

抗血清项目的生产工艺

1. 采集方法：

	一次性采集	多次性采集
优势	批次少，批间差更容易控制	循环采血可降低生产成本
劣势	生产成本高	循环采血每次量少，需进行验证后混合

2. 抗血清的分离和灭活：

血清采集后，37℃放置 1h，2-8℃放置 1-2h，待血清析出，倒出血清，血块进行低速离心（3000r/min*20min），倒出血清后，血清高速离心（12000r/min*20min），期间注意避免溶血。

3. 抗血清的生产

3.1 未溶血：直接过滤 0.8um—0.45um—0.22um，过滤完成后加防腐剂分装。**此方法得率≥95%；**

3.2 少量溶血，微红：硫酸铵沉淀一步沉淀，50%，处理完后透析 10mM PBS 或者生理盐水，充分透析完成后过滤 0.8um—0.45um—0.22um，过滤完成后加防腐剂分装。**此方法得率 70%-80%；**

3.3 大量溶血，深红：硫酸铵沉淀二步沉淀，50%-33%，处理完后透析 10mM PBS 或者生理盐水，充分透析完成后过滤 0.8um—0.45um—0.22um，过滤完成后加防腐剂分装。**此方法得率 60%-70%；**

3.4 采血过程混入异物，发黑：不建议使用，如果仍需使用，生理盐水三倍稀释后，硫酸铵沉淀三步沉淀，50%-33%-50%，处理完后透析 10mM PBS 或者生理盐水，充分透析完成后过滤 0.8um—0.45um—0.22um，过滤完成后加防腐剂分装。**此方法得率 40%-50%。**

4. 批间差控制

以上 3.1-3.3 方法如果需要上柱纯化，可直接用血清稀释后上柱纯化，3.4 方法不可用。以上 3.2-3.3 相对最容易控制批间差。

控制批间差的最佳检测方法：制定一个固定的检测标准，稀释后直接放在生化仪上看反应值，有条件的话可以用样本进行测试看反应值，举例：ApoB 抗血清项目，稀释 10 倍（投料量 10%），与对照同时放在生化仪上测试看反应值，然后看倍差关系调整抗血清的浓度，一般都是高于对照的才会进行采血，所以最后生产过程中都是进行稀释，很少会出现处理完成后效价低于对照。

效价检测的其他方法（个人不建议）：间接 ELISA 或琼脂扩散实验，人为误差会比较大，一个人即使做过千万遍实验，但仍然会有波动。举例我可以人为的把效价从 10^4 调整为 10^5 ，或者琼脂扩散实验的 1:32 调整为 1:64，所以很多客户会问我们公司抗血清效价多少，我表示不能回复，只能给建议投料量。

5. 建议配方

R1 缓冲液：20mM PB, 0.9%NaCl, 0.1%EDTA, 5%PEG6000, 0.25%吐温 20, 0.2%PC300
PH=7.5

R2 稀释液：20mM PB, 0.1%甘油, 0.2%PC300, PH=7.5

此配方仅为抗血清项目建议配方，还需客户自行验证调整。

6. 客户应用过程中会出现的几种可能

6.1 浑浊：抗血清在生产过程中并非在无菌条件下生产，所以放置长时间后会出现沉淀，效价一般影响不大，这种情况可反馈给供应商，让供应商过滤处理，如有条件可自行过滤，直至过滤 0.22um 滤膜。

6.2 本底高：部分情况可能是肉眼不可见的沉淀或者微生物造成，也是需要过滤处理的，直至过滤 0.22um 滤膜。

6.3 成品试剂做稳定性实验后发现会有下降，建议 37°C 先放置 1-2 天老化，过滤后开始做稳定性实验。

此文章内容为本司实际生产过程中的方法及可能出现的问题，分享给客户及同行朋友，如有不足欢迎指导！