

板状聚丙烯酰胺凝胶电泳图谱直接晒制照片的方法

刘运康 韦 克 范维珂

(重庆医科大学,重庆)

各种聚丙烯酰胺凝胶电泳已广泛用于蛋白质和核酸的分析和检测。染色的图谱常常需要测定和比较样品的电泳迁移率,或需制成凝胶干膜,或照相长期保存。由于凝胶的高度亲水性和脆性,使迁移率测定困难。制作凝胶干膜需要专门装置,而且高浓度聚丙烯酰胺凝胶板不易制成理想干膜。常规照相保存的方法比较费时间,并且亦需要昂贵的照相和放大设备。我们参考有关文献^[1,2],采用国产感光材料,摸索并扩展了不用照相机直接晒制电泳图谱照片的方法,效果良好。

一、材料与 方法

(一) 聚丙烯酰胺凝胶电泳 4%—30% 的浓度梯度板状凝胶电泳和 SDS 梯度凝胶电泳参照有关文献进行^[3]。超薄层电聚焦按以前介绍的方法^[4]。电泳样品为人血清和我室制备的角蛋白样品。电泳后凝胶板均用考马斯亮蓝 R-250 染色。超薄层电聚焦凝胶板用氨银进行染色^[5]。染色的电泳图谱分别进行直接晒印和常规照相的方法制作照片。

(二) 感光、冲洗材料 21° 公元 12) 全色胶卷(广东汕头感光化学厂)。21° 上海牌全色胶片(上海感光胶片厂)。医用 X 光胶片(天津感光胶片厂)。21° 135 全色胶卷、印相纸和放大纸亦为广东汕头感光化学厂产品。D₁₉、D₁₉ 显影液和酸性定影液为上海冠龙照相器材商店的产品。

(三) 晒印装置与方法

晒制负底和照片的光源可用台灯或放大机光源。灯泡功率为 25—100 瓦特,曝光时间通过试验确定。我们利用放大机光源(100 瓦乳白色灯泡)并采用市售有色塑料复写垫板遮挡光线,获取红、黄、绿等有色光源,并起柔光作用。

电泳图谱用不同感光材料晒制负底。全色胶片晒印考马斯亮蓝染色图谱的方法为:将已经染色的凝胶板移入盛蒸馏水的相盘中。在全黑条件下截取适当大小的胶片(卷),用水润湿,药膜面朝上插入凝胶板下面。在水中把凝胶板小心移至胶片药面。两者对齐后斜着从水中一起取出。凝胶板在上,置光源正下方约 40 厘米处曝光 2—5 秒钟。D₁₉ 显影 15 分钟并经酸性定影液定影即获得负底。负底用 2 号印相纸晒制正像照片(用 3 号相纸则得到反差高的照片)。晒印照片在

红灯下操作,用白光曝光 8—13 秒钟,D₁₉ 显影 3 分钟左右。详细操作可参考有关书籍^[6]。

氨银染色的蛋白带呈棕红色。我们对比了用相纸和胶片晒印银染图谱的方法。相纸晒制负底的过程基本如前述的方法,用白光曝光。获得的不透明相纸负底晒制正像照片的方法为:另取一张与负底等大的相纸,以药面与相纸负底的正面相对重合。相纸负底在上,背面朝光源,曝光 12—30 秒钟。冲洗后即得到正像照片。

二、结果与 讨论

考马斯亮蓝 R-250 染色的聚丙烯酰胺凝胶电泳图谱制作的照片见封三图 1。晒印法制作的照片蛋白区带清晰、背景干净、分辨率高。照片质量与常规照相法制作的放大照片相当或优于常规照相的方法。晒印法制得的照片与原来的电泳图谱大小相同,使样品的电泳迁移率的测定和比较很方便地在照片上进行。

比较不同颜色光线对全色胶片晒制负底的影响。证明红光的效果最好,与 Bidigare 报道的结果^[1]一致。使用红色光源可消除考马斯亮蓝染色常常出现的红色斑块,获得背景干净的负底,并有增加负底反差的作用。对比几种国产感光材料晒印考马斯亮蓝染色的电泳图谱的效果。结果显示全色胶片和 120 全色胶卷均可制得高质量的负底,但 120 胶卷尺寸较小,呈卷曲状在全黑条件下不好操作。医用 X 光胶片片基厚、反差小,用来晒印凝胶电泳图谱不易获得高质量的负底。Pollard 等曾报道用印相纸接触晒印考马斯亮蓝和氨基黑染色的电泳图谱制作负底的方法^[2]。我们用放大纸和印相纸分别晒印考马斯亮蓝染色的电泳图谱,得到的负底很不理想。由于普通相纸对蓝光敏感,在晒印负底时则可因为蓝色的蛋白带和背景均使相纸感光而使两者不能区分,结果不理想。

摸索银染电泳图谱晒制照片的方法,显示用相纸代替胶片晒印电泳图谱也可获得清晰负底。负底经再次晒印得到的照片见封三图 2。用相纸代替胶片不仅费用大大降低、取材容易,而且在红灯下操作更方便。如果采用反转冲洗的方法还可一次晒印后直接制成正像照片。本文所介绍的用相纸负底晒制照片的方法操

(下转第 76 页)

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	

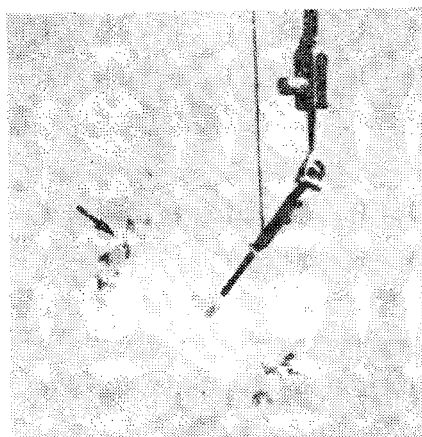


图 3 可同时透析四袋的固定盘
(箭头所指为固定盘)

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】

《生物化学与生物物理进展》编辑委员会

主 编 林治焕

副主编 马万禄

编 委 (按姓氏笔划为序)

马万禄* 王大成* 王庆诚 申同健* 李 钦
曲善乐 寿天德 何润根 陈 燕 陈润生*
范培昌 林克椿* 林治焕* 周筠梅* 张少吾
赵敏顺 俞贤明 陶宗晋 姚志建 徐森根
曹恩华 黄祚强 雷克健* (带*者为常务编委)

顾 问 贝时璋 邹承鲁 沈淑敏 梁栋材 杨福愉

《板状聚丙烯酰胺凝胶电泳图谱直接晒制照片的方法》一文的附图

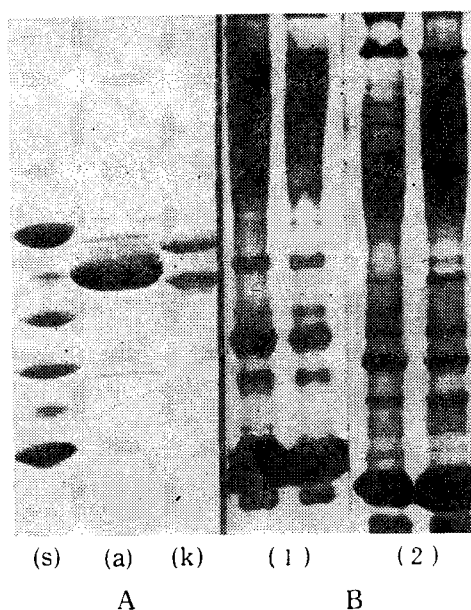


图1 考马斯亮蓝染色电泳图谱照片

A. SDS 电泳图谱晒制的照片 (s) 标准蛋白 (a) 人白蛋白 (k) 角蛋白 B. 人血清梯度电泳图谱照片 (1) 照像法制作 (2) 晒印法制作

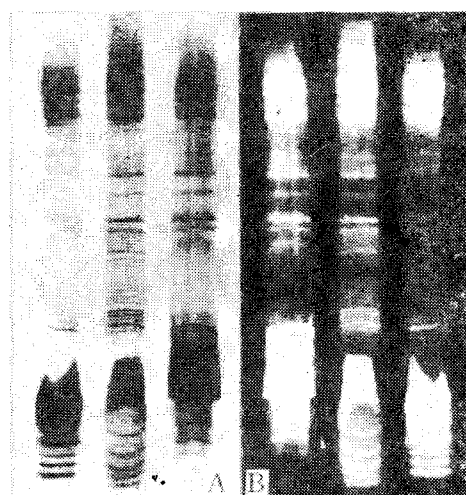


图2 人血清超薄层等电聚焦(pH3-9)银染图谱

A. 正像照片 B. 相纸负底