

## 聚丙烯酰胺凝胶电泳脂蛋白带的耐尔氏蓝染色法

蒋作君 沈一平

(南京医学院)

目前聚丙烯酰胺凝胶电泳用考马斯亮蓝 G 或 R 染蛋白带<sup>[1,2]</sup>、用过碘酸-Schiff 试剂染糖蛋白带<sup>[3]</sup>，均取得了满意的结果。至于用油红 (OR)<sup>[4]</sup>、苏丹黑 (SB)<sup>[4]</sup> 对琼脂、醋酸纤维膜等凝胶中的脂蛋白带的染色鉴定是成功的，但对聚丙烯酰胺凝胶中的脂蛋白带的染色则不够满意。我们应用耐尔氏蓝 [Nile's blue] 染色法<sup>[5,6]</sup>染盘状聚丙烯酰胺凝胶电泳的脂蛋白带取得了较好的结果。现介绍如下：

称取耐尔氏蓝 0.6g，溶于 100ml 1% 硫酸溶液，过滤备用。脱色液为 1% 硫酸溶液。按莽克强法<sup>[7]</sup>将卫氏并殖吸虫成虫生理盐水粗抗原 (A-NS-Ag) 进行聚丙烯酰胺凝胶盘状电泳。电泳后的凝胶用耐尔氏蓝染液室温染色 1 小时 (若为平板凝胶，则染 30 分钟)，再用 1% 硫酸溶液脱色；换 3—5 次脱色液即可。被着色的脂蛋白带一般在 10 天内不会褪掉。同时用油红和苏丹黑常规染色作为对照。

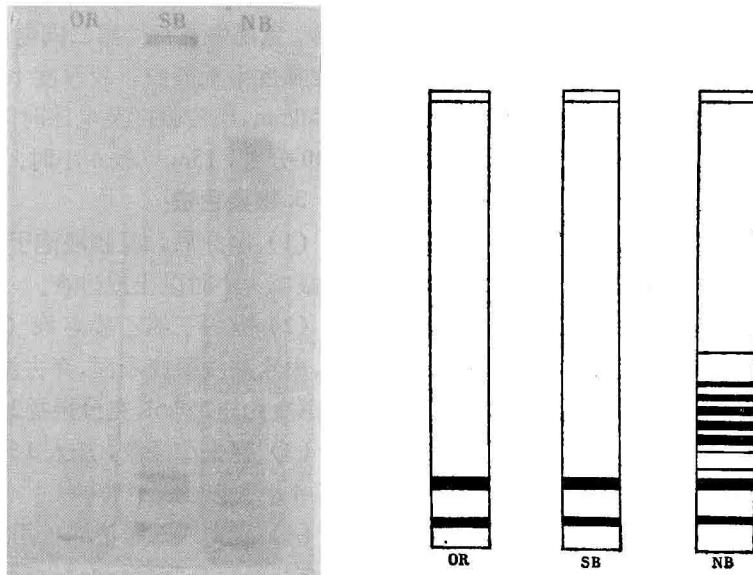


图 1 卫氏并殖吸虫成虫粗抗原 PAGE 凝胶脂蛋白染色

图 1 照片所示为耐尔氏蓝染色法与油红、苏丹黑染色法对卫氏并殖吸虫成虫粗抗原 PAGE 凝胶中脂蛋白带染色效果的比较，明显看出耐尔氏蓝法有较高的灵敏度。

耐尔氏蓝对中性脂类和类脂均能着色<sup>[8]</sup>。中性脂类被染成红色，类脂被染成蓝色。本实验脂蛋白带被染成蓝色，提示 A-NS-Ag 的脂

蛋白中含类脂成份。

由耐尔氏蓝染出的脂蛋白带在 7% 醋酸中不能长期保存。据我们观察，一般能保存 15—20 天，故需尽快地摄影或画图记录结果。尽管如此，该法还是比较满意地解决了聚丙烯酰胺凝胶中的脂蛋白带的染色鉴定问题。

本文蒙本院赵慰先教授审阅，谨致谢忱。

# 一种改良的蛋白质双向电泳银染色法

蔡晓丹 王理开 徐晓利

(中山医科大学生化教研室,广州)

Switzer 等人于 1979 年发展了蛋白质的银染色法<sup>[1]</sup>。由于其灵敏度远远高于传统的考马斯亮蓝染色法,结合蛋白质的双向电泳技术,可获得分辨率极高的分析系统,已日益成为生化分析的重要工具。许多生化工作者对银染色法作了改良<sup>[2-5]</sup>。但是,其中某些方法我们难以重复,或底色过深,假象多,或操作步骤过于繁琐。我们结合前人经验,建立了一个在本实验室条件下易行、价廉、重复性好的改良方法。

## 一、材料和方法

### 1. 试剂

丙烯酰胺、双丙烯酰胺(南中塑料厂出品),重结晶后使用;戊二醛(Fluka);硝酸银 GR 级(成都化学试剂厂产品);氨水 AR 级(广州化学试剂厂产品);尿素 GR 级(北京化学试剂厂产品);Ampholine(LKB 产品);牛血清白蛋白(BSA,上海生化所产品),经凯氏法测定蛋白质含量;其余试剂 AR 或 CP 级。实验过程用水均为去离子水经全玻璃蒸馏器重蒸馏后使用。

### 2. 电泳方法:

单向 SDS 平板凝胶电泳采用 Laemmli 系统<sup>[6]</sup>,凝胶浓度 10%,厚度 1mm,以 BSA 作样

品,上样量如图 1 所示。电泳完毕,将凝胶切成两半,分别作考马斯亮蓝染色<sup>[7]</sup>及银染色,以比较两种方法的灵敏度。

双向电泳依据 O'Farrell 等的方法<sup>[8]</sup>,有较大改动。等电聚焦凝胶直径 1.2mm,高 80mm,胶浓度为 5%,Ampholine 为 2.5% (pH3.5—10 占 1/4, pH5—8 占 3/4),尿素浓度为 9M,样品混和于凝胶中。聚焦时电压和时间依次为 200V 15 分钟,300V 30 分钟,400V 10 小时,800V 1 小时。取出凝胶条,于平衡液中平衡 40 分钟,室温中进行。第二向电泳采用 10—15% 线性梯度平板凝胶,胶厚度 1mm,长 120mm,高 150mm,电流强度及电泳时间依次为 7.5mA/板 40 分钟,15mA/板 4 小时。

### 3. 银染色法:

(1) 电泳后,凝胶浸泡于 20% 三氯乙酸中,振摇 4 小时以上或过夜。

(2) 吸去三氯乙酸溶液(可重复使用数次),用水冲洗凝胶表面,弃去洗涤液,再加水冲洗,每次约用 250ml,充分振摇 20 分钟,共三次。

(3) 弃去洗涤液,加入 1% 戊二醛 200ml,振摇 4 小时以上。

(4) 弃去戊二醛溶液,用水冲洗凝胶表面

## 参 考 文 献

[1] 李成文等:《生物化学与生物物理进展》6,71—73,1983.

[2] 王世中:《免疫化学技术》. 科学出版社,202,1980.

[3] Andrews A. T.: *Electrophoresis: theory, techniques, and biochemical and clinical applications*. Clarendon Press, Oxford, 32, 1981.

[4] 华家桢等:《实用蛋白质化学技术》,上海科学技术出版社,52—53,1979.

[5] Clausen, J.: *Immunochemical techniques for the*

*identification and estimation of macromolecules* (2nd Fully Revised Edition), Elsevier/North-Holland, Biochemical Press, Amsterdam, New York. Oxford, 249, 1981.

[6] Sodeman, W. A.: *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **16**, 591—594, 1967.

[7] 莽克强等:《聚丙烯酰胺凝胶电泳》科学出版社,26,1975.

[8] C. F. A. 卡林著(孔庆雷译):《组织病理学与组织化学技术手册》365—367,1982.

[本文于 1985 年 7 月 15 日收到]