

为 λ_1 、 λ_2 时的平均透光度; $E_{\lambda_1}^*$ 是人射光波长为 λ_2 时有物质部份的吸收值; $T_{\lambda_1}^*$ 是这一部份的透光度)。

从公式推导及计算机分析, 双波法可以很好地消除分布误差, 应能获得较好的测量结果, 故国外文献多推荐双波法, 国内也多采用此法。我们也是先采用双波法, 在应用中发现一些问题才转向双区法的。

首先, 理论上同一批染色的片子上各部份被染色物质的吸收曲线应完全相同。这样, 相对于最大吸收的波长 λ_2 就会有一个确定的波长 λ_1 , 其吸收值 E_{λ_1} 恰为最大吸收 E_{λ_2} 的二分之一。双波法就是要选择这样两个波长的人射光进行测量。可是实际上不论如何注意染色方法, 同一批片子, 甚至同一片子不同区域测得的吸收曲线都不相同, 由此而求出的双波长也不一样。有时在 λ_2 相同时 λ_1 可相差 1—2nm, 有时则可达到 3—5nm, 甚至更大。不同片子之间的差别有时很小, 有时超过 7—8nm。在此种情况下就无法保证 $E_{\lambda_2} = 2E_{\lambda_1}$ 。为尽量减少 λ_2 、 λ_1 偏离引起的误差, 就要对每一个片子都选择几个区域测定吸收曲线, 求出各自的双波长, 从中选出最适中的一组作为本片适用的双波长, 而当各吸收曲线彼此相差太远时就不宜用双波

法了。这就给测量工作增加了很多麻烦。

其次, 一个片子空白区域中稍有些杂质或其它原因引起测量读数有微小变化时, 均会对双波法的相对质量值有较大影响。(微小的读数变化对双区法测量结果影响小得多。)这就使得样品情况(如背景的干净程度, 被测物浓度等)和测量过程的误差对双波法测量结果的准确度有较大影响。一部份样品, 特别是颜色较浅、背景不特别干净的样品, 双波法测量结果的准确度就很差。(如表 1 中的小鼠、大鼠精子等样品)

双区法尽管在理论上不能消除有物质区域的不均匀造成的分布误差, 但由于生物标本中此误差不是很大, 而仪器读数误差等对双区法结果的影响又小, 因而在实际测量中双区法的相对标准差一般都小于 7%。而双波法由于前述种种原因其相对标准差常大于 10%, 甚至高达 20% 以上。

总之, 双区法不但比双波法操作简便, 而且准确度高, 又不一定要用双波法必须的单色器, 特别在样品各处吸收曲线差异较大或片子条件不太理想造成双波法误差太大时, 就更显出双区法的优越。

[本文于 1984 年 4 月 11 日收到]

仪器设备

简单、快速、灵敏的微型凝胶电泳装置

静天玉 张增艳* 戴燕*

(河北大学分子生物学研究室, 保定)

为了满足核酸、蛋白质极微量样品分析的需要, 本室根据 Ogrita 等^[1]介绍的方法自制了比原设计更简单的微型双垂直板凝胶电泳装置。该装置由三块有机玻璃、四块窗玻璃和一个培养皿构成。胶室容量 6.5 毫升, 点样量 1 微克(或更少)至 10 微克, 每块胶板可点 12 个样品, 电泳时间约 2 小时, 两个垂直板的电泳条

件完全相同。

一、制作及组装

取三块有机玻璃, 长 × 宽 × 厚分别为: $A_1 = 110 \times 25 \times 5$ 毫米, $A_2 = 90 \times 25 \times 5$

* 生物学系 1984 年应届毕业生

毫米, $A_3 = 73 \times 25 \times 5$ 毫米。将 A_1 、 A_2 的一端和 A_3 的两端在砂纸上磨成 45 度坡口。用氯仿将三者按坡口粘合在一起, 形成 U 字形框架, 如图 1a 所示。 A_1 的自由端用台钻打一直径 6 毫米的孔, 安上焊有一小段铂丝的香蕉插座。将两块 $115 \times 83 \times 3$ 毫米的凹玻璃板 B_1 、 B_2 用环氧树脂粘接在 U 形框架的两侧。 于是, 一个缓冲溶液内储槽 C 就形成了; (图 1b)。 B_1 、 B_2 用作内胶室板。另外准备两块 $105 \times 83 \times 3$ 毫米的玻璃板 D_1 、 D_2 作为外胶室板 (图 1b 未画出 D_2)。

将 0.8 毫米厚的间隔板 E_1 、 E_2 平放在内胶室板两侧距边缘约 5 毫米处, 小心压上外胶室板, 并使其上缘与内胶室板成同一水平。用文

具夹将两块胶室板夹紧。为防止灌胶时因重力胶液渗漏现象, 可将 5 毫米宽、适当长度的双层尼龙网嵌入下端内、外胶室板之间。然后将热溶的 2.5% 琼脂糖 (用电泳液配制) 灌满尼龙网周围的全部空间。待凝后, 间隔板外侧的玻板间隙也用 2.5% 琼脂糖 (用蒸馏水配制) 封严。如采用大孔聚丙烯酰胺速凝胶代替琼脂糖, 胶室底部可不加固体支撑物。

电泳缓冲液外储槽是一个内径 120 毫米的培养皿。将一块安有香蕉插座和铂丝的有机玻璃, 用环氧树脂粘接在培养皿的侧壁上。电泳时, 铂丝电极应位于两个胶室之间。整个装置如图 2 所示。

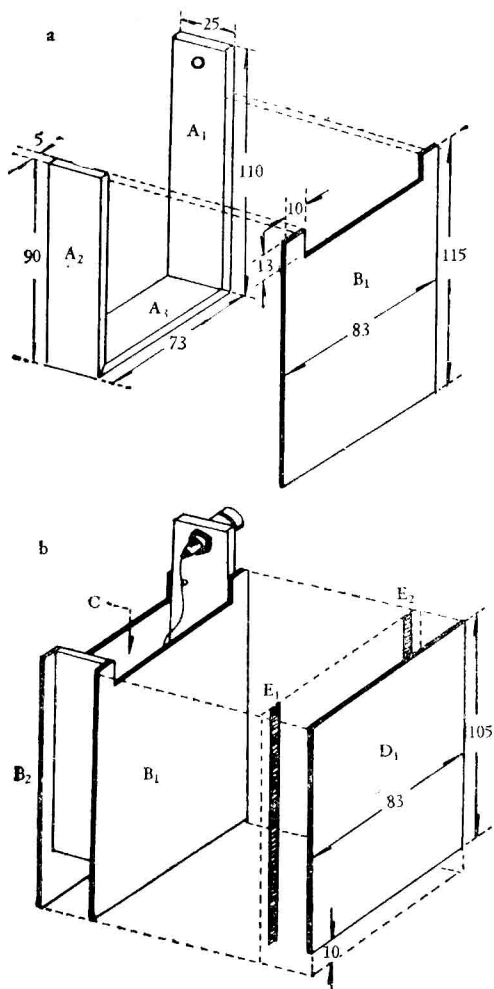


图 1 微型凝胶电泳槽结构图

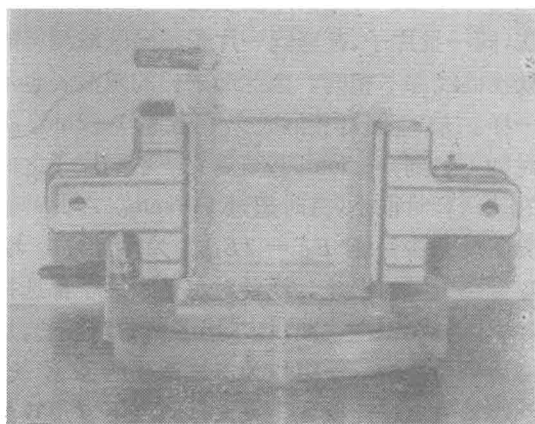


图 2 微型凝胶电泳装置实体图

二、应用实例

1. 小核 RNA (snRNA) 聚丙烯酰胺凝胶电泳 (图 3)

先以苯酚法自小牛胸腺细胞核及可提取性核抗原 (ENA) 抽提混合 RNA, 再根据 Roop 等 (1981 年) 进行尿素-聚丙烯酰胺非连续梯度凝胶电泳。电泳条件: 凝胶梯度 13% (5 厘米)、10% (1 厘米) 和 4% (4 厘米), 50mM Tris-硼酸缓冲液 pH8.3, 0.2% 亚甲基蓝染色, 电压 200 伏, 室温电泳 2 小时。

2. 蛋白质 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (图 4)

样品直接溶于 SDS 样品缓冲液 (0.05M Tris-HCl pH 6.8, 1% SDS, 1% 乙硫醇, 10% 甘油, 0.02% 溴酚蓝)。沸水浴加热 3—6 分钟。

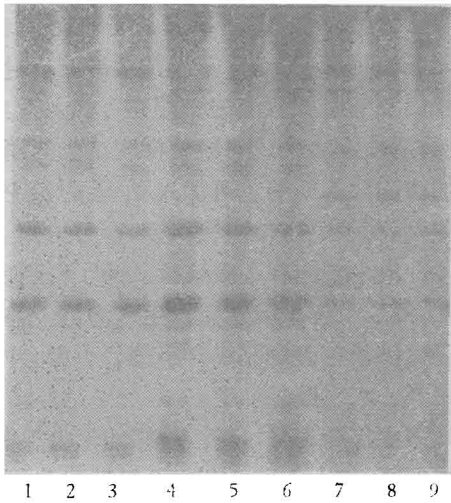


图3 snRNA 电泳图谱

- 1-3, 小牛胸腺细胞核
 4-6, Triton X-100 洗过的小牛胸腺细胞核
 7-9, 小牛胸腺可提取性核抗原

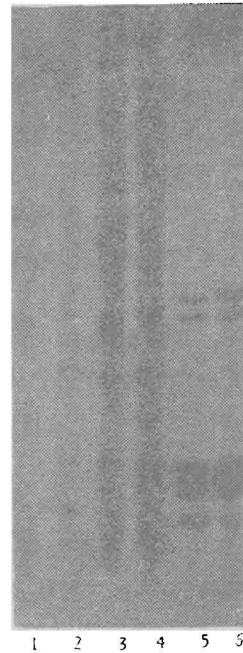


图4 蛋白质电泳图谱

1. 部分提纯的小牛胸腺可提取性核抗原
 2. 猪胸腺可提取性核抗原
 3. 4, 小牛胸腺可提取性核抗原
 5. 6, 小牛胸腺组蛋白

电泳条件: 浓缩胶 4%, 工作胶 20%, Tris-甘氨酸缓冲液 pH 8.6, 考马斯亮蓝 G-250 染色, 电压 100—200 伏, 室温电泳 2 小时。

参 考 文 献

- [1] Ogrita, Z. et al. *Anal Biochem.*, **99**, 233, 1979.
 [2] Roop, D. R. et al.: *Cell*, **23**, 671, 1981.

[本文于 1984 年 7 月 9 日收到]

本研究得到河北省科学委员会资助。

经验交流

超薄板状聚丙烯酰胺梯度凝胶电泳

任惠民 章生良

(中国科学院上海生理研究所)

在分析蛋白的工作中,常常遇到被分析的试样数目多但含量甚微等问题。使普通用的板状凝胶电泳,往往达不到分离的效果。因此,必须寻找一种分离效果好,又能进行大批量微量试样分析的方法。

我们在进行单肌细胞蛋白成份的超微量分析时,经过反复摸索试验,成功地制成一种“超薄板状聚丙烯酰胺梯度凝胶电泳”。凝胶的厚

度仅 0.5 毫米左右,加样槽的宽度可小于 2 毫米。经过长期使用证实,这种超薄梯度凝胶电泳,不仅制作方法十分简便,无需任何复杂装置,而且可获得令人满意的电泳结果。

方 法

一、材料

1. 平板玻璃: 长 8 厘米, 宽 10 厘米, 厚 3