DOI:10.16016/j.1000-5404.1992.02.031

（本研究得到了已故刘英炳教授指导，特此致谢！）

关键词 NF_{200}特异性单抗；免疫组化试验；脊髓损伤

参 考 文 献

1. Lasek RJ, Phillips L, Katz MJ, et al. Function and evolution of neurofilament proteins. Ann NY Acad Sci 1985;455:462
2. 杨青峰 范维珂 段积华，等。神经微丝的纯化及其单克隆抗体的制备与鉴定。免疫学杂志 1990;6（2）:92
3. Banik NL, Hogan EL, Hsu CY. Molecular and anatomical correlates of spinal cord injury. CNS Trauma 1985;2（2）:99
4. Hirokawa N, Glicksman MA, Willard MB. Organization of mammalian neurofilament polypeptides within the neuronal cytoskeleton. J Cell Biol 1984;98:1523
5. 田口润智，山田和雄，早川徹，他.局所脳虚血後の軸索伤害とその再生について，脳梗塞亚急性期ないし慢性期にすけ神经变性伤害の発生機序に关连して。脳と神经 1989;41（8）:813

（收稿：1991-07-22；修回：1992-01-30）

微量滴定板蛋白质计量测定

李正东 （第三军医大学训练部 寄生虫学教研室） 630038
周成贵 （第三军医大学训练部 中心实验室） 630038

考马斯蓝（Comassie Blue）染料蛋白测定，因其简便、快速、灵敏度高、重复性好、干扰因素少[1-3]，越来越多地为实验室采用。但使用比色皿-分光光度计，只能同时测定2～3个样本。我们采用微量滴定板（microtitre plate）-酶标光度计，方法更为简便，尤其适用于小样本（5～100μl）的批量测定。

1 材 料 和 方 法

试剂、仪器：考马斯亮蓝G-250（Fluka）、牛血清白蛋白结晶（上海长阳制药厂），55孔平底聚苯乙烯微量滴定板（四川分析仪器厂），GXM-202酶标光度计（四川仪表九厂），岛津UV-365光度计。其它试剂均为分析纯。

标准蛋白：用重蒸馏水配制BSA溶液，紫外分光光度法（E280nm1%=6.6）确定其含量。

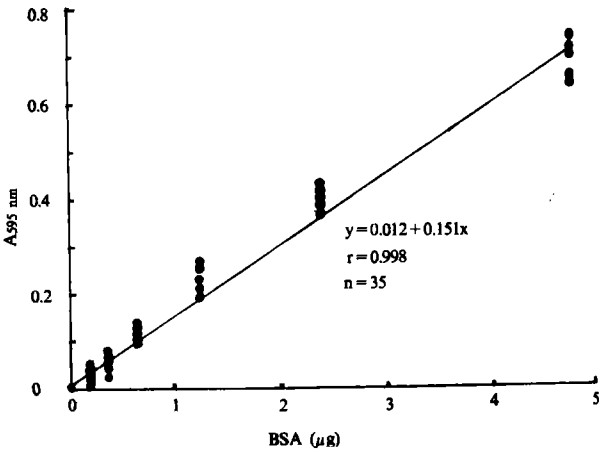
染料贮存液：考马斯蓝G-250 1g溶于200ml 88%磷酸，加100ml 95%乙醇，室温下存放。

染料工作液：染料贮存液/88%乙酸/95%乙醇/重蒸馏水（3/8/4/45）按体积比混匀，滤纸过滤后备用。

测定方法：滴定板孔井用重蒸馏水洗涤一次后吹干，加入倍比稀释的BSA标准蛋白溶液（BSA含量为0，0.15，0.3，0.6，1.2，2.4，4.8ng/100μl），各含量样本测5个复孔，各孔加入染料工作液150μl，小心振荡后置酶标光度计下测定各孔吸光值（A595nm）。同时采用比色皿-分光光度计法测定[1]。

2 结 果 和 讨 论

标准曲线：BSA含量（x）和相应A595 nm（y）绘制标准曲线，直线回归方程$y=0.012+0.151x$，相关系数$r=0.998$。（附图）



附图 牛血清白蛋白标准曲线

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

检测能力和精确度：BSA含量为0.6ng/100μl的样本 A_{595}nm为0.118±0.013，相当于蛋白测定时终浓度 2.4μg/ml。 3次重复测定同一BSA标准系列，板内平均变异系数2.1%，板间平均变异系数5.3%。

用微量滴定板-酶标光度计测定蛋白含量，方法简便、可靠、灵敏，尤其适于小样本和大批量样本同时测定，特别节省试剂和时间。测定时要求在加入染料工作液后20 min内完成，时间过长，蛋白-染料复合物会形成蓝色沉淀物，使 A_{595}nm 逐渐下降。滴定板经0.1mol/L HCl浸泡过夜后，可重复使用。

关键词 考马斯蓝；蛋白计量测定

参考文献

1. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem 1976; 72:248
2. Peterson GL. Determination of total protein. Methods Enzymol 1983; 91:95
3. Bio-Rad Laboratory. Bio-Rad protein assay, Technical Bulletin No 1069, Richmond CA, 1983

（收稿：1990-08-27；修回：1992-01-21）

创伤时纤维连接蛋白含量的变化

耿建萌 陈正堂* 王 林△ 余明芳 毛宝龄*（第三军医大学新桥医院 检验科）630037

纤维连接蛋白（Fibronectin，FN）作为一种非特异性调理素，存在于哺乳动物血液及多种细胞表面，具有维持组织结构完整，辅助免疫防护等生理功能。探讨严重创伤时血浆FN的变化，对指导临床治疗和判断预后有一定价值。为此，我们对实验性呼吸窘迫综合征（RDS）动物（$n=8$）和心内直视手术患者（$n=28$）的血浆FN进行了观察。

1 研究对象与方法

1.1 健康成年家兔8只，常规麻醉、消毒，切开皮肤，分离右颈总静脉，插管备用，分离右颈动脉，供采血用。以同种骨髓乙醚提取液0.5ml/kg，分3次静脉注射，复制RDS模型。于伤前及伤后5、30min，1、2、4、6h，取动脉血，枸橼酸钠（1:9）抗凝，分离血浆，置-20℃待测。

1.2 28例病人均为本院心血管外科1989年3月～12月收治的先天性及后天性心脏病心内直视术患者，男12例，女16例，年龄5～42岁，平均20.3岁。手术在芬太尼静脉复合麻醉，低温体外循环下进行。分别于术前，灌注15、30min，停机及术后2、4h，1、3、7d取动脉血，同上抗凝保存。以下列公式[1]排除血液稀释的影响：

$$\text{校正数值}=\frac{\text{实测值}\times\text{术前红细胞压积（HCT）}}{\text{采样时红细胞压积（HCT）}}$$

1.3 单定方法 用单向免疫扩散法[2]。抗血清由上海生物制品研究所提供，效价1:120，结果以均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示。

2 结果

2.1 兔实验性RDS致伤前血浆FN为204.36±113.77mg/L，伤后立即下降，30min出现第1个低谷，为91.75±37.62mg/L。以后持续低于伤前，6h出现第2个低谷，为72.21±47.93mg/L。致伤反应重，自行死亡的动物，死亡前血浆FN降至对照值的1/3左右，见附图。

2.2 28例心内直视手术患者，术前血浆FN含量为257.95±54.09mg/L，灌注中及术后2h与术前含量

* 呼吸中心； △ 心外科

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