

血液中氨基酸检测方法研究进展*

宋彦强,夏黎黎,李 玮,李风云 综述,倪君君 审校(北京国立柏林医学科技发展有限公司 100011)

【关键词】 血液; 氨基酸; 检测; 研究进展

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2013.24.060 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2013)24-3361-02

氨基酸最重要的功能就是合成蛋白质、多肽等。人类日常摄入的蛋白质经过消化系统吸收后以氨基酸的形式经过血液而运送到全身^[1]。假如人体内因为缺乏相关的蛋白因子或是一些具有与氨基酸代谢有关的器官出现了问题,就会使血液中的氨基酸出现代谢紊乱。因此,对血液中的氨基酸含量等进行检测具有很重要的意义,可以作为临床诊断相关病症的诊断依据。目前关于氨基酸检测方面的研究比较热门,化学滴定法、比色法、气相色谱法、毛细管电泳法等都已经应用到了该领域的临床研究中^[2]。本文主要对液相色谱法、氨基酸分析仪法的研究进展情况进行综述,报道如下。

1 有关检测技术的研究进展

1.1 高效液相色谱法 高效液相色谱法是对氨基酸进行检测的临床常用方法,具有检测成本低、重复性好、灵敏度高等特点。目前,血液中氨基酸高效液相色谱法的主要衍生方法有邻苯二甲醛(OPA)法、异硫氰酸苯酯(PITC)法等。许文青^[3]曾经提出过将 OPA 与氯甲酸苄甲酯(FMOC)法联合起来检测血液游离氨基酸,该方法可以在 25 min 内对 22 种氨基酸进行分析。周文芳^[4]用高效液相色谱法对血液中的氨基酸用邻苯二甲醛 13-巯基丙酸作为衍生试剂进行检测,结果显示检测的灵敏度和精度都比较高^[5]。OPA 法作为检测中常用的方法,已被临床证实,其速度快、精度高。杨飞龙等用 OPA 衍生氨基酸的高效液相色谱法对其血液氨基酸分析速度快,灵敏度高的特点进行了论证,结果证实了其文献^[4]报道基本一致。

1.2 氨基酸分析仪的应用 氨基酸分析仪是一种对氨基酸进行检测的专用仪器,从具体归属来看属于典型的柱后衍生检测方法。目前就我国而言,主要部门一般应用的氨基酸分析仪有 KLA-5 型、835-50 型、85000 型、8000A 型。从技术角度看,实施一次血液氨基酸检测所需时间已经从最早的 12 h 缩短到了现在的 30 min,同时对其操作软件的应用也变得越来越简单。其实不论什么型号的氨基酸分析仪,其核心部件都是离子交换柱,目前交换柱基本都是磺酸型阳离子树脂分离柱。被试的样本通过磺酸型阳离子树脂分离柱进行初步分离,阳离子树脂是带有负电荷的,pH 值比较低的情况下,血液中氨基酸通常是带正电荷的,二者就会相互吸引,并不断紧密结合,这样就实现了对氨基酸进行检测的目的^[6-7]。这样的检测方法专一性比较强、灵敏度也相对较高,有关研究证实其最低检出限达到了 10 pmol。

2 血液氨基酸检测其临床应用

就当前而言,参与蛋白质合成的氨基酸大约有 20 种,它们存在的形式主要有两种:一种就是以游离态的形式存在于机体血液中;另一种就是以结合态的形式存在于血液中肽血管的蛋白质中^[8]。氨基酸在血液中作用是无可替代的,在机体出现某些病变的时候,会导致体内血液中的氨基酸代谢呈现紊乱状

态。其形式也分为两种^[9]:一种是与基因突变有关,主要是机体因为缺乏某种或者是多种能够参与到氨基酸代谢的酶或是某些载体蛋白缺失,使肾脏、肠道组织吸收氨基酸出现障碍,导致一种具有遗传性的疾病。例如苯丙酮尿症就是因为苯丙氨酸羟化酶的缺乏造成常染色体隐性遗传病,酪氨酸血症也是因为延胡索酸乙酰乙酸酶活性降低所导致的一种疾病^[10]。有关学者认为,完全可以通过对儿童血液中各种氨基酸含量进行检测,进而对其氨基酸代谢情况进行诊断来判断是否存在氨基酸障碍的问题^[11]。这是对新生儿遗传代谢病的初步诊断,继而使有该类疾病的患儿可以得到及时确诊和治疗、预防患儿身体、智力发育出现障碍是具有积极意义的。另一种血液中氨基酸代谢异常则是和机体器官,如肝、肾出现的病变有关,因为病变的存在很可能会导致机体出现继发性氨基酸紊乱,而造成这些病变的原因主要有烧伤、严重创伤等^[12-16]。

机体一旦出现肝功能衰竭,通常机体血液中的芳香族氨基酸数量就会增加,而异亮氨酸、亮氨酸等含量却会降低^[17-18]。在出现肾功能衰竭类病症时,机体血液、血清中所必需的氨基酸浓度都会明显降低。李冰等对 120 例烧伤患者其血液中的游离氨基酸变化情况以及检测意义进行分析,提出血液中的苏、色、丝、甘、丙和脯氨酸等在患者烧伤后其在血液中的含量会明显降低。其中有轻度烧伤的患者在治疗中其异亮、组氨酸也会有所降低^[19];中度烧伤后苏、色、丝异亮和脯氨酸均会不同程度降低,但是对于这些中、轻度烧伤患者而言,很多时候只要 2 周恢复时间,其血液中氨基酸水平就能够恢复到正常水平。段满乐和伦立民^[20]对 57 例老年缺血性脑血管疾病患者和 33 例健康老年人血管中兴奋性和抑制性的氨基酸递质进行了对比,结果显示,在脑血管疾病的急性期,其患者血液中的谷氨酸、天门冬氨酸水平会明显升高,在脑部缺血发生的 24 h 这个水平又会开始呈现上升趋势,在恢复期会降到正常水平。

3 结 语

综上所述,血液中氨基酸检测可以给临床诊断或观察提供必要的科学依据,检测方法很多而且各具特点,目前主要以液相色谱法为主。应用氨基酸分析仪检测氨基酸,其分析时间短、灵敏度也很高,值得在临床广泛应用。

参考文献

- [1] 杨绍明,林汉枫,江秀明,等.血液中苯丙氨酸的测定方法研究进展[J].分析测试学报,2003,22(6):113-117.
- [2] 贾珊珊.重度创伤患者血清中谷氨酰胺含量检测方法与应用研究[D].石家庄:河北医科大学,2012.
- [3] 许文青.五氯苯酚钠在血液中的检测方法研究[D].武汉:武汉科技大学,2012.

* 基金项目:国家科技支撑计划项目(2011BAH15B08);国家科技支撑计划项目(2012BAH24F04)。

[4] 周文芳. 血浆中氨基酸检测技术探讨[J]. 氨基酸和生物资源, 2012, 34(3): 25-28.

[5] 陈惠云, 孙志栋, 俞静芬. 利用离子色谱法检测笋制品中氨基酸含量的方法研究[J]. 宁波农业科技, 2009, 4(1): 5-8.

[6] 黎君友, 赖业馥, 孙丹, 等. 烧伤对兔血红细胞内游离氨基酸浓度的影响[J]. 氨基酸和生物资源, 2002, 24(2): 41-43.

[7] 郑家概, 牟德海, 马丽果, 等. 血浆中游离氨基酸的高效液相色谱分析[J]. 食品研究与开发, 2004, 25(5): 131-132.

[8] 冯雷, 陈章玉, 王保兴, 等. 柱前衍生化反相高效液相色谱法测定烟草中的游离氨基酸[J]. 云南大学学报: 自然科学版, 2003, 25(S1): 241-245.

[9] 杨扬, 秦强, 郭伟忠. 苯基异硫氰酸酯衍生氨基酸的高效液相色谱分析[J]. 色谱, 1994, 8(4): 295-296.

[10] 唐志毅, 许维桂, 杨振华, 等. 体液游离氨基酸反相高效液相色谱测定法[J]. 中华医学检验杂志, 1994, 17(3): 140-143.

[11] 李芳, 史霄燕. 2,4-二硝基氯苯衍生法在反相高效液相色谱测定氨基酸中的应用研究[J]. 色谱, 1995, 9(3): 200-202.

[12] 李恒, 刘志红, 崔敏, 等. 氨基酸尿检测方法在肾脏疾病中的应用[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2002, 11(3): 254-259.

[13] 周新, 涂植光. 临床生物化学和生物化学检验[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 58-64.

[14] 黎君友, 郭振荣, 盛志勇. 烧伤患者血浆游离氨基酸的变化及意义[J]. 解放军医学杂志, 1999, 24(2): 127.

[15] 吴森秋, 柴家科, 黎君友, 等. 大鼠严重烫伤早期血浆游离氨基酸浓度的变化[J]. 中华烧伤杂志, 2001, 17(4): 215-218.

[16] 黎君友, 孙丹, 赖业馥. 烧伤患者血浆和红细胞游离氨基酸变化及输注氨基酸对其变化的影响[J]. 氨基酸和生物资源, 2003, 24(3): 55-58.

[17] 王杨军. 日立 835 氨基酸自动分析仪的原理及维修[J]. 现代科学仪器, 2000, 10(6): 53-55.

[18] 王洪健, 周兴起, 冯志强, 等. 氨基酸自动分析仪测定食品中牛磺酸的方法建立[J]. 现代食品科技, 2012, 28(3): 348-350.

[19] 刘阳, 倪君君, 相婷, 等. 直接注入式串联质谱法测定氨基酸含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2011, 28(3): 118-123.

[20] 段满乐, 伦立民. 缺血性脑血管疾病患者血浆氨基酸递质的测定及其意义[J]. 中华检验医学杂志, 2005, 28(12): 1256-1257.

(收稿日期: 2013-05-21 修回日期: 2013-07-03)

腺病毒及其检测技术研究进展*

潘庆军¹综述, 朱学芝²审校(1. 广东医学院附属医院, 广东湛江 524023; 2. 广东粤海饲料集团有限公司, 广东湛江 524017)

【关键词】 腺病毒; 分类; 致病性; 检测技术
DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2013. 24. 061 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2013)24-3362-03

腺病毒(ADV)是一群分布十分广泛的具有双螺旋 DNA 基因组的病毒, 相对分子质量为 $(20 \sim 30) \times 10^6$, 属于 ADV 科, 被划分为生物安全标准 2 级(BL2)。ADV 种类较多, 大部分具有临床致病性。基于不同检测技术原理的 ADV 检测试剂对 ADV 感染引起的疾病的诊断和早期预防都有重要意义。此外, ADV 已经作为一种模式生物在研究, 其应用范围相当广泛, 如基因治疗领域及疫苗载体领域等^[1-2]。本文谨对当前最新的 ADV 分类及其致病性和 ADV 检测方法和试剂的研究现状作一综述。

1 ADV 分类及致病性

ADV 颗粒直径 60~90 nm, 没有囊膜, 20 面体立体对称, 衣壳由 252 个微粒组成, 包括 240 个六邻体壳微粒和位于 20 面体顶端的 12 个微粒是五邻体。其中的 240 个壳微粒是六邻体是病毒的主要抗原性蛋白, 含有型, 型间, 属特异性抗原表位及中和性表位等大量的抗原表位, 也是群特异性抗原^[3], 具有组特异性 α 抗原, 目前已经对其结构和功能进行了广泛研究^[3-4]。位于 20 面体顶端的 12 个微粒是五邻体, 每个五邻体由基底和伸出表面的一根末端有顶球的纤维组成。基底具有毒素样活性, 能引起细胞病变, 并使细胞从生长处脱落, 具有同组共有的 β 抗原。纤维与病毒凝集大白鼠或恒河猴红细胞活

性有关, 是型特异性 γ 抗原所在。并且在壳体周围没有脂质体外鞘, 而是直接作用于宿主细胞能引起人类呼吸道、胃肠道、泌尿系统及眼的疾病, 少数对动物有致癌作用。

ADV 血清型的确定是根据感染性中和反应, 直接针对六邻体蛋白的中和抗原决定簇, 血清型又根据核苷酸的同源性、纤维蛋白的特性及生物学特性^[3, 5]。目前鉴定的有 57 个血清型(HADV 1~57), 分为 7 个亚属: A(12、18、31), B(3、7、11、14、16、21、34、35、50、55), C(1、2、5、6、57), D(8、9、10、13、15、17、19、20、22、23、24、25、26、27、28、29、30、32、33、36、37、38、39、42、43、44、45、46、47、48、49、51、53、54、56), E(4), F(40、41)和 G(52)。主要基于免疫学标准的人血清型划分, 已经由于历史原因而成为 ADV 分类的基础, 中和试验和血凝抑制试验可鉴定 ADV 型别。

ADV 是引起人类呼吸道和消化道感染的重要病原之一, 其中, C、E 和部分 B 亚属是呼吸道疾病的主要病因, 其他 B 亚属 ADV 引起尿路感染, A 和 F 亚属引起消化道感染, D 亚属是角膜炎、结膜炎的主要病因^[6]。F 和 G 亚属为肠道 ADV。由 ADV 感染造成疾病的严重程度还取决于感染个体的年龄和免疫状态^[7]。

人群中 ADV 可分布于人的腺体组织、扁桃体和肠系膜淋

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81202346); 广东省自然科学基金资助项目(S2012040006216)。