

裂解素簡易測定法

臧人杰 产美英 程安余

(上海第二医学院微生物学教研组, 上海)

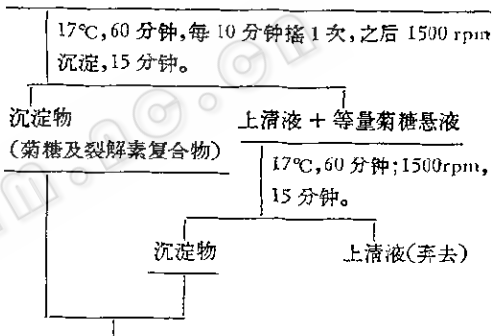
自 1954 年 Pillemer 等发现裂解素并进而证明其非特异的杀菌作用后^[1,2], 引起了免疫工作者极大重视^[3-6]。但裂解素的测定方法很多, 自 Pillemer 等人之酵母多糖法问世后, 至今已有许多改良法。在参照各种改良法的基础上, 我们设计了下列简易法, 并认为这是一个简便易行的方法。

实验中所用被测血清、致敏绵羊红血球、豚鼠血清皆按一般补体结合试验准备。稀释液用 pH 7.4 巴比妥缓冲液^[2]。菊糖为国产者, 经研细后制 4 毫克/毫升悬液, 以缓冲液洗 3 次备用。实验中所用豚鼠血清必须先经标准化。方法为取豚鼠血清作变量稀释, 加定量致敏羊血球。取恰能引起致敏羊血球作 50% 溶血的稀释度为正式实验中所用豚鼠血清之稀释度。

被测血清 2 毫升加菊糖悬液 (4 毫克/毫升), 置 17°C 水浴中 60 分钟, 每 10 分钟振荡 1 次。离心沉淀, 1500 rpm, 15 分钟。分离上清液, 再加等量菊糖悬液, 置 17°C 水浴, 60 分钟, 并离心。取沉淀与第 1 次离心后之沉淀置一处。2 次离心后之沉淀经缓冲液洗涤两次后, 加缓冲液使达 2 毫升。如是制成之菊糖与裂解素的复合物悬液 0.5 毫升, 作对倍稀释, 并加标准化之豚鼠血清 0.5 毫升, 37°C 水浴, 60 分钟后, 各管加致敏羊血球 2.0 毫升, 再 37°C 水浴, 30 分钟后观察结果。以最高

稀释度而能引起 50% 溶血者为终点。以终点稀释度的倒数作为裂解素的单位。表示如下:

被测标本 2 毫升 + 菊糖悬液 (4 毫克/毫升) 2 毫升



以缓冲液洗 2 次后, 加缓冲液 2 毫升, 制成悬液。取后者作稀释, 并按序加下列试剂。

菊糖及裂解素复合物	稀释度	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
各管内液量(毫升)		0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
标准化之豚鼠血清(毫升)		0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5

37°C 水浴, 60 分钟后各管内加致敏羊血球 2

本文为中国微生物学会 1963 年学术年会转稿。

毫升。再 37℃ 水浴, 30 分钟后观察结果。

菊糖对照管内为菊糖悬液(4 毫克/毫升) 0.5 毫升, 加标准化豚鼠血清 0.5 毫升。

用本法测定豚鼠血清之裂解素为 2—4 单位, 成人 8—16 单位, 猪为 16—32 单位, 大白鼠及家兔为 32 单位。菊糖无抗补体现象。

根据许多作者的建议^[7-10], 我们应用菊糖(一种果糖组成的多糖)以代替酵母多糖。结果证明同样有效。根据 Pillemer 等报告, 豚鼠血清中裂解素含量为 1—2 单位/毫升, 人为 4—8, 家兔为 4—8, 猪为 8—12, 大白鼠为 25—50。这与我们测得的结果基本相符。仅家兔测得的结果较高。又曾在 7 例灼伤病人中发现 1 例灼伤超过 30% 者, 裂解素不能测得(<1:1), 而 3 度灼伤仅 6—10% 者仍维持正常水平。测定例数虽不多, 但也符合一般文献报告之结果。

由于豚鼠裂解素含量很低而补体含量很高, 因此根据某些作者^[7,8,11]的意见, 我们认为直接用豚鼠血清以代替 Pillemer 酵母多糖法中之 RP 这一点, 甚为可取。因为, 豚鼠血清在以酵母多糖处理使成为 RP 的过程中, 其中补体含量要受到一定影响, 耗用一定量的豚鼠血清。同种动物的裂解素在正常情况下总是较为恒定的, 故豚鼠的一定的裂解素可作为一常数计入, 而不至于影响实验结果。

Pillemer 氏酵母多糖法中一个较大的缺点是没有计入被测标本中补体的含量。补体的含量在不同个体中是不同的, 而在同一个体中, 不同时期也有差别。因此, 必须考虑被测标本中补体的含

量。根据 Bianchi^[10] 等人意见, 我们先将被测标本与菊糖悬液 17℃ 作用, 离心后则被测之沉淀物制成之悬液中, 无被测标本中之补体, 可免除后者之干扰。测定时, 试管中用以反映裂解素含量的补体含量, 完全是后来加入之标准化豚鼠血清中的, 而与被测标本中之补体无关。

为了简化裂解素测定法, 我们根据上述原则设计了本实验。根据在各种动物中含量的测定, 初步已肯定此方法的准确性。

参 考 文 献

- [1] Pillemer, L. et al.: *Science*, **120**:279, 1954.
- [2] Pillemer, L. et al.: *J. Exp. Med.*, **103**:1, 1956.
- [3] 臧人杰等: 免疫学进展, 15—43 页, 上海科学技术出版社, 1962.
- [4] Wedgwood, R. J.: *The Properdin System and Immunity, in Immunity and Virus Infection*, p. 56—70, 1959.
- [5] Isliker, H.: *The Properdin System, in Immunopathology*, 1958.
- [6] Коников, А. П. и Теккор, В. А.: *Система Пропердина Успех Современной Биологии*, **49**:54—70, 1960.
- [7] McNall, E. G.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **94**:399, 1957.
- [8] Яковлев, А. М., Комлева, Т. Г. и Яковлева, С. Д.: *Ж.Н.Э.Н.*, (3):58, 1960.
- [9] Denitt, H. et al.: *Am. J. Clin. Path.*, **29**:128, 1958.
- [10] Bianchi, V. et al.: *Acta. Haemat.*, **21**:295, 1959.