

技术与方法

旋转透析器的试制及其透析效率

范培昌 黄明 杨艳

(华东师范大学生物系, 上海)

提 要

本文介绍了一种自制的直立式透析器。用它, 不论袋内离子浓度多少, 均能在 1—2 小时使透析袋内、外离子达到完全平衡。相反, 常规静置透析在同条件下经 48 小时只能达基本平衡。本文叙述了仪器的设计、组装、透析效率及其影响因素。

迄今, 除用半透膜将离子或低分子量化合物与生物大分子分离的常规透析外, 还发展了生物大分子分级的差示透析 (Differential dialysis), 以及测定低分子量配体和大分子结合的平衡透析 (Equilibrium dialysis) 等。近代更用透析法进行种间分子杂交和制备脂质体^[1]。遗憾的是, 透析法操作一次常需 1—3 天, 还需不断更新透析袋外缓冲液(下称透析外液)。长时间透析还可能导致染菌或大分子失活, 为此又常把整个透析缸搬入冰箱内操作。

七十年代以来, 国外生产了一种具有致冷系统并能搅动透析外液的透析器。它不仅价格昂贵, 而且并不节省时间^[2]。

我们实验室正在进行人红细胞膜带 3 蛋白重组入脂质体的研究^[3,4]。为了用透析法制备具高效包裹药物的大型脂质体^[5,6], 自制了一架旋转透析器。用它, 除成功地制备了具跨膜运输 $^{35}\text{SO}_4^-$ 的大型带 3 蛋白脂质体 (Band 3-proteoliposomes) 外(另文发表), 还发现此仪器具有高的透析效率。现已将本装置转让于江苏吴县科研仪器厂生产, 该厂取名为 FPC 86-1 型旋转透析器。

材 料 与 方 法

各种规格透析膜购自 Union Carbide Corporation。其它试剂均采用分析级。

1. 透析效率之比较

取 60 毫克细胞色素 c 或血红蛋白, 溶于 12 毫升无离子水, 加入固体硫酸铵使其饱和度为 0.131。取直径为 2 厘米的透析袋用 Na_2CO_3 煮两次, 再用蒸馏水煮两次清洗干净。裁成 6 厘米长, 共 4 段。用线扎成袋后分别装入上述蛋白质溶液各 3 毫升。两袋装配于旋转透析器, 另两袋按常规静置透析法操作。二者均在室温 (18℃) 下对 14 升电导率为 4 微姆/毫米 ($\mu\Omega/\text{cm}$) 的蒸馏水透析。每隔一定时间用 DDS-11A 型电导仪测透析外液的离子强度, 共 48 小时。

2. 不同硫酸铵饱和度等的影响

方法同上, 但血红蛋白样品中的硫酸铵饱和度和分别为 0.131、0.322 和 0.492。各样品装透析袋后分别进行旋转透析。转速控制在 20 转/分。为了比较国产市售玻璃纸与进口透析膜的旋转透析效率, 将玻璃纸也用 Na_2CO_3 和蒸馏水各煮沸两次, 然后折成袋并装配到旋转透析

器上,其它操作均同上述。此外,试验了转速对旋转透析效率的影响,除转速分别为15、35、50和100转/分外,其它操作均同上述。

结果与讨论

1. 仪器设计与组装

用实验室现有材料按图1组装:直立式透析缸1(见图1A)、T形转轴支架2、具有可装

卸透析袋转轮的T形搅棒3,以及附无级调速器的低速电磁搅拌器4。透析缸呈长方形。考虑到它的强度和防辐射要求,采用透明有机玻璃粘制而成,容积为 $35 \times 35 \times 15$ 厘米³,可容透析外液最大达17升。缸外侧上端附有操作支架5,当装卸透析袋时,整个T形转轴架连同转轮和T形搅棒(见图1B),可一并自缸内取出放在此支架上操作。

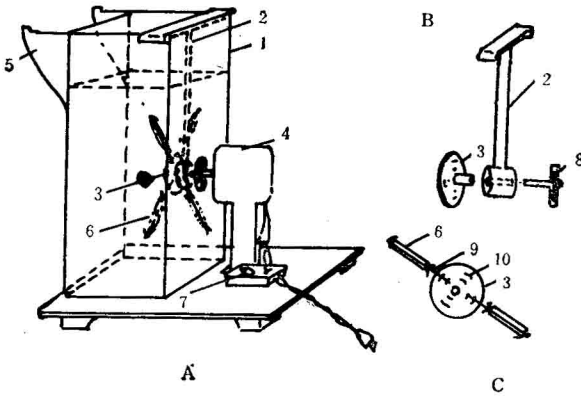


图1 旋转透析器结构与外貌

A. 整机结构示意图; B. 示T形转轴架、转轮和T形搅棒的装配图;
C. 示透析袋插入转轮图; D. 实物照片。图中编号说明见正文。

提高透析效率的最好办法是使透析袋内溶液运动。我们观察到,结扎透析袋时溶液表面终会留一空间,若使袋作垂直旋转运动,此空腔即以气泡(易氧化物质可充氮气)在袋内上、下翻腾,起到搅动袋内溶液作用。因此我们设计用垂直旋转式。预备实验也证明,水平旋转时袋内气泡难以运动。此外,透析膜甚娇嫩,在溶液中运动易变形破损。为此我们用玻棒作支撑,玻棒选用直径1—2毫米、长6—10厘米,视透析袋大小和装样量多少而定。玻棒(见图1c)制成上圆下尖。结扎透析袋时,先把透析袋一端用线扎好,把玻棒自圆头处插入袋底,把袋外扎线以下所余部分弯折,再用线把此端连同玻棒一起扎紧。倒转玻棒,用吸管顺袋口加入样品,再用线扎紧袋口。此时即可将玻棒沿尖端插入转轮的橡皮筋10中。此转轮可同时插2或4袋,插时两侧需对称。此转轮安装在穿过T形转轴架中心孔的T形搅棒8之端部(图1B)。

用大头针制成的销子固定。将安装好的T形架浸入透析缸,并使搅棒中心紧贴缸外电磁搅拌器。打开电源,调节无级调速器7(图1A),使转速恒定在15—40转/分。在数十次实验中,有时转速高达100转/分,从未出现透析袋破损或内液泄漏现象。

2. 透析效率及其影响因素

比较了同条件下旋转透析与常规静置透析的效率。用电导仪分别监测二者透析外液的电导率变化,结果见图2。使用旋转透析器仅需1—2小时就能使袋内、外离子达完全平衡;相反,相同条件下不旋转的静置透析,虽经48小时仍未达到完全平衡。旋转透析的转速仅需20转/分,能达如此高效率,完全是因袋内气泡随垂直旋转而上、下翻腾,使袋内溶液充分搅动之故。

比较了样品中含三种硫酸饱和度在转速20转/分下的旋转透析效率,结果见图3。随

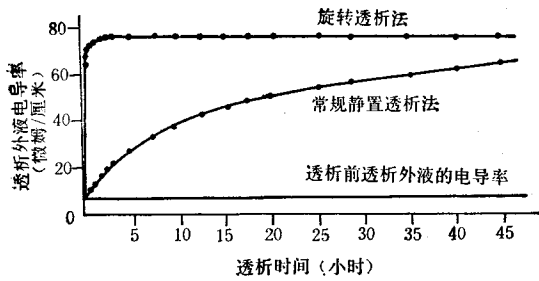


图2 旋转透析与常规静置透析法透析效率之比较
条件见材料与方法

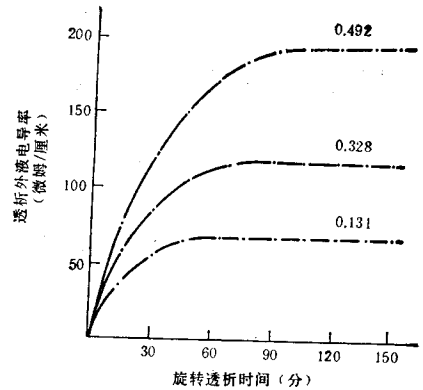


图3 不同硫酸铵饱和度对透析效率之影响
图中数字为硫酸铵饱和度,其它条件见材料与方法

着袋内离子浓度的增加,透出袋外的离子也增多,但最高离子浓度者(饱和度达0.492),仍能在1—2小时内达到完全平衡。

实验证明,提高转速只在最初45分钟内使袋内离子渗出数量略有提高(表1),最终仍在1—2小时内达到完全平衡。因此采用低速更

为有利,透析袋也不易变形。

我们又进行了市售玻璃纸卷制成袋替代进口透析袋的旋转透析效率,结果表明二者基本相同。

表1 不同旋转速度的透析效率

透析外液电导率(微姆/厘米)

转 速 (转/分)	旋 转 透 析 时 间 (分 钟)									
	15	30	45	60	75	90	105	120	135	150
15	66	90	105	115	118	120	123	125	125	125
35	70	98	109	116	119	121	123	125	125	125
50	74	100	112	117	120	122	123	125	125	125
100	90	103	115	120	122	123	124	125	125	125

实验条件: 硫酸铵饱和度为0.328的6ml 血红蛋白样品液对141电导率为5.6 微姆/厘米蒸馏水,在18℃室温下旋转透析

参 考 文 献

- [1] Enoch, H. G. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76, 145, 1979.
- [2] Richmond, V. L. et al.: *Anal. Biochem.*, 145, 343, 1985.
- [3] 范培昌等:《生物化学杂志》, 2(1), 25, 1986。
- [4] 范培昌等:《生物化学与生物物理学报》, 18(4), 349, 1986。
- [5] Gould-Fogerite, S. et al.: *Biochim. Biophys. Acta*,

- 148, 15, 1985.
- [6] Szoka, F. C. et al.: *Annu. Rev. Biophys. Bioeng.*, 9, 467, 1980.
- [7] Brand, P. H. et al.: *Anal. Biochem.*, 94, 109, 1979.
- [8] Armstrong, I. L. et al.: *ibid.*, 106, 469, 1980.
- [9] Lau, C. K. et al.: *ibid.*, 110, 144, 1981.
- [10] Budowle, B. et al.: *ibid.*, 118, 399, 1981.
- [11] Farmer, P. K. et al.: *ibid.*, 135, 193, 1983.
- [12] Richmond, V. L. et al.: *ibid.*, 145, 343, 1985.

[本文于1986年7月29日收到]

更 正

本刊1987年第2期《密码子的分配》一文。第16页,表5中 CUN 密码子(相当表3第2组的位置)代表苏氨酸“T”,不是异亮氨酸“I”。第17页,参考文献[20]中的 *ibid* 改成 *Nature*。

本刊1987年第2期目录和第58页题目中“…碳酸二脂酶…”应改为“碳酸二酯酶”。