

经验交流

一种简单快速的聚丙烯酰胺凝胶电泳染色法——铜染色法

康建 初俊杰

(沈阳部队总医院,沈阳)

关键词 电泳,凝胶染色,铜,蛋白质

十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)作为分离鉴定生物大分子的有效手段已广泛用于分子生物学和医学临床工作,迄今为止,用于该技术的染色法多沿用考马斯亮蓝(CBB)和银染色。但上述两法均有其局限性,如蛋白凝胶染色前须经酸酐固定,不易洗脱且操作繁琐,脱色耗时。最近, Lee 等^[1]报道一种 SDS-PAGE 负染色法,利用氯化铜分别与凝胶中蛋白质和非蛋白质组分结合成透明及白色沉淀复合物。我们基于某些碱性染料与铜试剂结合后具有蛋白增色效应^[2],移用金丝雀黄改良铜染色,结果尚满意,现简介如下:

一、染色及方法

SDS-PAGE 参考 Laemmli 系统^[3],血清样品或蛋白标准品于 8℃ 作恒流垂直平板或圆盘电泳。电泳后立即剥离凝胶,用水冲洗数秒,浸入 0.3mol/L 氯化铜溶液,搅拌 5min,待电泳区带显现时,用流水漂洗 2—3 min 以除去多余试剂,并于去离子水中置室温 10min,然后移入 1mg/ml 金丝雀黄水溶液 5min,最后于蒸馏水中保存。

二、结果与讨论

血清样品经 SDS-PAGE 作本法、原法^[1]和 CBB 法的染色灵敏度比较,结果显示本法所得电泳图谱与 CBB 法基本一致,但对 14—40kD 含量较少的个别多肽则显示 CBB 法不足。

用三种不同浓度的牛血清白蛋白标准品作最低检测灵敏度试验,其极限值为 0.5μg/mm²。

本实验曾将染色的凝胶浸入 10% 醋酸以溶解由 Tris-Cu²⁺-SDS 形成的非蛋白沉淀复合物,随后用 CBB 复染,经复染的凝胶仍显示清晰的蛋白区带。洗脱实验采用络合剂 (0.25 mol/L EDTA, 0.25 mol/L Tris-HCl, pH9.0) 络合凝胶蛋白复合物中的铜离子,然后实施电洗脱,其回收率为 88%(±2.5),残留量为 7.1%(±1.3),蛋白产率高于以往报道^[4]。

在本法与原法比较中,观察到原法染色的蛋白区带、基质背景及前导、尾随离子处呈不同颜色的着色,致使图谱的层次杂乱不匀。应用金丝雀黄复染可使凝胶呈色均一化,并增加图谱的反差强度。

SDS-PAGE 铜染色系新近发展起来的一种蛋白质快速染色法,其灵敏度可与 CBB 法相媲美,且方法实用性及洗脱回收率优于 CBB 法。若将本法用于 PAGE 系统则可获得较高酶活收率,适于天然蛋白质的纯化、洗脱及特异性染色。

参考文献

1 Lee C et al. Anal Biochem, 1987; 166:308
2 Sargent M G. Anal Biochem, 1987; 163:476
3 Laemmli U K. Nature, 1970; 270:680
4 Hames B D, Rickwood D 著,刘毓秀等译. 蛋白质的凝胶电泳实践方法,北京:科学出版社,1986: 45
[本文于 1988 年 11 月 7 日收到]

信息服务

强磁场种籽处理装置

专利号: CN: 89208699 · 8

作物播种前,人们处理种籽的常用方法是在潮湿温热的条件下放置一定时间,虽然这种方法有利于种籽的发芽与生长,但极易导致种籽变质和萌芽损伤,影响产量。怎样才能有效地防止种籽变质和损伤萌芽呢?强磁场种籽处理装置为你解决以上疑难。

本技术是一种利用强磁场对作物种籽处理的装置。它是将种籽在播种前对其进行磁化处理。主要包括磁场形成部件和种籽存放部件。磁场部件采用强性磁场,根据种籽不同可调节磁场强度及处理时间,让磁

力线有效地作用于种籽,提高农作物的产量,缩短作物的生长周期且能有效地防止萌芽损伤,防止种籽变质。

本产品生产结构简单,主要部件可外购或外加工,投资 5000 元,不需专用厂房,职工 5 人,月产 1500 套,每套成本 25 元,参考售价 48 元,年利润 10 万元以上,适合城乡中小企业、专业户生产。(167号)

[北京星火,技术研究所提供,通信处:北京 867 信箱 20816 组李群,邮政编码: 100024]