

三、讨 论

1. 按照上述的方法,利用磁盘甚至于磁带,很容易的把已知常用的序列保存起来,形成一个基因库,随时可以调用。

2. 用 BASIC 语言编写程序易掌握,也易于调试,而且又有较强的字符串处理能力,这对

核酸序列分析尤为合适。但它占内存大,运行速度慢。当需要循环多次的运行时,就更显得突出。因此,以少数目标程序加于辅助是需要的。

总之,用小系统微型机试上述的方式作为研究核酸的工具效果良好。

【本文于 1982 年 10 月 29 日收到】

日立 835—50 型氨基酸自动分析仪 节约茚三酮试剂的一个有效方法

袁 铸 人

(江苏省农业科学院综合实验室)

在氨基酸自动分析时常使用的茚三酮显色剂价格昂贵(每 500g 约 1300 元),消耗量多。我们认为在离子交换层析柱分析完毕一个样品后,当进行再生和平衡时,没有必要再继续供应茚三酮。为此,我们对日立 835—50 型氨基酸自动分析仪分析蛋白质水解液的标准程序(见

表 1)作了改变,即在操作工序第 9 步之后加入一条停泵 2 的指令(表 1 中虚线所示),这样,当样品分析到第 48 分钟时,泵 2 停止,亦即茚三酮试剂停止输送,柱的再生和平衡继续由泵 1 来完成。停泵 2 的指令应在样品最后一个组份完全出来后方可执行,以免影响该组份的定量。一般蛋白质水解液样品最后分离出来的是精氨酸,出峰时间约在第 46 分钟,所以我们设置的每个样品分析的终止时间为 48—50 分钟,停泵 2 的时间也定在 48 分钟。

表 1 去氨柱标准程序

操作工序	存储数码	工作数码	时间数码
1	1	1	0
2	2	11	0
3	3	53	0
4	1	2	1
5	4	1	1
6	1	3	8
7	1	4	19
8	1	6	40
9	1	2	46
10	2	10	48
11	1	1	50
12	4	2	65
13	6	2	72

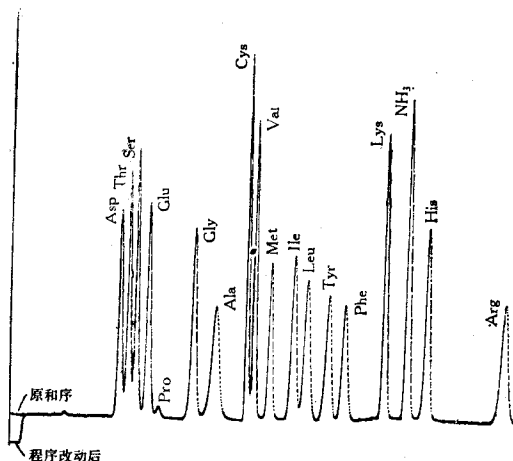


图 1

(下转第32页)

是,由于这种技术从提出到现在还仅十年左右,各个研究者测得的 BAEP 还很不一致。因此,对它们用计算机作进一步处理,使得所得到的结果和指标稳定、可靠成为国际上近五年来才开始研究的课题,发展很快,并正受到人们越来越大的注意。

参 考 文 献

[1] Jewett, D. L. et al.: *Brain*, **94**, 681, 1971.
[2] 胡岗等:《中华耳鼻喉科杂志》, **16**, 196, 1981。
[3] Borg. E.: *Scand. Audiol. Suppl.*, **13**, 11, 1981.
[4] Boston, J. R. et al.: *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, **48**, 361, 1980.
[5] Doyle, D. J. et al.: *Scand. Audiol.*, **10**, 81, 1981.
[6] Osterhammel, P.: *Scand. Audiol., Suppl.*, **13**, 69, 1981.
[7] Doyle, D. J. et al.: *Electroencephalography and clinical Neurophysiology*, **51**, 446, 1981.
[8] Doyle, D. J. et al.: *Scand. Audiol.*, **10**, 261,

1981.
[9] Lang, A. H. et al.: *Scand. Audiol., Suppl.*, **13**, 65, 1981.
[10] Kevanishishvili Z. et al.: *Scand. Audiol.*, **8**, 51, 1979.
[11] Elbering, C.: *Scand. Audiol.*, **8**, 57, 1979.
[12] Boston, J. R.: *IEEE Trans. BME*, **BME-28**, 334, 1981.
[13] Suzuki, T. et al.: *Scand. Audiol.*, **11**, 25, 1982.
[14] Ungan, P. et al.: *2nd National Meeting of EEG-EMG and Clinical Neurophysiology*, Bursa, Turkey, May, 13—19, 1978.
[15] Gabriel, S. et al.: *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, **49**, 421, 1980.
[16] Elberlin, C.: *Scand. Audiol.*, **8**, 57, 1979.
[17] Wong, P. H. K. et al.: *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, **50**, 25, 1980.
[18] E. Başar: *EEG-Brain Dynamics-Relation between EEG and Brain Evoked Potentials*. Elsevier, 1980.

[本文于 1982 年 11 月 30 日收到]

(上接第 80 页)

表 2 17 种氨基酸混合标准样品测定结果

氨基酸		天冬	苏	丝	谷	脯	甘	丙	胱	缬	蛋	异亮	亮	酪	苯丙	赖	NH ₃	组	精
CV% (n = 12)	S ₁	0.32	0.44	0.50	1.10	0.61	0.29	0.53	0.37	0.32	0.59	0.54	0.53	0.74	0.93	0.55	0.81	0.26	0.57
	t _{R1}	0.19	0.13	0.12	0.15	0.21	0.17	0.25	0.09	0.08	0.08	0.09	0.10	0.10	0.10	0.10	0.09	0.10	0.10
相对误差	S ₂	0.33	0.91	0.17	0.51	0.75	0.05	0.82	1.00	0.53	0.82	0.28	0.51	0.66	0.15	0.67	0.88	0.17	0.41
	t _{R2}	0.29	0.27	0.34	0.23	0.14	0.00	0.31	0.27	0.18	0.16	0.19	0.14	0.20	0.09	0.20	0.19	0.15	0.17

- (1) S 为峰面积; t_R 为保留时间
(2) S₁、t_{R1} 是改变程序后 12 次重复测定值的变异系数
S₂、t_{R2} 是原标准程序测定值与 12 次重复测定平均值的相对误差

(3) $CV\% = \frac{\sqrt{\frac{\sum(\bar{X} - X_n)^2}{n-1}}}{\bar{X}} \times 100\%$

采用改变后的程序分析样品,只要将泵 2 的欠压保护指针(即压力下限保护)调节到 0kg/cm² 以下即可,其他无须作任何改动即可正常工作。我们用此程序对 17 种氨基酸混合标样重复 12 次测定,随后又用标准程序对上述同一样品作了分析测定,结果见表 2。
按仪器说明书规定 CV% 值:峰面积在 2.5% 以下,保留时间不超过 1%。分析结果远

小于规定值,说明采用新程序后,仪器本身的系统误差很小,不影响测试精密度。从表 2 的结果来看,也说明两个不同的程序对同一样品测定结果差异不大。
图 1 是两个不同程序分别记录的曲线,其中,虚线部分是去氨柱标准程序,实线部分是改变后的程序,它们之间的差别只表现在图谱的
(下转第 48 页)

离子和钙离子到外部透析液中也不能阻止酶活力的丧失。

讨 论

1. 通常氧化酶是很不稳定的,而邻苯二酚-2,3-双加氧酶则尤其突出,不论粗酶还是纯酶制品都是容易失活的。但是,如将含有该诱导酶的菌体在冰冻状态贮存三个月则仍保存一定的酶活力。这表明邻苯二酚-2,3-双加氧酶在离开菌体后,欲阻止空气对其酶活力的破坏是很困难的。鉴于这种情况,加之一般羟化酶和开环酶是共居于同一细胞体中^[15],并且邻苯二酚是很多芳香环化合物降解的中间产物,因此,如想将此酶在降解环境污染物中应用,采用固定化细胞的方法可能较为经济有效。

2. 在纯化生物大分子物质的过程中要提高蛋白质(包括酶)的得率,应尽可能避免在有机溶剂如丙酮、乙醇等中长期存放。因为大多数蛋白质遇到这些溶剂都很不稳定,特别是在室温下极易变性失活。但是,我们在提纯此酶时,为了防止空气对酶的破坏,除三次用大量丙酮分级处理外,在纯化的后两步都加入了10%丙酮,虽然这样可使提纯得以进行,(在纯化酶中加入10%丙酮保护剂冰冻贮存45天活力尚存一半,在同样情况下未加丙酮者,贮存仅7天而活力丧失约99%),可是最终得率较低。相反,在另外一次提纯时始终未用丙酮溶剂,结果酶含量是高的,可惜酶活力难于保持。看来得率高低也许和有机溶剂的使用有关。另外在丙酮存在的情况下,用紫外280nm测定蛋白质含量时,必须将丙酮透析除尽,否则干扰严重。

3. 我们的试验结果和文献[13]报道都表明,有低浓度有机溶剂如乙醇、丙酮和丁醇等存

在时邻苯二酚-2,3-双加氧酶不易失活或对其有保护作用。这一特性对于用此酶制品进行生化方法处理工业污水是有益的。因为不少化工厂的污水中常含有低浓度的这类物质,它们不仅不会抑制或杀死酶活力,反而会使酶活力不致很快丧失。笔者曾用武汉石油化工厂废水作为此酶的透析液,其结果与蒸馏水透析液相比,前者酶活力丧失缓慢。废水中溶解氧较少,也即BOD较高,可能是阻止酶活迅速丧失的原因之一。

本文承简浩然教授、方慈祺副研究员审阅,紫外扫描由武汉大学生物系周云珍同志测定,特此致谢。

参 考 文 献

- [1] Ralph Mitchell, Introduction to Environmental Microbiology, 153, 1974.
- [2] Anthony, F. Gaudy, Jr & Elizabeth T. Gaudy, Microbiology For Environmental Scientists & Engineers, 431, 1980.
- [3] Halina, Y. Neugahr: "Ferment. Technol. Today", 321, 1972.
- [4] Daviol T. Gibson: Science, 161, 1093, 1968.
- [5] Carol F. Feist & G. D. Hegeman, J. Bacteriol., 100, 869, 1969.
- [6] Evans, W. C. J. Gen. Microbiol., 32, 177, 1961.
- [7] Hirashi Taniuchi et al.: Biochem. Biophys. Res. Commun., 8, 97, 1962.
- [8] Yutaka Kogima et al.: J. Biol. Chem., 236, 2223, 1961.
- [9] 方慈祺、王银善,《海洋湖沼环境污染学术讨论会论文摘要汇编》,科学出版社,1981。
- [10] Mitsuhiro Nozaki et al.: Biochem. Biophys. Res. Commun., 11, 65, 1963.
- [11] 简浩然、黄福音,微生物学通讯,1, 106, 1959。
- [12] Baruch J. Davis, Ann. N. Y. Acad. Sci., 121, 404, 1964.
- [13] Miesuhiro Nozaki et al.: J. Biol. Chem., 243, 2682, 1968.
- [14] W. 费迪南德著、王志美等译,“酶分子”,科学出版社,44, 1980。
- [15] Halina Y. Neujahr & Janas M Uarga. Eur. J. Biochem., 13, 37, 1970.

[本文于1983年1月15日收到]

(上接第32页)

开始部分基线稍有弯曲,时间持续约3分钟后,基线即趋稳定,虚实二线全部重叠。而在分析开始后的最初几分钟(一般为9分钟,视第一个有效出峰时间而定)是安置的切割时间(即该时间内无需要组份出现,仪器不作检测),因此,该

段基线的弯曲对分析无影响,对样品的12次重复分析结果检查证明了这一点。

采用新的程序后,茚三酮试剂可节省三分之一,即原来可分析100个样品的茚三酮试剂,现可分析150个样品,可以收到明显的经济效益。

[本文于1983年2月8日收到]