

研究报告

连续自由流电泳样机的研制*

李 钦 李 丽 王兆捷 钱世钧

(中国科学院微生物研究所, 北京 100080)

摘要 研制了连续自由流电泳样机. 分析了连续自由流电泳的工作原理, 介绍了该电泳样机的各部分组成, 探讨了该样机的结构和工作特点.

关键词 连续自由流电泳, 样机, 研制

学科分类号 Q503

电泳技术是分析及制备生物大分子和细胞的重要手段. 在地面实验中, 各种电泳技术得到广泛的运用, 其中包括连续自由流电泳 (continuous flow electrophoresis, CFE). 在空间由于不受重力的干扰, 排除了热对流和沉淀的影响, 电泳效率明显提高. 从 1969 年开始, 美、德、俄、英、法和日本等国家进行了多年的空间电泳试验, 取得了比在地面条件下更好的分析和制备的结果. 连续自由流电泳是在空间生物分离技术的试验重点之一^[1-5]. 它是一种无载体的连续流动电泳, 具有较高的分辨率, 可以用于分析, 也可以用于制备. 它可以在空间将粗样品连续分离制备数日或更长时间, 其产物可以分别收集, 回地面应用. 一般认为, 连续自由流电泳将为空间制药奠定技术基础.

经过各国 20 余年来的研究和制造, 连续自由流电泳发展很快, 形式多种多样. 考虑到我国的具体情况, 要求我们研制一台小型多用途的连续自由流电泳仪. 1995 年我们研制完成了连续自由流电泳的样机, 通过了专家评审. 本文报道此结果.

1 结构及主要参数

连续自由流电泳的工作原理如图 1 所示. 连续自由流电泳样品的分离是处于流动状态下

的缓冲液中进行的. 样品连续地加入到流动的缓冲液中, 由缓冲液携带样品从电泳分离室的底部流动到顶部. 样品在流动过程中受到横向电场的作用. 这样, 由于样品中不同带电粒子的横向移动速度不同, 样品被分为几束, 从而将其分开, 在出口处收集. 由于连续自由流电泳可连续加样和分离, 电泳后的纯品又可容易地回收, 因此可用于生物大分子和细胞的制备. 这种电泳不仅可用于地面样品的分离, 而且也有在空间应用前景.

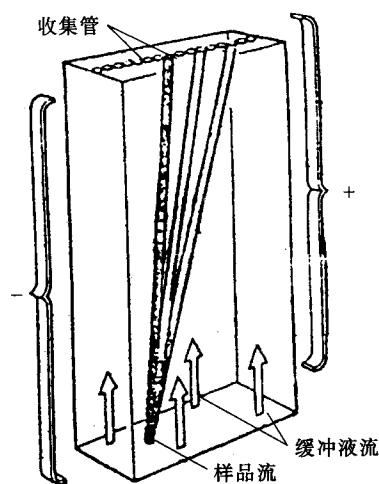


图 1 连续自由流电泳的工作原理图

*国家“863”计划资助项目 (863-205-2-10) 和国家载人航天工程资助项目.

收稿日期: 1997-11-10, 修回日期: 1997-03-20

我们研制的连续自由流电泳样机的基本结构如图2所示. 该样机的照片见图3. 分离室

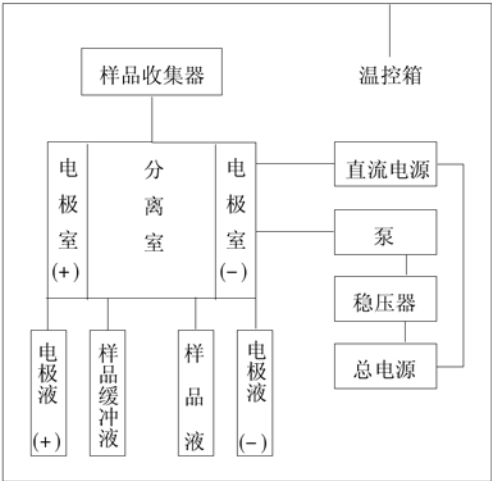


图2 连续自由流电泳原理样机的基本结构

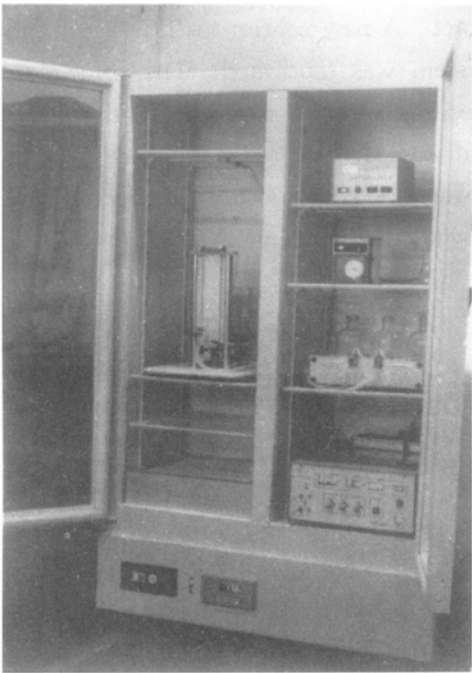


图3 连续自由流电泳样机照片

和电极室连为一个整体. 分离室和电极室的外形尺寸为高×宽×厚= 29.5 cm×15 cm×4 cm, 重量0.84 kg. 它是由两块有机玻璃板制成, 用螺钉连接, 无粘缝, 因而机械强度较高. 在它的后部紧贴一块2 mm厚的相同尺寸

的铝板, 起分离室和电极室的热平衡作用. 分离室的内部尺寸为高×宽×厚= 26 cm×6 cm×0.05 cm, 或0.1 cm, 或0.15 cm, 或0.2 cm, 或0.3 cm, 共五种厚度的分离室. (+) 和(-) 电极室的内部尺寸相同, 均为高×宽×厚= 26 cm×1.5 cm×0.05 cm, 或0.10 cm, 或0.15 cm, 或0.2 cm, 或0.3 cm, 共五种厚度. 分离室与电极室之间分别有正、负离子膜隔开, 完全阻挡住电极产生气泡对分离室的干扰. 在分离室上有样品液和样品缓冲液的注入孔. 在分离室上端有30根样品流出管, 内径为0.2 mm和0.1 mm两种, 它通过细硅橡胶管与样品收集器相连. 样品收集管下端为喇叭口状, 并用硅烷处理, 便于液体流出. 两个电极室均有电极液的流入孔和流出孔. 电极液(+)、电极液(-)、样品液和样品缓冲液分别装入四个玻璃瓶, 以管道相连. 直流电源是DF-1型. 样品液注入泵是LKB P-1型蠕动泵. 样品循环液注入泵和(+)(-) 电极液循环泵是共用一台DDB600多通道配比蠕动泵. 稳压器是TND-500型高精度全自动稳压器. 样品收集器有两种, 一是用试管架装30支50 ml试管组成, 另一是用支架装30个自制的100 ml塑料袋组成, 后者可以密封式收集样品, 有升降台可调节其上下位置. 正、负电极均用铂丝电极, 上下固定. 温控箱是用低温箱改装的, 有升降温设备, 温度在0至30℃内连续可调. 整个电泳系统均放在温控箱中, 可进行环境温度试验. 整个电泳装置用220 V, 50 Hz, 市电供电, 1.1 kW.

2 本套原理样机的特点

- 2.1 电泳分离室的外形尺寸小, 重量轻. 既可在地面上应用也可以为空间样机制作提供参考. 电泳分离室的外形尺寸小于30 cm, 只有0.84 kg重.
- 2.2 电泳分离室结构结实, 用螺钉连接, 无粘接件.
- 2.3 电泳分离室和电极室背面紧密相联一块等面积的2 mm厚铝板, 起热均衡作用, 减小

了温度梯度对电泳分离的不利影响。

2.4 采用强度较高的正、负离子膜隔开分离室和电极室,消除了电极室产生的气泡对分离效果的影响。该膜为离子导电方式,水不能透过,因而可以用高于样品缓冲液流速的电极液洗掉电极上的气泡,为气液分离问题的解决创造了一定条件。也试过其他的膜,各有优缺点。

2.5 本机分辨率较高。电泳分离室厚度从0.05 cm至0.3 cm的5个厚度下,均可将牛血红蛋白和细胞色素c的混合液分开。

2.6 分离室和电极室消耗功率低,直流功率10 W以内。

2.7 温控箱在0至30℃连续可调,可以在地面较低温度下进行电泳分离制备样品,也可以模拟在航天温度范围下进行电泳实验。

致谢 中国科学院空间中心吴汉基先生等提供宝贵意见,特此表示感谢。

参 考 文 献

- 1 McDonnell Douglas Corporation. Electrophoresis operations in space. USA, 1986. 1~15
- 2 Snyder R S, Rhodes P H, Miller T Y. Polystyrene latex

separations by continuous flow electrophoresis on the space shuttle. Separation Science and Technology, 1986, 21 (2): 157~185

- 3 Michael J C, Balmann H R, Sanchez V *et al.* Purification of biological molecules by continuous flow electrophoresis in the second international microgravity laboratory. Journal of Biotechnology, 1996, 47: 341~352
- 4 Francois J C, Michael C. First Step of the space bio separation/sbs program: the project ramses as an IML-2 payload. Abstract Proceedings, International Symposium on Microgravity Science and Applications. Beijing, 1993, 10~13, 110~111
- 5 Hanning K. New aspects in preparative and analytical continuous free-flow cell electrophoresis. Electrophoresis, 1982, 3: 235~243

Studies on Continuous Flow Electrophoresis System. LI Qin, LI Li, WANG Zhaojie, QIAN Shijun (*Institute of Microbiology, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China*).

Abstract A new continuous flow electrophoresis system was fabricated. The principle, the composition and the structure of the prototype were discussed.

Key words continuous flow electrophoresis, prototype, development

连续自由流电泳样机的应用*

李 丽 李 钦¹⁾ 王兆捷 叶 军 钱世钧

(中国科学院微生物研究所, 北京 100080)

摘要 用连续自由流电泳 (continuous flow electrophoresis, CFE) 成功地将细胞色素c (Cyt c) 和牛血红蛋白 (Hb) 两种模式蛋白分开, 电泳分离后的样品经过紫外分光光度计和聚丙烯酰胺凝胶电泳检测。样品的分离结果与众多性能参数有关, 如: 分离室间隙, 样品流速, 缓冲液流量、pH、电导率及分离功耗等。

关键词 分离室, 细胞色素c, 牛血红蛋白, 缓冲液

学科分类号 Q503

* 国家“863”计划资助项目 (863-205-2-10) 和国家载人航天工程资助项目。 ¹⁾ 通讯联系人。

收稿日期: 1997-11-10, 修回日期: 1997-03-20