

旋转式双重搅拌透析器的设计与制作

刘建华 王曼莹

(江西中医学院生化教研室,南昌)

提 要

本文介绍了一种旋转式双重搅拌的透析装置,用它进行透析,不仅大大缩短了透析时间,而且有效地避免了蛋白质的变性失活。本透析器易于制作,实用于各种普通实验室。

在生化制备过程中,透析是必不可少的步骤,用以除去层析液的无机离子或更换所需的缓冲液^[1]。尤其是在蛋白质样品冷冻干燥之前,必须清除各种盐类,以免延长冷冻干燥时间或引起冻块的融化而导致蛋白质的变性失活。然而,要达到彻底透析,按常规一般需 48 小时,有时甚至需要 72 小时。如制备促卵泡激素^[2]。这不仅费时,而且更主要的是不利于在溶液状态下相当一部分不够稳定的活性物质的制备。本实验室根据科研工作的需要,参照 Feinstein 介绍的透析器的工作原理^[3],利用电动搅拌机设计制作了一台小型的旋转式双重搅拌透析器。经试用透析效果良好。如 0.5 mol/L NaCl 仅需透析 2—3 小时即达到平衡,比常规透析时间大大减少。不仅明显提高了工作效率,而且更主要的是有利于保存制备物的活性。

材 料 与 方 法

材料 电动搅拌机;万向杠杆;角度固定杆;透析袋固定架;透析袋;透析槽。装置如图

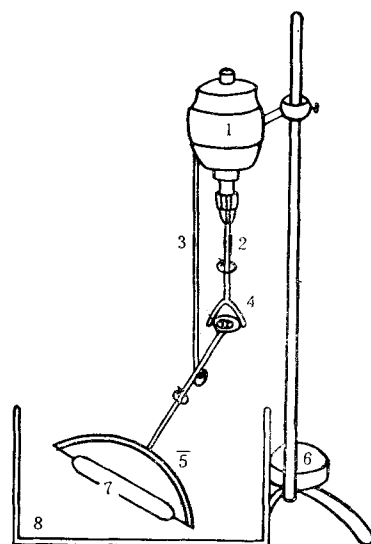


图 1 透析器装置示意图

1.电机 2.传动杆 3.可调角度固定杆 4.万向杠杆
5.透析袋固定架 6.调速器 7.透析袋 8.透析液槽

1。

检测方法 以银滴定法定时检测透析液中氯离子量以及透析终止时透析袋内液氯离子

鉴定方法。

参 考 文 献

[1] 金光房江:《临床病理》,特集 60 号,25,1984。

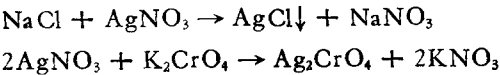
[2] Alper, C. A. et al.: *Vox Sang*, 17, 445, 1969.

[3] Merlin, G. et al.: *Clin Chem*, 27, 1862, 1981.

[4] 上海医化所主编:《临床生化检验》,上册,上海科技出版社,50 页,1982。

[本文于 1987 年 1 月 12 日收到]

量^[4]。配制 0.0185 mol/L 硝酸银标准液（需预先标定）用硝酸银试剂将被检测液中的氯离子沉淀为氯化银，多余的硝酸银与指示剂铬酸钾作用，形成桔红色的铬酸银，即滴定终点。反应式如下：



根据滴定时 AgNO₃ 的用量即可算出被检测液中氯离子的量。

结 果

用 Visking 公司的透析袋(型号为 20/32，截流分子量为 8,000—15,000 道尔顿)，内装 10 ml 0.05% 牛血清白蛋白含 0.5 mol/L NaCl 的被透析液。透析袋靠角度固定杆以 10° 至 30° 左右倾斜角缓慢旋转(转速 6—12 转/分)。每隔 15 分钟吸取外液检测氯离子量。结果见表 1。

表 1 透析各阶段氯离子的检测结果

透析时间	吸取液	吸取量 (ml)	AgNO ₃ 滴定量 (ml)	透析袋外氯离子		透析袋内氯离子	
				浓度 (mg/ml)	总量 (mg)	浓度 (mg/ml)	总量 (mg)
0	袋内液	0.1	2.70	0	0	17.70	177.32
15'	袋外液	1.0	0.17	0.11	88.0		
30'		1.0	0.22	0.14	111.3		
45'		1.0	0.27	0.18	142.2		
60'		1.0	0.30	0.20	157.0		
75'		1.0	0.32	0.21	163.9		
90'	袋内液	0.1	0.11			0.72	7.22
换 水							
30'	袋内液	1.0	0.25			0.16	1.64
60'		1.0	0.05			0.03	0.30
	纯水	1.0	0.05				0.30

由透析各阶段袋内、外氯离子总量比较表明(见图 2)，袋内 0.5 mol/L NaCl 在 2.5 小时左右即被透析除去。

将 15 ml 0.001% 猪促卵泡激素制品的 0.5 mol/L NaCl 溶液用此装置透析后与静止透析的样品同时进行生物活性检测，其结果见表 2。

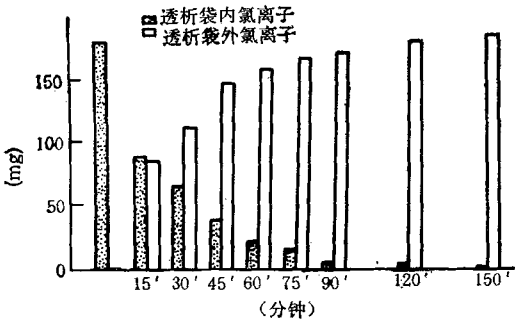


图 2 透析各阶段袋内、外氯离子总量比较图

表明双重搅拌并不影响其生物制品的活性。

讨 论

1. 旋转式双重搅拌透析器通过电动机带动透析袋约作 10°—30° 的旋转，不仅使槽内的透析液能充分地搅拌，而且使透析袋内液能来回流动，这样就有效地消除了袋内液、袋外液的离子浓度梯度，有利于使袋内无机离子迅速透析出来。对于更换缓冲液成分的透析更显示其优越性。为了增加透析袋内液的流动效果，可在透析袋内留一小气泡或加数粒小玻璃珠。

2. 使用本透析器，由于透析袋内液体的流动加速了离子的扩散，但这是否会影响被透析物质的生物活性呢？对照实验说明，在这种温和旋转的条件下，不会影响其活性。

3. 将透析袋固定架改制成圆盘形（见图 3

表 2 透析后制品的生物活性检测比较

组 别	促卵泡激素浓度 ($\mu\text{g/ml}$)	注射剂量 (ml/次)	小白鼠体重 (g)	小白鼠子宫重 (mg)	子宫平均重 $\bar{x}$ (mg)
对照组	0	0.5	9.8	3.5	2.8
			8.4	3.2	
			8.6	3.1	
			8.0	2.2	
			8.2	2.4	
静止透析组	10	0.5	9.7	22.0	19.5
			9.0	17.0	
			8.3	22.0	
			8.5	18.0	
			8.9	18.5	
旋转透析组	10	0.5	8.0	18.0	22.1
			8.5	23.0	
			8.5	25.0	
			8.5	22.0	
			8.5	22.5	

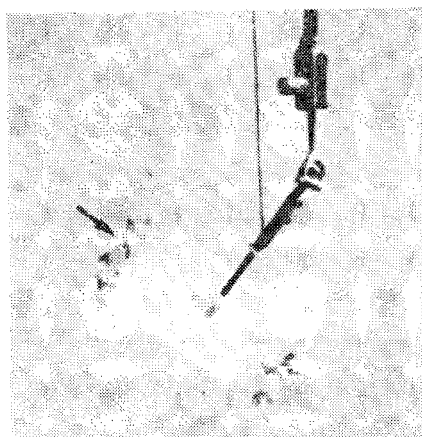


图 3 可同时透析四袋的固定盘
(箭头所指为固定盘)

中箭头所指部位),可同时透析数袋,如果增大

(上接第 79 页)

作简单、容易控制,但曝光过程是经过相纸的纸基进行的。因而要求相纸纸基平整均匀,无明显杂质。

此外,晒印法制作照片还有以下优点: 1. 价廉、操作容易,不需要任何照相和放大设备。 2. 采用单张胶片可及时冲洗并很快观察到结果。 3. 所制成的负底尺寸较大,制作照片方便,结果高度重复。还可进行高倍放大或局部区域放大,很适合高分辨的两相电泳图谱的分析。 4. 适应性广。除了本文提到的几种电泳外,增加一些附件还可用以晒制聚丙烯酰胺凝胶圆盘电泳的照片(资料未发表)。

综合以上优点,直接晒印法基本可以取代常规照相的方法用于各种聚丙烯酰胺凝胶电泳图谱的分析与

固定盘直径与两个固定盘间距离可增加透析袋的数量和容量,使效率大大提高。

4. 本装置易于制作,便于普通实验室操作使用。

该工作得到了余运初教授和苏拔贤教授的支持与帮助,特此致谢。

参 考 文 献

- [1] 苏拔贤主编:《生物化学制备技术》,科学出版社,198,1986。
- [2] Sairam, M. R.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **194**, 63, 1979.
- [3] Feinstein, R. N.: *J. Lab. Clin. Med.*, **40**, 313, 1952.
- [4] 上海市医学化验所主编:《临床生化检验》(上册),上海科学技术出版社,217,1984。

【本文于 1986 年 12 月 4 日收到】

保存。

参 考 文 献

- [1] Bidigare, R. R. et al.: *Anal. Biochem.*, **137**, 297, 1984.
- [2] Pollard, D. R. et al.: *Anal. Biochem.*, **42**, 286, 1971
- [3] Tsang, V. C. W. et al.: *Methods Enzymol.*, **92** (part E), 317, 1983.
- [4] 刘运康等:《中国病理生理杂志》, **3**(1), 49, 1987.
- [5] Butcher, L. A. et al.: *Anal. Biochem.*, **148**, 384, 1985.
- [6] 李文明等:《黑白彩色冲洗放大》,长城出版社,107 页,1985。

【本文于 1986 年 12 月 24 日收到】