

果表明,粒径在  $0.005 \sim 0.2 \mu\text{m}$ ,随着洗涤次数的增加,尘埃浓度变化不大,粒径在  $0.3$  以上的尘埃,随着洗涤次数的增加,尘埃浓度越来越高,尤以  $0.5 \mu\text{m}$  粒径的尘埃增加明显,因此,控制适当的洗涤次数,对减少尘埃的产生也很重要。

#### (四)人体内衣散发尘埃的影响

人体内衣所产生的尘埃能通过工作服逸出,不同内衣所散发出尘埃浓度不同。早川将身穿毛衣(100%)内衣(聚脂),套穿内衣(聚脂)的受试者分别进入洁净室内室用小隔间里,进行常规基本动作试验,根据内衣所散发尘埃浓度,用抽气泵强制排出被污染空气中的粒子浓度与风量,求出散发尘埃数,结果表明,尘埃浓度按毛衣、内衣、套穿内衣依次下降。

#### (五)人体不同部位散发尘埃的影响

在操作过程中,由于人体与衣服摩擦的影响,也能散发出大量尘埃,但人体各部位散

发出的尘埃量并不相同,早川采用与(四)相同的试验方法,让受试者穿连衣型工作服,做第二套广播体操,分别在动作前3分钟,动作中5分钟,动作后3分钟用LAS-X微粒计数器测定人体不同部位的粒子浓度,结果表明,在动作过程中尘埃浓度以头部、腋下、臀部、腹部、肘部、胸部、背部、膝部依次下降。

#### (六)不同动作散发尘埃的影响

在操作过程中,操作者由于动作不同,散发出的尘埃数也不同,采用与(四)同样的实验方法,测定结果表明,以手腕自由运动等比较激烈的动作散发尘埃较多。

总之,洁净室工作服的选料、制做、式样、洗涤次数、操作者所穿的内衣以及操作动作等不同,对洁净室的洁净度影响较大。因此,注重对洁净室工作服的质量控制是提高洁净度不可忽视的一环。

#### 参考文献

- [1]日本医药杂志社编·安书麟·王宪洪等译·最新药物制剂技术及应用·中国医药科技出版社,1990:413

## L-赖氨酸-Sephrose 4B 吸附纤溶酶原及纤溶酶

王期中 李西河 徐贯芬 庞广礼  
(山东省生物制品研究所 泰安 271000)

**摘要** 本次研究为了解决人血丙种球蛋白制品因纤溶酶原及纤溶酶引起的 IgG 裂解问题,采用了 L-赖氨酸与 Sepharose 4B 偶联后吸附制品中纤溶酶原及纤溶酶。结果表明,人血丙种球蛋白中纤溶酶原及纤溶酶被吸附。被吸附过的制品与未被吸附过的制品相比较其裂解程度显著降低。因此,在人血丙种球蛋白生产工艺中,加入 L-赖氨酸-Sephrose 4B 吸附纤溶酶原和纤溶酶,可明显提高产品稳定性,解决人血丙种球蛋白裂解的问题,可提高产品的稳定性。

**关键词** 人血丙种球蛋白;赖氨酸;Sephrose 4B;纤溶酶;纤溶酶原

## Adsorb fibrinolysin and profibrinolysin with L-Lysine-Sephrose 4B

Wang Qizhong, Li Xihe, Xu Guanfen, Pang Guangli  
(Shandong Institute of Biological Products, Taian 271000)

**ABSTRACT** To increase stability and to solve the problem of splitting of human serum  $\gamma$ -globulin products, we were used to adsorb fibrinolysin and profibrinolysin with L-Lysine-Sephrose 4B. The Result shows that fibrinolysin and profibrinolysin in the human serum  $\gamma$ -globulin products are adsorbed. Compared with the unadsorbed products, the splitting degree of the adsorbed products was decreased obviously. In manufacture production of human serum  $\gamma$ -globulin products, adsorbing fibrinolysin and profibrinolysin with L-Lysine-sephrose 4B may increase stability of human serum  $\gamma$ -globulin and solve splitting problem of the product. It is a effective method to improve the production quality.

**KEY WORDS** human serum  $\gamma$ -globulin, L-Lysine, sephrose 4B, fibrinolysin, profibrinolysin

人血丙种球蛋白是一种血液制品,它用于病毒性感染的被动免疫,主要用于预防麻疹、传染性肝炎以及丙种球蛋白缺乏症;与抗生素合并使用可提高对某些严重细菌及病毒性感染的疗效。人血丙种球蛋白制品主要的成分为 IgG,制品中 IgG 单体及二聚体含量之和应 $\geq 90\%$ <sup>[1]</sup>。人体血液所含的 IgG 为单体,而制品中的 IgG 在病人使用之前可受到某些因素影响,IgG 单体可发生裂解,据文献报道<sup>[2]</sup>人血丙种球蛋白中残存的纤维蛋白溶酶将 IgG 裂解成 Fc<sub>ab</sub> 段和 PFC' 段,制品的疗效明显降低,而制品中的纤溶酶是由纤溶酶原在适当条件下被纤溶酶原激活剂激活形成的,因而在制造过程中最大限度地减少其中的纤溶酶原及纤溶酶就可以防止 IgG 单体的裂解。从而提高人血丙种球蛋白制品的稳定性。本试验中用亲和层析法吸附纤溶酶原及纤溶酶,经用酪蛋白法<sup>[2]</sup>检测,结果表明吸附后的制品其纤溶酶原及纤溶酶活性显著降低。

### 一、仪器与材料

紫外分光光度计 7541 型(上海分析仪器厂);紫外检测仪 8823 型(北京新技术应用研究所);记录仪 MCR-A 微电脑自动记录仪(北京新技术应用研究所);打印机 ET-318 型打印机;pH 计(pHs-3C 上海雷磁仪器厂);层析柱 2.6cm $\times$ 100cm(上海锦华实验器械厂);恒流泵 HL-Z 型(上海沪西仪器厂)。琼脂糖凝胶 Sepharose 4B(Pharmacia);

葡聚糖凝胶 Sephadex G-150(瑞典 Pharmacia);溴化氰(A.R,北京化工厂);L-赖氨酸盐酸盐(上海东风生化技术公司);6-氨基己酸(北京化工厂);链激酶(Sigma);酪蛋白(Pharmacia);纤溶酶(Sigma);其它试剂均为国产分析纯。

### 二、实验方法

#### (一)琼脂糖凝胶 Sepharose 4B 的活化<sup>[3]</sup>

在通风橱内称取 CNBr 50g,用 60ml 乙腈溶解备用。将 1000ml Sepharose 4B 用 1G3 玻璃垂熔漏斗抽干,用蒸馏水洗涤去防腐剂,将凝胶加入 5mol/L 的磷酸钾缓冲液中,搅拌,然后滴加 CNBr 乙腈溶液,10min 内滴完,再搅拌 10min,然后洗净,将湿凝胶冰箱保存备用。

#### (二)CNBr-Sepharose 4B 与 L-赖氨酸盐酸盐的偶联<sup>[3]</sup>

取 225g L-赖氨酸溶于 0.2mol/L 碳酸氢钠 3600ml 中。取样 0.5ml,加蒸馏水 4.5ml,混匀,于 280nm 波长处测吸收度,吸收度为 0.29。取活化好的湿凝胶 400g 倒入上述溶液中,于室温搅拌 2h,然后放入 4℃ 的冰箱之中过夜,次日,将赖氨酸-Sepharose 4B 用 1G3 玻璃垂熔漏斗过滤。再用 16000ml 每升含 0.2mol NaCl 的 0.01mol/L 磷酸盐缓冲溶液通过玻璃垂熔漏斗冲洗凝胶,共得洗液 19200ml,取样在 280nm 波长处测吸收度,吸收度为 0.10。然后再用每升含 0.15mol NaCl 的 0.01mol/L 磷酸盐缓冲液

洗凝胶,收集洗液为 51200ml,取样在 280nm 处测吸收度,吸收度为 0.11。

### (三)偶联率计算

$$\text{偶联率} = [0.29 \times 10 \times 3200 - (0.11 \times 51200 + 0.10 \times 19200)] \div [0.29 \times 10 \times 3200] = 18.62\%$$

$$\text{被偶联的赖氨酸量} = 150 \times 18.62\% = 37.36(\text{g})$$

### (四)吸附

取超滤浓缩至 11% 蛋白浓度的人血丙种球蛋白 20000ml,加入偶联的赖氨酸 - Sepharose 4B 400g 搅拌吸附 2h,用筒型滤器将吸附后的凝胶滤出,因半成品中有少量的活性炭,所以滤出的凝胶也带有黑色的活性炭条纹,将凝胶转移至 1G3 玻璃垂熔漏斗中用 6000ml 0.2mol/L NaCl 抽洗除去活性炭,继用 0.5mol/L NaCl 20000ml 冲洗凝胶,有大量泡沫性溶液被洗出,其中含有纤溶酶原及纤溶酶。洗后的凝胶进行再生,可分次加

入 0.2mol/L 浓度的 6-氨基己酸溶液(约耗 6-氨基己酸 200g),在漏斗上自然滴滤,约 3h 滴完,再用 10000ml 蒸馏水洗凝胶,洗完后将凝胶转入盛有 0.1mol/L HAc 1000ml 的尼龙杯中,置 4℃ 冰箱中储存备用。

### (五)测定人血丙种球蛋白各项含量

用凝胶层析法<sup>[4]</sup>对 6 批人血丙种球蛋白产品进行测定。求出其裂解物的平均值。18mo 时再检测 1 次。

将被 L-赖氨酸 Sepharose 4B 吸附过的 6 批人血丙种球蛋白用(五)项所述的同样之方法检测其裂解物的百分含量。18mo 时再检测 1 次。

用酪蛋白法分别测定出厂时及 18mo 时人血丙种球蛋白纤溶酶原的含量。

用纤维蛋白底物法分别测定在出厂时及 18mo 时人血丙种球蛋白纤溶酶的含量。上述各项结果见表 1。

表 1 人血丙种球蛋白吸附前后比较

	裂解物(%)		纤溶酶原(酪蛋白单位)		纤溶酶( $\mu$ /ml)	
	出厂时	18 月时	出厂时	18 月时	出厂时	18 月时
人血丙种球蛋白(6 批)	0.20 ± 0.02	4.23 ± 0.38	0.187 ± 0.011	0.086 ± 0.006	2.321 ± 0.452	2.401 ± 0.328
吸附人血球蛋白(6 批)	0.02 ± 0.02	0.51 ± 0.04	0.042 ± 0.004	0.022 ± 0.003	0.859 ± 0.097	0.906 ± 0.089
P 值	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

### 三、结果与讨论

测定结果表明吸附之后制品中所含的裂解物、纤溶酶原、纤溶酶与没有经过吸附的制品相比显著降低,有显著性差异。说明在人血丙种球蛋白生产工艺中加入 L-赖氨酸 - Sepharose 4B 吸附纤溶酶原、纤溶酶的工艺,能明显提高制品稳定性,解决人血球蛋白制品中 IgG 裂解的问题,是提高产品质量的有

效手段。

### 参考文献

- [1]中国生物制品规程.1995年版.一部.1995:224
- [2]王秉瑞,何长民.生物制品基础.兰州:甘肃人民出版社,1986:322
- [3]冯万祥,赵伯龙.生化技术.长沙:湖南科技出版社,1989:202~8
- [4]中国生物制品规程.1990年版.一部.1990:316~7