

一种蛋白质等电聚焦银染色方法

朱昌亮 叶炳辉

(南京医学院)

朱晓龙 赵学忠 张 云

(南京军区后勤部军事医学研究所)

等电聚焦是蛋白质分析的一种常用方法。在实际工作中,常因一些生物材料蛋白含量太低,常规的考马斯亮蓝染色不能显示区带,给研究工作带来困难。人们曾考虑聚焦后用超敏感的硝酸银染色法克服之,但因聚焦后凝胶上含有 Ampholine 而往往不能得到满意的结果。我们经过一段时间的摸索,染色获得成功。现简介如下。

一、固定与浸泡

等电聚焦后,将聚丙烯酰胺平板凝胶取下,置入 20% 三氯醋酸中固定、浸泡过夜(8 小时以上)。然后,取出用双蒸水浸洗三次,每次间隔 3 分钟。

二、染色

将凝胶放入染色液内,37℃ 下染色 5 分钟。

染色液配制 称取硝酸银 1 克,以 5 毫升双蒸水溶之,备用。取 0.36% 氢氧化钠 25 毫升,浓氨水 5 毫升混和。将硝酸银液滴入混和液,滴加时不断摇荡器皿。滴完后加水 85 毫升即可。

三、显影

凝胶染色后用双蒸水浸洗三次,每次间隔 3 分钟,注意不断摇荡。浸洗后放入显影液显影至凝胶区带清晰可辨为止(约 5 分钟)。

显影液配制 取 1% 柠檬酸 0.5 毫升,加 40% 甲醛 0.05 毫升,再加水 100 毫升。

四、停影

将凝胶移入 50% 甲醇内停影 10 分钟。

五、干燥与保存

凝胶停影后取出,用双蒸水清洗两次后转入保存液内浸泡 3—4 分钟,最后取出用两张薄玻璃纸蒙在玻璃板上凉干、保存。

保存液配制 取甲醇 700 毫升,加甘油 87 毫升,加水至 1000 毫升。

以上介绍的是厚度为 0.5 毫米,浓度为 7.5% 的平板凝胶,若柱状胶应每步骤适当延长时间。

采用本法与考马斯亮蓝染色法^[1]比较。结果:用本法,10ng 样品液可见明显染色带 11 条;用考马斯亮蓝染色法,100ng 不显带,1000ng 可见染色带 9 条。本法的灵敏度可达考马斯亮蓝染色法的 100 倍以上。

目前报道的银染色法,凝胶在银染过程中均需戊二醛处理^[2-3]。该试剂较昂贵。本法不用戊二醛,同样获得了满意的结果。

有人报道,银染色后,凝胶洗涤时间不宜超过 5 分钟,否则会降低灵敏度^[4]。本染色法,洗涤时间的长短似不影响结果。

本法灵敏度高,相对简便、便宜,不需特殊的试剂,且所显区带清晰,具有一定的实际应用价值。

参 考 文 献

- [1] 叶炳辉等:《寄生虫学与寄生虫病杂志》,1985,3(3),161。
- [2] Oakley, B. R. et al.: *Anal. Biochem.*, 1980, 105, 361。
- [3] Porro, M. et al.: *Anal. Biochem.*, 1982, 127, 316。
- [4] 蔡晓丹等:《生物化学与生物物理进展》,1986,(3),66。
- [5] Tait, A. et al: *Molecular and Biochemical Parasitology*, 1981, 2, 311。

[本文于 1987 年 7 月 17 日收到]

参 考 文 献

- [1] 王世中主编:《免疫化学技术》,科学出版社,北京,1980,178—184。
- [2] Lowry, OH, et al.: *J. Biol. Chem.* 1951, 193, 265。

- [3] 徐宜为编:《实用免疫学技术》,科学出版社,北京,1979,199。
- [4] 李景海:《临床检验杂志》1987,5(1),17。

[本文于 1987 年 7 月 4 日收到]