

人胃粘膜细胞核。而 Chiu's 法产率也很低,约 1% 左右(预备实验结果)。可能主要是因为胃组织粘液较多,按 Chiu's 法制备的 1:10 匀浆过滤,会损失大量细胞核,这是产率极低的主要原因。如何去掉粘液是提高产率的关键,为此我们曾设法充分洗涤人胃组织,但因损失粘膜细胞较多,仍不能提高产率。现改为 1:10 匀浆过滤前,用大量溶液 A 稀释匀浆(使成 1:40),再过滤,结果极大地提高了产率。由 1% 提高到 9%。这样的产率虽不够高,但已能基本满足深入工作需要。Chauveau's 法产率略低于 Chiu's 法,这主要是因为我们增加了二次纱布过滤,但这一改进能提高细胞核的纯净度。Chauveau's 法的产率虽略低于 Chiu's 法,但却具有操作简便,节约试剂等优点,我们认为,如取材时能尽量去除结缔组织和粘液,使之在 2.2M 蔗糖中能顺利匀浆,则采用 Chauveau's 法为好。如在 2.2 M 蔗糖中,取材不易匀浆,则可采用 Chiu's 法,再用大量稀释过滤方法提高产率。另外在所有试剂中均应加蛋白水解酶的抑制剂——PMSF,以便减少分离过程中核内蛋白质降解,以提高产率。

Chauveau's 法及 Chiu's 法制备的人胃粘膜细胞核经苏木素伊红染色,光学显微镜下观察,核形态完整,纯净度也较好(图 3、4 见封 3)。为了提高纯度,2.2M 蔗糖超速离心获得的细胞

核经溶液 A 洗 2—3 次,再用含去垢剂 Triton X100 的溶液 A 处理一次。组织不同,去垢剂所需浓度各异,我们则采用 0.2%、0.5% 及 1% 三种浓度平行处理同一标本,结果发现含 0.2% Triton X100 的溶液 A 处理后细胞核完整未破,浓度大的细胞核易破碎。经 Triton X100 处理的纯核电镜观察,核形态完整,核膜上污染较少(图 5 见封 3)。

以上结果为深入研究胃粘膜细胞核的生化性质提供了有利条件。

本研究得到中国科学院科学基金资助。

本文得到赵天睿教授的大力支持;上海生物化学研究所李宝珪的热情帮助,文中电镜照片承江西省家畜防疫站电子显微镜室协助,在此一并表示深切谢意。

参 考 文 献

- [1] Chhauveau, J. et al.: *Exp. Cell Res.*, 11: 317, 1956.
- [2] Chiu, J. F. et al.: *J. National. Cancer Inst.*, 59(1), 151, 1977.
- [3] Blobel, G. et al.: *Science*, 154, 1662, 1966.
- [4] Schneider, W. C.: *Method in Enzymol.* Vol C, 680, 1957.
- [5] Siebert, G.: *Methods in Cancer Res.*, Vol 11, 287, 1967.
- [6] Olson, M. O. J. et al.: *The Cell nucleus*, 3, 211, 1974.
- [7] Roodyn, D. B.: *Subcellular Components* (Ed. by Birnie, C. D. et al.: press) p. 15, 1972.

(本文于 1983 年 1 月 28 日收到)

用国产大网格聚合物吸附剂从蛋白溶液中除去 Triton X-100

周德和 倪崇虎 李志毅 池志强

(中国科学院上海药物研究所)

Triton X-100 是一种良好的、常用的溶解膜蛋白的非离子型去垢剂。但过量的 Triton X-100, 往往要影响蛋白质溶液的精确测定与分析, 因此希望 Triton X-100 的浓度仅维持在

膜蛋白不至于从溶液中析出即可。有人曾用 Sephadex G-200^[1] 和 Bio-gel A_{5m}^[2] 凝胶过滤法从蛋白溶液中除去 Triton X-100, 但仅对于 100,000 daltons 左右的大分子量的蛋白质而言,

因此不是普遍实用的方法。近年来也有人用 Bio-beads SM₂^[3,4] 吸附除去溶液中的 Triton X-100, 可以得到良好的效果, 但目前的材料来源困难。本文介绍用国产的中性大网格聚合物吸附剂 (XAD-2 型树脂, 上海医药工业研究院产), 可以近似定量地从蛋白溶液中除去 Triton X-100, 而不影响溶液中的蛋白质含量与特性。

一、实验方法

1. XAD-2 树脂的预处理 将 XAD-2 树脂用甲醇浸泡 8 小时后, 置于砂芯漏斗上, 用甲醇再洗涤二次, 然后用蒸馏水充分洗涤, 洗涤后的树脂浸泡在蒸馏水中备用。

2. 测绘 Triton X-100 (ROTH 产品) 的浓度标准曲线 用 Tris-HCl (50 mM, pH7.5) 缓冲液配制 0.05%—1.0% 若干个不同浓度的 Triton X-100 溶液, 再用 Tris-HCl 稀释 10 倍, 以 Tris-HCl 作空白, 于 UV_{278nm} 测其光密度, 以浓度对光密度作图, 即得标准浓度曲线。

3. 测定 XAD-2 树脂吸附时间与 Triton X-100 和 BSA 的浓度关系曲线 将用 Tris-HCl 缓冲液配制的 1% TritonX-100 溶液置于若干个小烧杯中, 分为 6 组, 分别加 XAD-2 树脂, 比例为湿重的 XAD-2 树脂 0.5 g/毫升溶液, 于 0—4℃, 轻微磁力搅拌, 分别于不同的吸附时间取样, 经过滤或离心, 澄清液再用 Tris-HCl 稀释 10 倍, 测其光密度, 根据浓度标准曲线, 可知道相应光密度的 Triton X-100 的浓度, 以吸附时间对相应的浓度作图, 可得吸附时间与 Triton X-100 的浓度关系曲线。如果在 1% 的 Triton X-100 溶液中, 加入 BSA, 使 BSA 的浓度为 1%, 同样进行上述实验, 用双缩脲法测定, 可得不同吸附时间的 BSA 的浓度。

二、结果与讨论

1. Triton X-100 在溶液中的浓度, 随着 XAD-2 树脂吸附时间的长短不同而改变, 由图 1 和图 2 可见, 当 XAD-2 树脂吸附时间达 30 分钟, 溶液中的 Triton X-100 的浓度下降到 0.3%, 60 分钟时, 浓度下降到 0.05%。若加入

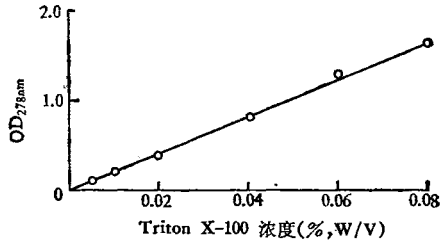


图 1 Triton X-100 的浓度与光密度关系曲线

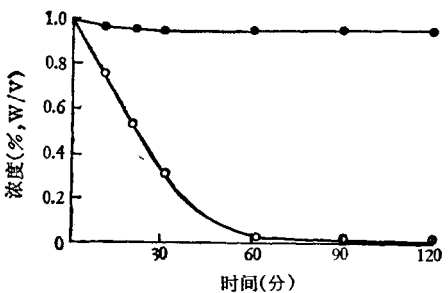


图 2 XAD-2 树脂吸附时间与 Triton X-100 浓度关系曲线

—○—○—○—Triton X-100
—●—●—●—牛血清蛋白 (BSA)

BSA, 在不同的吸附时间测得的 BSA 的浓度, 没有明显地改变, 表明 XAD-2 树脂在吸附 Triton X-100 的过程中, 对 BSA 的浓度没有影响。

2. 我们在制备水溶性阿片受体时^[5], 用 Triton X-100 溶解大鼠脑匀浆的突触膜(P₂ + P₃ 部分, 超离心 (100,000×g, 60 分钟, 2℃) 后上清液为 Triton X-100 助溶的阿片受体膜蛋白溶液, 接着用 XAD-2 树脂处理 60 分钟, 处理前后的膜蛋白浓度并没有变化 (表 1), 用透析法^[3]测定了水溶性阿片受体的活性, 分别在 1000 倍的右吗喃 (dextrorphan) 和左吗喃 (levorphanol) 存在下, 水溶性阿片受体与 [³H]etorphine (44ci/mM, 上海第一医学院同位素室合

表 1 用 XAD-2 树脂吸附前后的水溶性阿片受体膜蛋白浓度比较

吸附时间 (分)	吸附前浓度 (毫克/毫升)	吸附后浓度 (毫克/毫升)
60	1.2	1.2
90	1.2	1.2

成) 的特异性结合是可饱和的, 其饱和浓度为 1.5 nM (图 3), 保持了一定的阿片受体活性。

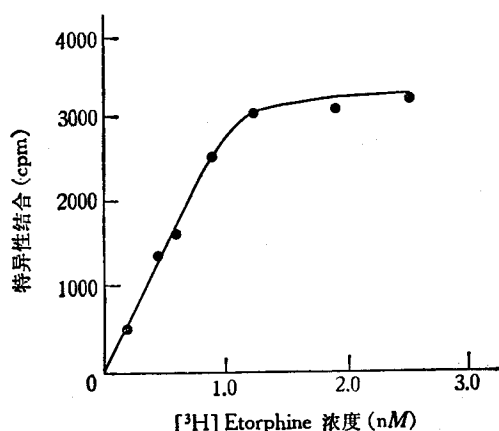


图 3 用 TritonX-100 溶解的阿片受体膜蛋白, 经 XAD-2 树脂处理后 ³[H] Etorphine 结合的饱和曲线

3. 用 XAD-2 树脂吸附除去蛋白溶液中的 Triton X-100, 此方法操作比较方便, 快速, 效果好, 材料经济, 用后可以回收, 用甲醇或丙酮

浸泡及洗涤后, 可以重复使用, 吸附能力并不降低。XAD-2 树脂已应用于药物代谢产物的测定, 临床化验与水的净化等^[6]。目前国内且有生产, 本实验中采用的 XAD-2 树脂, 同 Rohm 和 Haas 生产的 XAD-2 树脂比较, 吸附能力是接近的, 但随着产品质量规格的进一步提高与品种型号的增加, 将为广泛应用提供了条件。

参 考 文 献

- [1] Rottem, S. et al.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **125**, 50, 1968.
- [2] Loach, P. A. et al.: *Biochem.*, **9**, 724, 1970.
- [3] Bidlack, J. M. et al.: *Life Sciences*, **27**, 331, 1980.
- [4] Holloway, P. W.: *Analytical Biochemistry*, **53**, 304, 1973.
- [5] 周德和等: 尚未发表的资料。
- [6] 上海化工学院抗菌素教研组离子交换树脂小组: 《医药工业》**8**, 55, 1977.

(本文于 1983 年 3 月 25 日收到)

超速制备离心机的安装调试

逯 建 英

(中国科学院生物物理研究所)

超速制备离心机包括精密机械结构、电子控制系统、冷冻、真空系统等, 是一种精密的大型仪器。安装得是否正确, 关系到能否达到技术指标, 也会影响仪器的使用寿命和实验数据的可靠性。所以, 买到仪器后, 应认真检查、安装、调整、试运转。首先应满足仪器的电源、水源、环境等条件。因此, 在安装调试前, 必须仔细阅读仪器的安装, 使用说明书。对它的性能、规格、特点、操作步骤及特殊要求都应有详细的了解, 然后再全面地考虑安装步骤, 确保达到仪器的技术指标。

首先应按装箱单逐件查对, 清点零件、配件; 并仔细观察各零件、配件有无碰撞损坏。如

数清点后, 将仪器搬到所要放的位置。

超速制备离心机体积大, 重量重。比如: Beckman 的 L5B 系列概算重量为 510 公斤; HITACHI 的 P-72 系列重 680 公斤—650 公斤; KONTRON 的 TGA 系列为 580 公斤—550 公斤。因此在搬运的过程中要平稳, 防止碰撞冲击。有的仪器在运输前采取措施, 将驱动系统、冷冻系统、真空泵固定在离心机的机体上, HITACHI 的仪器指示表头也短接。但 VAC 602 型驱动系统并未做安全处理。无论哪种情况在搬运的过程中都应小心谨慎、倾斜度不宜过大, 通常不超过 30°, 以防止零件脱落损坏或发生其它事故。