

3505 兽用生物制品用胰酶质量标准

生物制品用胰酶系由猪胰脏提取的多种酶的混合物，主要成分为胰蛋白酶。主要用于动物来源的组织和细胞的解离或分散。

【性状】 白色或乳白色结晶体或无定形粉末。

【鉴别】 取 2.0 mg 胰酶，置白色点滴板上，加入对甲苯磺酰-L-精氨酸甲酯盐酸溶液（附注 1）0.2ml，搅匀，应呈紫红色。

【支原体检验】 将胰酶用灭菌注射用水制成 10 g/L 溶液，2~8℃ 10 000g 离心 15 分钟，取上清液，经 0.22 μm 滤器过滤后，取滤液按附录 3308 进行检验，应无支原体生长。

【外源病毒检验】 将胰酶按附注 2 方法处理后，按附录 3305 进行检验，应无外源病毒污染。

根据需要，可采用其他方法（如分子生物学方法）增加对特定病原的检测。

【细胞解离试验】 将已长成良好单层的 Vero 细胞和 PK15 细胞用 8%胎牛血清分散为 15~20 万个细胞/ml，各分装 2 个细胞瓶（75cm²/瓶），每瓶 30 ml，37℃培养 3 日后弃去培养液，先用 3.0 ml 1/15M pH7.2 磷酸缓冲液洗涤 2 次，然后加入本品配制的 0.25%胰酶 3.0 ml 洗涤 1 次，弃去胰酶后置 37℃培养箱，按附注 3 进行细胞解离判定。Vero 细胞应在 5 分钟内发生解离；PK15 细胞应在 15 分钟内发生解离。

附注：

1 鉴别检验用试剂配制

1.1 三羟甲基氨基甲烷缓冲液（pH 8.1）

取氯化钙 294 mg，加 0.2 mol/L 三羟甲基氨基甲烷溶液 40 ml 使溶解，用 1.0 mol/L 盐酸溶液调节 pH 值至 8.1，用水稀释至 100 ml。

1.2 对甲苯磺酰-L-精氨酸甲酯盐酸溶液

取对甲苯磺酰-L-精氨酸甲酯盐酸盐 98.5 mg，加三羟甲基氨基甲烷缓冲液（pH 8.1）5.0 ml 使溶解，加指示液（取等量 0.1%甲基红的乙醇溶液与 0.05%亚甲蓝的乙醇溶液，混匀）0.25 ml，用水稀释至 25 ml。

2 胰酶外源病毒检验前处理方法

将胰酶用预冷的灭菌注射用水配制成 10 g/L 溶液，2~8℃ 10 000g 离心 15 分钟，取上清液经 0.22 μm 滤器过滤后，加入适量符合质量标准要求的胎牛血清混匀，2~8℃作用 30 分钟，作为检验用材料。如果加入的胎牛血清量不能抑制胰酶活性时，可适当增加胎牛血清用量，但在进行外源病原检验接种时，也应适当增加样品的接种量，确保接种样品中的原胰酶量不少于 1.0 ml。

3 细胞解离判定标准

细胞变圆隆起、间隙变大、聚团甚至出现轻微脱落；轻轻拍打，80%以上细胞出现脱落。

备注：本标准为新增标准。