2.2　鲎试验测定

LPS 中和率显示，M_1 中和 LPS 的作用最弱，中和率为 19%；M_4 中和 LPS 的作用最强，中和率为为 82%。为防止假阳性结果的出现，实验设置单用 Ms 进行鲎试验的对照，结果显示 Ms 本身可与鲎试剂发生不同程度反应，导致 LPS 测定出现偏差，但似乎对加入 LPS 孵育后的中和实验结果影响较小（表 1）。

表 1　模拟肽中和 LPS 的鲎试验结果[(x ± s)%]

Tab 1　The results of Ms neutralizing endotoxin by limulus amebocyte lysate test [(x ± s)%]

Group	Reclaiming (%)	LPS value(EU/ml)	LPS neutralizing (%)
Blank		< 0.007 6	—
Standard control	97.4 – 105	1.984 ± 0.003	—
M_1		2.256 ± 0.081 7	—
M_1 + LPS		1.584 ± 0.001 6	19
M_2		0.062 ± 0.003 3	
M_2 + LPS		0.563 ± 0.002 5	71
M_3		< 0.007 6	
M_3 + LPS		1.452 ± 0.042 5	27
M_4		0.1323 ± 0.001 9	
M_4 + LPS		0.356 ± 0.045 7	82
M_6		1.692 ± 0.075 1	
M_6 + LPS		0.856 ± 0.024 5	56
M_8		0.021 ± 0.000 8	
M_8 + LPS		1.498 ± 0.081 7	23
M_{10}		0.030 ± 0.001 6	
M_{10} + LPS		1.452 ± 0.265	27
M_0		0.058 ± 0.0327	
M_0 + LPS		0.952 ± 0.0408	51

3　讨论

LALF 能高亲和性地以剂量依赖方式结合 LPS，具有较强的中和 LPS 作用[2]。根据其功能区的结构特点，我们应用计算机分子模拟技术模拟设计并合成了一系列 Ms。因为模拟肽合成价格昂贵，每次合成量非常有限，不可能采用整体动物试验对其生物活性进行筛选。有学者报道，应用生物传感技术可快捷、准确地定量分析多粘菌素 B 及内毒素结合肽与 LPS/lipid A 的结合活性[5]，本研究将生物传感技术与鲎试验结合，对 8 条 Ms 进行了生物活性的体外研究，获得了较为满意的结果。生物传感技术测定结果表明，8 条 M_n 均有不同程度的 LPS 结合活性，结合力依次为 $M_4 > M_0 > M_2 > M_6 > M_{10} > M_3 > M_8 > M_1$，$M_4$ 的反映速率最高，其平衡解离常数 Kd 为 72.377 μmol/L，说明该肽具有良好的中和 LPS 活性，且呈现明显的浓度梯度效应。鲎试验动态浊度法对 LPS 中和活性的分析发现，Ms 中和 LPS 的作用依次为 $M_4 > M_2 > M_6 > M_0 > M_{10}$ 和 $M_3 > M_8 > M_1$。其中 M_1 和 M_6 在未加入 LPS 时出现了分别高于和接近于 LPS 标准对照实测值的结果，表明该两肽可与鲎试剂发生反应，可能是肽纯度过低，内含杂质所致。M_4 也可对鲎试剂发生较轻的类似反应，但似乎对加入 LPS 孵育后的中和实验结果影响较小。

中和内毒素活性物质的体外研究中，生物传感技术检测每 1 份样品仅需样品 5 μl，耗时不超过 10 min，用于确定可与 LPS 结合的活性物质具有样品用量少、操作简便、直观迅速、特异性强的优点，但缺点是不能肯定是否具有中和 LPS 的活性。将生物传感技术结合鲎试验分析正好克服此不足，并可避免单用鲎试验容易受到多种非特异性因素的影响，出现假阳性或假阴性结果。因此先采用生物传感技术进行亲和力初筛后，有针对性地结合鲎试验分析，在面对大量待测物质时可节省时间、人力、物力和经费。

参考文献：

[1] Bone R C. Gram-negative sepsis: a dilemma of modern medicine[J]. Clin Microbiol Rev, 1993, 6(1): 57 – 68.

[2] Hoess A, Watson S, Siber G R, *et al*. Crystal structure of an endotoxin-neutralizing protein from the horseshoe crab, Limulus anti-LPS factor, at 1.5? resolution[J]. EMBO J, 1993, 12(9): 3351 – 3356.

[3] Keusgen M. Biosensors: new approaches in drug discovery[J]. Naturwissenschaften, 2002, 89(10): 433 – 444.

[4] de Haas C J, Haas P J, van Kessel K P, *et al*. Affinities of different proteins and peptides for lipopolysaccharide as determined by biosensor technology[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1998, 252(2): 492 – 496.

[5] 吕根法，龚小云，卫国，等. 应用生物传感技术测定多粘菌素 B 中和内毒素活性物质能力的实验研究[J]. 中华烧伤杂志，2004，20(1)：23 – 25.

（编辑　龙　亮）

血压计量单位恢复 mmHg 表示法

根据国家质量技术监督局和卫生部联合发出的质技监局量函[1998]《关于血压计量单位使用规定的补充通知》的精神，血压计量单位恢复使用毫米汞柱(mmHg)，但首次使用时应注明 mmHg 与千帕[斯卡](kPa)的换算系数(1 mmHg = 0.133 kPa)。

本刊编辑部