

用醋酸纤维素薄膜电泳法分离测定 大白鼠脑中的 γ -氨基丁酸

李竹芳 赵天睿 温博贵

(江西医学院生物化学教研室)

Scherr^[1] 曾用醋酸纤维素薄膜电泳法分离测定了几种标准氨基酸。但迄今未见有应用此法测定组织中游离氨基酸的报道。本文将 Scherr 法加以改进, 并用以测定大白鼠脑组织中的 γ -氨基丁酸(GABA)含量, 方法快速、灵敏, 简便, 适用于一般实验室。

方法与结果

一、大白鼠脑中 GABA 的测定

将体重 180 克—250 克雄性健康大白鼠断头, 剥出全脑, 称重, 迅速放入预冷在冰浴中的玻璃匀浆器中匀浆。以上工作在二分钟内完成。加入适量 80% 冷乙醇, 在冰浴中制成 1:10 匀浆。离心。上清液全部移入蒸发皿中, 蒸干, 于残渣中加入定量的蒸馏水, 溶解, 离心, 上清液留用。

缓冲液用 10.2 克苯二甲酸氢钾结晶加 1000 毫升蒸馏水, 临用时配制 (pH = 4)。

上清液 10 微升 (等于新鲜脑组织 10 毫克), 用微量注射器点于 4×12 厘米醋酸纤维素薄膜的粗面上。随后平放在浸有苯二甲酸氢钾缓冲液的电泳槽内, 电压 300 伏, 电流 2 毫安, 电泳 35 分钟。点样端在正极。

醋纤条风干后, 用 2% 茚三酮乙醚液喷洒, 80℃ 烤箱内显色二小时。然后将图谱中与标准 GABA 位置相当的斑点剪下, 放入试管, 用 1 毫升硫酸铜饱和的 85% 乙醇液洗脱二小时。在 72 型分光光度计上, 测定 520 毫微米的光密度。

按上法, 分别以 0.5 微克, 1 微克, 2 微克,

4 微克, 6 微克, 8 微克 GABA 进行电泳及测定, 以 GABA 量为横坐标, 光密度为纵坐标作出标准曲线。

二、回收率测定

(1) 应用本法测定了 5 只雄性健康大白鼠脑中的 GABA 含量, 其结果见表 1。

表 1 正常雄性大白鼠脑中 GABA 含量
(微克分子/克新鲜脑组织)

鼠 号	1	2	3	4	5	平均量± 标准差
GABA 含 量	1.86	2.00	1.73	2.00	1.86	1.89± 0.11

由表 1 可知, 正常雄性大白鼠脑中 GABA 含量平均为 1.89 ± 0.11 微克分子/克新鲜脑组织, 与 H. S. Bachelard^[2] 报道一致。

表 2 GABA 回收量及回收率

鼠号.	GABA 含量 (微克)	加入 GABA 量(微克)	GABA 回收量 (微克)	回收率 %
1	1.1	1.25	2.3	96
		2.5	3.5	98
2	1.3	1.25	2.4	88
		2.5	3.5	88
3	1.6	2.5	3.8	90
4	1	1.25	2.1	88
		2.5	3.3	92
5	2	1.25	3.2	96
		2.5	4.3	93
平均回收率		~	~	92.1

(2) 应用本法测定大白鼠脑中 GABA 的
(下转第 71 页)

(上接第 63 页)

回收率结果见表 2。

由表 2 可知应用本法测得 GABA 回收率平均为 92.1%。

参 考 文 献

- [1] Scherr, G. H.: *Anal. Chem.*, **34**: 777, 1962.
- [2] Bachelard, H. S.: *Biochemistry and Central Nervous system*, 1971.

[本文于 1981 年 3 月 20 日收到]

用反射光等方法减小核酸蛋白检测仪基线长期漂移

梁 伟 圣 胡 沛 然

(中国科技大学生物系)

上海生化所研制的 HD-73-3 型核酸蛋白检测仪*, 常在生物化学样品分析和制备中使用, 但仪器使用的空芯阴极元素灯——Mn 灯, 光强发射长期稳定性较差。易受环境温度变化的影响, 这是造成仪器基线长期漂移较大的主要原因之一。为此, 我们首先在线路方面作了一些改进。用具有高压负反馈的直流高压稳定电源作光电倍增管工作电源、选用稳流线路稳定灯的工作电流、选用较大的光电倍增管阳极电阻以获得较大的讯号电压, 使其对放大器固有零点漂移电压之比较大, 然后在放大器的输出端到记录仪之间接入衰减网络, 使放大器的最大输出电压落在记录仪量程范围内, 这样放大器固有的零点漂移对记录仪所录下的基线漂移的作用相对地变小, 此外还用一面镀铬的金属反射镜, 中间钻一 $\phi 6$ 的小孔, 把它安置在蛋白检测器 Mn 灯与狭缝之间以获得两束光束, 从而大大减小 Mn 灯光强变化对基线长期漂移的影响。因汞灯稳定性较好, 故核酸检测器中没有安置反射镜, 图 1 是本仪器的原理方框图, 图 2 是电原理图。

光源空芯阴极元素灯——Mn 灯发射的光经入口的 280 nm 单色滤光片后成为主要含 279.5 nm 的光, 它的一部分光束经小孔入射到样品池, 并被光电倍增管 A 和电阻 R_1 转换为电压 V_1 , 另一部分光由金属反射镜反射到光电倍

增管 B 并被 B 和 R_2 转换为 V_2 , 这里 A 和 B 是同样规格型号的、紫敏的、光电性能应是尽量一致的光电倍增管, 以减小高压电压及环境温度的变化对基线漂移的影响。 V_1, V_2 经差分放大器放大后, 放大器输出为 $V = K_0(V_2 - V_1)$, K_0 为放大器的放大倍数。当样品池的溶液浓度变化时, V_1 也发生变化, 因此 V 反映流经样品池溶液浓度变化的情况。在其它因素和 Mn 灯发射的光强不变时, 仪器的基线不变, 当 Mn 灯发射的光强变化时, 仪器的基线原本应发生变化, 但是, 安装了反射镜后, 仪器的基线变化大大减小。

设经滤光片后光强变为 I , 狭缝面积为 S , 则

$$V_1 = K_1 R_1 S I \quad (1)$$

$$V_2 = K_2 R_2 I \quad (2)$$

K_1 : 是与样品池透光率, 样品浓度、光电倍增管 A 的光电转换系数和放大倍数有关的系数。

K_2 : 是与光的反射强度、光电倍增管 B 的光电转换系数和放大倍数有关的系数。在样品池为空白的情况下, 调节 S 的大小, 使仪器的基线在记录仪 U_0 (mV) 处, 则

* 核酸蛋白检测仪: 《生物化学与生物物理进展》1980 年, 第 4 期。