

一个比 MDV-1RNA 更易操作的载体。因为一方面,以后可以很容易地将切点选择在 A_{10} 部位,此时只需在 10 胸腺嘧啶核苷酸 T_{10} 的存在下,用核糖核酸酶 H 作用,即可在 $A_{10}:T_{10}$ 部位产生切口。另一方面,用核糖核酸酶 H 切得的两片段,切口处基团都处于正确位置,可直接与外源 RNA 连接(全过程见图 2)。目前,已成功地将来自腺病毒的 210 核苷酸顺序和来自 *E. coli* 的 5S 核糖体 RNA (120 核苷酸) 导入了这种载体,而且两种重组体都能被 $Q\beta$ 复制酶复制。

三、展 望

重组 RNA 技术虽尚处于萌芽状态,但其应用前景是可喜的。人们可以希望任一种 RNA,都有可能大量生产。于是,生产高比活性标记的杂交探针,构造用于 RNA 加工机理研究的模板,对某些病毒和类病毒基因组 RNA 的操作和研究等,这些过去的技术难点,现在就可能很容易办到了。当然, mRNA 也可能大规模合成,这将会使有价值的蛋白质在实验室控制下生产变为现实。

Mills 则准备另辟蹊径,把 DNA 重组技术用于 RNA 分子的重组。其原理相当简单,而在实践上却可能产生一个大飞跃。例如,可把 MDV-1 的 RNA 先拷贝成 DNA,再把 DNA 拷贝连接在质粒上,于是就可利用限制性内切酶对它进行精确、有效的处理了。然后,导入特定 DNA,

并将这种重组 DNA 转录,从而得到我们所需要的重组 RNA。任何一种 RNA,只要能分离出它的基因,就可采用此法。有些 RNA 的制备是相当难的,而处理 DNA 总是比处理 RNA 容易,用这一方法则可避开制备 RNA 难关。

当然,尚待解决的问题也不少。如来自硫细菌 *Sulfolobus solfataricus* 的 tRNA 就不能在此系统中很好地工作。这可能是因为: $Q\beta$ 复制酶有一个宿主产生的核糖体亚基 (S1),它是一个能与 tRNA 结合的蛋白,由于两者之间的特异相互作用,从而阻碍了正常的复制。此外,复制与 RNA 二级结构的关系, $Q\beta$ 复制酶复制 RNA 重组体的可靠性及有效性问题等都还需进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Miele, E. A. et al.: *J. Mol. Biol.*, **171**, 281, 1983.
- [2] Haruna, I. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **54**, 579, 1965.
- [3] Lewin, R.: *Science*, **222**, 1313, 1983.
- [4] Mills, D. R. et al.: *Science*, **180**, 916, 1973.
- [5] Mills, D. R. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **72**, 4252, 1975.
- [6] Schaffner, W. et al.: *J. Mol. Biol.*, **117**, 877, 1977.
- [7] Fukami, Y. et al.: *Mole. Gen. Genet.*, **169**, 173, 1979.
- [8] Sumpter, M. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **72**, 162, 1975.
- [9] Hill, D. et al.: *Nature*, **301**, 350, 1983.
- [10] Blumenthal, T. et al.: *Ann. Rev. Biochem.*, **48**, 525, 1975.

[本文于 1984 年 11 月 12 日收到]

防止 SDS-聚丙烯酰胺凝胶平板电泳中出现的异常现象

陈 日 新

(中国医科大学,生化教研组,沈阳)

SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳灵敏度高,分辨率高,广泛应用于医学,生物化学,分子生物学,免疫,遗传工程等方面。它要求有严谨的操作技术,在电泳过程中如某个环节掌握得不好,就很难得到理想的结果。下面介绍几年来我们在进行 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳时常出现的一些异常现象以及预防的措施。

1. 样品处理时,通常是用 Tris-HCl pH6.8 的缓冲液,要使样品均一的进入分离胶,必须确保缓冲液有精

确的 pH。为此必须用 pH 计测量溶液的 pH 而切忌用 pH 试纸。

2. 配制缓冲液时加入甘油的目的是提高缓冲液的粘度,使样品直接进入梳子齿的底部,不致漂浮在表面,造成样品外溢出现图 1(见封 3)的结果。

3. 结缔组织较多的样品(肌肉、肺脏等),必须彻底匀浆后,再溶于缓冲液中,否则会出现大量沉淀,电泳带浅,模糊(图 3(见封 3))。(下转第 19 页)

其中, V_i 是侧链 i 的摩尔体积. ξ_i 、 ξ_w 、 ξ_E 分别代表侧链、水、乙醇的相互作用参量. ($\xi_w + \xi_E$) 可任意指定, 因其只改变标度的零点而不影响 ξ 参数的差值. 通过实验求出自由能转化值代入上述公式可算出侧链的相互作用参数 ξ_i . 见表 7. 根据表 7, 把氨基酸分成三类:

表 7 氨基酸的侧链相互作用参数 ξ_i

氨基酸	ξ_i^*	氨基酸	ξ_i^*
Cys	1.73	Ser	5.37
Ile	2.31	His	5.66
Met	2.44	Asp	6.04
Phe	2.59	Gly	6.09
Trp	2.78	Gln	6.13
Val	3.31	Glu	6.17
Tyr	3.58	Asn	6.24
Leu	3.93	Arg	6.55
Ala	4.32	Pro	7.19
Thr	5.16	Lys	7.92

* 23 种蛋白质 (4170 个残基) 的

疏水性: Cys. Ile. Met. Phe. Trp. Val. Tyr

中 性: Leu. Ala. Thr. Ser.

亲水性: His. Asp. Gly. Gln. Glu. Asn.

Arg. Pro. Lys.

又, 根据自由能转化值以及相近水分子的分
数, 确定 20 种氨基酸的极性和顺序为:

非极性: Ile. Cys. Met. Phe. Leu. Val. Trp.
Tyr.

中 性: Ala. Thr. His. Ser. Gln. Asp.
Glu.

极 性: Asn. Arg. Pro. Lys.

由上也可以说明, 疏水性和极性是有区别的, 不能简单地将二者等同起来.

结 语

蛋白质分子的各种生物功能与其复杂的结构密切相关, 而疏水基的相互作用是维持蛋白质天然构象的重要因素 (此外还有氢键力、静电力、范德华力等因素). 因此, 有必要进行蛋白质分子中氨基酸残基的疏水性研究.

参 考 文 献

- [1] 沈同等著:《生物化学》.
- [2] Nebergall, W. H.: *General Chemistry*.
- [3] Meirovitch, H., Rackovsky, S. and Scheraga, H. A.: *Macromolecules*, **13**, 1398—1405, 1980.
- [4] Zimmerman, S. S. et al.: *Nature (London)*, **275**, 673, 1978.
- [5] Lee, B., Richards, F. M.: *J. Mol. Biol.*, **55**, 379, 1971.
- [6] Nozaki, Y., Tanford, C.: *J. Biol. Chem.*, **246**, 2211, 1971.
- [7] Jones, D. D.: *J. Theor. Biol.*, **50**, 167, 1975.
- [8] Rachovsky, S., Scheraga, H. A.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **74**, 5248, 1977.
- [9] Manavalan, P., Ponnuswamy, P. K.: *Nature (London)*, **275**, 673, 1978.
- [10] Wertz, D. H., Scheraga, H. A.: *Macromolecules*, **11**, 9, 1978.
- [11] Chothia, C.: *J. Mol. Biol.*, **105**, 1, 1976.
- [12] Krigbaum, W. R., Komoriya, A.: *Biochim. Biophys. Acta*, **576**, 204, 1979.
- [13] Krigbaum, W. R., Rubin, B. H.: *Biochim. Biophys. Acta*, **229**, 368, 1971.
- [14] Pictet, A., Court, G.: *Chem. Biol.*, **40**, 3771, 1907.
- [15] Berger, A. et al.: *Chem. Soc.*, **76**, 5552, 1954.
- [16] Kuntz, I. D.: *J. Am. Chem. Soc.*, **93**, 514, 1971.

[本文于 1984 年 3 月 30 日收到]

(上接第 46 页)

4. 在能分离、辨认的范围内, 样品量越少, 电泳后的谱带越清晰. 如样品用量过大, 就出现扩散或扭曲现象 (图 2 (见封 3)).

5. 决定 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离效果主要是分子筛效应, 其次是电荷效应, 因此必须在恒压下进行电泳. 随意改变电压必然破坏分子筛效应, 影响分离效果 (图 4 (见封 3)).

6. 由于电泳过程中电压很高, 凝胶板的温度明显上升, 致使凝胶变软, 变形, 造成孔径的不均一, 影响分离结果 (图 5 (见封 3)), 为此必须具备一个良好的冷却系统. 如没有这套设备, 根据我们的经验, 用一台电风

扇代替也能达到冷却目的.

7. 灌胶时的速度最好控制在 20—30 分钟, 如果速度太快, 形成梯度不均匀, 出现的谱带不清晰, 重影并有拖尾现象 (图 6 (见封 3)).

8. 梳子厚度与凝胶厚度要匹配. 如梳子太薄, 样品加入时会外溢, 结果见图 7 (见封 3).

9. 电泳槽玻璃板的选择也十分重要. 玻板表面不光滑, 周边不平, 密封不严, 就可能造成电流短路.

10. 图 8 (见封 3) 是防止上述种种异常现象后得到的一个较好的谱带.

本工作承于秉治老师和王殿鸿副教授指导, 特此致谢.

[本文于 1985 年 2 月 5 日收到]

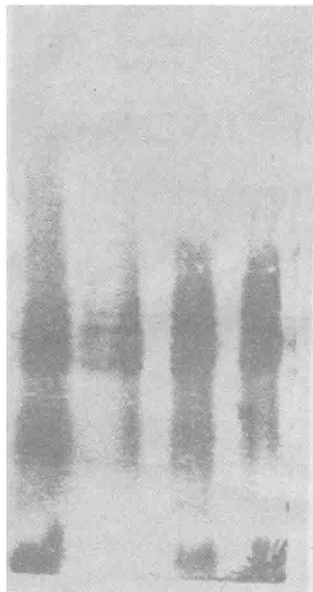


图 1

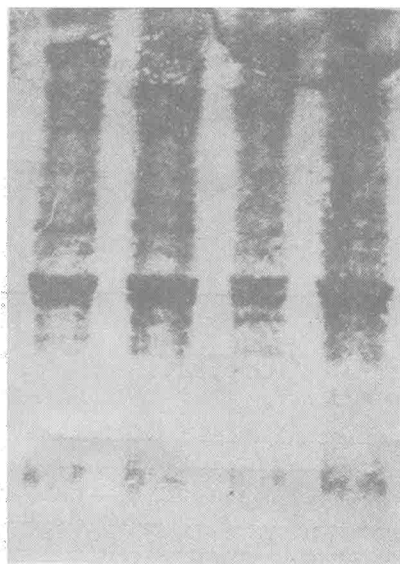


图 2

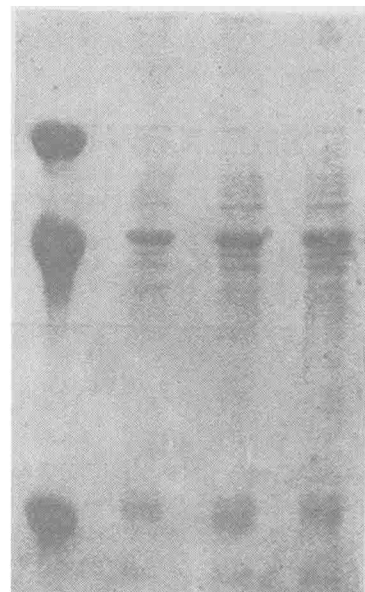


图 3

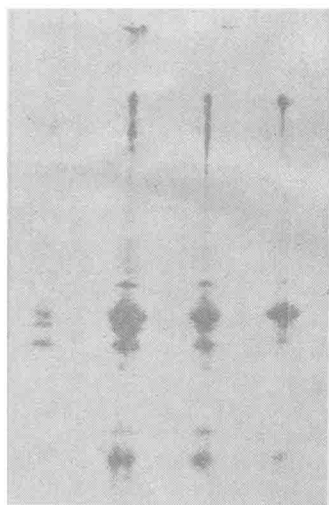


图 4

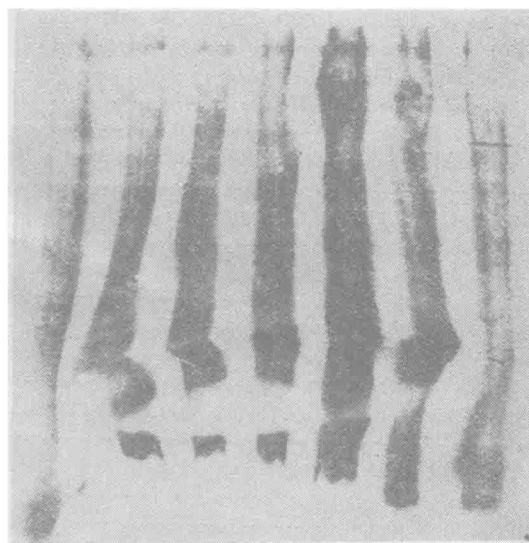


图 5

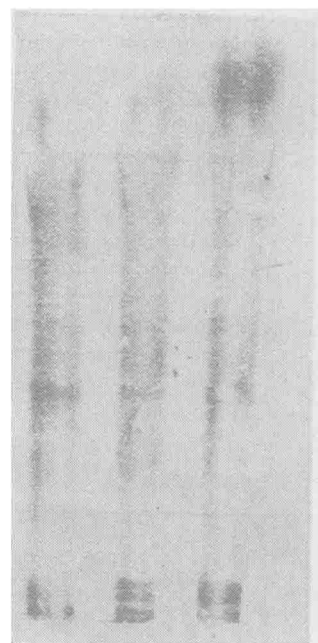


图 6

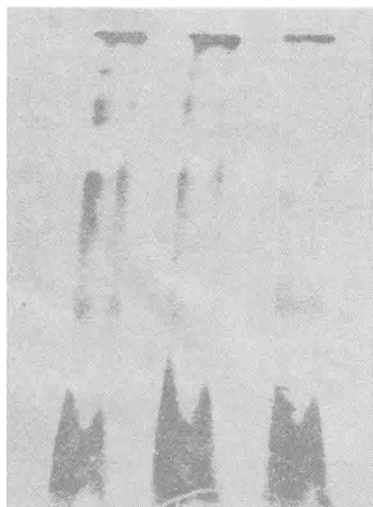


图 7

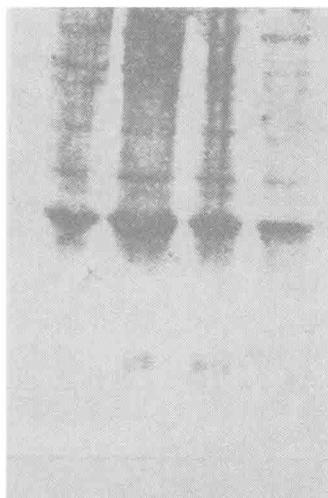


图 8