

Abstract The detection of DNA contents and ds-DNA cross-link in HeLa line, HL-60 line, proliferative and non-proliferative T lymphocytes with EB-fluorescence assay was investigated, and study on the correlation of cell proliferative activity with its ds-DNA cross-link was carried out as well. The results show that the percentages of ds-DNA cross-link in HeLa, HL-60 line, proliferative and non-

proliferative T lymphocytes were 36.5, 22.2, 20.2 and 0 respectively, and that the proliferative activity of cells has a relationship with their ds-DNA cross-link, and nonproliferative or G₀ phase cells do not produce ds-DNA cross-link.

Key words malignant tumor, cell line, DNA cross-link, proliferative activity of cell, EB-fluorescence assay

用钴卟啉修饰电极催化测定多巴胺等神经递质*

钱江红 刘海鹰 邓家祺

(复旦大学化学系, 上海 200433)

摘要 将 5, 10, 15, 20-四-(3-甲氧基-4-羟基苯基) 卟啉钴 (CoTMHPP) 修饰在玻碳电极表面, 制备成对多巴胺等神经递质有高灵敏度响应的 CoTMHPP 修饰电极. 电极具有灵敏度高、响应快、稳定性好等特点. 电极响应时间小于 10 s, 儿茶酚类化合物的检测浓度为 10^{-6} mol/L.

关键词 钴卟啉, 修饰电极, 儿茶酚

近年来, 修饰电极作为生物传感器的基础电极及其应用越来越受到重视, 因为它可以提供快速电子转移的表面来催化底物反应^[1,2]. 许多新颖的具有特殊功能的电子传递体不断地被合成和应用^[3~5]. CoTMHPP 是一种新型的钴卟啉, 它对儿茶酚类具有良好的电催化氧化作用. 测定儿茶酚类化合物最主要的方法是高效液相色谱法^[6,7], 也有人曾利用组织电极法进行测定^[8,9], 而采用化学修饰电极法的不多^[10], 在玻碳电极上修饰钴卟啉并系统地研究儿茶酚类神经递质的电催化特性未见报道. 本文首次对 5 种儿茶酚类的电极性质进行了分别试验, 该修饰电极对 L-抗坏血酸也有较好的电催化作用, 但再在此修饰电极的表面上修饰一层 Nafion 膜, 就可以去除抗坏血酸的干扰, 而电极的灵敏度没有受到影响.

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

FDH-3204 型循环伏安仪 (复旦大学科教仪器厂), TYPE 3086 函数记录仪 (日本横河公司).

CoTMHPP 的制备方法参见文献 [11], 多巴胺 (瑞士进口分装)、肾上腺素、去甲肾上腺素、异丙肾上腺素 (上海天丰制药厂), 其余试剂均为分析纯, 实验用水为二次蒸馏水.

1.2 电极制备

将玻碳电极在金相砂纸上打磨, 用氧化铝悬浊液把电极表面抛光成镜面, 然后依次用 1:1 HNO₃、丙酮、二次蒸馏水清洗, 在室温下

* 国家自然科学基金和长春应用化学研究所电分析开放实验室资助课题.

收稿日期: 1995-01-25, 修回日期: 1995-09-11

晾干, 再在玻碳电极表面滴加 $2\ \mu\text{l}$ $0.1\ \text{mol/L}$ CoTMHPP 的二甲基甲酰胺溶液, 自然晾干成膜后使用, 不用时干态放置保存。

1.3 测定方法

采用三电极系统, 即工作电极为修饰电极, 辅助电极为铂丝, 参考电极为饱和甘汞电极 (SCE)。在小烧杯中加入 $0.1\ \text{mol/L}$ pH 8.0 $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4$ 缓冲溶液 5 ml, 插入电极, 搅拌并恒温在 25°C 。固定工作电位在 $+0.20\ \text{V}$ 处, 记录氧化电流随儿茶酚类浓度变化的曲线, 根据 CoTMHPP 氧化电流的增值与加入儿茶酚类的量成正比进行定量分析。

2 结果与讨论

2.1 CoTMHPP 修饰电极的伏安性质

CoTMHPP 修饰电极在磷酸缓冲液中进

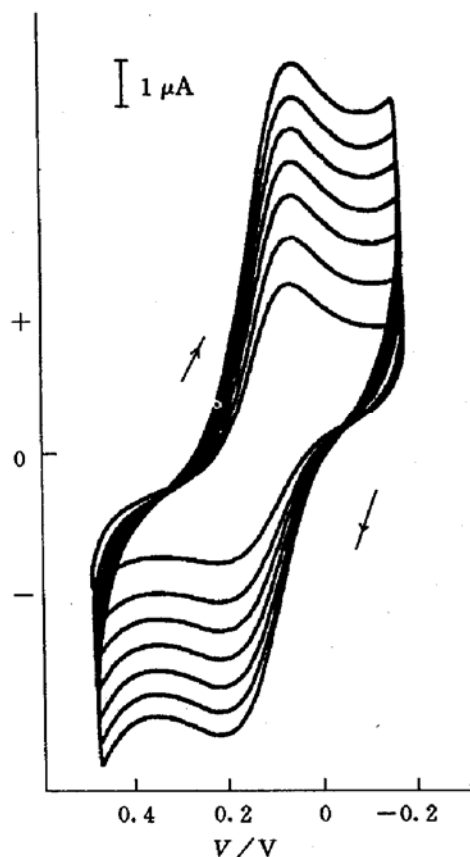


图1 不同扫速下 CoTMHPP 修饰电极的循环伏安图

扫速为: 25、45、65、85、105、125、145 mV/s (由内到外), 底液: pH 8.0 磷酸缓冲液。

行循环伏安扫描时出现 CoTMHPP 的氧化还原峰。如图 1 所示, 随着扫描速率的增加, CoTMHPP 的氧化电流和还原电流均增加, 峰间距基本不变 (峰电位差为 $0.12\ \text{V}$)。该电极反应为单电子准可逆氧化还原过程: $\text{CoTMHPP}^+ + e \longrightarrow \text{CoTMHPP}$, 修饰电极的稳定性好, 重复扫描 50 次, 循环伏安曲线重合。

2.2 修饰电极对儿茶酚类的电催化机理

儿茶酚类在 CoTMHPP 修饰电极上的氧化电位为 $+0.20\ \text{V}$ (vs. SCE), 图 2 是加入儿茶酚类前后修饰电极的循环伏安图 (以多巴胺为例)。当溶液中存在儿茶酚类时, CoTMHPP 的阳极电流增加, 阴极电流下降, 这说明 CoTMHPP 对儿茶酚类具有催化氧化作用。

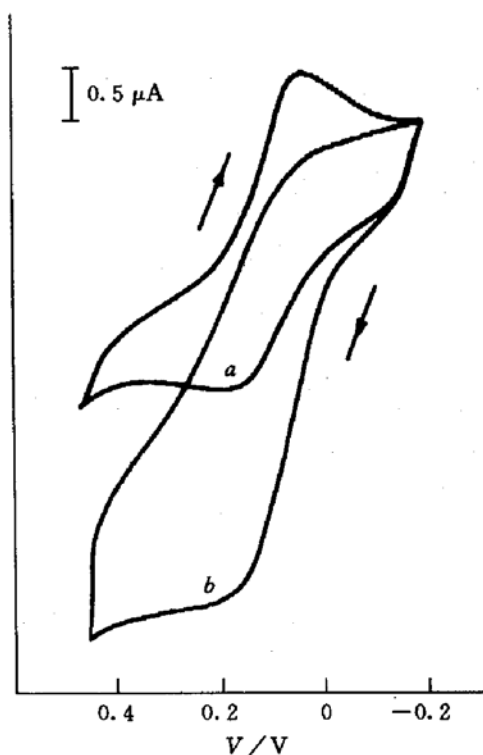
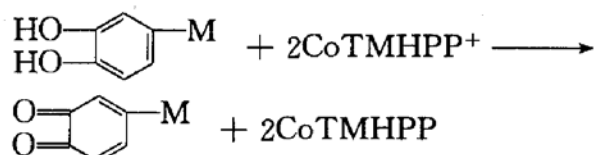


图2 CoTMHPP 修饰电极在加入儿茶酚类前后的循环伏安图

(以多巴胺为例) a: 无多巴胺, b: $0.1\ \text{mmol/L}$ 多巴胺。

CoTMHPP 修饰电极催化氧化儿茶酚类的反应原理:





本文分别考察了 M 为下列物质的儿茶酚类化合物:

H: 邻苯二酚; $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$: 多巴胺; $\text{CHOHCH}_2\text{NHCH}_3$: 肾上腺素; $\text{CHOHCH}_2\text{NH}_2$: 去甲肾上腺素; $\text{CHOHCH}_2\text{NHCH}(\text{CH}_3)_2$: 异丙肾上腺素。

2.3 工作曲线与响应时间

在最佳的实验条件下 (pH 8.0, 25℃), 工作电位在 +0.20 V (vs. SCE), 记录氧化电流随儿茶酚类浓度变化的电流-时间曲线 (图 3,

以多巴胺为例)。表明 CoTMHPP 修饰电极对本文所研究的 5 种儿茶酚类化合物在各自的响应范围内, 均有较好的线性关系, 其响应特性列于表 1。

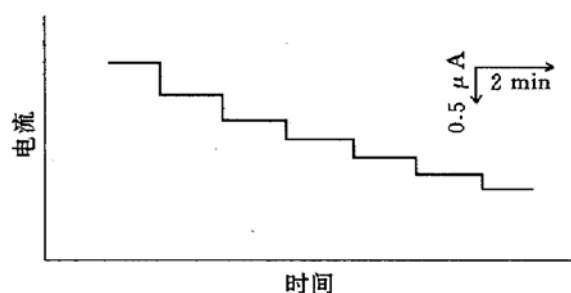


图 3 电流随多巴胺浓度变化的曲线图
多巴胺浓度每次递增 1.0×10^{-5} mol/L。

表 1 5 种儿茶酚类化合物的响应特性

	邻苯二酚	多巴胺	肾上腺素	去甲肾上腺素	异丙肾上腺素
线性范围/mol · L ⁻¹	$5.0 \times 10^{-6} \sim 5.0 \times 10^{-4}$	$5.0 \times 10^{-6} \sim 7.0 \times 10^{-4}$	$5.0 \times 10^{-6} \sim 3.0 \times 10^{-4}$	$3.0 \times 10^{-6} \sim 6.0 \times 10^{-4}$	$5.0 \times 10^{-6} \sim 1.0 \times 10^{-4}$
检测限/mol · L ⁻¹	5.0×10^{-7}	5.0×10^{-7}	4.0×10^{-7}	2.0×10^{-7}	5.0×10^{-7}
斜率/mA · L ⁻¹	3.4×10^2	5.1×10^2	4.5×10^2	2.1×10^2	5.5×10^2

2.4 温度和酸度的影响

CoTMHPP 修饰电极在较宽的 pH 范围内 (pH 4.8~8.5) 对儿茶酚类有良好的电催化氧化作用, 实验表明 pH 对电极的响应有较大的影响, 当 pH 大于 7.3 时, 电极响应变化不大, 催化过程基本不受 pH 变化的影响, 实验选择最佳的 pH 值为 8.0。

研究了 15~45℃ 温度范围内电极的响应, 实验表明电流响应值随温度的增高而逐渐增大, 温度较高时, 响应变化不很明显, 而基体电流增大, 本文选择实验温度为 25℃。

2.5 干扰实验

虽然抗坏血酸在此修饰电极上也有较好的电催化氧化, 但再在此修饰电极表面上修饰阳离子交换树脂的 Nafion 膜, 由于静电排斥作用可以去除抗坏血酸的干扰, 实验表明电极的灵敏度没有明显变化。

2.6 电极的重现性和稳定性

以多巴胺为例, 对 5×10^{-5} mol/L 儿茶酚类溶液重复测定 10 次, 结果为: 2.12、2.13、2.14、2.11、2.12、2.13、2.10、2.12、2.12、2.13 μA, 平均值为 2.12 μA, 其相对误差为 4%, 相对标准偏差为 0.5%。

该电极属于化学修饰电极, 不涉及酶等生物物质, 因此使用寿命比较长, 常温下干态保存, 一个月后其有效活性为原来的 94%。

该电极可以用于临床医学中对儿茶酚胺类神经递质总量的测定, 而对于儿茶酚胺类传递物质的分别定量分析有待于对电极选择性能作进一步探讨。

参 考 文 献

- 1 Pham M C, Dubois J E, Lacaze P C. J Electroanal Chem, 1979; 99: 331
- 2 董绍俊. 化学通报, 1981; 1: 15

- 3 Gorton L, Karan H I, Hale P D *et al.* *Analytica Chimica Acta*, 1990; **228**: 23
- 4 Tse Y, Jand P, Lever A B P. *Anal Chem*, 1994; **66**: 384
- 5 Fraser D M, Zakeeruddin S M, Gratzel M. *J Electroanal Chem*, 1993; **359**: 125
- 6 Tudos A J, Ozinga W J J, Kok W T. *J Chromatogr*, 1991; **547**: 1
- 7 Boomsma F, Alberts G, Vander Hoorn F A J *et al.* *J Chromatogr*, 1992; **574**: 109
- 8 Budantsuv A Y. *Anal Chim Acta*, 1991; **249**: 76
- 9 邓家祺, 方 跃, 蔡蓉晖. *分析化学*, 1991; **19**: 891
- 10 Gao Z Q, Ivaska A. *Anal Chim Acta*, 1993; **284**: 393
- 11 侯秀峰, 吴 祺. *无机化学*, 1990; **6**: 439

Determination of Catechols on the Modified Electrode by Electrocatalytic Oxidation. Qian Jianghong, Liu Haiying, Deng Jiaqi (*Department of Chemistry, Fudan University,*

Shanghai 200433, China).

Abstract The 5, 10, 15, 20-tetrakis (3-methoxy-hydroxyphenyl) porphyrin cobalt is absorbed on the surface of the glassy carbon electrode to make a CoTMHPP modified electrode. The modified electrode has high sensitivity and good electrocatalytic oxidation towards catechols for each range of their responses, and the response time is less than 10 s. The electrode possesses characteristics of high catalytic activity, fast response, good stability and a long lifetime under the optimal operations.

Key words cobaltporphyrin, modified electrode, catechols

一种改进的制备染色质的方法

许怀庆 陈楚楚

(中国科学院生物物理研究所, 北京 100101)

摘要 介绍一种改进的制备染色质的方法, 采用此方法可减少玻璃匀浆步骤, 易于操作、易于重复、产率高, 且可以得到不同大小的染色质片段。

关键词 染色质, 分离, 制备

真核生物细胞核内的染色质是调节控制生物体新陈代谢和遗传变异的物质基础, 要了解染色质在细胞内不同生理周期结构与功能瞬时变化关系, 研究染色质体外相变, 特别是近年来利用无细胞系统诱导核的自组装时, 都需要提取染色质。许多制备方法中, 需经过几次玻璃匀浆步骤, 操作复杂, 不易重复, 且所制备的染色质片段小, 收率低, 在利用无细胞系统诱导核的自组装过程中效果不好。用我们改进的这种方法所制备的染色质, 可以得到不同大小的片段, 易于操作, 重复性好, 产率高。

1 材料与方法

1.1 材料

正常大白鼠, 体重 200 g 左右, 雌雄均可, 处死前最好空腹 12 h 以上, 用击头法将大鼠处死, 迅速取出肝脏, 放入 4℃ 的 0.9% 的 NaCl 中漂洗数次, 并将脂肪、结缔组织剔除, 备用。

1.2 方法

1.2.1 染色质的制备方法: 以下所有操作均

收稿日期: 1995-02-13, 修回日期: 1995-05-03