

抗甲肝病毒基因工程单抗分离纯化与鉴定

魏敬双¹ 陶苒¹ 孙巍巍¹ 贾茜^{1*} 李川² 梁米芳²

¹(华北制药集团新药研究开发有限责任公司,石家庄 050015)

²(中国疾病预防控制中心,北京 100052)

摘要 为克服血源免疫球蛋白制品的不足,开发了抗甲肝病毒基因工程单克隆抗体 anti-HAV IgG。用无血清培养基培养 rCHO 工程细胞株,上清液经过 rProtein A SFF 亲和层析→脱盐→离子交换层析→超滤换液纯化后,所得 anti-HAV IgG 纯度达 99% 以上,比活性约 100IU/mg,anti-HAV IgG 活性回收率 40%。所纯化的 anti-HAV IgG 分子量 150kD,等电点 8.4~9.3。免疫印迹实验证实 anti-HAV IgG 为人源全抗体分子。亲和层析介质 rProtein A SFF 确实存在亲和配基脱落问题,但通过后续纯化步骤可有效除去。在亲和层析过程中加入高盐清洗步骤,可有效降低宿主 DNA 残留量水平。对样品中自由巯基含量进行了测定,认为非还原电泳图谱中低分子量条带是由于抗体分子内存在自由巯基引起。用该工艺制备的 anti-HAV IgG 各项纯度检测指标均达到我国对基因工程产品的质量要求。

关键词 重组人抗甲肝病毒单抗,蛋白纯化,亲和层析,rProtein A 残留量

中图分类号 Q781 文献标识码 A 文章编号 1000-3061(2004)02-0257-05

收稿日期 2003-08-06,修回日期 2003-12-10。

基金项目 国家高技术研究发展计划(863 计划)基金资助(No.2002AA2Z3339)。

* 通讯作者。 Tel:86-311-6680877; Fax 86-311-6685346; E-mail: 2056@sina.com

中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>