

提高毛细管细胞电泳测试的稳定性

王 敖 金 甘 大 清

(中国科学院生物物理研究所)

在实验中,我们对方形毛细管电泳^[1]测试的稳定性作了初步探讨。

测试的稳定性,用 n 管次测得的变异系数 $C.V.$ 来表示,即 $C.V. = \sigma_{n-1}/\bar{v}$ ($\bar{v}$ 为 n 管次的平均迁移速度; σ_{n-1} 为样品标准差)。

影响细胞电泳测试稳定性的因素很多,在此仅谈一谈观察层的选择以及电极封闭问题。

众所周知,无论是圆形管还是方形管,细胞电泳的迁移速度—深度曲线都是对称抛物线型^[1],可以用 $y = ax^2 + c$ 来描述。其中 a 、 c 为常数; x 为深度; y 为迁移速度;原点在管中心。其导数 $y' = 2ax$,这表明此曲线的变化率与深度 x 成正比。在管中心($x = 0$ 处除外), $y'(0) = 0$,即 $x = 0$ 处的变化率的绝对值最小。因而,如果在管中心测试,有助于提高测试的稳定性。图 1 是我们用深度不同的方形毛细管实验测得的两条迁移速度—深度曲线,其经验方程分别为

$$\bar{v} = -1.862 \times 10^{-4}x^2 + 5.770 \tag{1}$$

和

$$\bar{v} = -1.223 \times 10^{-4}x^2 + 6.640 \tag{2}$$

实测数据见表 1 和表 2。

从曲线上可以看出:(1)抛物线顶部变化趋势小,越离开顶部变化率越大;(2)无论在所谓“静止层”还是在别处($x = 0$ 处除外),粗管的迁移速度—深度曲线的变化率小于细管相应处的曲线变化率。说明在管中心测试有助于测试稳定性,粗管易使测试稳定,但受到显微镜镜头制约;如果显微镜允许,应该选用粗些的管子,并在管子中心进行测试。

子,并在管子中心进行测试。

究竟在管中心测得的数据与所谓的“静止层”测得的数据之间,即 $\bar{v}_{\text{中心}}$ 与 $\bar{v}_{\text{静}}$ 之间有何关系? 通过坐标变换,对于 $y = ax^2 + c$ 可以变为

$$y = a(1 - X_1^2) \tag{3}$$

此时 $y(\pm 1) = 0$; $X_1 = 0$ 时, y 有最大值 $y(0) = a$, 变换方程 (1) 和 (2), 也可以得到该型的经验曲线方程。此时两方程变成同样的经验曲线方程

$$y = \bar{v} / \sqrt{\frac{\phi}{2} - R} = 0.435(1 - X_1^2) \tag{4}$$

这里 ϕ 为管深,单位 μ ; $X_1 = X / \frac{\phi}{2}$; R 为指示细胞半

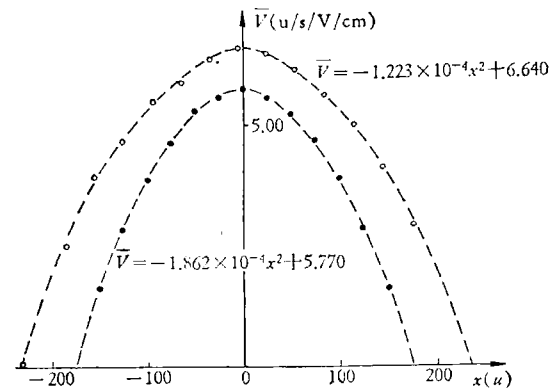


图 1 迁移速度—深度曲线

表 1 电泳迁移速度—深度测试

管深 $\phi = 356\mu$

深度 $X(\mu)$	-176	-150	-125	-100	-75	-50	-25	0	25	50	75	100	125	150	176
速度 $\bar{v} \left(\frac{\mu/s}{V/cm} \right)$	—	1.666	2.852	3.952	4.689	5.293	5.579	5.770	5.556	5.196	4.738	3.911	2.858	1.597	—

表 2 电泳迁移速度—深度测试

管深 $\phi = 470\mu$

深度 $X(\mu)$	-233	-185	-155	-125	-95	-65	-35	5	25	55	85	115	145	175	233
速度 $\bar{v} \left(\frac{\mu/s}{V/cm} \right)$	—	2.519	3.950	4.725	5.506	5.891	6.387	6.595	6.508	6.150	5.630	5.090	4.148	2.928	—

注: 2000 万绵羊红细胞/毫升 9% 蔗糖水,显微镜放大(目×物×镜筒) $20 \times 10.5 \times 1.7$

表 3 琼脂-盐水滴-银丝电极封闭系统中电导值的变化

管 次	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	平均	σ_{n-1}	C. V.
电导值($\times 10^{-2} \Omega^{-1}$)	4.2	4.2	4.1	4.2	4.1	4.2	4.2	4.1	4.2	4.2	4.17	4.830×10^{-2}	1.16%

注: DDS-11 型电导仪测试;样品: 9% 蔗糖水细胞悬液

表 4 细胞电泳稳定性测试

管 次	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	平均	σ_{n-1}	C.V.
速度 ($\mu\text{s}/V/\text{cm}$)	4.189	4.113	4.138	4.064	4.237	4.026	3.933	4.088	3.959	4.054	4.080	0.095	2.33%

注: 2000 万醛化绵羊红细胞/ml 9% 蔗糖水;测试深度 $X = 0$;每管测 10 个细胞,显微镜放大 $20 \times 2.5 \times 1.7$ 。

径。这表明方程 (3) 的系数 a 仅与样品有关,与管深无关。方形毛细管的“静止层”在 $X_1 = 0.80$ 处^[1]。分别以 $X_1 = 0$ 和 0.80 代入方程 (3) 中,即得 $\bar{V}_{\text{中心}} = y(0) = a$, 而 $\bar{V}_{\text{壁}} = y(0.80) = 0.36a$, 因此

$$\bar{V}_{\text{壁}} = 0.36 \bar{V}_{\text{中心}}$$

故若知道其中之一,即可求出另一个。

毛细管必须密封严密,否则引起微漏,造成测试管中的细胞漂移;同时,电极密封系统的适当装配也很重要,否则会引起电学参数的波动(用电导值等参数的变化表示),影响测试的稳定性。

我们采用了琼脂-盐水滴-银丝电极封闭系统(图 2)。做法是:先制成两块厚薄均匀的琼脂板,一块厚 4 毫米,一块为 2 毫米(2% 盐水配制成 2% 的琼脂)。装满细胞悬液的毛细管,将一端先插进厚琼脂板上,装上琼脂密封,再将另一端插进薄琼脂板上,故毛细管两

端(各约进 2 毫米琼脂)被密封了。将密封的毛细管放到测试架上,将管两端滴上 2% 的盐水,银丝电极也浸泡在盐水中,然后置于显微镜上测试。

这种封闭法,因为不用塑料套管^[1],毛细管两端如有空气气泡滞留,很容易被发现,便于检查密封效果。故此既保证了毛细管两端的密封效果,又保证了两端电极的良好接触。经这样密封后,电导值变化很小(表 3)。

根据我们多次实验,用塑料琼脂套管密封方形毛细管测试结果,C. V. 值可达 5% 左右。而采用了琼脂-盐水滴-银丝电极密封系统,观察层选在毛细管中心,并选择适当放大倍数的显微镜,细胞电泳测试的稳定性大大提高,C. V. 值达 3% 以下(见表 4)。

参 考 文 献

[1] 上海第一医学院生物物理教研组等:《医学科研资料》,1975 年,86—95 页。
[2] Ambrose, E. J.: Cell Electrophoresis, 1965.

[本文于 1979 年 5 月 21 日收到]

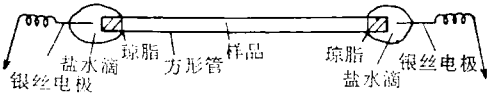


图 2 琼脂-盐水滴-银丝电极封闭系统示意图

3-(4-羟基苯基)-丙酸-N-羧琥珀酰亚胺酯的合成

王 菊 君

(中国科学院生物物理研究所生化试剂厂)

3-(4-羟基苯基)-丙酸-N-羧琥珀酰亚胺酯, [N-Succinimidyl 3-(4-Hydroxyphenyl)-Propionate, 简称 HPNS]。分子式: $C_{13}H_{13}NO_5$, 分子量: 263.25, 化学结构式:

