

# 新型固定化乳酸脱氢酶研究

张 晓

王厚行

(重庆医学检验试剂研究所) (第三军医大学野战外科研究所, 重庆)

据现有文献资料,在我国临床分析化学领域内,所应用的固定化酶仅见过氧化氢酶、葡萄糖氧化酶、脲酶等很少几种。我们选用国产酶试剂和化学试剂,采取两种较温和的固定化方法,即白蛋白-戊二醛交联法和聚氯乙烯(PVC)包埋法,固定化乳酸脱氢酶(LDH)。前法在玻片上交联,取酶膜做试验;后法在玻棒上包埋,用酶棒做试验。两份相同的天然酶量经这两法固定后,用 MacQueen<sup>[1]</sup> 改良法测酶活力发现: PVC 包埋法所保存的酶活力较白蛋白-戊二醛交联法所保存的酶活力高 30—40%。同时,把天然酶绝对量相同的 PVC 酶棒和原酶液进行比较,结果: 经 PVC 包埋法固定后的酶活力仍保持天然酶活力的 65%。

因而,我们选用 PVC 固定化 LDH 做稳定性和重复试验。同一根酶棒连续 20 次测定,其中每次酶棒保温完毕取出后,冲洗数次,再插入一支试验试管,间隔时间 2 分钟。所得结果  $\bar{x}=0.168, SD=0.0162$ , 第一次与最后一次吸光度值分别为 0.168 和 0.159。在稳定性试验中,我们把酶棒分为三组: 分别于冰箱干燥保存,室温(20℃)保存和冰箱缓冲液保存,每日上午取出测定一次,连续一周。结果冰箱干燥组保存酶活力不变;室温保存组仍维持原制酶活力 50% 以上;而冰箱缓冲液组则下降至 50% 以下。Toftgard<sup>[2]</sup> 曾

报道聚丙烯酰胺凝胶包埋 LDH 酶膜稳定期为 6 天,而本法稳定的最长时间仍在观察之中。另外,我们用改良 MacQueen 法测乳酸标准液,得出线性范围在 0—4.5mmol/L 内。若选用更高活性 LDH,可望获得更宽的线性范围。

用 PVC 固定化 LDH,未见国内、外报道。这种固定化 LDH 可以代替天然 LDH 用于丙酮酸或乳酸的测定;也可用于谷丙、谷草转氨酶的测定。鉴于我室已报道 PVC 固定化脲酶作酶电极测尿素<sup>[3]</sup>,这次 LDH 固定化成功,再次证明: PVC 作为临床分析用固定化酶载体,具有制作方法简便、易学,酶活力高而稳定,材料易得、价廉等优点。无论是酶电极、酶管、酶膜、酶棒等均可立即迅速制备。目前,我室已进行用 PVC 制备系列固定化酶的研究工作。

## 参 考 文 献

- [1] MacQueen J. et al.: *Am. J. Med. Tech.*, 1979, 45(1), 34.
- [2] Toftgard R. et al.: *Anal. Chim. Acta*, 1978, 99, 383.
- [3] 王厚行等:《生物化学与生物物理进展》,1988,15(3), 204.

[本文于 1988 年 5 月 16 日收到]

## 二、影响显色稳定因素

1.  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  作用: 在硫酸介质中加入 0.04mol/L 硫酸钠,可增加络合物的稳定性,其络合物的吸收峰未见变化。

2. 温度: 分别以 5℃、25℃、37℃ 保温 10—30 分钟观察对显色影响。反应控制在 25℃、5 分钟后比色,15 分钟内完成为宜。

## 三、方法学评价

重复试验: 同份血清重复测定,批内误差 0.93% ( $n=20$ ),批间误差 4% ( $n=15$ )

回收试验: 于无机磷含量(mmol/L)为 0.9、1.0、1.5、2.0 四份血清中,每份分别加入 0.3、0.6mmol/L 磷,测定回收率范围为 95—105%,平均为 99%。

比较试验: 25 份血清以本法与磷钼酸法同时测定,回归方程  $\hat{y}=0.9181x+0.3004$ ,  $r=0.9905$ ,呈高度相关。故本法正常参考值与磷钼酸法相同为

1.0—1.5mmol/L。

本法操作简单,不需除蛋白,也无须还原步骤,可直接测定血清中无机磷,不受血清中其它元素干扰,且单一试剂显色大大减少了操作中可能出现的误差,提高了方法的灵敏度。须注意,本法测定时应避免使用脂血、溶血标本。不同厂家、批号的聚乙烯醇对结果有影响。

本文承蒙本校高级讲师张必正帮助,谨致谢!

## 参 考 文 献

- [1] 袁孝良等:《理化检验化学分册》,1987,23(5), 263.
- [2] Maria. A. et al: *Clin. Chem.*, 1983, 29(2), 372.
- [3] 王怀公等:《分析化学》,1985,13(6), 430.

[本文于 1988 年 6 月 4 日收到]