

线与实验曲线的均方偏差均小于由图示法所求得的结果。

从表 1, 图 1, 图 2 中可以看出用电子计算机程序法所选配得的参数是最客观的, 由它所作出的理论曲线正是实验者企图在实验点之间寻求的一条分布最均匀的曲线, 因此电子计算机程序法要比渐近线法和切线法选配系统参数更科学、更精确。

本文所用实验原始数据均由我所罗荣生同志提供, 特此表示感谢。

参 考 文 献

- [1] Scatchard, G: *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **51**, 660, 1949.
- [2] Hart, H. E., *Bull. Math. Biophys.*, **27**, 87, 1965
- [3] Klotz, I. M. et al: *Biochemistry*, **10** 3065, 1971
- [4] Hannan, E. R.: *Analy. Biochem.*, **20**, 525, 1967
- [5] Richard, E. B. et al: *J. Steroid Biochem.*, Vol. **7**, 321, 1976.
- [6] Herry, A. Feldman: *Analy. Biochem.*, **48**, 317, 1972.
- [7] M. Katsnmata et al.: *J. Biochem.*, **86**, 963, 1979.
- [8] Tabachnicr, M.: *J. Biol. Chem.*, **239**, 1242, 1964.

[本文于 1980 年 10 月 20 日收到]

青海马铃薯淀粉用于淀粉凝胶电泳的试验

周虞灿 景增春 刘国富

(中国科学院西北高原生物研究所)

淀粉凝胶电泳兼有电泳和分子筛的作用, 设备简单、操作方便、分辨力高, 广泛应用于生物学、医学、农学等领域, 它已成为血清蛋白、血红蛋白(Hb)、同功酶以及蛋白质生化多态性等的分析手段之一。

用于淀粉凝胶电泳的淀粉长期只用马铃薯淀粉, 这可能因为它含有的支链结构比例较高。国外产品在试剂目录上特标明支链含量的比例, 如美国 Sigma 公司出产的马铃薯淀粉, 支链约占 75%。从电泳效果看, 进口马铃薯淀粉分辨本领高, 分离效果好。国产淀粉目前普遍存在成胶性差, 胶质韧性不佳等缺点, 因此有以绿豆淀粉代替马铃薯淀粉^[1], 以混合淀粉代替单一的水解淀粉^[2], 借以提高胶质的弹性强度。我们试图选用国内优质马铃薯为原料, 找出电泳用的高质量国产马铃薯淀粉。

青海浅山出产的马铃薯品质优良、块茎大, 含粉率高。本文报道用此种马铃薯淀粉所做的淀粉凝胶电泳试验, 并与进口马铃薯淀粉进行比较。

一、材料和方法

马铃薯淀粉 系选用西宁地区种植的马铃薯(385#)为原料, 按生化试剂要求提取淀粉。对比的进口马铃薯淀粉系西德 Merck 和英国 BDH 公司的产品。

淀粉部分水解 采用二种条件:

1. 自制淀粉和英国 BDH 淀粉同在 38℃ 下水解 2 小时;

2. 自制淀粉和西德 Merck 淀粉同在 37℃ 下水解 2.5 小时。方法: 取淀粉 100 克, 水解液 202 毫升(丙酮 200 毫升、浓盐酸 2 毫升), 分别在确定的水解温度下预热 1 小时后合并、摇匀。严格控制水解温度, 温差在 $\pm 0.2^\circ\text{C}$, 每隔 10 分钟旋摇一次, 水解完立即加入 50 毫升 1 M 醋酸钠以停止水解, 然后倒入布氏漏斗抽滤, 用过量蒸馏水(约 1500 毫升)冲洗多次, 最后用少量丙酮冲洗一次, 抽干后放在约 40℃ 的恒温干燥箱烘干, 最后研细过筛备用。

凝胶板制备 凝胶浓度一般根据淀粉水解程度而定, 我们采用 12%。为了增加凝胶的透明度和韧性, 制胶时可加入脲素, 其量为淀粉的

二分之一,这种凝胶叫脲凝胶。淀粉悬液的加热、抽气、铺板以及电泳完毕后用不锈钢细丝把凝胶板按水平方向拉成二半等步骤,都与一般文献报道相似。

缓冲系统 分析 Hb 用 pH8.6 的 T. E. B 缓冲液 (Tris 27.25 克, EDTA 二钠 1.46 克, 硼酸 7.73 克, 加水至 1 升), 再将此液按 10 倍稀释为凝胶缓冲液, 按 2 倍稀释为电极缓冲液。分析血清蛋白用 pH 8.7 的硼酸缓冲系统 (硼酸 30.92 克, NaOH 8 克, 加水至 1 升为凝胶缓冲液, 用时稀释 10 倍。硼酸 9.13 克, NaOH 1.44 克, 加水至 1 升为电极缓冲液)。

其它步骤, 如加样、电泳、染色、脱色等均与文献介绍的相同^[3]。如果需计算 Hb 各成分的相对泳动度, 可在加样同时加入牛血清清蛋白 (BSA) 作为参考试样^[4], 此时不能用联苯胺染色, 而代之以溴酚蓝法。

二、结果与讨论

自制青海马铃薯淀粉和英国 BDH 马铃薯淀粉的比较。

二种淀粉选用相同的水解条件, 分析相同的样品 (高原鼠兔 Hb₁₋₅), 在同一电泳槽内完成电泳, 结果见图 1 (见封三)。高原鼠兔 1, 2, 4 和 5 的 Hb 均分离出 2 条区带, 而鼠兔 3 的 Hb 分离出 3 条区带。此外, 鼠兔 1、2 和 3 的 Hb 都有一个泳动较快的成分, 以别于鼠兔 4 和 5。就各条区带着色深浅来看, 鼠兔 2 和 5 又不同于 1、3、4, 前者的二条区带着色深浅显著不同 (其中鼠兔 2 的浅色区带泳动较快, 位于深色区带之前; 鼠兔 5 恰好相反, 浅色区带在后, 深色区带在前), 后者的 Hb 各区带颜色深浅相当, 无明显区别。上述分析结果表明, 二种淀粉凝胶的电泳图完全一致。

自制青海马铃薯淀粉与西德 Merck 马铃薯淀粉的比较。

二者也以相同的水解条件 (37℃ 下 2.5 小时), 相同的分析样品 (人血清 1—2 和小白鼠血

浆 3), 并在同一电泳槽内进行电泳, 结果见图 2 (见封三)。经比较, 二种淀粉的凝胶电泳, 小白鼠 3 血浆皆鉴别出 12 条区带, 但人血清的分离图谱, 二种凝胶的分辨力似有差异。Merck 淀粉胶在 β 部位分离出 5 条区带, 而自制淀粉胶在该部位只见 4 条区带, 可见 Merck 淀粉胶的分辨力比青海淀粉胶高。另一方面, 人血清蛋白图谱上的前清蛋白部位, 二种淀粉胶均鉴别出二条细小的区带, 这表明二种淀粉胶的分辨本领都是很高的, 因为这一结果就是聚丙烯酰胺凝胶盘电泳分析也很难得。

此外, 我们还比较了淀粉的成胶性和韧性。上述三种淀粉胶从铺板至成胶均约 15 分钟, 半小时后用手指轻压胶面不裂, 电泳完毕后胶面不出现裂缝, 足见富有韧性。

我们发现不同商号的淀粉所需的水解时间很不相同。青海马铃薯淀粉于 38℃ 下水解 2.0 小时或 37℃ 下 2.5 小时比较合适, 凝胶的硬度接近 BDH 产品, 略低于 Merck 产品。我们曾经用过的其它国产同类产品的水解条件只需 37℃ 下 50 分钟或 38℃ 下 35 分钟。所需水解时间长短, 可能反映了支链比例高低。

自制淀粉未经漂白处理, 洁白度不及进口产品。我们发现洁白度只影响胶质的透明度, 不影响分辨本领。而且未经漂白处理的淀粉, 其胶板泡在 5% 醋酸溶液中, 胶质韧性经久不变, 而进口淀粉的胶质韧性久泡后有降低, 胶质变脆。

参 考 文 献

- [1] 周永春等:《植物生理学通讯》, 1979 年, 第 3 期, 第 27 页。
- [2] 黄淑顿等:《上海医学》, 1979 年, 第 2 卷, 第 2 期, 第 60 页。
- [3] 兰州生物制品研究所生化组:《生物化学与生物物理进展》, 1978 年, 第 3 期, 第 47 页。
- [4] Fyhn, U. E. H. et al.: *Comp. Biochem. Physiol.*, 62A, 39, 1979.

【本文于 1980 年 6 月 17 日收到】

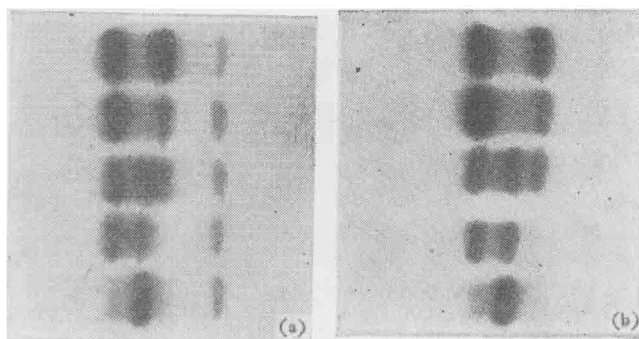


图1 血红蛋白电泳

高原鼠兔 Hb_I-, 淀粉水解 38°C
2 小时

a. 青海马铃薯淀粉

b. 英 BDH 马铃薯淀粉

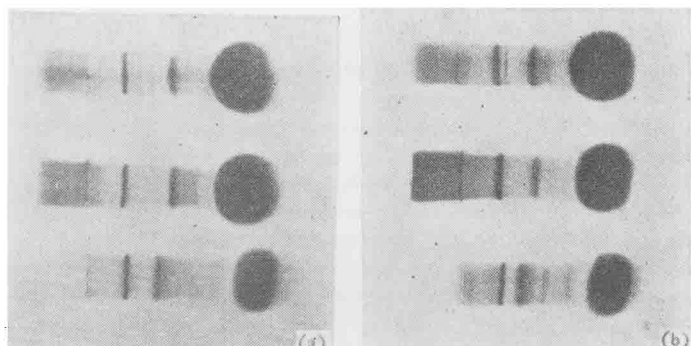


图2 血清蛋白电泳

1,2 为人血清; 3 为小白
鼠血浆; 淀粉水解 37°C, 2.5
小时

a. 青海马铃薯淀粉

b. 西德 Merck 马铃薯淀粉

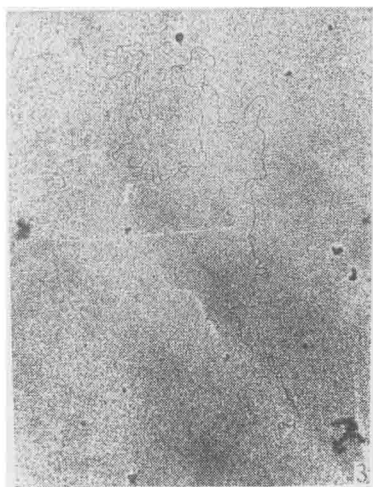
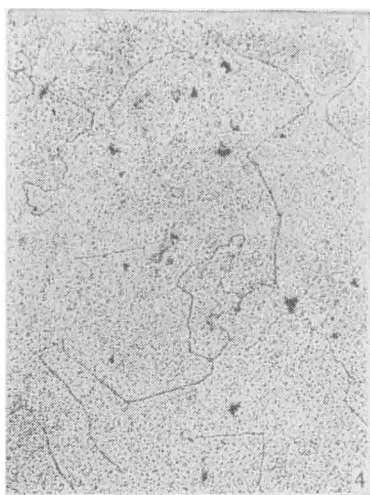


图3 噬菌体 λ plac5 DNA
($\times 31200$)



**图4 λ plac5 DNA 和 λ DNA 变
性后复性, 形成杂交分子 ($\times 12100$)**

仅在链长的 40—50% 有一个单链区,
其余为同源区。