

1. Способ очистки рекомбинантного активатора плазминогена слюны *Desmodus rotundus* (rDSPA α1) из биологической среды, включающий:
 - (a) нанесение среды на катионообменную смолу при pH от 4 до 7;
 - (b) промывание катионообменной смолы для удаления не принадлежащих к rDSPA α1 белков и небелковых загрязняющих примесей;
 - (c) селективную элюцию связанного rDSPA α1 с катионообменной смолы;
 - (d) нанесение элюента со стадии (c), содержащего rDSPA α1, на гидрофобно-взаимодействующую смолу при pH от 3 до 5;
 - (e) промывание гидрофобно-взаимодействующей смолы для удаления не принадлежащего к rDSPA α1 белка и небелковых загрязняющих примесей;
 - (f) селективную элюцию связанного rDSPA α1 с гидрофобно-взаимодействующей смолы;
 - (g) нанесение элюента со стадии (f), содержащего rDSPA α1, на смолу для аффинной хроматографии при низком pH и низкой ионной силе;
 - (h) промывание смолы для аффинной хроматографии для удаления не принадлежащего к rDSPA α1 белка и небелковых загрязняющих примесей;
 - (i) селективную элюцию связанного rDSPA α1 со смолы для аффинной хроматографии с получением чистого rDSPA α1 в водном растворе.
2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что биологическая среда представляет собой кондиционированную среду.
3. Способ по п. 1, отличающийся тем, что катионообменная смола на стадии (a) включает частицы силикагеля, поперечносшитую агарозу или поперечносшитые полимеры полиметакрилата, дериватизированные карбоксильными или карбоксиалкильными группами.
4. Способ по п. 3, отличающийся тем, что катионообменная смола включает матрицу из частиц силикагеля, ковалентно связанных с полиэтилениминсиланом, в котором аминокгруппы полиэтилениминсилана дериватизированы карбоксильными группами.
5. Способ по п. 3, отличающийся тем, что условия загрузки на стадии (a) включают нанесение среды при pH от 4 до 7.
6. Способ по п. 4, отличающийся тем, что элюцию rDSPA α1 на стадии (c) выполняют с использованием буфера, содержащего 50 mM фосфата натрия и от 100 mM до 500 mM NaCl, или буфера эквивалентной ионной силы.
7. Способ по п. 1, отличающийся тем, что смола для гидрофобного взаимодействия на стадии (d) представляет собой незаряженную смолу, дериватизированную алкильными цепями из 1-10 углеродов в длину или арилалкильными группами.
8. Способ по п. 7, отличающийся тем, что незаряженная смола включает частицы силикагеля, поперечносшитую агарозу или поперечносшитый полимер полиметакрилата.
9. Способ по п. 7, отличающийся тем, что незаряженная смола включает полужесткие сферические гранулы, синтезированные сополимеризацией этиленгликоля и полимеров метакрилатного типа, дериватизированных бутильными группами.
10. Способ по п. 9, отличающийся тем, что условия загрузки на стадии (d) включают нанесение элюента со стадии (c) при pH от 3 до 5.
11. Способ по п. 9, отличающийся тем, что условия загрузки на стадии (d) включают нанесение элюента со стадии (c) в 50 mM фосфата натрия, 500 mM NaCl, с pH, доведенным до 4 фосфорной кислотой, или в буфере эквивалентной ионной силы.
12. Способ по п. 9, отличающийся тем, что элюцию на стадии (f) выполняют с использованием буфера, содержащего 20 mM HCl и имеющего концентрацию этанола более чем 25%.
13. Способ по п. 12, отличающийся тем, что концентрация этанола составляет 28,5 - 30%.
14. Способ по п. 12, отличающийся тем, что концентрация этанола равна 29%.
15. Способ по п. 1, отличающийся тем, что смола для аффинной хроматографии со стадии (g) включает поперечносшитый сополимер аллилдекстрана и N,N'-метилденбисакриламида в форме гранул с диаметром от 25 до 75 мкм.
16. Способ по п. 15, отличающийся тем, что гранулы обладают способностью фракционировать глобулярные белки от 20000 до 8000000 кД.
17. Способ по п. 15, отличающийся тем, что условия загрузки на стадии (g) включают нанесение элюента со стадии (f) при pH от 1 до 4.
18. Способ по п. 15, отличающийся тем, что элюцию на стадии (i) осуществляют с использованием буфера, содержащего 200 mM глицина с pH от 3 до 6, или буфера эквивалентной ионной силы.
19. Способ по п. 1, отличающийся тем, что дополнительно включает концентрирование водного раствора rDSPA α1.
20. Способ по п. 19, отличающийся тем, что дополнительно включает лиофилизацию концентрированного раствора rDSPA α1.
21. Способ по п. 1, отличающийся тем, что дополнительно включает концентрирование водного раствора rDSPA α1 и лиофилизацию концентрированного раствора rDSPA α1.
22. Способ по п. 1, отличающийся тем, что включает следующие стадии:
 - (a) нанесение среды при pH от 4 до 7 на катионообменную смолу, включающую частицы силикагеля, поперечносшитую агарозу или поперечносшитые полимеры полиметакрилата, дериватизированные карбоксильными или карбоксиалкильными группами;
 - (b) промывание катионообменной смолы для удаления не принадлежащих к rDSPA α1 белков и небелковых загрязняющих примесей;
 - (c) селективную элюцию связанного rDSPA α1 с катионообменной смолы с использованием буфера, содержащего 50 mM фосфата натрия и от 100 mM до 500 mM NaCl, или буфера эквивалентной ионной силы;
 - (d) нанесение элюента со стадии (c), содержащего rDSPA α1, при pH от 3 до 5 на гидрофобно-взаимодействующую смолу, включающую частицы силикагеля, поперечносшитую агарозу или поперечносшитые

полимеры полиметакрилата;

(е) промывание гидрофобно-взаимодействующей смолы для удаления не принадлежащего к rDSPA $\alpha 1$ белка и небелковых загрязняющих примесей;

(f) селективную элюцию связанного rDSPA $\alpha 1$ с гидрофобно-взаимодействующей смолы буфером, содержащим 20 mM HCl и имеющим концентрацию этанола более чем 25%;

(g) нанесение элюента со стадии (f), содержащего rDSPA $\alpha 1$, при pH от 1 до 4 на смолу для аффинной хроматографии, включающую поперечносшитый полимер аллилдекстрана и N, N'-метиленисакриламида в форме гранул с диаметром от 25 до 75 мкм;

(h) промывание смолы для аффинной хроматографии для удаления не принадлежащего к rDSPA $\alpha 1$ белка и небелковых загрязняющих примесей;

(i) селективную элюцию связанного rDSPA $\alpha 1$ со смолы для аффинной хроматографии буфером, содержащим 200 mM глицина, с pH от 3 до 6 или буфером эквивалентной ионной силы с получением чистого rDSPA $\alpha 1$ в водном растворе.

23. Способ выделения и очистки rDSPA $\alpha 1$ из биологической среды, включающий:

(a) нанесение среды при pH 5 на катионообменную смолу, включающую матрицу из частиц силикагеля, ковалентно связанных с полиэтилениминсиланом, в котором аминокислотные группы дериватизированы карбоксильными группами;

(b) промывание катионообменной смолы с pH 5 100 mM NaOAc и 50 mM фосфата натрия с pH 7,5 для удаления не принадлежащего к rDSPA $\alpha 1$ белка и небелковых загрязняющих примесей;

(c) элюцию связанного rDSPA $\alpha 1$ с катионообменной смолы буфером, содержащим 50 mM фосфата натрия и 500 mM хлорида натрия, с pH 7,5;

(d) нанесение элюента со стадии (c), содержащего rDSPA $\alpha 1$, при pH 4 на гидрофобно-взаимодействующую смолу, включающую полужесткие сферические гранулы, синтезированные путем сополимеризации этиленгликоля и полимеров метакрилатного типа, дериватизированных бутильными группами;

(e) промывание гидрофобно-взаимодействующей смолы 20 mM HCl, а затем 20 mM HCl, содержащим 19% EtOH, для удаления белка, не принадлежащего к rDSPA $\alpha 1$, и небелковых загрязняющих примесей;

(f) элюцию связанного rDSPA $\alpha 1$ с гидрофобно-взаимодействующей смолы буфером, содержащим 29% этанола и 20 mM HCl, с pH 2,5;

(g) нанесение элюента со стадии (f), содержащего rDSPA $\alpha 1$, при pH 2,5 на смолу для аффинной хроматографии, включающую поперечносшитый полимер аллилдекстрана и N,N'-метиленисакриламида, который фракционирует глобулярные белки от 20000 до 8000000 кД;

(h) промывание смолы для аффинной хроматографии 20 mM HCl для удаления белка, не принадлежащего к rDSPA $\alpha 1$, и небелковых загрязняющих примесей;

(i) элюцию связанного rDSPA $\alpha 1$ со смолы для аффинной хроматографии буфером, содержащим 200 mM глицина, с pH от 4 до 5, с получением чистого rDSPA $\alpha 1$ в водном растворе.