

超速离心分离血清脂蛋白简易法

孙雅贤 魏丽君 曹 军

王庭桂

(河北省医学科学院实验医学研究所 石家庄) (白求恩国际和平医院实验科 石家庄)

本方法介绍在没有 Abbe 折光仪调血清密度情况下,根据 $d = \frac{m}{V}$ 公式 (d = 密度, m = 质量, V = 体积)摸索出用称量法以溴化钾调血清密度,即在试管里加一定体积血清,然后由少至多逐步加 KBr, 每加完一次搅匀,用微量加样器吸一定体积经 KBr 调过密度的血清于称量杯中,在万分之一天平上称量,直到算出 $d = 1.30$, 以此时加的 KBr 总量换算出需超速离心的血清应加 KBr 量。调好密度的血清加到 12.5ml 离心管底部,每管 3ml, 上层铺加生理盐水 ($d = 1.006$, 内含 0.05% EDTA), 用 SCP 85H 固定角头, 68000 转/分 4℃ 离心 5 小时即可分离出脂蛋白, 效果良好。

离心结束后可见离心管中液体明显分为七层; 乳白色上层液是乳糜微粒及极低密度脂蛋白 (VLDL), 第三层及第五层血清为低密度脂蛋白 (LDL) 与高密度脂蛋白 (HDL), 最低层为脱脂混杂血清, 第二、四、六、层为透明生理盐水。

用免疫电泳^[1], 免疫双扩散^[2], 及聚丙烯酰胺凝胶电泳^[3]对所分离的 LDL, HDL 等进行了纯度鉴定,

表明脂蛋白分离效果甚佳, 与 Lindgren^[4] 等报道结果一致。本方法超速时间短, 操作简单, 为设备不很齐全的单位研究脂蛋白的结构、功能、代谢及探讨动脉粥样硬化发病机理提供了简便易行的方法。

鉴定所用兔抗人全血清及兔抗人 LDL 血清为自制^[5], 兔抗人 HDL 载脂蛋白 A 血清由中日友好医院提供。

参 考 文 献

- [1] Grabar, P.: *Methods of Biochemical Analysis*, Glick (ed), Interscience Publisher Inc., N. Y. 1959, 1.
- [2] 北京医学院微生物教研组: 《免疫化学》, 下册, 1979.
- [3] Davis, B. J.: *Annals N. Y. Acad. Sci.*, 1964, 121, 404.
- [4] Shen, M. S. et al.: *Circulation*, 1978, 58 (suppl), 2, 142.
- [5] 孙雅贤等: 《生物化学与生物物理进展》, 1988, 15(1), 59.

[本文于 1988 年 5 月 4 日收到]

(上接第 395 页)

质含量太低, 不能形成单一的区带。遂将凝胶条分切、洗脱后复作 PDGF 活性测定(图 2), 可见与活性区带相应的蛋白质分子量约为 30000 道尔顿, 与文献报道值一致^[5,6]。另外, 如将样品在电泳前的预处理中加入还原剂巯基乙醇, 将蛋白质中的二硫键打开, 则电泳条上相应区域中的 PDGF 活性即消失。这也与 PDGF 分子对还原剂敏感的生化特性相吻合。从耐热性, 分子量大小和对还原剂敏感这三个参数可以得出结论, 样品虽未能达到电泳纯的目标, 但确为猪 PDGF。

本实验以较少和较简单的提取步骤, 对猪 PDGF 达到了较高的纯化效果。国内对生长因子的研究工作起步较晚, 提取出足够纯度的各种生长因子, 则是工作的第一步。探索出适合

于国内条件的提纯工艺, 将会推动我们对生长因子的生物学作用进行深入的研究。

参 考 文 献

- [1] Ross, R. et al.: *Cell*, 1986, 46, 155.
- [2] Antoniadis, H. N. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1975, 72, 2635.
- [3] Heldin, C-H. et al.: *Biochem. J.*, 1981, 193, 907.
- [4] Raines, E. W. et al.: *J. Biol. Chem.*, 1982, 257, 5154.
- [5] Poggi, A. et al.: *Exp. Cell Res.*, 1984, 150, 463.
- [6] Stroobant, P. et al.: *EMBO. J.*, 1984, 3, 2963.
- [7] Gospodarowicz, D. et al.: *J. Biol. Chem.*, 1978, 253, 3736.
- [8] Laemmli, U. K.: *Nature*, 1970, 227, 680.
- [9] Antoniadis, H. N.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1981, 78, 7314.
- [10] Van Den Eunden van Raau, A. J. M. et al.: *Anal. Biochem.*, 1987, 163, 263.

[本文于 1988 年 7 月 26 日收到]