

蔗糖密度梯度离心法进行百日咳抗原的纯化

【himac CP-70NE 超速离心机及 P32ZT 区带转头在疫苗生产中的应用】

百日咳是由百日咳杆菌引起的，具有高强度的传染性疾病。多数表现为剧烈阵发性咳嗽，病程长达 2-3 个月，甚至导致婴幼儿死亡，随着百日咳疫苗广泛接种，儿童发病率已明显下降。百日咳一直被认为是一种儿童疾病，但实际上最常见青少年和成人，患者会将百日咳传染给其他家庭成员，尤其是婴幼儿。

百日咳的危害：绝大多数儿童可以战胜百日咳，但不到 1 岁的婴幼儿中被传染而导致严重疾病是常见情况。1：超过一半的婴幼儿必须住院治疗 2：超过一半的婴幼儿会出现短暂的呼吸停止。 3: 8 名幼儿中有 1 名出现肺炎。

如何预防百日咳？最有效，最经济的预防手段就是接种百日咳疫苗。

鉴于目前国家对百日咳疫苗要求非常严格，需要一种高效的、高质量的生产纯化方法，本文将介绍使用 himac（前身为日立工机）超速离心机 CP-70NE 及 P32ZT 区带转头进行纯化的方法。

◆ 主机及转头：himac 超速离心机 CP-70NE 及区带转头 P32ZT



CP70NE



P32ZT 转头

◆ himac 超速离心机在 GMP 与 FDA 方面合规性：

- | | |
|--------------|---------------|
| ✓ 用户管理和密码锁控制 | ✓ 仪器管理和运行数据记录 |
| ✓ 电子签名 | ✓ 运行备注（批号、追溯） |
| ✓ 实时运行曲线及记录 | ✓ 转头运行追踪 |
| ✓ 远程监控和诊断 | ✓ 无粉尘及清洁设计 |

天美(中国)科学仪器有限公司
北京市朝阳区天畅园7号楼(100107)

t 010-64010651

f 010-64060202

e techcomp@techcomp.cn

w www.techcomp.cn

◆ **转头：区带转头 P32ZT**

- **最高转速：32000rpm**
- **最大离心力：102000 $\times g$**
- **转头容量大：1690ml**
- **加样/卸样更方便：提高产量，降低成本，便于管理**
- **结构更合理：即使使用高密度蔗糖也不会发生内漏**
- **转头K因子低：比同类品牌低30%左右。对于同样的样品，该转头离心完成时间少30%，所以转头消耗更少，寿命更长**



◆ **离心条件：**

上下样转速：2000rpm；运行转速：32000rpm；最大 RCF: 102000 $\times g$ ；时间：18 小时；加速/减速速率：9 加/7 减；设置温度：2-8℃；蠕动泵速度 50ml/min

密度梯度液：10%蔗糖溶液；30%蔗糖溶液；40%蔗糖溶液；0.9%灭菌生理盐水；百日咳抗原

◆ **离心步骤：**

- I . 使用注射用水将分析纯级别蔗糖稀释，制作成 10, 30, 40%的蔗糖密度梯度介质
- II . 按如下顺序将各梯度液用蠕动泵均匀缓慢泵入转头（转头运行 2000rpm）：
- III .

30%蔗糖溶液（1.381g/cm ³ ）	550ml
10%蔗糖溶液（1.038g/cm ³ ）	550ml
百日咳抗原	500ml
0.9%生理盐水 90ml	90ml
总共	1690ml
- IV . 离心时间结束后用 40%蔗糖溶液从加样头边孔将目的抗原顶出
- V . 目的抗原收集：每 100ml 一管进行收集，共 8 个收集管

- ◆ **结果及结论**：结果显示蔗糖密度梯度离心完成后 收集到百日咳抗原所在区域。
使用上述蔗糖密度梯度方法可以对大规模百日咳疫苗生产中抗原进行纯化，浓缩及后续的疫苗产品研究和工艺升级。

如有任何其它相关问题，请随时联系天美（中国）科学仪器有限公司。