



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

206 924

(11)

(B1)

(61)

(23) Výstavní priorita
(22) Přihlášeno 24 08 79
(21) PV 5755-79

(51) Int. Cl.³ C 07 G 7/00

(40) Zveřejněno 15 09 80
(45) Vydáno 01 11 83

(75)
Autor vynálezu SEMOTÁN KAREL RNDr., IVANOVICE NA HANÉ a
KALÁB DUŠAN RNDr., VIŠKOV NA MORAVĚ

(54) Způsob odstraňování zbytků dimethyllaurylbenzylamonium-bromidu z roztoku imunoglobulinů

1

Vynález se týká výroby imunoglobulinů /protilátek/ z jejichž roztoků se odstraňují zbytky purifikačního činidla - kvartérní amoniové sloučeniny.

Pro přípravu lidských i zvířecích sérových imunoglobulinů existuje řada výrobních postupů. Jeden z nich spočívá v použití purifikačního činidla dimethyllaurylbenzylamonium-bromidu, který odstraňuje ze séra nebo z plasmy veškeré bílkoviny kromě imunoglobulinů. Zbytky purifikačního činidla se odstraňují adsorbci na aktivní uhlí a imunoglobuliny se získají vysolením síranem amonným. Tento způsob přípravy sérových imunoglobulinů je chráněn podle československého patentu č. 132058. Součástí uvedeného výrobního postupu je nevýhodný způsob odstraňování zbytků dimethyllaurylbenzylamonium-bromidu adsorbci na aktivní uhlí, které se přidává za míchání do roztoku imunoglobulinů ve formě husté pasty s vodou v množství 2 %. Po vmíchání veškerého uhlí se roztok nechá v klidu usadit do druhého dne, kdy se sleje z usazené vrstvy uhlí a filtruje se na tlakovém filtru přes filtrační vrstvu. Nevýhoda tohoto postupu spočívá ve ztrátách imunoglobulinů, ke kterým dochází během adsorbce a filtrace jejich roztoku, možnost přechodu jemných částic aktivního uhlí do roztoku imunoglobulinů, kde působí šedočerný barevný odstín hotového přípravku a konečně je tato operace časově náročná, pracná a finančně nákladná.

206 924

Výše uvedené nedostatky řeší způsob odstraňování zbytků dimethylaurylbenzylamonium-bromidu podle vynálezu, jehož podstatou je použití k tomuto účelu iontoměniče - silně kyselého katexu v Na^+ formě, s výhodou katexu OSTIONu KS.

Použitím silně kyselého katexu v Na^+ formě se sníží ztráty imunoglobulinů při výrobě o 15 až 20 %, zlepší se vzhled hotového výrobku, sníží se výrobní náklady a výroba se celkově urychlí a usnadní. Tento způsob je velmi jednoduchý a nevyžaduje žádné složité výrobní zařízení. Použitím silně kyselého katexu v Na^+ formě se nemění vlastnosti konečného výrobku, který si uchovává plnou biologickou účinnost protilátek. OSTION KS má vysokou výměnnou kapacitu $/1,8 \text{ mval/cm}^3/$, takže např. 10 l tohoto katexu odstraní zbytky dimethylaurylbenzylamonium-bromidu z 1300 až 6500 l 0,1 až 0,5%-ního roztoku tohoto purifikačního činidla v prostředí imunoglobulinů. Cena OSTIONu KS je poměrně nízká a lze jej používat prakticky stále po periodické regeneraci, která se provádí 3 až 4 objemy 10%-ního roztoku NaCl na objem OSTIONu KS, s následným promytím destilovanou vodou do negativní reakce aluátu na chloridové ionty a 0,9 %ním roztokem NaCl. OSTION KS se plní do skleněné kolony, jejíž poměr průměru k výšce se pohybuje v rozmezí 1:5 až 1:10. Před regenerací je vhodné provádět protiproudové nakypření uvedeného katexu destilovanou vodou. Detekce přítomnosti dimethylaurylbenzylamonium-bromidu v eluátu se provádí 1,7%-ním roztokem ferrikyanidu draselného.

Bližší charakteristika uvedeného iontoměniče:

Název	OSTION KS
Výrobce	Spolek pro chemickou a hutní výrobu, Ústí nad Labem
Dodavatel	Chema, Kyjov
Funkční skupiny	- SO_3H
Forma	Na^+
Kapacita suchého katexu	5 mval/g
Kapacita vlhkého katexu	$1,8 \text{ mval/cm}^3$
Zrnění	0,3 až 1,2 mm
Sypná váha	740 g/l
Pracovní rozsah pH	0 až 14
Tepelná stálost	do 125°C
Cena	11 Kčs na litr

P ř í k l a d

Skleněná kolona s vypouštěcím ventilem a s pevným keramickým nebo novodurovým sítem na dně kolony o rozměrech např. 100 x 500 mm se naplní z části destilovanou vodou a přidá 25 mm vrstva skleněných kuliček o průměru cca 3 mm. Na kuličky se navrství katex OSTION KS do dvou třetin výšky kolony. Následuje promytí sloupce tohoto katexu 0,9%-ním roztokem NaCl.

Roztok zvířecích imunoglobulinů, získaný po odstranění sraženiny balastních bílkovin

se přivádí kontinuálně na kolonu OSTIONu KS a nechá se volně protékat rychlostí 0,6 až 0,7 l za minutu přes sloupec tohoto katexu. Po projití 1000 až 1200 l roztoku se provádí kontrolní zkoušky na nepřítomnost dimethyllaurylbenzylamonium-bromidu v eluátu zákalovou reakcí s ferrikyanidem draselným.

Provedení zkoušky: K 5 cm³ eluátu /roztoku imunoglobulinů/ se přidají 2 cm³ 1,7%ního roztoku ferrikyanidu draselného. Za přítomnosti zbytků dimethyllaurylbenzylamonium-bromidu vznikne žlutý zákal až sraženina. Jakmile se v eluátu zjistí přítomnost dimethyllaurylbenzylamonium-bromidu, je nutno provést regeneraci kolony následovně: Deset l 10%ního roztoku NaCl se nechá volně protékat kolonou rychlostí 0,5 l za minutu a po projití veškerého roztoku se promyje kolona destilovanou vodou do negativní reakce eluátu na chloridové ionty a promyje se 10 l 0,9%ního roztoku NaCl. Tím je kolona připravena k dalšímu použití.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Způsob odstraňování zbytků dimethyllaurylbenzylamonium-bromidu z roztoku imunoglobulinů v průběhu jejich výroby, vyznačený tím, že se roztok imunoglobulinů se zbytky dimethyllaurylbenzylamonium-bromidu nechá volně protékat skleněnou kolonou přes sloupec silně kyselého katexu v Na⁺ formě.