تهیه داروی بیولوژیکی آلبومین از پلاسمای انسانی با استفاده از فیلتراسیون فیبری

کامران موسوی حسینی[۱]
مجید حیدری[۲*]
فاطمه یاری[۳]

۱- گروه بیوتکنولوژی
۲- گروه بیوشیمی
۳- گروه ایمونولوژی

مرکز تحقیقات موسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون، سازمان انتقال خون، تهران، ایران.

[*] نویسنده مسئول: تهران، بزرگراه شهید همت، مرکز تحقیقات موسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون، سازمان انتقال خون ایران.
تلفن: ۸۲۰۵۲۱۶۰-۰۲۱
email: aramhaydari@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۰۹/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۲/۱۳

چکیده

زمینه و هدف: در سال‌های اخیر به‌طور مداوم از مصرف خون کامل در بیماران کاسته شده و بر مصرف فرآورده‌های دارویی بیولوژیک مشتق از خون از قبیل آلبومین، ایمونوگلوبولین‌ها، و فاکتورهای انعقادی افزوده گردیده است. توجه به ساختمان مولکولی آلبومین جهت جداسازی آلبومین از پلاسما انسانی اهمیت فراوانی دارد. مولکول آلبومین پروتیین تک زنجیره‌ای با وزن مولکولی ۶۶۵۰۰ دالتون می‌باشد و از حدود ۵۸۵ آمینواسید تشکیل شده است و مولکولی پایدار و به‌شکل کروی می‌باشد. برای تولید آلبومین انسانی روش‌های گوناگونی وجود دارد، ولی با توجه به میزان بالای نیاز به این ماده بیولوژیکی، در درمان بالینی همواره روش‌هایی مورد نظر بوده است که با عملیات کمتر و زمان محدودتر حجم بالایی از آلبومین تولید گردد. ***روش بررسی:*** در روش تهیه آلبومین از پالایش پلاسما به کمک اتانول سرد معمولاً از فراکشن ۵ که پس از جداسازی از مخلوط فراکشن‌های ۶+۵ به‌دست می‌آید استفاده می‌گردد. در این مطالعه به‌منظور کوتاه نمودن روش کار و کاهش در هزینه، به‌کمک Hollow fiber cartridge توانسته‌ایم آلبومین را با غلظت و خلوص مناسب بدون جداسازی فراکشن ۵ از فراکشن ۶ تهیه نماییم. ***یافته‌ها:*** در این مطالعه آلبومین انسانی از مخلوط فراکشن ۶+۵ با استفاده از Hollow fiber cartridge تهیه گردید. آلبومین به‌دست آمده دارای غلظت ۲۰٪ و منومر ۹۶/۵ و پلی‌مر و اگرگیت ۳/۵٪ می‌باشد. ***نتیجه‌گیری:*** در مطالعه حاضر کیفیت آلبومین به‌دست آمده پس از جداسازی را با چند نمونه تجاری به‌کمک SDS-page مقایسه نمودیم و با توجه به میزان پلی‌مر و اگرگیت ۳/۵ درصد به‌دست آمده جهت آلبومین تهیه شده، نتایج رضایت‌بخش بود.

کلمات کلیدی: آلبومین انسانی، پالایش پلاسما، فراکشن ۶+۵، خالص‌سازی پروتیین.

مقدمه

پیشرفت‌های مهمی در زمینه تولید داروهای بیولوژیک (Biological drugs) مشتق از خون در پنجاه سال اخیر حاصل گردیده است. این پیشرفت از شناسایی اولیه در سیستم گروه خونی در سال ۱۹۲۰ آغاز و سپس در خلال ۲۰ سال به‌تدریج شناسایی گروه‌های خونی دیگر میسر گردید. در آن زمان تنها خون کامل، پلاسما و گلبول قرمز به‌عنوان عامل درمانی برای بیماران مورد استفاده قرار می‌گرفت.[۱و۲] پالایش پلاسما (Plasma fractionation) امکان تهیه فرآورده‌های دارویی بیولوژیکی مختلف را فراهم می‌سازد.[۳-۶] Edwin Cohn در زمینه فن‌آوری پالایش پلاسما موثرترین گام‌ها را در دهه پنجاه برداشتند در خلال سال‌های اخیر این فن‌آوری پیچیده‌تر گردیده و اکنون طیف وسیعی از فرآورده‌ها مانند فاکتورهای انعقادی، ایمونو-گلوبولین‌ها و آلبومین توسط روش‌های رسوب دادن پروتیین با افزودن نمک[۷] یا اتانول و یا روش‌های کروماتوگرافی تبادل یونی[۸و۹] و کروماتوگرافی میل ترکیبی[۱۰و۱۱] تولید می‌گردد. یکی از اهداف سازمان انتقال خون تولید فرآورده‌های مختلف پلاسمایی و مصرف اجزای مختلف و ضروری آن برای بیماران می‌باشد تا از مصرف بی‌رویه و غیر ضروری خون کامل جلوگیری به‌عمل آید.[۱۲] این امر به دو دلیل می‌باشد. اول این‌که غلظت بالاتر فرآورده‌های پلاسمایی در حجم کمتر می‌تواند قدرت اثر بخشی بالاتری داشته باشد و دوم این‌که فرآورده‌های پلاسمایی می‌تواند آلودگی بسیار کمتری نسبت به خون کامل به‌همراه داشته و مسئله سازگاری خونی نیز در این فرآورده‌ها کمتر مطرح می‌باشد. مصرف آلبومین حاصل از پلاسمای انسانی در جهان رو به افزایش می‌باشد. برای مثال مصرف آلبومین در کشور

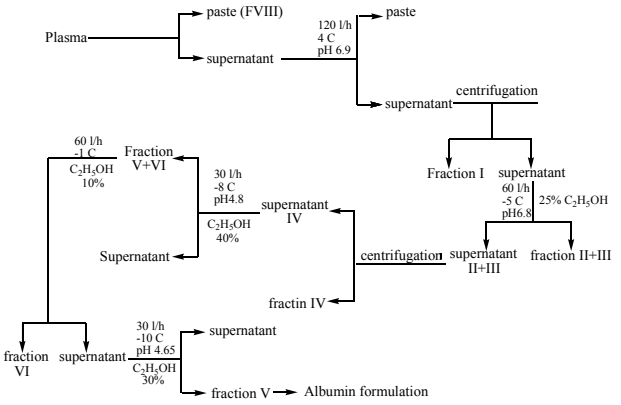
[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-13]

ژاپن در سال ۱۹۷۶ از ۵۵ کیلوگرم برای یک میلیون نفر جمعیت به ۸۱۴ کیلوگرم در سال ۱۹۸۶ رسیده است.[۱۳] البته میزان مصرف آلبومین در کشورهای مختلف متفاوت می‌باشد و مصرف آن در آمریکا حدود ۴۰۰ کیلوگرم و در کانادا حدود ۲۰۰ کیلوگرم و در انگلستان حدود یک صد کیلوگرم به‌ازای یک میلیون نفر جمعیت می‌باشد. کمیته بهداشت عمومی اروپا میزان مورد نیاز را ۲۰۰ کیلوگرم به‌ازای یک میلیون نفر جمعیت در نظر گرفته و در حال حاضر میزان مصرف آلبومین در اروپا تقریباً ثابت باقی مانده است.[۱۴] چنان‌چه بازیابی آلبومین از یک لیتر پلاسما را ۲۵ گرم در نظر بگیریم با یک محاسبه ساده می‌توان پی برد که چه حجم عظیمی از پلاسما سالانه در جهان می‌بایست پالایش گردد. لذا کوتاه نمودن مراحل روش تولید به‌منظور پالایش بیشتر پلاسما بسیار اهمیت دارد. در روش جداسازی پروتیین‌های پلاسما به‌کمک اتانول سرد ابتدا اجزای مختلف ۱ تا ۵ به‌دست می‌آید[۱۵و۱۶] و سپس فرمولاسیون آن برای تهیه داروهای مختلف از این اجزا صورت می‌پذیرد. ضمیمه ۱ توزیع پروتیین‌ها را در اجزای مختلف نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌گردد گلوبولین‌ها در اکثر اجزا موجود می‌باشد، اما با تنظیم دقیق pH، قدرت یونی، درجه حرارت و غلظت الکل می‌توان گلوبولین‌ها را عمدتاً از اجزای ۳+۲ به‌دست آورد.[۱۷و۱۸]

جداسازی پروتیین‌های پلاسما به‌روش اتانول سرد از اجزای ۱ الی ۶ به‌طور خلاصه به‌صورت نمودار در شکل ۱ نشان داده شده است. تهیه آلبومین با توجه به شکل ۱ از فراکشن ۵ صورت می‌گیرد.[۱۹] لازمه به دست آوردن فراکشن ۵، عملیات مجدد بر روی اجزای ۶+۵ می‌باشد

ضمیمه-۱: توزیع پروتیین‌های پلاسمای انسانی در فراکشن‌های مختلف حاصل از پالایش با اتانول سرد

فراکشن	ترکیبات
I	فیبرینوژن- فاکتور VIII انعقادی
II+III	گلوبولین‌ها: IgG، IgA، IgM
	و فاکتورهای انعقادی II، VII، IX، X
	بتا گلوبولین‌ها
VI-1	آلفا و بتا گلوبولین‌ها، آلفا آنتی‌تریپسین، IgM و آنتی‌ترومبین III
IV-4	آلفا و بتا گلوبولین‌ها، سرولوپلاسمین، هاپتوگلوبولین‌ها و ترانسفرین
V	آلبومین و آلفا – و بتا- گلوبولین‌ها



شکل-۱: فلوچارت پالایش پلاسما به‌کمک اتانول سرد

که کاری زمان‌بر و همراه با هزینه می‌باشد. در صورت امکان تهیه آلبومین از اجزای ۶+۵، ضمن صرفه‌جویی در زمان و هزینه‌ها تولید بیشتر را نیز به‌همراه دارد که بسیار حایز اهمیت است. در این مطالعه سعی گردیده است آلبومین غلیظ ۲۰٪ از اجزای ۶+۵ در مقیاس آزمایشگاهی تهیه گردد.

روش بررسی

مواد شیمیایی مصرفی شامل اکتانوییک اسید، سدیم هیدروکساید و سدیم کلراید تمامی از نوع Analytical grade از کمپانی (Merck, Germany) می‌باشد. نمونه‌های آلبومین ۲۰٪ خارجی از شرکت‌های Bio test آلمان، Sclavo ایتالیا و KGCC کره جنوبی تهیه شد. کلیه محلول سازی‌ها با آب مقطر دیونیزه انجام پذیرفت. الکتروفورز روی ژل ۱۰ درصد پلی اکریل آمید در حضور سدیم دودسیل سولفات صورت گرفته است. تغلیظ آلبومین توسط پلیکان کاست (Pellican cassett) با فیلتر OMEG 30K و نیز Hollow fiber cartridge با مشخصات Membrane type: PM10 از شرکت Romicon صورت گرفته است. پمپ پریستالتیک مورد استفاده از نوع Heidolph و فیلترهای مورد استفاده از نوع فیلترهای دیسکی EKS از شرکت Seitz بوده است و Twin 90 Fiter unit از شرکت میلی‌پور تهیه گردید. اندازه‌گیری پروتیین با روش بیوره با دستگاه Philips PU 8750 uv/vis scanning spectrophotometer و اندازه‌گیری میزان الکترولیت‌ها با استفاده از Corning 480 flame photometer انجام شد و هم‌چنین اندازه‌گیری pH تمامی محلول‌های پروتیینی با رقیق کردن تا میزان یک

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-13]

گرم درصد w/v به‌منظور اجتناب از تغییرات اندازه‌گیری pH انجام شد. محلول پروتیین مورد نظر از حل کردن خمیر ۶+۵ در دو برابر وزنی آب مقطر دیونیزه حاصل گردیده است.

برای تهیه آلبومین غلیظ از اجزای ۶+۵ دو روش مورد استفاده قرار گرفت یکی به‌کارگیری پلیکان کاست و دیگری استفاده از فیلتر فیبری نوع کارتریج (Hollow fiber cartridge)، در روش پلیکان کاست؛ با استفاده از پمپ پریستالتیک امکان بالا بردن فشار تا ۱/۲Bar میسر گردید. ابتدا برای خنثی‌سازی دستگاه پلیکان کاست، آب مقطر تا pH خنثی عبور داده شد به‌عبارتی pH از حدود ۱۲ به شش رسانده شد، سپس محلول پروتیینی خمیر ۶+۵ از سری فیلتر AP و سپس فیلترهای ۱/۲ و ۰/۸ به‌سختی عبور داده شد، لذا سیستم فیلتراسیون را عوض نموده از فیلتر دیسکی EKS به‌جای سری فیلتر قبلی استفاده گردید، سپس نسبت به دیالیز محلول پروتیینی اقدام شد با توجه به این‌که حداکثر فشار ۱/۲Bar میسر بود غلظت پروتیین مورد نظر به‌میزان مطلوب بالا نرفت و نتایج زیر به‌دست آمد: پروتیین کل محلول از ۱۰ گرم درصد به ۱۴ گرم درصد و میزان آلبومین از ۹/۶ گرم درصد به ۱۳/۵ گرم درصد افزایش یافت. با توجه به این‌که غلظت حدود ۲۰٪ آلبومین مورد نظر بود به‌جای پلیکان کاست، از Hollow fiber cartridge برای ادامه کار استفاده گردید، این روند کار را سه بار تکرار نمودیم که قابلیت تکرارپذیری آن مورد بررسی و تایید قرار گیرد.

در روش کار با Hollow fiber cartridge ابتدا pH آن از بالای ۱۲ به حدود شش رسانده شد و قبل از عمل اولترافیلتراسیون محلول پروتیین تهیه شده با غلظت کمتر از ۱۰ گرم درصد با فیلتر EKS فیلتر گردید و سپس عمل اولترافیلتراسیون با کمک پمپ پریستالتیک توسط Hollow fiber cartridge صورت پذیرفت در فرمولاسیون نهایی پس از اولترافیلتراسیون از پایدارکننده سدیم کاپریلات که از واکنش اندوترمیک اکتانوییک اسید و سدیم هیدروکساید به‌دست می‌آید به‌میزان ۰/۰۳mol/l استفاده گردید تا مقاومت حرارتی لازم جهت پاستوریزاسیون آلبومین فراهم آید و در نهایت محلول پروتیینی تهیه شده از فیلتر Twin-90 عبور داده شد و در بن ماری به‌مدت ۱۰ ساعت در ۶۰ °C قرار داده شد. پس از اتمام عمل اولترافیلتراسیون، فیلتر Hollow fiber cartridge با محلول‌های سرم فیزیولوژی و سدیم هیدروکساید ۰/۵ نرمال و سدیم هیدروکساید ۰/۲ نرمال شسته شد و در نهایت به‌مدت ۱۰ دقیقه سدیم هیدروکساید ۰/۲ نرمال در فیلتر مربوطه به‌منظور جلوگیری از آلودگی باکتریایی گردش داده شد تا بتوان از Hollow fiber cartridge برای فیلتراسیون‌های بعدی استفاده نمود. خلوص آلبومین فرموله شده توسط SDS-PAGE در مقایسه با آلبومین‌های تولید شده تجاری از شرکت‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها

نتایج به‌دست آمده طبق جدول ۱ با استفاده از Hollow fiber cartridge نسبت به پلیکان کاست رضایت‌بخش بوده است. روش کار قابلیت تکرارپذیری خوبی را نشان داد. علت بالا بودن میزان سدیم در سری اول و دوم نسبت به سری سوم می‌تواند به‌علت افزایش بیشتر سدیم کاپریلات باشد. با انجام SDS-PAGE بر روی فرآورده به‌دست آمده و هم‌چنین فرآورده‌های شرکت‌های خارجی بیوتست آلمان، Sclavo ایتالیا و KGCC کره جنوبی و مقایسه نتایج به‌عمل آمده، میزان منومر و پلی‌مر و اگرگیت در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول-۱: نتایج حاصل از تهیه آلبومین ۲۰٪ به‌کمک فیلتر فیبری نوع کارتریج

		قبل از اولترافیلتراسیون	پس از اولترافیلتراسیون
سری اول	پروتیین کل g٪	۸/۹	۱۸/۲
	آلبومین g٪	۹/۲	۱۸/۱
	سدیم meq/l	۳۳	۱۳۵
	پتاسیم meq/l	۰/۹۲	۰/۰۹
سری دوم	پروتیین کل g٪	۱۰/۲	۲۱/۲
	آلبومین g٪	۱۰/۰	۲۱/۰
	سدیم meq/l	۳۴	۱۴۴
	پتاسیم meq/l	۰/۹۸	۰/۰۴
سری سوم	پروتیین کل g٪	۷/۹	۲۱/۶
	آلبومین g٪	۷/۵۷	۲۱/۳
	سدیم meq/l	۳۷	۱۱۹
	پتاسیم meq/l	۰/۰۷	۰/۲۸

P value قبل از اولترافیلتراسیون و پس از اولترافیلتراسیون جهت پروتیین کل، آلبومین، سدیم، و پتاسیم به‌ترتیب ۰/۰۱۳، ۰/۰۱۵، ۰/۰۰۷ و ۰/۰۴ می‌باشد.

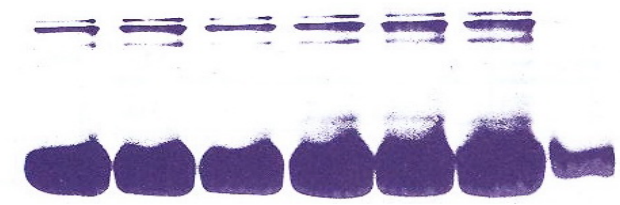
[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-13]

جدول-۲: مقایسه میزان منومر، پلی‌مر و اگرگیت‌ها بین آلبومین تولید شده از خمیر V+VI با آلبومین تولید شده توسط سایر شرکت‌ها

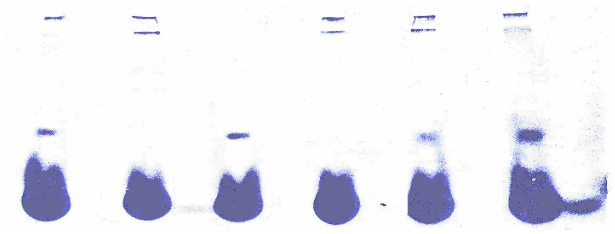
نوع نمونه	منومر	پلی‌مر و اگرگیت
آلبومین ۲۰٪ بیوتست آلمان	۹۶	۴
آلبومین ۲۰٪ Sclavo ایتالیا	۹۴/۴	۵/۶
آلبومین ۲۰٪ KGCC کره جنوبی	۹۵	۵
آلبومین ۲۰٪ از خمیر V	۹۳/۶	۶/۴
آلبومین ۵٪	۹۵/۳	۴/۷
آلبومین ۲۰٪ این پروژه از خمیر V+VI	۹۶/۵	۳/۵

بحث

جهت بررسی خلوص پروتیین به‌دست آمده از روش (Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis) یا الکتروفورز روی ژل پلی اکریل‌آمید که یکی از روش‌های دقیق بررسی خلوص پروتیین‌ها می‌باشد، استفاده گردید. آلبومین پروتیین تک‌زنجیره‌ای است که شامل ۵۸۵ آمینو اسید با ۱۷ پل دی‌سولفیدی می‌باشد که شکل کروی به آن می‌بخشد.[۲۰] وزن مولکولی آلبومین ۶۶۵۰۰ کیلو دالتون است برای بررسی آلبومین می‌توان درصدهای مختلفی از ژل مذکور را به‌کار برد. ژل استفاده شده در این مطالعه به‌میزان ۱۰ درصد بوده و الکتروفورز در حضور SDS و تحت شرایط احیا با مرکاپتواتانول (2- ME) انجام گرفته است. لذا آلبومین تنها در یک باند خود را نشان می‌دهد که به‌وسیله مارکر آلبومین (اولین از سمت راست) این باند قابل تشخیص می‌باشد (شکل ۲). در این مطالعه میزان درجه خلوص آلبومین تهیه شده توسط این روش در مقایسه با آلبومین‌های شرکت‌های بیوتست آلمان و Sclavo ایتالیا و KGCC کره جنوبی (به‌ترتیب از چپ به راست) بسیار به‌هم نزدیک می‌باشد. برای بررسی وضعیت پروتیین از لحاظ میزان منومر و دایمر و اگرگیت‌ها، الکتروفورز PAGE انجام شد. در این مرحله از سدیم دودسیل سولفات و مرکاپتو اتانول استفاده نگردید. در این روش



شکل-۲: الکتروفورز SDS-PAGE آلبومین تهیه‌شده در مقایسه با آلبومین‌های خارجی



شکل-۳: الکتروفورز PAGE آلبومین تهیه‌شده در مقایسه با آلبومین‌های خارجی

آلبومین در اشکال مختلف منومر و غیر آن (پلی‌مر و اگرگیت‌ها) باندهای مختلفی را براساس اندازه و بار سطحی خود تشکیل می‌دهد و همان‌طور که در شکل ۳ ملاحظه می‌شود میزان شکل منومر (پایین‌ترین باند) بسیار بالا بوده و باند بالاتر که مربوط به شکل پلی‌مری پروتیین می‌باشد تنها درصد ناچیزی از کل پروتیین را تشکیل می‌دهد که البته این مسئله با انواع خارجی قابل مقایسه می‌باشد. با توجه به جدول ۲ مشاهده می‌گردد که آلبومین ۲۰٪ تولید شده در این مطالعه از خمیر ۶+۵ از درصد بالایی از منومر، معادل ۹۶/۵٪ برخوردار است که کاملا قابل رقابت با انواع مشابه شرکت‌های خارجی می‌باشد.

سپاسگزاری: بدین‌وسیله از سرکار خانم دکتر مهتاب مقصودلو که ما را در محاسبات آماری یاری نموده‌اند صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نماییم.

References

1. Farrugia A, Robert P. Plasma protein therapies: current and future perspectives. Best Pract Res Clin Haematol 2006;19(1):243-58.
2. Burnouf-Radosevich M, Burnouf T, Huart JJ. A pasteurized therapeutic plasma. *Infusionsther Transfusionsmed* 1992;19(2):91-4.
3. Farrugia A, Evers T, Falcou PF, Burnouf T, Amorim L, Thomas S. Plasma fractionation issues. *Biologicals* 2009;37(2):88-93.
4. Lihme A, Hansen MB, Andersen IV, Burnouf T. A novel core fractionation process of human plasma by expanded bed adsorption chromatography. *Anal Biochem* 2010;399(1):102-9.
5. Burnouf T. Plasma fractionation in the world: current status. *Transfus Clin Biol* 2007;14(1):41-50.
6. Burnouf T. Modern plasma fractionation. *Transfus Med Rev* 2007;21(2):101-17.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-13]

7. Steinbuch M. Protein fractionation by ammonium sulphate, Rivanol and caprylic acid precipitation. In: Curling JM, editor. Methods of plasma protein fractionation. London: Academic Press; 1980. p. 33-6.
8. Curling JM, Berglöf J, Lindquist LO, Eriksson S. A chromatographic procedure for the purification of huma plasma albumin. *Vox Sang* 1977;33:97-107.
9. Burnouf T, Burnouf-Radosevich M, Huart JJ, Goudemand M. A highly purified factor VIII:c concentrate prepared from cryoprecipitate by ion-exchange chromatography. *Vox Sang* 1991;60(1):8-15.
10. Saint-Blancard J, Kirzin JM, Riberon P, Petit F. A simple and rapid procedure for large-scale preparation of IgG's and albumin from human plasma by ion exchange and affinity chromatography. In: Gribnau TCJ, Visser J, Nivard RJF, editors. Affinity Chromatography and Related Techniques. Amesterdam: Elsevier Scientific Publishing Company; 1982. p. 305-12.
11. Burnouf T, Radosevich M. Affinity chromatography in the industrial purification of plasma proteins for therapeutic use. *J Biochem Biophys Methods* 2001;49(1-3):575-86.
12. Harris JR, editor. Blood Separation and Plasma Fractionation. New York: Wiley-Liss; 1991; p. 1-6.
13. Myllyla G. Whole blood and plasma procurement and the impact of plasmaoheresis. In: Harris JR, editor. Blood Separation and Plasma Fractionation. New York: Wiley-Liss; 1991; p. 15-42.
14. Leikola J, van Aken WG, Högman C, Lee D, Muglia M, Schmitt H, et al. Plasma products and European self-sufficiency: collection, preparation and use, co-ordinated research programme in blood transfusion. Strasbourg: Council of Europe, Research report, 1989.
15. Burnouf T. Plasma fractionation. Progress, problems and perspectives. *Ann Pharm Fr* 1994;52(3):124-36.
16. Burnouf T. New trends in plasma fractionation and plasma products. *Vox Sang* 1994;67 Suppl 3:251-3.
17. Oncley JL, Melin M, Richert DA, Cameron JW, Gross PM. The separation of the antibodies, isoagglutinins, prothrombin, plasminogen and beta1-lipoprotein into subfractions of human plasma. *J Am Chem Soc* 1949;71(2):541-50.
18. Parkkinen J, Rahola A, von Bonsdorff L, Tölö H, Törmä E. A modified caprylic acid method for manufacturing immunoglobulin G from human plasma with high yield and efficient virus clearance. *Vox Sang* 2006;90(2):97-104.
19. Tanaka K, Shigueoka EM, Sawatani E, Dias GA, Arashiro F, Campos TC, et al. Purification of human albumin by the combination of the method of Cohn with liquid chromatography. *Braz J Med Biol Res* 1998;31(11):1383-8.
20. Peters T Jr. Serum albumin: recent progress in the understanding of its structure and biosynthesis. *Clin Chem* 1977;23(1):5-12.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-13]

Tehran University Medical Journal; Vol. 69, No. 5, August 2011: 283-288

The preparation of albumin as a biological drug from human plasma by fiber filtration

Kamran Mousavi Hosseini PhD.[1]
Majid Heidari MSc.[2*]
Fatemeh Yari PhD.[3]

1- Department of Biotechnology, Research Center o f High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine (IBTO), Tehran, Iran.
2- Department of Biochemistry, Research Center o f High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine (IBTO), Tehran, Iran.
3-Department of Immunology, Research Center o f High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine (IBTO), Tehran, Iran.

[*] Corresponding author: Research Center of High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine (IBTO) Tehran, Iran.
Tel: +98-21-82052160
email: aramhaydari@yahoo.com

Received: December 08, 2010 Accepted: May 03, 2011

Abstract

Background: In recent years, consumption of whole-blood for the treatment of patients has decreased but use of biological plasma-derived medicines such as albumin, immunoglobulin and coagulation factors have increased instead. Paying attention to albumin molecular structure is important for its isolation from human plasma. Albumin is a single-chain protein consisting of about 585 amino acids and a molecular weight of 66500 Daltons. Albumin is a stable molecule and it is spherical in shape. There are different methods for human albumin preparation. Considering the large consumption of this biological drug in clinical settings, methods with fewer steps in production line are of big advantage in saving time and manufacturing more products.
Methods: In this project, we prepared human albumin using hollow fiber cartridges in order to omit the rework on fraction V+VI. Human albumin is usually produced by the application of cold ethanol method, where albumin is obtained from fraction V by doing a rework on fraction V+VI to separate fraction V.
Results: In the current work, human albumin was prepared from fraction V+VI by the help of hollow fiber cartridges. With a concentration of 20%, the obtained albumin had 96.5% of monomer and 3.5% of polymer and polymer aggregate.
Conclusion: Comparing the obtained human albumin with a number of commercial human albumin samples by the use of SDS-page, the results were satisfactory regarding the 3.5 percent polymer and aggregate rate for the prepared albumin.

Keywords: Blood plasma, fraction V+VI, fractionation, human albumin, protein, purification.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-13]