HTP蛋白可以与兔抗 05ZYH33全菌抗血清反应,在特定位置处有明显条带,表明重组 HTP蛋白具有特异性抗原活性。

3 讨 论

S. suis 2感染能够导致多种疾病,近年来给养猪业造成了极大的危害,同时也给相关从业人员的身体健康和生命安全带来了严重威胁[5]。到目前为止,对 *S. suis* 2型的致病机制及毒力因子调控都取得了重要进展[6],但对 *S. suis* 2型表面蛋白的研究十分有限,这在一定程度上延长了疫苗的研究周期。由于细菌的表面蛋白、分泌蛋白和毒力因子等容易接触宿主的免疫系统,被免疫活性细胞识别,从而刺激免疫应答的产生,因此,被认为是研究保护性疫苗的重要靶点。本课题组对 *S. suis* 2 05ZYH33株全基因组测序和功能注释为 *S. suis* 2疫苗研究提供了基础依据[7]。本研究通过对 *S. suis* 2型 05ZYH33全基因组进行分析,发现了 HTP编码基因。系统进化分析表明,*S. suis* 2的 HTP与一些同样能引起心内膜炎、关节炎、肺炎、败血症以及人链球菌中毒性休克综合征(STSS)细菌的 HTP高度同源,提示其在进化中高度保守。本实验成功地表达和纯化了猪链球菌重组 HTP,并利用兔抗 05ZYH33全菌抗血清证明其具有良好的免疫原性,显示 HTP是一种良好的猪链球菌保护性疫苗候选分子。*S. suis* 2型 HTP的成功表达与免疫原性鉴定为猪链球菌感染预防提供了新的手段。

参考文献

[1] Tang J, Wang C, Feng Y, et al. Streptococcal toxic shock syndrome caused by *Streptococcus suis* serotype 2[J]. PLoS Med, 2006, 3(5): e151.

[2] Lun Z, Wang Q, Chen X, et al. *Streptococcus suis*: an emerging zoonotic pathogen[J]. Lancet Infect Dis, 2007, 7(3): 201-209.

[3] Adamou JE, Heinrichs JH, Erwin AL, et al. Identification and characterization of a novel family of *pneumococcal* proteins that are protective against sepsis[J]. Infect Immun, 2001, 69: 949-958.

[4] Kunitomo EY, Terao S, Okamoto T, et al. Molecular and biological characterization of histidine triad protein in group A *streptococci*[J]. Microbes Infection, 2008, 10: 414-423.

[5] 呼显生,彭召玲,李静姬,等. 1株猪源链球菌的分离鉴定及药敏实验[J]. 中国公共卫生, 2006, 22(10): 1247-1248.

[6] Pan X, Ge J, Li M, et al. The orphan response regulator CovR: a globally negative modulator of virulence in *Streptococcus suis* serotype 2[J]. J Bacteriol, 2009, in press.

[7] Chen C, Tang J, Dong W, et al. A Glimpse of streptococcal toxic shock syndrome from comparative genomics of *S. suis* 2 Chinese isolates[J]. PLoS ONE, 2007, 2(3): e315.

收稿日期: 2008-11-13 (孔繁学编校)

文章编号: 1001-0580(2009)06-0671-02 **中图分类号**: R 331.1 **文献标志码**: B

【检验技术】

人体血清中 25种元素 ICP-MS法检测

高飞[1,2],张剑峰[1],王德才[2],孙长颢[2]

关键词: 电感耦合等离子体谱(ICP-MS);人体血清;元素

元素与人体健康关系是当今生命科学研究中重要领域,元素的缺失和富集可以引起多种疾病[1]。了解其分布情况并进行有针对性的调节,可以达到缓解和避免由元素分布失衡而引起的疾病。目前此类检测方法主要有原子吸收光谱法和原子荧光分光度计法等,这些方法存在检验元素种类较少和一次只能分析 1～2种元素等缺点[2,3]。为了达到快速检测人体内多种元素含量的目的,本研究建立了电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)法测定人体血清中 Be、Na、Mg、Al、K、Ca、V、Cr、Mn、Fe、Co、Ni、Zn、Cu、As、Se、Mo、Ag、Cd、Sb、Ba、Tl、Pb、Th、U 25种元素的方法,此方法简便快捷,结果准确。现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 试剂与标准溶液 浓硝酸:68%,优级纯;混合标准贮备液:10.0 μg/ml Al、Mn、Cu、Zn、As、Cd、Cr、Pb、Se、Sb、Ba、Be、Mo、Ni、Ag、Tl、Co、V、U、Th;1.0 mg/ml K、Na、Ca、Mg、Fe;调谐液:10 ng/ml Li、Y、Ce、Tl、Co;内标溶液:10 μg/ml Li、Sc、Ge、In、Bi(均为美国 Agilent公司);超纯水:电阻率 18.2 MΩ·cm。

1.2 仪器 7500a型电感耦合等离子体质谱(美国 Agilent公司);MARSX型高压微波消解仪(美国 CEM公司);超纯水机 PL5241型超纯水处理系统(美国 PALL公司)。

1.3 仪器工作条件及优化 高频发生器(RF)功率:1 350 W;载气流速:1.11 L/min;采样深度:8 mm;雾化器温度:2 ℃;蠕动泵转速:0.1 r/s;样品提升速度:0.50 r/s;重复次数:3次。在预实验中,以高频发生器(RF)功率、载气流速、采样深度等主要仪器指标作为变量,用正交法优化各仪器参数[4],使仪器的灵敏度、氧化物、双电荷、分辨率等各项指标至最佳测定条件。

1.4 实验方法 以哈尔滨医科大学健康体检中心无肝、肾疾病史的 60名健康人为研究对象,年龄 32～72岁。取 1.0 ml血清经高压微波消解处理,按照 1.3条件进行测定,同时做空白实验,用外标校正标准曲线法定量,用内标校正基体干扰和漂移。

1.5 干扰的消除 本研究通过优化仪器条件和选择合适的干扰校正方程来校正由氧化物、双电荷、质量歧视等所带来的正质谱干扰。非质谱干扰主要来源于样品基体,由于血清样

作者单位: 1. 黑龙江省疾病预防控制中心公共卫生检验所,哈尔滨 150030; 2. 哈尔滨医科大学公共卫生学院
作者简介: 高飞(1980-),男,黑龙江哈尔滨人,硕士在读,研究方向:生物材料及卫生检验检测技术。
通讯作者: 孙长颢

品和标准物质在黏度、电离平衡、传输效率等方面有一定差异,且血清样品中含有大量的蛋白质、无机盐和有机物,其中钠盐含量很高,因此,基体干扰不可忽视。本方法选用^{6}Li、^{45}Sc、^{72}Ge、^{115}In、^{209}Bi作为内标元素对分析信号进行校正,以有效地克服信号漂移,消除一定的基体干扰,提高实验数据可信度。血清样品基体较为复杂,常加入双氧水辅助浓硝酸消化[3]。为达到血清样品消化彻底且最大限度降低试剂所带来污染的目的,本方法采用浓硝酸消化样品,通过适当延长消化时间,不仅满足了实验要求,同时还降低了试剂所带来的基体干扰。

2 结 果

2.1 检出限、曲线相关系数和线性范围 本研究在避开同质异位素和氧化物等多原子离子干扰的前提下,选择各元素最高丰度的同位素进行测定,25种元素检出限在 0.000 1～6.0 μg/L,相关系数均 >0.999 5。

2.2 加标回收率和精密度实验(表 1) 随机取健康人血清样品 1份,分别加入一量的标准液,浓度为 1 μg/L(元素加标浓度为 100 μg/L)和 5 μg/L(元素加标浓度为 500 μg/L)。由于人体血清中 Na、Cu、Zn元素含量较高,对其进行单独加标,Na加标浓度为 10和 50 mg/L,Cu、Zn加标浓度为 100和 500 μg/L,连续测定 6次,计算精密度和加标回收率。结果显示,除 Be和 V 2种元素的加标回收率偏低以外,其余元素的加标回收率在 90.97%～113.63%,相对标准偏差(RSD)均在 0.48%～6.93%。

表 1 血清样品加标回收率及精密度

元素	加标浓度 1(100)μg/L		加标浓度 5(500)μg/L		元素	加标浓度 1(100)μg/L		加标浓度 5(500)μg/L	
	回收率(%)	RSD(%)	回收率(%)	RSD(%)		回收率(%)	RSD(%)	回收率(%)	RSD(%)
Be	81.81	0.73	80.36	0.58	Zn	93.81	0.96	93.76	0.69
Na	92.17	2.41	90.97	2.25	As	102.92	5.97	102.42	4.69
Mg	102.92	1.91	103.50	1.21	Se	98.63	1.75	98.55	1.53
Al	101.00	0.48	99.40	0.29	Mo	100.28	1.91	100.12	1.78
K	93.60	1.11	94.51	0.85	Ag	95.00	2.89	99.20	1.68
Ca	103.74	0.96	103.63	0.75	Cd	106.50	4.41	106.34	2.03
V	82.83	2.42	83.74	2.01	Sb	101.00	1.18	100.00	0.69
Cr	103.65	1.14	106.04	1.06	Ba	106.39	2.17	107.57	1.39
Mn	113.63	5.55	112.05	3.34	Tl	91.00	6.93	91.60	3.18
Fe	102.63	3.56	104.09	3.19	Pb	101.67	1.98	101.18	1.91
Co	113.01	1.08	106.32	0.79	Th	96.40	2.01	96.28	1.39
Ni	110.85	2.24	108.71	2.00	U	102.00	0.73	102.20	0.65
Cu	110.01	1.23	109.72	1.08					

2.3 血清样品测定结果分析(表 2) 对 60份健康人血清样品进行分析,其中 Be、Al、Ag、Sb、U为未检出元素。

表 2 血清样品中元素含量测定结果($\bar{x}\pm s$)

元素	元素含量(μg/L)	元素	元素含量(μg/L)
Na*	3019.11 ±227.68	Cu	1418.15 ±200.36
Mg*	23.25 ±1.63	Zn	689.88 ±155.44
K*	186.00 ±14.12	As	8.67 ±3.68
Ca*	125.63 ±19.37	Se	69.27 ±14.11
V	75.44 ±15.74	Mo	2.08 ±0.72
Cr	70.45 ±12.63	Cd	0.18 ±0.07
Mn	7.03 ±1.41	Ba	0.61 ±0.16
Fe*	4.12 ±0.88	Tl	0.12 ±0.04
Co	2.35 ±1.50	Pb	0.55 ±0.19
Ni	1.40 ±0.57	Th	3.41 ±1.42

注:带 * 元素为 mg/L。

2.4 质控样品分析 选择国家标准人血清无机成分分析标准物质(GBW09135)中 Na、Mg、Cu元素作为质控标准,标准参考值为(3.12 ±0.13) g/L、(20.4 ±0.8) mg/L、(1.05 ±0.09) mg/L。连续测定 6次,测定结果平均值分别为 3.15, 20.7, 1.12 mg/L,相对标准偏差为 1.89%, 2.53%, 2.66%。测定结果与参考值相符,表明所建立的方法准确可靠。

3 小 结

本研究利用高压微波消解前处理,ICP-MS法测定人体血清元素,该方法具有选择元素种类较为广泛、检出限低、线性范围宽、谱线简单、干扰少、分析精密度高、分析速度快等优点。本研究结果提供了哈尔滨该 60名健康人血清中 20种元素的量值范围。另外,本研究在前处理方面选择了单一试剂消化样品,减少了杂质的带入,简化了分析谱线,降低了基体干扰,提高了检测结果的准确性,为研究人体中元素成分构成提供科学依据。

参考文献

[1] 陈晓丽,张智勇,冯流星,等. 健康老人血液中微量元素 ICP-MS分析研究[J]. 武警医学, 2006, 17(3): 166-168.

[2] 丁亮,杨艳伟,姚孝元,等 ICP-MS法同时测定儿童血液中的多种金属元素[J]. 中国卫生检验杂志, 2003, 13(1): 62-63.

[3] 谢建滨,张慧敏,黎雪慧,等. 尿中 10种元素碰撞池 ICP-MS方法快速测定[J]. 中国公共卫生, 2008, 24(8): 975-976.

[4] 谢建滨,刘桂华,柳其芳,等. 微波消解/ICP-MS法测定人体肺及肾脏中稀土元素[J]. 中国公共卫生, 2002, 18(12): 1502-1504.

收稿日期: 2008-12-03 (潘雯编辑 孔繁学校对)