

小体积样品电泳浓缩法

许多生化实验,样品需要浓缩。电泳提供了带电生物大分子最温和的浓缩方法。但已有的电泳法只能浓缩大体积(10—100ml)样品。一些特殊实验目的需要的微量样品,用这些方法浓缩是无能为力的。这里介绍一种小体积样品的电泳浓缩法,它可以把2ml稀的样品液浓缩至10—50 μ l。这种方法除需常规电泳仪、电泳槽外,需制备电泳浓缩管。制备方法如下:把内径5mm,长13.5cm的玻管截成1.5cm和12cm两段,浸于硝酸-硫酸(1:3)混酸中过夜;用大量蒸馏水洗涤后烘干。烘干短管用塑料薄膜封底,加满30%丙烯酰胺凝胶溶液(内含双丙烯酰胺,TEMED,过硫酸铵),立即用镊子向管中加一个铝质或有机玻璃的锥形钉。凝胶液聚合后,细心刮掉管外凝胶,取出锥形钉,形成漏斗穴。用一弹性塑料管(长1.5cm)把带漏斗穴的短胶管和12cm长的玻管联在一起,即成电泳浓缩管(见图1)。把此管安装在电泳槽中,加满待浓缩的稀样品液,向上、下槽中加适量电极缓冲液即可电泳。每管电流1—3mA,电热功小于0.5W,于4 $^{\circ}$ C过夜。电流不宜过大,过大时样品液会出现对流。电泳完毕后,吸去上槽中缓冲液,将浓缩管中液面细心吸至穴口,约剩50 μ l。如果是易观察的有色样品,可进一步吸至剩10 μ l。至此即达到浓缩目的。

微量样品浓缩的倍数可达70—100倍,得率大于70%,与常量电泳浓缩法相匹敌,而且浓缩后样品的完整性经酶活检验得到完好的保证。带电大分子的浓缩时间与电极缓冲液的种类、浓度及酸度有关,还与分子本身的荷电性质有关。当蛋白等电点远离电极缓冲液pH时,电泳只几小时即可。离子强度与浓缩效果关系

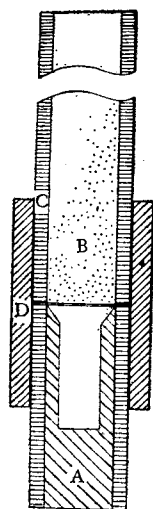


图1 电泳浓缩管剖面图

- A. 聚丙烯酰胺凝胶,浓缩后样品集中于漏斗穴中;
- B. 待浓缩稀样品溶液,
- C. 玻璃管壁,
- D. 弹性塑料管。

密切,一般低离子强度效果较好。浓缩样品分子较小时可以向凝胶介质中引入电荷,借同电相斥阻止样品分子进胶。常用引入电荷试剂有正电荷试剂——溴化丙烯基三乙基铵(1%),负电荷试剂——丙烯酸等,将其掺入丙烯酰胺溶液与其聚合而达到引入电荷的目的。

[Anal. Biochem., Vol. 116(2), 379—382, 1982.]

中国农业科学院畜牧所 吕俊宣摘]

单克隆抗体在免疫测定中应用的前景

放射免疫测定法(RIA)是近年来临床生化中最常用的鉴定激素和药物的手段,由于某些抗原难于标记,60年代后期又引进了利用标记抗体进行免疫测定的免疫放射计数法(IRMA)作为RIA的补充。单克隆抗体问世以来,提供了高专一性抗体的充分来源。大量单克隆抗体的涌现,促进了几种比较新的、利用标记

抗体的免疫测定法的改进,使它们有可能逐渐取代经典的RIA,得到广泛应用。

RIA是根据一种抗原与放射性标记的抗原竞争结合于一定数量抗体的能力测定其浓度的方法。为取得灵敏的结果,所用的特异抗体必需有很高的亲合力。一般多肽激素分析中,样品内抗原浓度很低(相当于