

毫米^[6]。

超声检测: 它必须把超声能量转变成热能才能用微胶囊液晶膜来检测。

5. 印刷的应用

微胶囊液晶膜也可用于印刷、如书的封面设计、检图和印刷广告等,使用不同液晶配方组成的图案,在不同的温度情况下可给出不同的图案或颜色。

微胶囊技术除了用于造纸工业上的无碳复写纸以及胆甾型液晶温度显示膜外,在国民经济其它方面也得到了广泛的应用^[7]。如医学上的应用,通过药物胶囊化,使药物减少毒性和延长作用时间,也便于保存。在农药上可增加农药的有效期。

目前我们在实验室里制作了一些微胶囊液晶膜,北京化工厂、天津试剂二厂等单位曾给予大力支援,我们深为感谢。由于条件有限以及材料不足,所以还没有大量推广应用,有待于具

体应用过程中进一步改进和提高。但我们能够看到微胶囊液晶的应用潜力是相当大的。

参 考 文 献

- [1] Williams, E.: *Liquid Crystal for Electronic Devices*, pp. 46—48, 1975.
- [2] Ranney, M. W.: *Microencapsulation Technology*, pp. 1—2, 1969.
- [3] Ewnulat, R. D. et al.: *Thermal Radiography Utilizing Liquid Crystals, Molecular Crystals and Liquid crystals*, Vol. 13, No. 2, pp. 149—164, 1971.
- [4] U. S. Patent 3770961.
- [5] Augutine, C. F.: *Electronics*, 41, No. 9—17, p. 118—121, 1968.
- [6] Allen, P. J.: *Electro-optical systems design conference*, pp. 494—500, 1969, New York.
- [7] American Chemical Society Symposium on Microencapsulation Processes and Application, Chicago, 1973. *Microencapsulation: processes and application* 1974.
- [8] 中国科学院生物物理研究所五室: 《生物物理和生物化学进展》, 1978年, 第5期, 第12页。

[本文于 1978 年 9 月 20 日收到]

国产聚酰胺薄膜在生化分析中的应用

武祥福 罗珊 陈远聪 戚正武

(中国科学院上海生物化学研究所)

聚酰胺薄膜是利用聚酰胺作为涂料固定在载片(涤纶片)上,制成质地均匀含有紧密多孔的薄膜。它是一种新的薄层层析材料。由于它具有分辨力强、灵敏度高、分析速度快、操作方便等优点,今天已广泛应用于各种化合物的分析^[1,2]。国内过去聚酰胺薄膜都由各实验室自己制备,由于受条件限制,质量不能保证,浪费很大,因而无法大量推广。最近,上海生化所与浙江黄岩化学实验厂协作,试制了聚酰胺薄膜,质量较好,能成批生产,从而为此种薄膜在各分析领域中的广泛应用提供了有利条件。

前文^[3]已报道了聚酰胺薄膜的层析原理及其在蛋白质化学分析中的应用。本文介绍用上述国产聚酰胺薄膜对生化中常用的氨基酸、核

酸碱基或核苷、甾体激素、糖类及脂肪酸的分析,所取得良好的分离效果。

一、DNS-氨基酸的 聚酰胺薄层层析

DNS-氨基酸的制备及层析条件见[3],各混合氨基酸经 DNS-Cl 反应后的层析图谱见图 1a (本文中所用国产聚酰胺薄膜的面积均为 7 × 7 平方厘米)与进口同类产品(7.5 × 7.5 平方厘米)的层析图谱(图 1b)相比较,具有如下优点: (1) 在带有 360 毫微米滤色片的高压汞灯下,国产薄膜的底色较进口产品的深,此时由于 DNS-氨基酸带有荧光,因而反差好。(2) 国产

薄膜 DNS-Ala 与 DNS-NH₂ 能完全分开, 而进口产品两者合在一起。(3)国产薄膜各DNS-氨基酸点子圆而集中, 进口产品点子略有扩散, 呈椭圆形。

层析时先在有机相展层(苯:冰醋酸 = 9:1 V/V), 溶剂前沿至薄膜顶部的时间约 15 分钟(20℃), 为取得较好的分离效果, 可再延长约 1/3 时间, 即前后约 20 分钟。但在第二相水相展层时(85%甲酸:水 = 1.5:100 V/V), 一俟溶剂前沿至薄膜顶部后即取出, 不要过头, 否则 DNS-碱性氨基酸将随溶剂而流失。

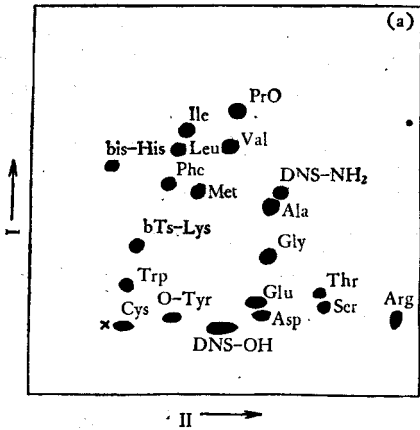


图 1a DNS-氨基酸在国产聚酰胺薄膜上的层析图谱

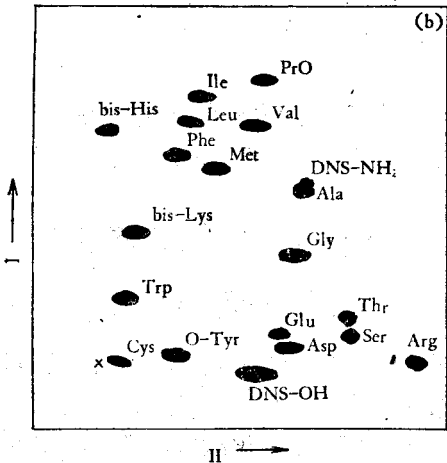


图 1b DNS-氨基酸在进口聚酰胺薄膜上的层析图谱

图 1 DNS-氨基酸的聚酰胺双向层析图谱

DNS-氨基酸在酸性条件下(pH2—3)一般都可被乙酸乙酯所抽提, 然后取乙酸乙酯层点样层析, 这样大量 DNS-Cl 的反应副产物

DNS-OH 可留于水相, 所得层析图谱清晰无干扰。若是 DNS-Arg, DNS-Asp, DNS-Glu, DNS-Thr, DNS-Ser, 则大部分或部分留于水相, 往往会被遗漏而导致错误结论。这时可将样品浓缩干, 用甲醇直接溶解后点样, 由于上述 DNS-氨基酸的层析位置都位于 DNS-OH 的右侧, 影响不大, 这在测定多肽或蛋白质的 N 末端时应特别注意。

DNS-氨基酸在薄膜上检测灵敏度为 0.01 微克, 即相当于 10⁻¹⁰ 克分子浓度。

二、核酸碱基和核苷的

聚酰胺薄层层析

按测定方法又可分为紫外检测方法和荧光标记法。前者简便, 但灵敏度较低, 后者不简便, 但灵敏度高, 两者各有利弊。

1. 紫外检测法^[4]:

可将核酸碱基或核苷直接点样层析, 层析后在紫外灯或附有 260 毫微米滤色片的低压汞灯下检出, 所得层析图谱如图 2a、b、c 所示, 检出灵敏度可达 0.5—1 微克。

2. 荧光标记法

由于 DNS-Cl 不能直接与核苷起反应,

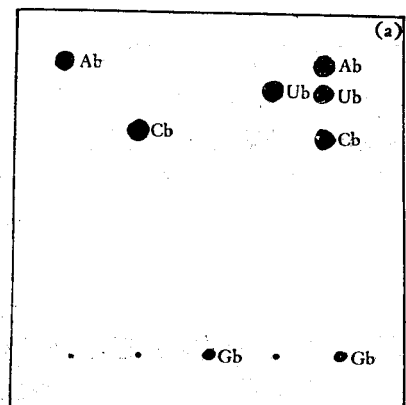


图 2 核酸碱基和核苷的聚酰胺层析图谱

图 2a 核酸碱基的单相层析图谱

溶剂系统: 乙酸乙酯: 醋酸: 甲醇: 水 = 20:2:1:1 (V/V)。层析时间: 15 分钟 (20℃)。Gb 位于原点不动。样品: Ab, 腺嘌呤。Gb, 鸟嘌呤。Cb, 胞嘧啶。Ub, 尿嘧啶

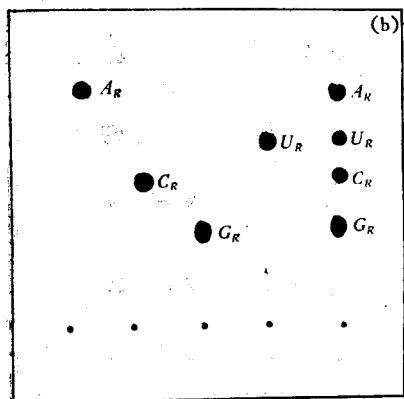


图 2b 核苷的单相层析图谱

溶剂系统: 乙酸乙酯:醋酸:甲醇:水 = 20:2:1:1 (V/V)。层析时间: 15 分钟 (20°C)。样品: A_R , 腺嘌呤核苷。 G_R , 鸟嘌呤核苷。 C_R , 胞嘧啶核苷。 U_R , 尿嘧啶核苷

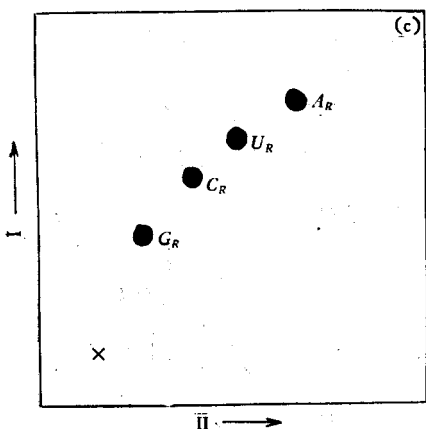
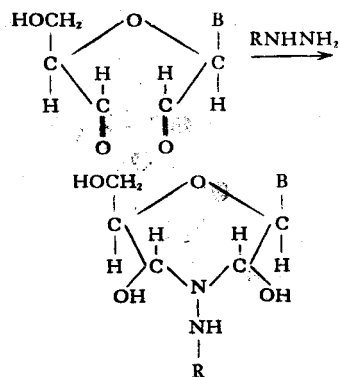
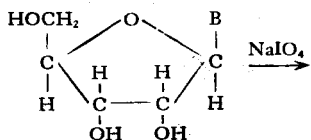


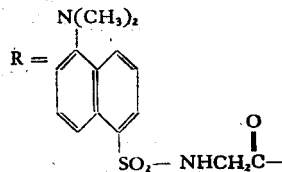
图 2c 核苷的双向层析图谱

溶剂系统: 1) 乙酸乙酯:醋酸:甲醇:水 = 20:2:1:1 (V/V)。2) 四氯化碳:醋酸:丙酮 = 4:1:4 (V/V)。层析时间: 每相各为 15 分钟 (20°C)。样品同图 2b

DNS 荧光通过 DNS-甘氨酸核苷腺衍生物而标记^[5]。将单核苷先用过碘酸氧化, 使生成相应的单核苷二醛, 然后取后者的水溶液, 与过量 5 倍的 DNS-甘氨酸胍乙醇溶液以等体积混合, 在 0°C 下放置 1 小时以上, 使生成相应的 DNS-甘氨酸核苷腺。整个反应如下:



B = 碱基(腺嘌呤、鸟嘌呤、胞嘧啶、尿嘧啶)



反应产物即为带有荧光的核苷衍生物, 即可在聚酰胺薄膜上点样层析。层析图谱同样可在带有 360 毫微米滤色片的高压汞灯下检测。灵敏度为 0.01 微克。如图 3 所示。

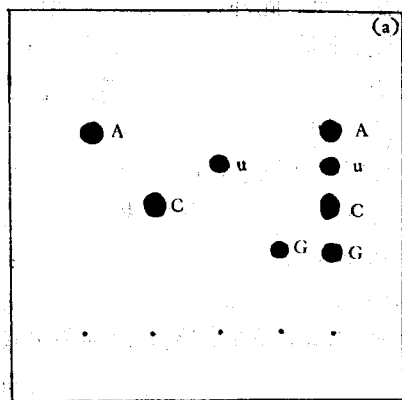


图 3 各种 DNS-甘氨酸核苷腺的聚酰胺层析图谱

图 3a 单相层析图谱

溶剂系统: 乙酸乙酯:醋酸:甲醇:水 = 20:2:1:1 (V/V)。层析时间: 15 分钟 (20°C)。样品: A: DNS-甘氨酸腺苷。 G: DNS-甘氨酸鸟苷。 C: DNS-甘氨酸胞苷。 U: DNS-甘氨酸尿苷

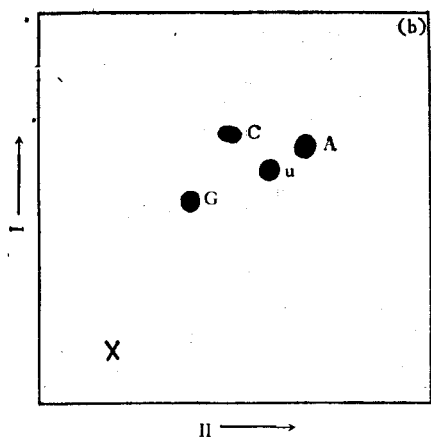


图 3b 双相层析图谱

溶剂系统: 1) 0.5%甲酸水溶液:异丙醇 = 5:1 (V/V)。2) 乙酸乙酯:醋酸:甲醇:水 = 20:2:1:1 (V/V)。层析时间: 每相各15分钟(20°C)。样品同图 3a

三、甾体激素的聚酰胺薄层层析

各种甾体激素由于结构近似, 很难分离鉴定。例如硅胶薄板虽能分离雌酚酮(E_1), 17- β -雌二醇(E_2)及雌三醇, 但对 E_1 或 E_2 相应的脱氢衍生物无法分开。此外, 在用硅胶薄板层析时, 需配制硅胶、铺板、干燥、活化等, 操作麻烦, 层析时间也长。采用聚酰胺薄膜可完全克服上述缺点, 并可得到很好的层析图谱。

层析时将甾体激素样品溶于无水乙醇中, 样品含量约 5 微克。展层后将聚酰胺薄膜浸泡于新鲜配制的显色剂中 (1% $FeCl_3$ 与 1% $K_3Fe(CN)_6$ 以等体积比例混和), 约 1—2 分钟后取出薄膜, 用 2N HCl 溶液固定并脱去底色, 待底色基本脱清后, 取出薄膜用蒸馏水冲洗, 在 40°C 下烘干。层析点子呈蓝色, 底板无色。

图 4a 及 b 分别为在两种不同溶剂系统中 E_1 , E_2 , E_3 及 E_3 的溴代衍生物的层析图谱, R_f 值彼此都有明显的区别。

图 5a 及 b 分别为在两种不同溶剂系统中 E_1 , E_2 与其相应脱氢衍生物的层析图谱, 虽然彼此的 R_f 值较接近, 但能明显区分。

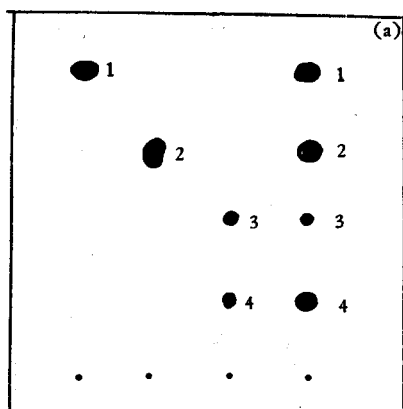
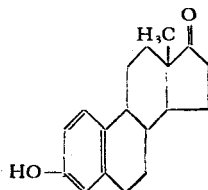


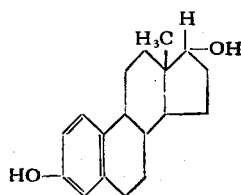
图 4 雌酚酮、雌二醇及雌三醇的聚酰胺层析图谱

图 4a 溶剂系统: 氯仿:丙酮 = 4:1 (V/V)。层析时间: 15 分钟 (20°C)。样品编号:

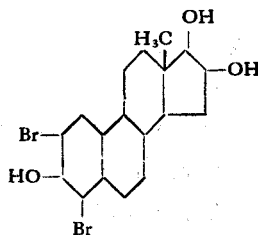
1. 雌酚酮 (E_1)



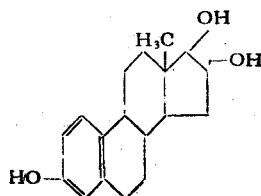
2. 17- β -雌二醇 (E_2)



3. 2, 4-二溴雌三醇 (2, 4-Br, E_3)



4. 雌三醇 (E_3)



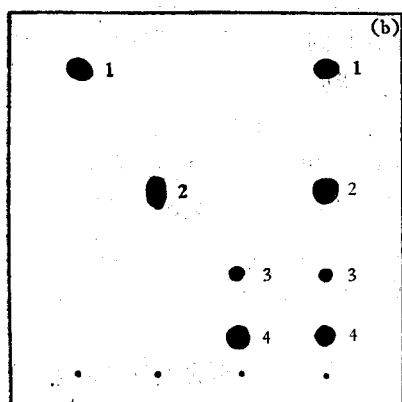


图 4b 溶剂系统: 氯仿:乙酸乙酯 = 4:1 (V/V)。层析时间: 15 分钟 (20°C)。样品编号同图 4a

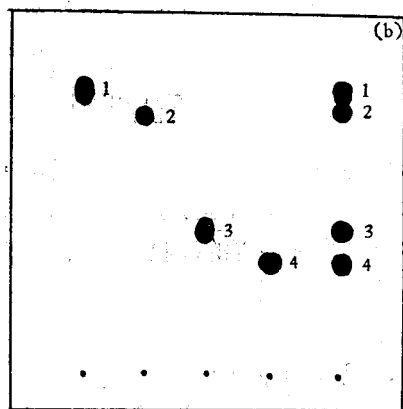


图 5b 溶剂系统: 环己烷:氯仿:乙醚 = 3:1:1 (V/V)。层析时间: 15 分钟 (20°C)。样品编号同图 5a

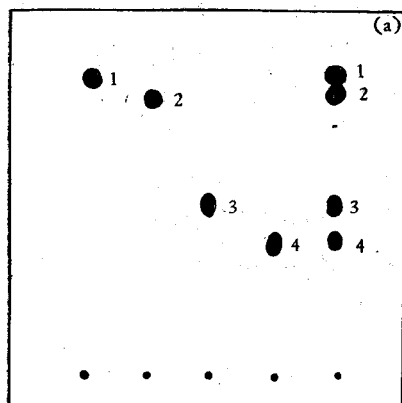
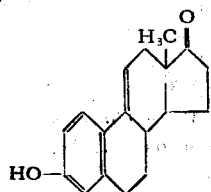
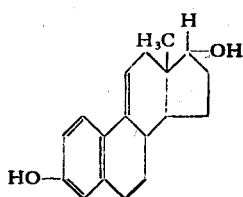


图 5 雌酚酮、雌二醇与其相应脱氢衍生物的聚酰胺层析图谱

图 5a 溶剂系统: 氯仿:苯:乙醚 = 3:1:1 (V/V)。层析时间: 15 分钟 (20°C)。样品编号: 1.雌酚酮 (E_1)。2.9, 11-脱氢雌酚酮 ($\Delta^{9,11}E_1$)



3. 雌二醇 (E_2)。4. 9, 11-脱氢雌二醇



($\Delta^{9,11}E_2$)。

四、糖类的聚酰胺薄层层析

将各种糖类的样品溶于 80% 乙醇中, 点样时各样品含量约 2 微克。展层后将薄膜吹干, 然后将显色剂 (0.25 克联苯胺加 5 毫升醋酸、40 毫升乙醇及 5 毫升 40% 的三氯醋酸) 均匀喷雾于展层后的薄膜上, 用热风吹干至样品显色为止 (或在 110°C 烘箱中加热 15 分钟)^[6]。层析后显色的样品点呈桔红色。层析图谱见图 6。

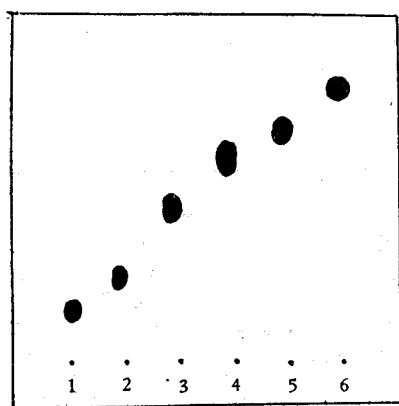


图 6 各种糖类的聚酰胺层析图谱

溶剂系统: 甲酸乙酯:甲醇 = 8:1 (V/V)。层析时间: 15 分钟 (25°C)。样品编号: 1.麦芽糖。2.蔗糖。3.葡萄糖。4.果糖。5.阿拉伯糖。6. L-岩藻糖

图 6 中的样品取常见的双糖 (麦芽糖及蔗

糖),六碳糖(葡萄糖及果糖)和五碳糖(阿拉伯糖及 L-岩藻糖)。彼此的 R_f 值可明显区分。

五、脂肪酸的聚酰胺薄层层析

各种饱和脂肪酸,由于只是在脂肪链上相差若干碳原子,特别是碳链长短很接近的脂肪酸,即使分辨率很高的硅胶薄板层析也不能分开,而用聚酰胺薄层层析,若选择适当的溶剂系统,可有效地区分常见的从 C_{10} — C_{12} 六种饱和脂肪酸,方法灵敏简便^[7]。

将各种脂肪酸样品溶于氯仿中,样品量为 1—2 微克。展层后的薄膜立即吹干(以防样品点扩散),先在 2N 醋酸溶液中浸渍,取出后吹去积在薄膜表面滞留的多余醋酸,但不要吹干(否则底板要变深),然后再在 0.05% 罗丹明 B (Rhodamine B、碱性蕊香红)水溶液中浸渍,取出后吹干,样品点呈深红色,底板带淡粉红色。层析图谱见图 7。

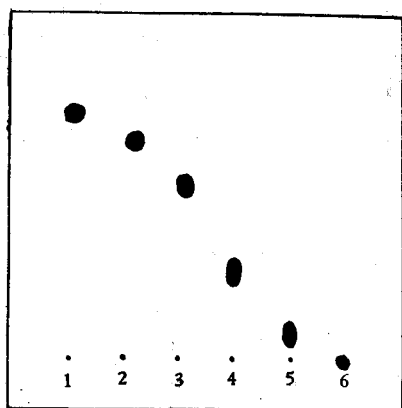


图 7 脂肪酸的聚酰胺层析图谱

溶剂系统: 甲醇:丙酮:水 = 1:1:1(V/V)。
层析时间: 20 分钟 (30℃)。样品编号:
1. 十碳烷酸。2. 十二碳烷酸。3. 十四碳烷酸。
4. 十六碳烷酸。5. 十八碳烷酸。6. 二十碳烷酸

我们对 Copius-Peereboom^[7]所用的溶剂系统略作修改,得到较好的层析图谱,并注意到图 7

中,二十碳烷酸位于原点。如果减小溶剂系统中水的比例(例如: 甲醇:丙酮:水 = 2:2:1(V/V)),可以增加二十碳烷酸的 R_f 值,但对 C_{10} — C_{16} 烷酸的分离效果差。反之增加溶剂系统中水的比例(例如: 甲醇:丙酮:水 = 3:3:4 (V/V)),可以使 C_{10} — C_{16} 烷酸更明显地分开,但 C_{18} 、 C_{20} 烷酸的 R_f 值却都等于 0。因此,可根据不同样品,选用适合的溶剂系统,以获得良好的分离效果。

聚酰胺薄层层析的优点及其应用,已经在国内引起广泛的注意,尤其在生化技术领域内,已日益成为常规的微量分析方法之一。在高等学校中,聚酰胺薄膜也将成为一种普及的教学实验材料。除了本文介绍的几类化合物之外,其他许多类化合物的聚酰胺薄层层析国外已有所报道。可以相信,国产聚酰胺薄膜的投产将使聚酰胺薄层层析为生化和其他各分析领域迅速采用,并将取得新的进展。

本文有关核酸碱基和核苷的聚酰胺层析图谱由我所二室蔡菊娥同志提供,甾体激素的聚酰胺层析图谱由我所五室苏妙根同志提供,在此一并致谢。

参 考 文 献

- [1] Wang, K. T.: *Progr. Thin-Layer Chromatog. and Related Methods*, 3, 177, 1972.
- [2] Wang, K. T. et al.: *Adv. in Chromatog.* 11, 73, 1974.
- [3] 中国科学院上海生化所陈远聪等:《生物化学与生物物理进展》1975 年,第 1 期,第 38 页。
- [4] 中国科学院上海生化所二室核酸合成组:《生物化学与生物物理学报》,第 10 卷,1978 年,第 1 期。
- [5] 中国科学院上海生化所二室结构分析组:《生物化学与生物物理学报》,第 7 卷,1975 年,第 2 期。
- [6] Marais, J. P.: *J. Chromatog.*, 27, 321, 1967.
- [7] Copius-Peereboom, J. W.: *Nature*, 204, 748, 1964.

[本文于 1978 年 9 月 13 日收到]