

表 1 脂肪酸自旋标记物 I(12,3) 标记的 HL-60 细胞及 FBS 处理后的 ESR 波谱参数

波谱参数	对 照 组	FBS 处理组 mg/ml				
		0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
$A_{\max}^{1)}$	5.3320	5.2675	5.3406	5.3105	5.2890	5.4610
	5.2890	5.4180	5.3320	5.3320	5.5900	5.3965
$A_{\min}^{1)}$	1.8705	1.8275	1.8404	1.8490	1.8275	1.8490
	1.8490	1.8146	1.8090	1.8090	1.7451	1.8490
S	0.599	0.615	0.610	0.603	0.608	0.622
	0.600	0.628	0.619	0.619	0.674	0.614

1) $A_{\max}$, $A_{\min}$ 单位为 mT.

表 2 脂肪酸自旋标记物 I(1,14) 标记的 HL-60 细胞及 FBS 处理后的 ESR 波谱参数

波谱参数	对 照 组	FBS 处理组 mg/ml				
		0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
$A_{\max}^{1)}$	3.2336	3.2293	3.2035	3.2250	3.2250	3.2551
	3.1906	3.1820	3.2207	3.2035	3.2164	3.1820
$A_{\min}^{1)}$	2.5456	2.5370	2.5585	2.5714	2.5800	2.5800
	2.4983	2.5585	2.5800	2.5595	2.5595	2.5370
S	0.0815	0.0826	0.0731	0.0743	0.0725	0.0782
	0.0837	0.0689	0.0800	0.0684	0.0755	0.0736
$\tau_c^{2)}$	17.06	13.69	16.28	13.79	13.34	14.47
	17.90	16.20	16.40	14.20	15.60	13.46

1) $A_{\max}$, $A_{\min}$ 单位为 mT, 2) τ_c 单位为 10^{-10} s.

似^[3]。当 HL-60 细胞经 FBS 处理后,浅层细胞膜脂序参数增加,深层膜脂序参数及旋转相关时间均减小,说明 FBS 作用于细胞膜,通过改变细胞膜磷脂分子的有序度,进而影响肿瘤细胞的生物功能。

人胚胎来源的低分子肿瘤抑制物是一种天然的生理性调节因子,分析表明,低分子肿瘤抑制物能够强烈地抑制 HL-60 细胞的 DNA 合成^[2]。以上的实验结果表明:在人胎脑低分子肿瘤抑制物与 HL-60 细胞的作用时间和浓度尚未达到杀灭肿瘤细胞的时候,已

对肿瘤细胞膜的结构有了明显的影响,提示低分子肿瘤抑制物通过影响肿瘤细胞膜的结构而抑制细胞生长,也是作用机制的一个重要方面。

参 考 文 献

- 1 Wei Qisheng, Wu Chutse. *Leukemia Res*, 1991; 15:25
- 2 Wu Chutse, Pei Xuetao, Cong Peijie. *Exp Hematol*, 1989; 17:304
- 3 Zhao Baolu, Zhang Qinggang, Zhang Jianzhong et al. *Kexue Tongbao*, 1983;28(3):392

国产临床诊断试剂用于自动生化分析仪的初步评价

李国君 沈文梅 王成彬 邓心新 蒋赐恩

(解放军总医院生化科,北京 100853)

关键词 临床诊断试剂,自动生化仪器分析

进口的自动生化分析仪一般都附有特定的配套试剂系统。为了能使国产试剂取代配套的国外试剂应用于该型仪器,我们经过反复研究、实验,先后成功地将 16 种国产试剂应用于日立 7150 自动生化分析仪,包括

终点法,如总蛋白 (TP)、白蛋白 (A1b)、总胆红素 (T-Bil)、直接胆红素 (D-Bil)、葡萄糖 (Glu)、肌酐 (Cr)、总胆固醇 (CH)、甘油三酯 (TG) 尿酸 (UA) 试剂,以及酶动力学法的谷丙转氨酶 (GPT)、

谷草转氨酶 (GOT)、碱性磷酸酶 (ALP)、转氨酶 (γ -GT) 肌酸磷酸激酶 (CPK) 乳酸脱氢酶 (LDH)、尿素氮 (BUN) 试剂。本文就其中 10 项检测试剂的使用情况报告如下。

材料与 方法

1. 仪器

日立 7150 型自动生化分析仪系分立式多项分析系统的仪器。可同时进行 32 项测定, 每小时完成 600 次测定, 设有自动监测系统、数据处理及贮存系统等。

2. 试剂

中生公司试剂: GPT, GOT, ALP, γ -GT, LDH, CPK, BUN, CH, TG, UA 试剂

日本第一化学试剂: GPT, GOT, ALP, γ -GT, LDH, CPK 试剂。

澳大利亚试剂: BUN, UA, CH, TG 试剂。

3. 方法

仪器设置温度 30℃, 试验参数均按各自说明调整。

(1) 终点法: 使用同一标准液, 时间 10min。

(2) 速率法: 以 GPT 为例, 用第一化学试剂时, 样品 15 μ l, 试剂 I (RI) 300 μ l, 试剂 II (RII) 90 μ l, 时间 6—10min; 用中生试剂时, 样品 15 μ l, 试剂 (R2) 300 μ l, 时间 6—10min (依时间反应曲线确定)。

结果与 讨论

1. 精密度分析

批内及批间 (为每日复溶一瓶冻干血清, 连续测定 12 天次) 精密度见表 1 及表 2。

表 1 批内精密度

项目	$\bar{X}$	SD	CV (%)
CH	4.30	0.019	0.44
TG	0.92	0.004	0.43
BUN	5.53	0.071	1.28
UA	453.39	3.570	0.79
GPT	36.50	0.51	1.40
GOT	34.75	0.55	1.58
ALP	117.65	1.14	0.97
γ -GT	31.65	0.87	2.76
CPK	71.15	1.31	1.84
LDH	98.75	1.12	1.13

$n = 20$

CH, TG, BUN 测定值 ($\bar{X}$ 及 SD) 的浓度单位为 mmol/L; UA 为 μ mol/L; GPT, GOT, ALP, γ -GT, CPK, LDH 为 IU/L。

由表 1 可见血清 6 种酶活力及 4 种物质终点法测定的批内 CV 均 < 3%, 其中 ALP, CH, TG, UA 的批内 CV < 1%。

由表 2 可见血清酶活力测定 GOT, γ -GT, CPK,

表 2 批间精密度

项目	$\bar{X}$	SD	CV%
CH	2.88	0.061	2.12
TG	0.80	0.022	2.75
BUN	3.46	0.054	1.56
UA	149.35	3.570	2.38
GPT	29.50	1.68	5.69
GOT	45.75	1.54	3.38
ALP	24.67	1.44	5.82
γ -GT	31.04	1.36	4.37
CPK	218.33	3.37	1.54
LDH	173.25	2.80	1.62

$n = 12$

各项测定值 ($\bar{X}$ 及 SD) 的浓度单位同表 1。

LDH 的批间 CV < 5%, 而 CH, TCT, BUN, UA, 4

表 3 相关实验

项目	n	r	回归方程
CH	30	0.9998	$Y = 0.032 + 1.0028X$
TG	30	0.9992	$Y = 0.019 + 1.0061X$
BUN	30	0.9988	$Y = 0.070 + 0.9872X$
UA	30	0.9966	$Y = 17.148 + 0.9386X$
GPT	30	0.9991	$Y = -2.6563 + 1.0269X$
GOT	35	0.9991	$Y = 1.1481 + 0.9610X$
ALP	30	0.9968	$Y = -3.2830 + 1.0591X$
γ -GT	30	0.9978	$Y = -1.1154 + 1.0602X$
CPK	30	0.9982	$Y = 0.5933 + 0.8991X$
LDH	35	0.9980	$Y = 0.2142 + 0.9761X$

表 4 可靠性分析

项目	$\bar{X}$	SD	CV (%)
Ch	2.82	0.083	2.94
TG	0.73	0.019	2.60
GLU	6.15	0.152	2.47
BUN	3.49	0.071	2.03
Cr	106.96	2.652	2.48
UA	151.70	4.165	2.75
GPT	29.84	1.23	4.12
GOT	47.80	1.51	3.17
CPK	206.88	7.15	3.45
LDH	171.30	5.05	2.94
TP	64.30	0.61	0.91
ALB	36.8	0.81	2.04

CH, TG, GLU, BUN 测定值 ($\bar{X}$ 及 SD) 的浓度单位为 mmol/L; Cr, UA 为 μ mol/L; GPT, GOT, CPK, LDH 为 IU/L; TP, ALB 为 g/L。

种终点测定的批间 CV < 3%。

2. 相关分析

表 3 是国产试剂与进口试剂同时进行血清六种 (下转第 71 页)

露醇浓度为 $9.66 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$, 铜试剂 $4.62 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$, 苯基硫脲浓度为 $1.23 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ 。

表 1 4 种药物对酪氨酸酶抑制率和对 O_2^- 自由基的清除率

药物	5ml 反应液中的浓度	加入量 (ml)	酶的相对活性 (%)	对酶的抑制率 (%)	对 O_2^- 自由基清除率 (%)
抗坏血酸	0	0	100	0	0
	3.4×10^{-4}	0.2	91	9	25
	6.8×10^{-4}	0.4	82	18	43
	8.5×10^{-4}	0.5	65	35	45
	1.7×10^{-3}	1.0	36	64	68
	2.0×10^{-3}	1.25	23	77	72
甘露醇	0	0	100	0	0
	8.0×10^{-4}	0.2	99	1	4
	2.4×10^{-3}	0.6	76	24	21
	5.6×10^{-3}	1.4	69	31	36
	7.2×10^{-3}	1.8	56	44	38
	9.6×10^{-3}	2.4	36	64	47
铜试剂	0	0	100	0	0
	1.0×10^{-4}	0.5	47	53	17
	2.0×10^{-4}	1.0	35	65	30
	3.0×10^{-4}	1.5	33	67	40
	5.0×10^{-4}	2.5	30	70	51
苯基硫脲	0	0	100	0	0
	4.0×10^{-5}	0.2	29	71	29
	8.0×10^{-5}	0.4	28	72	38
	1.2×10^{-4}	0.6	26	74	44
	1.6×10^{-4}	0.8	25	75	64
	2.0×10^{-4}	1.0	未做	未做	70

静息态时的酪氨酸酶主要是二价态铜, 含有两个反铁磁性偶合的 Cu(II) 原子、甘露醇、抗坏血酸对该酶抑制是由于与酶的活性中心 $\text{Cu}^{2+}-\text{Cu}^{2+}$ 发生氧化-

还原反应的结果, 这可从具有双核结构的乙酸铜有效催化抗坏血酸氧化加以证实。

O_2^- 自由基既可失去电子, 又可获得电子。甘露醇、抗坏血酸对 O_2^- 自由基的清除可能是发生了 $\text{A} + \text{O}_2^- + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{A}^+ + \text{H}_2\text{O}$, 反应, 而且抗坏血酸与 O_2^- 的反应速度常数也是较大的。苯基硫脲、铜试剂与底物 DOPA 竞争酶的活性中心, 以 S 原子或 N 原子与铜配位。苯基硫脲与底物 DOPA 是类似物, 铜试剂对酶的活性中心有强络合能力。二者对 O_2^- 自由基的清除与二者结构中存在 $\text{C}=\text{S}$ 基团有关, 遇 O_2^- 自由基产生单电子转移, 形成新的有机负离子自由基, 进而形成二聚体, 致使自由基链反应受阻。这方面的 ESR 研究尚待进一步证实。

酪氨酸酶促反应的抑制与引发该反应的 O_2^- 自由基的清除是一个问题的两个方面。对酶有抑制作用的药物是否一定对自由基链引发有阻止作用(对 O_2^- 自由基有清除作用)? 两者的相关性需进一步探讨。在体内许多酶促反应都可产生 O_2^- , 许多低分子化合物和蛋白质自动氧化也可产生 O_2^- 。 O_2^- 、 H_2O_2 、 $\text{OH}^\cdot$ 、 $^1\text{O}_2$ 统称活性氧, 探讨终止 O_2^- 引发过程的诸因素具有理论和现实意义。

参 考 文 献

- 1 Roger C. Sealy. In: D Armstrong *et al.* eds, *Free radicals in molecular biology, aging and disease*, New York: Raven Press, 1984: 67-74
- 2 Stewart R C, J D Bewley. *Plant physiol*, 1980; 65: 245
- 3 Michael E Friedman, Harlaw H Daron. *J Chem Educ*. 1977; 54: 256
- 4 鲁纯素等. 北京医科大学学报, 1988; 26(6): 451
- 5 高秀蕊等. 河北师范大学学报(自然科学版), 1990; (1): 36
- 6 高秀蕊等. 河北师范大学学报(自然科学版), 1990; (2): 4
- 7 朱筠琴等. 化学通报, 1987; (5): 49

(上接第 79 页)

酶活力及四种物质终点法的对比测定。

由表 3 可见北京中生公司试剂与进口试剂的 10 项对比测定值均呈非常显著相关, $P < 0.01$ 。

3. 稳定性与可靠性观察

方法为每日复溶一瓶控制血清, 并在该仪器上用国产试剂连续测定。表 4 是 12 项生化检验 30 天内的实验结果。

由表 4 可见, 在 30 天内所有 12 项测定的数值是

稳定可靠的, 其中 9 项的 $\text{CV} < 3\%$ 。

上述实验表明, 国产试剂应用于该仪器时, 精密度良好, 与国外试剂对比测定呈非常显著相关, 对 12 项试验进行了 30 天连续测定, 其结果表明是比较稳定可靠的。经过近 10 个月临床应用, 证实中生公司生产的试剂适合用于此类型的自动生化分析仪。但与国外试剂相比, 国产试剂中有的复溶后保存时间较短, 这是今后需要改进提高的。