

剖动物作直接心外膜电位测定。测定装置也可用上述的设备,只是电极可少些。

心外膜电位估算这一课题的完美解决将对心血管疾病的诊断提供一种有力的手段。但是,要将这一方法用于临床,无论在理论上还是在技术上尚有很多问题有待解决。

参 考 文 献

[1] 谷島一嘉: 医用電子と生体工学, **20**, 321, 1982。
[2] Bellman, R. et al.: *Comm. of ACM*, **7**, 666, 1964。
[3] Holt, J. H. et al.: *Circulation*, **40**, 687, 1969。
[4] 山下安雄: 医用電子と生体工学, **17**, 193, 1979。

[5] Brody, D. A. et al.: *Circ. Res.*, **29**, 512, 1971。
[6] Arther, R. M. et al.: *Amer Heart J.*, **83**, 663, 1972。
[7] Martin, R. et al.: *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, **BME-19**, 276, 1972。
[8] King, T. et al.: *Circ. Res.*, **30**, 393, 1972。
[9] Yamashita, Y.: *Japan. Circ. J.*, **45**, 1312, 1982。
[10] 田中 博: 計測自動制御論文集, 18—12, 1194, 1982。
[11] Barr, R. C.: *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, **BME-24**, 1, 1977。
[12] 田中 博: 医用電子と生体工学, **21**, 181, 1983。
[13] Lynn, M. et al.: *Biophys. J.*, **7**, 925, 1967。
[14] 孙山淳治: 医用電子と生体工学, **17**, 401, 1979。
[15] 青木正憲: 医用電子と生体工学, **22**, 318, 1984。
[16] 田中 博: 医用電子と生体工学, **23**, 147, 1985。

[本文于 1985 年 12 月 27 日收到]

科技消息

脉冲电场凝胶电泳分离大分子 DNA

脉冲电场技术在凝胶电泳中的应用是一项重大发展。它可以分离, 分析大分子量 DNA, 从 10 千碱基对到 1000 千碱基对。常规电泳所用的电源一般为恒定电场。DNA 分子在电场作用下自由泳动。在游离的溶液中, 一般线性 DNA 分子均具有相同的迁移率。与分子大小无关。在凝胶中, 由于凝胶的分子筛作用, 可以将 DNA 分子按大小分开, 而且分辨率很高。这是由于在电场作用下, 小分子的 DNA 通过凝胶的网孔时较容易, 而较大的 DNA 分子就需要在凝胶中走一些弯路, 找到较大的孔径方可前进。

一旦 DNA 分子大小超过凝胶孔径, 凝胶就起不到分子筛作用。用琼脂糖凝胶电泳分离 DNA 时, DNA 大小一般不超过 20 千碱基对。否则 DNA 分子就会僵止在胶面, 很难进入胶中。但是这种停止泳动的螺旋状的 DNA 会因受电场的作用而变形, 使 DNA 分子沿其长轴方向进入胶网, 此时通过胶网结构的方式均

相同, 迁移率也无差别, 因而达不到分级分离 DNA 的目的。脉冲电场凝胶电泳的出现, 其目的就是要解决大分子 DNA 凝胶电泳分离之难题。在脉冲电场电泳中大分子 DNA 的分离是基于 DNA 分子在凝胶中改变其形状的速率而实现的。

由脉冲电场凝胶电泳装置示意图可见, 它是由一个水平式电泳槽和两个独立的彼此垂直的电极组组成, 一组电极标负极为 N, 正极为 S; 另一组负极为 W, 正极为 E。一块 1% 的琼脂糖凝胶, 一般为 20 厘米正方形, 呈 45 度角放在电泳槽中央。电场在 N-S 和 W-E 之间轮换开启。每一次脉冲电场持续时间可在 1 秒到 5 分钟范围内选择。选用时间长短与要分离的 DNA 分子大小有关。DNA 分子处在轮番交替的电场中。首先向 S 极移动, 而后改向 E 极。在每次电场方向变更时, DNA 分子就要用一定的时间松弛, 改变形状和迁移方向。只有当 DNA 分子达到一定的构型后, 才能继续前进。脉冲电场凝胶电泳提高分辨 DNA 能力的原因目前尚不完全清楚。但有人提出的一种假设与实验结果是一致的。即 DNA 分子的松弛, 变形所需的时间大致与 DNA 分子量成正比例, 较小的 DNA 分子松弛变形所需时间短, 当电场改变方向时, 它们就会以较早的时间开始下一次迁移。而较大的 DNA 分子则相反。因此长时间的以脉冲式变换电场方向进行电泳, 就会达到分级分离 DNA 的目的。当 DNA 分子松弛、变形时间接近脉冲电场时间时, 迁移率与其分子量大小呈明显反比例, 可得到很高的电泳分辨率。当 DNA 分子松弛、变形时间大于脉冲电场时间, 则凝胶中 DNA 分子松弛、变形与电场更替时间不相符, 也就达不到分离 DNA 的目的。所以根据所要分离 DNA

(下转第 38 页)

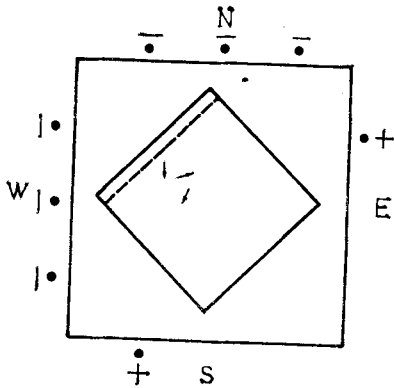


图 1 脉冲电场凝胶电泳装置示意图

黑点分别表示水平和垂直的电极。凝胶板以 45 度角放在电泳槽中央。箭头表示 DNA 从点样孔移动的方向。

似于未和 Ankyrin 结合的带 3 蛋白, D_L 值和收缩蛋白的聚合状态有关。(3) 有人认为血型糖蛋白总是和带 3 蛋白形成复合体, 若这样它应具有同带 3 完全一样的运动特性。实验研究时, 先将 FITC 结合在麦胚凝集素上, 后者能专一性地和红细胞膜上的血型糖蛋白结合。要指出的是标记带 3 蛋白时只简单地使 FITC 和红细胞膜作用即可, 因为绝大多数 FITC 都是和带 3 蛋白结合, 因此不必采用专一性标记的方法。实验发现, 血型糖蛋白的侧向扩散与收缩蛋白的状态有关, 四聚体量越多, 侧向扩散系数越小。此结果似乎与第二种可能性接近, 但 D_L 值比相应带 3 蛋白大。大部分血型糖蛋白是可动的, 不动部分仅占 10%。10mM NaCl 时, $D_L = 7.5 \times 10^{-11} \text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, 可动部分比例 0.89; 150mM NaCl 时, $D_L = 0.94 \times 10^{-11} \text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, 可动部分比例 0.83。

上述研究都是红细胞血影膜的结果, 这种侧向扩散限制是否存在于完整的红细胞膜, 以及有何生理意义还不很清楚。流感病毒 (IFV) 与红细胞膜温育能引起带 3 蛋白侧向运动的加快, 这种现象只有在酸性 pH 下才发生。这种与 pH 的依存性和病毒与红细胞膜融合相一致(后述)。用 IFV 中提取的血凝素(HA)与红细胞温育, 也观察到相似现象。红细胞在 pH 为中性的等渗磷酸缓冲液中和 HA 温育后带 3

蛋白的侧向扩散系数 $D_L = 6.1 \times 10^{-12} \text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, 可动部分比例 0.33。在 pH 为 5.2 的等渗磷酸缓冲液中与 HA 温育后带 3 蛋白的 D_L 增加至 $1.6 \times 10^{-10} \text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ (可动部分比例不变)。这种扩散运动的变化亦是和 HA 溶血作用的 pH 依存性相一致的(后述)。一种假设是, HA 可影响收缩蛋白的聚合状态, 增加二聚体量, 从而引起带 3 蛋白扩散运动加快。这种侧向扩散运动可形成一个纯脂质区域, 有利于病毒和细胞的融合^[6]。

对真核细胞的细胞骨架研究还很不清楚。红细胞的细胞骨架是至今了解得最为详尽的。可以认为, 相似的侧向扩散运动的限制也可能存在于其它真核细胞中。外界因子通过跨膜信号传递引起细胞内产生某种生理信号, 由此可能改变细胞骨架的聚合状态或引起类似 Ankyrin 锚定蛋白的生成或降解, 从而调节膜蛋白在膜上的运动, 改变某些重要的膜功能。

(张志鸿、刘宏志整理)

参 考 文 献

[1] Saffman, P. G. and Delbrück, M.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 72, 3111, 1975.
[2] Chang, C. H., et al.: *J. Biochem.*, 90, 997, 1981.
[3] Sheetz, M. P. et al.: *Nature*, 285, 510, 1980.
[4] Lux, S. E.: *Nature*, 281, 426, 1979.
[5] Tsuji, A. and Ohnishi, S.: *Biochemistry* 25, 6133, 1986.
[6] Yoshimura, A. et al.: *Exp. Cell Res.*, 160, 126, 1985.



(上接第 26 页)

分子量的范围选择脉冲电场的时间是很重要的。

上述特殊的电极排布(见图)对提高电泳分辨率也起重要作用, 二组可更替电场的排布是以电泳槽的对角线为轴线而对称的, DNA 分子的净移动方向是沿电泳槽的对角线前进的。两个电场的方向之间角度为

100—150 度, 由于净电场随着 DNA 向对角线方向移动而减小, 使远离点样原点的 DNA 组分的分离距离与近点样原点的 DNA 组分的分离距离差别不会很大, DNA 的分辨率也会因此而提高。

[生物物理所 程振起]

更 正

①本刊 1985 年第 6 期“甾体激素的提纯倍数与其纯度的关系”一文, 第 52 页右栏倒数第 9 行有误, 更正如下

误

正

“dpm/mg $\times 0.0785 \times 10^{-6}\%$ ”

“dpm/mg $\times 0.07875 \times 10^{-6}\%$ ”

②本刊 1986 年第 3 期第 49 页“长寿老人红细胞膜 ATP 酶及唾液酸的研究”一文, 右栏第 2 行 (Ca、Mg)-ATP 酶保温系统, 作者要求补加 5mM MgCl₂。