

胞达到了美、日等国文献报道的同样制品的质量指标,它可以在临床上逐步推广使用。

由于当时冷冻设备条件的限制,大部分样品是在干冰筒中冷冻保存的,冷冻时间较短,最长的只9个月。我们认为冷冻时间长短对红细胞的溶血等固然有一定影响,但影响最大的因素仍是甘油化、冷冻、解冻和洗涤等几个变化过程。

一般洗涤溶血不严重的样品,其再悬浮的上清液血红蛋白含量不致超过质量控制指标。有时由于去除上清液的操作不当,血红蛋白含量超过控制指标时可再悬浮一次。有几个临床样品是这样做的。

我们准备在推广使用过程中继续总结经

验,并进一步改进和提高。

### 主要参考资料

- [1] Polge, C., et al.: *Nature (London)*, 164, 666, 1949.
- [2] Smith, A. U.: *Lancet*, 2, 910, 1950.
- [3] Tullis, J. L. et al.: *Science*, 124, 792, 1956.
- [4] Huggins, C. E.: *Science*, 139, 504, 1963.
- [5] Huggins, C. E.: *Modern problems of blood preservation*, 138, 1970.
- [6] Huggins, C. E. et al.: *Preservation of red blood cells*, 321, 1973.
- [7] Huggins, C. E.: *Modern problems of blood preservation*, 172, 1970.
- [8] 隅田幸男:《冷冻血液输血》, 69, 1972。
- [9] 隅田幸男:《冷冻血液输血》, 90, 1972。

[本文于1977年7月12日收到]

## 次黄嘌呤核苷-5'-二磷酸钡盐的制备

中国科学院上海生物化学研究所东风生化试剂厂

次黄嘌呤核苷-5'-二磷酸(5'-IDP)是多聚核苷酸磷酸化酶的底物,也是制备多聚次黄嘌呤核苷酸(poly I)的基本材料。后者与poly C在一定条件下以等克分子混合后,按碱基配对原理,形成双链多核苷酸poly I:C。它是目前最有效的干扰素诱导物,具有使用剂量小,诱导效价高等优点<sup>[1]</sup>。

关于IDP的制备方法有:发酵法<sup>[2]</sup>、有机合成法<sup>[3]</sup>和腺嘌呤核苷二磷酸(ADP)脱氨法。其中以ADP用亚硝酸脱氨法最为简便。但以往报道的方法<sup>[4,4]</sup>,均过于简略,脱氨程度难以掌握。本文详细介绍了ADP用亚硝酸脱氨的反应情况。由于脱氨反应是在较缓和条件下(25°C, pH3—3.5和分五次加入10N醋酸及亚硝酸钠溶液)进行,既使脱氨反应完全,又避免了副反应的发生。因而,反应后不需再经其他的提纯步骤,直接加入醋酸钡溶液和乙醇,即可得到IDP钡盐。产物纯度可达95%以上,产率在80%以上。

### 制备方法

ADP NaH<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O为本厂产品,纸层析:合格,纯度在90%以上。其他试剂均用化学纯。

注意:由于反应时产生的亚硝酸极易分解成很毒的氧化氮和二氧化氮气体。因此,操作

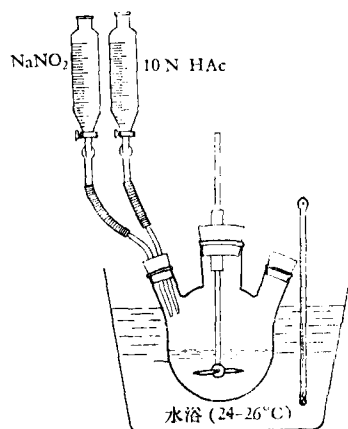


图1 反应装置

须在通风橱内进行,同时避免直射光线的照射。反应仪器装置如图 1 所示。

在 1000 毫升三颈烧瓶中,放置 10 克 (20.6 毫克分子) ADP-钠盐,加 200 毫升水溶解。在恒速搅拌下滴加入 25 毫升 10 N 醋酸。取样 1 (0.4 毫升)。烧瓶外用 24—26°C 水浴保温,逐滴加入 NaNO<sub>2</sub> 水溶液 (15 克 NaNO<sub>2</sub> 溶解在 60 毫升水中),开始脱氨反应,约 50 分钟加完。过 10 分钟 (反应约一个小时),取样 2 (0.4 毫升)。再同时滴加入第二次的 13 毫升 10 N 醋酸和 NaNO<sub>2</sub> 水溶液(7.5 克 NaNO<sub>2</sub> 溶解在 30

毫升水中),各约 50 分钟加毕。当反应达二小时,取样 3。如上所述,以后每小时内同时各滴加入 13 毫升 10 N 醋酸和 7.5 克 NaNO<sub>2</sub> 水溶液及取样一次。直到第五次加毕,继续反应到六个小时为止。反应时的 pH 值均在 3—3.5。把反应混合物移入到 1,000 毫升试剂瓶内,放冰箱过夜。

上述各次所取样品(自冰箱冻结器内取出)分别作纸层析检定和各取 0.1 毫升,用 0.01 N HCl 稀释到 100 毫升后测 265 毫微米的光密度值,结果如下:

样品序号	1	2	3	4	5	6	7
取样时间	反应前	反应一小时	二小时	三小时	四小时	五小时	六小时
265 毫微米, pH 2 光密度值	1.212	0.634	0.448	0.342	0.284	0.252	0.244
反应液体积 (毫升)	200	288	330	371	414	457	457
265 毫微米, pH 2 总光密度值 × 10 <sup>-3</sup>	2.424	1.866	1.478	1.269	1.176	1.152	1.115

## 纸层析检定

新华 1 号滤纸,上行。

溶剂系统:

(甲) 异丁酸 : 1 M NH<sub>4</sub>OH : 0.1 M EDTA

(100:60:1.6)

(乙) 饱和硫酸铵 : 0.2 M NH<sub>4</sub>OH : 异戊醇 (25:4:1) (充分混匀后,分去多余异戊醇)

甲、乙溶剂系统的层析图谱如图 2。

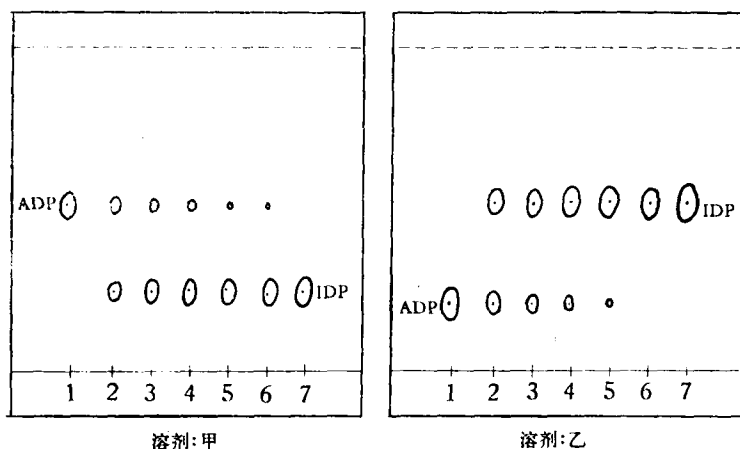


图 2 层析图谱

上述检验结果表明脱氨反应已进行完全。将已脱氨完全的反应混合物,外用冰浴冷

却,用 2 N NaOH (约 330 毫升)中和到 pH 7—7.5。然后,再边摇边滴加入 1 M 醋酸钡 (25 毫

升),有少量沉淀析出,抽滤(或离心)除去沉淀,用少量水洗沉淀一次<sup>1)</sup>,合并滤液,再加入 13 毫升 1 M 醋酸钡和等体积低温冰冷 95% 乙醇(约 835 毫升),有大量 IDP 钡盐沉淀析出。立即离心收集 IDP 钡盐沉淀,用冰冷的 50% 乙醇洗三次(每次约 500 毫升),95% 乙醇和丙酮各洗一次后,在无水氯化钙上真空干燥到恒重。得 5'-IDP 钡盐 11.7 克(产率 83%)。

## 产品的鉴定

纸层析:(点样 50 微克)纯

水份: 7.95—8.25%

钡: 30.9—31.5%

含量: 95—97%

$E_{260}^{1\%} = 7,400$ ,按  $5'-IDP\text{Ba}1\frac{1}{2} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (685)

计算

在 pH 6 的比值:

250 毫微米/260 毫微米 = 1.61

280 毫微米/260 毫微米 = 0.26

290 毫微米/260 毫微米 = 0.05

## 参考资料

- [1] 靳传富等:《生物化学与生物物理进展》1975 年,第 4 期,第 25 页。
- [2] 日本特许公报 昭 47-3,157; cA76(1972), p139046g.
- [3] 日本特许公报 昭 46-21,587; cA75(1971), p130076p.
- [4] Colowick, S. P. and Kaplan, N. O.: *Method in Enzym.*, 3, 873, 1957.

[本文于 1977 年 5 月 3 日收到]

1) 沉淀干重约 1.3 克,含 IDP 钡盐仅 35%。

# 固相酶生产核苷酸的扩大试验 获得良好结果

中国科学院上海生物化学研究所固相酶组

由广东江门甘蔗化工厂、上海啤酒厂和中国科学院上海生物化学研究所组成的固相 5'-磷酸二酯酶协作组,于 1976 年 12 月在江门甘蔗厂酿造车间核苷酸工段进行了固相酶降解核糖核酸的扩大中间试验。在几年来的小试验基础上,终于在一个月內获得良好的结果,显示了利用固相酶改革核苷酸生产工艺的优越性,为固相酶在工业生产中的应用展示了美好前景。

用物理、化学方法,把溶于水的酶固定在固体支持物上,就可以使酶获得不溶于水的特性。这样制得的固相酶容易与反应混合物分离,可反复使用。因此,自 60 年代以来,在实验室推广使用之后不久,便迅速引起各国的广泛注意。近年来,已有少数几个固相酶在个别国家的生产中使用,其他大量的固相酶尚处在研究阶段<sup>[1]</sup>。

在核苷酸工业中,我国大多数工厂采用桔青霉发酵产生的 5'-磷酸二酯酶降解核酸获得

5'-核苷酸。为了促进我国工业的现代化,生化所固相酶组在向工厂学习的基础上,结合我国的具体情况,自行设计,将染化行业中广泛使用的 591 对位脂化物(对- $\beta$ -硫酸酯乙砒基苯胺,简称 SESA)连接到葡聚糖凝胶、琼脂、淀粉和纤维素上,制得了一系列带有芳香氨基的多糖衍生物。这些载体经重氮化后可以偶联酶,其反应如下(见下页)。

我们已用此方法制备了葡聚糖凝胶-3'-核糖核酸酶、葡聚糖凝胶-5'-磷酸二酯酶<sup>[2]</sup>、纤维素-胰蛋白酶和交联琼脂-青霉素酰胺酶。国内使用类似方法还制备了纤维素-葡萄糖淀粉酶<sup>[3]</sup>。

这次扩大试验中的固相 5'-磷酸二酯酶的制备过程如图 1。

桔青霉经过深层发酵,除去菌体得 120 立升发酵液,加入预冷至 10℃ 的工业酒精,达到