

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

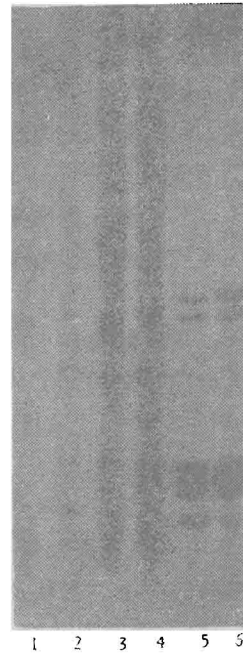


图4 蛋白质电泳图谱

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

毫米的普通平板玻璃。

2. 密封橡皮: 长 8 厘米, 宽 4 毫米, 厚 1 毫米的薄条状橡皮筋(航模商店有售)。

3. 凹形长夹, 可用较厚的有机玻璃等耐腐蚀绝缘材料加工而成。

4. 凝胶溶液, 配成 30% 丙烯酰胺、0.8% 甲叉双丙烯酰胺的凝胶溶液, 内含甘油 30—50% (V/V)。

5. 梳状薄板: 用于制加样小槽。用稍薄于密封橡皮的有机玻璃等材料加工成齿宽约 2 毫米、齿距约 2 毫米左右的梳状薄板, 无齿的一端为直线状, 灌梯度胶时用。

6. 梯度形成器: 底部有细孔相连通的两个平底柱状容器, 其中一容器底部留有一流出口。

以上所需材料的大小、形状及凝胶溶液配制的浓度, 可按工作需要加以改变, 不影响分析效果。在凝胶溶液中加入较浓的甘油是为了比较容易制得良好的梯度。

## 二、制梯度凝胶板

1. 装板: 在两块平板玻璃中, 放置三根薄条状橡皮筋, 中间的一条稍短, 与边上的一条靠近, 两条橡皮筋之间留一小隙缝, 作为灌制凝胶的通道。玻璃板的两端用凹形长夹固定, 然后再在两块玻璃板中间插入梳状板无齿一端, 调节至松紧合适。为了固定玻璃板, 使制得的凝胶板厚度一致, 在旋进螺丝下最好衬一块稍厚

的条状有机玻璃板等材料。

2. 灌胶: 在装配好的玻璃板下端铺一层琼脂, 注意不能堵塞小隙缝, 然后用细塑料管的一端插入灌胶小隙缝, 另一端与梯度形成器相连。在梯度形成器有流出口的容器中加入配制的含有甘油的凝胶溶液, 另一容器里加缓冲液, 边搅拌边灌胶。在加凝胶溶液的一端亦可加入适当的缓冲液, 以便防止形成的凝胶梯度过分陡峭, 当然在加缓冲液的一端也可加入适量的凝胶溶液。待凝胶凝聚后, 抽出梳状板, 即可得到上端平滑无加样小槽的梯度凝胶板。为了得到良好的梯度, 灌胶时应尽量避免产生气泡, 更不能直接插入梳状板有齿端制加样小槽, 否则会严重地影响同一水平面的梯度。

3. 镶制加样小槽, 在已制好的无齿梯度凝胶板的上端, 加入小于 7% 的丙烯酰胺溶液, 然后将梳状板的有齿端插入, 使齿端与梯度凝胶的上端正好接触。待胶液凝聚后, 抽出梳状板, 即完成了“超薄聚丙烯酰胺梯度凝胶板”的制作。

## 三、电泳

用微量注射器吸取被分析试样, 加入加样小槽内。梯度凝胶板的下端置于电泳下槽内, 再将外面包有一层塑料薄膜的滤纸, 一端放入电泳上槽内, 另一端插入梯度凝胶板上端, 施加电压, 进行电泳(图 1)。

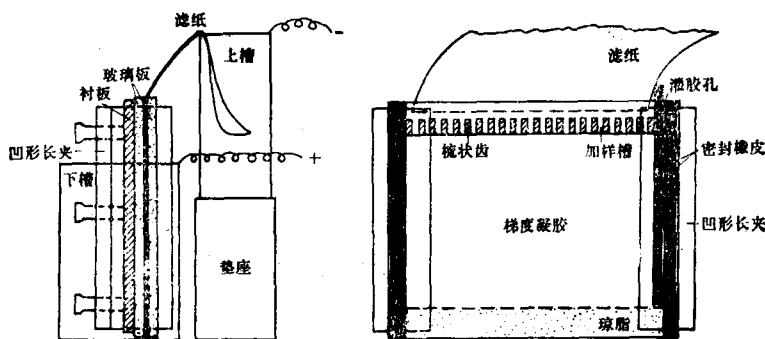


图 1 超薄板状聚丙烯酰胺梯度凝胶电泳装置示意图

## 小 结

用以上方法制备超薄聚丙烯酰胺梯度凝胶

板十分简便, 凝胶板的大小可任意变化, 电泳槽的大小亦可任意调换, 又因用滤纸导电, 所以能同时进行大批量的试样分析。另外, 因为凝胶

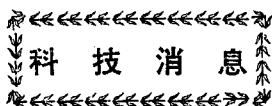
板很薄,加样小槽又小,所以对微量试样的分析尤其合适。我们用以上方法制备了5—15%梯度的聚丙烯酰胺超薄凝胶,对大鼠肌肉的单肌纤维进行了大批量的分析,获得了大鼠不同类型单肌纤维肌球蛋白的轻链图谱特征(图2见封3)。我们剥取的大鼠单肌纤维长仅0.5—1厘米,粗20—40微米,解离后的加样体积不足1—2微升,用上述超薄梯度电泳仍获得了清晰的电泳结果。我们还检测过0.0008 $\mu\text{g}$ 的牛血清白蛋白,比文献<sup>[1]</sup>报道的用考马斯亮蓝染色

检测到的蛋白量的灵敏度,提高了近一个数量级。

如果要进行一般的、无需用梯度凝胶来分离蛋白的实验,或者要测定微量蛋白的分子量,此种超薄板装置亦完全适用,而且方法更为简化,只要用常规的制备凝胶方法即可。

## 参 考 文 献

- [1] Oakley B. R. et al.: *Anal. Biochem.*, **105**, 361, 1980.



## mRNA 拼接的中间体首次被发现

七年前几个实验室同时发现真核生物的许多基因被一些称为内含子(intron)的非编码区所打断。于是生物学家就试图弄清内含子是怎样精确地从 mRNA 前体切除的,但进展甚少。障碍主要在于没有找到一个有效的、能重复的体外拼接体系,而此种体系对分析拼接过程所涉及的组份和中间物是必不可少的。去年(1983)这个障碍被克服了。

1984年与麻省理工学院 Phillips Sharp 等在《细胞》上报道说:在他们的拼接体系中,被切除的插入序列的构型象一个套索。1984年冷泉港有关“RNA 加工”的讨论会上, Michael Green 与哈佛大学 Tom, Maniatis 共同提出与此相似的结果。内含子呈套索状的观点很有吸引力,因为这样的 RNA 结构是非同寻常的。

按拼接特性的不同,前体 RNA 分子分为三类。一类是 tRNA 前体分子。它紧密地形成典型的二级结构,其内含子切除的精确性不仅决定于内含子序列,还决定于 tRNA 的结构。至于 rRNA 和线粒体 mRNA 的拼接,似乎部分依赖于内含子中的四段短的保守序列。第三类即核 mRNA 的内含子总是在两端分别以核苷酸 GT 和 AG 加上一短的“同感序列”为界,此序列被认为对识别拼接位点起一定作用。tRNA 和 rRNA 拼接机制研究,尽管不断取得进展,可是有关 mRNA

加工机制还是不清楚。人们只知道,一段称为 U1 的附加小分子 RNA 肯定参与了拼接过程,而 U1 的一部分核苷酸序列和同感序列中的一个很相似。

Sharp 等人用他们建立的体外拼接体系,研究 mRNA 前体的内含子切除动力学。在体内没能分离出切掉的内含子。人们认为这是它们被很快被降解了。好在体外系统的降解似乎消失,使人便于观察。

Sharp 等人用凝胶电泳分析拼接反应产物时,注意到几种假定的中间物,包括内含子本身的迁移速度比预料的慢,同时又受到 Pittsburgh 大学 M. Edamons 等观察到的多聚(A)分子分枝结构这一事实的启发,理解到他们可能也在和一个分枝状的 RNA 分子打交道。他们的结论是这个分枝是套索构型的一部分。

上述的结果好似排除了现在流行的磨损切除假说: mRNA 内含子是由核糖核酸酶把核苷酸一个个地“啃”掉的。他们又指出,拼接过程很吸引人,因为很多内含子从 mRNA 前体分子移走了,却对拼接无影响,而在此拼接过程中的内含子的一个序列可能有很重要的作用。

[*Science*, **225**, 4659, 1984.]

北京大学生物系张微编译]

邹明发等：“6株抗人IgE重链McAbs杂交瘤细胞株的建立和鉴定”一文的图2

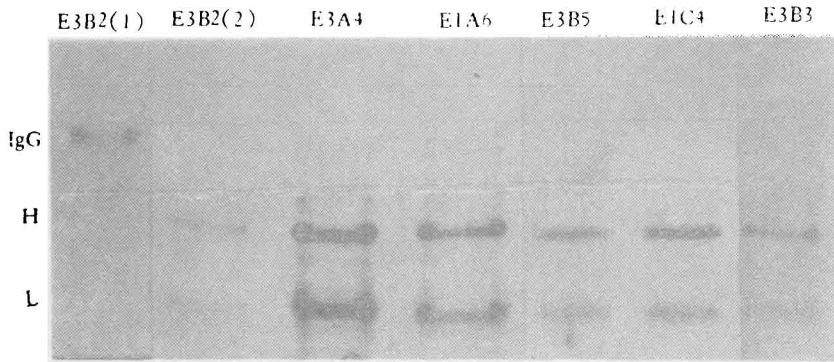


图2 6个抗人IgE McAbs的SDS-PAGE图谱

无血清液浓缩15倍,加入50μl, E3B2(1): 未经2-巯基乙醇还原的SDS-PAGE图谱; E3B2(2), E3A4, E1A6, E3B5, E1C4和E3B3: 经2-巯基乙醇还原后的SDS-PAGE图谱

任惠民等：“超薄板状聚丙烯酰胺梯度凝胶电泳”一文的图2

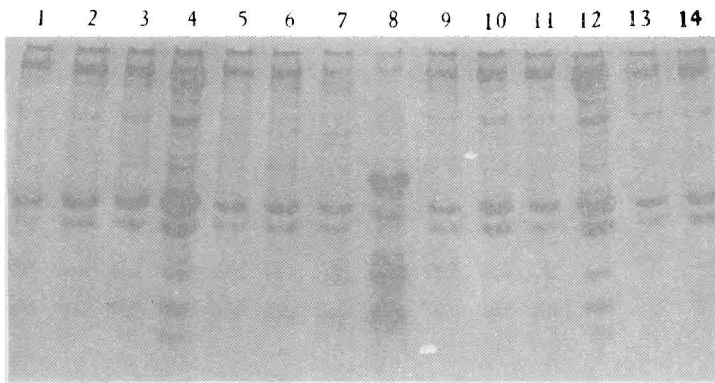


图2 大鼠不同类型单肌纤维肌球蛋白轻链图谱

(1)(9)比目鱼肌; (2)(10)鳃肌; (3)(11)腓肠肌(小头); (4)(5)(12)(13)腓肠肌(大头); (6)(14)伸趾长肌; (7)髂肌; (8)标准蛋白

肖啸等：“测定RNA序列的化学裂解直读法”一文的图1

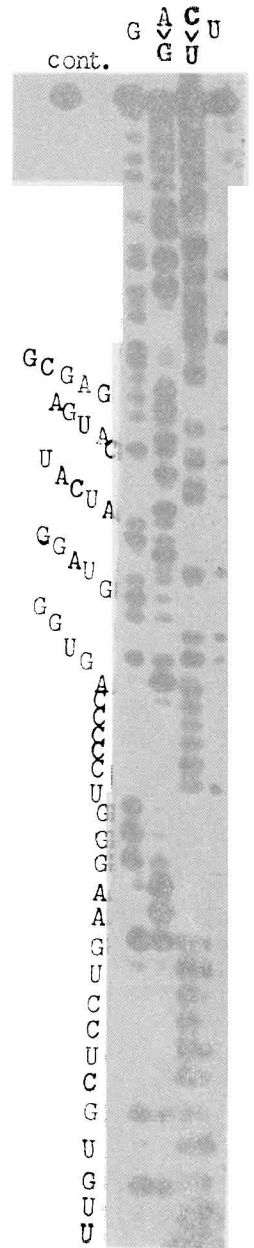


图1 化学裂解直读法测定的芹菜叶5S rRNA部分序列