

表2 蓖麻毒素对 Molt-4 细胞蛋白合成的影响

	蛋白合成抑制率(%) [*]		
	10 ⁻⁹ M	10 ⁻¹¹ M	10 ⁻¹³ M
不加半乳糖	81.1±4.3	36.9±2.9	29.8±2.4
加半乳糖	28.0±1.4	5.4±5.6	5.0±4.8

* 三批毒素共6次实验的平均值

讨 论

Sephrose 4B 是一种琼脂糖凝胶,骨架上含有半乳糖残基,经过盐酸部分水解后能暴露出更多半乳糖残基。蓖麻毒素由 A、B 二条多肽链组成。B 链上有一个结合部位,能与含半乳糖基的蛋白或糖脂结合。而蓖麻凝集素由二条类似 A 链的多肽链和二条 B 链组成。它们与半乳糖结合的能力大于蓖麻毒素。利用它们与半乳糖结合能力的差别,在酸化-sepharose 4B 柱上用半乳糖梯度进行洗脱就可以将二者分开。半乳糖分级洗脱的效果稍差。

用本方法提取的蓖麻毒素在 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳上显示分子量为 65000 道尔顿的单一区带。小鼠 LD₅₀ 为 0.53μg,使 Molt-4 细

胞蛋白合成抑制 50% 的浓度为 3.8×10^{-10} M,与以前报道用改良 Olsnes 法^[2]所得到的结果相近(小鼠 LD₅₀ = 0.54μg,抑制 50% 蛋白合成所需浓度 3.2×10^{-10} M)。但得率提高了约 5 倍。

在用 ³H-亮氨酸掺入法测定蓖麻毒素毒性时,当培养系统中加入 100mM 半乳糖时,基本上能阻断蓖麻毒素对 Molt-4 细胞的毒性。表明 Molt-4 细胞蛋白合成的抑制确是蓖麻毒素的作用,而非其它有害物质。

参 考 文 献

- [1] Blakey, DC. et al.: *Bioassays*, 4, 292, 1986.
- [2] Olsnes, S. et al.: *Biochemistry*, 12, 3121, 1973.
- [3] 姚志建等:《上海免疫学杂志》,4(6), 345, 1984.
- [4] Schluter, SF. et al.: *J. Immunol. Methods*, 66, 89, 1984.
- [5] 郭祖超等:《医用数理统计方法》,人民卫生出版社, p 169, 1965.
- [6] 沈倍奋等:《中华微生物学和免疫学杂志》,5(4), 209, 1985.
- [7] Laemmli, UK. et al.: *Nature*, 227, 680, 1970.

[本文于 1987 年 2 月 2 日收到]

科技消息

尿中粘多糖(MPS)的简易定量法

尿中 MPS 的传统定量方法是,采用沉淀捕集分离出尿中 MPS 后,用咔唑硫酸法定量。此方法的不足之处是,操作复杂,分析周期长。本文提出一种用纤维柱迅速地分离尿中 MPS,并利用 MPS 与邻硝基苯酚(ONPH)反应进行定量的简易方法。实验证明:使用纤维柱比传统的沉淀捕集进行尿前处理时间短、效率高(加入回收率高达 92.5%);利用 MPS 与 ONPH 反应进行 MPS 定量与传统的咔唑硫酸法定量具有相关性($r = 0.950$),并且提高了 MPS 定量的灵敏度,实现了微量化。测定原理如下:

在 20ml 人尿中加入 0.1% 的十六烷基吡啶(CPC)水溶液 4ml,使其通过纤维柱($\phi 8 \times 35$ mm),则生成的 MPS-CPC 复合体被吸附在柱子上。先用 20ml 蒸馏

水清洗柱子,再用 30ml 氯化钠溶液把柱中(复合体中)的 CPC 分离洗脱出来,最后用 9ml 蒸馏水洗脱出柱中的 MPS 作为分析试样。取上述分析试样 2ml,依次加入 0.01M 的 ONPH 和 0.15M 的 EDC* 溶液各 1ml,充分搅拌。在 40℃ 恒温 30 分钟后,再加入 1.5M 的 NaOH 水溶液 1ml,并升高温度至 60℃ 恒温 15 分钟。在 530nm 波长下测定吸光度,计算出尿中 MPS 含量。

[《分析化学》(日),1986, No.4, T29,

石家庄维尼纶厂封勇编译]

* EDC: “盐酸 1-乙基-3-(3-二甲氨基) 碳化二亚胺”。EDC 溶液用 4% 的吡啶水溶液配制。