

2.2.4 GOD/AQ/pt/GC 电极测定的回收率 对已知浓度的葡萄糖进行测定,以标准曲线法对实验值和标准值进行比较.表2表明,5次测定的回收率在97.3%—106%之间,平均回收率为100.7%.

表2 回收率测定¹⁾

<i>n</i>	1	2	3	4	5
实际浓度/(mmol/L)	2.50	5.00	7.50	10.00	12.25
测定浓度/(mmol/L)	2.65	5.05	7.30	9.80	12.65
回收率/(%)	106.0	101.0	97.3	98.0	101.2
平均回收率/(%)	100.7				

1) 18℃, pH6.95, $E=+0.7V$, 空气饱和

2.3 结论

成功地制备了对葡萄糖具有高选择性的以过氧化氢电极为基底的葡萄糖传感器.该传感器具有稳定性好,线性宽、抗干扰能力强的特点,是一种性能优良的电化学传感器.

感谢董绍俊教授和田敏同志对本工作的大力支持.

参 考 文 献

- 1 Sternberg R, Bindra D S, Wilson G S *et al.* Covalent enzyme coupling membranes for glucose sensor development. *Anal Chem*, 1988; **60**:2781
- 2 Sasso S V, Pierce R J, Walla R *et al.* Electropolymerized 1,2-diamobenzene as means to prevent interferences and

fouling and to stabilize immobilized enzyme in electrochemical biosensors. *Anal Chem*, 1990; **62**:1111

- 3 Capella P, Ghasemzadch B, Mitchell K *et al.* Nafion coated carbon fiber electrodes for neurochemical studies in brain tissue. *Electroanalysis*, 1990; **2**:175
- 4 Kristensen E W, Kuhr W G, Wightman R M *et al.* Temporal characterization of perfluorinated ion exchange coated microvoltammetric electrodes for *in vivo* use. *Anal Chem*, 1987; **59**:1752
- 5 Harrison D J, Turner R F B, Baltes H P *et al.* Characterization of prefluorosulfonic acid polymer coted enzyme electrodes and miniaturized integrated potentiostat for glucose analysis in whole blood. *Anal Chem*, 1988; **60**:2002
- 6 Gunasingham H, Tan C B. Platinum-dispersed nafion film modified glassy carbon as an electrocatalytic surface for an amperometric glucose enzyme electrode. *Analyst*, 1989; **114**:695
- 7 Wang J, Wu L H, Lu Z L *et al.* One-step fabrication of glucose sensors based on entrapment of glucose oxidase within poly (estersulfonic acid) cation-exchanger. *Anal Chim Acta*, 1991; **245**:139
- 8 Gorton L, Karan H I, Hale P D *et al.* A glucose electrode based on carbon paste chemical modified with a poly (estersulfonic acid) cation-exchanger. *Anal Chim Acta*, 1990; **228**:23
- 9 冯连玉,车广礼,章咏华等. 钴卟啉修饰碳纤维微葡萄糖传感器的研究. *分析化学*, 1991; **19**:650

红细胞膜骨架蛋白的制备及其形态学观察

方 芳 潘华珍

(中国医学科学院基础医学研究所, 北京 100005)

潘 延

(中国医学科学院药物研究所, 北京 100050)

关键词 膜骨架蛋白, 收缩蛋白, 电镜负染技术

红细胞膜骨架主要由收缩蛋白(spectrin α , β), 肌动蛋白(actin), 还有4.1蛋白和锚蛋白(ankyrin)组成^[1]. 收缩蛋白 α 链与 β 链尾尾相联形成二聚体, 二聚体再扭曲成螺旋状的四聚体, 并通过肌动蛋白, 4.1蛋

白形成二维网状结构, 此网状结构通过锚蛋白(2.1)与内在蛋白相联从而起到支撑红细胞形态的骨架作用.

收稿日期: 1992-06-24

修回日期: 1992-09-25

本文介绍一种用电镜负染技术观察红细胞膜骨架蛋白结构的方法。

可作为鉴别病人红细胞膜骨架蛋白是否缺失的一种方法。

1 材料和方法

1.1 试剂

1.1.1 血样 采自协和医院血库献血员；遗传性球形红细胞增多症病人红细胞取自北京市儿童医院经化验确诊的病人。

1.1.2 破膜液 5mmol/L NaPi (pH8.0)，内含0.1mmol/L EDTA Na₂及0.03mmol/L α -甲苯磺酰氟(PMSF)。

1.1.3 骨架蛋白提取液 5mmol/L NaPi (pH7.4) 内含2.5% Triton X-100。

1.1.4 稀释液 0.1mmol/L NaPi (pH7.0)。

1.1.5 染色液 50%乙醇配制的饱和醋酸铀溶液。

1.2 膜骨架蛋白的制备^[2]

新鲜抗凝血用生理盐水洗3次，弃白细胞及血小板，然后用30倍于红细胞体积的4℃预冷破膜液溶胀，12000r/min离心10min，再用破膜液洗2次。沉淀中加入2倍体积4℃预冷的骨架蛋白提取液于0℃保温1h，可以得到完整的骨架蛋白。

1.3 透射电镜样品制备^[3]

上述新鲜制备的膜骨架蛋白(浓度约为1mg/ml)用4℃预冷的稀释液稀释2倍。把此液用细滴管滴在喷碳的铜网上，用滤纸条吸去多余的水分，室温放置10min后，加染色液染色2min，多余染色液用滤纸吸去。把样品放在空气中自然干燥。

2 结 果

用H-800透射电镜观察样品，图1为3万倍下观察的正常人红细胞膜骨架。图中Sp4所指细丝状物为收缩蛋白四聚体，actin 4.1所指中心黑点部分为4.1蛋白、肌动蛋白与收缩蛋白四聚体末端形成的复合物。用同样方法制备的一例遗传性球形红细胞增多症病人红细胞的骨架蛋白(见图2)。从图2中可以清楚地见到收缩蛋白结构发生变化，不能形成四聚体的网状。可见此方法

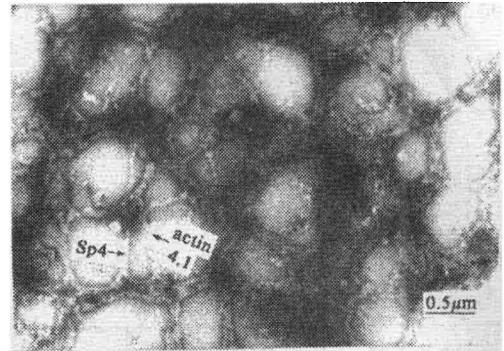


图1 正常人红细胞膜骨架蛋白透射电镜图谱

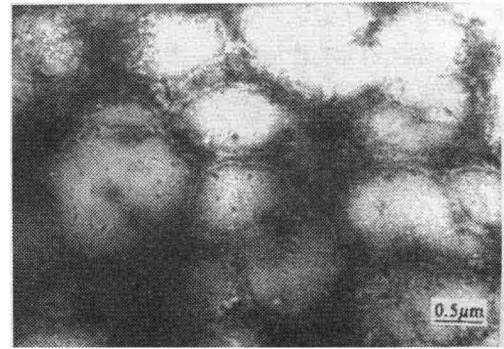


图2 球形红细胞增多症病人骨架蛋白透射电镜图谱

病人骨架松散，Sp4稀少

参 考 文 献

- 1 商福宝. 红细胞膜骨架蛋白的生物化学及病理生理学. 生理科学进展, 1988; 19:39
- 2 Jiri P, Stephen L. Genetics of the red cell membrane skeleton. *Seminars in Hematology*, 1990; 27:290
- 3 Liu S C, Tiri P. Alteration of the erythrocyte membrane skeleton ultrastructure in hereditary spherocytosis, hereditary elliptocytosis, and hereditary pyropoikilocytosis. *Blood*, 1990; 76:198