需要 4d,收率可达 60%,图 3 中上面的流程(Filter-Press)表示的是以压滤预处理为特征的另一条 rHSA 纯化路线,其生产周期需 6d。显然扩张床吸附具有节时快速的特点,其回收率也高于另一工艺。这是目前所报道的研究最成熟的工艺,但其整个纯化过程操作环节多,且最终产品中仍含有微生物带来的色素及宿主细胞组分,能否应用于医疗还要持审慎的态度。

表 3 rHSA 纯化典型范例 Table 3 Typical example of rHSA purification			
纯化目的	典型纯化方法	纯化效果	引文
除蛋白酶	发酵液 68℃ 直接热处理 30min	方法简便,蛋白酶基本被灭活	US 596264 ^[20]
脱色	(1) 加减色剂如磷酸钠,阳离子交换除自由多糖后再热处理	色度减小 30% ~ 70%	US 571025 ^[21]
	(2) 活性炭或 732 型树脂脱色	脱色明显但可能对产物会有影响	CN98110844 ^[22]
45KD 白蛋白片段	Cibacro Blue 染料亲和吸附色谱	该片段与染料结合较 rHSA 更强,可直接除去	CN96195824 ^[23]
除白蛋白多聚体	凝胶过滤色谱	同时可以除去多聚体和色素,但处理量小,速度慢	CN 96195824
除热原、宿主细胞组分等抗原物质	超过滤,热处理,酸处理,再次超过滤,再经阳离子交换色谱、疏水色谱、阴离子交换色谱及硼酸处理	每 250mg 纯化后的 rHSA 中热原含量不高于 0.1EU,抗原含量不高于 0.1ng,纯度可达 99.999999%	US 5986062 ^[24]
除酵母细胞分泌组分	金属 Cu ²⁺ 螯合色谱,再经硼酸盐处理	处理后其含量减少 100 倍	US 5656729 ^[25]

rHSA 纯化技术的研究已取得很多突破性进展,已有纯度高达 99.999999% 的研究报道,并接近工业化。纯化得到的高纯度的 rHSA 与 pHSA 在分子结构上完全相同,且 SDS-PAGE 分析、HPLC 分析及配基结合能力均相同^[26,27]。rHSA 的结构不均一程度比 pHSA 要低^[28],含有的总脂肪酸量也略低。二者的免疫化学特性相同,理化功能相同^[29]。但 Wataru Ohtani 等人对纯化的 rHSA 进行免疫分析结果表明,rHSA 中仍残存痕量的生产菌细胞蛋白及甘露聚糖等多糖成分。而甘露聚糖的存在会使人产生抗体,对输注 rHSA 的安全性造成威胁^[30]。现有研究中宿主细胞色素仍未彻底除去。所以

rHSA 可否替代 pHSA,或在何种前提下可以替代仍需进一步研究证实。

因此,对如何解决产品纯度问题包括色素的去除、宿主蛋白质的去除、rHSA 降解片段的去除等仍需进行深入探索,尤其要加强纯化过程集成,提高纯化效率。高纯度 rHSA 的纯化过程复杂,步骤繁多,成本高,收率低,不易实现全封闭式的无污染的自动化生产,为 rHSA 工业化带来较大难度。虽然到目前为止 rHSA 在世界范围内仍未能实现工业化生产,但它代表了发展方向,是研究蛋白质分离纯化最富有挑战性的课题。

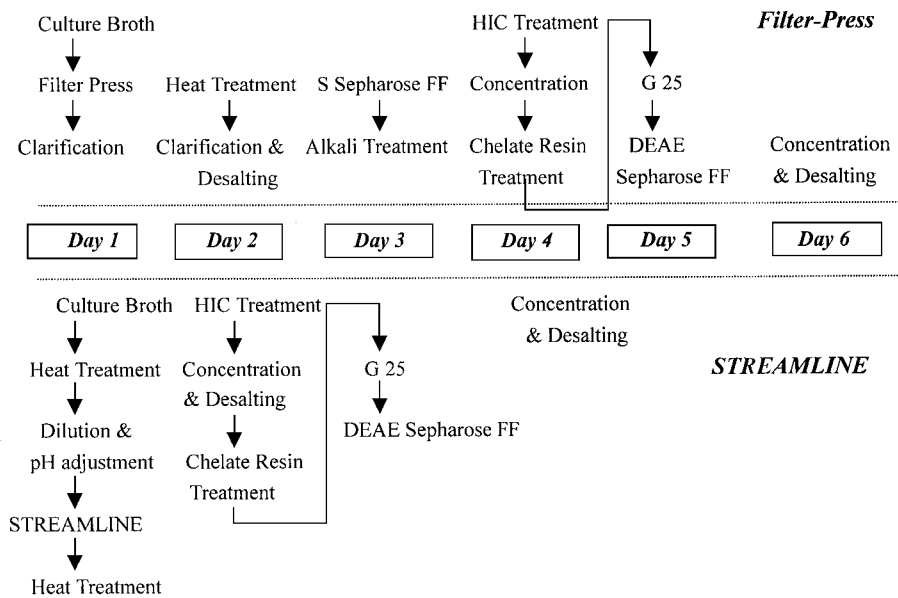


图 3 STREAMLINE 法与传统压滤处理纯化 hSA 流程比较
Fig.3 Process time comparison between the STREAMLINE and Filter-press based methods

REFERENCES(参考文献)

[1] Peters T. All about Albumin : Biochemistry , Genetics and Medical Applicants. Academic Press , San Diego , 1996

[2] Kim I S , Eo H G , Park C W *et al.* Removal and inactivation of human immunodeficiency virus (HIV-1) by cold ethanol fractionation and pasteurization during the manufacturing of albumin and immunoglobulins from human plasma. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* , 2001 **4** (1) : 25 ~ 30

[3] Dam J. Plasma fractionation based on chromatography and precipitation by polyethylene glycol and caprylic. A report from the first Plasma Products Biotechnology meeting. Australia , March 27 ~ 30 , 1999

[4] Yap H B , Yong I F , Micucci V *et al.* Development of a process for the preparation of human serum albumin using chromatographic methods. *Biotechnology of Bood Proteins* , 1993 , **227** : 143 ~ 149

[5] Smith E M. Chromatographic albumin production-pilot to manufacturing plant. A report from the first Plasma Products Biotechnology meeting. Australia , March 27-30 , 1999

[6] SU Z (苏志国) , JIANG W (姜伟) , FENG P (冯朴荪) . Purification of serum albumin with dye-ligand adsorption chromatography. *Chinese Journal of Biotechnology* (生物工程学报) , 1991 **7** (2) : 161 ~ 168

[7] JIN Y (金业涛) . Expanded bed adsorption technique for blood protein separation. Dissertation for Ph. D , Dalian University of Technology , 1999

[8] Kim I S , Eo H G , Chang C E *et al.* Partitioning and inactivation of viruses by cold ethanol fractionation and pasteurization during manufacture of albumin from human plasma. *Journal of Microbiology and Biotechnolog* , 2000 **10** (6) : 858 ~ 864

[9] Janson J C , Ryden L. Protein purification : principles , high resolution methods , and applications. 2nd edition , New York : John Wiley&Sons Inc , Publication. 1997 3 ~ 41

[10] Marrs S B. Large scale albumin fractionation by chromatography. *Biotechnology of Blood Proteins* , 1993 , **227** : 169 ~ 173

[11] ZHOU L (周立) , JIANG L (蒋磊) , ZHENG Y (郑远旗) *et al.* Comparison investigation of KEM gel and Sepharose 4B as affinity substrates. *Natural product research and development* (天然产物研究与开发) 2000 **12** (2) 23 ~ 26

[12] LI Z X , CHEN K C. Purification of Human Serum Albumin by Dye-ligand Affinity Chromatography. *Dyes and Pigments* , 1993 **22** : 27 ~ 45

[13] Janson J C , Ryden L. Protein purification : principles , high resolution methods , and applications. 2nd edition , New York : John Wiley&Sons Inc , Publication. 1997 330 ~ 333

[14] YANG L (杨利) , JIA L X (贾凌云) , ZOU H F (邹汉法) . Immobilized Ni²⁺ -IDA metal chelating affinity membrane chromatography for purification of commercial Human serum albumin. *Chinese Journal of Biotechnology* (生物工程学报) 2000 **16** (1) : 74 ~ 77

[15] SHANG Z H (商振华) , GUO W (郭为) , YU Y N (于亿年) *et al.* Impurity removal of human serum albumin by affinity membrane chromatography with chemically modified cellulose. *Journal of Instrumental Analysis* (分析测试学报) , 1995 **14** (4) : 28 ~ 32

[16] Gebauer K H , Thoenmes J , Kula M R. Plasma protein fractionation with advanced membrane adsorbents. *Biotechnology and Bioengineering* , 1997 **54** (2) : 181 ~ 189

[17] Masanori S , Noboru M , Shintaro Y. A cDNA coding for human normal serum albumin a , and a process for production of the albumin. EP 0330451 , 1989-08-30

[18] YANG S (杨晟) , HUANG H (黄鹤) , ZHANG R A (章如安) *et al.* Study on factors influencing secretion of recombinant human serum albumin from *Pichia pastoris* . *Chinese Journal of Biotechnology* (生物工程学报) , 2000 **16** (6) : 675 ~ 678

[19] Sumi K , Okuyama K , Kobayashi K *et al.* Purification of recombinant human serum albumin : efficient purification using STREAMLINE.

- Bioseparation* ,1999 **8** :195 ~ 200
- [20] Noda M , Sumi A , Ohmura T *et al.* Process for purifying recombinant human serum albumin. US 5962649 , 1999-10-05
- [21] Ohtani W , Furujata N , Sumi A *et al.* Method for decoloring human serum albumin. US 5710253 , 1998-01-20
- [22] YUAN Z Y(袁中一) , QIU R Y(邱荣德) , WU X F(吴祥甫) . High expression and purification of recombinant human serum albumin from *Pichia pastoris* . CN98110844 , 1998
- [23] Andalu R G , Daler S *et al.* Method for producing high purity human serum albumin. CN96195824 , 1998-01-24
- [24] Ohmura T , Sumi A , Ohtani W *et al.* Recombinant human albumin , process for producing the same and pharmaceutical preparation containing the same. US 5986062 , 1999-11-16
- [25] Fuluata N , Sumi A , Ohmura T . Method for highly purifying human serum albumin. US 5656729 . 1997-08-12
- [26] Kiyoshi N , Naoki M , Yoshio Y *et al.* Comparison of plasma and recombinant human serum albumin by microanalysis techniques for proteins. Perspect. Protein Eng Collect Pap ,Int Symp , 3rd , Meeting Date 1994 ,pp.317 ~ 323
- [27] Ohtani W , Atsushi M , Yoshitaka I *et al.* Structure of recombinant human serum albumin from *Pichia pastoris* . *Yakugaku Zasshi* ,1997 , **117**(4) 220 ~ 232
- [28] Dodsworth N , Harris R , Denton K *et al.* Comparative studies of recombinant human albumin and human serum albumin derived by blood fractionation. *Biotechnol. Appl Biochem* ,1996 **24**(2) :171 ~ 176
- [29] Ohtani W , Nawa Y , Takeshima K *et al.* Physicochemical and immunochemical properties of recombinant human serum albumin from *Pichia pastoris* . *Analytical Biochemistry* ,1998 **256** :56 ~ 62
- [30] Ohtani W , Ohda T , Sumi A *et al.* Analysis of *Pichia pastoris* components in recombinant human serum albumin by immunological assays and by HPLC with pulsed amperometric detection. *Anal Chem* ,1998 , **70** :425 ~ 429

Progress in Purification of Human Serum Albumin

LU Xiu-Ling SU Zhi-Guo *

(National Laboratory of Biochemical Engineering , Institute of Process Engineering , Chinese Academy of Sciences , PO Box 353 ,Beijing 100080 , China)

Abstract Human serum albumin(HSA) has been used clinically to treat a number of diseases with high dosage. Extremely pure product is required in large-scale production. Plasma-derived HSA(pHSA) has long been produced by precipitation methods. Among them cold ethanol precipitation is dominant. However , chromatographic purification of HSA has been increasingly studied in the last few years. Application of chromatography , especially ionexchange , affinity , and size-exclusion , has opened a new area in the production of pHSA. A new challenge is the purification of recombinant HSA(rHSA). A successful approach involves STREAMLINE expanded bed adsorption to direct capture the target product from the fermentation broth. This novel process eliminates the need to separate the cells by centrifugation or membrane filtration. Ion exchange chromatography and hydrophobic chromatography play a central role in the purification scheme. Integration with other chromatographic techniques such as size-exclusion , metal chelate , and affinity gives improved purification results. Though innovative , the purification of rHSA still needs further improvement and optimization to increase product purity and process recovery.

Key words human serum albumin , purification , recombinant human serum albumin , Chromatography

Received : 04-08-2002

This work was supported by Grant from National Natural Science Foundation of China(No.20136020).

* Corresponding author. Tel : 86-10-62561817 ; Fax : 86-10-62561813 ; E-mail: zgsu@home.icas.ac.cn 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>