

丽丝胺罗丹明 B 脂质体两种制备方法的比较

罗招凡¹ 刘剑雄² 范侠¹

(1 中山医科大学孙逸仙纪念医院检验科; 广州, 510120 2 湖北医科大学附属第一医院检验科; 武汉, 430060)

主题词 脂质体/分离和提纯; 显微镜检查, 电子

中图分类号 R 446.6

脂质体(Liposome)是人工合成的双分子类脂膜性微球, 其作为药物载体和生物膜模型已得到了广泛的用途。但近些年来提出及建立的脂质体免疫试验(LIA)^[1], 可用于多种临床指标的测定, 如检测血浆地高辛、血清甲胎球蛋白、尿中微量白蛋白等。本文报道用两种方法制备出丽丝胺罗丹明 B 脂质体(LESB), 旨在为进一步建立 LIA 提供实验依据。

1 材料与方 法

直接超声技术(DUT)^[2]稍加改良及逆相蒸发法(RPE)^[3]制备 LESB。分别测定游离及初始丽丝胺罗丹明(SB)经适当稀释后在 565 nm 处的吸光度值, 按公式 $\gamma_w = (1 - m_{\text{游}}/m_{\text{总}}) \times 100\%$ 计算包裹率 γ_w 。采用负染透射电镜技术观察脂质体大小与形态。LESB 置 4 °C 冰箱存放半年, 按公式 $\gamma_l = (m_{\text{漏}}/m_{\text{囊}}) \times 100\%$ 计算泄漏率 γ_l 。所有参数以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间均数差异用 *t* 检验统计。

2 结 果

2.1 LESB 形态与大小比较

经电镜观察, DUT 法脂质体约(30±5) nm, 属均匀的小单层脂质体(SUVs), 见图 1。RPE 法的为(420±30) nm, 呈较均一的大单层脂质体(LUVs), 见图 2。

2.2 SB 包裹率的比较

重复 4 次测定后, 经统计学处理, DUT 组包裹率为(9.7±0.6)% (不含 cholesterol liposome) 及(20.6±0.7)% (含 44% cholesterol liposome); RPE 组对应为(27.3±0.5)%、(41.4±0.6)%。后者显著高于前者, *P*<0.05。

2.3 LESB 稳定性

LESB 贮存 6 个月后, DUT 组泄漏率为(94.4±0.7)%

(含 cholesterol liposome) 及(15.6±0.6)% (含 44% cholesterol liposome); RPE 组对应为(93.1±0.6)% 和(1.47±0.1)%。RPE 组显著低于 DUT 组, *P*<0.01。

3 讨 论

制备脂质体的方法有 10 余种, 以 DUT 和 RPE 法应用最为广泛。前者多为制备均匀 SUVs, 其条件温和, 易于控制, 缺点是包裹效率低, 不易贮存, 且混合类脂在双层膜的内外分布不均匀, RPE 法是制备高包裹率脂质体的方法。我们采用此法获得 LUVs, 在电镜下观察, 直径为(420±30) nm, 包裹效率在 41% 左右, 其中的胆固醇(cho)用来减低脂质体的渗透性以保证脂质体稳定性。当胆固醇含量为 40% 时, 有最大包裹率, 当胆固醇含量超过 50% 时, 脂质体就难以制备。含 44% 胆固醇的 LUVs 于 4 °C 冰箱存放 6 个月后, 测得其泄漏率为 1.47%, 达到贮存的初步要求。通过对两种 LESB 的制备、贮存的研究, 为选择包裹 SB 的 LUVs 进行体外的脂质体免疫试验提供了参考。

(本文图见插页 2)

参 考 文 献

- 1 Rorgen H A H, Bult A, Van Bennekon W P. Liposomes and immunoassays(Review). J Immunol Methods, 1997, 204(2): 105
- 2 Johnson S M, Bangham A D, Hill M W, et al. Single bilayer liposomes. Biochem Biophys Acta, 1971, 233(3): 820
- 3 Szoka F J R, Papahadjopoulos D. Procedure for preparation of liposomes with large internal aqueous space and high capture by reverse-phase evaporation. Proc Natl Acad Sci USA, 1978, 75(9): 4194

(1998-12-01 收稿 1999-04-15 修回)

抗菌药物诱导大肠杆菌内毒素释放的研究 (正文见第 194 页)

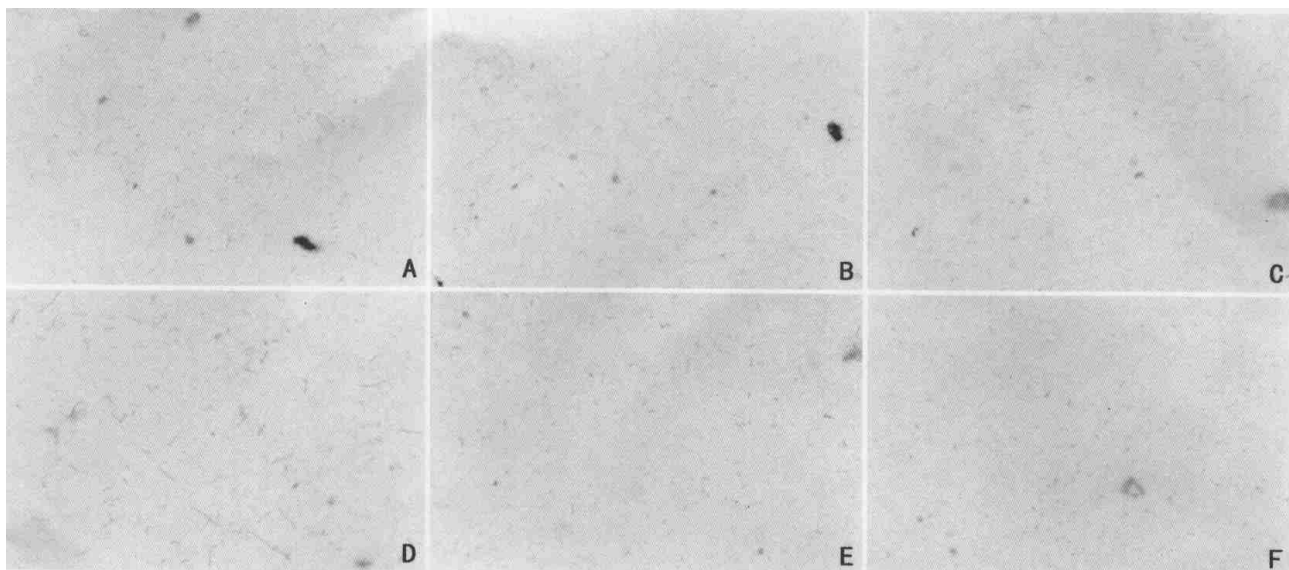


图 2 抗菌药物对 *E. coli* 形态学的影响 ($\times 100$)

Fig. 2 Effect of antibiotics on morphology of *E. coli*

A. Control (no antibiotics); B. Imipenem ($256\times$ MIC) 1 h; C. Ceftriaxone ($256\times$ MIC) 1 h
D. Ceftriaxone ($256\times$ MIC) 2 h; E. Ciprofloxacin ($256\times$ MIC) 2 h; F. Amikacin ($256\times$ MIC) 2h

丽丝胺罗丹明 B 脂质体两种制备方法的比较 (正文见封 3)

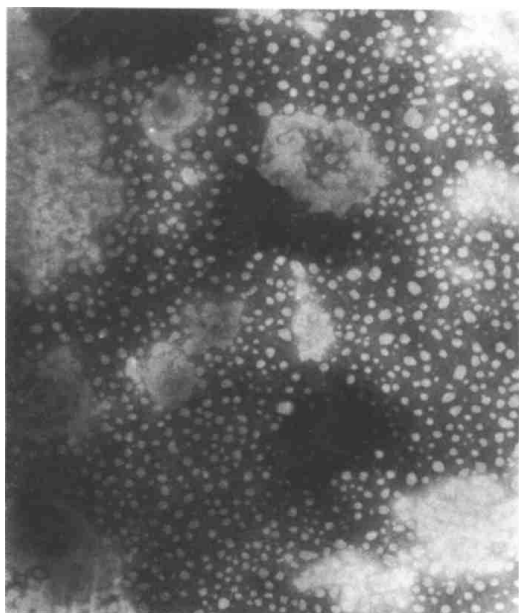


图 1 DUT 法 LESB 负染电镜
照片 ($\times 40\ 000$)

Fig. 1 Electronograph of LESB
with DUT method

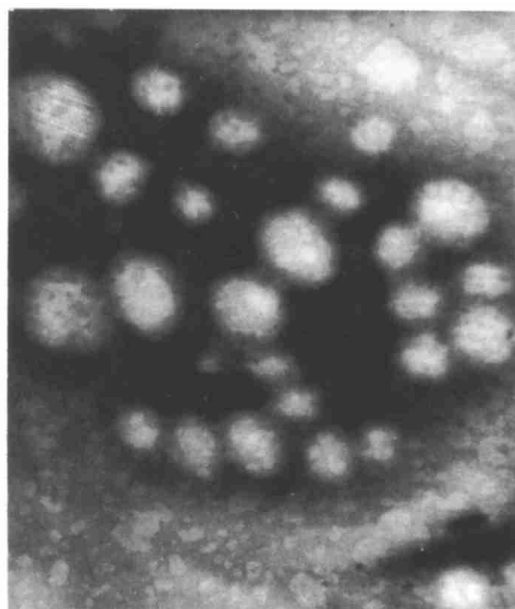


图 2 RPE 法 LESB 负染电镜
照片 ($\times 30\ 000$)

Fig. 2 Electronograph of LESB
with RPE method