

甲胎蛋白放射免疫分析法的临床应用价值

甲胎蛋白 (Alpha-1-Fetoprotein简称AFP)是一种正常的胎儿血清蛋白〔1〕。1944年Pederson等氏〔2〕首先在小牛血清中发现，但未引起重视。1966年Berstrand等氏〔1〕用电泳法在人血清中查到有甲胎蛋白存在。1963年Abelev等氏〔3〕在小鼠移植性肝细胞瘤中找到甲胎蛋白，它是正常小鼠肝组织中所没有的成份。1964年Tatarinov氏〔4〕证实肝癌患者血清中存在着甲胎蛋白。

甲胎蛋白大量由胚胎肝细胞所合成，小量由胎儿卵黄囊细胞及胎儿胃肠道所合成〔5〕，它分泌至血清中，存在于全部体液内。出生后，血清甲胎蛋白浓度迅速下降至仅数毫微克/毫升水平，半减期为3.5天〔6〕此种浓度水平仅可用放射免疫分析法或酶免疫分析法等检测出。成年人血清AFP浓度的检测最初只限于诊断原发性肝细胞癌之用，但后来发现多种疾病及临床情况血清AFP浓度皆可增高，因此，血清AFP浓度的检测在临床上除可诊断原发性肝细胞癌外，对其他疾病的诊断和鉴别诊断亦有重要的价值。现分别介绍于下。

甲胎蛋白的生物化学

电泳时AFP移动于 α_1 区内，紧跟在白蛋白后面，它的分子量为70,000稍高于白蛋白。用丙烯酰胺凝胶电泳时，可以检测出一种分子异质性。这两种分子构型虽具有不同的电泳流动性，但是具有共同抗原部位。人体AFP亦观察到此微小的异质性。虽然，肽链尚不清楚，但是氨基酸的分析证明，胎儿AFP和肝癌AFP间没有任何区别〔6〕〔7〕。

动物实验证明，CCl₄中毒或肝切除术后，肝再生时可诱致产生AFP，因此，在血清中AFP可再出现。AFP和白蛋白一样，合成后消失亦很迅速，在人体内其半减期为4~6天。CCl₄中毒后血清中AFP的浓度水平与肝再生的细胞分裂活性有关。但是，AFP再出现和肝再生之间的关系尚未得到最后证实。

甲胎蛋白的生理学

在高敏感的检测方法如放射免疫分析法应用以前，一般认为胎儿可以检测出AFP，但是出生后即消失，正常人血清内未发现有AFP。实际上，AFP存在于成年人血清内，其浓度甚低，用一般的方法如免疫扩散法检测不出来。

在早期妊娠期间，AFP和白蛋白是胎儿的主要血清蛋白〔8〕。在正常妊娠过程中，小量甲胎蛋白可通过胎盘膜进入母体内，使母体血清AFP浓度逐渐增高。在妊娠前三个月，AFP浓度即高于基础水平，妊娠后三个月，正常母体血清内的AFP浓度可达最高水平，有时第32周可达400~500毫微克/毫升，然后下降。羊水内检测的水平更具有特征性。脐带血清水平易受个体差异性的影响，因此，意义较小。

当胎儿低氧症、胎儿危急或死亡时，在少数情况下，母体血清AFP浓度可高达1000毫微克/毫升，用简单的琼脂凝胶扩散法亦可检测出来〔9〕。绒毛膜激素分析可以测知母体的激素状态，血清AFP分析可以反映胎儿的状态，因此，定量检测母体血清AFP浓度，目前多用于生前期诊断胎儿有无死亡及

胎儿有无遗传缺陷及畸形存在。

胎儿出生后,AFP的合成并未完全受到抑制^[10]。新生儿脐带血液中,AFP的浓度估计约为10,000~50,000毫微克/毫升。然后,血液浓度迅速下降,在出生后前3~4个月呈进行性下降。在出生后一年内血清AFP浓度才达到基础水平,并一直保持到老年。性别对血清AFP浓度水平亦有影响^[11]。正常人,血清AFP水平有一定的个体差异,但妇女的月经周期等因素影响不大。

胆汁内检测出AFP并不能代表有肝癌或肝炎存在,因为胆汁是AFP的载体。

甲胎蛋白放射免疫分析法

甲胎蛋白的检测法很多,过去多用琼脂扩散,对流电泳等方法进行测定,但灵敏度较低,不能检测出成年人血清中的正常及低水平AFP含量。血凝法系半定量测定法,优

点是灵敏度高,方法简便,价格低廉,不需特殊设备,可以半定量测定等,多用于筛选及普查;缺点是假阳性率较高。

放射免疫分析法是利用同位素技术和免疫学结合起来的原理,它的优点是灵敏度高,特异性强,可以定量测定,结果稳定可靠等。缺点是测定方法较复杂,需要一定的条件和仪器设备等。使用放射免疫分析法以后,由于检测方法的改进,提高了灵敏度,但也降低了特异性。如对临床情况缺乏全面深入细致的了解,在判断结果时可使假阳性率增高,造成误诊。

最近国外发展了酶免疫分析法。其特点是方法简便,操作迅速,灵敏度高,但需要与葡萄糖氧化酶相结合的高度纯化的特异性抗体,因此,目前尚未广泛应用。

表1列出了血清甲胎蛋白测定方法的比较。

表1 血清甲胎蛋白测定方法的比较

| 测定方法 | 灵敏度 | 测定时间 | 设备 | 诊断原发性肝细胞癌的阳性率 | |
|---------------|------------------|---------|----------------|---------------|-------|
| | | | | 亚非高发区 | 美国及西欧 |
| 琼脂扩散法 | 1000~10000毫微克/毫升 | 24小时 | 易 | 约70% | 约28% |
| 对流电泳法 | 250~500毫微克/毫升 | 2小时 | 电泳仪 | 约80% | 约50% |
| 血凝法 | 10~25毫微克/毫升 | 1小时 | 易,致敏血细胞 | 约90% | 约70% |
| 放射火箭电泳自显影法 | 25毫微克/毫升 | 24~48小时 | 电泳仪及标记AFP | 约90% | 约70% |
| 放射对流免疫电泳定量测定法 | 0.5毫微克/毫升 | 3~6小时 | 电泳仪及标记AFP测量仪器 | 约90%以上 | 约70% |
| 放射免疫析分法 | 0.1~1毫微克/毫升 | 30~96小时 | 标记AFP,测量仪器 | 约90%以上 | 约70% |
| 酶免疫分析法 | 0.5毫微克/毫升 | 6小时 | 酶结合高度纯化抗体,测量仪器 | 约90%以上 | 约70% |

血清AFP正常值及诊断标准

放射免疫分析法的正常值及诊断标准,各国及各作者报导的略有差异。例如一个实

验室报导的为2.3毫微克/毫升,另一个实验室报导的却为30毫微克/毫升。此变异的部份原因为缺乏统一的标准;另外的原因为,是否在世界各国,不同种族的居民血清中皆

含有少量AFP?其量是否完全相同?是否由于慢性暴露于不同量的致癌物质的环境中,其正常值亦有差别?这些问题都未解决。

血清 AFP 浓度的病理学改变及其临床意义

1、出生前期

母体血清AFP增多可能是伴有胎儿疾病,如宫内死亡,遗传缺陷,严重的先天性神经管畸形^[28],无脑儿或脊柱裂^[29]等。神经管畸形等可使AFP由脑脊液漏入羊水中,在其余情况可能由胎儿尿排入羊膜囊内。

母体血清中AFP浓度高可能来源于胎儿,由于病胎肝脏合成增加,或由于胎血成份经胎盘漏出,或通过羊水而来。羊水中AFP增高可以早期诊断胎儿严重神经管缺损畸形,可考虑终止妊娠。

检测母体血清AFP浓度,方法简便,安全,但因其正常值与病胎之间的数值界限不明确,因此,目前其用途还不很大。

2、儿童期

新生儿时期患各种肝脏疾病时,血清AFP浓度皆有意义的增高,其中包括充血性心力衰竭引起的被动性肝脏充血,胆管闭锁及新生儿肝炎等^[30],因此,在新生儿时期检测AFP对鉴别诊断帮助不大。在新生儿时期以后,即儿童期,AFP浓度增高多见于以下的各种疾病。

几乎全部患肝细胞癌的儿童AFP浓度皆有意义的增高。其他尚有肝母细胞瘤及性腺畸胎母细胞瘤等。

除了以上几种儿童的恶性疾病之外,儿童患有病毒性肝炎,AFP亦可暂时性增高^[31]。遗传性酪氨酸代谢症(hereditary tyrosinosis)伴有慢性肝脏疾病时,血清AFP浓度亦增高,但是,其他类型的先天性肝脏疾病或糖元贮藏疾病并不增高^[32]。毛细管扩张失调症(ataxia telangiectasis或Louis-Bar综合症),AFP浓度亦增高,

但其他类型的免疫缺陷疾病并不增高^[33]。胚胎发育缺陷疾病中,囊性纤维化,AFP增高^[34]。以上的良性疾病中,为什么血清中AFP会再出现,其原因还不知道。临床上,系统的测量AFP对这些疾病治疗效果的随访是很有帮助的。

3、成年期

原发性肝癌:自从1964年Tatarinov氏在原发性肝癌病人血清中测得这种特异的甲胎蛋白以来,对肝细胞癌的诊断已有所提高,目前认为AFP是诊断方法中灵敏度高,特异性强的诊断方法。

采用低敏感的方法如琼脂双扩散法,肝细胞癌的阳性率为28~87%。范围如此宽主要与地理性差异有关。高发区阳性率最高,例如,南非为78%,塞内加尔为72%,中国为75%,印度尼西亚为87%。低发区阳性率低,例如,英国为28%,美国为28~50%。

如采用高敏感的方法如放射免疫分析法,高发区如非洲,日本等阳性率为70~95%;低发区如美国的阳性率为70~78%。由以上可以看出仍有10~20%左右的肝细胞癌病人AFP浓度并不增高,而且高发区与低发区有一定的差别,差别的原因可能为肿瘤病原学上的不同所致。

血清AFP浓度与病人的年龄和性别有关。年龄轻及男性病人AFP多为阳性,在高发区尤为明显。美国黑人与白人阳性率不同,推想与种族因素有关。

动物肝癌的AFP阳性率似乎与化学致癌剂无关。过去有人认为HAA阳性者AFP阳性率较HAA阴性者高,原因可能是乙型肝炎抗原(HB_{Ag})病毒可消除甲胎蛋白染色体组的抑制使之发生肿瘤。但最近的报告认为HAA与AFP两者之间没有明显的关系。

AFP与临床病理之间的关系,目前多认为AFP与肿瘤大小,肿瘤发病的时间,诊

断后的生存期,肿瘤摄取放射性核素(如⁶⁷镓等)等无关。AFP与肿瘤分化程度的关系,过去有人认为分化比较好的Ⅰ级产生AFP的机会最多,分化较差的Ⅱ级则产生AFP机会减少,对Ⅳ级病例来说,则阴性较多,Ⅰ级则阳性较多。近来多数认为,AFP与肿瘤的分化的程度无关。

用放射免疫分析法检测血清甲胎蛋白含量,灵敏度可以提高,但特异性即降低。检测的阳性率,中国人自75%提高至90%,乌干达自71%提高至93%,南非黑人AFP正常者低于1%。但有报告阳性率未见提高者,因此,可以认为AFP的合成并不是肿瘤发生所必需的,或者至少不是维持肿瘤所必需的条件。在南非、西非及乌干达黑人,肝细胞癌AFP定量数值范围分布较广,可以大于6个数量级,最高浓度可达7毫克/毫升,中等者为0.5~0.7毫克/毫升,最低者为30毫微克/毫升,仅稍高于正常值。因此,在判断结果时,不但要报告结果为阳性或为阴性,而且要观察AFP定量的动力学变化。人类原发性肝细胞癌产生AFP是持久性者,不同于实验动物。病人的AFP含量往往十分稳定,不论其开始浓度如何,很少波动,肿瘤不断生长,与疾病继续发展,其含量常仍然不变或略有上升。这可能是由于血清浓度在出现症状或体征以前,AFP即迅速上升。有人报导病人平均住院2~4个月,AFP定量平均增加65.8%。肝癌切除以后通常在14~30天内AFP转阴,复发时则重现。肝癌全肝切除作肝移植后,AFP定量的观察也有助于了解复发与否,并观察到AFP似不受免疫抑制、排斥及感染等因素的影响^[35]。AFP定量测定在同一病人亦可作为判断治疗效果的参考。通常病情恶化,含量上升,病情稳定或好转则含量不变或下降,但亦有不符者,即病情恶化AFP定量反而下降^[86]。

目前认为比较合理的诊断原发性肝细胞癌的方法是采用简便、较不敏感的检测AFP的方法,而在追踪疾病的过程及评价疗效时,宜用比较敏感的检测方法。

原发性肝癌时AFP产生的可能部位是肿瘤本身。用荧光免疫法测定,几乎所有的胚肝细胞浆内可见弥漫的AFP,9例原发性肝癌,其中6例见癌细胞内有AFP,这个可以提示AFP产生于胚肝细胞及肝癌细胞浆内。但是肝细胞再合成AFP的原因尚不清楚。国内及国外的研究阐明胎儿甲胎蛋白,物理化学性质可能完全相同,所以,从胚胎到癌变过程中,甲胎蛋白可从无到有,再从有到无,癌变时再从无到有。肝细胞再合成AFP有两种可能:一种认为肝细胞在一定的发育时期不再分化,AFP染色体组未被抑制,因而产生这种蛋白。另一种可能性是肿瘤在那些AFP染色体组未被抑制的肝细胞内发生。以上都说明一部份肝细胞不成熟,不像其他的肝细胞那样,可以正常的产生“成年”蛋白质。

高敏感检测法对流行病学进行有意义的研究亦创造了有利的条件。Purves氏在高发地区测定AFP,发现当地的AFP较其他地区高。人们离开这些地区后AFP又下降,说明这可能与环境因素有关。

Kroes等氏在大鼠身上使用致癌剂,发现在组织学上未检查出癌肿以前已能合成AFP,停用这些化学制剂AFP即消失。

其他肝病:(1)肝炎,儿童及成年人急性及慢性肝炎时AFP浓度皆可增高。急性病毒性肝炎时,349例中发现有23%,慢性活动性肝炎时,84例中有25%,其AFP大于50毫微克/毫升,有意义的增高。大块状肝坏死的病人中40%AFP有意义的轻度增高,病毒性亚急性肝坏死,有12%AFP浓度大于500毫微克/毫升。

Smith氏认为只有乙型肝炎才增高。其他作者报导两型肝炎均可增高。除个别病

例报导外,非病毒性,中毒性或乙醇性肝炎,AFP浓度未见增高。肝细胞损伤最严重时期后5~16天,AFP浓度才达到高峰,即甲胎蛋白在肝细胞的活动性增生时期产生。AFP合成增加可能是由于成熟肝细胞增生到某个阶段逆行分化,以致AFP又重新产生或者由于某些分化程度较低,AFP染色体组处于不受抑制状态的肝细胞增生或活动所产生。AFP反应与转氨酶有关,在肝炎的恢复期,转氨酶下降至正常,AFP才上升至高峰,但大多数是平行的,与肝脏损害的急性时期反应相一致,或者是直接由于病毒存在的原故。大多数病人AFP轻度或中度上升。肝炎时AFP的升高常为低水平,一般低于500毫微克/毫升,超过500毫微克/毫升者不到5%。但儿童浓度很高。

(2)肝硬化,除了印度儿童外,肝硬化时AFP改变不显著。1972年Ruoslahti与Seppala氏采用放射免疫分析法,13例中仅2例升高,1974年报导61例中有9例升高。Bloomer等氏报导坏死后肝硬化中有急性肝炎者AFP皆增高。用低敏感方法很难检出肝硬化或慢性活动性肝炎的AFP,这可能是由于肝细胞长期不断或反复增生,AFP合成机制已“衰竭”。另一方面,轻度的肝细胞增生能够“诱发”AFP。Nayak等氏发现印度儿童肝硬化血清中AFP阳性率可高达45%。儿童胚胎型细胞未能完成生长成熟的转化,故可继续合成与分泌AFP。

内胚源肿瘤:根据文献报导来看,除了恶性淋巴瘤肉芽肿与Wilm氏瘤外,所有内胚源肿瘤具有甲胎蛋白的病人,其原发部位皆在胃肠道,或由原前肠发生的器官。肠胃肠道肿瘤原发部位皆在胃,极少例外。来源于原前肠发生器官的肿瘤多来自胰腺,胆囊与肺等脏器,这些病人AFP的产生来自肿瘤本身。Abelev氏报导AFP增高者占13%。Alpert氏报导占7%。Waldmann氏报导25%的胰腺癌,18%的胃癌,5%的结肠癌

及7%的肺癌,血清中AFP浓度皆增高。胃肠道癌AFP增高者占3.8%,转移性肝癌占8.6%。

1975年Tsung氏报导^[40]支气管癌转移至肺,AFP浓度明显增高。用荧光免疫法证明,AFP合成是在转移灶周围的肝脏实质内

1974年Zizkovsky等氏报导^[41]胃类癌伴有肝转移者AFP可高达110微克/毫升。他们认为当有恶性增生时,出生后保留下来的能产生AFP的细胞增加了,并非由于成年人细胞内负责甲胎蛋白合成的基因被“去抑制”而引起大量AFP的合成。此病人同时伴有癌胚抗原(20毫微克/毫升),血浆内有HB_{Ag}存在。间接荧光法证明AFP位于原发肿瘤及肝转移灶肿瘤细胞的细胞浆内。

卵巢与睾丸的生殖细胞癌:Abelev等氏首先报导,来自性腺的未分化畸胎瘤AFP的阳性率约为50%。若用更敏感的方法,其阳性检出率更高。分化良好的胚源性癌或其他类型的睾丸与卵巢肿瘤都不产生AFP。偶而可见AFP发生在原发于纵膈,腹膜后或骶前的畸胎瘤。AFP与肿瘤恶性程度有关,能合成AFP者恶性程度大,对治疗的反应差,亦与肿瘤的大小有关。连续定量测定可用于观察追踪疾病的过程,手术切除的彻底性以及治疗的估价。

畸胎瘤可以形成未分化组织,包括卵黄囊或偶见肝细胞,此两者都能产生AFP。Kahan与levine氏的组织培养实验结果及最近的报导皆认为卵巢的卵黄囊亦可产生AFP。未分化的畸胎瘤细胞或卵黄囊组织更有可能成为AFP产生的来源。

- 1、Bergstrand C G和Czar B: Scandina-
vian Journal of Clinical and La-
boratory Investigation 8:174, 1956
- 2、Pederson K O: Nature (Lond.)
154:575, 1944.
- 3、Abelev GI等: Transplantation, 1:

- 174-180, 1963。
- 4、Tatarinov Y S: Vop.Med Khim 10: 584, 1964。
- 5、Gitlin D等: Cancer Research. 32: 979~982, 1972。
- 6、CEA-IRE-SORIN: Kit for α -Feto-Protein radioimmunoassay (1975)。
- 7、Colloque Inserm Nice (France) 7 ~ 9 mars, 1974。
- 8、Gitlin D和 Boesman M: Journal of clinical investigation. 45: 1826-1838, 1966。
- 9、Seppala M和Ruoslahti E: American Journal of obstetrics and Gynecology. 115: 48~52, 1973。
- 10、Ruoslahti E和Seppala M: Int. J. Cancer 8: 374~383, 1971。
- 11、Chayvialle J A P和Ganguli P C: Lancet 1: 1355~1357, 1973。
- 12、Maldmann T A和McIntire K R: Lancet 11: 1112~1115, 1972。
- 13、Rouslahti E和 Sappala M: Nature 236: 161, 1972。
- 14、Purves L R et al: S Afr Med J 46: 1290, 1972。
- 15、Purves L R and Geddes E W: Lancet 1: 47~48, 1972。
- 16、Bloomer J R等: Gastroenterology. 65: 530, 1973。
- 17、Silver H K B; Gold P; Feder S; Freedman S O和Shuster J: Radioimmunoassay for human alpha-feto-protein. Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S. A. 70: 526~530, 1973。
- 18、Kumimasa T等: 核医学 10: 172, 1973。
- 19、Tsutsui K等: 核医学 10: 172, 1973。
- 20、户泽辰雄: 肝脏 14: 302~314, 1973。
- 21、重田幸二郎: 肝脏 14: 506~516, 1973
- 22、Silver HKB等: Cancer Res 34: 244 ~247, 1974。
- 23、Waldmann T A and McIntire K R: Cancer 34: 1510~1515, 1974。
- 24、Ruoslahti H: Br Med J 11: 527~529, 1974。
- 25、Bloomer J R等: JAMA 233: 38~41, 1975。
- 26、Tonami N等: Cancer. 36: 466~470, 1975。
- 27、Chandra R K等: Br Med J 1: 714 ~715, 1975。
- 28、Kew M: Gut 15: 814~821, 1974。
- 29、Lord J等: Lancet 1: 1187, 1973。
- 30、Alpert E: Clin Gastroenterol 5: 639~644, 1976。
- 31、Masopust J等: Int J Cancer 3: 364~375, 1968。
- 32、Belanger L 等: L' Union Medicale 101: 877~878, 1972。
- 33、Waldmann T A等: Lancet 11: 1112~1115, 1972。
- 34、Chandra R K等: Br Me J. 1: 714~715, 1975。
- 35、Alpert E等: Gastroenterology 61: 144, 1971。
- 36、Purves L R, et al: Serum alpha-fetoprotein, IV Effects of chemotherapy and radiotherapy on serum alpha-feto-protein levels in cases of primary livercancer. Year book Surg. P. 448, 1971。
- 37、Abelev G I: Adv Cancer Res 14: 295~357, 1971。
- 38、Hirai H等: Proteins in Biological Fluids, 20: 579~587, 1973。
- 39、Alpert E: Clinica Chimia Acta 58: 77~83, 1975。
- 40、Tsong S H: Arch Pathol 99: 267~

269, 1975。

41. Zizkovsky, Gann 65:193,1974。

42. Kurata K等: Radioimmunoassay of alpha-Fetoprotein. Radioimmu-

assay and Related Procedures in Medicine. Proceeding of A Symposium, 1973, Vol. 2, P. 299~313。

[上海中山医院同位素室 赵惠扬综述]

利用放射免疫分析法分析前列腺素的¹²⁵碘衍生物的新途径

引言

在前列腺素领域中的定量方法要很灵敏, 因为已证明这些化合物是在很低浓度时起作用。目前, 前列腺素的测定有两个准确的方法: 气液相层析结合质谱, 此法特异性高, 但不灵敏(测出限量: 80微微克); 另一为放射免疫分析, 此法特异性差, 但更灵敏。最近, 我们用抗前列腺素E₂血清 A/93709 (K_a $1.8 \times 10^{10} \text{M}^{-1}$) 和³H前列腺素E₂ (121居里/毫克分子) 做示踪剂成功地测出前列腺素E₂ 3微微克。

为了进一步提高滴度, 我们应用噬菌体与半抗原结合的精巧技术作为免疫反应的指标, 可以测定出低于1微微克的量。但此免疫分析不能用在稀释的生物样品或由于非特异性结合的干扰, 而需要提取或层析精制的样品。因此, 我们考虑制备高比放射性的前列腺素的碘化衍生物。我们报告用¹²⁵I标记的组织胺(或酪胺)前列腺素做示踪剂进行前列腺素的放射免疫分析的结果, 并与³H前列腺素的放射免疫系统做了比较。用前者时灵敏度提高了10倍, 而二者分析的重复性是一致的。而且, 这种方法也可扩大到前列腺素的代谢物。

氟化和碘化前列腺素E₁和E₂的剂量反应曲线的比较, 能够鉴别前列腺素E₁中羧基团用肽或酯键保护后在构象上的改变, 而前列腺素E₂并不发生这些变化。

方法

前列腺素与组织胺或酪胺的结合。前列

腺素与组织胺或酪胺的结合是用碳二亚胺法。在试管中加500微升溶于水中的组胺(90微克分子), 1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)-碳二亚胺盐酸盐(52微克分子), 500微升溶于乙醇水溶液(50% V/V)中的前列腺素(28.6微克分子), pH调到5; 加入³H组织胺做为示踪剂进行结合测定。在室温保温过夜以后, 在正丁醇/醋酸/水系统(75:10:25 V/V)进行薄层层析分离, 切出薄层上结合的前列腺素(R_f 0.50), 用含水甲醇(90% V/V)提取两次, 使用前在-20℃时储存。

碘化, 用氯胺T法进行碘化。将Na¹²⁵I, 2微升(200微居里)转移到一塑料管中; 加前列腺素组胺或酪胺(7毫微克分子)的pH7.4的0.5M磷酸钾缓冲液, 再加入溶于2微升磷酸钾缓冲液的氯胺T(5微克), 加入溶于2微升磷酸钾缓冲液的偏亚硫酸氢钠(32微克)后, 反应立即停止。

反应后立即用薄层层析法精制产品(溶剂系统: 氯仿/甲醇/水, 60:30:5 V/V), 放射性点用放射自显影及其免疫活性试验加以鉴定。

甲基化, 用重氮甲烷制备前列腺素甲酯的方法见其他的文献。产品用薄层层析法精制, 氯仿/甲醇/水(50:10:0.5 V/V), R_f=0.80。

酯化以后, 产品用薄层层析法精制, 放射性³H再分配的研究表明有97%以上的³H前列腺素E转变为³H前列腺素E甲酯。

放射免疫分析。用氚标记前列腺素的测