

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。

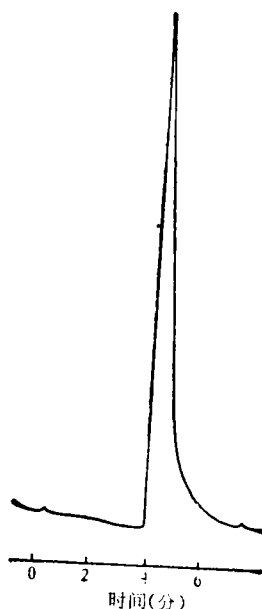


图1 抗坏血酸的分离色谱图

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: *Shkuhin 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。

表 1

		IFN- α										IFN- β	IFN- γ
		A	B	C	D	E	F	G	H				
FcoRI*	AA↓TT	378	211 352 709 859 903 955 972 993 1012	367 728 844 856 934 951	375 647 685 786	580 630 739 864	329 546 694 783 825 924 975	153 483 518 676	236 251 377 736 875 958 975	31 110 138 604 694 705 731 750	95 282 323 468 636 779 827 1150		
	AluI	104 116 402 672 782	6 75 90 376 510 762	90	98 110 300 399	170 286 672	52 353	177 558	100 112 276	61 74 126 207	11 55 142 460 548		
HpaII	C↓CGG										971		
	ThaI			715									
SmaI	↓GATC	132 305 314 574 685	103 279 400 548 802	118 294 563 637	126 302 311 571	15 461 699 712	80 256 525 598 776 700	80 349 585	573	571	5 26 49 892		
	HaeIII	64 88	35 59 140	50 74 155	58	28 52	12 36 117		84	472	867		
RsaI	GT↓AC		437 609			676	853	440	900	481 660	1119		
	TaqI		360					417			453 592		
AclI	CC↓ $\begin{pmatrix} A \\ T \end{pmatrix}$ GG	94 154 181 247 412 546	125 152 218 386 452 520 605	167 233 401 467 535	85 148 175 241 543 667	299 365 433	102 129	187	87 243 411 477 545	331 373 405 495	179 1048		
	HinII	340 450 469 503 659 702	115 314 168 422 443 477 623 712	183 225 329 439 458 492 693 720 872	10 191 337 466 500 656 701	80 227 337 356 390 622	145 187 291 401 420 454 654 686	115 244 278 424 510	49 193 449 468 502 648 701 728	89 286 310 453	697 571		
DdeI	C↓T(N)AG	12 100	7 71 111	86 126	21 94 134	23 344	48 88	17	96	191 520	860 885 265 995 1067		

		41 105 117 350 400	12 324	339	99 111 347 397	197 287 658	351	175	37 101 113 309 349	105 205 208 211 233	546 877
Fnu4HI	GC↓(N)GC										
AvaII	G↓G(^A _T)CC	161 809			81 161 360 630					497	44 181
Sau96I	G↓G(N)CC	87 167 809	58 138	49 153	81 161 360 630	27 50	11 115		83	497	44 181 865
Bgl II	A↓GATCT	314 574			311		700 776			571	
Pvu II	CAC↓CTG	104 402	376 762		98 399	289 672	353	177	100	207	
Pst I	CTGCA↓G									212	
EcoRI	G↓AATTC	209 350			683	578					
HPa I	GTT↓AAC	839									
Hind II	GTP↓PAC		839								
Xba I	T↓CTAGA		343					144			
Bcl I	T↓GATCA		400			699		585			49
Mla I	TT↓CGAA										453
Xho II	P↓GATCP ₂	314 574			311		700 776			571	

表中所列的十种干扰素基因均没有以下限制性内切酶的切点:

Hha I Hind III Hae I Hae II Cla I Sma I Set II Sst I Xor II Xma III Xho I Ava I BamH I Kpn I Sal I Ase I HgiA I Acc I Acl I.

表中数字代表限制性内切酶切口前一个核苷酸在核酸序列中的位置,此位置都是以序列的起点为1计的。

IFN- α (A)

TGAGCCTAAA CCTTAGGCTC ACCCATTTCA ACCAGTCTAG CAGCATCTGC AACATCTACA ATGGCCCTGA CCTTGTCTTT ACTGGTGGCC CTCCGTGGTC
 TCAGCTGCAG GTCAAGCTGC TGTGTGGCT GTGATCTGCC TCAACCCAC AGCTGGGTG GAGGAGGAC CTGTGATCTC CTGGCAGAGA TGAGGAATAT
 CTCTCTTTTC TCTGTCTGA AGGACAGACA TGACTTTGGA TTTCGCCAGG AGGAGTTTGG CAACGAGTTC CAAAGGCTG AAACCATCCC TGTCCTCAT
 GAGATGATCC AGCAGATCTT CAATCTCTTC AGCAGCAGGG ACTCATCTGC TGCTTGGGAT GAGACCTCC TAGACAAATT CTACACTGAA CTCTACCAGC
 AGCTGAATGA CCTGGAGGCC TGTGTGATAC AAGGCTGGGG GGTGACAGAG ACTCCCTGGA TGAAGGAGGA CTCCATTCTG GCTGTGAGGA AATACTTCCA
 AAGCACTACT CTCTATCTGA AAGAGAGGAA AAGCAGCCCT TGTGCTGGGG AGGTTGTGAG AGCAGAAATC ATGAGATCTT TTCTTTTGTG AACCAACTTG
 CACCAAGGTT TAAAGAGTAA GGAATCAAAA CTGTTTCAAC ATGGAATGA TTTTCATTGA TTGATATGCC AGCTCACCCT TTTATGATCT GGCATTTTCA
 AGACTCATGT TTCTGCTATG ACCATGACAC GATTTAAGAG TTTTCAAGTG TTTTATAGGAG TATTAAATCA CATTGTATTC AGCTCTTAAG GCACATGTC
 CTACAGAGG ACCATGCTGA CTGATCCATT ATCTATTAA ATATTTTTAA AATATTATTT ATTTAACTAT TTATAGGACA ACJTATTTTT GTTCATATTA
 GGTATGTGC ACCTTTGCAC AGTGGTAAAT GTATAGAAAT ATGTTCTTTG TATTTGGT

IFN- α (B)

TACTAGCTCA GCAGCATCCG CAACATCTAC AATGGCCTTG ACTTTTATTT TAATGGTGGC CCTAGTGGTG CTCAGCTACA AGTCATTGAG CTCTCTGGG
 TGTGATCTGC CTCAGACTCA CAGCCTGGGT AACAGGAGGG CCTTGATACT CCTGGCAGAA ATGGAGAGAA TCTCTCTCTT CTCTCGCTG AAGGACAGAC
 ATGACTTTGA ATGCCCTCAG AGGAGGTTTG ATGATTAACA GTTCAGAGAG GCTCAAGCCA TCTCTGTCTT CATCAGATG ATCCAGCAGA CTTCAACCT
 CTTCAGCACA AAGGACTCAT CTGCTGCTTT GGTAGAGACC CTTCAGATG AATCTACAT CCAACTTGAC CAGCAGCTGA ATGACCTGGA AGTCTGTGT
 GATCAGAGAG TGGGGTGTAT AGAGTCTGCC CTGATGTAGC AGGACTCATC CCTGGCTGTG AAGAAATCT TCAAGAGAT CACTCTATAT CTGACAGAGA
 AGAATACAGS CTCTTGTGCC TGGGAGGTTG TCAGAGCAGA AATCATGAGA TCTTCTCTTT TATCAATCAA CTGCAAAAAG AGATTGAAGA GTAGGAGATG
 AGACCTGGTA CACACCGGAA ATGATTCTCA TAGACTAATA CAGCAGTCTA CACTTTGACA AGTGTGCTC TTTCAAGAC CCTTGTCTCT GCCAAACCA
 TGCTATGATG TGAATCAAT GTGTCAAGTG TTTTCAAGAG TGTAAAGCAA CATCTGTCT AGCTGTATGG GCACATGCTC CTACAGATG ACCATGCTGA
 TGGATCTATT TCTCTGTCCA TCTTTTGTCT AAATATTCTT TTAATTTAT ACTACTATAG GGACTTAAT TAGTTTTGTT CATATTATAT TTTACATGCT
 GAAATGTGTA ACAAACATCT GTCTTATAT TTAATTTTTT GCAATGTTA TTAATTTTTT ACTATGAAA AATCTTTAT TTATCTTTA AATGTGACT
 CCACCCCATG AATTGTGCAA ACTGATTAAA GAATGGATGG T

IFN- α (C)

CAGGTTATC CATCTCAAGT AGCTAGCAA TATTTGAC ACCECAATGG CCTGTCTCTT TTCTTTACTT ATGGCCGTGC TGGTGTCTAG CTACAATCC
 ATCTGTCTC TGGCTGTGA TGTGCTCAG ACCCAGGCC TGGTAATAG GAGGCTCTG ATACTCTGG GACAAATGG AAGAACTCT CTCTCTCT
 GCTTGAGGA CAGCATGAT TTCCGAATCC CCGAGGAGGA GTTGATGCG AACCACTCC AGAGGCTCA AGCCATCTCT GTCTCCATG AGATGATCA
 GCAGACCTTC AATCTCTTCA GCACAGAGGA CTCTCTCTCT GCTTGGGAGC AGAGCTCTCT AGAAAAATTT TCCACTGAAC TTTACCAGCA ACTGAATGAC
 CTGAAGCAT GTGTGATACA GGAGGTTGGG GTGAGAGAGA CTCCCTGAT GAATGAGGAC TCCATCTCG GTGTGAGGA ATACTTCAA AGAATCACTC
 TTTATCTAAT AGAGAGGAAA TACAGCCCTT GTGCTGGGGA GGTGTGAGA GCAGAAATCA TGAGATCCCT CTCTTTTCA ACACACTTGC AAAAAAGATT
 AAGGAGGAGG GATTGAARAG TGGTTCAACA TGGCAATGAT CTTGATTGAC TAATACATTA TCTACACTT TCATGAGTTC TTCCATTTCA AAGACTCACT
 TCTATACCA GCAGCGCTTG ATCAAAAAT TTCAATGTGT TTCAGCAGTG TAAGAGAGTG TCGTGTATAC CTGTGAGGCG ACTAGTCTCT TACAGATGAC
 CATCTGTATG TCTCTGTCCA TCTTTTGTCT TTAATTTAT TTAATTTAT TTAATTTAT TGAATATCA TGAGTCTCT TACATGTGG TTAATGTAC
 AATATATGTT CTTCATATT AGCCATATA TTAATTTCT TTTTCAATTA ATTTTACTA TAC

IFN- α (D)

CAGGTTTAC ATTCACCAT CTCAGCAGC CCAGAGTAT CTGAATATC TACAGTGGC TGGCCCTTG CTYACTGAT GGTCTGTGTG GTGCTCAGCT
 GCAGTCAAG CTGCTCTCTG GGTGTGATC TCCCTGAGC CCACAGCTG GATAACAGA GACCTTGTAT GCTCTGCA CAATGAGCA GAATCTCTC
 TTCTCTCTCT CTGATGACA GACATGACT TGGATTTC CAGGAGAGT TTGATGCCAA CCACTTCCAG AGGCTCCAG CCATCTCTGT CCTCATGAG
 CTGATCCAG AGATCTTCAA CCTCTTACC ACAAAGATT CATCTGCTG TTGGGATGAG GACCTCTAG ACAATCTG CACCGAATC TACCAGCAGC
 TGATGATCT GGAAGCTGTG GTGATGACAG AGGAGAGGTT GGAAGAACT CCCCATGTA ATGTGACTC CATCTGTCT GTGAGAAAT ACTTCCGAG
 AATCACTCT TATCTGACAG AGAGAAATA CAGCCCTTGT GCTGGGAGG TTGTGAGGC AGAATCATG AGATCCCTCT CTATTCAAC AACTTGCAG
 GAAAGATTAA GAGGAGGGA ATAATATCTG GTCCACATG AAAAAATTC TTATTGACTC ATACACAGG TCAGCTTTC ATGAATCTG TCAATTCAG
 GACTCTCACC CTTCTATAA CTATGACCAT GCTGATTAAC TGATTATCT ATTTAAATAT TTATTTACT ATTCATAGA TTTAATTTAT TTTGTTCAT
 ATACGCTCAT GTGACCTTT ACATGTGGT TAGTGAATA AACATGTTC CTATATTTA CTC

IFN- α (E)

CTGCTCTGG GCTGTGATCT GCTCAGGCC CACAGCTGG GTACAGAGG GGCCTTCTA CTCTGACAC AATGAGGAG AATCTCTCT TTTCTTACC
 TGAGGACAG ACATGACTTT GATTTTCCAT CATCAGGTGT TTGATGGCAA CCACTTCCAG AAGGTTCAAG CTATCTCTCT TTTCATGAG ATGATGAGC
 AGACCTTCAA CCTCTTACC ACAAGGACT CATCTGATAC TTGGGATGAG ACCCTTTTAC ACAAATCTA CACTGACTT TACCAGCAGC TGATGAGCT
 GGAAGCTGT GTGATGAGA AGGTTGAGT GGAAGAGACT CCCCAGGA ATGTGACTC CATCTGTCT GTGAGAAAT ACTTCCAG AATCACTCT
 TATCTGACAA AGAAGAGTA TAGCCTTGT TCCTGGGAGG CTGTGAGGC AGAATCATG AGATCTCTCT CTATTGAC GAACTTGCAG GAAAGATTAA
 GGAAGAGGA ATGAACCTG GTTCAACATG GAATGAGAA ACATTTCCAT GATTAAATCA TCACTCTACA CATTATGAA TTTCTCCATT TCTCATTTT
 GCTATATCCA TCAATGAGT TGAATCAAGA TTTTAAAGT TTTTCAAGAG CACTATGTTT CACTGATGTT CACTGATGTT CACTGATGTT CACTGATGTT
 ATCATGCTGA TGGATCTGTT TATCTATTG TCTAAATAT TATTTACTA TTTATATAT TTAATATCT CTCTTCTGT ATCATGATTT TTTACTTTGT
 GGTAAATATA ACACACATG TCTTTATAT TTAGTCAATA TATTACTTGG CTTTTTCTA TAAATTTTA CTATGG

IFN- α (F)

ACATCCCAAT GGCCTTCTC TTTCTTTAC TGATGCCCT GCTGCTCTC AGCTACAAAT CCATCTGTC TCTGGCTGT GATCTGCTC AGCCCCACAG
 CCTGGTAAAT AGGAGGCCCT TGATCTCTCT GGCACAAAT GGAGGATCT CTCTTTCTC CTGCTGAG GACAGAGATG ACTTTGGATT CCCCACAGAG
 GAGTTTGATG GCACCCAGTT CCAGAGGCT CAAGCCATCT CTGCTCTCCA TGAGATGATC CAGCAGACCT TCAATCTCTT CAGCACAAG GACTCATCTG
 CTACTTGGGA ACAGAGCTC CTAGAAAAT TTTCCACTGA ACTTAACDAG CAGCTGAATG ACATGGAGC CTGCGTATA CAGGAGGTG GGGTGGAGCA
 GACTCCCTG ATGAATGTGG ACTCCATCTT GGTGTGAGG AATACCTTCC AAGAGATCAC TCTTTATCTG ACAGAGAGCA AATACAGCCC TTGTCTTGG
 GAGGTGTGCA GAGCAGAAAT CATGACATCC TTCTCTTTAT CAAAATTTT TCAAGAGAGA TTAGGAGGGA AGGATGAAA CCGTTTCAC ATGGAATGCA
 TCTGTATTGA CTAAACACC AGTCCACACT TCTATGACTT CTGCCATTTC AAGAGCTCAT TTCTCTATA ACCACCAGAT GAGTTGAATC AAAATTTTCA
 GATCTTTTCA GGAGGTGAGG GAACATCAT GTTTACCTGT GCAGGCACCTA CTCCTTTACA GATGACCATG CTGATAGATC TAATTATCTA TCTATTGAAA
 TATTATTATA TTTATTAGAT TTAATATTAT TTTGTCCATG TAATATTATG TGTACTTTTA CATTGTGTTA TATCAAAATA TGTATATCTA ATATTATGTC
 AATATATTAT TTTCTTTTA TTAATTTTA CTATTAAAC TTCTATATT ATTTGGTTAT TCTTTAATA AGAATTTCCA AGCCC

IFN- α (G)

CATGACTTG GATTCTCTCA GGAGGAGTT GATGCCACC AGTCCAGAA GGCTCAAGCC ATCTCTGTC TCCATGAGAT GATCCAGAG ACCTTCAATC
 TCTTCAGAC AAGGACTCA TCTGCTACTT GGGATGAGC ACTCTAGAC AATTTCTACA CTGACTTTA CAGCAGCTG AATGACCTGG AGCCCTGTAT
 GATCCAGAG GTTGAGTGG AAGACACTCC TCTGATGAT GTGACTCTA TCTGACTGT GAGAAATAC TTTCAAGAA TCACCTCTA TGTACAGAG
 AAGAAATACA GGCCTTGTG ATGGAGGTT GTGAGGAGG AATCATGAG ATCTTCTCT TTATCAGCA ACTTGCAGA AAGATTAGG AGGAGGAAT
 GAAACTGCT TCAACATCGA AATGATTCTC ATTGACTAGT ACACACTTTC ACACTTCTTG AGTTCTGCGG TTTCAATAT TAATTCTGC TATATCCATG
 ACTTGAGTG AATCAAAAT TTAACAGTT TCACAGGTG TAAGCACAC TTCTTATGCT CCACAGGAG AAAATCTTTA CAGATGATCA TGCCATCTA
 TCTATTCTAT CTATTATCT ATCTGTCTGT CTCTATCTA ATCTATTAA ATATTATTT ATTTATAGA TTAATTTAT TTAACCTTA TGTGTCTCA
 GGTATATTA CATCCACTT ACTTTGTCG TAATATAATA AATATGTT TTTATGTTT GTC

IFN- α (H)

CCAGGTTCA GTGTACCCC TCATCAACCA GCCCAGCAG ATCTTCGGGA TTCCCAATGG CATTGCCCTT TGCTTTATG ATGCCCTGG TGGTCTCAG
 CTCAAGTCA AGCTGCTCTC TGGGCTGTAA TCTGTCTCAA ACCCAGGCC TGAAATACAG GAGGACTTTG ATGCTCATGG CACAATGAG GAGAATCTCT
 CCTTTCTCT GCTTGAGGA CAGACATCTC TTTGAATTTT CCGAGGAGCA ATTTGATGGC AACCACTTCC AGAAGCTCA AGCCATCTCT GTCTCCATG
 AGATGATGCA CAGACACTTC AATCTCTTCA GCACPAAGAA CTCTCTGCT GCTTGGAGT AGACCTCTCT AGAATATTC TACATTGAAC TTTTCCACA
 AATGAATGAC CTGAGAGCCT GTGTGATACA GGAGGTTGGG GTGCAAGAGA CTCCCTGAT GAATGAGGAC TCCATCTGG CTGTGAGAA ATCTTCTCA
 AGAATCACTC TTTATCTGAT GGAGAGAAA TACAGCCCTT GTCCCTGGGA GGTGTGAGA GCAGAAATCA TGAGATCTT CTCTTTTCA ACACACTTGC
 AAAAGAGAT AAGGAGGAG GATTGAAAC TGGTTCACTA TGAATATGAT TCTCATGAC TAATACATCA TCTCACACT TCATGTTCTT CCATTTCAA
 GACTCACTC TATACACACC ACAGTTGAA TCAAAATTC CAATGTTT CAGGAGTGT AAGAGCATC GTGTTTACT GTGAGGACC TAGTCTTTA
 CAGATGACCA TTCTGATGTC TCCTTTATC TATTATTTA AATATTTAT TATTATCTA TTTTATTTA TTAATTTT TTTATGTA TATCATGAT
 ACCTTATAT TGTGTTAAT GTAAACATA TGTCTTCT ATTTAGCCAA TATATTAAIT TCTTTTCA TTAATTTT ACTAT

图 1

GTACACATGA CCACACAGTG TCTCCTCCA ATGCTCTCC TGTGTGCTT CTCCACTACA GCTCTTTTCA TGAGCTACAA CTTCCTTGA TTCTACAAA
 GAGCAGCAA TTTTCAGTGT CAGAGCTCC TGTGCCAAT GAATGGAGG CTGGAATATT GCTTCAAGGA CAGGATGAAC TTTGACATCC CTGAGGAGAT
 TAGCAGCTG CAGCAGTTCC GCGCCATTC ACCATCTATG AGATCTTCA GACATCTTT GCTATTTTCA GACAGATTC ATCTAGCACT
 GGCTGAATG AGACTATTGT TGAGACCTC CTGGCTAATG TCTATCATCA GATAAACAT CTGAGACAG CTGCGAGGA AAACTGGAG AAGAGGATTT
 TCACAGGGG AAACTCATG AGCAGTCTGC ACCTGAAAAG ATATTATGG AGGATTCTGC ATTACTGAA GCGCAAGGAG TACAGTCACT GTGCTGGAC
 CATAGTCAGA GTGGAATTC TAAGGACCTT TTACTTCATT AACAGACTTA CAGGTTACCT CCGAACTGA AGATCTCTA GCTGTGCTCT CTGGAGCTGG
 ACAATGCTT CAGCACTCT TCAACGACA GATGCTGTT AAGTACTGA TGCTAATGT ACTGATATG AAGGAGCACT AGAGATTTT GAAATTTTA
 TTAATTTATG AGTATTTT ATTTATTTA ATTTATTTT GGAATATAA TTATTTTGG TGCAAAAGTC AAAAAA

图 2

IFN- γ

CTGAGATCA GCTATTAGAA GAGAAAGATC AGTTAAGTCC TTTGACCTG ATCAGCTTGA TACAAGACT ACTGATTTC ACTTCTTTGG CTAAATCTC
 TCGAAACGA TGAATATATC AAGTTATATC TTGGCTTTTC AGCTCTGCAT CTTTTTGGT TCTCTTGGCT GTTACTGCA GACCCATAT GTAAAGAG
 CAGAAACCT TAAAGATAT TTAATGCGG GTCACTCAGA TGTAGCGAT AATGGAATC TTTTCTTAGG CATTTTGAG AATGGAAAG AGGAGATGA
 CAGAAAAATA ATGAGAGCT AAATGTCTC CTTTACTTTC AACTTTTTA AAACCTTTAA AGATGACAG AGCATCAAA AGAGTGTGA GACCATCAAG
 GAGCATGA ATGTCAAGT TTTCAATAGC AAAAAAGA AACGAGATGA CTTGAAAG CTGACTAAT ATTCCGTAC TGACTTGAAT GTCCACGCA
 AGCATAACA TGACTATC CAGGTATGG CTGACTGTC GCGAGCAGT AAACAGGGA CTGACTAAT ATTCCGTAC TGACTTGAAT GTCCACGCA
 ATCCCATGA TGGTTGCTCT GCTGCAATA TTTGAATTT AATCTAAT CTATTATTA ATATTAAACA TTAATTTAT GGGAAATATA TTTTAGACT
 CATCAATCA ATAGTATTT ATAATAGCA CTTTGTGTA ATGAATGA ATATCTATTA ATATATGAT TATTATATAT TCTATATCC TGTACTGTC
 TCACTAATC CTTGTTTTC TGACTAATTA GCGAGGCTA TGTATTACA AGCTTTATC TCAGGGGCA ACTAGGAGC CAACCTAGC AAGATCCAT
 GGGTGTGGG TTTATTTCAG TTGATGATC AATGAACAT TATAGTGA GTGATCTAT CAGTTACTG CCGTTTGA AATATGCTG CAATCTGAGC
 CAGTCTTTA ATGGCATGTC AGACAGACT TGAATGTGTC AGGTAGCCT GATGAACCA TAGCATCTA GCGACTTTCA TGCCGTGTC TCCAAATAT
 TGTGACAC TGTACTGTA CCCAATGGA AAGTACTCA TTTGTAAGA TTATCATAT CTAAATATA TGAATAGT GTAGTTTCA ACTAAGAA
 AAAAAA AAA

图 3

图1(封3)是不加 ConA, AAT 蛋白质仅呈现均一的单一峰。而加入 $30\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ConA, 呈现结合型峰 III 和弱结合型峰 II, 当 ConA 增加到 $60\mu\text{g}/\text{cm}^2$, 开始出现三个峰。加 $90\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 时明显地呈现三个峰, 即结合型峰 III, 弱结合型峰 II 和弱结合型峰 I。ConA 浓度增至 $270\mu\text{g}/\text{cm}^2$, 图谱不变。但当 ConA 达 $450\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 又减为二个峰(弱结合型峰 II 和 I)。这表明人体 AAT 在 ConA 作用下存在三种分子变异体, 即距白蛋白最远的 ConA 结合型峰 III, 中间的弱结合型峰 II, 靠近白蛋白的弱结合型峰 I。ConA 浓度与 AAT 分子变异体结合的程度、结合的位置与其在电场中移动的速度和距离密切相关。二者结合之分子含量越高, 则离白蛋白越远。但当 ConA 浓度达 $450\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 以上时, 则结合型峰 III 与峰 II 并合。这说明 ConA 用量过低或过高均不适合, 只有 ConA 浓度在 $90-270\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 时能获最佳分离结果, 其中又以 $90\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 为最适量。以上结果与 Vaughan^[6] 及 Bauard^[7] 等人报道一致。他们的研究也表明人血清具有三类 AAT 分子变异体。通过对不同浓度 AAT 的检测, 发现该法的灵敏度为 $120\text{mg}/\text{dL}$ (图2见封3)。

1979 年 Chio 和 Oon^[8,9] 分别报道在肝癌高发危险人群中, 发现患者血清的 AAT 含量明显升高。我们用火箭免疫电泳法检测肝癌患者血清, 发现 AAT 可作为肝癌诊断指标之一, 特别是 AFP 阴性肝癌患者血清中 AAT 升高更有明显的临床诊断意义^[10]。

深入研究 AAT 基因表现型时, 我们发现用酸性电泳或等电聚焦电泳方法均可分出 6—

8 条区带, 其中尤其以 piz、pis、pip (分别表示蛋白酶抑制剂(pi)不同等位基因表现型 z. s. p)三个具有临床诊断意义^[3], 但这些方法偏重在鉴别 AAT 蛋白部分变异体, 操作比较复杂。(而 Aff-DIEP 方法是利用 ConA 能与甘露糖及葡萄糖残基特异性结合, 常用它做糖链变化分析)。我们用此法初步检测了正常人、肝癌、肝炎、肝硬化、肺癌、卵巢癌等患者血清 AAT 分子变异体, 图 3a (见封 3) 是正常人血清 AAT, 由二种变异体组成, 结合型 III 和弱结合型 II。图 3b.c.d.e 是肝炎、肝硬化、肝癌、肺癌、卵巢癌等患者血清 AAT, 均呈现三类变异体, 各个图形都不完全一样, 但弱结合型峰 II 均最高, 其次是结合型峰 III, 弱结合型峰 I 最低, 与 Bayard^[7] 报道结果类似。它们之间比例上的差异在生物学及临床上有何意义有待探讨。

参 考 文 献

- [1] Carrell, R. W. et al.: *Essays. Med. Biochem.*, 4, 83, 1979.
- [2] Fagerhol, M. K. et al.: *Ser. Haematol.*, 1, 153, 1968.
- [3] Jeppsson, J. O., et al.: *Clin. Chem.*, 28 (1), 219, 1982.
- [4] B g-Hansen, T. C. et al.: *Scand. J. Immunol. Supple*, 2, 141, 1975.
- [5] 关赛芳等《中华医学检验杂志》待发表。
- [6] Vaughan, L. et al.: *Biochemica et Biophysica Acta*. 701. 339, 1982.
- [7] Bayard, B. et al.: *Eur. J. Biochem.*, 124, 371, 1982.
- [8] Chio, L. F. et al.: *Cancer*, 43, 596, 1979.
- [9] Oon, C. J. et al.: *Ann. Acad. Med. Singapore*, 9 (2), 240, 1980.
- [10] 关赛芳等:《肿瘤防治研究》, 10(3), 174, 1983.

【本文于1983年8月26日收到】

(上接第 87 页)

此工作得到刘新垣、陈农安、李世武、陆长德等同志的大力帮助, 在此致谢。

参 考 文 献

- [1] Goeddel, D. V. et al.: *Nature*, 290, 20, 1981.

- [2] Taniguchi T. et al.: *Gene*, 10. 11, 1980.

- [3] Gay. P. W. et al.: *Nature*, 295, 503—508, 1985.

【本文于1983年6月29日收到】