

四、固定化酶的稳定性

酶在固定化后,稳定性普遍增加。这主要表现在固定化酶的最适温度较游离酶高;对热的稳定性也较游离酶要高得多;同时在连续反复使用及贮存过程中也显示了很高的稳定性,详见图5,6。

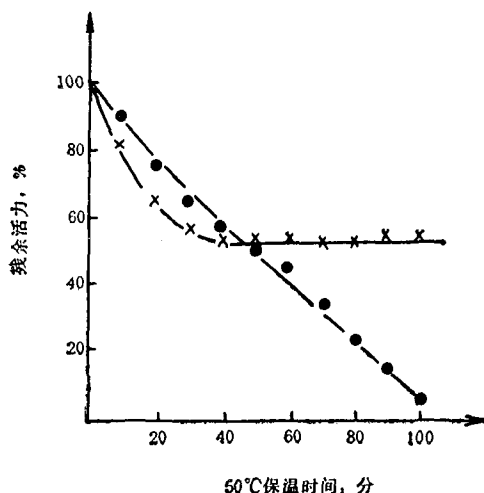


图6 游离酶与固定化酶对热稳定性曲线

—×—×—: 固定化酶 —●—●—: 游离酶

由图5,6可见,固定化酶最适温度为40℃,较游离酶高;固定化酶在50℃保温100min后,残余活力仍有54%,而游离酶在同样条件下,残余活力仅剩6%。另外,固定化酶的贮存稳

定性及重复使用性均较好,我们在固定化酶制备后随即进行了三次活力测定(每日一次),后二次比第一次略有降低(这可能与残余游离酶有关),但与固定化酶在4℃贮存半个月后,再每二日进行的一次活力测定(共测十余次),其结果基本不变。可见壳聚糖固定化的碱性磷酸酶稳定性很好。这种从蟹、虾废弃的外壳中提取的壳聚糖确为一种价廉、性能良好的酶载体。

参 考 文 献

- 1 Muzzarelli R A A. *Chitin*. Oxford Pergamon Press, 1977
- 2 严俊. 化学通报, 1984; (1): 26
- 3 杨世安. 医药工业, 1981; (11): 26
- 4 Shinsaku Hayashida, Perfecto Q Flor. *Agric Biol Chem*, 1982; 46(6): 1639
- 5 Muzzarelli R A A, Barontini G *et al. Biotechnology and Bioengineering*, 1976; 18: 1445
- 6 Flor P Q, Hayashidas. *Biotechnology and Bioengineering*, 1983; 25: 1973
- 7 Nishimura Shin-ichiro, Yoshihiro Ikeuchi *et al. Carbohydrate Research*, 1984; 134: 305
- 8 申炳华, 冯涛, 刘鸿铭. 北京师范大学学报, 1986; (1): 67
- 9 刘亚欣, 高天慧, 刘鸿铭. 第六次全国生化学术会议论文摘要, p252
- 10 蒋传葵, 金承德, 吴仁龙等. 工具酶的活力测定. 上海科学技术出版社, 1982; 60—62
- 11 袁中一, 刘树煌, 袁静明. 固相酶与亲和层析. 北京科学出版社, 1975; 34—37
- 12 查晓, 沈家骥, 周会等. 生物化学杂志, 1988; 4(6): 558

[本文于1989年7月14日收到]

经验交流

用于双向电泳的组合式电泳槽

白书农

(中国科学院植物所, 北京 100044)

王长举

(北京六一仪器厂)

关键词 电泳, 组合式电泳槽

蛋白质分析中常用的双向电泳存在不能同时进行多个样品比较的局限性。1978年Anderson发明的ISO-DALT系统同时可以进行12块板分析, 大大提高了功效, 只是目前进口仪器价格昂贵。为此我们参考国外产品和资料制作了一种简易的组合式电泳槽, 其结构见图1。

这种组合电泳槽具有以下特点:

1. 一次最多可以同时使用12块胶板, 也可以根据需要做2, 4, 6, 8, 10等双数胶板。
2. 胶板面积比较大, 分离胶可达21×19cm有利于提高分辨率。
3. 上下槽电极采用分流式安装, 以保证每板承受

(下转第396页)

4. 长链脂肪醛浓度与发光强度的关系

在以上测试条件下,用这一发光体系分别测试了正辛醛,癸醛,十二烷醛等长链脂肪醛和脂肪酸,部分结果如图6所示。在一定的浓度范围内,三种脂肪醛都随浓度的增加而刺激细菌发光作用增大。

讨 论

发光细菌的发光系统共有七个基因控制,其中两个基因为荧光酶的两个亚单位编码;三个基因为提供发光反应所需的脂肪醛合成的酶编码;其余两个为调节基因。发光反应所需的FMNH₂细菌体内可以提供。在本研究中所用的基因工程菌只是把原来属于海洋发光细菌的荧光酶基因和调节基因克隆到普通大肠杆菌中,而缺少编码合成脂肪醛的酶的基因。因而必须外加长链脂肪醛或脂肪酸才能使基因工程菌发光。这样,这种基因工程菌就成为测定长链脂肪醛和脂肪酸的有用指示菌。

利用发光细菌的发光体系来测定长链脂肪醛至少有两个优点:高度灵敏和快速。在我们的实验中,少达 1×10^{-14} mol/L的癸醛可以在几分钟之内测定出来(见图6)。如果采用更加灵敏的仪器,还可以进一步提高测试的灵敏度。另一个优点是简便和经济。反应体系的基因工

(上接第386页)

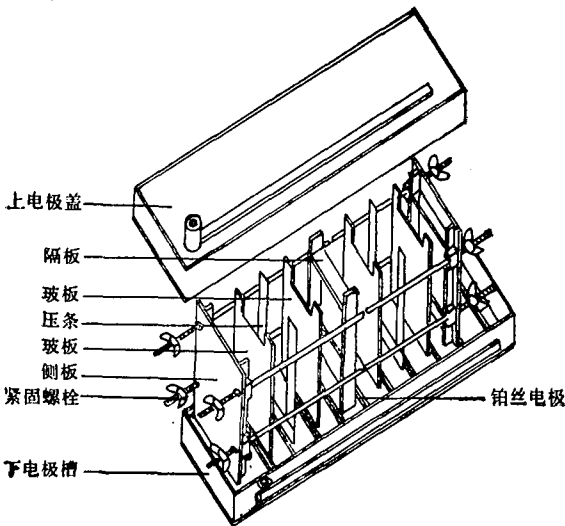


图1 组合式电泳槽结构示意图

程菌培养容易,不需要贵重仪器设备。操作十分简便。同时能随时观察脂肪醛刺激发光反应的动力学过程(见图4)。

在本研究所测试的五种长链脂肪醛和脂肪酸中,其中癸醛,正辛醛和十二烷醛具有强烈的刺激发光作用。其余次之。它们刺激发光强弱的顺序为: 癸醛 > 正辛醛 > 十二烷醛 > 十四烷酸 > 十四烷醛(后两种物质测试结果在图6中未表示出来)。同时在一定的范围内,如癸醛 $1 \times 10^{-10} - 1 \times 10^{-14}$ mol/L,正辛醛 $1 \times 10^{-9} - 1 \times 10^{-12}$ mol/L,十二烷醛 $1 \times 10^{-6} - 1 \times 10^{-9}$ mol/L范围内呈直线关系。均随浓度的增加而刺激发光能力增强(见图6)。但当醛浓度大到一定范围而达到FMNH₂成为限制因子时,则发光不再增加。

利用这一新的测试体系,还可以测定某些油酸、软脂酸,测定脂肪酶,磷酸脂酶的生物活性以及测定与这些酶反应相偶联的有关物质。

参 考 文 献

- 1 Ulitzur S et al. In: *Methods in Enzymology*, New York: Acad Press, 1978; 57:189-193
- 2 Ulitzur S et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1978; 75: 266
- 3 Ulitzur S. *Biochim Biophys Acta*, 1979; 572:211

[本文于1989年8月9日收到]

的电场强度一致。

4. 在隔板侧面有孔,可根据需要自然冷却或通玻璃管水冷。在夏季室温30℃时,通10℃的冷却水,胶板温度可保证在15℃左右。

5. 节省电极液,实际使用中,2800ml电极液即可,平均每板140ml,也可以根据需要增加电极液用量。

为了降低仪器成本,我们选用了凡士林解决密封问题,这样给操作带来一些不便:1.制胶模时耗时较多;2.组装时必须仔细,否则有可能漏电极液;3.每次电泳完后洗去玻板上的凡士林比较麻烦。不过从重复性、成本、总效率看,所付出的代价是值得的。

参 考 文 献

- [1] Anderson N G. *Anal Biochem*, 1978; 85: 331

[本文于1989年8月29日收到]