

催化极谱法测定血清、茶叶和人发中的痕量硒

刘训健 屠一锋 程 薇 吴忠祥

(苏州大学化学系 苏州)

本文首次报导了用催化极谱法测定血清、茶叶和人发中的痕量硒。

在 JP-1A 型示波极谱仪上,使用阴极化导数挡,调节扫描电压范围为 $-0.6V$ 到 $-1.1V$,于是在正峰 $-0.85V$ 、负峰 $-0.91V$ 处(VSSCE)产生一灵敏的 Se 的极谱催化峰,可准确用于定

一、工作曲线的绘制

电解液的准备 在一个标准系列中,准确加入一定量的硒标准液 $+0.40ml$ $12NH_4ClO_4$ $+2.0ml$ $1.3M$ Na_2SO_3 溶液,放置反应 20 分钟后,再加入 pH10 的 NH_3-NH_4Cl 缓冲液 $4.0ml$ +

表 1 Se 标准曲线数据

灵敏度 0.6	$C_{Se}(ppb)$	0.020	0.040	0.060	0.080	0.10	相关系数: 0.9914
	峰高(格)	0.00	0.30	1.25	1.80	2.40	
灵敏度 2.5	$C_{Se}(ppb)$	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50	相关系数: 0.9945
	峰高(格)	0.25	0.70	1.50	1.95	2.80	
灵敏度 6.0	$C_{Se}(ppb)$	0.50	1.0	1.5	2.0	2.5	相关系数: 0.9947
	峰高(格)	0.70	1.35	2.50	3.45	双峰	

表 2 样品的测定结果(单位 $\mu g/g$)

样品种类	编号	平行测定次数							$\bar{x}$	$S/\bar{x}$ (%)	备 注
		1	2	3	4	5	6	7			
血 清 ($\mu g/ml$)	1	0.180	0.180	0.190	0.180	0.180	0.180	0.192	0.183	2.9	由朱樱同志提供
	2	0.130	0.126						0.128	2.2	
	3	0.135	0.158	0.146					0.146	7.9	
	4	0.190	0.180	0.170	0.170				0.178	5.4	
	5	0.220	0.220	0.210					0.217	2.7	
	6	0.180	0.204	0.216	0.216				0.204	8.3	
	7	0.206	0.206	0.193					0.202	3.7	
	8	0.244	0.231						0.238	3.9	
茶 叶	1	1.28	1.20	1.23					1.24	3.3	苏州二级茉莉花茶 苏州产一级炒青 不知产地炒青
	2	1.28	1.23	1.20	1.15				1.22	4.5	
	3	1.02	1.02	0.983					1.01	2.1	
人 发	1	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.17		3.03	2.3	由张澄同学提供 (女) 男同学 女同学 男同学 由管呈悦同志提供 (女)
	2	2.00	2.17	2.17					2.11	4.6	
	3	1.83	1.67	1.83	2.00				1.83	7.4	
	4	2.83	2.33	2.33	2.67				2.54	9.9	
	5	2.50	2.50	2.50	2.50				2.50	0.0	

食管癌组织 cDNA 文库的建立

印 螺 丁少宏 肖 蕾 冯 璐 李 玮 王秀琴 吴 昊

(中国医学科学院肿瘤研究所, 北京)

细胞恶化是一个多阶段的过程, 其中涉及多个基因的变化^[1]。而一般的转染 NIH 3T3 细胞的方法只能分离出一个转化基因, 因而有一定的局限性。要阐明癌变的机制, 一个有效的方法就是建立 cDNA 文库, 再从中找出与癌变相关的那些基因。在此我们构建了食管癌组织的全长的 cDNA 文库, 希望通过进一步的分析揭示食管癌细胞在基因表达水平上的特异性, 并分离这些特异的基因。

从未经放疗, 化疗的食管癌手术标本中提取 RNA, 进而分离 mRNA^[2]; 以 mRNA 为模板逆转录成 cDNA^[3], 逆转录效率在 30%, cDNA 长度在 0.1—8kb 之间; 进一步用 RNase H、DNA 多聚酶 I 和 *E. coli* DNA 连接酶的方法合成双链 cDNA^[3], cDNA 第二条链的合成效率近 100%, 几乎与第一条链等长; 用琼脂糖凝胶电泳收集 0.5kb 以上的片段以除去不完整的 cDNA^[4]; 用 EcoRI 甲基化酶将 cDNA 内部的 EcoRI 位点保护后, 在 cDNA 两端接上人

工合成的 EcoRI 接头从而插入 λ gt11 载体中, 用从 BHB 2688 和 2690 菌株中提取的包装蛋白 (包装效率为 8×10^7 pfu/ μ g DNA) 将重组的 λ gt11 DNA 体外包装成完整的噬菌体, 并用以感染 *E. coli* Y1090^[5]; 重组子数目为 10^6 , 建库效率是 5.7×10^6 重组子/ μ g cDNA。由此可见, 我们已获得完整的、全长的食管癌组织 cDNA 文库。我们还将建立正常食管的 cDNA 文库并对二者进行比较。

参 考 文 献

1. Land, H. et al.: Science, 1983, 222, 771.
2. Maniatis, T. et al.: Molecular Cloning, Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 1982, 187—198.
3. 沈珊菲等: «生物化学与生物物理进展», 1986, 6, 62.
4. Danner, D. B. et al.: Anal. Biochem., 1982, 125, 139.
5. Davis, L. G. et al.: Molecular Biology, Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York, 1986, 208—211.

[本文于 1987 年 9 月 14 日收到]

2.0ml 0.23M KIO₃ 溶液, 然后加水定容至 20.00 ml, 即可进行测定。

二、样品的测定

吸取 1ml 血清 (或少于 1ml), 准确称取 0.3000 克已处理过的茶叶和人发样品置消化管中, 加入 3.5ml 混合酸 ($H_2SO_4:HClO_4 = 3:4$)、100 μ l 5% $(NH_4)_2MoO_4$, 在自控电热消化器上 (消化温度为 224℃) 消化至呈亮黄绿色后, 取出冷却, 定容至 25.00ml。

电解液的准备: 吸取一定体积消化液后, 其他步骤同工作曲线的绘制。

从表 2 可以看出, 血清、茶叶、人发三类样品测定的精密度均小于 10%, 完全能满足痕量分析的要求。就准确度而言, 吕荣三等用阴极溶出伏安法曾报道“正常人的血清含硒约 3×10^{-7} g/ml” (应用化学 1(5) 78 1984), 本文正常人血清硒为 0.128—0.238 μ g/ml 之间。用催化极谱法测硒, 有灵敏、准确、快速、简便的特点, 非常适用于生物样品和环境样品中痕量硒的测定, 值得推广。

[本文于 1987 年 7 月 8 日收到]