强生（中国）投资有限公司杨森（中国）研发中心实验室项目

环保措施落实情况

一、 项目概况

1. 项目名称及性质

项目名称：杨森（中国）研发中心实验室项目

项目地址：上海市浦东新区张江高科技园区金科路 4560 号金创大厦 1 号楼北楼 5-7 层

建设名称：强生（中国）投资有限公司

单位性质：有限责任公司（外商合资）

建设项目性质：新建

建筑面积：租赁建筑面积 4274.37m^2

2. 环评文件审批

本项目 2016 年 4 月由上海格林曼环境技术有限公司编制环境影响评价文件《杨森（中国）研发中心实验室项目环境影响报告表》，并于 2016 年 6 月 8 日获得上海市浦东新区环境保护和市容卫生管理局的审批意见，同意项目建设，批复文号：沪浦环保许评[2016] 1221 号。

3. 施工期环保措施落实情况

建设项目开工日期：2016 年 10 月 17 日

建设项目建成日期：2016 年 12 月 12 日

设计单位：中国医药集团联合工程有限公司

施工单位：江苏宜安建设有限公司

工程基本情况：本建设项目不涉及土建，主要进行内部装修和设备安装，各楼层平面布置基本不变，依托现有建筑空置空间。我公司严格按照相关要求组织施工，现已竣工，相关的环境保护设施已建成。

4. 项目主要内容

项目建设内容与已批复环评一致，包括 5-6 层的普通生物实验室、6 层的二级生物安全实验室（BSL-2）实验室和 7 层的药物开发及制造科学（PDMS）实

验室、化学实验室以及相关的办公和辅助工程，其中普通生物实验室、BSL-2 实验室主要从事与肝病有关的药物研发工作，包括抗乙肝病毒、抗肿瘤药物以及肝硬化药物的研发、体外检测抗病毒和抗肿瘤药物的生物学效果等；PDMS 实验室主要进行生物原料药和制剂的研发。项目租赁建筑面积为 4274.37m^2，其中实验区面积为 1914m^2，办公区面积为 1188m^2，其他辅助区域面积约为 1172m^2。项目具体组成见表 1 所示。

表 1 项目组成情况

项目组成	项目名称	主要内容	楼层
主体工程	普通生物实验室	细胞培养、靶点验证、新药物研发和转化科学研究及相关实验	5F，6F
	二级生物安全（BSL-2）实验室	病毒培养、抗病毒药物研发、肿瘤细胞研究及相关实验	6F
	化学实验室	化合物合成、提纯、分析	7F
	药物开发及制造科学（PDMS）实验室	细胞培养、大分子分析、生物原料药原液配制和检测	7F
辅助工程	办公室	办公场所	5F，6F，7F
	气瓶室	存放氧气、CO_2 及氮气瓶等	5F，6F
	冷藏室/储存间	实验药品、样品保存等	5F，6F，7F
	洗瓶间	实验器材清洗	5F
	高压灭菌室	实验器材及废物的灭菌	5F，6F
	器材储藏间	实验器材存放等	5F，6F
	化学储存间	化学品储存	7F
公用工程	配电间	供电	5F，6F，7F
	应急发电机房	应急供电	5F
	空调机房	室内空调通风	5F，6F，屋面
环保工程	危险废弃物仓库	存放危险废物	6F
	废水处理措施	对实验室废水进行消毒处理	室外
	通风柜、集气罩废气收集系统	排风管道 楼顶排气筒，16 根 生物安全柜，17 台 化学通风柜，33 台 化学防爆柜	5F，6F，7F 屋面 5F，6F，7F 5F，6F，7F 7F

- **主要原辅材料**

(1) 普通生物实验室

普通生物实验室的原辅材料使用情况见表 2 所示。

表 2 普通生物实验室的原辅材料一览表

序号	原辅料名称	年用量	备存量
1	二甲基亚砜	33L	6L
2	磷酸二氢钾	0.5 kg	500g
3	磷酸氢二钾	0.5 kg	500g
4	氯化镁	0.5 kg	500g

序号	原辅料名称	年用量	备存量
5	氯化钾	0.5 kg	500g
6	氯化钠	2 kg	2kg
7	37%盐酸	2 L	500mL
8	乙酸	4 L	500mL
9	异丙醇	3 L	2L
10	无水乙醇	53L	10L
11	Tris-盐酸	2 kg	2kg
12	药用吐温 80	1.0 L	1L
13	氢氧化钠	0.5 kg	500g
14	细胞基本培养液	200 L	20 L
15	小牛血清	30 L	10 L
16	转染试剂	20 mL	10 mL
17	siRNA/shRNA (小核苷酸片段)	5 mL	1 mL
18	蛋白胶电泳液	50 L	5 L
19	Western Blot 显色试剂	2 L	0.5 L
20	Celltiter-Glo 荧光显色试剂	2 L	1 L
21	抗体	100* 0.1 mL	50* 0.1 mL
22	蛋白电泳上样缓冲液	200 mL	50 mL
23	组织裂解液	100mL	10mL
24	Blood (mouse, rat, dog, monkey)	30 mL, each	20 mL, each
25	Serum (mouse, rat, dog, monkey, or human)	50 mL, each	30 mL each
26	Plasma (mouse, rat, dog, monkey, or human)	50 mL, each	30 mL each
27	氢氧化钠	100g	500g
28	甲酸	100mL	500mL
29	磷酸	50 mL	500mL
30	甲醇	80 L	20L
31	乙腈	60 L	10L
32	磷酸盐清洗缓冲液	100 L	2 L
33	二甲苯替代物（脱蜡液）	20 L	5 L
34	二甲苯替代物（透明液）	20 L	5 L
35	二甲苯替代物（Hischoice）	5 L	2.5 L
36	95%乙醇	30 L	3 L
37	75%乙醇	30 L	3 L
38	苏木素	500 mL	50 mL
39	DAB 染色液	1 L	100 mL
40	福尔马林	5 L	500 mL
41	过氧化物酶	500 mL	50 mL
42	辣根过氧化物酶偶联聚合物	500 mL	50 mL
43	荧光染料	1 ml	1 ml
44	中性树胶	500 mL	50 mL
45	胰蛋白酶和胃蛋白酶消化液	500 mL	50 mL
46	伊红	500 mL	50 mL
47	抗原修复液（50）	2 L	200 mL
48	染色液（PBS+2%FBS）	500/bottle，20 bottles	500/bottle，30 bottles
49	荧光抗体	根据实验量确定	0.5 mL/ 支，200 支

序号	原辅料名称	年用量	备存量
50	流式细胞仪鞘液	500L	600L
51	流式细胞仪清洗液	200L	300L
52	细胞因子检测试剂盒	1.5L	2L
53	鞘液	200L	300L
54	清洗液（10%bleach）	3L	4L
55	生物检材（血清，组织蛋白，细胞裂解物）	10 mL	10mL
56	ELISA 检测试剂盒	30 个	20 个
57	细胞裂解液	100mL	100mL
58	血液样品	50mL	50mL
59	蛋白提取与纯化试剂盒	5 个	5 个
60	84 消毒液	1 L	1L
61	PBS 缓冲液	5L	2L
62	99.5%异丙醇	8L	1L
63	70%乙醇	30 L	5 L
64	丙酮	30 L	10L
65	硫酸	20 L	5L
66	三氯甲烷	20L	5L

(2) 二级生物安全（BSL-2）实验室

二级生物安全（BSL-2）实验室的原辅材料使用情况见表 3 所示。

表 3 二级生物安全（BSL-2）实验室的原辅材料一览表

序号	原料名称	年使用量	备存量
1	Hyb-100	500 mL	2L
2	10×TBE buffer	1L	3L
3	Ambion 尼龙膜	1 roll	1 roll
4	CDP-star	1 kit	1 kit
5	Anti-AP	1 tube	1 tube
6	Agarose	200g	500g
7	DMEM medium (Invitrogen- 11960-069)	10L	5L
8	Tet System Approved FBS (CLONTECH-631106)	2L	2L
9	MEM Non-Essential Amino Acids Solution (Invitrogen-11140050)	100mL	100mL
10	GlutaMax (Invitrogen- 35050061)	100mL	100mL
11	Geneticine(G418) (50mg/ml, Invitrogen- 10131-027)	100mL	100mL
12	NP-40 (生工 NE109-100ml)	100mL	100mL
13	QuickExtraction solution (Epicentre Biotechnologies-QE09050)	5L	1L
14	LightCycler480 Probes Master kit (Roche-04887301001)	10kit	2kit
15	TURBO™ DNase (2U/ul, Invitrogen- AM2239)	20kit	5kit
16	DNAse I (2U/ul, NEB- M0303L)	20kit	5kit
17	10xDNase I buffer (NEB- B0303S)	20kit	5kit
18	FuGENE-HD Transfection Reagent (Promega-E2312)	5kit	2kit
19	Opti-MEM medium (Invitrogen-31985070)	500mL	500mL
20	肿瘤细胞	50mL	20l
21	基础培养基	500L	20L

序号	原料名称	年使用量	备存量
22	细胞消化液	500 mL	150 mL
23	血液样品	3000 mL	500 mL
24	细胞分离试剂盒	14 个	5 个
25	84 消毒液	60 L	10L
26	淋巴细胞分离液	25L	5L
27	胎牛血清	100L	10L
28	抗生素	6L	1L
29	磷酸盐缓冲液	500L	50L
30	二甲基亚砜	200mL	50mL
31	无水乙醇	100L	20L
32	95%乙醇	90 L	10 L
33	75%乙醇	180L	30L
34	70%乙醇	90 L	10 L

(3) 药物开发及制造科学（PDMS）实验室

生物原料药研究的原辅材料使用情况见表 4 所示。

表 4 生物原料药研究的原辅材料一览表

序号	原辅料名称	年用量	备存量
1	CHO 细胞	12 mL	8mL
2	接种培养基	7.0kg	5kg
3	基础培养基	20 kg	10kg
4	补料培养基	10 kg	5kg
5	谷氨酰胺	2.0 kg	1kg
6	碳酸钠	3.0 kg	1kg
7	消泡剂	0.5 kg	500g
8	氢氧化钠	10 kg	1kg
9	37%盐酸	16 L	1000mL
10	氢氧化钠	22.7 kg	1kg
11	十二水合磷酸氢二钠	17.9 kg	500g
12	磷酸二氢钾	0.5 kg	500g
13	氯化钾	0.5 kg	500g
14	氯化钠	80.0 kg	2kg
15	二水合磷酸二氢钠	4.5 kg	500g
16	无水乙酸钠	2.5 kg	500g
17	乙酸	4 L	500mL
18	磷酸	6.0 L	500mL
19	三羟甲基氨基甲烷	1.2 kg	100g
20	苯甲醇	1.5 L	500mL
21	甘氨酸	6.5 kg	100g
22	异丙醇	0.5 L	500mL
23	无水乙醇	5 L	500mL
24	柠檬酸	36.5 kg	500g
25	二水合柠檬酸三钠	30.0 kg	5.0kg
26	药用二水合柠檬酸三钠	8.0 kg	5.0kg
27	药用氯化钠	10.0 kg	5.0kg

序号	原辅料名称	年用量	备存量
28	药用吐温 80	1.0 L	1L
29	药用 37%盐酸	5.0 L	1L
30	三乙基胺	2 L	500 mL
31	氢氧化铵	800 g	100 g

生物制剂研究中使用的主要原辅料具体如表 5 所示。

表 5 生物制剂研究的原辅材料一览表

序号	原辅料名称	年用量	备存量
1	氢氧化钠	1 kg	1kg
2	37%盐酸	5.0 L	1L
3	异丙醇	1 L	1 L
4	十二水合磷酸氢二钠	1 kg	1 kg
5	磷酸二氢钾	0.5 kg	500g
6	氯化钾	0.5 kg	500g
7	氯化钠	0.5 kg	1 kg
8	二水合磷酸二氢钠	1 kg	1 kg
9	无水乙酸钠	1 kg	1 kg
10	乙酸	0.5 L	500mL
11	柠檬酸	1 kg	1 kg
12	二水合柠檬酸三钠	1 kg	1 kg
13	吐温 80	0.5 L	1L
14	吐温 20	0.5 L	1 L
15	组氨酸	1 kg	1 kg
16	盐酸组氨酸	1 kg	1 kg
17	甘露醇	1 kg	1 kg
18	蔗糖	2 kg	2 kg
19	海藻糖	1 kg	1 kg
20	聚乙二醇 200	0.5 kg	0.5 kg
21	聚乙二醇 400	0.5 kg	0.5 kg
22	聚乙二醇 4000	0.5 kg	0.5 kg
23	聚乙二醇 6000	0.5 kg	0.5 kg
24	正丙醇	8L	1L
25	异丁醇	4L	500 mL
26	三氟乙酸	400 mL	500 mL

生物大分子分析检测使用的主要原辅料具体如表 6 所示。

表 6 生物大分子分析检测的原辅材料一览表

序号	原辅料名称	年用量	备存量
1	磷酸二氢钠	1200 g	500 g
2	磷酸氢二钠	500 g	500 g
3	氯化钠	500 g	500 g
4	乙腈	75 L	10 L
5	三氟乙酸	10 mL	100 mL
6	异丙醇	50 L	8 L

序号	原辅料名称	年用量	备存量
7	甲酸	10 L	2 L
8	10%十二烷基磺酸钠	50 mL	100 mL
9	2-巯基乙醇	5 mL	25 mL
10	磷酸盐缓冲液	10 L	10 L
11	10%吐温 20	1 L	1 L
12	终止液	5 L	1 L
13	注射用水	1 L	500 mL
14	牛血清白蛋白	100 g	100 g
15	丙酮	10 L	1L
16	硫酸	4 L	1 L
17	三氯甲烷	4L	500 mL
18	硝酸	2L	500 mL
19	甲醇	20 L	5L

(4) 化学实验室

化学实验室的原辅材料使用情况见表 7 所示。

表 7 化学实验室的原辅材料一览表

序号	原辅料名称	年用量	备存量
1	正己烷	140 L	12 L
2	乙酸乙酯	70 L	8 L
3	二氯甲烷	72.5 L	8 L
4	乙醚	40 L	4 L
5	甲苯	11.5 L	4 L
6	甲醇	54.5 L	10 L
7	高纯度乙醇	10 L	500 mL
8	无水二甲基甲醛	1.5 L	200 mL
9	无水四氢呋喃	2.5 L	200 mL
10	无水二乙醚	1 L	100 mL
11	无水二甲基亚砜	1.5 L	200 mL
12	无水乙腈	3 L	200 mL
13	氯化钠	6 kg	500 g
14	碳酸钠	3 kg	500 g
15	氢氧化钠	3 kg	500 g
16	氯化铵	3 kg	500 g
17	无水硫酸镁	2 kg	500 g
18	盐酸 3N	3 L	1 L
19	正丁醇	4 L	1 L
20	苯酚	2 L	500 mL

- **配套公用工程及其消耗**

本项目运行期间预计公用工程消耗情况见表 8 所示。

表 8 公用工程消耗情况

序号	名称	消耗量	来源

序号	名称	消耗量	来源
1	水	3284t/a	市政供水
2	电	72 万 kWh/a	市政供电

- **工艺流程**

由于本项目不涉及工业生产及中试内容，本项目的工艺主要为研发实验流程，主要工艺流程情况如下：

(1) 普通生物实验室工艺流程

A. 典型研发流程

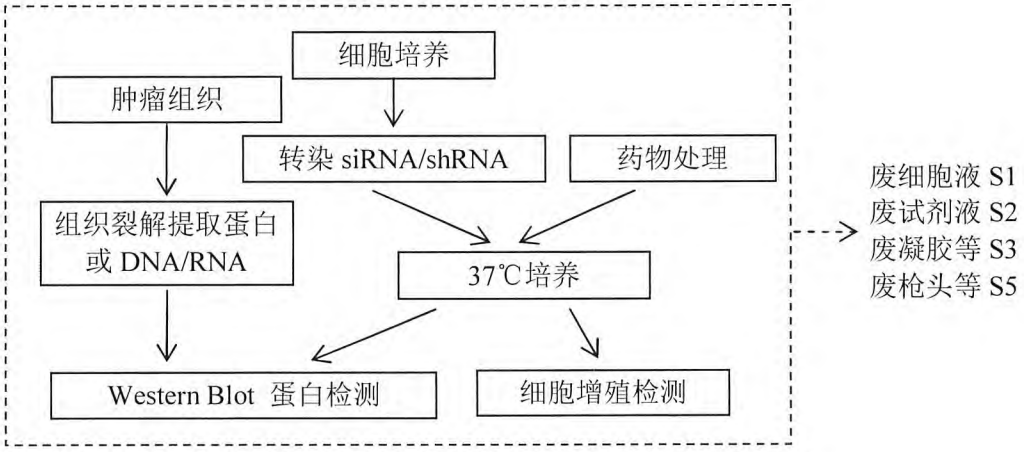

图 1 普通生物实验室典型研发流程示意图

主要工艺流程说明：

1) 细胞复苏、扩增和培养：取细胞冻存管在 37℃水浴中快速解冻，于生物安全柜内接入含培养液的培养皿或培养瓶中，并在二氧化碳培养箱中培养。每两到三天更换新鲜的培养液使细胞扩增，当细胞达到所需的浓度时，用胰酶消化传代，继续培养，等细胞达到一定的数量后，冻存一部分细胞作为细胞库，或者用于后续的实验。

2) 肿瘤组织的裂解：肿瘤组织磨碎后加入组织裂解液处理，离心取上清液。

3) 转染 siRNA/shRNA：将细胞接种到培养板中，加入 siRNA 和转染试剂的预混液，或者加入表达 shRNA 的慢病毒，与培养液充分混合，继续培养 48-72 小时。

4) 细胞增殖检测：经过 siRNA 或 shRNA 转染的细胞，或者经药物处理过的细胞，培养 72-120 小时后用荧光法检测细胞增殖情况，在原细胞培养液中加入等体积预混的 CellTiter-Glo 反应液，于 37 度或室温孵育 10-30 分钟，然后在读板器（plate reader）上读取荧光数值。

5) Western Blot 蛋白检测：药物处理过的细胞，或者经过 siRNA 或 shRNA 转染的细胞培养 48 小时后加入 SDS 蛋白上样缓冲液裂解，细胞裂解液经过 95 度蛋白灭活，然后上样至 SDS 蛋白凝胶，通过蛋白凝胶电泳后，蛋白再通过 TurboBlot Transfer 系统电泳从凝胶转移至 PVDF 膜，结合了蛋白的 PVDF 膜先后经过脱脂牛奶封闭，目标抗体（一抗）孵育若干小时，偶联辣根过氧化物酶的抗鼠血清或兔血清抗体（二抗）孵育若干小时，TBST 缓冲液清洗 3-5 次，在加入 ECL 底物反应液避光反应一分钟，然后将膜放入化学发光显色站显色并拍照。

B. Western Blot 杂交实验

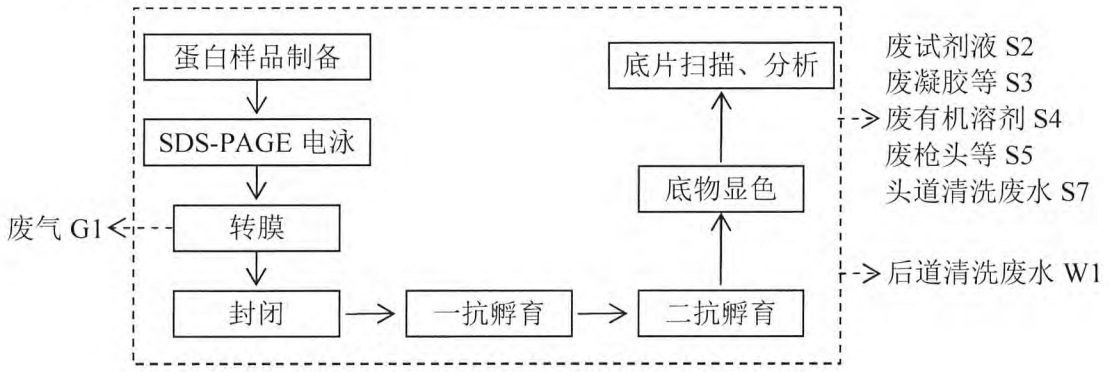

图 2 Western Blot 研究工艺流程及产污环节

主要工艺流程说明：

1) 蛋白样品制备：用于蛋白质免疫印迹的样品为蛋白质的溶解液，可以是纯化后的蛋白质样品，也可以是组织细胞裂解液。
2) 蛋白定量：评估电泳上样量或检测蛋白含量大小。先总蛋白定量，Western 后在依据内参定量。
3) 电泳：依据需要检测蛋白的分子量选择胶的浓度，制胶，电泳。
4) 转膜：将聚丙烯酰胺上的蛋白质转移至薄膜上，常用半干转或湿转。
5) 封闭：选择适当封闭剂将膜上蛋白质结合位点封闭阻断。
6) 一抗孵育：一抗与特异性抗原的结合。
7) 二抗孵育：二抗与抗原上结合的一抗的再结合过程。
8) 底物显色：二抗一般为标记抗体，根据二抗上的标记物来选择显色底物进行检测。

9）图片分析：标定 Marker，在仪器上进行分析与扫描。

C. 酶联免疫吸附实验

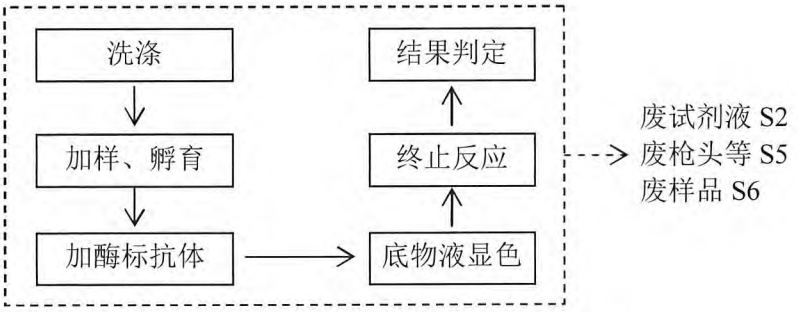

图 3 酶联免疫吸附实验工艺流程及产污环节

主要工艺流程说明：

1) 洗涤：将试剂盒中的包被板置于常温 30 分钟，待条件稳定，用洗涤缓冲液洗 3 次，每次 3 分钟。洗涤缓冲液一般是磷酸盐溶液。

2) 加样、孵育：加一定稀释的待检样品 0.1mL 于上述已包被之反应孔中，置 37℃孵育 1 小时。然后洗涤。同时做空白孔，阴性对照孔及阳性对照孔。

3) 加酶标抗体：于各反应孔中，加入新鲜稀释的酶标抗体（经滴定后的稀释度）0.1mL。37℃孵育 0.5～1 小时，洗涤。抗体收集在临时废液桶中，最后处理。

4) 底物液显色：于各反应孔中加入临时配制的底物溶液 0.1ml，37℃10～30 分钟。底物回收于废液桶中，最后处理。

5) 终止反应：于各反应孔中加入终止液 0.05ml。

D. 木精—伊红染色研究

木精—伊红染色法（hematoxylin-eosin staining），简称 HE 染色法，石蜡切片技术里常用的染色法之一。苏木精染液为碱性，主要使细胞核内的染色质与胞质内的核糖体着紫蓝色；伊红为酸性染料，主要使细胞质和细胞外基质中的各种不同成分呈现出深浅不同的粉红色。故各种组织或细胞成分与病变的一般形态结构特点均可显示出来。其典型工艺流程图如下：

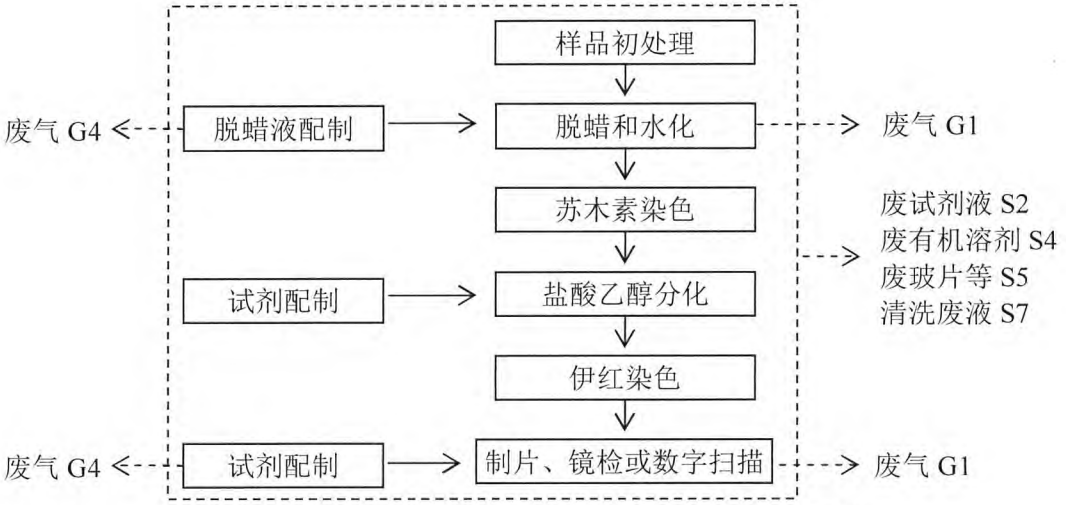

图 4 木精—伊红染色研究工艺流程及产污环节

主要工艺流程说明：

1) 样品初处理：取组织玻片在 60℃恒温箱中烘烤 60 分钟。

2) 脱蜡和水化：

a. 将组织玻片置于二甲苯替代物中浸泡 5 分钟；

b. 更换二甲苯替代物后再浸泡 5 分钟；

c. 将组织玻片置于无水乙醇中浸泡 3 分钟；

d. 更换无水乙醇后再浸泡 3 分钟；

e. 将组织玻片置于 95%乙醇中浸泡 3 分钟；

f. 更换 95%乙醇后再浸泡 3 分钟；

g. 将组织玻片置于在去离子水中浸泡 5 分钟。

3) 苏木素染色：苏木素染 10 到 15 分钟，水洗去多余染液。

4) 盐酸乙醇分化：置分化液盐酸乙醇 30 秒至 3 分钟，水洗终止分化。用自来水浸泡返蓝，大约 5 到 10 分钟。

5) 伊红染色：染伊红 7 到 10 分钟，后用自来水冲洗。

6) 制片、镜检或数字扫描：用梯度乙醇逐级脱水（75%乙醇 3 分钟—95%乙醇 3 分钟——100%乙醇 3 分钟——100%乙醇 3 分钟），然后用二甲苯替代物 2 次，每次 2 分钟。脱水透明后用中性树胶封片，封片后镜下观察，并用数字切片扫描仪扫描组织切片储存图片。

E. 免疫组化研究

免疫组织化学又称免疫细胞化学，是指带显色剂标记的特异性抗体在组织细胞原位通过抗原抗体反应和组织化学的呈色反应，对相应抗原进行定性、定位、

定量测定的一项新技术。它把免疫反应的特异性、组织化学的可见性巧妙地结合起来，借助显微镜（包括荧光显微镜、电子显微镜）的显像和放大作用，在细胞、亚细胞水平检测各种抗原物质。其典型工艺流程图如下：

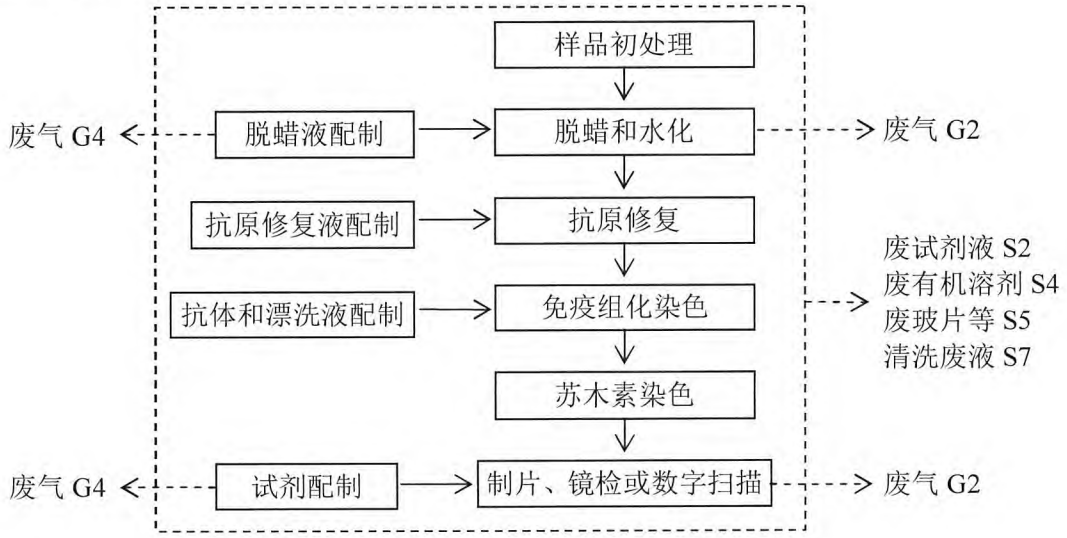

图 5 免疫组化研究工艺流程及产污环节

主要工艺流程说明：

1) 样品初处理以及脱蜡和水化同上（HE 染色）。

2) 抗原修复：用于福尔马林固定的石蜡包埋组织芯片。抗原修复分为热修复法和酶消化两种。

3) 免疫组化染色：在 Dako 自动染色仪上进行。通常辣根过氧化物酶孵育 5 分钟，清洗液清洗 5 分钟后，一抗孵育 30 分钟到 1 个小时，清洗液清洗 5 分钟，二抗孵育 30 分钟，清洗液清洗 10 分钟，然后 DAB 显色或荧光显影。

4) 苏木素染色同上（HE 染色）。

5) 制片、镜检或数字扫描同上（HE 染色）。

F. Southern Blot 杂交实验

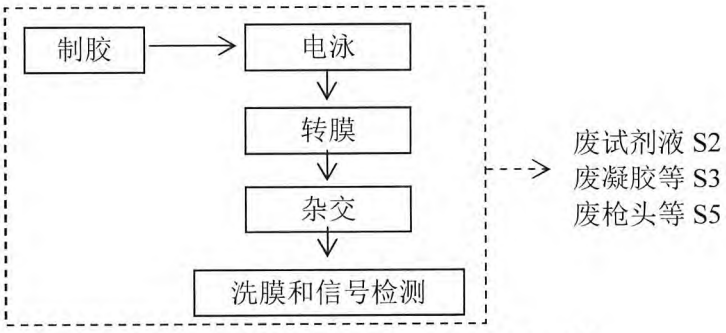

图 6 Southern Blot 杂交实验工艺流程及产污环节

主要工艺流程说明：

1) 电泳：灌制 1%的 agrose 胶，取 1~10ug DNA 样品加入上样 buffer，于 1%的琼脂糖凝胶上电泳，90V 电压下电泳 3h（包括 DNA Marker）。

2) 转膜：将胶裁成 9.8cm×8.0cm 大小，于平皿中用蒸馏水冲洗一次，用蒸馏水冲洗 2 次。加入变性液（1.5mol/L NaCl、0.5mol/L NaOH）室温振荡 20~30min，用蒸馏水冲洗 2 次，加入中和液（1.5mol/L NaCl、1.0mol/L Tris-Cl，pH 为 7.4）室温振荡 2×15min，用蒸馏水冲洗 2 次，加入 2×SSC 平衡凝胶和尼龙膜 5min，虹吸印记法转膜 26h。

3) 杂交：先预杂交，取 8.0ml 60℃预热的 Hyb 高效杂交液（Hyb-100），加入杂交管中，排尽气泡，60℃杂交炉中预杂交 2h。再探针变性，将已标记好的探针沸水浴中变性 10 分钟，立即放冰水浴冷却 10min（探针一经变性，立即使用）。最后杂交时，排尽预杂交液，在 8.0mL 新 Hyb 高效杂交液（Hyb-100）加入 4.0μL 新变性好的探针（1-3ul/膜，5-20ng/mL 杂交液），混匀。60℃杂交仪中杂交过夜。

4) 洗膜和信号检测：杂交后室温下，20 mL 2×SSC/0.1%SDS 洗膜 2×5min。60℃，20mL 0.1×SSC/0.1%SDS 洗涤 2×15min。再将膜置于 20mL 洗涤缓冲液中平衡 2-5min。将膜在 10mL 阻断液中阻断 30min（在摇床上轻轻摇动）。封闭完成后倒出阻断液，加入稀释好的 10mL 抗体溶液，浸膜至少 30min。去除抗体溶液，用 20mL 洗涤缓冲液缓慢洗膜 2 次，每次 15min。去除洗涤缓冲液，在 20mL 检测液中平衡膜 2 次，每次 2min。加入 CDP-Star 进行显示反应，照相记录结果。

G. 生物分析研究

生物分析研究主要是生物样本分析方法的开发，包括空白生物样品标准溶液的制备、生物样品提取物的制备研究，再通过分析仪器对提取物的实验数据进行比较和分析，其典型工艺流程图如下：

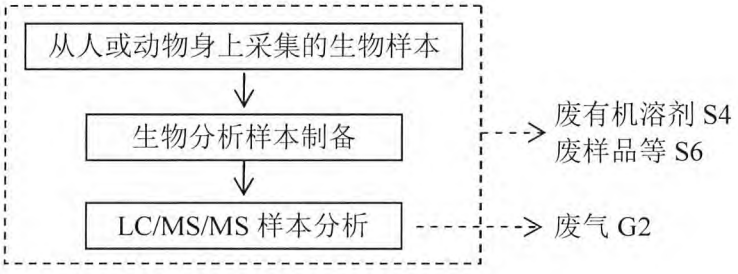

图 7 生物分析研究工艺流程及产污环节

主要工艺流程说明：

1) 生物样本采集：实验所用的生物样本包括空白血浆、血清、血液、尿液、胆汁、粪便或购买的其他商业生物样品，均外购获得。
2) 样本制备：将从人或动物身上收集到的生物样本进行分析样品制备。进行空白生物样品标准溶液的制备，对生物样品中含有的实验化合物进行液-液萃取、固相萃取、或者蛋白沉淀，获得提取物作为分析样本。
3) 样本分析：获得的提取物在氮气蒸发下浓缩或者直接注入到 HPLC/MS/MS 分析仪器上进行分析。

H. 药物筛选实验室

本实验室主要在离体条件下进行酶学反应研究或细胞水平研究，测试化合物对酶反应或细胞应答的潜在抑制或激活作用；利用各种自动化高通量仪器在 96 或 384 孔板内加入检测试剂，完成酶学或细胞反应，随后用酶标仪对其进行定量测试分析，其典型工艺流程图如下：

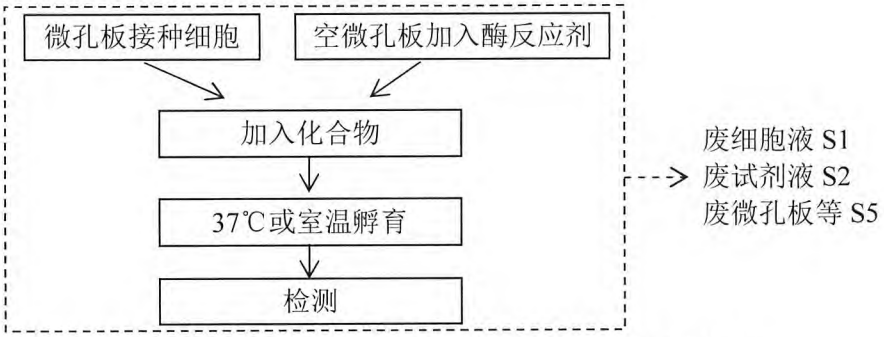

图 8 体外生化/细胞检验分析工艺流程及产污环节

主要工艺流程说明：

1) 取已接种细胞的微孔板或者空微孔板，用自动分液仪器加入相应的检测或反应试剂。
2) 用 Echo 非接触式声波移液系统，从化合物母板向上述微孔板中加入待测化合物，化合物母板随后回收储存。
3) 微孔板于室温或 37 度恒温孵育箱内孵育特定时间。
4) 微孔板于酶标仪内进行读数检测。

I. 液相芯片分析实验

本项目生物原料药研发主要对细胞培养上清中各种蛋白的表达水平进行检测。涉及到的工艺流程图如下：

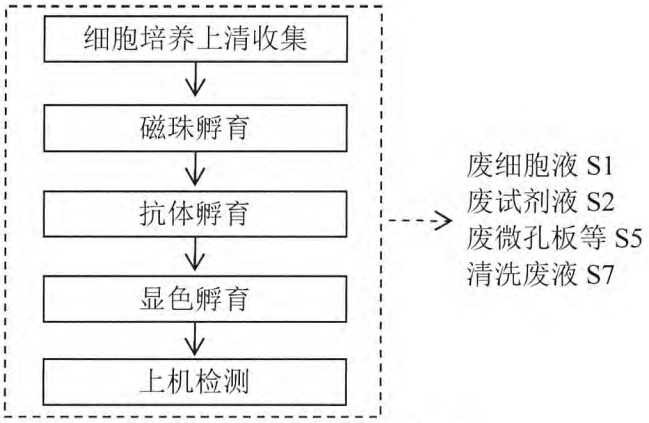

图 9 液相芯片分析工艺流程及产污环节

主要工艺流程说明：

1) 细胞培养上清收集：将细胞悬液高速离心后获得细胞培养上清，贴壁细胞可直接吸取细胞培养上清。

2) 磁珠孵育：将获得的细胞上清加入 96 孔实验板中，与耦合了检测蛋白抗体的磁珠进行孵育，在微孔板混匀器中混匀 30 分钟。

3) 抗体孵育：30 分钟后，用磁力洗板器洗去未予磁珠结合的细胞培养上清，加入连有 HRP（辣根过氧化物酶）二抗，在微孔板混匀器中混匀孵育 30 分钟。

4) 显色孵育：30 分钟后，用磁力洗板器洗去未结合二抗，加入 SA-PE（链酶亲和素）显色液，在微孔板混匀器中混匀孵育 10-15 分钟。

5) 上机检测：样本放入仪器进行自动检测，样本上件检测后直接和鞘液一起流入机器的废液箱。废液箱里装有预先加入的 10% bleach 对废液进行消毒处理，样品检测完毕后按照机器的操作手册对机器进行清洗。

J. 流式细胞分析实验

本项目生物原料药研发主要采用制备好的单细胞悬液（组织来源或者细胞系来源），对细胞表面或者细胞内分子进行荧光抗体标记，根据荧光信号的强弱对样本进行定量分析或者分选，其典型工艺流程图如下：

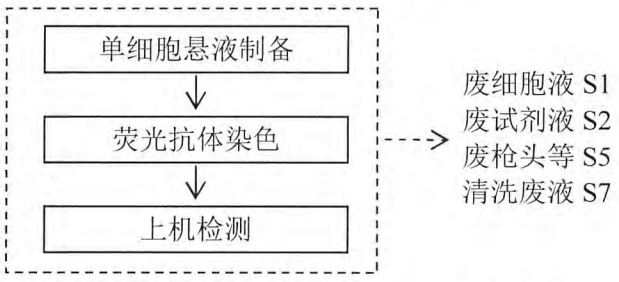

图 10 流式细胞术分析工艺流程及产污环节

主要工艺流程说明：

1) 单细胞悬液制备：实验样本如涉及到 P1 级别的的细胞株，细胞单细胞悬液及染色过程均可在 P1 级别的实验室操作。如涉及到人体血样组织或者病毒感染的细胞，均在 P2 实验室操作，从单细胞悬液的制备到样本染色，直至最后样本由福尔马林固定后，转移到流式检测室检测。组织及人血样单细胞悬液制备，请参照 HBV 组等的试验操作流程。

2) 荧光抗体染色：P2 级别的样本制成单细胞悬液后，会进行福尔马林固定，然后对细胞进行荧光标记的抗体染色。将荧光标记的抗体按比例加入单细胞悬液，4°C 避光放置三十分钟，加入含有 2%FBS 的 PBS 缓重液中洗去未结合抗体，1500rpm 离心 5 分钟，弃去上清，将上清倒入含有 10% trigen 的废液缸里（整个离心弃去上清的过程重复三次），最后将样本重悬在 2% FBS 的 PBS 缓冲液中。

3) 上机检测：样本上件检测后直接和鞘液一起流入机器的废液箱，废液箱里装有预先加入的 10% bleach 对废液进行消毒处理，样品检测完毕后按照机器的操作手册对机器进行清洗，清洗完废液直接流入废液箱。废液箱瓶盖出装有防止液体挥发形成气溶胶的装置，防止废液挥发至空气中。

K. 细胞荧光检测实验

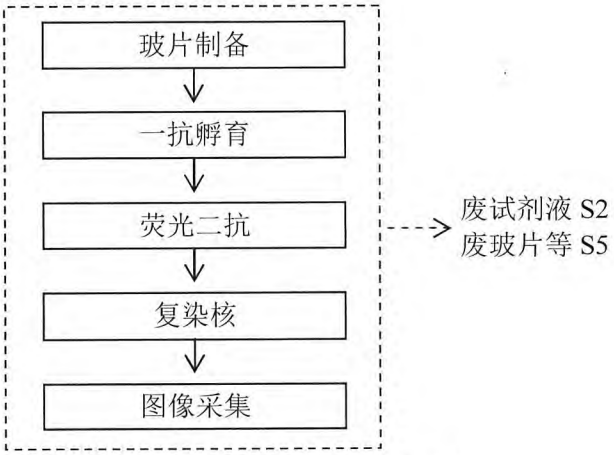

图 11 细胞荧光检测工艺流程及产污环节

主要工艺流程说明：

1) 玻片制备：在培养板中将已爬好细胞的玻片用 PBS 浸洗 3 次，每次 3min。用 4%的多聚甲醛固定爬片 15min，PBS 浸洗玻片 3 次，每次 3min。0.5%Triton X-100（PBS 配制）室温通透 20min。PBS 浸洗玻片 3 次，每次 3min，吸水

纸吸干 PBS，在玻片上滴加胎牛血清，室温封闭 30min。

2) 一抗孵育：吸水纸吸掉封闭液，不洗，每张玻片滴加足够量的稀释好的一抗并放入湿盒，37℃孵育 1 小时。

3) 荧光二抗：PBST 浸洗爬片 3 次，每次 3min，吸水纸吸干爬片上多余液体后滴加稀释好的荧光二抗，湿盒中 20-37℃孵育 1h，PBST 浸洗切片 3 次，每次 3min。

4) 复染核：滴加 DAPI 避光孵育 5min，对标本进行染核，PBST 5min×4 次洗去多余的 DAPI；用吸水纸吸干爬片上的液体，用含抗荧光淬灭剂的封片液封片。

5) 图像采集：在荧光显微镜或者激光共聚焦显微镜下下观察采集图像。

(2) 二级生物安全（BSL-2）实验室工艺流程

A. 细胞培养实验

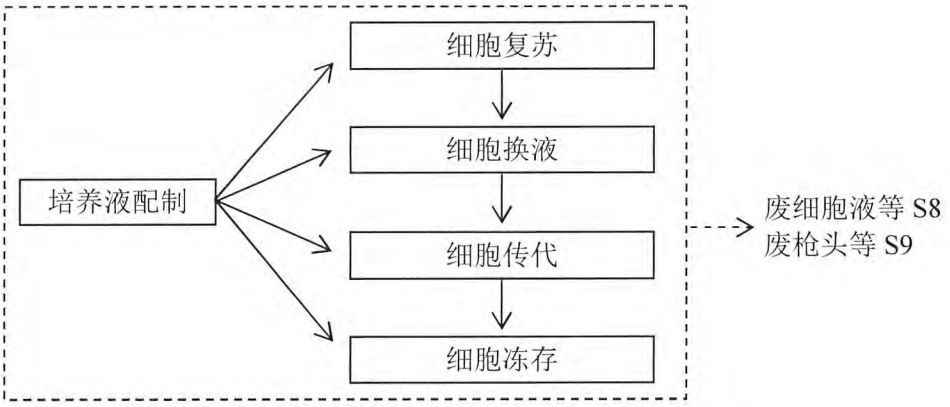

图 12 细胞培养分析工艺流程及产污环节

主要工艺流程说明：

1) 细胞复苏：胎牛血清提前一天放至 4℃冰箱解冻，DMEM9mL 加胎牛血清 1mL，并将 7mL 加入培养瓶中。液氮中取出保存的肝源细胞冻存管，立即放入 37℃水浴箱中轻轻摇晃，争取 1min 后融化。75%酒精擦拭消毒冻存管，吸出细胞悬液加入 15mL 离心管中，1000 转/分离心 5min。弃上清，加入 3mL 培养液，吹打分散细胞。将细胞吸至培养瓶，镜检，瓶口旋松 1/4 行程后放入 CO_2 培养箱培养（37℃，CO_2 浓度为 5%）。

2) 细胞换液：DMEM 培养液（含 5%胎牛血清）平衡至室温，细胞面向上，轻轻倒掉培养液，加入 8mLDMEM 培养液，瓶口旋松 1/4 行程后放入培养箱培养。

3) 细胞传代：预热 PBS 至 37℃，0.25%胰酶、DMEM 培养液（含 5%胎牛血清）平衡至室温，细胞面向上，轻轻倒掉培养液。PBS 液洗 2 次加入 500μL0.25%胰酶消化酶 30S，加入 2mL5%胎牛血清 DMEM 培养液，吹打吸出细胞悬液加入 15mL 离心管中，1000 转/分离心 5min 弃上清，加入 2mL5%胎牛血清 DMEM 培养液，吹打分装至 4 个培养瓶，加入 5mL5%胎牛血清 DMEM 培养液，编号、镜检，瓶口旋松 1/4 行程后放入培养箱培养。传代细胞密度不应低于 5×10^5/mL。

4) 细胞冻存：配制冻存液，预热 PBS 至 37℃，0.25%胰酶平衡至室温，细胞面向上，轻轻倒掉培养液。PBS 液洗 2 次，加入 500μL0.25%胰酶消化酶 30S，加入 2mL5%胎牛血清 DMEM 培养液，吹打吸出细胞悬液加入 15mL 离心管中，1000 转/分离心 5min，弃上清，加入 1mL 冻存液，吹打混匀分装入冻存管，用胶布封闭管口致于有棉花的盒子中包裹。-20°C 降温 2 小时、-80°C 冰箱过夜，转入液氮中冻存。

B. 抗病毒化合物的体外药效研究

本抗病毒药物研发项目主要将不同基因型的临床 HBV 质粒瞬转到 HepG2 TA2-7 细胞中，加入临床药物作用之后通过病毒 DNA 的定量来检测不同基因型，不同基因变异的临床 HBV 质粒对药物的作用情况。其典型工艺流程图如下：

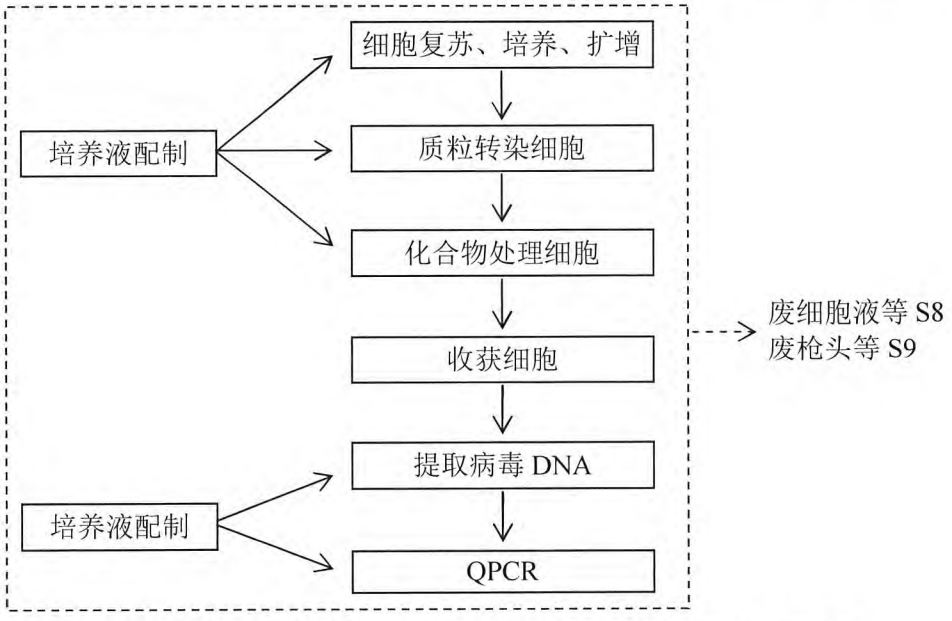

图 13 抗病毒化合物的体外药效分析工艺流程及产污环节

主要工艺流程说明：

1) 细胞复苏、培养、扩增：从液氮罐中取一管 HepG2 TA2-7 冻存细胞于 37℃水浴中快速解冻，加入预先温育于 37℃的细胞培养液中，1000rpm 离心 5 min，弃上清，加入 10 ml 细胞培养液将细胞吹散，取 5 ml 细胞悬液于培养瓶并加入 10 ml 新鲜细胞培养液混匀，置细胞培养箱培养，每隔 3-4 天传一代。

2) 质粒转染细胞：按 3:1 的比例将 5μg 质粒和 15μL 转染试剂加入到 100μl 的 Opti-MEM 中，混匀，室温放置 15min 后加入到预先准备好的 10.5 mL 细胞浓度为 1.5×10^5 /mL 的细胞悬液中，混匀，按 100 μL/孔加入到 96 孔细胞培养板中，置细胞培养箱中培养过夜。

3) 化合物处理细胞：转染第二天，将化合物板从-80℃冰箱取出解冻，2000rpm 离心 1min，加入预先 37℃温育的细胞培养液待用。将转染细胞从培养箱取出，弃上清，对应化合物板 Barcode 将化合物混匀之后加入到转染细胞中，置细胞培养箱培养。

4) 收获细胞：转染第 5 天，将细胞板从培养箱取出，弃上清，用膜封板，冻存于-80℃冰箱。

5) 提取病毒 DNA：

   a. 解冻细胞加入 0.33%NP-40，在 4°C 孵育 5 min，1500rpm 离心 5min。

   b. 用 caliper 工作站移上清到预先分了 Turbo DNase 的 96 孔 V 形板中，混匀后用膜封板，37°C 孵育 60min。再置 75°C 烘箱中孵育 15 min，将 Turbo DNase 灭活。

   c. 3000rpm 离心 5min，用 caliper 工作站移上清到预先分了 DNaseI 的 96 孔 V 形板中，混匀后用膜封板，37°C 孵育 30 min。再置 75°C 烘箱中孵育 15 min，将 DNaseI 灭活。

   d. 3000rpm 离心 5min，用 caliper 工作站移上清到预先分了 QuickExtract DNA Extraction solution 1.0 的 96 孔板 PCR 中，混匀后用膜封板。

   e. 在 PCR 仪中 65°C 孵育 6 min，再 98°C 孵育 2min，将样品存于-80°C 冰箱。

6) QPCR（实时定量基因扩增荧光检测系统）：配制 PCR 反应液，分装到 PCR 板中，然后分别加入样品或质粒标准品。混匀后封膜，2000rpm 离心 1min，

将板置于 QPCR 仪中运行，对 HBV 病毒 DNA 进行定量测定。

C. 乙肝病毒的培养、扩增和浓缩

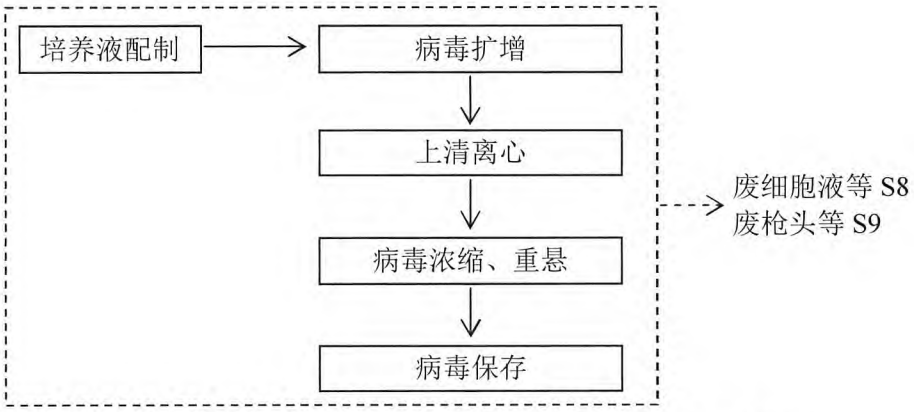

图 14 病毒的培养扩增和浓缩工艺流程及产污环节

主要工艺流程说明：

1) 病毒扩增：培养 HepG2.2.15 细胞系，并诱导表达产生乙肝病毒。
2) 上清离心：收集细胞培养的上清，加入 6% PEG8000，4°C 下 8000rpm 离心 1h。
3) 病毒浓缩、重悬：离心后倒掉上清，沉淀用含有 12.5%的胎牛血清的 PBS 重悬。
4) 病毒保存：病毒重悬液分装后放置于-80°C 保存。

D. 化合物刺激实验

本项目主要利用 Smart Tube System 自动完成人全血细胞的化合物刺激实验，然后离心收集化合物刺激后的上清进行相关后续实验。其典型工艺流程图如下：

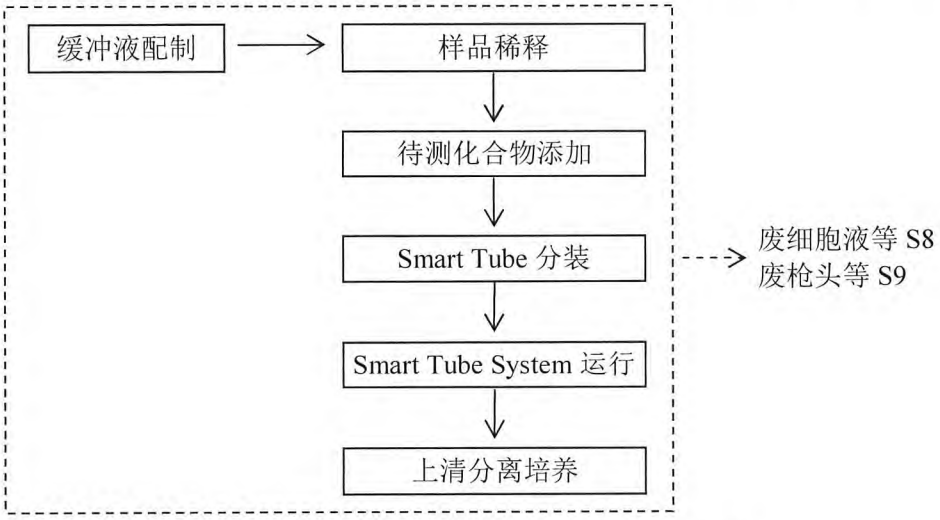

图 15 化合物刺激分析工艺流程及产污环节

主要工艺流程说明：

1) 样品稀释：将 1mL 的全血样本按照 1:5 的比例，在 15mL 离心管中用磷酸盐缓冲液稀释。

2) 待测化合物添加：按照实验要求加入待测化合物，轻轻涡旋混匀。

3) Smart Tube 分装：将全血和化合物的混合溶液分装在 Smart Tube 中，37℃水浴孵育 1 小时。

4) Smart Tube System 运行：将含有血液和化合物混合液的 Smart Tube 放在在仪器中 37℃孵育 24 小时。

5) 上清分离培养：将 Smart Tube 离心取上清，将上清分装在 96 孔 V 底培养板中，保存在-80℃以待后续检测。

E. 外周血单核细胞提取

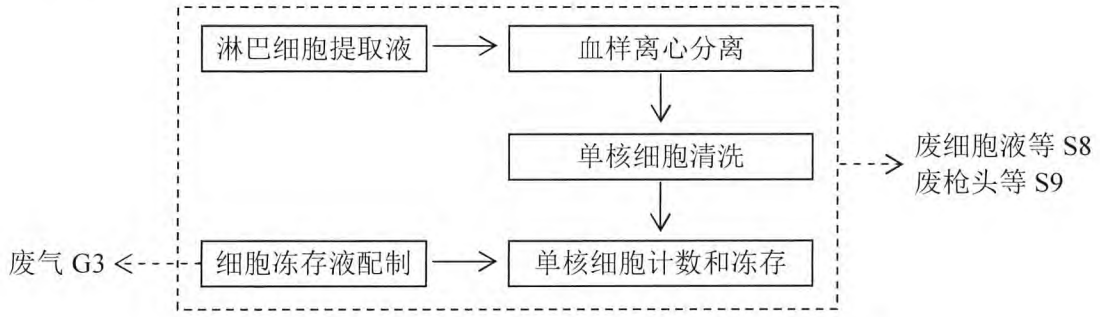

图 16 外周血单核细胞提取工艺流程及产污环节

主要工艺流程说明：

1) 血样的离心分离：将淋巴分离液加入无菌离心管中，缓慢加入两倍体积的血样进行离心分离，收集单核细胞所在的白色细胞层于新的离心管中。

2) 单核细胞的清洗：将磷酸缓冲液加入装有单核细胞的离心管中进行离心分离，保留沉淀物，丢弃上清，此步骤重复三次。

3) 单核细胞计数和冻存：将提取出的单核细胞用培养基重悬，并且用细胞计数仪进行计数，冻存在细胞冻存液中。

F. 循环肿瘤细胞研究

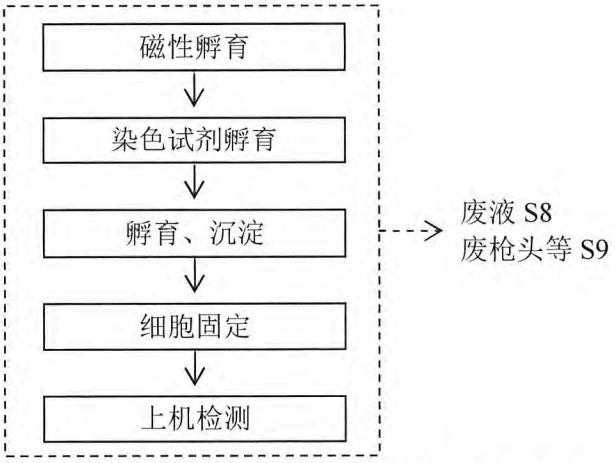

图 17 循环肿瘤细胞研究工艺流程及产污环节

主要工艺流程说明：

1) 磁性孵育：加入缓冲液、纳米磁颗粒试剂和捕获增强试剂，在血浆抽吸之后实施磁性孵育。

2) 染色试剂孵育：继续进行磁性孵育后抽吸，加入缓冲液，进行磁场吸引，并加入染色试剂，染色试剂孵育。

3) 孵育、沉淀：磁场吸引，并加入缓冲液，通过孵育，使细胞沉降。

4) 细胞固定：通过抽吸去除游离的纳米磁颗粒，加入细胞固定剂，将最终样本转移至 MagNest 仪器。

5) 上机检测：打开仪器，加载 CellTracks® AutoPrep®应用程序，仪器进行自动检测。仪器运行过程中会消耗漂白溶液和仪器缓冲液，并排出试剂废液（S8）。

(3) PDMS 实验室工艺流程

A. 生物原料药研究

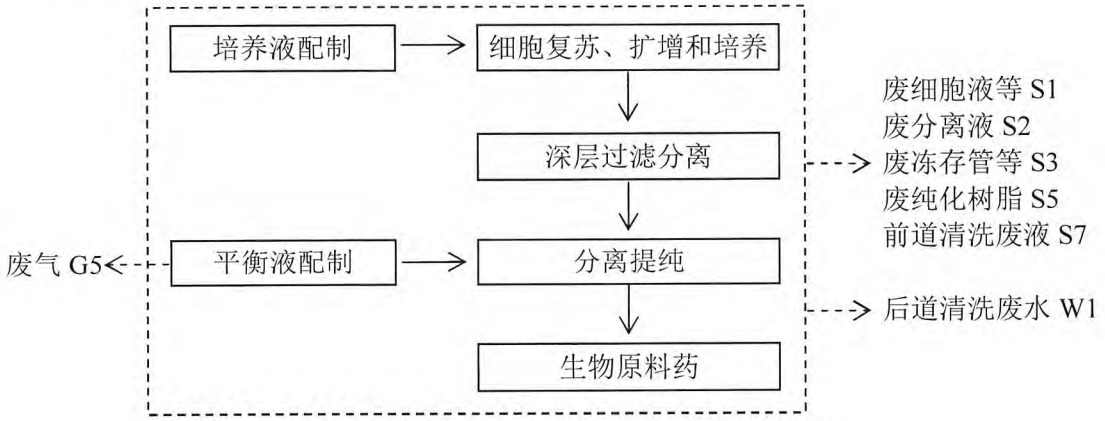

图 18 生物原料药研究工艺流程及产污环节

主要工艺流程说明：

1) 细胞复苏、扩增和培养：取 CHO 细胞冻存管在 37℃水浴中快速解冻（于生物安全柜内），接入基础培养基摇瓶培养 3~4 天。在一定温度条件使种子液逐步扩增。扩增 2~3 次后，按照一定的细胞密度将种子液分别接入含培养基的 7L 的生物反应器中。培养 13~15 天后，细胞活性在 20%~50%之间，终止培养。

2) 深层过滤分离：将细胞培养液经过一次性深层过滤膜进行分离，收集上清液作纯化制备原液。

3) 分离提纯：通过亲和层析、低 pH 孵育、离子交换层析后制得组分液。过滤组分液并收集滤液，制得生物药原液。通过超滤浓缩最后制得浓缩液。

本实验细胞培养过程产生的废细胞胞体和细胞液（S1）、废冻存管、摇瓶、一次性反应袋、滤膜以及层析产生废液（S2）和废纯化树脂（S5），收集作为危废处置。

B. 生物制剂研究

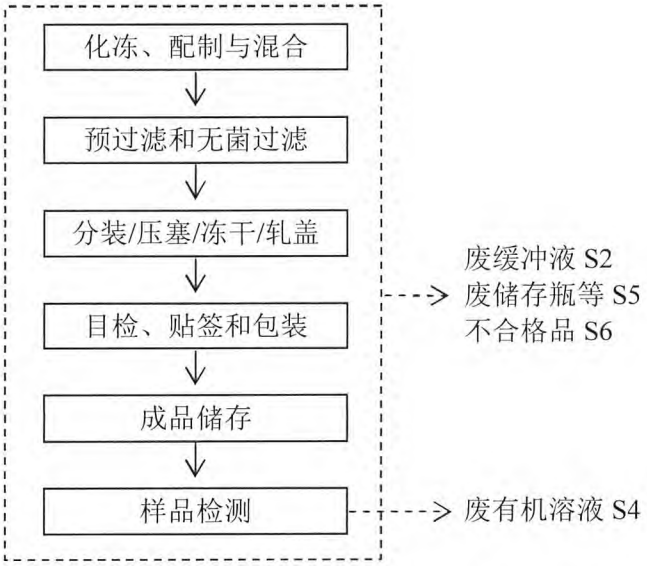

图 19 生物制剂研究工艺流程及产污环节

主要工艺流程说明：

1) 化冻、配制与混合：取冻存的生物原料药原液置于室温下化冻。待化冻结束后，根据需要添加适当的辅料进行配制，进行充分混合。

2) 预过滤和无菌过滤：混合好的原液会在生物安全柜中进行预过滤和无菌过滤。

3) 分装/压塞/冻干/轧盖：在生物安全柜中，用分液器或灌装蠕动泵将滤后原液分装至最终制剂小瓶，并半压塞或全压塞，如需冻干的则将半压塞的西林瓶转移至冻干机内进行冻干；然后将全压塞的西林瓶进行轧盖。

4) 目检、贴签和包装：将轧好盖的西林瓶进行目检、贴签和包装。

5) 成品储存：将包装好的生物制剂成品置于2~8℃进行储存。

6) 样品检测：制剂成品会抽样进行检测。

C. 生物大分子分析检测

1) 样品前处理（可选）：将待测样品与特定试剂混合，在特定条件下（如加热）使之反应。部分前处理操作可能需要在生物安全柜或通风橱中进行。

2) 样品检测：将处理后的样品放入仪器中检测，检测过程可能需要使用流动相、载气等介质。若使用流动相或载气，产生的废液收集于废液桶中，废气通过实验室的排风系统排放。

(4) 化学实验室工艺流程

化学实验室的研发流程和工艺主要涉及化学试剂的合成反应及反应产物的提纯和分析。其典型工艺流程图如下：

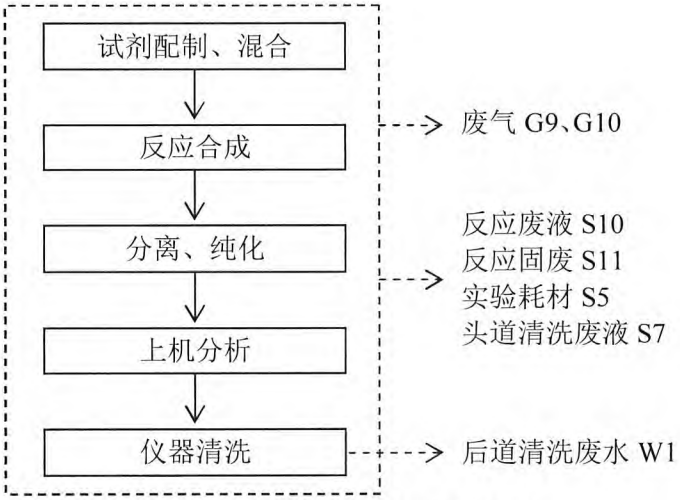

图 20 化学实验室典型工艺流程及产污环节

主要工艺流程说明：

1) 试剂配制、混合：根据研发配方在通风橱内配制反应所需试剂，将配制完成的试剂加入反应瓶中，加入溶剂。

2) 反应合成：反应过程在化学通风柜内进行，在适当的反应温度下（室温~140℃）反应数小时（部分反应要过夜）。反应完成后，把瓶中的固体收集，

然后处理过滤后的液体，加入低沸点的溶剂进行稀释，用盐水把有机层冲洗3次。

3) 分离、纯化：收集用过的盐水，把分离的有机液层倒进另一个平底瓶，加入固体干燥剂摇匀，数分钟后，把液体过滤。将那些低温的有机溶液加入圆底瓶内，连接到低压蒸发器，把溶液抽干和收集。然后将剩余物溶解在小量的有机溶剂中，注射到高压分离器，用混合有机溶剂不断的注入分离器，把所要的反应产物冲洗出，在这个过程中，有大量的废有机溶剂产生。完成后，某部分的混合溶剂混有所要的反应产物，把这部分溶剂抽干，剩下的便是分离物。如果要再次提纯，可用 HPLC 把刚收集得来的反应产物处理。

4) 上机分析：然后利用 LCMS 和 NMR 对生成物的纯度和结构进行分析。符合要求的产物将用于生物实验室的化合物筛选。

5) 仪器清洗：实验结束后，对实验器材进行整理，清洗使用过的工具和仪器。

(5) 其他相关工艺流程

化合物管理实验室 1：主要用于分装化合物。其典型工艺流程：用挑管机挑取存贮于-40℃的化合物，放置于液体工作站进行化合物的分装；将分装完成的化合物暂存于氮气柜。

化合物管理实验室 2：主要用于存贮，称量以及溶解化合物。其典型工艺流程：取存贮于-40℃的化合物于天平台进行称量；称量完毕后，用 Tecanevo 液体工作站进行化合物的溶解。溶解完成后用样品管加盖器对样品管进行加盖，随后将样品管放入-40℃冰箱进行存贮。

暗室主要进行荧光物质的实验操作，液氮罐和超低温冰箱主要用来储存生物样品，氮气、二氧化碳、氧气气瓶室主要向细胞培养箱或相关仪器供应气体。

高压灭菌锅一方面用于对无菌器具及一次性耗材使用前灭菌，另一方面用于沾污类器皿和废液的灭活并收集，灭火条件一般为 120℃、15min。

二、 环境保护设施概况

1. 废水治理

本项目的头道清洗废水收集到实验室内的废液收集桶内，作为危险废物处置。实验室后道清洗废水和纯水制备废水经实验室内的废水管道收集后排入位于大楼西侧的实验室废水处理池（利用原艾伯维医药贸易（上海）有限公司的污水

处理设施进行改造），废水处理设施外设有标志牌。废水处理池设计处理能力为1.5m^3/h，可以满足本项目实验室废水的处理要求，废水经投加次氯酸钠消毒处理后，满足《生物制药行业污染物排放标准》（DB 31/373-2010）中生物医药研发机构间接排放限值。员工的生活污水满足《污水排入城镇下水道水质标准》（DB 31/445-2009）标准，排入大楼的生活污水管道。实验室后道清洗废水、纯水制备废水实验室废水与生活污水一同排入金科路市政污水管网，最终送至白龙港污水处理厂进一步集中处理。排水许可证见附件1。

2. 废气治理

本项目配备各种型号的化学通风柜（通风橱），有机试剂配制统一在化学通风柜内进行，包括乙醇、甲醇、乙腈、异丙醇、福尔马林（含约40%甲醛）、二氯甲烷等有机溶剂和37%盐酸，这些试剂在配制和使用过程中有少量的挥发，经通风橱收集后通过风机引至屋顶排气筒经活性炭吸附后排放。

本项目各个实验室内设置数量不等的移动式集气罩，操作产生的少量废气以及仪器使用过程中产生的废气经集气罩收集后，通过引风机引至屋顶排气筒经活性炭吸附后排放。

本项目实验室内配备了生物安全柜，实验过程中无菌操作等均在生物安全柜中进行，细胞扩增过程可能产生的少量气溶胶废气，通过生物安全柜内部设置的HEPA高效空气过滤器进行截留处理，过滤处理后通过生物安全柜设备排气口排放于实验室内部。

本项目实验室设置了贮存易燃易爆品的化学防爆柜，少量排气通过排风系统引至屋面排气筒经活性炭吸附后排放。

本项目的所有化学合成反应均在化学通风柜中进行，有机废气通过引风机引至屋顶排气筒经活性炭吸附后排放。

备用柴油发电机使用的柴油符合《普通柴油》（GB 252-2015）标准，硫含量低于350mg/kg（2017年6月30日以前）。备用发电机房的废气通过风机引到北楼7层南侧的30m高排气筒排放。

本项目的实验室废气经集气罩或化学通风柜收集后引至屋面，经活性炭纤维吸附处理后通过35m高排气筒排放。本项目共设置了11根废气污染物排气筒，均根据相关要求预留了采样口和采样平台。

本项目产生的 HCl、甲醇、甲醛、甲苯与 NMHC 经处理后排放均满足《生物制药行业污染物排放标准》（DB 31/373-2010）中生物医药研发机构新建污染源排放限值；乙腈、二甲基亚砜、异丙醇、甲酸、乙酸乙酯、二氯甲烷、三氯甲烷、丙酮、烟尘、NO_X、SO_2 排放均满足《大气污染物综合排放标准》（DB 31/933-2015）的排放限值。

3. 噪声治理

本项目优先选用低噪设备，通过合理布局，经多层建筑隔声后，建筑外昼间噪声值小于 60dB(A)；室外的排风机、热泵机组、冷热水机组位于建筑屋顶，采取了减振、隔声措施，经距离衰减后，昼间屋顶噪声源对厂界噪声贡献值低于 60dB(A)，夜间排风机对厂界噪声贡献值低于 50dB(A)。本项目排放的厂界噪声能够满足《工业企业厂界环境噪声排放标准》（GB12348-2008）2 类区的标准要求。

4. 固废治理措施

本项目普通生物实验、PDMS 实验室产生带有细胞的实验耗材、废液以及生物安全柜更换的废高效空气过滤器均采用消毒液或高压灭菌锅灭活后分类收集，装入制定的密闭容器。二级生物安全（BSL-2）实验室内产生的所有废物在 BSL-2 实验室内经过消毒液或高压灭菌锅高温灭活后，装入指定的密闭容器。以上危险废物经预处理后和其他危险废物分类收集后装入指定的容器，暂时存放在实验室的危废储存间。本项目危废储存间设有相关标识，地面进行防渗处理，设置了二次容器，符合 GB18596-2001 中对危废现场暂存场所的要求。员工产生的生活垃圾实行分类袋装处理，由当地环卫部门负责清运。本项目的危险废物定期委托上海市固体废物处置中心进行处理，并按要求进行危险废物管理（转移）计划备案。危险废物处置协议见附件 2，危险废物管理（转移）计划备案见附件 3。本项目产生的各类固体废物处置去向明确，处置率 100%，不会对周围的环境造成污染。

5. 环境风险防治措施

本项目已委托上海交通大学编制《杨森（中国）研发中心实验室突发环境事件应急预案》，于 2016 年 12 月 13 日在上海市浦东新区环境保护和市容卫生管理局进行备案，备案登记表见附件 4。

根据应急预案要求，已经建立了应急救援队伍，配备了医疗急救箱、应急喷

淋装置、应急洗眼器、干粉灭火器、二氧化碳灭火器、防护手套、防化处理袋、吸附棉片、吸附棉条等应急救援物资，同时配备氧气和二氧化碳自动泄漏报警装置等应急物资。

同时，实验室制定了安全操作规章制度，加强了实验室研究人员和工作人员的安全意识教育，将通过定期培训和宣传，加强自我防范措施以及危险品泄漏的应急措施和正确的处置方法。同时，定期巡视检查，建立系统规范的评估、审批、作业、监护、救援、应急响应程序和事故报告等管理制度。

6. 环境管理、环境监测措施

根据实验室管理和内部控制需要，对管理部门职责划分、业务流程与工作程序、管理制度、工作标准以及内部控制手册实施细则等进行了修订与完善，形成了实验室的管理制度构架，包括环保方面的管理职责划分，环保监督管理流程等环保管理程序。

本项目实验室内设置氧气浓度报警器、二氧化碳浓度报警器、可燃气体报警器，对废水的 pH、COD、余氯等指标进行监测。

本项目将定期委托有资质的单位对废气、废水、噪声进行监测，监测频次初步设定为 1 次/年，委托废气、废水处理设施供应商定期对设备进行定期保养和维护，保障处理设施的有效性。

强生（中国）投资有限公司

2016 年 12 月 21 日

附件 1 污水排放许可证

附件 2 危险废物处置协议

附件 3 危险废物管理（转移）计划备案

附件 4 突发环境事件应急预案备案登记表