

邵顺儒,郭清城,侯 盛,等. CMAB008 单抗阳离子交换层析介质寿命确认[J]. 江苏农业科学,2022,50(8):69-73.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.08.013

# CMAB008 单抗阳离子交换层析介质寿命确认

邵顺儒<sup>1</sup>, 郭清城<sup>1</sup>, 侯 盛<sup>2</sup>, 袁秀珍<sup>1</sup>, 徐忠升<sup>1</sup>, 范文强<sup>1</sup>, 张 蕙<sup>1</sup>, 朱红帅<sup>1</sup>, 邵景德<sup>1</sup>

(1. 江苏泰州迈博太科药业有限公司,江苏泰州 225300; 2. 上海迈泰君奥生物技术有限公司,上海 201200)

**摘要:**建立 CMAB008 单抗阳离子交换层析介质寿命确认方案,采用实际生产的工艺参数进行缩小模型试验,以考察 Nuvia S 层析介质循环到 100 次后性能指标是否还满足层析需要。按试验方案对 Nuvia S 层析介质循环到 100 次,分别在使用前和循环使用 20、40、50、70、90 次后对层析柱进行柱效测试,以考察随循环次数的增加,层析介质对层析柱对称因子、理论塔板数的影响;对循环 1、50、51、100 次的层析柱进行动态载量测试,以考察洗脱峰的 ProteinA 残留、HCP 残留、DNA 残留、毛细管电泳纯度、SEC-HPLC 纯度、活性、得率;以不同上样量 20 g/L(循环 8、48、88 次)、40 g/L(循环 9、49、89 次)、80 g/L(循环 61、62、63 次),不同流速 110 cm/h(循环 10、50、92 次)、149 cm/h(循环 61、62、63 次)、170 cm/h(循环 11、59、93 次)上样以考察阳离子交换层析洗脱峰 SEC-HPLC 纯度、得率。结果表明,使用前和循环使用 20、40、50、70、90 次后柱效测试中,所有对称因子、理论塔板数均在可接受的标准范围内;循环 1、50、51、100 次的层析柱动态载量测试结果均高于起始动态载量的 80%,洗脱峰的 ProteinA、HCP、DNA 残留检测未有增高趋势,毛细管电泳纯度、SEC-HPLC 纯度、活性以及得率未有下降趋势;上样测试结果显示,洗脱峰的 SEC-HPLC 纯度无明显变化趋势,均大于 98%,得率均大于 85%。这些试验结果均符合 CMAB008 原液纯化工艺要求。结果证明,Nuvia S 层析介质在循环到 100 次时性能指标没有下降,可以保证纯化 CMAB008 单抗产品的质量。

**关键词:**CMAB008 单抗;层析介质寿命;缩小模型;性能指标

**中图分类号:**R318.08 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2022)08-0069-04

自 1972 年基因工程技术问世以来,现代生物工程又经历飞速发展近 50 年,新世纪人们把更多的关注投向生物工程产业,使生物工程产业迅速崛起,特别是现代医药生物工程产业发展迅速,基因诊断、基因治疗、人类基因组计划、生物芯片、转基因动物、RNA 干扰、基因工程抗体、人源化抗体、治疗性疫苗和抗体<sup>[1]</sup>等成果层出不穷,技术日新月异,令人目不暇接。一大批基因工程药物如雨后春笋般不断涌现,给人类健康和疾病治疗带来新的治疗模式,社会对生物制品的需求与日俱增。《药品注册管理办法》要求药品安全、有效、质量可控<sup>[2]</sup>。生物制品不仅要保证药品的有效性,同时也不能影响其生产工艺稳定性<sup>[3]</sup>。在现代化的生物制品生产过程中,在工艺上要经过膜过滤法<sup>[4]</sup>、色谱法<sup>[5-6]</sup>、超短时微波加热法、巴氏消毒法、干热法、有机溶

剂/去污剂(S/D)法和低 pH 值孵放法<sup>[7]</sup>等至少 2 种以上的方法进行病毒的去除/灭活<sup>[8-9]</sup>,还要经过层析法通过高度的纯化得到安全、有效、质量可控的产品。现代的层析技术非常广泛,层析技术是原液纯化的关键步骤,通过对收集到的中间产品进行纯化以得到符合工艺要求的高纯度的生物制品。对于纯化技术使用的层析介质的管理目前是药品监督管理部门日常监督检查、GMP 合规检查、药品注册现场核查关注的重点。层析介质的清洗、储存、使用次数均需要通过验证进行确认,这在现行的 2010 年版 GMP 附录生物制品中有明确的要求<sup>[10]</sup>。层析介质成本昂贵,减少国家有限资源的浪费及降低企业生产成本都需要层析介质反复使用多次,但经过层析介质多次使用,其纯化能力会发生改变,使纯化效果变差,以致影响层析样品的质量,造成最终使用的制剂有安全隐患。层析介质的关键性能指标主要包括目标产品的纯度、收率,动态载量减少,去除目标杂质(内毒素、宿主蛋白和宿主 DNA 等)的能力,层析柱在使用中的物理性(装柱高度/上样柱压、上样液的流动速度等)的改变等<sup>[11]</sup>,因此层析介质的使用寿命需要经过严格和科

收稿日期:2020-02-10

作者简介:邵顺儒(1971—),男,江苏淮安人,硕士,主管药师、执业药师,主要从事药品生产质量管理、质量控制及研究。E-mail: shaoshunru@163.com。

通信作者:郭清城,博士,实验师,主要从事大分子治疗产品的药学研究。E-mail: gqc\_smmu@163.com。

学的验证,这不但保证了药品的质量,而且还减少国家有限资源的浪费,同时降低企业生产成本。

本试验建立 CMAB008 单抗纯化的阳离子交换层析介质寿命确认方案,按方案取相应循环后的阳离子交换层析进行,动态载量测试,阳离子交换层析洗脱峰的 ProteinA、HCP、DNA 残留检测,SEC-HPLC 纯度、活性检测;检测不同上样量、不同流速阳离子交换层析洗脱峰 SEC-HPLC 纯度、得率;考察经过 100 个循环后的层析介质是否仍满足生产工艺需求,也为其他生物制品的层析介质寿命研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 层析设备及介质 AKTA-avant150 层析系统、XK16/40 层析柱、Tricorn 10/20 层析柱、Nuvia S 层析介质。

1.1.2 主要试剂 NaOH、乙酸钠、乙酸、氯化钠。按生产工艺的要求配制冲洗液、平衡液、洗脱液、再生液、消毒液、保存液;阳离子交换层析上样液为笔者所在公司 CMAB008 产品完成亲和层析的中间产品。

1.2 方法

工业化生产时的层板柱内径 400 mm,柱高 700 mm。实际使用时一般装柱高度 160~240 mm。本试验采用与生产相同的柱高,通过缩小柱直径的方式,实现线性的模型缩小来测试 Nuvia S 层析介质的使用寿命,计划按实际工艺流程,进行 100 个循环的试验。前 50 个循环以 XK16/40 型号层析柱进行验证,后 50 个循环以 Tricorn 10/20 型号层析柱进行验证。

在江苏泰州迈博太科药业有限公司应用 AKTA-avant150 层析系统,进行试验,试验时间为 2017 年 7—9 月。按照和生产工艺相同的参数进行 100 个循环,每个循环都有完整的步骤:消毒、冲洗、前平衡、上样、上样后平衡洗涤、洗脱收集、再生、消毒、保存。第 8、48、88 次循环层析介质上样量 20 g/L;第 9、49、89 次循环层析介质上样量 40 g/L;其他非动态载量测试循环层析介质上样量 80 g/L。线性流速采用工艺流速的上下限及生产流速,其中上下限分别做 3 组有效数据的验证循环。第 10、50、92 次循环流速改为 110 cm/h;第 11、59、93 次循环流速改为 170 cm/h;其他非动态载量测试循环流速为生产流速 149 cm/h。为了评估 Nuvia S 层析介质的性能,按设计的验证方案取样检测。每个循环的流程及参数见表 1。取样和测试项目见表 2。

表 1 每个循环的具体流程

| 步骤   | 要求            | 流速<br>(cm/h) | 柱前压<br>(bar) |
|------|---------------|--------------|--------------|
| 消毒   | ≥3CV          | 110~170      | ≤2           |
| 冲洗   | ≥3CV          | 110~170      | ≤2           |
| 前平衡  | ≥3CV          | 110~170      | ≤2           |
|      | ≥2CV          | 110~170      | ≤2           |
| 上样   | 上样量≤80 g/L    | 110~170      | ≤2           |
| 平衡洗涤 | ≥2CV          | 110~170      | ≤2           |
| 洗脱   | N/A           | 110~170      | ≤2           |
| 收集   | ≥0.1AU,≤0.2AU | 110~170      | ≤2           |
| 再生   | ≥2CV          | 110~170      | ≤2           |
| 消毒   | ≥2CV          | 110~170      | ≤2           |
| 保存   | ≥1.5CV        | 110~170      | ≤2           |

注:第 10、50、92 次流速改为 110 cm/h,第 11、59、93 次流速改为 170 cm/h;第 8、48、88 次上样量 20 g/L,第 9、49、89 次上样量 40 g/L;其他循环参数保持流速 149 cm/h,上样量 80 g/L。

表 2 取样测试项目

| 循环次数                            | 收集样品       | 检测项目   |
|---------------------------------|------------|--|
| 0(使用前)、20、40、50、70、90           | —          | 柱效测试   |
| 1(首次)、50、51、100                 | 阳离子交换层析洗脱峰 | 分别单独收集各循环数阳离子交换层析洗脱峰,取样检测蛋白质含量、活性(生物学活性、结合活性)、SEC-HPLC 纯度、毛细管电泳纯度、DNA 残留、proteinA 残留、HCP 残留、动态载量得率 |
| 8~11、48~50、59、61~63、88~89、92~93 | 阳离子交换层析洗脱峰 | 分别单独收集各循环数阳离子交换层析洗脱峰,测试取样检测蛋白质含量、SEC-HPLC 纯度、得率  |

2 结果与分析

2.1 柱效测试结果

循环 1~50 次使用 XK16/40 型号层析柱,装柱

高度 237 mm,柱体积 47.6 mL;循环 51~100 次使用 Tricorn 10/20 型号层析柱,装柱高度 210 mm,柱体积 16.5 mL,装柱高度符合商业生产时的要求(160~240 mm)。对使用前和 20、40、50、70、90 次

循环后进行柱效测试,测试结果为对称因子、理论塔板数均在可接受的标准范围内(表 3),说明经过近 90 次循环后,层板介质性能没有明显变化趋势。

表 3 柱效测试结果

| 柱效测试    | 柱效参数  | 可接收标准   | 实际值     | 结论 |
|---------|-------|---------|---------|----|
| 使用前     | 对称因子  | 0.6~1.8 | 0.96    | 合格 |
|         | 理论塔板数 | ≥1 000  | 1 830.9 | 合格 |
| 20 次循环后 | 对称因子  | 0.6~1.8 | 0.65    | 合格 |
|         | 理论塔板数 | ≥1 000  | 1 444.0 | 合格 |
| 40 次循环后 | 对称因子  | 0.6~1.8 | 1.47    | 合格 |
|         | 理论塔板数 | ≥1 000  | 1 154.1 | 合格 |
| 50 次循环后 | 对称因子  | 0.6~1.8 | 1.52    | 合格 |
|         | 理论塔板数 | ≥1 000  | 2 346.8 | 合格 |
| 70 次循环后 | 对称因子  | 0.6~1.8 | 1.58    | 合格 |
|         | 理论塔板数 | ≥1 000  | 2 120.0 | 合格 |
| 90 次循环后 | 对称因子  | 0.6~1.8 | 1.55    | 合格 |
|         | 理论塔板数 | ≥1 000  | 2 242.7 | 合格 |

2.2 动态载量测试结果

从 Nuvia S 层析介质循环 1、50、51、100 次后的

检测数据(表 4)可以看出,活性(生物学活性、结合活性)、SEC-HPLC 纯度(聚体、单体)、毛细管电泳纯度、DNA 去除率、HCP 去除率、ProteinA 去除率均无明显下降趋势,且 1、50、51、100 次循环后动态载量测试结果均满足 Nuvia S 层析使用寿命确认方案的可接受标准。

2.3 不同上样量测试结果

根据 Nuvia S 层析介质使用寿命确认方案中的要求,测试不同的上样量(20、40、80 g/L)对阳离子交换层析工艺、质量的影响,从表 5 可以看出,SEC-HPLC 纯度(聚体、单体)、得率均满足工艺和质量要求。

2.4 不同流速测试结果

根据 Nuvia S 层析介质使用寿命确认方案中的要求,测试不同流速(110、149、170 cm/h)对阳离子交换层析工艺、质量的影响,从表 6 可以看出,SEC-HPLC 纯度(聚体、单体)、得率均满足工艺和质量要求。

表 4 动态载量测试结果

| 检测项               | 可接受标准               | 测试结果   |                    |                    |                    | 结论  |
|-------------------|---------------------|--|--------------------|--------------------|--------------------|-----|
|                   |                     | 循环 1 次   | 循环 50 次            | 循环 51 次            | 循环 100 次           |     |
| 蛋白质含量(mg/mL)      | 数据报告                | 45.26  | 36.46              | 48.31              | 57.95              | N/A |
| 活性                | 数据报告                | 生物学活性 89% ; 生物学活性 87% ; 生物学活性 95% ; 生物学活性 96% ;<br>结合活性 88%      结合活性 83%      结合活性 100%      结合活性 89% |                    |                    |                    | N/A |
| SEC-HPLC 纯度(%)    | SEC-HPLC 纯度无明显下降趋势  | 聚体:0.5;<br>单体:99.4   | 聚体:0.4;<br>单体:99.6 | 聚体:0.4;<br>单体:99.6 | 聚体:0.4;<br>单体:99.6 | 合格  |
| 毛细管电泳纯度(%)        | 毛细管电泳纯度无明显下降趋势      | 97.6   | 97.9               | 97.8               | 98.5               | 合格  |
| DNA 残留(mg/kg)     | DNA 去除率无明显下降趋势      | 0.206  | 0.209              | 0.196              | 0.175              | 合格  |
| HCP 残留(mg/L)      | HCP 去除率无明显下降趋势      | 144.458  | 171.051            | 125.480            | 71.492             | 合格  |
| ProteinA 残留(mg/L) | ProteinA 去除率无明显下降趋势 | 1.594  | 1.762              | 1.819              | 2.975              | 合格  |
| 动态载量测试(mg/mL)     | 不低于起始动态载量的 80%      | 125.73   | 152.47             | 147.73             | 142.39             | 合格  |
| 得率(%)             | >85                 | 99.7   | 96.3               | 91.8               | 96.0               | 合格  |

表 5 不同上样量测试结果

| 上样量(g/L) | 循环数(次) | 实际上样量(mL) | 上样液蛋白质含量(mg/mL) | 洗脱峰体积(mL) | 蛋白质含量(mg/mL) | SEC-HPLC 纯度(%) |      | 得率(%) |
|----------|--------|-----------|-----------------|-----------|--------------|----------------|------|-------|
|          |        |           |                 |           |              | 聚体             | 单体   |       |
| 20       | 8      | 126.60    | 7.52            | 70.26     | 12.50        | 0.3            | 99.6 | 92.2  |
|          | 48     | 124.60    | 7.64            | 57.44     | 16.56        | 0.3            | 99.7 | 99.9  |
|          | 88     | 50.15     | 6.58            | 22.88     | 12.86        | 0.3            | 99.7 | 89.2  |
| 40       | 9      | 253.20    | 7.52            | 92.58     | 19.80        | 0.4            | 99.5 | 96.3  |
|          | 49     | 249.22    | 7.64            | 79.37     | 24.22        | 0.3            | 99.7 | 101.0 |
|          | 89     | 100.30    | 6.58            | 31.37     | 20.90        | 0.3            | 99.7 | 99.3  |
| 80       | 61     | 172.80    | 7.64            | 35.28     | 33.62        | 0.5            | 99.5 | 89.8  |
|          | 62     | 172.80    | 7.64            | 36.90     | 34.76        | 0.6            | 99.4 | 97.2  |
|          | 63     | 172.80    | 7.64            | 35.65     | 34.06        | 0.5            | 99.5 | 92.0  |

表 6 不同上样流速测试结果

| 上样流速<br>(cm/h) | 循环数<br>(次) | 洗脱峰<br>体积<br>(mL) | 蛋白质<br>含量<br>(mg/mL) | SEC - HPLC 纯度<br>(%) |      | 得率<br>(%) |
|----------------|------------|-------------------|----------------------|----------------------|------|-----------|
|                |            |                   |                      | 聚体                   | 单体   |           |
| 110            | 10         | 114.12            | 32.07                | 0.4                  | 99.5 | 96.1      |
|                | 50         | 197.75            | 36.46                | 0.4                  | 99.6 | 96.3      |
|                | 92         | 38.70             | 30.18                | 0.3                  | 99.7 | 88.5      |
| 149            | 61         | 35.28             | 33.62                | 0.5                  | 99.5 | 89.8      |
|                | 62         | 36.90             | 34.76                | 0.6                  | 99.4 | 97.2      |
|                | 63         | 35.65             | 34.06                | 0.5                  | 99.5 | 92.0      |
| 170            | 11         | 113.27            | 32.48                | 0.4                  | 99.5 | 96.6      |
|                | 59         | 36.24             | 34.99                | 0.6                  | 99.2 | 96.0      |
|                | 93         | 37.62             | 33.47                | 0.3                  | 99.7 | 95.4      |

3 讨论与结论

在生物制药领域,层析纯化是关键步骤,层析介质循环使用次数直接影响分离提纯效果<sup>[12]</sup>。根据不同产品特性和物料性质,介质寿命均不相同。离子交换层析技术是蛋白类样品纯化处理经常使用的层析技术<sup>[13]</sup>。对 40 种基因重组蛋白质和 94 种非重组蛋白质生产过程调查统计结果表明,在共有 426 次层析工序中离子交换层析比例占有 40%<sup>[14]</sup>。单克隆抗体制剂的原液在生产过程中离子交换层析,一般用在亲和层析之后,用于去除亲和层析没有除去的聚体、DNA 残留、病毒颗粒以及亲和层析介质中脱落的蛋白 A 配基。阳离子交换层析还可替代亲和层析用在单克隆抗体制剂原液在生产过程中的纯化捕集。现在大约有 6% 的单克隆抗体制剂采用了阳离子交换层析捕集纯化抗体<sup>[15]</sup>。与亲和层析相比,阳离子交换层析不但有较高的蛋白结合容量,解决单克隆抗体纯化过程中要分多次上样问题,而且阳离子交换层析介质成本远低于亲和层析介质。本研究以 Nuvia S 层析介质为例,通过小规模 的试验,来检测介质寿命。阳离子交换层析的原理是通过电荷差异进行阳离子捕获,核酸和内毒素带负电,大部分不结合阳离子交换层析,相反,不少单抗属于碱性蛋白质,可在合适的 pH 值下结合阳离子交换层析,让核酸和内毒素穿透。针对其纯化原理,研究介质寿命验证方法,为研究不同用途的层析介质寿命提供思路与数据支持。介质寿命验证是药品研发,尤其是生物制品的重点关注内容。企业在做介质寿命验证时,建议采用等比例缩小纯化规模确定每步纯化所用介质的使用次数,确保层析介质寿命在使用期限内使用,介质

符合生产需求,防止交叉污染,保障产品的质量。层析介质在每次使用时,未被洗脱和流穿的物质或杂质会吸附在填料上,需要采用特定的清洗和再生程序对层析介质进行清洗、再生、保存,以恢复介质最初状态。长期使用的介质,会逐渐失去效力,如清洗后污染物残留量、介质使用参数变化、产品重要指标(纯度)和收率均不在控制范围之内,则说明介质的寿命已到期。本试验中按设计的验证方案层析介质循环到 100 次,按验证方案对相关的工艺参数、质量指标进行测试,与产品实际商业生产的工艺参数、质量指标作对比,如不在工艺参数、质量指标要求范围内,则说明介质应该更换了,只有对层析介质进行及时更换,才能确保生物制品质量。本研究结果显示,Nuvia S 阳离子层析介质经过 100 次循环后动态载量测试结果高于起始动态载量的 80%,柱效没有下降趋势,阳离子交换层析洗脱峰的 ProteinA、HCP、DNA 残留检测未有增高趋势,SEC - HPLC 纯度(聚体、单体)、活性(生物学活性、结合活性)以及得率未有下降趋势;分别以不同上样量 20 g/L(循环 8、48、88 次)、40 g/L(循环 9、49、89 次)、80 g/L(循环 61、62、63 次),不同流速 110 cm/h(循环 10、50、92 次)、149 cm/h(循环 61、62、63 次)、170 cm/h(循环 11、59、93 次)进行验证,阳离子交换层析洗脱峰检测结果显示 SEC - HPLC 纯度(聚体、单体)无明显变化趋势,均大于 98%,得率均大于 85%。这些试验数据均符合 CMAB008 原液纯化工艺及质量标准要求。试验证明,Nuvia S 阳离子层析介质经过 100 次循环后还可以保持纯化效果,因此暂定该 Nuvia S 阳离子层析介质使用寿命为 100 次循环,在商业生产过程中,对这次试验中确定的使用次数进行监测和确认。

参考文献:

[1]王 旻. 生物工程 [M]. 3 版. 北京:中国医药科技出版社, 2015:1.

[2]药品注册管理办法(2020 年修订)[S]. 北京:国家食品药品监督管理局,2020.

[3]牛 猛,徐环听,宁方红,等. 固定化金属亲和层析分离纯化妥布霉素[J]. 离子交换与吸附,2018,34(1):74 - 85.

[4]Singh N, Arunkumar A, Peck M, et al. Development of adsorptive hybrid filters to enable two - step purification of biologics [J]. mAbs, 2017, 9(2):350 - 364.

[5]Chiang M J, Pagkaliwangan M, Lute S, et al. Validation and optimization of viral clearance in a downstream continuous chromatography setting[J]. Biotechnol Bioeng, 2019, 116(9):2292 -

曾 坚,谢雅倩,陈丽萍,等. 木薯 2C 型蛋白磷酸酶基因 *MePP2C55* 的克隆及表达分析[J]. 江苏农业科学,2022,50(8):73-78.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.08.014

# 木薯 2C 型蛋白磷酸酶基因 *MePP2C55* 的克隆及表达分析

曾 坚<sup>1,3</sup>, 谢雅倩<sup>1</sup>, 陈丽萍<sup>1</sup>, 颜 彦<sup>2</sup>, 胡 伟<sup>2</sup>

(1. 韶关学院英东生物与农业学院,广东韶关 512005; 2. 中国热带农业科学院热带生物技术研究所,海南海口 571101;  
3. 韶关市芳香植物工程技术研究中心,广东韶关 512005)

**摘要:**2C 型蛋白磷酸酶(protein phosphatase 2C, PP2C) 基因是 ABA 信号途径中主要组成部分,为分析其在木薯非生物胁迫和块根采后生理性变质(post-harvest physiological deterioration, PPD) 中的作用,采用 RT-PCR 技术从木薯叶片(SC124)中克隆得到 *MePP2C55* 基因。对 *MePP2C55* 基因的理化性质、保守结构域、遗传进化关系、蛋白质结构预测及基因的启动子元件进行了预测和分析,并对 *MePP2C55* 基因在不同处理和 PPD 过程中的表达进行了分析。结果显示:(1) *MePP2C55* 基因全长 1 100 bp,编码 369 个氨基酸残基,蛋白相对分子量 40.7 ku,理论等电点为 7.57,含有 PP2C 的家族结构域。蛋白质序列分析显示, *MePP2C55* 与橡胶树和麻风树的 PP2C 最相似,分别为 88.80% 和 80.60%。 *MePP2C55* 和其他 PP2C 一样,在 C-端保守。这些结果均表明, *MePP2C55* 基因属于 PP2C 家族。(2) *MePP2C55* 基因在不同木薯组织中的表达均较高,在侧芽和叶柄中最高。(3) *MePP2C55* 基因属于 ABA 核心通路,所以启动子序列分析显示含有 10 个 ABRE(abscisic acid responsiveness) 元件。 *MePP2C55* 基因能被 PEG 和 ABA 处理显著诱导,且在 PPD 过程中也能被显著诱导。从上述结果可推测, *MePP2C55* 基因具有提高植物应对非生物胁迫的潜力,同时也参与了 PPD 过程,为下一步研究该基因在木薯采后和抗逆中的功能提供了线索。

**关键词:**ABA; *MePP2C*; 非生物胁迫; 采后生理性变质; 表达分析

**中图分类号:** S533 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2022)08-0073-06

脱落酸(abscisic acid, ABA) 是一种非常重要

的植物激素,它能够调控植物的生长发育,也是植物应对不同逆境的重要信号因子<sup>[1]</sup>。ABA 信号可以提高植物在高渗、干旱和高盐等逆境中的生存能力。2C 类蛋白磷酸酶(protein phosphatase 2C, PP2C) 是 ABA 信号通路中重要的组成成分之一。在 ABA 信号转导过程中, PYR/PYL/RCAR 为 ABA 受体,通过接收上游的信号进行信息传递; SnRK2 属于信号通路正调控因子; PP2C 属于信号通路负调控因子。从而 ABA 受体、SnRK2 和 PP2C 共同组成

收稿日期:2021-07-01

基金项目:广东省基础与应用基础研究基金(编号:2021A151011236); 广东省教育厅青年创新人才项目(编号:2018KQNCX234); 韶关学院重点项目(编号:SZ2018KJ05); 广东省韶关市科技计划(编号:2019sn087); 国家自然科学基金(编号:31901537); 韶关学院博士启动项目(编号:99000615)。

作者简介:曾 坚(1987—),男,湖南岳阳人,博士,副教授,主要从事植物抗逆基因功能研究。E-mail: zengjian@sgu.edu.cn。

通信作者:胡 伟,博士,研究员,主要从事植物基因功能研究。E-mail: huwei2010916@126.com。

2302.

[6] Angelo J, Chollangi S, Müller - Späth T, et al. Virus clearance validation across continuous capture chromatography [J]. Biotechnol Bioeng, 2019, 116(9): 2275-2284.

[7] David L, Bayer M P, Lobedann M, et al. Simulation of continuous low pH viral inactivation inside a coiled flow inverter [J]. Biotechnol Bioeng, 2020, 117(4): 1048-1062.

[8] 王军志. 生物技术药物研究开发和质量控制 [M]. 2 版. 北京: 科学出版社, 2007: 237-258.

[9] Roush D J. Integrated viral clearance strategies - reflecting on the present, projecting to the future [J]. Curr Opin Biotechnol, 2018, 53: 137-143.

[10] 药品生产质量管理规范(2010 年修订)附录生物制品[S]. 北

京: 国家食品药品监督管理局, 2020.

[11] 杨红艳, 隋礼丽. 层析介质使用寿命缩小模型的建立和确认 [J]. 中国生物制品学杂志, 2013, 26(6): 894-896.

[12] 王 聪, 张 军, 杜 研, 等. 亲和层析的介质寿命和清洗检测研究 [J]. 产业与科技论坛, 2021, 20(24): 48-49.

[13] 史清洪, 孙 彦. 适应高滴度抗体制备的抗体捕集纯化技术研究进展 [J]. 化工进展, 2019, 38(1): 576-585.

[14] Karlsson E, Hirsh I. Ion exchange chromatography [M]//Protein purification: principles, high resolution methods, and applications. New Jersey: John Wiley & Sons, 2011: 93-133.

[15] Miesegaes G R, Lute S, Strauss D M, et al. Monoclonal antibody capture and viral clearance by cation exchange chromatography [J]. Biotechnology and Bioengineering, 2012, 109(8): 2048-2058.