

研究快报

用毛细管电泳在飞克分子水平分析 PTH-氨基酸

夏 其 昌

(中国科学院上海生物化学研究所, 上海 200031)

关键词 毛细管电泳, 微团电动毛细管色谱, PTH-氨基酸

毛细管电泳近年来的发展颇受各方面的重视, 除在多肽和蛋白质化学, 临床检测等方面广泛应用外, 最近资料显示, 它在核酸结构分析方面也有很广阔的前景。基于它的分离机理和 HPLC 不同, 因此将是和 HPLC 同样重要的一类分析方法, 其优点是用样少(1—20nl), 分辨力好, 快速, 简便, 灵敏度高(fmol 水平), 与其它的电泳方法相比, 还有一个优点是: 毛细管电泳能在 190—700nm 下用积分仪或微机直接定量。本文就 PTH-氨基酸定量分析作一报导。

二十种混合 PTH-氨基酸是 ABI 公司产品, 个别 PTH-氨基酸系 PIERCE 公司产品, 用于每种 PTH-氨基酸在图谱中的定位。

毛细管电泳仪系 ABI 公司 270A 毛细管电泳仪, 全自动进样, 270nm 检出, 25kV 约 36 μ A 电泳 15min。用 HP-3394A 或 3396A 积分仪定量。毛细管长 72cm(进样端至检出器长度为 50cm), 内径 50 μ m, 缓冲液为 15m mol/L 磷酸缓冲液-70m mol/L SDS, pH7.0; 采用真空进样 1 秒钟(约 3.45nl, 75psi)。

在缓冲液中加入适量 SDS, 这些 SDS 形成微团结构, 作用如同“假固相”一样, 常称之为微团电动毛细管色谱法(micellar electrokinetic capillary chromatography), 用此法对常见的 PTH-氨基酸进行了分析(见图 1)其检出极限约 10fmol。

由于毛细管电泳在恒温 30℃ 下进行, 所以

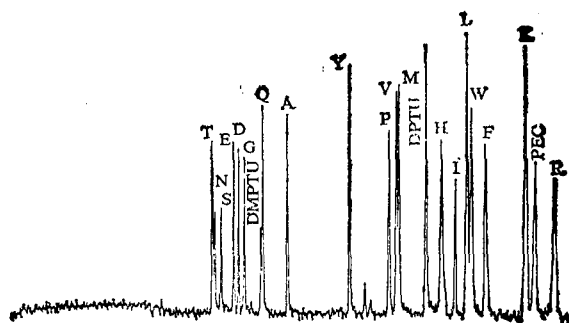


图 1 PTH-氨基酸的 MECC 分析图谱

检测波长: 270nm, AUFs = 0.005; 每种 PTH-氨基酸含量: 85fmol; PEC 为 4-乙基吡啶半胱氨酸, DMPTU 和 DPTU 为内标

每种 PTH-氨基酸的保留时间重现性很好。同一样品连续分析五次, 积分数据重现性也相当好。不同进样量(25, 42.5, 85 和 170fmol) 和积分面积呈线性, 我们用微柱 HPLC 作 PTH-氨基酸分析(ABI 公司 120A HPLC, C18 反相柱 2.1 $\times$ 250mm) 常规量为 25pmol, 检出极限是 1pmol, 此外用毛细管电泳作为分析方法时, 不用担扰柱的污染, 渗漏等弊病, 而且毛细管电泳操作方便。

毛细管电泳对小肽分离和酶解图谱相当有效, 此外, 毛细管电泳对遗传工程产物纯度鉴定和点突变的细微差别均能检出, 并能用于 DNA 顺序测定, 是一种很有潜力的分析方法。

[本文于 1991 年 2 月 25 日收到, 4 月 15 日修回]