

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.07.003

一种新型助滤剂在血液制品生产中的应用研究

杨宇¹ 余鼎² 江砚芳² 杨黎明² 孟延发^{1△}

(1 四川大学生命科学院 四川 成都 610063; 2 成都蓉生药业有限责任公司 四川 成都 610041)

摘要 目的:探讨新型硅藻土用于血液制品组份分离过滤的适用性。**方法:**对比新型硅藻土与传统硅藻土的电镜扫描物理结构、金属离子含量、比表面积、离心湿密度等物理表征数据,并考察其在血浆蛋白分离阶段各组份过滤效果及最终产品的质量。**结果:**新型硅藻土与传统硅藻土比较,具有颗粒孔隙致密、金属离子含量低、比表面积大和离心湿密度小的特点;在血浆蛋白分离阶段的过滤过程中,按照传统硅藻土用量的 70% 左右使用新型硅藻土时,过滤时可得到理想的滤液浊度、较快的过滤速率、更小的过滤压力和均匀的滤饼分布;所得最终产品的质量符合《中国药典》及公司内控标准。**结论:**新型硅藻土可替代传统硅藻土用于血液制品的规模化生产,同时降低使用量。该应用研究对于降低血液制品的生产成本和提高产品质量具有一定的实际应用价值和参考意义。

关键词:血液制品;助滤剂;硅藻土;压滤法;血浆组分

中图分类号:R977.8;TQ464.56 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2015)07-1209-04

Applied Studies on a New-type Filter Aid for Blood Plasma Products Manufacture

YANG Yu¹, YU Ding², JIANG Yan-fang², YANG Li-ming², MENG Yan-fa^{1△}

(1 School of Life Science, Sichuan University, Chengdu, Sichuan, 610063, China;

2 Chengdu RongSheng Pharmaceuticals Co., LTD., Chengdu, Sichuan, 610041, China)

ABSTRACT Objective: To explore an applicability of a new-type diatomite filter aid in blood plasma components separation. **Methods:** By comparing physical representation data of traditional diatomite and new-type diatomite, such as SEM, metal ion content, specific surface area, and centrifugal wet density etc. **Results:** Compared with traditional diatomite, the new-type diatomite particles have more clear structure, lower metal ion content, larger specific surface area and less centrifugal wet density. In the filtration process of plasma components separation, the amount of new-type diatomite was about 70% of traditional diatomite can get ideal filtrate turbidity, faster filtering rate, smaller filtration pressure and the filter cake evenly distributed. The quality of final products conforms to the "Chinese Pharmacopoeia" and the company's internal control standard. **Conclusion:** The new-type diatomite can be used in blood plasma products scale manufacture in place of traditional diatomite and reduce its usage. So as to lower plasma production costs and improve product quality, and these applied studies have certain practical application value.

Key word: Blood products; Filter Aid; Diatomite; Filter press; Plasma components

Chinese Library Classification(CLC): R977.8; QT464.56 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2015)07-1209-04

前言

随着技术进步和产业升级,血液制品的生产工艺也在不断发展和创新,曾经采用过的盐析法、利凡诺法都已被淘汰。目前基本上都是采用改良的低温乙醇 Cohn6/9 法或 N-K (Nitschmann-Kistler)法^[1,2],采用压滤法取代离心分离法用于生产工艺中血浆组分分离。

利用压滤技术进行固-液相分离是目前国内外血液制品企业用于分离血浆沉淀组分的常用方法^[3,4],实际上是滤饼过滤和深层过滤技术的结合。滤饼过滤指固体堆积在滤材上并架桥

形成滤饼层以拦截颗粒的过滤方式。深层过滤在介质内部进行,由于颗粒比介质孔径小,颗粒进入弯曲孔道被截留。

为了使生产中的制品溶液提高过滤性能、提高滤液澄清度、降低滤液浊度、吸附热原质、脂类、蛋白酶和变性蛋白,而保证制品的安全性和质量^[5],通常会使用助滤剂。助滤剂主要功能是吸附沉淀颗粒、帮助过滤。助滤剂形成的滤饼层和深层滤板成了捕捉固体沉淀颗粒的重要场所^[6,9]。

目前血液制品生产常用的助滤剂有硅藻土和珍珠岩等^[10,11]。硅藻土是以硅藻遗骸的壳体为主的硅质生物沉积岩,其颗粒很小,一般在几 μm -30 μm 内。壳壁外壁呈不同形式排列的微孔,故亦称"天然分子筛"^[12]。由于硅藻土的特性使其具有堆密度小,稳定性高,耐酸、耐热,吸附性、悬浮性、分散性好,非常适合压滤时作为助滤剂使用^[13]。

本研究采用矿源位于美国东海岸的新型硅藻土,属于海相

作者简介:杨宇(1976-),男,硕士研究生,工程师,主要研究方向:生物分离工程,电话:+8602885281307, E-mail: davisyangyu@126.com

△通讯作者:孟延发, E-mail: yfmeng0902@scu.edu.cn

(收稿日期:2014-09-22 接受日期:2014-10-17)

型硅藻土;传统硅藻土矿源位于长白山地区,属于陆相型硅藻土。研究比较了两种硅藻土在血浆成分分离过程中的滤过性能,结果显示新型硅藻土具有良好的吸附性能和抗压缩性能,不仅能使被滤液获得理想的流速比,并且能滤除微细的悬浮物,保证了滤液的澄清度。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

新型硅藻土(临江益瑞石公司),传统硅藻土(长白赛力特公司),95%医用乙醇(吉林新天龙酒业有限公司),过滤滤材(PALL公司、BEGROW公司),健康人血浆、注射用水(成都蓉生药业有限责任公司),蛋白分离过程中FI+II+III、FIV、FI+III、FV、FII滤过液(成都蓉生药业有限责任公司);扫描电子显微镜(日本HITACHI S530)、电感耦合等离子质谱仪(美国PE E-LAN DRC-E)、比表面积分析仪(英国马尔文NOVA 2000e)、离心机(BECKMAN)、浊度仪(美国HACH 2100P)、压滤机(EUROFILTEC FC.800.AC)。

1.2 实验方法

1.2.1 两种硅藻土的SEM形貌分析 首先在载物盘上粘上双面胶带,然后取少量硅藻土粉末在胶带上的靠近载物盘圆心部位,然后用吹气橡胶球轻吹以使粉末可以均匀分布在胶带上。然后在胶带边缘涂上导电银浆,以连接样品与载物盘,进行蒸金处理后上样检测。

1.2.2 两种硅藻土金属离子含量测定 称取硅藻土样品

0.12-0.13 g(精确到0.0001 g),置于30 mL聚四氟乙烯(PTFE)烧杯中,加少量水润湿,然后加5 mL HCl 然后盖上 PTFE 盖再温加热约30 min。添加2.5 mL HNO₃,继续加热至硝酸分解完毕,然后加7 mL HF,0.5 mL HClO₄后并加热待溶液基本澄清后,于140℃高温除去高氯酸后取下冷却,再加入约1.7 mL HCl 和水少许,再加热至全溶后,用蒸馏水定溶到25 mL 待测。

1.2.3 两种硅藻土比表面积和离心湿密度的测定 助滤剂的比表面积是评价其过滤性能的一项重要参数。通过BET法以氮气为吸附质,以氢气作为载气,按照一定比例混合流过硅藻土。通过检测吸附峰和取走液氮后氮气脱附出来的脱附峰,可以算出在该相对压力下样品的吸附量,从而可根据BET公式计算比表面。取一定量的硅藻土样品,装入样品管中,将样品放在150℃条件下烘干3 h,然后抽真空。样品烘干后从烘箱中取出迅速移入干燥器中冷却至常温,然后再称量计算出样品的实际质量待测。

利用密度仪测量两种硅藻土的湿密度,设置重复性限0.005 g/cm³,再现性限0.003 g/cm³,测量三次,取平均值。

1.2.4 两种硅藻土的过滤速率的测定 分别按照传统硅藻土用量的100%,90%,80%和70%使用新型硅藻土过滤血浆组分(FI+II+III, FIV, FI+III, FV, FII),传统硅藻土使用量见下表1。根据过程控制系统(Process Control System 7, PCS7)中记录的各组别制品量及过滤时间计算出各组别过滤的速率,对比两种助滤剂平均过滤速率。

表1 血浆各组别过滤时传统硅藻土使用量

Table 1 Usage amount of traditional diatomite in plasma filtration

Plasma components	FI+II+III	FIV	FI+III	FV	FII
Usage amount(g/L plasma)	16	10	13	3	0.5

1.2.5 两种硅藻土的过滤压力检测 按照传统硅藻土用量的100%,90%,80%和70%使用新型硅藻土过滤血浆组分(FI+II+III, FIV, FI+III, FV, FII),记录过滤过程中最大压力,根据各组别过滤面积计算单位面积滤板承受的压力负荷,比较两种助滤剂用于各组别过滤的压力大小。

1.2.6 两种硅藻土的滤过液浊度测定 按照传统硅藻土用量的70%使用新型硅藻土过滤血浆组分(FI+II+III, FIV, FI+III, FV, FII)。使用浊度仪分别测量各滤过液的浊度,每个样品测3次取平均值,对比两种硅藻土滤过液浊度值的差异^[14]。

1.2.7 两种硅藻土的滤饼分布观察 对比观察使用新型硅藻土及传统硅藻土助滤剂生产过滤后各组别滤饼状态,比较分布情况。

2 结果

2.1 扫描电镜检测结果

通过扫描电镜观察两种硅藻土的显微结构,结果见图1,SEM放大500×可见两种硅藻土的壁壳上均有多级、大量、有序排列的微孔,呈无定型的非晶态结构。图1(a)中传统硅藻土有大量不定形态包裹在圆盘硅藻土周围,孔隙结构模糊。图1(b)新型硅藻土多以圆盘状和杆状结构为主,微孔排列整齐,空隙结构明显,孔径约在500 nm左右;结果表明新型硅藻土较传

统硅藻土孔隙更致密清晰。

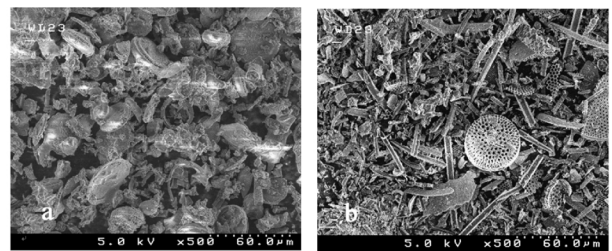


图1 传统硅藻土(a)和新型硅藻土(b)的SEM图

Fig. 1 SEM images of Traditional diatomite(a) and New-type diatomite(b)

2.2 两种硅藻土金属离子含量比较

两种硅藻土金属离子含量分析结果见表2,可以看出,两种硅藻土中金属离子含量都在符合药典相关标准,在可接受范围内。由于新型硅藻土经过进一步酸处理,其金属离子含量较传统硅藻土低,其中Al³⁺含量较传统硅藻土降低20%以上。铝离子作为一种对人体有害的元素,在体内可造成蓄积导致慢性中毒^[15],美国药典(USP)、欧洲药典(EP)和日本药局方(JP)都明确规定了药品中铝离子的含量限度^{[16][17]}。经过过滤后溶液中Al³⁺含量经检测为16 μg/L,而使用传统硅藻土过滤后Al³⁺含量为23 μg/L,均满足EP中人血白蛋白Al³⁺含量<200 μg/L的规

定。在血液制品中助滤剂硅藻土是铝离子的主要来源之一,因此物临床使用中的风险。
此利用新型硅藻土能够更有效降低制品中 Al^{3+} 的含量,降低药

表 2 两种硅藻土金属离子含量比较

Table 2 The content of metal ions in Traditional diatomite and New-type diatomite

Metal ion content($\mu\text{g/L}$)	Ba^{2+}	Cd^{2+}	Cr^{2+}	Ni^{+}	Pb^{2+}	Mg^{2+}	Al^{3+}
Traditional diatomite	83.555	LOD	LOD	LOD	1.006	164.454	105.077
New-type diatomite	52.166	LOD	LOD	LOD	LOD	127.892	82.723

2.3 两种硅藻土比表面积和离心湿密度的比较

两种硅藻土的比表面积测定结果见下表 3。从表中可以看出,新型硅藻土的比表面积大于传统硅藻土。因此,根据数据结果可知同等重量的新型硅藻土表面积更大,与滤液接触面积也更大,具有更好的吸附作用和滤过性能。新型硅藻土离心湿密度较传统硅藻土小约 40%,因此同等重量的新型硅藻土体积是传统硅藻土体积的 1.7 倍,湿密度小说明新型硅藻土空隙更加致密、滤过性能更好。

表 3 两种硅藻土比表面积和离心湿密度比较

Table 3 Specific surface area and centrifugal wet density result of the two type diatomite

	Specific surface area	Centrifugal wet
	(m^2/g)	density(g/cm^3)
Traditional diatomite	2.000	0.400
New-type diatomite	2.228	0.237

2.4 两种硅藻土的过滤速率比较

新型硅藻土在其使用量为传统硅藻土 100%,90%,80% 时,过滤速率比使用传统硅藻土低。结果见下图 2,因为 FI+I-I+III, FIV, FI+III 过滤中硅藻土使用量较大,而新型硅藻土离心湿密度小,过滤中会使滤饼体积增加,过滤速率反而降低。当使用量为传统硅藻土 70%时,形成的滤饼体积与传统硅藻土接近,但因新型硅藻土孔隙更加致密均匀,过滤阻力较同体积传统硅藻土滤饼降低,使得过滤速度增加。由于 FV, FII 过滤用硅藻土量少,硅藻土用量对过滤速率产生影响较小。

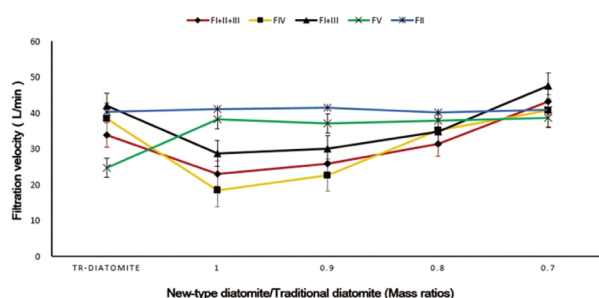


图 2 两种硅藻土过滤速率比较

Fig.2 Filtration velocity of the two type diatomite

2.5 两种硅藻土的过滤压力

新型硅藻土使用量为传统硅藻土 100%、90%、80%时,过滤压力较传统硅藻土高,因在 FI+II+III, FIV, FI+III 过滤中出现滤饼体积增加,使过滤压力升高,过滤速率降低增加过滤时间。当用量为传统硅藻土的 70%时,其形成的滤饼体积与传统硅藻土接近,且可以形成更多更均匀的孔隙,单位体积滤饼中过滤

通道增加,比阻减小。新型硅藻土过滤的各组分过程中单位面积滤板承受的压力负荷均有减小。一方面降低了过滤过程中因过滤压力过高带来的安全隐患;另一方面,每种滤材均有其最大承受压力负荷,超过此负荷,其过滤效果将会下降,影响产品质量^[18]。过滤压力的下降也从一定程度上保证了产品质量。

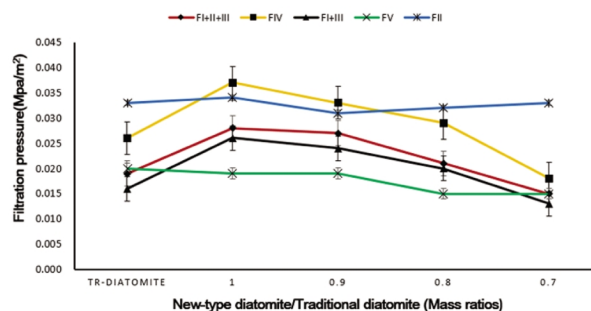


图 3 两种硅藻土过滤压力比较

Fig.3 Filtration pressure of the two type diatomite

2.6 两种硅藻土的浊度

两种硅藻土过滤所得各组分滤过液浊度见图 4, 可以看出,滤过液浊度值没有明显差异。新型硅藻土用量为传统硅藻土用量 70%,即可以保证滤过液浊度维持相同水平,满足制品要求。

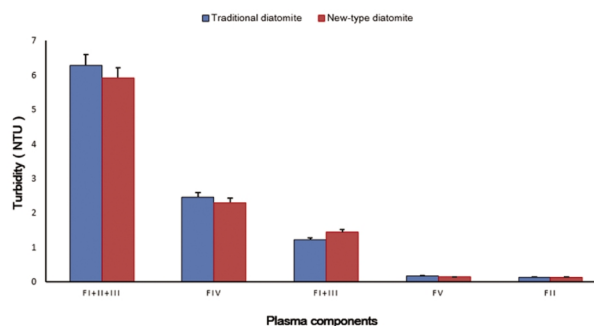


图 4 两种硅藻土滤液浊度比较

Fig.4 Filtrate turbidity of the two type diatomite

2.7 两种硅藻土滤饼分布比较

通过对使用新型硅藻土过滤后滤饼情况的观察,发现各组分沉淀铺陈均匀,滤饼经干燥后含水量较低。两种硅藻土湿密度的差异使得新型硅藻土更易于混悬于溶液中,而传统硅藻土沉降比例较大,因此在硅藻土用量较多的组分过滤中,使用新型硅藻土过滤形成的滤饼在滤板上的铺陈均匀度较使用传统硅藻土过滤形成的滤饼厚度有更明显的改善,且滤饼的疏松度较好。由于使用传统硅藻土过滤形成的滤饼较粘稠,经过过滤

后期较大的过滤压力压缩后,其渗透率降低,比阻增大^[9]。而使用新型硅藻土过滤形成的滤饼疏松,过滤后期过滤压力较小,

滤饼被压缩的程度小,滤饼易于干燥,液体含量降低,滤液量增加,从而可提高目标蛋白质的收率。

表 4 两种硅藻土过滤后各组分滤饼分布对比

Table 4 Filter cake comparison of the two type diatomite

Thickness of filter cake(cm)	Traditional diatomite		New-type diatomite	
	Centre	Edge	Centre	Edge
FI+II+III	2.6	1.7	2.3	2.1
FIV	3.5	2.1	2.8	2.6
FI+III	2.3	1.5	2.0	1.7
FV	2.2	1.9	2.1	1.9
FII	2.1	1.0	2.0	1.0

3 讨论

适宜的助滤剂对血浆组分的分离至关重要,新型硅藻土过滤后最终得到的人血白蛋白和免疫球蛋白各项质量指标均达到或超过本公司和《中国药典》的规定^[20]。实验结果表明,FI+II+III,FIV,FI+III 过滤时,新型硅藻土使用量为传统硅藻土 70%时就能达到相同的滤过性能,且过滤压力降低。使用新型硅藻土预铺在滤板表面,其良好的颗粒结构产生更好的架桥作用及孔隙,将蛋白质截留于硅藻土层表面,保证滤液澄清度的同时减少了滤板孔隙被堵塞的几率,过滤流量提高,减少沉淀与滤板的粘连,提高蛋白的收率。在减少此新型硅藻土用量的情况下,可达到与传统硅藻土同等或更好的过滤效果,所得到产品的纯度、重金属含量等质量指标完全符合《中国药典》要求。随着中国 GMP 对血液制品原辅材料使用标准的提高,该型硅藻土可替代传统硅藻土用于血液制品生产。

参考文献(References)

- [1] 刘力,刘文芳.人血白蛋白分离工艺的历史沿革及发展[J].中国输血杂志,2008,21(4):323-326
Liu Li, Liu Wen-fang. The development and historical evolution of human blood albumin separation process [J]. Chinese Journal of Blood Transfusion, 2008, 21(4):323-326
- [2] WHO. Guidelines on Virus Inactivation and Removal Procedures intended to assure the Viral Safety of Human Blood Plasma Products [M]. Expert Committee on Biological Standardization, Geneva, 2010: 26-30
- [3] 谭邦青,曾学清.压滤技术在低温乙醇法制备人血白蛋白工艺中的应用[J].中国生化药物杂志,2001,22(2):93-94
Tan Bang-qing, Zeng Xue-qing. Application of pressure filtration in human albumins separation[J]. Chinese Journal of Biochemical Pharmaceutics, 2001, 22(2): 93-94
- [4] Cramer C L. Progress in expression of plasma proteins in plants [Z]. Boston Biological Safety and Production IBC Conference, 1999: 19-23
- [5] 肖林,郝杰,程雅琴,等.血白蛋白制品浊度与稳定性的分析[J].中国生物制品学杂志,2002,06:59-61
Xiao Lin, Hao Jie, Cheng Ya-qin, et al. Turbidity and stability analysis of blood albumin products [J]. Chinese Journal of Biologicals, 2002, 06: 59-61
- [6] 杨青山.助滤剂对常规过滤性能的影响研究[C].中国学术期刊电子出版社,2008,07:1008-0422
Yang Qing-shan. Influence study on conventional filtering performance for filter aid [C]. China Academic Journal Electronic Publishing House, 2008, 07: 1008-0422
- [7] 曲乃兵,徐桂香,左平,等.硅藻土助滤剂湿性能的分析与探讨[J].大连轻工业学院学报,1995,02:86-89
Qu Nai-bing, Xu Gui-xiang, Zuo Ping, et al. Discussion and Analysis on moisture of diatomite filter aid [J]. Journal of Dalian Institute of Light Industry, 1995, 02:86-89
- [8] 尤兆玮,孙昕.精细过滤及硅藻土助滤剂的应用[J].过滤与分离,2005,02:3225-3227
You Zhao-wei, Sun Xin. Application of diatomite filter aid in filtration[J]. Journal of Filtration and Separation, 2005, 02: 3235-3227
- [9] 潘金德.正电性硅藻土助滤剂及其吸附过滤作用研究[J].矿产保护与利用,2008,01:42-49
Pan Jin-de. Adsorption filtration study on electropositive diatomite filter aid[J]. Journal of Minerals' Protection and Utilization, 2008, 01: 42-49
- [10] 尤兆玮,胡天舒.在过滤中的硅藻土助滤剂及应用[J].流体机械,1988,04:312-316
You Zhao-wei, Hu Tian-shu. Application of diatomite filter aid in filtration[J]. Journal of Fluid Machinery, 1988, 04: 312-316
- [11] 王月,都丽红,王士勇,等.硅藻土助滤剂助过滤行为的研究[J].化工装备技术,2010,3(31):118-119
Wang Yue, Du Li-hong, Wang Shi-yong, et al. behavior research of diatomite filter aid filtration[J]. Journal of Chemical Equipment Technology, 2010, 3(31): 118-119
- [12] Du L H, Cheng X, Li W G, et al. Study on enhancement of filtration process with filter aids [J]. Chinese Journal of Chemical Engineering, 2011, 19(5): 850-853
- [13] Thomas E, Sulpizio. Advances in Filter Aid Precoat Filtration Technology[M]. American Filtration and Separation Society Annual Technical Conference, 1999, 9: 26-29
- [14] European Pharmacopoeia Commission. European Pharmacopoeia 8.0. Human normal immune- globulin for intravenous administration [M]. European Union, 2014: 1145-1148
- [15] May JC, Raina TC, Yu LJ. Aluminum content of source plasma and sodium citrate anti-coagulant [M]. International Society of Blood Transfusion, 1992, 62(2): 65-65

- ity to trypsin of human bone-derived cells in culture: surface changes detected by partitioning in aqueous two-phase systems [J]. Cell Biochem Funct, 1986, 4(1): 47-54
- [3] 宋东颖,王毅,孙岚,等. 肿瘤干细胞理论及肿瘤干细胞分离和鉴定研究进展[J]. 中国药理学和毒理学杂志, 2012, 26(5): 674-677
Song Dong-ying, Wang Yi, Sun Lan, et al. The theory of tumor stem cell and advance in isolation and identification of tumor stem cell[J]. Chinese Journal of Pharmacology and Toxicology, 2012, 26 (5): 674-677
- [4] Wang R, Jiang J T, Yang YiL, et al. Isolation and purification of tumor stem cells [J]. J Clin Rehabilitative Tissue Eng Res, 2009, 13 (7) : 161-164
- [5] Han J S, Crowe D L. Tumor initiating cancer stem cells from human breast cancer cell lines [J]. International Journal of Oncology, 2009, 34(5):1449-1453
- [6] Liao M J, Zhang C C, Zhou B, et al. Enrichment of a population of mammary gland cells that form mammospheres and have in vivo repopulating activity[J]. Cancer Res, 2007, 67(17): 8131-8138
- [7] Walia V, Elble R C. Enrichment for breast cancer cells with stem/progenitor properties by differential adhesion [J]. Stem Cells Dev, 2010, 19(8): 1175-1182
- [8] Mani S, W Guo, M Liao, et al. The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells [J]. Cell, 2008, 133(4): 704-715
- [9] Wakao S, Akashi H, Kushida Y, et al. Muse cells, newly found non-tumorigenic pluripotent stem cells, reside in human mesenchymal tissues[J]. Pathol Int, 2014, 64(1):1-9
- [10] Kuroda Y, Wakao S, Kitada M, et al. Isolation, culture and evaluation of multilineage-differentiating stress-enduring (Muse) cells [J]. Nat Protoc, 2013, 8(7): 1391-415
- [11] Wakao S, Kitada M, Kuroda Y. Multilineage-differentiating stress-enduring (Muse) cells are a primary source of induced pluripotent stem cells in human fibroblasts[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2011, 108 (24):9875-9880
- [12] Yamanaka S. Elite and stochastic models for induced pluripotent stem cell generation[J]. Nature, 2009, 460(7251): 49-52
- [13] Wakao S, Kitada M, Dezawa M. The elite and stochastic model for iPS cell generation: multilineage-differentiating stress enduring (Muse) cells are readily reprogrammable into iPS cells [J]. Cytometry A, 2013, 83(1):18-26
- [14] Kitada M, Wakao S, Dezawa M. Muse cells and induced pluripotent stem cell: implication of the elite model [J]. Cell Mol Life Sci, 2012, 69(22): 3739-3750
- [15] Shigemoto T, Kuroda Y, Wakao S, et al. A novel approach to collecting satellite cells from adult skeletal muscles on the basis of their stress tolerance[J]. Stem Cells Transl Med, 2013, 2(7): 488-498
- [16] Tedesco FS, Dellavalle A, Diaz-Manera J, et al. Repairing skeletal muscle: regenerative potential of skeletal muscle stem cells [J]. J Clin Invest, 2010, 120(1): 11-19
- [17] Kleeberger W, Bova G S, Nielsen M E, et al. Roles for the stem cell associated intermediate filament Nestin in prostate cancer migration and metastasis[J]. Cancer Res, 2007, 67(19):9199-9206
- [18] Jager M, Queinnec E, Le Guyader H, et al. Multiple Sox genes are expressed in stem cells or in differentiating neuro-sensory cells in the hydrozoan Clytia hemisphaerica[J]. Evodevo, 2011, 2(12): 2-17
- [19] Bakos R M, Maier T, Besch R, et al. Nestin and SOX9 and SOX10 transcription factors are coexpressed in melanoma [J]. Exp Dermatol, 2010, 19(8):89-94
- [20] Flammiger A, Besch R, Cook A L, et al. SOX9 and SOX10 but not BRN2 are required for nestin expression in human melanoma cells[J]. J Invest Dermatol, 2009, 129(4):945-953
- (上接第 1212 页)
- [16] 杨汇川, 孟丽, 林晓军, 等. 人血白蛋白制备中铝离子含量的控制 [J]. 中国输血杂志, 2000, 4(13): 86-89
Yang Hui-chuan, Meng Li, Lin Xiao-jun, et al. Control of aluminum ions content in human blood albumin production [J]. Chinese Journal of Blood Transfusion, 2000, 4(13): 86-89
- [17] The United States Pharmacopoeial Convention. United States Pharmacopoeia 35- National Formulation 30 [M]. Washington, 2012: 0809-0812
- [18] Tiller F M, Li W P. Determination of the critical pressure drop for Filtration of super-compactible cakes [J]. Water Science and Technology, 2001, 44: 1061-1069
- [19] Lawrence, K. Wang. Advanced Physicochemical Treatment Process [M]. Handbook of Environmental Engineering, 2006, 4: 155-189
- [20] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典第三部 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2010: 163-184
National Pharmacopoeia Committee. Pharmacopoeia of People's Republic of China [M](part 3). Beijing: Chemical Industry Press, 2010: 163-184