DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.01.023
第23卷第1期 第三军医大学学报 Vol. 23, No. 1
2001年1月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jan. 2001

保证。它们共同刺激线粒体加速对胞浆 Ca^{2+} 的摄取[7]。烧伤后续阶段尽管[Ca^{2+}]c明显升高，但线粒体膜电位显著降低，线粒体 Ca^{2+} 摄取失去动力保障，其速率随之下降。

线粒体释放 Ca^{2+} 是一个逆浓度梯度进行的主动转运过程，共同转运的 Na^+、H^+ 等离子的浓度梯度或ATP水解是其主要能量来源[8]。我们的实验结果表明：烧伤后3、6、12、24 h心肌线粒体ATP含量与 Ca^{2+} 释放速率均明显低于正常对照组，且线粒体 Ca^{2+} 释放速率与ATP含量呈明显正相关。说明烧伤后续阶段由于线粒体ATP含量下降导致 Ca^{2+} 释放障碍。严重烧伤后心肌能耗增加，同时组织缺血缺氧，能量产生不足，使心肌细胞胞浆ATP含量很快降低。而缺血情况下，线粒体ATP含量较胞浆下降更快[9]。线粒体ATP含量下降，导致需要消耗能量的 Ca^{2+} 释放不能正常进行。烧伤后续阶段[Ca^{2+}]c明显升高，线粒体内外 Ca^{2+} 浓度差增大，使得线粒体释放 Ca^{2+} 所需要消耗的能量增加，可能也是烧伤后线粒体 Ca^{2+} 释放障碍的一个原因。

烧伤初始阶段，细胞和线粒体均处于一种烧伤后的应激状态，线粒体 Ca^{2+} 摄取加强是细胞对付应激反应的一种手段，但这种过分强烈的应激反应可能导致线粒体 Ca^{2+} 摄取过多。伤后3、6、12、24 h，由于线粒体膜电位与ATP含量下降，导致 Ca^{2+} 摄取和释放速率均明显降低，说明后续阶段心肌线粒体 Ca^{2+} 转运存在严重紊乱。同时烧伤后心肌细胞胞浆 Ca^{2+} 浓度升高或有升高趋势。三者可能是烧伤后线粒体 Ca^{2+} 超载的重要原因。针对这一机制，烧伤后抑制胞浆 Ca^{2+} 升高，初始阶段应用 Ca^{2+} 摄取抑制剂，或后续阶段应用 Ca^{2+} 释放促进剂，将有利于减轻线粒体 Ca^{2+} 超载，保护心肌细胞和线粒体功能。

参考文献：

[1] 梁晚益，杨宗城，黄跃生. MtPLA2在严重烧伤早期心肌线粒体损害中的作用[J]. 第三军医大学学报，2000，22(3)：210－212.
[2] Zydocvo M M, Swierczy K J, Nagel G, *et al*. The respiration and calcium content of heart mitochondria from rats with vitamin D induced cardionecrosis[J]. Biochem J, 1985, 226(1)：155－162.
[3] Yoshimas N, Kozo U. 2, 5, 2', 5'-tetrachlorobiphenyl impairs the bioengergtic function of isolated rats liver mitochondria[J]. Biochem Pharmacol, 1986, 35(19)：3 335－3 339.
[4] Elizabeth A F, James D M, Takuro T, *et al*. Myocardial mitochondrial calcium accumulation and DNA fragmentation[J]. Ann Thorac Surg, 1995, 60(2)：338－344.
[5] Ronald K E, Gruwald R, Lemassters J J. Rhodamine 123 as a probe of transmembrane potential in isolated rat liner mitochondria：Spectral and metabolic properties[J]. BBA, 1986, 850(3)：436－448.
[6] Gunter T E, Buntinas L, Sparagna G C, *et al*. The Ca^{2+} transport mechanisms of mitochondria and Ca^{2+} uptake from physiological-type Ca^{2+} transients[J]. BBA, 1998, 1 366(1－2)：5－17.
[7] Jouaville F, Mazat J P. Modulation of cell calcium signals by mitochondria[J]. Mol Cell Biochem, 1998, 184(1－2)：371－376.
[8] Gunter T E, Gunter K I, Sheu S S, *et al*. Mitochondril calcium transport：Physiological and pathological relevance[J]. Am J physiol, 1994, 267(2 Pt 1)：C313－339.
[9] Ranch U, Schulze K, Berhard W, *et al*. Alteration of the cytosolic-mitochondial distribution of high-energy phosphates during global myocardrial ischemia may contribute to early contractile failure[J]. Circ Res, 1994, 75(4)：760－793.

（编辑 汪勤俭）

文章编号：1000-5404(2001)01-0047-01

经验与短篇

微乳液火焰原子吸收法同时测定中华鳖甲中钙和镁

Determination of calcium and magnesium in *Carapax trionycis* by microemulsion FAAS

任建敏，杨 珺，邹全明 （第三军医大学医学检验系临床检验学教研室，重庆 400038）

鳖甲为常用中药，具有增强免疫力、抗肿瘤等功效，内含丰富的生物活性物质和人体生命活动所必需的钙、镁等元素[1]。微乳液是热力学稳定体系，利用微乳液作为火焰原子吸收法的前处理方法[2,3]，同时测定鳖甲粉中钙、镁元素，省去了传统前处理高温灰化和消化法操作繁琐、污染环境和易产生误差等缺陷。该方法操作简便、结果满意。

1 实验方法

在用钙镁标准储备液配制的系列标准混合液中，依次加入5mL 5%十二烷基二甲基苄基溴化铵，10 ml 0.025 mol/L十二烷基硫酸钠，0.5 ml 20%壬基酚基聚氧乙烯醚和1 ml 10% $LaCl_3$ 溶液，用稀盐酸定容至50 ml，使pH值为3。振荡、摇匀，形成标准混合微乳液。15 min后，在选定的最佳工作参数下分别测定钙镁吸光度，作标准曲线。

中华鳖甲样品钙镁的测定方法为：称取适量经120目筛过目并于110 ℃下烘干恒重的中华鳖甲粉，置入100 ml容量瓶中，后按制备标准微乳液的配比制备样品微乳液。

2 结果

2.1 工作曲线、检出限和精密度

混合微乳液法钙镁分别在0～50 mg/L及0～2 mg/L范围内，吸光度A和浓度C的线性回归方程为A＝0.0161C＋0.3665和A＝0.1121C＋0.6823；相关系数分别为0.9842和0.9916。用含钙镁分别为0.50和0.05 mg/L的混合微乳平行测定钙镁各11次，得到本法测定钙镁的相对标准偏差(RSD)分别为2.12%和1.31%；检出限分别为2.12和0.131 ng/ml。

（下转51页）

作者简介：任建敏(1964－)，男，四川省渠县人，博士，讲师，主要从事光谱分析与靶向制剂方面的研究。电话：(023)68752315
收稿日期：2000-01-15；修回日期：2000-05-11

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

象和功能影响不大。

CD55 分子是一个多功能的分子, 除具有补体同源限制作用外, 还能参与对微生物的粘附作用和与单核细胞、T 细胞的活化等免疫反应过程。已知 CD55 和 CD59、C8 bp 的异常和缺损可导致红细胞对自身补体的敏感性增加, 是引起夜间阵发性血红蛋白尿(PNH)的直接原因[3,4,10,11]。

GPI 锚结构的缺失或异常可导致 CD55 等 GPI 锚固蛋白表达的缺失。目前的研究表明, 大多数 PNH 是由于与合成 GPI 糖脂链核心部分有关的 PIG-A 类基因突变, 导致 GPI 锚合成障碍所致[12]。

在这种情况下, GPI 锚合成障碍导致天然 GPI 锚固型蛋白在细胞表面不能表达, 因此不能通过导入天然的 GPI 锚固型 CD55、CD59 基因来对 PNH 实行基因治疗, 而导入并表达有功能的跨膜型 CD55、CD59 分子则为其基因治疗提供了一条可尝试的途径。此外, CD55 作为 GPI 锚固蛋白, 已有实验证实其可参与单核细胞及 T 细胞的活化, 其中它作为共刺激因子参与 T 细胞的活化倍受人们关注。GPI 锚固蛋白参与信号转导的机制是目前国内外研究的热点之一。由于这类蛋白不含跨膜区和膜内区, 它转导活化信号至胞内的方式一直是令研究者困扰的问题。近期国外研究资料表明 GPI 锚固蛋白在细胞膜上的分布方式与跨膜蛋白随机不同, 它是以脂微区形式分布于细胞表面, 且已证实 GPI 脂微区是介导 GPI 蛋白信号转导的重要结构[15,16]。因而建立表达具有不同膜结合形式的同一种分子的细胞模型, 将为进一步比较研究 GPI 蛋白和跨膜型蛋白的信号转导模式提供可靠的前提条件。本研究构建的嵌合跨膜型 CD55 的逆病毒表达载体为下一步得到表达跨膜型 CD55 蛋白的细胞克隆奠定了分子生物学基础, 从而为深入研究 GPI 锚固的 CD55 分子与细胞活化信号转导的关系建立良好对照并为探讨应用跨膜型的 CD55 分子对 PNH 进行基因治疗奠定了一定的实验基础。

参考文献:

[1] Fujita T, Inoue T, Ogawa K, *et al*. The mechanism of action of decay-accelerating factor (DAF). DAF inhibits the assembly of C3 convertases by dissociating C2a and Bb[J]. J Exp Med, 1987, 166(5): 1 221—1 228.

[2] Medof M E, Kinoshita T, Nussenzweig V, *et al*. Inhibition of complement activation on the surface of cells after incorporation of decay-accelerating factor (DAF) into their membranes[J]. J Exp Med, 1984, 160(5): 1 558—1 578.

[3] Telen M J, Hall S E, Green A M, *et al*. Identification of human erythrocyte blood group antigens on decay-accelerating factor (DAF) and an erythrocyte phenotype negative for DAF[J]. J Exp Med, 1988, 167(6): 1 993—1 998.

[4] Yomtovian R, Prince G M, Medof M E, *et al*. The molecular basis for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria[J]. Transfusion, 1993, 33(10): 852—873.

[5] Shibuya K, Abe T, Fujita T, *et al*. Decay-accelerating factor functions as a signal transducing molecule for human monocytes[J]. J Immunol, 1992, 149(5): 1 758—1 7620.

[6] Davis L S, Patel S S, Atkinson J P, *et al*. Decay-accelerating factor functions as a signal transducing molecule for human T cells[J]. J Immunol, 1988, 141(7): 2 246—2 252.

[7] 白　云, 姜　曼, 韩根成, 王更银, 等. 跨膜型 CD59 分子的构建及其在小鼠 NIH3T3 和 EL-4 细胞表达的研究[J]. 免疫学杂志, 1999, 15(3): 156.

[8] Medof M E, Lubin D M, Holers V M, *et al*. Cloning and characterization of cDNAs encoding the complete sequence of decay-accelerating factor of human complement[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1987, 84(7): 2 007—2 011.

[9] Coyne K E, Hall S E, Thompson S, *et al*. Mapping of epitopes, glycosylation sites, and complement regulatory domains in human decay accelerating factor[J]. J Immunol, 1992, 149(9): 2 906—2 913.

[10] Okada N, Harada R, Okada H, *et al*. Erythrocytes of patients with paroxysmal nocturnal haemoglobinuria acquire resistance to complement attack by purified 20-kD homologous restriction factor[J]. Clin Exp Immunol, 1990, 80(1): 109—113.

[11] Parker C J. Molecular basis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria[J]. Stem Cells, 1996, 14(4): 396—411.

[12] Kinoshita T. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and complement regulatory factors[J]. Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi, 1995, 18(6): 634—636.

[13] Harder T, Scheiffele P, Verkade P, *et al*. Lipid domain structure of the plasma membrane revealed by patching of membrane components[J]. J Cell Biol, 1998, 141(4): 929—942.

[14] Kasahara K, Sanai Y. Possible roles of glycosphingolipids in lipid rafts [J]. Biophys Chem, 1999, 82(2—3): 121—127.

(编辑　郭建秀)

(上接 47 页)

2.2　鳖甲粉样品钙镁分析结果对照

按实验方法分析中华鳖甲粉样品钙镁元素并与混酸溶液法[根据重庆市卫生防疫站"氨基酸钙"(中华鳖甲)检验报告书, 1999 年 5 月] 对照, 见表 1。

表 **1**　测定结果

样品号	样品重	微乳法测值(mg/L)		含量(mg/g)		混酸溶液法测值	
(mg/g)	(mg)	钙	镁	钙	镁	钙	镁
1	10.8	25.97	0.79	240.5	7.32		
2	9.3	22.15	0.69	238.2	7.43		
3	12.5	28.91	0.88	231.3	7.07		
平均值(mg/g)				236.7	7.27	232.2	7.13

关键词: 火焰原子吸收法; 中华鳖甲; 钙镁
中图法分类号: R446.1　　文献标识码: B

参考文献:

[1] 金　捷. 龟鳖养生丸的免疫作用研究[J]. 浙江中医学院学报, 1995, 19(3): 41.

[2] 任建敏, 杨明莉, 向明章, 等. 火焰原子吸收法测鼠肺组织总钙[J]. 光谱学与光谱分析, 1998, 12(6): 727.

[3] 任建敏, 杨明莉, 魏　泽英, 等. 混合微乳液火焰原子吸收法同时测定奶粉中钙和镁[J]. 分析化学, 1998, 10: 1 287.

(编辑　薛国文)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net