

现代药物分析论坛

XIAN DAI YAO WU FEN XI LUN TAN

中 国 药 学 会

中国药学杂志编辑部编

(2001年版)

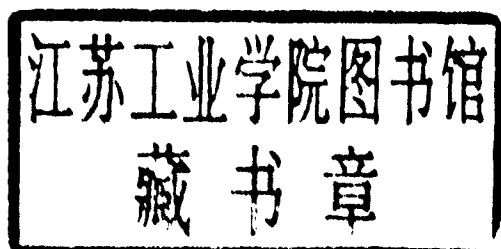


新 华 出 版 社

现代药物分析论坛

(2001 年版)

中国药学会中国药学杂志编辑部编



新 华 出 版 社

图书在版编目(CIP)数据

现代药物分析论坛(2001年版)/中国药学会中国药学杂志编辑部编.
北京:新华出版社,2001.9
ISBN 7-5011-5362-0

I. 现... II. 中... III. 药物分析—文集
IV. TQ460.7-53

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2001)第 063506 号

现代药物分析论坛(2001年版)
中国药学会中国药学杂志编辑部 编

*

新华出版社出版发行
(北京宣武门西大街 57 号 邮编:100803)

新华书店 经销

北京林业大学印刷厂印刷

*

787×1092 毫米 16 开本 25.25 印张 665 千字
2001 年 9 月第一版 2001 年 9 月北京第一次印刷
ISBN 7-5011-5362-0/R·61 定价:80.00 元

内 容 简 介

本书收录了近两年来药物分析方面的研究论文 180 篇。其内容涵括了药物分析学科各个领域,既有分析理论方法的基础研究,又有分析技术的各种应用实例和经验,还有综述。全书以仪器分析为主介绍新技术、新方法的应用,同时也有对经典及过去常用分析方法的改进与提高的部分内容,此外对一些药品质量标准拟定的建议也有收载。

全书是对国内近两年来药物分析研究与应用的总结,也是中国药学杂志编辑部继 1999 年编辑出版该书后,为广大药物分析工作者策划编辑的又一部专业读物。

本书可供从事药物分析工作的研究人员、医药院校师生阅读、参考。

本次论文交流会是由中国药学会药物分析专业委员会和中国药学杂志合作举办的第 5 次论文报告会,会上将进行大小会的交流,并评出一,二,三等岛津杯奖。我们认为这将对促进我国药物分析技术交流起到促进作用。

编委名单

名誉主编
主 编
编 委

周海钧

田颂九 孙曾培

(以下按姓氏笔画为序)

丁丽霞 马佳雯 王慕邹 田颂九

孙曾培 刘维杰 赵 曦 章 捷

韩 凤 戴 罡

岛津新一代一体化高效液相色谱仪

High Throughput HPLC

LC-2010

High Throughput

提高分析效率…

大幅度提高了进样速度和样品处理能力



Automation

分析的简化…

使常用的分析操作自动化

Validation

实现更高水平的有效性确认…

有效性检验自动完成, 在更高层次上
全面支持 GLP / GMP

Ease of Use

轻松操作…

直观易懂的操作体系大大减轻了
用户的负担



We HAVE it all !!

岛津 LC 系列用工作站

CLASS-VP ver.6.1

CLASS-VP Ver.6.1 为 LC 系列专用的工作站, 图解式画面与魔块功能, 使操作直观易行。以 Windows NT 为基础, 具备强有力的保密、电子署名、电子记录 (21 CFR Part 11) 等功能, 满足 FDA 法规的要求。进一步提供最新的网络系统, 适应因特网, 具备遥控、E-mail 等功能。

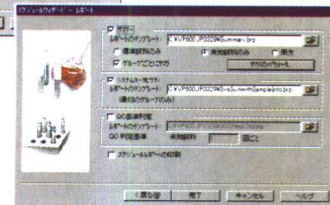
起动魔块功能



分析条件设定主画面



设定进样顺序



设定报告格式

具备未来液相色谱所需的...

岛津高效液相色谱仪

LC-VP 系列



高可靠性, 高灵敏性, 完善的法规认证, 智能化的自我评定, 故障诊断功能, 操作简便, 低成本, 高效率。各单元间数据传送使用光导纤维。积木式结构, 可组成离子色谱、氨基酸、GPC、有机酸、糖等多种分析系统。

岛津高效液相色谱-质谱联用仪

Liquid Chromatograph Mass Spectrometer

LCMS-2010

具有难挥发性·热不稳定性等难以处理的化合物分析, 复杂基体中的微量物质分析·超高灵敏度分析...等等, 今天, 对分析水平的要求越来越高。

岛津高效液相色谱-质谱联用仪LCMS-2010, 是您解决分析难题的有效手段之一! 新结构、多功能、轻松操作...

LCMS-2010 特长

Hardware

- NEW** Angle Spray (角度喷雾)
新设计的大气压离子化源
- NEW** Block Heater (模块加热器)
通过强化脱溶剂及保护 CDL 提高稳定性
- NEW** Curved Desolvation Line(CDL)
采用曲型脱溶剂管, 有效地脱溶剂·导入离子
- NEW** QoQ System (QoQ 系统)
新设计的离子光学系统, 提高离子透射率 (灵敏度)
- NEW** Source Window (观察窗)
掌握雾化效果及大气压离子化的状态

Software

- NEW** Multi Sequence Mode (多顺序方式)
一次进样以多个条件顺序测定的功能
- NEW** Photo Diode Array (光电二极管阵列检测器)
可配用光电二极管阵列检测器
- NEW** LCMSolution (LCMS 软件)
追求操作简便的工作站, 轻松使用多种功能



 島津製作所

岛津香港有限公司北京代表处
北京岛津分析中心
岛津香港有限公司上海代表处
岛津香港有限公司沈阳代表处

(024) 2383-6735

岛津制作所国际本部

都代表处
州代表处

(028) 619-8421
(020) 8666-3388 分机 2605, 2607
(00852) 2375-4979
81 (3) 3219-5700

目 次

蛋白质组学研究的分析技术新进展	陈执中(1)
人血液和头发中微量铜分析方法进展	刘丽鹤,李好枝(3)
柱切换技术在 HPLC 测定生物样品中的应用	李瑛琦,李好枝,于治国等(9)
探索中药生物效应鉴定法新路,实现中药质量研究规范化	王秀坤,李家实(13)
近几年国内外药物分析的进展	潘霖,穆殿萍(21)
2000 年抗生素类药品细菌内毒素检查法的研究	汪穗福,颜可智,伍利锋(25)
生化药细菌内毒素检查法的研究	汪穗福,霍燕兰(29)
液相色谱-质谱-质谱联用法同时测定人血浆氯雷他定和去羧乙氧基氯雷他定	杨汉煜,陈笑艳,徐海燕等(34)
RP-HPLC 测定西尼地平含量及有关物质的方法学研究	陈鉴东,戴巧雅,鲍立曾(37)
柱前衍生、反相液相色谱法测定血浆中盐酸金刚乙胺	葛庆华,周臻,王浩等(38)
高效液相色谱法比较三厂家注射用七叶皂苷钠的质量	曾艳,沈芊,王淑洁等(42)
高效液相色谱法同时测定血清中氯氮平及两种主要代谢物	翟屹民,李文标,王传跃等(44)
HPLC-ELSD 法测定扶肾祛毒胶囊中黄芪甲苷的含量	李曼玲,冯伟红,康琛等(47)
HPLC 测定 Clear-flex 容器中可能污染物 Irganox 1010 方法的研究	王丽琴,刘树春(49)
HPLC 测定阿司匹林-缓释双嘧达莫胶囊中双嘧达莫微丸的含量	周晖,孙长山,霍桂兰(51)
HPLC 测定茵陈蒿汤颗粒液与合煎液中栀子苷含量	周飞,李霞,曹佩雪等(52)
HPLC 测定血栓通注射液中人参皂苷 R_{g1} 和人参皂苷 R_{b1} 的含量	陈志刚,常增荣,甄健存等(55)
中药栀子 HPLC 指纹谱的研究	李楠,宋河远,崔丽钧等(57)
HPLC 同时测定复方三氮唑核苷滴鼻液中的三氮唑核苷、马来酸氯苯那敏、对乙酰氨基酚的含量	仲卫华,庾玉玲,路亚筠(59)
HPLC 测定布洛芬片的含量	陈祖芬,王锦文(61)
HPLC 测定丹参中原儿茶醛的含量	孙兰香,雷凯琴,包冬香等(62)

高效液相色谱法同时测定配伍输液中 3 组分	王煜, 刘世庆(64)
HPLC 测定复方盐酸萘甲唑林(乎泰)喷雾剂中盐酸萘甲唑林和马来酸氯苯那敏的含量	黎志芳, 梁建武(66)
HPLC 测定维 C 银翘片中的 VC 含量	兴宇清, 李孟全, 丁伟蛟等(68)
高效液相色谱法测定桂枝茯苓胶囊中丹皮酚含量	符翠莉, 陈英(70)
反相高效液相色谱法测定五味子甲素的血药浓度	王茂义, 董海燕, 陈勇钢(71)
柱前衍生 RP-HPLC 快速测定多肽及氨基酸含量	刘海静, 杨昭鹏, 廖海明等(73)
反相高效液相色谱法测定氢溴酸高乌甲素含量	张雪菊(75)
RP-HPLC 测定迪维霜和维 A 酸凝胶中维 A 酸的含量	徐莲琴, 徐晓红, 李丙阳等(77)
反相高效液相色谱法测定丁香中丁香酚的含量	刘文民, 崔同(79)
RP-HPLC 测定沙尔威辛原料及注射液的含量	魏玲, 俞如英(80)
RP-HPLC 测定维生素 D ₂ 包合物中 VD ₂ 的含量	王晖, 赖家维, 陈梅荣(83)
HPLC 同时测定人血浆中霉酚酸酯的活性代谢物霉酚酸及其葡萄糖苷酸	宋洪杰, 胡晋红, 刘海东(85)
离子对 HPLC 测定复方甲硝唑片中甲硝唑和维生素 B ₆ 含量	伏光华(88)
非水反相液相色谱-蒸发光散射检测法测定知母药材菝葜皂苷元成分的含量及对人参、西洋参药材人参二醇的分离分析	姜舜尧(90)
HPLC 测定五味通栓口服液中黄芪甲苷的含量	鲁燕侠, 梁丹, 崔佳等(92)
HPLC 测定苯噻啉的含量	王雪芹, 李纬, 俞如英(94)
HPLC 测定血塞通滴丸中人参皂苷 R _{g1} 和三七皂苷 R ₁ 的含量	高钢, 郝心敏, 徐华等(95)
HPLC 测定元宝草中金丝桃素的含量	曾虹燕, 周朴华, 侯团章(97)
HPLC 测定注射用己酮可可碱的含量	苏显英, 高书文, 徐敬华(98)
HPLC 测定单硝酸异山梨酯葡萄糖注射液单硝酸异山梨酯的含量	熊志坚, 张佐, 陈洪玮等(100)
高效液相色谱法测定碳酸钙颗粒剂中微量维生素 D ₃ 含量	张学农, 周慧, 苗爱乐等(102)
HPLC 和 UV 法测定头孢拉定注射液含量的比较	李捷伟, 王彬, 张国庆(105)
HPLC 测定惠加强-G 片中吉法酯的含量	刘丽芳, 余嘉璇(107)
HPLC 测定盐酸头孢他美酯含量	邹元宵, 缪建荣, 谭新华(109)
高效液相色谱法测定逍遥丸中芍药苷的含量	于兆安(110)

高效液相色谱法测定养血生发胶囊中大黄素的含量

- 王丽娟,寿国香(112)
- HPLC 测定青木香中尿囊素的含量..... 赵霓,李宁,石盛发(113)
- HPLC-ELSD 测定匙羹藤总苷中皂苷 C 的含量
- 姜振喜,丛晓东,刘万卉(115)
- HPLC 测定阿昔洛韦片中阿昔洛韦的含量..... 谭瑞威,李兵,罗浩章(117)
- HPLC 测定滴鼻灵中地塞米松磷酸钠含量
- 田军,陈新善,王瑞冬(119)
- HPLC 测定注射用更昔洛韦的含量..... 毛建新,杨卫,马锦星(120)
- 高效液相色谱法测定溃疡宁胶囊中靛蓝的含量
- 张兰苓,徐刚,寿国香(122)
- HPLC 中流动相配比的改变对峰位的影响
- 翟遵兰,张保中,田永庆等(123)
- HPLC 测定复方黄芩片的溶出度..... 刘淑华,黄雪梅(124)
- HPLC 测定格列吡嗪片的含量..... 鲁秋红(126)
- 紫外与 HPLC 测定盐酸班布特罗的含量..... 魏华,陈珊,王卫兵(128)
- RP-HPLC 测定复方银杏叶胶囊中银杏总黄酮的含量
- 陈梅荣,杨义芳,王晖(130)
- 反相高效液相色谱法同时测定 7 种头孢菌素的研究
- 张冬,林剑梅,刘铁钢等(132)
- 苦参碱及其制剂含量测定方法的研究概况..... 梁霞,新建中(135)
- 马钱子及其复方制剂含量测定方法概述..... 何琳(137)
- 丹参及其制剂的 HPLC 分析研究概况..... 孙忠亲,孙红岩(140)
- 中药三七皂苷成分指纹图谱分析方法的研究..... 粟晓黎,林瑞超(144)
- 天然和人工冬虫夏草中糖醇类成分的高效液相色谱分析
- 李绍平,董婷霞,苏子仁等(149)
- 复方丹参片的质量比较..... 张翠莲,张伟琪,杨秀斌等(151)
- 西尼地平片质量标准的研究..... 新建中,梁霞(154)
- 参芪五味子口服液质量标准的研究..... 夏曙辉,倪江洪,王曙东等(156)
- 转移因子口服液中附加剂对鉴别和含量测定的影响..... 嵇扬(159)
- 愈溃宁颗粒的质量标准研究..... 索菲亚,赵晔,陈世忠(160)
- 醋酸地塞米松片含量测定方法的改进..... 燕朝丽(163)
- 马来酸罗格列酮胃漂浮缓释片人体药动力学研究
- 冯浩,王智民,陈大为(165)
- 甲睾酮片含量均匀度测定方法的改进..... 王静华,李淑运,张杨(168)
- 益肾灵胶囊质量标准化研究 I..... 周玉新,翟为民,袁永生等(169)
- 复方丹参口服液质量标准的研究..... 邓淑渊,刘再娥,叶放(172)
- 明珠片质量标准的研究..... 刘志红,杨兰珍,钟静华(175)

6 种尼莫地平片剂的溶出度考察	范金红,高尚伟,田作明等(178)
格替沙星溶出度检查方法的建立	罗卫东,陈前进(180)
甲巯咪唑片溶出度测定的研究	刘玉华,祝希梅(182)
胞二磷胆碱注射液与 3 种输液配伍后的稳定性研究	安凤山,段夕军(184)
红霉素在 210 min 内抗菌活性受 pH 值和温度影响的考察	雷波,唐冀兰(186)
盐酸托泊替康胶囊溶出度测定方法的研究	刘言,陈蕾,王宏扬(188)
盐酸仑氨西林片溶出度测定方法的研究	米亚娟,王丽琴,刘树春等(190)
临床十二种催眠镇静类药物中毒 HPLC 系统分析方法	王峰,李焕德,冯军等(193)
蒙药扫日劳-4 颗粒剂的质量标准研究	新建中,刘宏,吴育荭(196)
肌昔片溶出度测定方法的研究	王旭,张君(198)
46 种药品的显色法快速筛选	刘红卫,王国华,钟晓伟(200)
喜宝胶囊中淫羊藿苷的含量测定	朱志峰,蓝和楼,郭民生等(202)
苦杏仁中苦杏仁苷的反相 HPLC 测定	徐韧柳,刘铁钢,吴广(203)
复方甘露醇注射液中甘露醇的含量测定的研究	刘智,黄武军,王婴等(205)
精制脑组织注射液细菌内毒素检查法的研究	陈邦树,黄宁,利创锋(207)
胃舒宁颗粒质量标准研究	冯丽,戴敬,刘永利等(209)
富马酸酮替芬片溶出度测定方法的研究	王旭,张君,薛莉莉(211)
不剥糖衣测维 C 银翘片中维生素 C 的含量	黄海燕,钟建理(213)
健男春胶囊质量控制方法的研究	潘馨(215)
环丙沙星对 UV 法监测氨茶碱血药浓度的影响	马全华,付少农(216)
复方氢化可的松滴鼻液中氢化可的松和扑尔敏的含量测定	亓爱华,曲荣广,王建秀(218)
奥沙普嗪分散片溶出度方法学考察	孟亮,崔英斌(220)
右旋糖酐及其制剂的相对分子质量及相对分子质量分布的比较	汪正炎(222)
多索茶碱口服溶液有关物质检测方法	孟亮,崔英斌(224)
马日拜热斯丸剂的体外释放度的研究	阿依古丽,阿依帕夏(225)
乳酸环丙沙星滴眼液的含量测定及稳定性试验	徐今宁,龙卿(227)
氯霉素滴眼液含量测定新方法的实验研究	苏英,张茂(228)
苯丁酸氮芥的二阶导数差示脉冲极谱法定量研究	高继兰,刘云,梁云爱(230)

氧氟沙星注射液细菌内毒素检测研究	周艳(233)
岩宁胶囊中虫草素的含量测定	朱莹, 李宁, 刘广河(235)
藏药晶珠糖尿肾康胶囊质量标准研究	杨凤梅(236)
注射用氨苄西林钠细菌内毒素检测方法的探讨	王翠蓉(238)
全子强身液质量标准修订	杨艳, 连云岚, 李利芬(239)
肌苷注射液稳定性考察	李国香, 张晓莲, 李仁花等(240)
氟罗沙星胶囊的鉴别及含量测定	蒋勤(241)
甲硝唑有关物质研究	胡兵, 王雪琴, 俞如英(243)
对中成药包衣片剂片芯质量检验的一点建议	童娅(245)
薄层色谱专家系统及其在药物分析中的应用	
	邱欣, 班允东, 孙毓庆(247)
二维薄层色谱优化分离 5 种头孢菌素类药物	邱欣, 李辛, 孙毓庆(249)
使用微机和平板扫描仪测量抑菌圈直径	李刚, 张蓓, 宋莉等(251)
黄芪 TLC 指纹图谱的检测方法研究	赵怀清, 马英丽, 王学娅等(254)
薄层扫描法测定决明子及其制剂银屑灵中大黄酚的含量	
	王慧春, 宗玉英, 陈岳蓉(257)
薄层扫描法测定复方胃特安胶囊中黄芪甲苷含量	
	王颖, 刘永强, 王本祥(259)
薄层扫描法测定复方片仔癀软膏中人参皂苷 R_{g1} 的含量	
	李珊珊(260)
单波长薄层扫描法测定补肾强体胶囊中人参皂苷 R_{g1} 的含量	
	段吉平, 葛智鑫, 冯丽等(262)
薄层扫描法测定太极通天液中阿魏酸的含量	李欣, 金瑛, 薛静等(264)
紫外分光光度法测定酮康唑洗剂的含量	牛玉娟, 张世轩(267)
紫外分光光度法测定利巴韦林葡萄糖注射液含量	张军(268)
紫外分光光度法测定乳酸依沙吡啶注射液的含量	
	周凯, 吴美香, 李小花等(269)
紫外分光光度法测定复方甲硝唑漱口液中甲硝唑的含量	
	林秋英, 李枝端(270)
紫外分光光度法测定氧氟沙星乳膏的含量	
	涂金兰, 饶丹, 胡永乾等(271)
紫外分光比色法测定罗红霉素片的含量	周凯, 吴美香(272)
紫外分光光度法测定复方替硝唑含漱剂的含量	
	初景波, 马明磊, 王伟滨等(273)
紫外分光光度法测定维生素 C 5 种制剂含量	刘晓华, 张云姣(275)
用近红外光谱法测定黄连中小檗碱含量的初步研究	
	赵环环, 周宏雷, 严衍禄(275)
高效毛细管电泳法测定环孢素 A 血浓度及其临床应用	

.....	段京莉,翟所迪,严宝霞(278)
研究药物-蛋白结合作用的亲和毛细管区带电泳法	
.....	周大炜,李发美(282)
高效毛细管区带电泳法拆分手性药物羟丙哌嗪	牛长群,祝仕清(286)
高效毛细管电泳法测定川芎中阿魏酸和腺苷的含量	
.....	孙沂,李发美,郭涛等(288)
程序升温毛细管气相色谱法测定小茴香中反式茴香脑的含量	
.....	聂凌云,吴玫涵,刘云(291)
填充毛细管电色谱柱的制备及评价	宁保明,徐秉玖,俞如英(294)
高效毛细管电泳法测定氨苄青霉素与羟氨苄青霉素的含量	
.....	田勇,安彦,郭成明(297)
毛细管电泳法作 L-AS 中 D-AS 的杂质检查研究	
.....	刘长海,柴逸峰,张国庆(300)
喹诺酮类药物光降解动力学及光降解反应机理的研究进展	
.....	饶春意,陆惠文(304)
血浆中氨氯地平对映体浓度的手性高效液相色谱法测定	
.....	邢翔飞,朱景升,金桂兰(307)
人血清中内酯型和羧酸型 10-羟基喜树碱的 RAM-HPLC 测定法	
.....	马骏,谢景文,贾正平等(309)
头孢唑啉钠在不同年龄和慢性肾衰患者体内药动学研究	
.....	陈弘博,高旺(313)
红花明苷 A 在大鼠体内的药动学研究	宋吉伦,朱海波,王涛(315)
盐酸西替利嗪片在中国健康青年男性体内的药动学	
.....	赵红卫,秦玉花,梁新亮等(317)
格列本脲人体血浆浓度测定方法及药动学特性	
.....	杨敏,余细勇,欧晓鹏等(320)
布洛丁注射液细菌内毒素检查法的研究	陈邦树,利创锋,黄宁(325)
特异性鲎试剂动态浊度法分析葡萄糖注射液鲎试验的假阳性	
.....	肖贵南,吴招娣,陈晓芳等(327)
鲎试法检测氧氟沙星注射液热原的研究	
.....	李志华,徐杰远,许让翻等(330)
动态比浊法鲎试验定量测定灯盏花素注射液中细菌内毒素含量	
.....	劳海燕,林秋晓,刘秋琼(331)
细菌内毒素检查法的改进	杨务彬,王先军,王丹(333)
微薄膜固定相离子对反相高效液相色谱在 DNA 分离与测定中的应用	
.....	陈泽宪(336)
用 ¹³ C-NMR(COM,INEPT,DEPT)数据和 MS 数据计算化合物的分子式	
.....	余志立,武燕彬,陈晓芳(339)

黄芩药材指纹图谱的研究	刘万卉,徐本明,李敏(341)
生物样品中叶酸的磷光分析	黄如衡(344)
玻碳电极伏安法测定洛美沙星	黄玲,李勋(346)
中药半夏的 DNA 分析与分子鉴别	曹晖,刘玉萍,毕培曦等(348)
紫花地丁习用品早开堇菜的生药学研究	张继庆(352)
阴离子表面活性剂滴定法测定磷酸苯丙哌林颗粒的含量	王守双,高爱军(354)
药用白垩抽样矿物学研究	张军,刘兴志(355)
正交试验法优选活血通络口服液提取工艺	王秀萍,李玉莲,孙燕等(357)
非理想状态下的塔板理论模型	王少坤,夏芸,汪圣利(359)
用 HPLC 研究影响双氢青蒿素异构体转化因素	刘宁,杨腊虎,俞如英(362)
磷酸咯萘啶含量测定方法探讨	王雪芹,王巨才,俞如英(363)
药典微生物限度检查菌落计数规则的数学表达	蔡长坤,杨友兰,吴其新等(365)
联立方程组新解法测定勃氏合剂的含量	习丹,唐三保,刘宝珍等(366)
动态浊度法定量检测大蒜注射液中细菌内毒素	孙燕,吴激,韩文斌等(368)
色差法确定化学反应终点的研究	佟宝光(370)
气相色谱法测定黄连配伍肉桂前后桂皮醛的含量	徐艳春,魏璐雪,王亚丽(373)
气相色谱法测定紫金胶囊中麝香酮含量	袁劲松,汤翠娥(375)
GC 测定复方丹参颗粒中冰片的含量	韩学静,郭瑞峰,张哲峰等(376)
GC-MS MS 检测河水中的五氯酚	魏万里(378)
双波长分光光度法测定复方卡托普利片的含量均匀度	金华,金鹏(380)
流动注射-分光光度法测定吡拉西坦制剂的方法研究	汪海涛,郎惠云,刘晓峰等(382)
差示分光光度法测定苯酚滴耳液中苯酚的含量	战克勤,山广志(384)
旋光法测定痤疮露中红霉素含量	刘景,孙燕,李玉莲等(385)
药品红外鉴别、检查的判断与讨论	孙国新(386)
旋光法测定单磷酸阿糖腺苷的含量	徐明全(389)
CD-MEKC 测定山茱萸中齐墩果酸和熊果酸的含量	李捷伟,柴逸峰,佟强等(390)
砷斑标准比色卡的研制及应用	唐秀忠,孙立伟,赵晓枫(393)
比较两种指示剂对氯化钙含量测定的影响	陈建平(395)

蛋白质组学研究的分析技术新进展

陈执中 (复旦大学药学院, 上海 200032)

摘要:目的 综述近几年发展起来的蛋白质组学研究的分析技术及其应用进展。方法 根据近年有关文献对二维凝胶电泳和质谱结合的分析技术,毛细管等电点聚焦-傅里叶转换离子回旋加速共振质谱法及酵母双杂交方法的蛋白质-蛋白质相互作用综合分析进行了讨论。结果与结论 这几种分析技术在蛋白质鉴定和蛋白质功能分析及蛋白质-蛋白质相互作用等蛋白质组学研究方面有广阔的应用前景。

关键词:蛋白质组学研究;二维凝胶电泳-质谱法;毛细管等电点聚焦-傅里叶转换离子回旋加速共振质谱法;酵母双杂交法

2000年4月9~12日在加拿大温哥华召开了2000年国际人类基因组会议,提出人类基因组今后发展的研究领域和前沿课题。人类基因组计划(human genome project, HGP)在基因组作图和序列框架图方面已取得了很大的进展。随着HGP的突破性发展,开始对功能基因组学包括蛋白质组学掀起了研究的热潮,有关蛋白质组学研究的分析技术也有了新的进展。

1 蛋白质组学的研究领域

蛋白质组学(proteomics)是蛋白质的规模化研究,从蛋白质水平和生命本质层次上研究和发现生命活动的规律和重要生理、病理现象的本质,揭示基因活性的动态表达。蛋白质水平的分析不仅为生物分子体系提供最有效的实时分析模式而且也获得在DNA和RNA水平上不易获得的信息。蛋白质的规模化分析将大大有助于我们在后基因组时代了解基因功能。

蛋白质组学可分为三个主要领域:①蛋白质的微特性供蛋白质的规模化鉴定和它们的后翻译修饰;②“差异显示”蛋白质组学供蛋白质水平与疾病在广泛范围的有力应用比较;③应用特定的分析技术如质谱法或酵母双杂交系统研究蛋白质-蛋白质相互作用。

2 二维凝胶电泳和质谱结合的分析技术

二维凝胶电泳法(two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis, 2D-PAGE)。虽然早在20世纪70年代即由O'Farrell^[1]建立并用于蛋白质的分离,但直至20世纪90年代才用于蛋白质组学的研究^[2~4]。

Henzel等^[5]提出应用“肽-质量图谱”(peptide-mass mapping)进行蛋白质的鉴定。大肠杆菌(*Escherichia Coli*)细胞表达人生长激素经溶胞后进行二维凝胶电泳,然后从凝胶电泳斑点在原位还原、烷基化及胰蛋白酶酶解,用基质辅助激光解吸-离子化质谱法(MALDI-MS)进行测定。本方法应用于粗大肠杆菌提取物二维凝胶电泳10个斑点的分析,从超过91 000蛋白质序列数据库,鉴定了其氨基酸序列,微微克分子(picomole)以下可以测定。10个斑点的N-末端氨基酸序列分析结果见表1。

1997年Jensen等^[6]及1999年Berndt等^[7]分别提出了应用模糊逻辑学反馈对照的MALDI质谱自动分析和从蛋白质的MALDI质谱的肽指纹谱进行可靠的自动蛋白质鉴定。

2000年Pandey等^[8]报道了应用二维凝胶电泳和质谱的结合与生物信息学建立的方法以进行差异显示蛋白质组学研究。取由两种不同状态(状态A及状态B)来源的细胞(或组织)经蛋白质溶解后,粗的蛋白质混合物用于“第一向”凝胶片基于等电点以分离蛋白质,此凝胶片经还原和烷基化反应后用于“第二向”十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)蛋白质变性并基于分子大小而进行分离。然后,此凝胶经固定,蛋白质以银染色显色。银染比考马斯蓝染色更为灵敏且适合

表 1 1~10 斑点的 N-末端序列分析

斑点号	最初的 得率/pmol	蛋白质	N-末端序列	斑点号	最初的 得率/pmol	蛋白质	N-末端序列
1	2.5	半胱氨酸酶 A	SKIFEENS	7	2.0	Mr60000chaperonin	AAKDMKFGN
2	1.1	苹果酸脱氢酶	MKVAVLGAAAGIGQAL	8	4.2	生长激素	FPTIPL
3	1.2	胱氨酸脱氢酶	MHPRQIAFAQLADNLQ	9	0.5	Mr60000 延伸因子	GITINTSHVEYDTXT
4	2.8	嘌呤核苷磷酸化酶	ATPHINAEMGEFADVLMFG	10	11.8	Mr10000chaperonin	MNIRPLHDRVIVKRKEVE
5	3.5	生长激素	FPTIPL		4.6	未倒转的应激因子	AYKHILIAVDLSPEKVE
6	1.0	尿苷磷酸化酶	SKSDVFLGLTKNDLQG				

于用质谱分析。染色后所得的蛋白质斑点记录并进行定量。图象分析(image analysis)可用岛津公司的岛津二波长飞点扫描仪 CS-9000 或新型号的扫描仪进行扫描。然后切下重要的斑点进行质谱分析。

生物质谱分析发展迅速,主要的有基质辅助激光解吸离子化-飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF-MS)及基质辅助激光解吸离子化四倍飞行时间质谱法(matrix-assisted laser desorption ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry, MALDI-Q₄TOF-MS)。关于 MALDI-TOF-MS 的原理及其在基因工程药物分析和在基因表达结构与功能关系研究中的应用,2000 年笔者曾作了综述^[9]。

2000 年 Sherchenko 等^[10]报告了蛋白质在 1×10^{-15} 克分子水平经一维或二维凝胶电泳分离后用 MALDI-Q₄TOF 质谱仪进行鉴定。相对分子质量(Mr)为 90000 及 42000 的酵母蛋白曾被鉴定。

3 毛细管等电点聚焦-傅里叶转换离子回旋加速共振质谱法

蛋白质组是对细胞的状态异常灵敏且所含的蛋白质具有充分依赖于细胞周期阶段。细胞差异,对环境条件(营养、温度、重压等)的反应或疾病状况。所以蛋白质组的研究在好的规定条件下可以提供更好了解复合生物过程和蛋白质功能的论断。

1999 年 Jensen 等^[11]提出了应用更快速、较灵敏和精确的细胞组分的特性测定方法,毛细管等电点聚焦-傅里叶转换离子回旋加速共振质谱法(capillary isoelectric focusing-fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry, CIEF-FTICR 质谱法)进行大肠杆菌(*Escherichia Coli*)模式系统蛋白质组的测定。

4 酵母双杂交系统的蛋白质-蛋白质相互作用综合分析

蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction)的重要任务在于细胞的结构和功能性组织的各个方面。对它们全面描述是了解细胞所必需的。酵母双杂交系统(yeast two-hybrid system)可以达到这个目的。

2000 年 Ito 等^[12]提出酵母生长的蛋白质-蛋白质相互作用图,用综合系统测定酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)的蛋白质间所有可能结合的双杂交相互作用。

同年 Uetz 等^[13]报告了酿酒酵母蛋白质-蛋白质相互作用的综合分析。用规模化的酵母双杂交筛选鉴定酿酒酵母蛋白质-蛋白质相互作用。构建了约 6000 酵母转化细胞的蛋白质阵列,每一转化细胞表达的开放读码(open reading frames, ORF_s)作为一种融合至活化领域。此阵列对 192 酵母蛋白质用简单的和自动的程序进行筛选,由其阵列位置上鉴定阳性反应。用高通量筛选程序筛选近全部 6000 预期的酵母蛋白质。酵母双杂交体系用 ORF_s,融合至 GAL4 的 DNA-结合或活化领域,当两个 ORF_s 在细胞核中相互作用进行蛋白质编码,结果增加报道基因的转录作用。

5 展 望

二维凝胶电泳和质谱结合的分析技术、毛细管等电点聚焦-傅里叶转换离子回旋加速共振质谱

法及酵母双杂交的蛋白质-蛋白质相互作用综合分析为蛋白质组学的研究提供了有力的分析方法。目前蛋白质组学研究的有关技术正在进一步发展中。

美国大学每日科学新闻网站 2001 年 4 月 24 日题为:“蛋白质化学使人类进一步了解细胞蛋白质”的文章,报道了宾夕法尼亚大学医学院的研究人员发明了蛋白质化学时代的一项新技术——TT 核糖核酸聚合酶增强免疫检测技术(immuno-detection amplified by TTRNA polymerase, IDAT)是一种灵敏度非常高的检测单种蛋白质的技术,并能在自动程序条件下监测数以百计或千计的分子。

我们相信,随着新的分析技术和检测技术的出现和应用将为蛋白质组学的研究开拓更广阔的前景。

参考文献

- [1] O'Farrell PH. High resolution two-dimensional electro phoresis of proteins. *J Biol Chem*, 1975, 250:4007.
- [2] Wilkins M R, Williams K L, Apple R D, *et al.* Proteoms Research: New Frontiers in Functional Genomics 1-243, Springe, Berlin, 1997.
- [3] Wilkins M R. From Proteins to Proteomes: Large scale protein identification by two-dimensional electrophoresis and amino acid analysis. *Bio Technology*, 1996, 14:61.
- [4] Celis J. Human 2DPAGE databases for proteome analysis in health and disease: <http://biobase.dk/cgi-bin/celis>. *FEBS Lett*, 1996, 298:129.
- [5] Henzel W J, Billeci T M, Stults J T, *et al.* Identifying proteins from two-dimensional gels by molecular mass searching of peptide fragments in protein sequence databasses. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90(11):5011.
- [6] Jensen ON, Mortensen P, Vorm O, *et al.* Automation of matrix assisted laser desorption/ionization mass spectrometry using fuzzy logic feedback control. *Anal Chem*, 1997, 69:1706.
- [7] Berndt P, Hohohm U, Langen H. Reliable automatic protein identification from matrix-assited laser desorption/ionization mass spectrometric peptide fingerprints. *Electro phoresis*, 1999, 20:3521.
- [8] Pandey A, Mann M. Proteomics to study genes and genomes. *Nature*, 2000, 405(6788):837.
- [9] 陈执中. 基质辅助激光解吸离子化-飞行时间质谱法在生化和基因工程药物分析研究中的应用进展. *药物生物技术*, 2000, 7(2):122.
- [10] Shevchenko Andrej, Loboda A, Shevchenko Anna, *et al.* MALDI quadrupole time-of-flight mass spectrometry: a powerful tool for proteomic research. *Anal Chem*, 2000, 72(9):2132.
- [11] Jensen P K, Pasa-Tolec L, Anderson G A. Probing proteomes using capillary isoelectric focusing-electrospray ionization fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *Anal Chem*, 1999, 71(11):2076.
- [12] Ito T, Tashiro K, Muta S, *et al.* Toward a protein-protein interaction map of the budding yeast: a comprehensive system to examine two-hybrid interactions in all possible combinations between the yeast proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(3):1143.
- [13] Uetz P, Giot L, Cagney g, *et al.* A comprehensive analysis of protein-protein interactions in *Saccharomyces cere-visiae*. *Nature*, 2000, 403(6770):623.

【作者简介】 陈执中,主任药师、教授。现任复旦大学药学院兼职教授、和泰生物技术公司高级顾问。《药学生物技术》、《自由基生命科学进展》等 3 种医药杂志编委。出版药物分析专著 8 本,发表论文 80 余篇。1992 年起享受国务院突出贡献特殊津贴。

人血液和头发中微量铜分析方法进展

刘丽鹤,李好枝(沈阳药科大学药学院药物分析教研室,辽宁 沈阳 110016)

摘要:目的 综述近年来国内外有关人血液和头发中铜的分析方法。方法 引用文献 26 篇。结果和结论 体内铜的分析方法日趋成熟,包括有分光光度法、色谱法、电化学法和催化动力学法等,可为研究工作和实际应用提供现代药物分析论坛

XIAN DAI YAO WU FEN XI LUN TAN · 3 ·