

脂质体人白细胞干扰素- α 体外抗胰蛋白酶降解

单 凤 平

(中国医科大学微生物学教研室, 沈阳 110001)

关键词 多相脂质体干扰素- α , 抗病毒活性, 胰蛋白酶

干扰素为有效的抗病毒制剂, 并具有免疫调节作用, 国内外已有基因工程产品投入市场。由于干扰素在体内大量遭受胰蛋白酶及其它水解酶的降解, 半衰期很短, 长期使用还会产生某些危险性副作用, 因而影响了干扰素疗效的发挥及使用。国外 70 年代起开始研究脂质体干扰素^[1]。我们以人白细胞干扰素- α 为材料制成多相脂质体干扰素并进行体外抗胰蛋白酶降解的研究, 现报道如下:

材 料 与 方 法

1. 材料

人白细胞干扰素- α (HuIFN- α): 沈阳部队后勤部医学研究所出品, 批号 891112, 10^4 U/ml。

MEM 培养液: 日本日水制药株式会社出品。

干扰素测定细胞: 人胚肺纤维母细胞, 本教研室建立的第 12—16 代生长良好的单层细胞。

胰蛋白酶及抑制剂: 本校生化教研室提供, 使用时按 1:2 比例加入。

滤泡性口炎病毒 (VSV): 本教研室保存的新近鸡胚传代毒株。

脱氧胆酸钠 (DOC): 意大利出品, 中国医药公司上海分公司分装。

混合大豆磷脂: 沈阳药学院制药厂出品, 分析纯试剂。

其它聚乙烯吡咯烷酮等均由沈阳药学院物理化学教研室苏德森教授惠赠。

2. 方法

脂质体干扰素- α 制备: 采用无菌乳化法制备, 方法见另文。

脂质体干扰素- α 的胰蛋白酶处理^[2]: 在脂质体干扰素- α 中加入胰蛋白酶 (1mg/ml) 后, 置 37℃ 水浴 30min, 加入胰蛋白酶抑制剂 (2mg/ml), 再置 37℃ 水浴 30min, 然后分离脂质体干扰素- α 中的干扰素- α 并测定效价; 同时将干扰素- α , 干扰素- α 加胰蛋白酶, 脂质体干扰素- α 外液做对照, 处理方法与脂质体干扰

素- α 相同。

脂质体干扰素- α 中干扰素- α 的分离: 将胰蛋白酶处理后的脂质体干扰素- α 以 2000r/min 离心 20min, 弃上清液, 于沉淀中加入 0.4% 脱氧胆酸钠适量, 置 37℃ 水浴 30min, 3000r/min 离心 20min, 弃沉淀, 留上清液做效价测定。

脂质体干扰素- α 外液分离: 取脂质体干扰素- α 适量, 以 2000r/min 离心 20min, 弃沉淀, 留上清液做效价测定。

干扰素- α 效价检测^[3]: 采用细胞病变抑制法, 效价计算采用 Muench-Reed 算法, 攻击病毒采用 VSV, 剂量为 300TCID₅₀。

实验结果与讨论

1. 干扰素- α 对细胞保护作用曲线: 将不同浓度不同形式干扰素- α 对该浓度下细胞病变百分比作图, 结果见图 1。

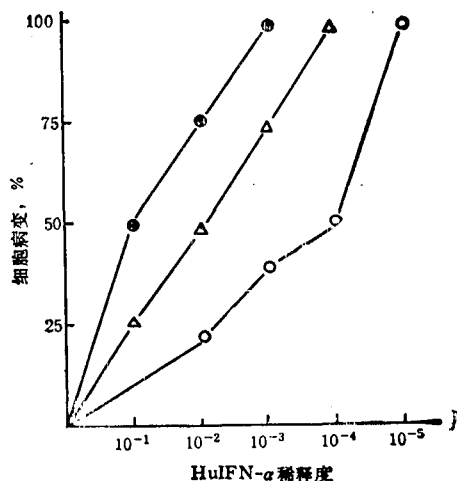


图 1 不同形式干扰素- α 对细胞保护作用

○——○ 干扰素- α △——△ 脂质体干扰素- α
●——● 脂质体干扰素- α 外液

结果表明,干扰素- α 对细胞保护作用最强;脂质体干扰素- α 次之;脂质体干扰素- α 外液最弱。

2.各种干扰素- α 效价比较:将脂质体干扰素- α 用胰蛋白酶处理后与干扰素- α 、干扰素- α 加胰蛋白酶及脂质体干扰素- α 外液进行效价比较,结果见表1。

表1 不同形式干扰素- α 抗病毒效价比较

Interferon	效价均值 ($\bar{x}$)	P
HuIFN- α	4600	<0.01
HuIFN- α + T	0	
Liposome -		
HuIFN- α + T	325	
Liquid outside		
liposome HuIFN- α	10	

T:Trypsin, HuIFN-a: Interferon-a

结果表明:干扰素- α 效价最高;加入胰蛋白酶后降为零;脂质体干扰素- α 效价次之;脂质体干扰素- α 外液效价最低。

脂质体能够将干扰素- α 包入其中,包裹后的脂质体干扰素- α 仍有抗病毒活性。一部分干扰素- α 不能被包入脂质体内而留在脂质体外液中。包封率测定见另文。

胰蛋白酶能够使干扰素- α 完全降解失活,而脂质体干扰素- α 能够抵抗胰蛋白酶的降解而保持其抗病毒活性。

人白细胞干扰素- α 在体内半衰期只有十几分钟,如果脂质体包裹的干扰素- α 能延长干扰素半衰期,对于充分发挥干扰素的抗病毒作用是很有意义的。我们的结果仅是初步的,还有很多问题有待进一步研究。

参 考 文 献

1 单凤平. 国外医学免疫学分册,1988,11(5):262
2 Eppstein DA *et al.* J Virology, 1895,41:575
3 Eppstein DA *et al.* Proc Natl Acad Sci, 1985;82: 3599
4 Fidler I *et al.* J Immunol,1985,135:3298

[本文于1990年3月9日收到,
11月15日修回]

(上接第285页)

这个实验也是分别在2.441, 1.22, 0.244和0.122Hz四个不同的振动频率下进行的。四条纹实验的目的是研究沿着蝇眼水平轴的空间整合作用,即双眼在水平方向的相互作用。振动频率为2.441Hz时,当靠前的一对条纹与靠后的右侧条纹同步运动,而靠后左侧条纹反向运动时,蝇扭转力矩的输出均值水平为负,证明蝇眼识

别了位于靠后左侧的条纹。当靠前的一对条纹与靠后右侧的相对相位为180°时,因此靠后左侧条纹与靠前一对条纹相对相位变成0°,蝇扭转力矩的输出均值水平为正,证明了蝇眼识别了位于靠后右侧的条纹。在靠前一对条纹与靠后右侧条纹的相对相位为90°或270°时,尽管均值反应为零,但是反应时程的尖峰反应仍然成为相对相位的“指纹”特征。当振动频率为0.122Hz时,在不同的相对相位条件下,无论是扭转力矩的反应时程,还是反应均值,都与前面两个条纹单独振动没有本质的区别。我们还看到,从2.441到0.122Hz之间的过渡情形,即当振动频率为1.22Hz时,情况接近于2.441Hz,在0.244Hz时,情况接近于0.122Hz。

其计算机仿真结果如图5所示。

可以看到,计算机仿真结果与相应的行为实验结果吻合得很好。

(待续)

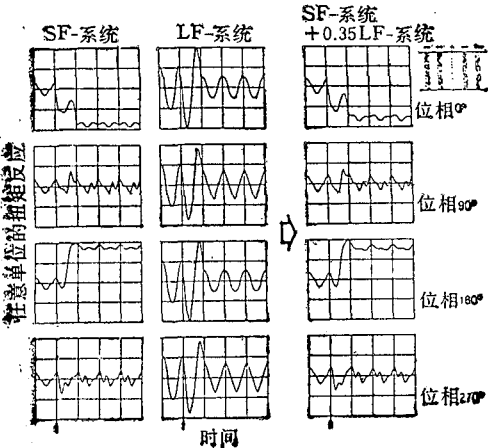


图5 图4所示实验的部分计算机仿真