

α FP。我们的实验证明,当 α FP 浓度大于 9 毫克/毫升,对流法检测即出现假阴性(前带现象),而线电泳法无此弊病,不论抗原含量多少,只要达到可检测浓度(300 毫微克/毫升),均可出现明显的沉淀线。

5. 寻找特异性抗原和抗体 用抗正常组织的抗血清和抗癌组织的抗血清与正常组织和癌组织抽出液作线电泳,见图 8 (见图版 III),在抗癌组织的抗血清和癌组织抽出液之间形成一条沉淀线(如箭头所示),而在与正常组织抽出液的界面处沉淀线急剧下降,与抗原槽呈封闭线。说明正常组织抽出液无此抗原成份。而在抗正常组织的抗血清交界处此沉淀线急剧上升,说明抗正常组织血清中无此抗体。

四、讨 论

1. 线电泳的优越性是可检测混合多价抗

原、抗体中的特异性成分。用参考抗原或抗体作比较,可以检测出相同或相异成分,并能粗略地定量。

2. 线电泳法也有不足之处。当几个组分的抗原抗体浓度比例近似时,因沉淀线条间隔很小(甚至重叠),彼此难以分清。这时可配合免疫电泳,交叉免疫电泳等方法,加以验证。

参 考 文 献

- [1] Axelsen, N. H. et al.: *J. Immunol. Methods*, **1**, 109, 1972.
- [2] Ouchterlony, O. et al.: *Handbook of Exp. Immunol.*, Vol. 1, Chapter 19, 23, 1978, 3rd ed (Weir, D. M.) Blackwell Scientific Publications.

[本文于 1980 年 11 月 18 日收到]

氯间隙法测算细胞内离子浓度

许 焯 钱 绍 祯

(南京药物研究所)

机体离子代谢有障碍时,往往首先表现在细胞内离子浓度的改变,这对于钾、镁离子特别显著。有些药物,如棉酚,在一定条件下仅影响细胞内钾、镁浓度而不明显影响血清中浓度^[1]。因此,在研究离子代谢的问题上,不应忽视细胞内离子的观察。

测算细胞内离子浓度,以氯间隙法比较简便,一般实验室均可进行,而且也相当准确,因氯间隙与菊粉间隙基本一致^[2]。对于用氯间隙法测算骨骼肌细胞内离子浓度,国内未见介绍,国外亦未见系统叙述,仅散见于有关文献[3—10],且计算公式也不够完整。本文系统介绍此法的具体步骤,以及我们在方法上的小改进并补充了必要的计算公式(公式 2、3)。

一、方 法

1. 主要材料 0.050 N 氯化钠标准溶液、

0.025 N 硝酸银、50% 冰醋酸、1.5N 氢氧化钾、35% 硝酸、高硼酸钠,以及 10 ml 离心管(标定 1 ml)、标定吸管、1 ml 滴定管(连电极)、电位差计、电磁搅拌器等。所用试剂中,氯化钠为 GR 级,其余均为 AR 级。

2. 取血及骨骼肌 动物(以大鼠为例)用戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔注射麻醉后打开腹腔,用注射器自腹主动脉取血 5 ml,1 小时内离心得血清。采血后立即将大鼠断头放血至尽,迅速剖取双侧后肢的对应肌肉,如伸趾长肌、比目鱼肌等,分别称湿重后于 105℃ 干燥 48 小时^[3,4]或 60℃ 真空干燥 24 小时^[5],再移至干燥器中冷却后称干重。将两侧对应肌的平均湿重减去干重即得该肌的组织含水量。一侧干肌用来测氯化物,对侧测钾、钠、钙、镁等阳离子。大鼠上述肌肉湿重多在 100mg 左右,以下有关试剂均按此重量要求加用。

准确吸取血清 0.5ml, 同上处理, 得血清含水量及比重。

3. 氯化物测定 用电位滴定法^[6], 原作者介绍硝酸银及标准氯化钠溶液的浓度约为 0.1N, 经试用, 特别是滴定肌肉时, 浓度嫌高。因肌肉含氯量低, 用高浓度硝酸银滴定时, 有时耗量仅几十微升, 终点不易精确决定, 影响数据的可靠性。我们改用 0.025N 后, 精确度及再现性均明显改善。标准氯化钠溶液浓度亦酌减至 0.050 N (50.00mEq/L), 标准溶液应尽可能接近 0.050N。

(1) 校核硝酸银溶液 因硝酸银溶液不甚稳定, 故每批实验前必须用标准氯化钠溶液校核。为简便起见, 可迳以校核所得数据作为下文计算之用, 不必再计算硝酸银的具体浓度。取氯化钠标准溶液 0.1ml, 置 10ml 烧杯中, 加 50% 冰醋酸 5 ml 后用 0.025 N 硝酸银滴定。记录所消耗的硝酸银 ml 数 (V_w)。

(2) 血清氯化物测定^[6] 取血清 0.1ml, 置于 10ml 烧杯中, 加 50% 冰醋酸 5 ml 后用硝酸银滴定, 记录所消耗的硝酸银量。按下式计算血清氯浓度。

$$Cl_s = Cl_w \times V_s / V_w \quad (1)$$

式中, Cl_s 为血清氯浓度, Cl_w 为氯化钠标准溶液浓度, 单位均为 mEq/l, V_s 为血清所消耗硝酸银 ml 数。

(3) 肌肉氯化物测定^[9]: 将干燥肌肉置于 10ml (标定 1ml) 刻度离心管中, 加 1.5N 氢氧化钾 0.5ml, 于沸水浴中消化 1 小时。冷却后加高硼酸钠少许, 室温放置 30 分钟, 略振摇至有气泡逸出, 以除去 -SH 等干扰物。然后, 沿管壁加 35% 硝酸 0.1ml 及去离子水至 1 ml 刻度处, 再加去离子水 0.2ml, 使总液量为 1.2ml。剧烈振摇后离心, 取上清液 1 ml 置 10ml 烧杯中, 加 50% 冰醋酸 5 ml, 用硝酸银滴定。按下式求组织含氯量。

$$(Cl)_T = 120Cl_w \times V_T / V_w \times Wt \quad (2)$$

$(Cl)_T$ 为肌肉组织含氯量, 单位 mEq/kg 湿组织; V_T 为肌肉所消耗的硝酸银 ml 数, wt 为肌肉湿重, 单位 mg。

公式(2)的经验式为:

$$(Cl)_T = \frac{Cl_w \times V_T}{V_w \times Wt}$$

肌肉经消化后的总体积为 1.2ml, 而我们从取出 1.0 ml 进行分析, 因此结果应乘以 1.2, 故公式成为(括弧中为各数值的单位):

$$(Cl)_T = \frac{Cl_w(\text{mEq/l}) \times V_T(\text{ml}) \times 1.2}{V_w(\text{ml}) \times Wt(\text{mg})}$$

为简便起见, 式中 Wt 以实际称量 mg 为单位, 但计算上需用 kg, 故应乘以 1/1,000,000。为了简便, 公式中用了 Cl_w (标准氯化钠溶液的浓度, 单位 mEq/l), 但实际计算中需要氯离子的数值, 因此须乘以氯化钠溶液用量 0.1ml, 即 1/10000, 故公式成为:

$$(Cl)_T = \frac{Cl_w(\text{mEq/l}) \times (1/10000) \times V_T(\text{ml}) \times 1.2}{V_w(\text{ml}) \times Wt(\text{kg}) \times 1/1,000,000}$$

约简后得公式(2):

$$(Cl)_T = \frac{Cl_w \times V_T \times 120}{V_w \times Wt} \cdot \frac{\text{mEq}}{\text{kg}}$$

4. 阳离子测定 钾、钠用火焰光度法或原子吸收光谱法测定, 镁、钙用原子吸收光谱法^[10]测试。血清可直接稀释后测定, 肌肉应消化后再行测试。

二、计 算

1. 单位换算 一般细胞内、外液中离子浓度均以“mEq/kg 水”表示, 而测得的血清离子浓度则以“mEq/l 血清”表示, 因此, 应先按下式进行单位换算:

$$[A]_s = \frac{1000A_s}{SG \times W} \quad (3)$$

式中 A_s 为血清中 A 离子浓度, 单位为 mEq/l 血清; SG 为血清比重, W 为血清含水量, 单位 g/kg 血清; $[A]_s$ 为血清中 A 离子浓度, 单位 mEq/kg 水。

公式(3)的经验式为

$$[A]_s = \frac{A_s(\text{mEq/l})}{SG(\text{g/l}) \times W(\text{g/kg})}$$

习惯上, W 的单位为 g/kg, 必需乘以 1000

使之转化为 kg/kg, 再约简即得公式(3):

$$[A]_s = \frac{1000A_s}{SG \times W} \cdot \frac{\text{mEq}}{\text{kg}}$$

2. 从血清离子浓度推算该离子在骨骼肌细胞外(间隙)液中的浓度 有关离子分布比值如下^[7]:

$$\begin{aligned} [\text{Cl}]_s/[\text{Cl}]_E &= 0.977; \\ [\text{K}]_E/[\text{K}]_s &= 0.943; \\ [\text{Na}]_E/[\text{Na}]_s &= 0.942; \\ [\text{Mg}]_E/[\text{Mg}]_s &= 0.752; \\ [\text{Ca}]_E/[\text{Ca}]_s &= 0.510 \end{aligned}$$

式中, $[\]_E$ 为细胞外液离子浓度, $[\]_s$ 为血清离子浓度, 单位均为 mEq/kg 水。

3. 计算骨骼肌细胞内、外间隙^[8] 由于氯基本上为细胞外离子, 因此, 可以从组织含氯量求得细胞外间隙容积, 并从而算出细胞内间隙容积。

$$\begin{aligned} (\text{H}_2\text{O})_E &= 1000(\text{Cl})_T/[\text{Cl}]_E \\ (\text{H}_2\text{O})_C &= (\text{H}_2\text{O})_T - (\text{H}_2\text{O})_E \end{aligned}$$

式中, $(\text{H}_2\text{O})_C$ 、 $(\text{H}_2\text{O})_E$ 、 $(\text{H}_2\text{O})_T$ 分别代表细胞内、外间隙(水)及组织含水量, 单位均为 g/kg 湿组织。 $(\text{H}_2\text{O})_T$ 为测得值。

4. 计算细胞内离子(以 K^+ 为例)浓度^[7]:

$$\begin{aligned} (\text{K})_E &= [\text{K}]_E \times (\text{H}_2\text{O})_E/1000 \\ (\text{K})_C &= (\text{K})_T - (\text{K})_E \\ [\text{K}]_C &= 1000(\text{K})_C/(\text{H}_2\text{O})_C \end{aligned}$$

式中, $(\text{K})_C$ 、 $(\text{K})_E$ 、 $(\text{K})_T$ 分别代表细胞内、外及组织含 K^+ 量, 单位均为 mEq/kg 湿组织,

$[\text{K}]_C$ 为细胞内 K^+ 浓度, 单位 mEq/kg 水, 其中 $(\text{K})_T$ 为测得值。

第二至四节所列的全部公式可合并如下:

$$(\text{H}_2\text{O})_E = 977(\text{Cl})_T/[\text{Cl}]_s \quad (4)$$

$$(\text{H}_2\text{O})_C = (\text{H}_2\text{O})_T - (\text{H}_2\text{O})_E \quad (5)$$

$$[\text{K}]_C = \frac{1000(\text{K})_T - 0.943[\text{K}]_s \times (\text{H}_2\text{O})_E}{(\text{H}_2\text{O})_C} \quad (6)$$

实际计算时可直接用公式(1)至(6), 因此, 步骤要简便得多。细胞内钠、钙、镁等离子浓度也可用这些公式计算, 公式(1)至(5)不变, 将公式(6)中有关钾的数据, 包括分布比值(0.943), 均换成被测离子的相应数据即可。

参 考 文 献

- [1] 钱绍祯等:《药学报》, 1979年, 14期, 513页。
- [2] Cotlove, E. et al.: *Am. J. Physiol.*, **176**, 396, 1954.
- [3] Arnold, O. F. et al.: *First International Symposium on Mg Deficit in Human Pathology*, (Ed. Durlach, J.) P. b, Soc. Gen. Miner. Vittel, 1973.
- [4] Bradbury, M. W. B. et al.: *J. Lab. Clin. Med.*, **71**, 884, 1968.
- [5] Valentin, N. et al.: *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, **32**, 155, 1973.
- [6] Sanderson, P. H.: *Biochem. J.*, **52**, 502, 1952.
- [7] Barlow, J. S. et al.: *J. Cell. Comp. Physiol.*, **43**, 165, 1954.
- [8] Grace, N. D. et al.: *J. Nutr.*, **100**, 45, 1970.
- [9] Cotlove, E.: *Biochem. J.*, **82**, 22, 1962.
- [10] Caster, W. O. et al.: *Physiol. Chem. Phys.*, **12**, 205, 1980.
- [11] Paschen, K.: *Deut. Med. Wschr.*, **95**, 2570, 1970.

[本文于1980年12月2日收到]

更 正

本刊1980年第2期《核磁共振及其在分子生物学中的应用》一文中:

页数	误	正
16	$\Delta E = r\hbar H_0$	$\Delta E = r\hbar H_0$
16	$\nu = 4.26 \times 10^{13} H_0 \dots$	$\nu = 4.26 \times 10^{13} H_0 \dots$
16 (1列倒2行)	10^{-3} 数量级	$1-10^{-2}$ 数量级
16 (表1)	10^4 高斯场强时	10^3 高斯场强时
	^1H 天然半度-100(%)	^1H 天然半度100%
17 (1列17行)	运动	进动
19	$\Delta\nu \frac{1}{2}$	$\Delta\nu_{\frac{1}{2}}$