2.2 样品蛋白含量及纤溶酶原活性测定

平均1个人胎分离纯化后，能获得大量Glu-PLG（约8.0 g）。人胎盘纤溶酶原分离纯化过程中各阶段样品总蛋白、总活力、比活性、活力回收及提纯倍数结果见表1。

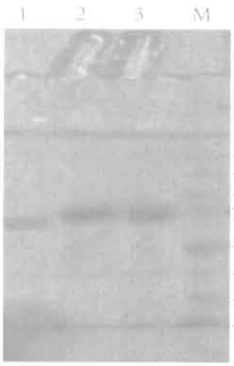
表1 人胎盘的纤溶酶原的分离纯化结果

提纯步骤	体积 (ml)	总蛋白 (g)	总活力 ($\times10^6$单位)	比活 (单位/mg)	活力回收(%)	提纯倍数
胎盘匀浆	1 000	212.50	6.868	32.320	…	…
盐析层析	470	9.977	4.013	402.321	58.4	12.44
B峰浓缩样	10	8.823	3.616	409.838	52.6	12.68
G-25层析	110	8.054	3.556	441.520	51.2	13.66

2.3 人胎盘纤溶酶原的纯度鉴定

纯化后的样品与人天然型纤溶酶原标准品在0.1% SDS-PAGE凝胶上的电泳迁移率相同，均为单一色带（图2），表明纤溶酶原只有1种亚基，与国内外报道的人纤溶酶原由2个相同亚基组成相符。根据标准分子量迁移率制备标准曲线，求得人胎盘纤溶酶原亚基分子量为45×10^3。

纯化后的样品在0.1% SDS-PAGE凝胶上的位置较Lys-PLG标准品后，只在Glu-PLG标准品的相应位置上有条带，而在Lys-PLG标准品的相应位置上没有条带（图2），表明纯化后样品中Glu-PLG未向Lys-PLG转化，没有Lys-PLG存在。



M：蛋白分子标准品；1：Sephadex G-25层析纯化后的人胎盘Glu-PLG；2：人Glu-PLG标准品；3：人Lys-PLG标准品

图2 人胎盘Glu-PLG SDS-PAGE电泳图

3 讨论

国外曾有用人胎盘提取PLG的报道，但获得的产品为Glu-PLG和Lys-PLG的混合物。本法与国外报道的方法相比较，改良了分离纯化过程的环境温度及透析时间。全过程控制在4 ℃进行，透析不超过2 h，避免了Glu-PLG向Lys-PLG的转化[1]，得到电泳纯的Glu-PLG；此外，本法取新鲜胎盘即刻在－76 ℃冰冻成块后制备组织匀浆，降低了制备匀浆过程中的温度，减少了PLG的变性。由于EACA可特异地与PLG结合，我们在匀浆液中加入EACA搅拌，使更多的PLG分子从组织中分离出来，增加了匀浆上清液中的PLG量，有利于提高得率。待分离样品与Lys-sepharose 4B搅拌后一起装柱，再洗脱，使配体与受体充分结合，也是本方法特点之一。

用本法从人胎盘中提取的Glu-PLG产品，成分单一，纯度较高。如以人血为原料提取同样的Glu-PLG样品，成本将高出60倍。在溶栓治疗研究中，PLG的应用日益受到重视[2-4]。采用本方法制备Glu-PLG，原料来源丰富、成本低廉、操作简单、产品质量较高，为获取PLG提供了新的思路。

关键词：纤溶酶原；胎盘；纯化；层析
中图法分类号：R446.1 文献标识码：B

参考文献：

[1] 陈维金，孙 宏，关 峰，等. Lys-纤溶酶原的制备及其活力稳定性[J]. 中国生物制品学杂志，2000，13(4)：221－223.
[2] 马卫列，刘 芳，何承伟. 用硫氧还蛋白融合表达系统表达小鼠内皮抑素的方法研究[J]. 第三军医大学学报，2006，28(14)：1476－1478.
[3] 沈继龙. SDS－聚丙烯酰胺凝胶电泳法[M]//汪 谦. 现代医学实验方法. 北京：人民卫生出版社，1998：410－413.
[4] 陈康宁. 神经内科医生应重视脑血管疾病的血管内治疗[J]. 第三军医大学学报，2002，24(12)：1383－1384.

（编辑 汪勤俭）

参考文献类型及标识

根据GB 3469规定，以单字母方式标识以下各种参考文献类型：

参考文献类型	专著	论文集	报纸文章	期刊文章	学位论文	报告	标准	专利
文献类型标识	M	C	N	J	D	R	S	P

对于专著、论文集中的析出文献，其文献类型标识建议采用单字母“A”；对于其他未说明的文献类型，建议采用单字母“Z”。

对于数据库（database）、计算机程序（computer program）及电子公告（electronic bulletin board）等电子文献类型的参考文献，建议以下列双字母作为标识：

电子参考文献类型	数据库	计算机程序	电子公告
电子文献类型标识	DB	CP	EB

本刊编辑部