

## Introduction au DSP - Séparation cellulaire

### Vos objectifs:

À la fin de la leçon, vous devriez être en mesure d'établir la séquence des **étapes du traitement en aval** (DSP).

### **Récolte et séparation des cellules**

1. Une fois que le processus de production du DSP (traitement en aval) a été défini, il faut définir le moment de la récolte du produit.
2. Le point de récolte dépendra du fait que le produit soit un produit primaire, secondaire ou mixte (une combinaison de primaire et secondaire).
3. La récolte est généralement effectuée une fois que
  - la concentration souhaitée du produit (titre) a été atteinte (g/L)
  - la viabilité cellulaire est élevée afin d'éviter la rupture des cellules et un niveau plus élevé d'impuretés
  - la qualité du produit est maximale.

### **Un produit peut être classé comme étant (soit):**

1. Intracellulaire, non sécrété
2. Sécrété dans l'espace périplasmique
3. Sécrété dans un milieu de culture

### **Intracellulaire, non sécrété**

- Caractéristique des bactéries (par exemple E. coli)
- Les protéines s'accumulent à l'intérieur des cellules jusqu'à ce que la solubilité des protéines dépasse la limite et que les protéines précipitent sous forme de corps d'inclusion.
- Les cellules doivent être brisées pour récupérer la protéine (produit).
- Les protéines doivent être séparées des débris cellulaires, puis re-solubilisées.
- La DSP commence
- Dans cet état, le produit nécessite des opérations unitaires pour la séparation des cellules du milieu, la rupture des cellules, l'élimination des débris cellulaires, la solubilisation du produit, l'élimination des agrégats et des non-solubles.

### **Sécrété dans l'espace périplasmique**

- Caractéristique des bactéries pour lesquelles le gène de la protéine recombinante a été lié au gène de la protéine de sécrétion (par exemple, E. coli).
- Les protéines qui sont accumulées sont sécrétées dans l'espace périplasmique, qui est l'espace entre la paroi cellulaire interne et externe des bactéries Gram-négatives.
- La paroi cellulaire externe doit être brisée pour récupérer la protéine (par exemple, Aducanumab).
- La protéine doit être séparée des cellules
- Le DSP commence
- Dans cet état, le produit nécessite des opérations unitaires pour la séparation des cellules du milieu, la rupture de la paroi cellulaire, l'élimination des cellules, la récupération du produit.

### **Sécrétée dans un milieu**

- Est caractéristique des cellules eucaryotes, y compris la plupart des levures, des champignons mycéliens et des cellules de mammifères.
- Les protéines produites sont sécrétées par la cellule et ne s'accumulent pas intracellulairement.
- Facilite la récupération des protéines, car elles peuvent être sous forme soluble.
- La protéine doit être séparée des cellules.
- Le DSP commence
- Dans ce cas, l'état exige des opérations unitaires pour la séparation des cellules du milieu, généralement la microfiltration ou la centrifugation, suivie d'une filtration en profondeur afin de clarifier la récolte avant la DSP.

### **Méthodes de séparation des cellules**

- Filtration
  - Filtration à courant transversal (tangential)
  - Fibre creuse
  - Filtre à spin interne E
  - Filtre à spin externe
- Dispositifs de décantation
- Centrifugeuses
  - Technologie des ondes acoustiques (ondes stationnaires : BioSep)
- Hydrocyclones

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

Une liste de dix protéines dans un protéome : [https://en.wikipedia.org/wiki/List\\_of\\_proteins](https://en.wikipedia.org/wiki/List_of_proteins)