

## **Einführung in DSP - Zellseparation**

### Ihre Ziele:

Am Ende der Lektion sollten Sie in der Lage sein, die Reihenfolge der Schritte für das **Downstream Processing (DSP)** zu kennen.

### **Zellernte & Zellseparation**

1. Nachdem der DSP-Produktionsprozess (Downstream Processing) definiert wurde, muss der Zeitpunkt für die Produkternte festgelegt werden.
2. Der Erntezeitpunkt hängt davon ab, ob es sich um ein primäres, sekundäres oder gemischtes Produkt (eine Kombination aus primär und sekundär) handelt.
3. Die Ernte wird normalerweise einmal durchgeführt:
  - die gewünschte Konzentration des Produkts (Titer) erreicht ist (g/L)
  - die Lebensfähigkeit der Zellen hoch ist, um Zellbruch und höhere Verunreinigungen zu vermeiden
  - die Produktqualität maximal ist

### **Ein Produkt kann klassifiziert werden als (entweder):**

1. Intrazellulär, nicht sezerniert
2. Sekretiert in den periplasmatischen Raum
3. Sekretiert in ein Kulturmedium

### **Intrazellulär, nicht sezerniert**

- Charakteristisch für Bakterien (z. B. E. coli)
- Proteine reichern sich innerhalb der Zellen an, bis die Löslichkeit des Proteins die Grenze überschreitet und das Protein als Einschlusskörper ausfällt
- Zellen müssen aufgebrochen werden, um das Protein (Produkt) zu gewinnen
- Protein muss von den Zelltrümmern abgetrennt und neu solubilisiert werden
- DSP beginnt
- In diesem Zustand erfordert das Produkt Einheitsoperationen für die Zelltrennung vom Medium, den Zellaufschluss, die Entfernung von Zelltrümmern, die Solubilisierung des Produkts sowie die Entfernung von Aggregaten und nicht löslichen Bestandteilen.

## **Sekretion in den periplasmatischen Raum**

- Charakteristisch für Bakterien, bei denen das rekombinante Protein-Gen mit dem Sekretionsprotein-Gen verbunden wurde (z. B. E. coli)
- Proteine, die sich anreichern, werden in den periplasmatischen Raum sezerniert, das ist der Raum zwischen der inneren und äusseren Zellwand von Gram-negativen Bakterien
- Äussere Zellwand muss aufgebrochen werden, um das Protein zu gewinnen (z. B. Aducanumab)
- Das Protein muss von den Zellen getrennt werden
- DSP beginnt
- In diesem Zustand benötigt das Produkt Einheitsoperationen für die Zelltrennung vom Medium, das Aufbrechen der Zellwand, die Entfernung der Zellen und die Produktgewinnung.

## **Sekretiert in ein Medium**

- Ist charakteristisch für eukaryotische Zellen, einschliesslich der meisten Hefen, Myzelpilze und Säugetierzellen
- Produzierte Proteine werden von der Zelle sezerniert und reichern sich nicht intrazellulär an
- Erleichtert die Gewinnung von Proteinen, da sie in löslicher Form vorliegen können
- Protein muss von den Zellen getrennt werden
- DSP beginnt
- In diesem Fall erfordert der Zustand Einheitsoperationen zur Abtrennung der Zellen vom Medium, normalerweise Mikrofiltration oder Zentrifugation, gefolgt von Tiefenfiltration, um die Ernte vor der DSP zu klären.

## **Methoden zur Zelltrennung**

- Filtration
  - o Querstromfiltration (tangential)
  - o Hohlfaser
  - o Interner Spinfilter E
  - o Externer Spinnfilter
- Absetzvorrichtungen
- Zentrifugen
- Akustische Wellentechnik (stehende Wellen: BioSep)
- Hydrozyklone

Proteinarten: [https://en.wikipedia.org/wiki/List\\_of\\_types\\_of\\_proteins](https://en.wikipedia.org/wiki/List_of_types_of_proteins)

Eine Liste von zehn Proteinen in einem Proteom:

[https://en.wikipedia.org/wiki/List\\_of\\_proteins](https://en.wikipedia.org/wiki/List_of_proteins)