

经验交流

# 一种垂直板凝胶电泳装置的简便胶封技术

薛 建 华

(海军医学研究所 上海宝山)

垂直板凝胶电泳技术,在生物学和医学研究中使用日益普遍。然而,与水平电泳相比,由装置的垂直状态产生的液面高差,在制板电泳过程中易出现胶液或电极液渗漏,导致电泳失败。因此,发展一项简便可靠的防漏技术实有必要。

本文介绍一种以聚丙烯酰胺凝胶(PAG)作为防漏介质的垂直板电泳装置和胶封技术,使用效果满意。

## 一、电泳装置

由上、下电泳槽(图 1)和凝胶板模(图 2)二部分组成。

电泳槽用有机玻璃制作。下槽是一只上口敞开的长方形扁盒,有接线柱,可接白金丝作阳极。上槽由主室和突出在主室上部的副室组成。主、副室间有水平狭缝相通、主室内接线柱接不锈钢丝作阴极,副室的底面中央开一长方形窗口,其大小恰能穿过凝胶板模。

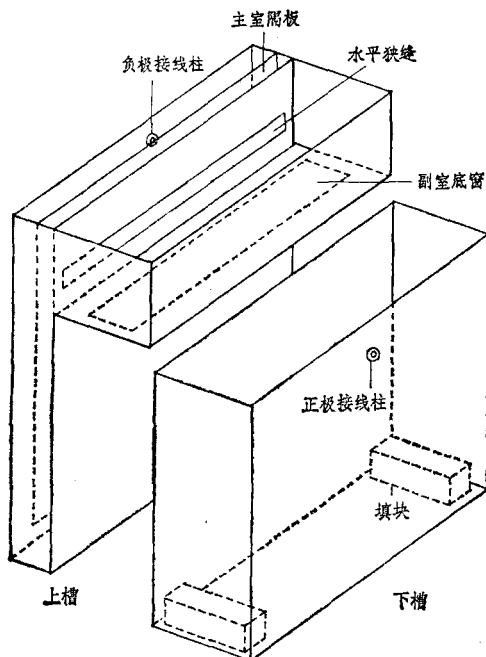


图1 垂直板电泳槽

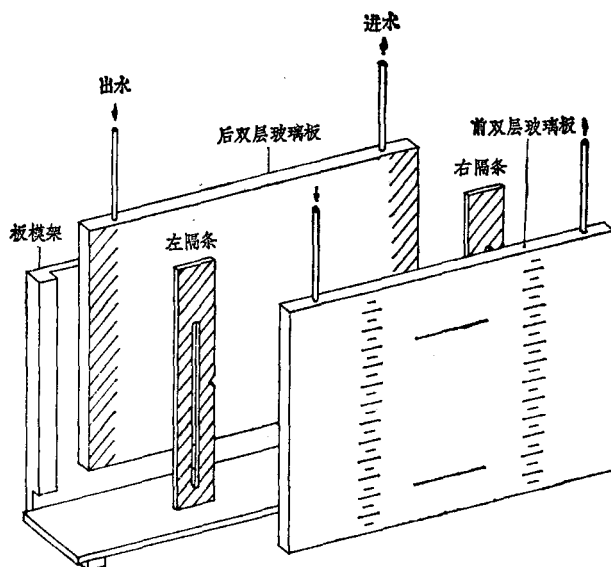


图2 板模和板模架

凝胶板模由二块双层玻璃板和一对有机玻璃隔条组成。往双层玻璃板的夹层内通以冷水,可不断将电泳产热带走。隔条厚 3 毫米,表面磨毛。将左、右隔条整齐夹在前、后双层玻璃板二侧的磨砂区之间,用橡皮筋套住,便成板模。隔条和玻璃板所围空间,供灌注胶液、模制凝胶板之用。

## 二、胶封技术

### 1. 封板模

用本法模制凝胶板,胶液需从板模上口灌入。为防止漏失,需事先将板模二侧隔条和板模底口封闭。方法是先用橡皮筋将板模简单地缚于一只有机玻璃制的板模架上(下口与板模架的接触面事先涂一薄层油脂),然后将刚配好的丙烯酰胺封胶迅速沿二侧隔条灌入板模。封胶用量应以在板模腔下部形成 5 毫米高液层,并且左、右隔条与玻璃板磨砂区的接触面被胶液完全展开为度。封胶凝固后,再在其上部灌注 15 毫米高 4% 普通丙烯酰胺缓冲胶液,如果不漏,表明板模胶封良好,随后即可在 4% PAG 上部的其余空间模制工作凝胶板。

# 简易薄层分析等电聚焦的毛细管灌胶模具制作

钟 菊 香

(中国兽药监察所, 北京)

使用薄层(0.5 mm)聚丙烯酰胺和琼脂糖等电聚焦技术, 在制胶时需一种毛细管灌胶模具。这里介绍一种制作此种毛细管灌胶模具的简易方法。

1. 裁 3mm 厚, 26 × 12.5 cm 的玻璃两块。

2. 取其中一块在两长边沿边画取 0.5 cm 宽的直线, 翻转玻璃板, 在 0.5 cm 宽的线区内沿边铺上浓硝基外用清漆; 铺漆时注意放平, 铺至厚度达 3 mm 即成。在室温晾 1—2 天。

3. 当漆边条表面干至不沾手, 但用力按仍会扩展

时, 将另一块玻璃板盖上, 两边各夹一夹子, 然后在室温晾干。

4. 取下玻璃板, 量取 0.5 cm 宽的漆边条, 多余部分用解剖刀裁去, 如图 1。

5. 在另一块玻璃板上放置一张胶薄膜(外购), 盖上带漆边条的玻璃板, 两块玻璃板的两端错开 2cm。然后, 两边用夹子夹紧, 即成一套毛细管灌胶模具。如图 2。

该模具可以与瑞典 LKB 公司的毛细管模具媲美,

## 2. 封副室底窗

将制好工作胶板的板模从架上取下, 直立在下槽底部的填块上, 上端穿过副室底窗, 使上、下槽套合在一起, 用封胶凝封底窗四周的缝隙后, 便可阻止上槽缓冲液漏失。方法是将封胶配制在小锥形瓶中, 加入催聚剂, 混合均匀, 静止对光观察倾斜的锥形瓶内液体, 当发现液体的彩色背景上有不规则丝状折射条纹时, 表明胶液凝聚已经开始, 即可用滴管吸出一部分(同时不停搅动剩余部分), 迅速均匀地灌注、吸附于底窗四周的缝隙内。凝后再加第二次封胶, 直到底窗缝隙全部封凝完毕。如果缝隙太大, 可先用棉纱线或滤纸适当嵌塞后再行胶封, 以免损失胶液。

## 三、封胶配方

为节约胶封时间, 封胶的聚合速度应快。试验表明, 目测到的封胶开始聚合的时间与胶液温度、新配催聚剂用量和胶液的丙烯酰胺浓度成显著负相关, 与大于 2% 的丙烯酰胺交联度相关不显著。图 3 显示封胶聚合开始时间与胶液温度的关系。封胶聚合开始时间与催聚剂用量和丙烯酰胺浓度的关系与此相似(曲线图从略)。根据我们的经验, 将封胶聚合的开始时间控制在 45 秒左右对操作比较合适, 为此, 封胶配方应为:

胶液丙烯酰胺浓度: 5% (交联度 2.5%)

胶液温度: 20 ± 1℃

加入的新配催聚剂(3%过硫酸铵和 10% TEMED)与丙烯酰胺溶液的体积比为 1:10。

仅在封闭底窗周围缝隙时, 为观察和控制封胶的聚合时间, 需要掌握一定的熟练技巧。我们发现, 封胶从开始聚合到聚合完毕有一个时间过程, 剧烈搅动胶

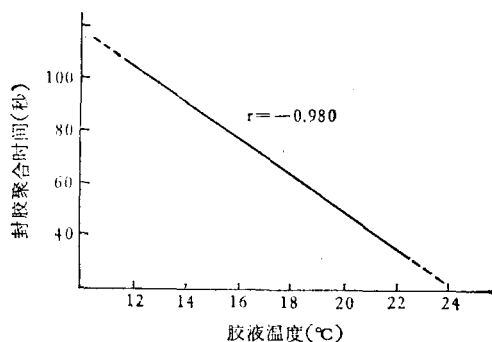


图 3 封胶聚合开始时间与胶液温度的关系

液可以阻止聚合的发生。但是, 凝胶一旦形成, 便无法用摇搅的办法使其逆转。因此, 剩余胶液的搅动力量要掌握适当, 不宜太大, 也不能太小。此外, 为了增加缝隙内凝胶的承压能力, 应在缝隙上部继续加注至少 2 毫米高封胶覆盖层, 并检查是否渗漏。

用聚丙烯酰胺凝胶作为防漏介质的优点是操作迅速, 方便和可靠, 通常只需数分钟便可胶封完毕。电泳后的拆板, 取胶和清洁工作等也都十分容易。另外, 本电泳装置使用的特制双层玻璃板可以提高电泳冷却的效果。玻璃板面上的刻度对观察样品电泳迁移距离、获取泳谱的可比结果十分有用。我们用此装置进行了垂直板 PAG 梯度电泳、垂直板琼脂糖凝胶电泳、琼脂糖-PAG 双向电泳以及交叉免疫电泳等, 均取得了良好的结果。

[本文于 1985 年 2 月 26 日收到]