

聚丙烯酰胺凝胶中蛋白质快速染色的改良法

邹辉琼 陈章林 邓水生

(江西省医学科学研究所,南昌)

聚丙烯酰胺凝胶中蛋白质的染色常采用考马斯亮蓝 R250 为染料进行染色^[1],此法不仅操作繁琐、费时,而且由于需要脱色,很容易将一些染色较弱的蛋白区带颜色褪去,使之不能观察,灵敏度只能达到 0.25 μg 。Reisner 等人报道了以考马斯亮蓝 G250 为染料的快速简便染色方法^[2],它能迅速地观察到凝胶中的蛋白区带,灵敏度也较前法为高。但美中不足的是染色后的凝胶具有一定的本底。我们参照 Reisner 等人的方法作了一些修改,克服了凝胶具有本底的缺点,并使观察蛋白区带的时间更为迅速,灵敏度与 Reisner 等人的方法相同。这在一些需要快速观察蛋白区带的实验中是非常有用的。

材料与方法

一、聚丙烯酰胺凝胶板为 $100 \times 100 \times 1\text{mm}$,配制的分离胶浓度为 10%,浓缩胶浓度为 3%,电泳液为 0.05mol/L Tris-0.38mol/L 甘氨酸-0.1% SDS, pH8.5。

二、牛血清白蛋白(中国科学院上海生物化学研究所)配成 1mg/ml 的溶液。

三、考马斯亮蓝 G250 染色液:考马斯亮蓝 G250 (Fluka 进口分装) 10mg,加 95% 乙醇 5ml 溶解,加 85% H_3PO_4 (化学纯) 10ml,加 H_2O 至 100ml,滤纸过滤。配好后的溶液颜色为棕红色,若为蓝色,则应继续滴加 H_3PO_4 至溶液变为棕红色为止。

四、操作:电泳后取出凝胶,置于固定液中(甲醇:水:冰醋酸 = 5:5:1)固定过夜,固定后的凝胶转入染色液中,1—2 分钟后开始出现蛋白区带。继续显色至蛋白区带完全出现为止(约需 50 分钟)。

表 1 三种染色方法的比较

方 法	染色时间	脱色	操作繁易	灵敏度	本底
考马斯亮蓝 R250	三天	需要	繁琐	0.25 μg	无
考马斯亮蓝 G250	90 分钟	不需要	简单	0.1 μg	浅棕色
改良法	50 分钟	不需要	简单	0.1 μg	无

结果与讨论

图 1 显示了三种染色方法的结果。

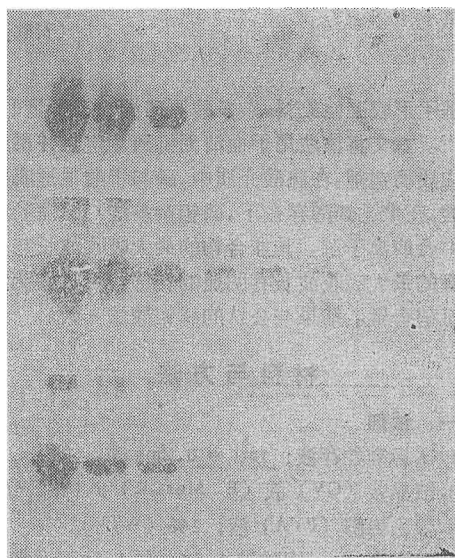


图 1 三种方法对聚丙烯酰胺凝胶中蛋白质的染色结果

(a) 用考马斯蓝 R250 染色。(b) 参照 Reisner 等人的方法在 3.5% 过氧酸中用 G250 染色。(c) 用我们修改的方法以磷酸为酸性介质用 G250 染色。蛋白质样品均为牛血清白蛋白,样品浓度从左到右依次为: 20 μg 、10 μg 、5 μg 、1 μg 、0.75 μg 、0.5 μg 、0.25 μg 、0.1 μg 。

图 1a 需要脱色,整个过程为三天,灵敏度为 0.25 μg 。图 1b 和 c 均不需要脱色,灵敏度至少为 0.1 μg 。但 b 的染色时间稍长,且有浅棕黄色本底。

从表 1 可以看出,我们修改以后的方法不仅快速、灵敏、无本底,而且它的操作十分简便,不需要脱色,一步就可完成全部染色过程。

参 考 文 献

- [1] 莽克强等编:《聚丙烯酰胺凝胶电泳》,科学出版社,1975 年。
- [2] Reisner, A.H. et al.: *Analytical Biochemistry*, 1975, 64, 509.

【本文于 1988 年 7 月 20 日收到】