

们采用 1% BSA 保护不同浓度 Triton 对 ^3H -纳洛酮与阿片受体结合的影响, 结果表明并无特异性的保护作用。

5. 借助 DOC (0.25%) 和 NaCl (0.15 M) 从大鼠脑匀浆溶脱获得有活性的阿片受体结合位点, 能通过 $0.22\mu\text{m}$ (GS) 微孔滤膜; 对 ^3H -纳洛酮有高亲和力; 其特异性结合是可饱和的, 饱和浓度约为 4 nM (图 3)。Scatchard 作图, $K_d = 2.01\text{ nM}$, $r = 0.94$, $B_{\text{max}} = 18.5$ 微微克分子/克蛋白, $y = -0.497x + 9.18$ 。

参 考 文 献

[1] Bidlack, J. M. et al.: *Proc, Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **78**, 636, 1981.
[2] Rüegg, U. T. et al.: *ibid.*, **78**, 4635, 1981.
[3] Simonds, W. F. et al.: *ibid.*, **77**, 4623 1980.
[4] 周德和等:《科学通报》, 1984 年, 第 4 期。
[5] 徐珩等:《中国科学》, 1984 年, 第 8 期, 733。
[6] 周德和等:《生物化学与生物物理进展》, (6), 75, 1983。
[7] Criado, M. et al.: *J. Neurobiology*, **12**, 259, 1981.
[8] Ling Hung-Kuang, et al.: *Nature*, **271** 383, 1978.

[本文于 1983 年 11 月 4 日收到]

用高效液相色谱法测定粗制核黄素中的抗坏血酸

王玉梅 丛培红 刘存英

(中国科学院生物物理研究所, 北京)

R. C. Williams 用高效液相色谱法 (阴离子交换剂^[1]和 C_{18} 反相^[2,3]) 测定抗坏血酸维生素 C。但本文采用阳离子交换柱, 以 pH5 的磷酸盐稀溶液作淋洗液。用紫外检测器检测, 可在 5 分钟内完成分离与测定, 其回收率为 $95 \pm 8.7\%$, 且无杂峰, 因此优于 S. P. Sood 等人的色谱法。

用本法已测定五批粗制核黄素中微量抗坏血酸, 结果与比色法基本一致, 但本法较比色法快速、简便。

仪器 日立 635A 型高效液相色谱仪, 检测器为紫外单波长分光光度计; 0.56 记录仪, 834 型数字处理机; 不锈钢柱内径为 4 毫米, 长为 500 毫米; 填充剂为日立 2618 阳离子交换树脂, 粒度 20 微米, 装柱前树脂预先用盐酸和氢氧化钠处理。填充压力为 150 公斤/厘米²。

样品制备 参照文献[4]并略加修改。取适量样品加偏磷酸于超声波上直接抽提, 代替常用研磨法处

理。滤去残渣, 滤液通过经酸处理过的活性炭^[5], 接取一部分滤液供上机用。全部操作均在避光下进行。所用试剂均为 A, R 级。

结果与讨论 色谱法研究生物材料时, 常用离子交换填充柱, 这是由于磷酸型和季铵盐型离子交换基团较稳定, 选择性好, 渗度大, 容量低, 可用较弱的缓冲淋洗液, 具有装柱方便, 柱寿命长、pH 范围较宽等优点。因此, 我们采用日立 2618 阳离子交换树脂柱, 以 0.005M 磷酸二氢钾溶液 (pH5) 作淋洗液, 用高效液相色谱分离测定粗制核黄素制剂中微量抗坏血酸。结果见图 1。

校正曲线的绘制: 以 0.1 微克/微升的抗坏血酸标准溶液, 吸取不同量进行色谱测定, 然后按峰面积 (积分值) 绘制抗坏血酸浓度校正曲线。当抗坏血酸浓度在 0.9 微克时呈直线关系, 因此测定样品时取样量应使抗坏血酸浓度不超出标准曲线的范围。测定结果见表 1。

表 1 粗制核黄素制剂中抗坏血酸的分析

样品批号含量 ($\mu\text{g/g}$) 实验 次数	1	2	3	4	5
1	182.0	181.4	173.1	185.5	173.1
2	—	173.0	171.2	170.6	175.6
3	187.2	192.8	186.5	187.1	—
平均值	184.6	182.4	176.9	181.2	174.4
标准偏差土	± 3.7	± 9.9	± 8.3	± 9.2	± 1.8
变异系数(%)	2.0	5.5	4.7	5.1	1.0

表2 两种不同方法测定结果的比较

批号	含量	方法	HPLC 测定值		比色法测定值**	
			微克/克	标准偏差	微克/克	标准偏差
1			184.6	±3.7	201.1	±7.6
2			182.4	±10.0	207.7	±10.0
3			176.9	±8.3	207.2	±5.5
4			181.2	±9.2	181.9	±8.9
5			174.4	±1.8	181.1	±4.9

** 本所薛宏基、林雪梅同志测定。

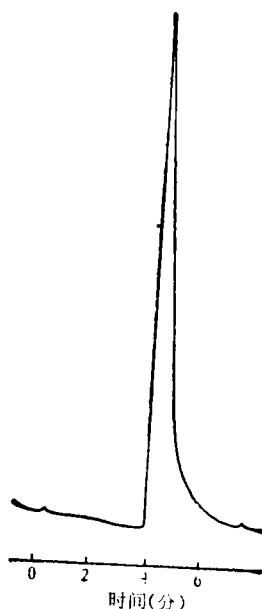


图1 抗坏血酸的分离色谱图

色谱条件: 柱: $\phi 4 \times 500\text{mm}$, #2618,
淋洗液: $0.005\text{M KH}_2\text{PO}_4$ (pH5),
流速: 0.6ml/min , 柱温: 25°C ,
检测器: UV-254nm, 0.04 au/s
纸速: 2.5mm/min .

由表1得知, 五种不同批号的粗制核黄素制剂中抗坏血酸的含量为 $174.4\text{—}184.5$ 微克/克, 说明其中抗坏血酸的含量变动不大。此含量虽低于菠菜 (300 微克/克) 和西红柿 ($200\text{—}300$ 微克/克)^[6,7], 但略高于绿豆 (含量为 144 微克/克) 和蚕豆 ($100\text{—}200$ 微克/克)。

将本法与比色法测得的结果相比较 (见表2)。表明两者所得结果基本一致。但 HPLC 法测得结果略低于比色法, 这和文献[8]报道的相符合。

参 考 文 献

- [1] Williams, R. C. et al.: *J. Chromatogr. Sci.*, **11**, 618, 1973.
- [2] Vandemark, F. L. et al.: *J. Liq. Chromatogr.*, **4** (7), 1157, 1981.
- [3] Sood, S. P. et al.: *Anal. Chem.*, **48** (6), 796, 1978.
- [4] Oshima, R. J. et al.: *J. Food Sci.*, **40**, 672, 1975.
- [5] 上海商检局主编: 《食品化学分析》, 第49页, 上海科技出版社, 1979年。
- [6] V. Garcia Randall, et al.: *J. Food Sci.*, **40**, 894, 1975.
- [7] J. 玛克斯著(郑昌学译): 《维生素手册》, 135, 科学普及出版社, 1981。
- [8] MiKi Noboru: *Shkuchia Kogyo Gakkaishi*, **28** (5), 264, 1981.

[本文于1983年8月23日收到]

计算机检查干扰素基因的限制性内切酶位点

夏 志 清

(中国科学院上海生物化学研究所)

电子计算机已广泛用于核酸的研究中, 1982年 *Nucleic Acid Research* 10 卷1期出了一个专集, 专门报道这方面的应用。干扰素基因一般为 1Kb , 但分为 α , β , γ 三个主要类型, 其基因结构顺序均已了解^[1-3] (图1-3), 但各类干扰素又有很多亚型, 仅 α 型就有

十多种亚型, 它们的基因结构顺序绝大多数均已被测定^[1]。在改造克隆基因质粒 (如含干扰素基因的质粒) 进行高效表达时, 必须了解各种基因的限制性内切酶位点, 为此, 我们使用计算机检查了八种 α , 一种 β , 一种 γ 型的几十种限制性内切酶位点, 列于表1。