

脂蛋白 A_I 与 A_I:A_I 颗粒的分离测定

董 军 蒋 雷 李健斋

(卫生部北京老年医学研究所 北京医院, 100730)

传统的脂蛋白分类方法根据密度差别分为高、低和极低密度脂蛋白, 其中高密度脂蛋白(HDL)与动脉粥样硬化呈负相关, 载脂蛋白 A_I 是 HDL 的主要蛋白质, 也与动脉粥样硬化呈负相关, 但要获得准确的脂质转运, 用密度分类脂蛋白就有缺陷, 因为脂蛋白的结构性能及代谢都受载脂蛋白的控制, 而根据密度分类的每种脂蛋白都是不均一的混合物, 都含有可分的载脂蛋白。所以现在国外许多研究都以脂蛋白颗粒为起点。以载脂蛋白为基础, 可将血清 HDL 分为含有载脂蛋白, 且具有不同代谢功能和临床意义的脂蛋白颗粒: 一种同时含有载脂蛋白 A_I 和 A_{II}; 另一种只含载脂蛋白 A_I 无 A_{II}。有报道指出, 动脉粥样硬化病人脂蛋白 A_I 比正常人低, 而脂蛋白 A_I:A_{II} 没有变化, 说明 HDL 抗动脉粥样硬化功效在于脂蛋白 A_I 而不是脂蛋白 A_I:A_{II}, 脂蛋白 A_I 水平是优于 HDL 和载脂蛋白 A_I 的动脉粥样硬化预测指标。

用凝胶过滤 HPLC 分离纯化 HDL 中的载脂蛋白 A_I 和 A_{II}, 分别用它们免疫家兔制备抗血清, 用饱和硫酸铵沉淀法纯化抗载脂蛋白 A_I、A_{II}-IgG。溴化氰活化的 Sephrose-4B 溶胀后交联抗载脂蛋白 A_I-IgG (10 g 蛋白/L gel), 制备亲合层析柱, 柱子用 10 mmol · L⁻¹ 磷酸盐缓冲液, pH7.0 平衡后, 5 ml 新鲜血清过柱, 用 3 mol · L⁻¹ 硫氰酸钠

洗脱得脂蛋白 $A_1 : A_2$, 收集未保留成份, 经鉴定不含载脂蛋白 A_1 后过抗载脂蛋白 A_1 -IgG 亲和层析柱, $3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硫氰酸钠洗脱得脂蛋白 AI , 透析, 用免疫双扩散和火箭电泳鉴定脂蛋白 A_1 和 $A_1 : A_2$ 。

用火箭电泳测定脂蛋白 A_1 , 在约 55°C , 1% 琼脂糖中加入载脂蛋白 A_1 抗血清 $20 \mu\text{l}$, 载脂蛋白 $500 \mu\text{l}$, 混匀, 浇板 ($7 \text{ cm} \times 10 \text{ cm}$), 各样品孔中分别加入 $5 \mu\text{l}$ 不同比例稀释的脂蛋白 A_1 参考血清 (用纯脂蛋白 A_1 定值) 及血清标本, 电泳条件为 30 mA/板 , 3 h , 当 A_1 抗体量很大时, 脂蛋白 $A_1 : A_2$ 迁移率很低, 脂蛋白迁移率高并与载脂蛋白 A_1 抗体反应形成较高的峰, 以参考血清脂蛋白 A_1 值作标准曲线, 计算标本脂蛋白 A_1 值、用各标本载脂蛋白 A_1 减去脂蛋白 AI 值即为脂蛋白 $A_1 : A_2$ 。方法学研究正在进行中。