



POLSKIEJ RZECZYPOSPOLITEJ LUDOWEJ

OPIS PATENTOWY

Nr 40815

Kl. 30 h, 2/04

Laboratorium Technologiczne Zarządu*)

Wytwórni Surowic i Szczepionek

Warszawa, Polska

Sposób otrzymywania gamma-globulin

Patent trwa od dnia 4 stycznia 1957 r.

Przedmiotem wynalazku jest sposób otrzymywania gamma-globulin. W sposobie tym wykorzystuje się specyficzne działanie jonów Zn^{++} i Al^{+++} przy określonym pH, stężeniu białka i temperaturze na frakcje alfa —, beta — i gamma-globulinowe.

Według wynalazku do surowicy o 2—5%owym stężeniu białka dodaje się w temperaturze 0—40°C roztworu soli cynkowej w takiej ilości, ażeby jej końcowe stężenie wynosiło 2—20 m Moli. Następnie w celu wytrącenia alfa-beta- i gamma-globulin doprowadza się pH środowiska (za pomocą NaOH) do wartości 5,5—8,0. Z wytrąconego i odwirowanego osadu sporządza się zawiesinę w roztworze soli fizjologicznej, do której następnie dodaje się wymiennik jonowy. Jako wymiennik jonowy stosuje się kationit niepodstawiony lub podstawiony potasowcem. Następnie wymiennik jonowy odwirowuje

się, a pozostałość zadaje roztworem soli glinowej w takiej ilości, ażeby końcowe stężenie glinu wynosiło 10—35 m Moli. Z kolei wytrąca się alfa- i beta-globuliny, przez doprowadzenie roztworu za pomocą NaOH do pH=4,5 — 6. Osad odwirowuje się, a z przesączu wytrąca się gamma-globuliny przy pH=6,5—8. Do oddzielnego osadu gamma-globulin o konsystencji pasty dodaje się kationitu w celu przeprowadzenia gamma-globulin do roztworu. Po odwirowaniu kationitu otrzymuje się roztwór gamma-globulin o wysokiej czystości.

Według wynalazku ciepłe gamma-globuliny można otrzymywać z surowicy ludzkiej, pobranej z żyły dawcy, łożyska lub pozałożyskowej, zarówno natywnej płynnej jak i zamrożonej, jak również uprzednio inaktywowanej w wyższej temperaturze, zawierającej lub nie zawierającej środków antyseptycznych. Możliwe jest również stosowanie jako surowca surowicy zwierzęcej.

Zaletą sposobu według wynalazku w porównaniu z innymi sposobami jest to, że pozwala

*) Właściciel patentu oświadczył, że współtwórcami wynalazku są mgr Robert Krauze, mgr Krzysztof Naimski i doc. dr Kazimierz Zakrzewski.

on na otrzymanie produktu o wysokiej aktywności i czystości bez stosowania alkoholu, temperatury poniżej 0°C i liofilizacji. Poza tym sposobem według wynalazku otrzymuje się roztwór gamma-globulin o takim stężeniu, że zbędne jest dalsze jego zagęszczanie.

P r z y k ł a d. 15 litrów ludzkiej surowicy łożyskowej, inaktywowanej przez ogrzanie do 56°C o fenolowanej, rozcieńcza się do 45 litrów (stężenie białka 2,5%-owe).

Po oziębieniu do temperatury 1°C wkrapla się do niej przy równoczesnym mieszaniu 900 ml 0,5 M roztworu octanu cynkowego i następnie 350 ml 1 n NaOH otrzymując końcowe pH=7,6.

Po 18-to godzinnym odstaniu w temperaturze 0°C osad odwirowuje się na superwirówce CEPA. Przesącz zawiera prawie czyste albuminy.

Osad alfa-, beta i gamma-globulin zawiesza się w roztworze soli fizjologicznej. Do zawiesiny tej dodaje się 600 g węgla sulfonowanego, podstawionego jonami sodu. Po odwirowaniu wymiennika jonowego, otrzymany roztwór rozcieńcza się do objętości 12,5 litra uzyskując 3,0%-owe stężenie białka. Następnie dodaje się do niego równą objętość 1%-go roztworu alunu glinowo-amonowego. Po odwirowaniu osadu na superwirówce CEPA, wytrąca się z przesączu gamma-globuliny, doprowadzając za pomocą 45 ml 1 n NaOH pH roztworu do 7,4.

Otrzymany osad czystych gamma-globulin o konsystencji pasty miesza się z 50 g sulfonowanego węgla, podstawionego sodem. Po oddzieleniu kationitu otrzymuje się roztwór gamma-globulin.

Ostateczną formą rynkową preparatu otrzymuje się sącząc roztwór przez filtr Seitz'a o gęstości zapewniającej zatrzymanie bakterii. Otrzymuje się 450 ml 10%-wego roztworu gamma-globulin.

Z a s t r z e ż e n i a p a t e n t o w e

1. Sposób otrzymywania gamma-globulin, znamienny tym, że do surowicy o 2—5%-owym stężeniu białka dodaje się w temperaturze 0—4°C roztworu soli cynkowej do osiągnięcia jej końcowego stężenia 2—20 m Moli i doprowadza jej pH do 5,5—8, po czym wytrącony osad odwirowuje się, zawiesza w roztworze soli fizjologicznej i dodaje wymiennika jonowego, następnie oddziela się wymiennik, a pozostały roztwór zadaje roztworem soli glinowej do osiągnięcia stężenia jonów glinowych 10—35 m Moli doprowadza do pH=4,5—6, po czym wytrącony osad odwirowuje się a z przesączu wytrąca przy pH=6,5—8,0 gamma globuliny, do których po odwirowaniu dodaje się kationitu, w celu przeprowadzenia ich w postać rozpuszczoną.
2. Sposób według zastrz. 1, znamienny tym, że jako wymiennik jonowy stosuje się kationit niepodstawiony lub podstawiony potasowcem.

L a b o r a t o r i u m T e c h n o l o g i c z n e
Z a r z á d u W y t w ó r n i S u r o w i c
i S z c z e p i o n e k

Zastępca: Kolegium Rzeczników Patentowych