

经验交流

快速简易凝胶板干燥方法

骆爱玲 黄巨富 梁寅初

(中国科学院植物研究所,北京)

琼脂糖凝胶电泳和聚丙烯酰胺凝胶电泳广泛应用于生物化学及免疫化学等研究方面。人们希望能将电泳凝胶板制成干片,以便进行放射自显影或使电泳结果可以长期保存。国内外已有凝胶真空干燥器生产,可以使凝胶板在加热和真空情况下迅速干燥。但价格昂贵,而且每次只能干燥1—2片,不能适应大量干燥凝胶板的需要。虽然 Ginlian^[1] 和王育东^[2] 在室温下用简易方法干燥凝胶板,但凝胶板需先用甘油预处理费时较长。本文介绍一种既快速又简易的方法,不需特殊设备,也无需特殊处理。凝胶板按常规方法染色、脱色后,用玻璃纸包成“夹心饼”式,放入烘箱中烘烤1—3小时便可制成满意的凝胶干片,一次可干燥许多块凝胶板。

一、溶液的配制:

1. 染色液 2.5克考马斯亮蓝 R 250 溶于 500 毫升甲醇、100 毫升乙酸、400 毫升蒸馏水中。

2. 脱色液 10—20% 甲醇、7% 乙醇的水溶液。

二、琼脂糖凝胶板的干燥

1. 琼脂糖凝胶板与其支持玻璃板的大小均为 60×90×2 毫米,胶浓度 1.5%。

2. 将染色液滴加在电泳后的琼脂板上,染色 2—5 分钟后,用蒸馏水冲洗,然后浸入脱色液中,直至背景清晰透明。

3. 将玻璃纸剪裁成面积略大于玻璃板,约 100×150 毫米。将剪好的玻璃纸放入装有蒸馏水的瓷盘中浸湿,从一端平铺向另一端,然后将玻璃纸(大于玻璃板的部分)对向折叠至玻璃板的背面。

4. 脱色完毕的琼脂凝胶板在水中轻轻地转移到包好玻璃纸的玻璃板上。

5. 凝胶板上再覆盖一层用水湿润过的玻璃纸从一端盖向另一端,琼脂糖凝胶板的孔洞内应避免存留气泡,否则孔洞易裂口。大于凝胶板的玻璃纸仍需对向折叠至玻璃板的背面,这样形成一个“夹心饼”式的多层琼脂凝胶板(见图)。在 60—70℃ 烘箱中烘烤 1 个多小时即可干燥。此法干燥的凝胶片图象满意无裂纹,电泳区带无变化,不会由于干燥造成假象。也可放

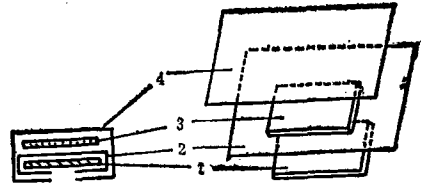


图1 凝胶板干燥示意图

1. 玻璃板 2, 4 玻璃纸 3. 凝胶板
左下方为凝胶板包裹后横切面示意图

表1 琼脂糖凝胶板不同温度干燥所需时间

温 度	60—70℃	30℃	13—15℃
时 间	1—2 小时	17 小时	3 天

置在室温下干燥。见表1。

6. 从烘箱中取出干燥好的凝胶板,将对叠在玻璃板背面的玻璃纸轻轻打开,此时“夹心”凝胶干片即刻脱离玻璃板,把周围多余的玻璃纸剪掉,便可得到凝胶干片。此法制作的凝胶干片可用于幻灯、投影,便于长期保存。

三、聚丙烯酰胺凝胶板干燥

1. 聚丙烯酰胺凝胶板为 100×120×1 毫米,凝胶浓度为 4—10%。

2. 电泳后的凝胶板浸入染色液中染色 30—60 分钟,然后用蒸馏水冲洗凝胶板表面的染色液,转移至脱色液中脱色至底色清晰透明。

3. 支持物玻璃板略大于凝胶板,用于包裹凝胶板的玻璃纸又需大于玻璃板,以包裹玻璃板时对向折叠又不相重叠为好。

4. 按琼脂糖凝胶板包胶程序操作,将聚丙烯酰胺凝胶板包裹好,切忌玻璃纸与凝胶板之间有气泡。放入 45—55℃ 烘箱中烘烤 2—3 小时即可完成干燥。区带清晰,图象保持原样不失真、无裂纹。也可放置在室温下干燥(见表2)。

(下转第 157 页)

育 MC 15 分钟, 室温, 轻微摇荡。取出后用滤纸压干。

(6) 将 MC 置于含水的培养皿中, MC 下面垫一块泡沫塑料。按设计每点分别加待检血清、对照血清及 PBS $2\mu\text{l}$ 。将培养皿放入 4°C 冰箱 15 分钟。

(7) 用 PBS 洗涤 MC 4 次, 每次 3 分钟, 轻微摇荡。取出后用滤纸压干。

(8) 每点加 A 蛋白液 $2\mu\text{l}$, 室温, 40 分钟。

(9) 洗涤 MC, 见第 7 步。

(10) 每点加底物液 $50\mu\text{l}$ 。1 分钟后用蒸馏水洗涤 MC 终止反应。MC 经滤纸压干后, 即可摄影或暗处保存。

二、结果和讨论

点免疫结合试验结果表明, 待检血清 MIRS 和 ris 均呈阳性反应(棕黄色点), 对照血清 NRS 和 NrS 均为阴性。对照 PBS 有两点出现轻微的背景干扰, 可能系阻断不匀致使微量 A 蛋白非特异吸附于 MC 所致(图)。在这以后的实验中, 我们延长 PBS-Tween 20 阻断时间至 30 分钟并避免气泡(Tween 20 易产生气泡)对 MC 的影响, 消除了上述背景干扰。

在本实验中, 每点用的抗原仅 $1\mu\text{g}$, 所用的

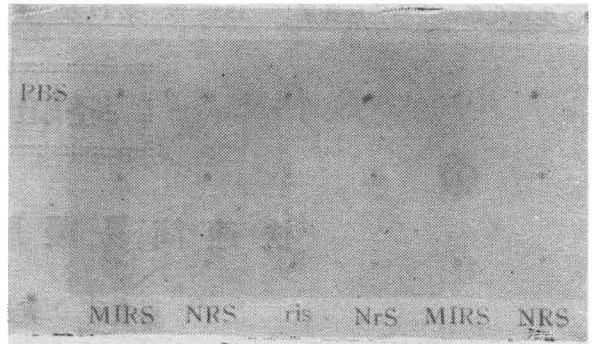


图 国产 MC 为载体的点免疫结合试验

血清及 A 蛋白均为 $2\mu\text{l}$ 。阻断液用 PBS-Tween 20, 未用昂贵的牛血清白蛋白或小牛血清。整个实验在 3 小时内完成。值得提出的是, 实验过程中宜始终用镊子操作, 裁剪 MC 时宜带乳胶手套, 避免用手直接接触及 MC。

此文蒙本院赵慰先教授审阅, 谨致谢忱。

参 考 文 献

- [1] Hawkes, R et al.: *Anal. Biochem.*, 1982, **119**, 142.
- [2] Kumar, S. et al.: *J. Immunol. Methods*, 1985 **83**, 125.
- [3] Herbrink, P. et al.: *J. Immunol. Methods*, 1982, **48**, 293.
- [4] 蒋作君: 《上海免疫学杂志》, 1987, **7**(3), 154.
- [5] 王建一等: 《免疫学快报》, 1987, **7**(1), 25.

[本文于 1987 年 5 月 15 日收到]

(上接第 158 页)

表 2 聚丙烯酰胺凝胶板不同温度干燥所需时间

温 度	45—55 $^{\circ}\text{C}$	30 $^{\circ}\text{C}$	13—15 $^{\circ}\text{C}$
时 间	2—3 小时	17 小时	2 天

SDS 凝胶电泳以及聚焦和 SDS 双向凝胶电泳后的凝胶板用此法干燥, 同样得到满意的结果。

5. 干燥后的凝胶板取下之前, 需用另一块玻璃板压住凝胶板的表面, 然后小心地打开玻璃板背面的玻璃纸, 轻轻地取下“夹心式”凝胶干片。这样可以防止因表面受力不均匀而突然翘起造成凝胶干片撕裂。

四、注意事项

1. 脱色液中甲醇含量不能低于 10%, 乙酸含量不能高于 7%, 否则凝胶板在干燥过程中易产生裂纹。

2. 为避免玻璃纸与凝胶板之间产生气泡, 包胶的全部过程需在水中进行的。

3. 两层玻璃纸需铺平, 在对向折叠时不能太松, 也不能太紧。否则干燥后的凝胶片不平整有皱折, 或会粘在玻璃板上(特别是温度较高时)取不下来。

4. 玻璃板表面要干净, 切忌破损的凝胶颗粒或碎渣残留在表面, 否则玻璃板与玻璃纸会粘住, 影响干燥后的凝胶片脱离玻璃板。

参 考 文 献

- [1] Giulian, G. G. et al.: *Anal. Biochem.*, 1983, **129**, 277.
- [2] 王育东: 《生物化学与生物物理进展》, 1986, (6), 70.

[本文于 1987 年 4 月 24 日收到]