

## 经验交流

# 人工流产物中 HCG 的分离与纯化

杨银书 杜全木 卞启华 赵晓伯 王洁瑜

(兰州军区后勤部军事医学研究所, 兰州 730020)

**关键词** HCG, 分离与纯化

人绒毛膜促性腺激素(HCG)是生物活性类似于促黄体生成激素的促性腺糖蛋白激素,临床上需要量较大。目前主要是从孕妇尿中提取,但尿中HCG的含量比较低,为了扩大HCG的来源,我们进行了从人工流产物中分离与纯化HCG的研究。

### 1 材料和方法

**1.1 主要试剂和器材** 95%乙醇;3mol/L HCl; 1/15mol/L 醋酸缓冲液 pH5.1; 0.005mol/L 磷酸缓冲液 pH7.0; DE-52(Whatman 进口分装); HCG 标准品(购自北京生物制品检定所); 抗 HCG 单抗酶标盒(卫生部兰州生物制品所提供); HSC-20RB 高速离心机(图门); DG3022A 型酶标光度计(南京)。

**1.2 HCG 效价测定** 用酶联免疫吸附试验法测定<sup>[1]</sup>。

### 2 结 果

取人工流产物 400ml, 加入预冷 95% 乙醇, 使溶液中的乙醇浓度达 45%, 然后在 0—5℃ 下搅拌过夜, 次日以 4000g 离心 30min, 收取上清液, 用 3mol/L HCl 调 pH 至 4.8, 然后加入预冷的 95% 乙醇, 使乙醇浓度达 80%, 静置过夜, 次日仍以 4000g 离心 30min, 用丙酮和乙醚对沉淀物进行脱水处理, 得粗提物, 共进行 6 次试验, 每 100ml 人流物可得 1057.5—1361.5mg 粗提品, 其效价为 58—170IU/mg, 呈粉红色。

用 1/15mol/L, pH5.1 的醋酸缓冲液溶解粗提品, 搅拌 2h, 4000g 离心 20min, 上清液中加入预冷 95% 乙醇, 使乙醇浓度达 80%, 再以 4000g 离心 20min, 用丙酮和乙醚对沉淀进行脱水处理, 得二次沉淀品。共进行 5 次实验, 每 1000mg 粗提品可得 89.4—103mg 的二次沉淀品, 其效价为 800—1360IU/mg, 制剂颜色为白色。

用 0.005mol/L, pH7.0 磷酸缓冲液溶解二次沉淀品, 然后加到 DE-52 纤维素柱上, 进行层析。收集液中加入预冷 95% 乙醇, 使乙醇浓度达 80%, 以 4000g 离心 40min, 用丙酮和乙醚对沉淀物进行脱水处理, 得 HCG 精品。共进行 5 次实验, 每 100mg 二次沉淀物可得 23.6—26.4mg 精品, 其效价为 3059—3768IU/mg。

### 3 讨 论

在粗提品的制备中, 用 3mol/L HCl 调溶液 pH 至 4.8 最为关键, pH 高于此值, 在对粗提品进行纯化时, 血红蛋白和其它一些杂蛋白较难去除; pH 低于此值, HCG 的效价则会降低。由于粗提品中仍含有大量血红蛋白, 所以对其进行纯化时, 完全除去血红蛋白是最关键的问题。笔者通过多次试验发现, 当醋酸缓冲液的 pH 值达 5.1 时, 粗提品中的血红蛋白可完全被去除, 得到纯白色的二次沉淀品。在对二次沉淀品进行纯化时, 需精确配制 0.005mol/L, pH7.0 的磷酸缓冲液; 在样品上柱前一定要用此缓冲液将 DE-52 平衡至与缓冲液相同的 pH 值, 这样在纯化过程中, 二次沉淀品中的杂蛋白可大量地被 DE-52 吸附, HCG 及其它少量杂蛋白则被洗脱下来。

本文结果表明, 上述方法简便可靠, 可用于生产。

### 参 考 文 献

- 1 Van Weemen B K *et al.* *FEBS Lett*, 1971; 15:232
- 2 Talwar G P, Duber S K *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 1976; 73:218
- 3 Hearn J P. *Proc Roy Soc London*, 1976; 195:149
- 4 Stevens V C. *Bulletin of WHO*, 1978; 55:179
- 5 Bell J J, Confield R E *et al.* *Endocrinology*, 1969; 84:298