

图2 辣根皮过氧化物酶 B 组分和 C 组分在 CM-70 纤维素柱上第四次层析分离图谱

2. 同功酶的聚丙烯酰胺凝胶电泳鉴定

A 组分的聚丙烯酰胺凝胶电泳参照 Davis 方法^[7], 采用高 pH 系统。凝胶浓度 5% (Acr: Bis = 37:1), 电流强度 2mA/管。按 Lewis 和 Williams 方法 B 组分和 C 组分的电泳采用低 pH 系统^[8]。凝胶浓度 5.6% (Acr: Bis = 37:1), 电流强度 4mA/管。考孟斯亮兰 R_{250} 染色按 Lawrence 法^[9]。过氧化物酶活性染色方法, 浸电泳后的凝胶于含有 0.01 M 邻联二茴香胺 (O-dianisidine) 的 0.005M 磷酸缓冲液中, 并加入 H_2O_2 使最终浓度为 0.01 M。过氧化物酶的糖蛋白染色^[10], 凝胶取出后, 依次浸泡于下列试剂中: (1) 25% 异丙醇 10% 冰醋酸过夜, (2) 0.5% 高碘酸二小时, (3) 0.5% 亚砷酸钠 5% 冰醋酸 30 分钟至 60 分钟, (4) 0.1% 亚砷酸钠 5% 冰醋酸 20 分钟, 并重复 (4) 一次, (5) 10% 冰醋酸 10 分钟至 20 分钟, (6) 10 ml Schiff 试剂过夜, (7) 0.1 N 偏重亚硫酸钠 0.01 N HCl 浸泡数小时, 反复几次, 直

到溶液无红色, 再加入甲醛。酸性同功酶 A 和碱性同功酶 B、C 的凝胶电泳图谱见图 3 (见图版 II)。它们在各种染色方法中呈现单一色带, 都有酶活性。都是糖蛋白。

以上实验结果表明: 分离的三个同功酶组份在上述检验方法中是均一的。采用 Shannon 等^[1] 报道的相同层析条件和同一命名法, 表明此酶制剂中没有 D、E 组份, A 组份含量极微, 主要是 B、C 二个同功酶组份, 但 B 组份多于 C 组份。同功酶 A 组份在凝胶电泳图谱中只呈现单一色带, 不如 Shannon 报道那样出现 A_1 、 A_2 、 A_3 组份。

参 考 文 献

- [1] Shannon, L. M. et al.: *J. Biol. Chem.*, **241**, 9, 2166, 1966.
- [2] Poul, K. G. et al.: *Acta Chemica Scandinavica*, **24**, 3607, 1970.
- [3] 陆应钰等: 《生化通讯》, 1980 年, 第 5 期, 第 80 页。
- [4] Marrison, M. et al.: *Annual Review of Biochemistry*, **46**, 861, 1977.
- [5] Paterson, E. A. et al.: *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 75, 1956.
- [6] H. V.: Bergmeyer, *Methods of Enzymatic Analysis*, **1**, 495, 1974.
- [7] Davis, B. J. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **121**, 404, 1964.
- [8] Reisfld, R. A. et al.: *Nature*, **195**, 281, 1962.
- [9] Lawrence, B. Soh Schwartz et al.: *J. B. C.*, **249**, 5898, 1974.
- [10] Fairbanks, G. et al.: *Biochemistry*, **10**, 2606, 1971.

[本文于 1980 年 11 月 5 日收到]

介绍一个简易的多用途电泳装置

张友堃 王 祁 杨太兴*

(北京六一仪器厂) (中国科学院遗传研究所)

自 1955 年 Smithies 用卧式平板淀粉凝胶装置分析人血清蛋白质以后^[5], Davis 等 (1964) 又用聚丙烯酰胺凝胶圆盘电泳分析血清蛋白, 建立了“Disc”电泳^[6]。此后各式各样的电泳装置陆续问世^[2,3,4,5,7,8,9], 有关专著也相继出现^[1,8]。目前, 电泳技术应用十分广泛, 电泳装置种类繁多, 总括起来分为两大类——垂直式和卧式。垂

直式又分为板状和管状 (包括环形管状) 两种, 卧式也可分为板状和管状两种。此外, 又衍生出若干电泳装置和电泳技术。但是, 以上单用途电泳装置难以满足多种电泳要求, 而外国同类产品, 价格又较昂贵。因此, 我们参考 Smithies^[5],

* 邵勤田同志拍摄照片, 谨此致谢

Davis^[6], Martini^[8], Tadashi Aotsuka 等^[9] 和瑞典 LKB 及 Pharmacta 公司^[10] 的先进经验, 结合我国条件, 设计和制造了一套多用途电泳装置。其特点是: 操作简便, 用途广泛, 效果良好, 配套齐全, 经济节省, 适应性强。

一、构造及用途

1. 主件部分 在 $210 \times 135 \times 50$ mm 的有机玻璃槽内, 直立两块 210×210 mm 的凹型有机玻璃板。在凹槽两侧, 各放一块特制凹型橡皮垫, 防止上槽电泳液漏入下槽。上槽为 $170 \times 60 \times 45$ mm, 底部有 12 孔。在上槽和下槽底部, 各用一条直径 0.2mm 的铂金丝嵌入三角形棱内作电极, 并为半固定式, 易于维修 (见图版 IV 图 2 中间所示)。

2. 附件部分

(1) 凝胶板制备装置 电泳效果取决于所用的凝胶质量。采用表面光滑平整的 $200 \times 200 \times 3$ mm 的两块玻璃板 (其中一块为凹型), 如需作窄板胶, 可改变凹口宽度和配上相应的试样格 (梳子), 可在 160mm 宽度内作各种宽度的凝胶板。胶室密封配有三种方法的附件, 用凡士林等油脂密封, 配有三个厚度 ($200 \times 15 \times 3$, $200 \times 15 \times 1.5$ 和 $200 \times 15 \times 1.0$) 的有机玻璃板条; 如用琼脂糖或石蜡密封, 配有 $205 \times 15 \times 10$ mm 的琼脂糖槽; 如用特制橡胶板条 (规格同有机玻璃板条), 仅在两块板条衔接处, 作成凸型和凹型。与此配套的梳子也有 3.0, 1.5 和 1.0mm 三个厚度, 可作 12 和 20 个样品。1.5 mm 厚用于一般分析, 1.0 mm 厚用于放射自显影和

等电点聚焦; 3.0 mm 厚用于琼脂糖和淀粉胶, 还可作双向电泳和少量制备电泳。为了配胶方便可靠, 配有胶室支架 [图 1]。

(2) 冷却部分 由于电泳在冰箱中进行, 主要靠空气冷却。为了防止加样后搬动时漂样, 需先在冰箱外电泳一个多小时。室温高达 30°C 以上时, 水冷却失效, 应改用冰冷却。根据电泳发热主要在胶板上部的特点, 用挂冰槽挂在玻璃板上, 冰融化后流入下冰槽, 仍有冷却作用 [图 2]。

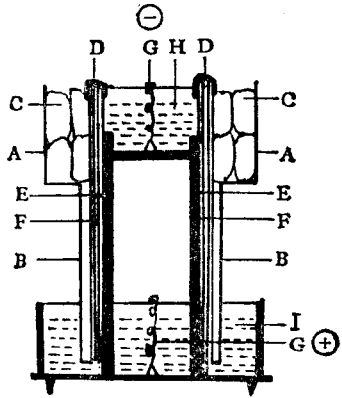


图 2 挂冰槽

A. 上挂冰槽; B. 下挂冰槽; C. 冰; D. 挂勾; E. 凹型有机玻璃板; F. 玻璃板; G. 铂金丝电极; H. 上电极槽; I. 下电极槽

(3) 活动电极槽 槽为 $200 \times 50 \times 45$ mm, 底部安放 0.2 mm 直径的铂金丝电极, 它与下电极槽配套, 可作卧式平板电泳 [图 3]。把它安放在上电极槽下面, 可作 60—170mm 范围内各种长度的管胶 [图 4]。

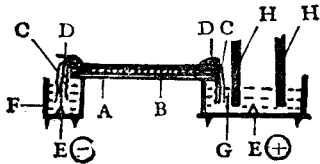


图 3 卧式平板电泳装置

A. 支持板; B. 凝胶; C. 电桥; D. 塑料薄膜; E. 三角形电极; F. 活动电泳槽; G. 垂直板下电泳槽; H. 凹型有机玻璃垂直板

(4) 配有 5×170 mm 的玻璃管 12 只, 相应的带有 12 个有孔橡皮塞, 可作核酸电泳等长管胶。如作双向电泳, 把第一向 5mm 凝胶柱剖为

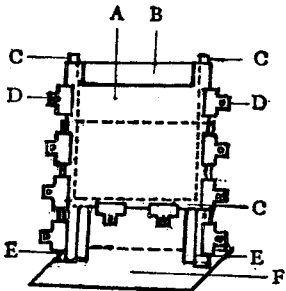


图 1 胶室在胶室支架上

A. 凹型玻璃板; B. 方型玻璃板; C. 板条; D. 文具铁夹; E. 活动长方条; F. 胶室支架

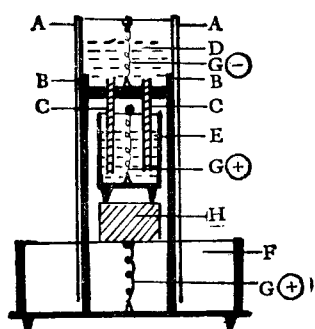


图 4 不同长度管胶电泳装置

A. 方型玻璃板; B. 凹型有机玻璃垂直板;
C. 玻璃管; D. 上电泳槽; E. 活动电泳槽;
F. 下电泳槽; G. 铂金电极; H. 支持架

两半,一半置 3mm 厚垂直板胶顶部为第二向,另一半作对照染色;也可用垂直板为第一向,然后转 90 度作卧式板走第二向。只作垂直板胶时,用无孔橡皮塞堵住上槽孔即可。

多用途电泳槽,在主要构造上近似 Martini^[8]和 Tadashi Aotsuka 等^[9]设计的简易电泳装置,在多种用途、电极安放、密封方式、冷却设施和胶室支架等方面,则吸取了瑞典 LKB 和 Pharmacia 公司电泳装置的优点。在此基础上,将封闭式(盒式)改为开放式电泳装置;改水冷却为冰冷却;把胶板悬挂式改为胶板立放式;改螺丝钉固定为文具铁夹固定。因此,它兼有单垂直平板、双垂直平板,卧式平板和圆盘电泳槽的性能,而且可以根据需要,在一定范围内随意变动。这样,操作更加方便,适应性更强,使用范围更加广泛。图板 IV 中图 1 为多用途电泳槽及其部分附件

二、应用实例

电泳技术应用十分广泛,而凝胶电泳技术又是常用的分析手段(具体操作方法,详见说明书),它在基础理论、农业科学、医药卫生、工业生产及国防科研等实践中有着多方面的用途。由于垂直平板凝胶具有薄层凝胶的优点,分辨率高;又在一块板上比较不同样品,可比性强;还可制成平板,长期保存,因此,目前国内使用垂直平板凝胶电泳技术越来越多。本文图版 IV 中图 3, 4, 5 和 6 为杨太兴等应用多用途电

泳槽,双垂直平板电泳槽和单垂直平板电泳槽分析玉米等植物同工酶的实例。

三、注意几个问题

多用途电泳槽由于附件多,在作单项电泳时,不一定每个附件都能用上。因此,我们设计和制造了双垂直板,单垂直板和圆盘电泳槽(见图版 IV 右边和左边所示)。这几种电泳槽及其部件,既可单独使用,又能相互配套,可作各种电泳,几年来试验效果较好。使用多用途等垂直平板电泳槽时,要注意几个问题:(1)凹型玻璃板容易损坏,操作时要小心(一般可多备几块)。(2)采用文具铁夹固定,简单方便,掌握好作用的力点,效果更好。(3)冰冷却装置简易方便,效果明显,但应注意把冰块装得均匀,否则影响迁移率。(4)全套装置用有机玻璃板粘成,长期使用后,如有个别地方漏电泳液,可用氯仿加有机玻璃粉补上。(5)用凡士林密封,需用热水或去油剂洗刷,故配有特制橡皮垫和板条。(6)单作垂直板胶时,需用无孔橡皮塞把上槽塞孔堵紧。(7)作双垂直板电泳时,电压不变,电流比单垂直板增加一倍,因此电泳仪要配 50 mA 以上,本厂生产的 DYY-III 型电泳仪可以与此配套。

参 考 文 献

- [1] 乔克强、徐乃正,方荣祥:《聚丙烯酰胺凝胶电泳》科学出版社,1975 年。
- [2] 中国科学院上海生物化学研究所代谢调节控制组:《生物化学与生物物理进展》,1974 年,第 3 期,52 页。
- [3] 陆荣华、陈瑞铭:《生物化学与生物物理进展》1977 年,第 4 期,第 12 页。
- [4] 李文简、丁胜大:《生物化学与生物物理进展》1978 年,第 3 期,第 49 页。
- [5] Smithies, O., *Biochem. J.*, **61** (4), 629, 1955.
- [6] Davis, B. J. et al.: *Annals N. Y. Acad. Sci.*, **121**, 404, 1964.
- [7] Roberts, R. M. et al.: *Anal. Biochem.*, **49**, 592, 1972.
- [8] Gordon, A. H.: *Electrophoresis of Proteins in Polyacrylamide and starch gels*. Amsterdam, North-Holland. Pub. Co., **203**, 1975.
- [9] Tadashi Aotsuka et al.: *J. Genetics*, **54** (5), 397, 1979.
- [10] L K B 和 Pharmacia 公司来中国科学院仪器展览资料, 1980。

[本文于 1981 年 5 月 13 日收到]

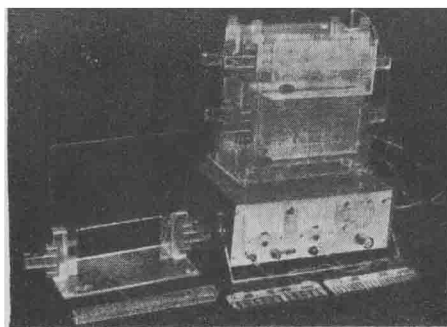


图1 多用途电泳槽及其部分配件

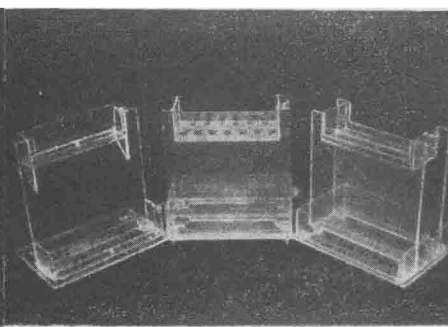


图2 多用途电泳槽、双垂直平板和单垂直平板电泳槽的主件

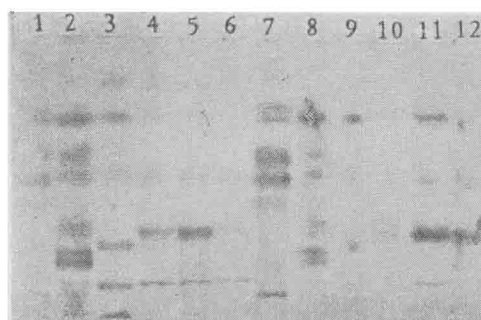


图3 玉米授粉后不同发育时期胚乳中的过氧化物酶同工酶谱
分离胶浓度7%。1980年样品；1和7子房、2和8授粉后1周的全籽粒，3和9、4和10、5和11、6和12分别为授粉后2、3、4和5周的胚乳



图4 玉米授粉后花丝的细胞色素氧化酶同工酶谱
分离胶浓度7%。1979年样品；1和7花粉、2和8授粉前花丝、3和9、4和10、5和11、6和12分别为授粉后2分、5分、10分钟和4小时的花丝



图5 小麦和玉米脂酶同工酶谱比较
分离胶浓度7%，小麦为1981年样品，玉米为1980年样品；1—5发芽3天的不同小麦品种幼芽。6—10发芽3天的不同小麦品种胚乳。11玉米花粉。12玉米花丝，13、14、15和16玉米花药。17、18、19和20玉米授粉后16—19天的胚乳

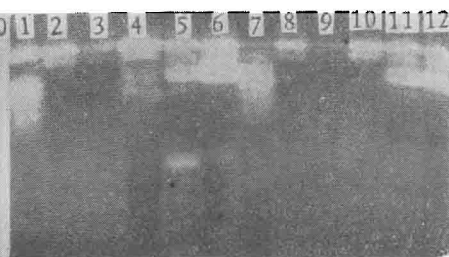


图6 玉米授粉后花丝的 α -淀粉酶同工酶谱
分离胶浓度7%，1980年样品；1和7花粉、2和8授粉前花丝、3和9、4和10、5和11、6和12分别为授粉后5分钟、1天、7天和14天的花丝