

体细胞的内源性突变. 现已有不少实验室开始研究反义核酸的药物动力学, 进行反义核酸的急慢性毒性实验及诱变性实验. 相信随着研究的深入, 反义核酸将有望成为临床肿瘤治疗的有力手段.

参 考 文 献

- 1 Heikkia R, Schwab G, Wickstrom E *et al.* Nature (Lond), 1987; **328**: 445
- 2 Dsidon-Behmearas, Tocque b, Rey I *et al.* EMBO J, 1991; **10**: 1111
- 3 Koizumi M, Hayase Y, Iwai S *et al.* Nucleic Res, 1989; **17**: 7059
- 4 Shaoping W, Dan T, Robert S K *et al.* J Cell Bio, 1992; **116**: 187
- 5 孙丛梅, 周爱儒. 全军生长因子研讨会论文摘要集, 1992
- 6 Tom R. J National Cancer Institute, 1992; **84**: 288
- 7 Chavany C, Doan T L, Coucreur P *et al.* Pharmaceutical Res, 1992; **9**: 441
- 8 Dagle J M, Andracki M E, Devine R J *et al.* Nucleic Acids Res, 1991; **19**: 1805
- 9 Helence C, Toulme J J. In: Cohen J S ed, Oligodeoxynucleotides, London: MacMillan Press, 1989: 137—166
- 10 Knorre D G, Viassov V V, Zarytova V F *et al.* In: Cohen J S ed, Oligodeoxynucleotides, London: MacMillan Press, 1989: 173—192
- 11 Rossi J J. Trends Biotechnol, 1990; **8**: 179
- 12 Takasugi M, Guendouz A, Chassignol M *et al.* Proc Natl Acad Sci USA, 1991; **88**: 5602
- 13 许毅, 邓国仁, 梁亚云等. 中国科学 B 集, 1990; **1**: 64

棕色脂肪的产热及其调控机制*

叶祖承 蔡益鹏

(北京大学生物系, 北京 100871)

摘要 棕色脂肪组织是小型哺乳动物重要的兼性产热器官, 位于棕色脂肪细胞线粒体内膜的解偶联蛋白是此种产热机制的关键物质. 产热刺激激活解偶联蛋白构成的质子通道, 在线粒体内膜形成质子短路, 从而解除 ATP 合成偶联对氧化呼吸速率的控制, 使产热高速进行. 去甲肾上腺素、甲状腺激素、胰岛素、pH 值以及食物、环境温度等因素综合调控着棕色脂肪组织的结构与功能状态.

关键词 棕色脂肪组织, 解偶联蛋白, 质子通道, 兼性产热, 去甲肾上腺素

棕色脂肪组织 (brown adipose tissue, BAT) 是个有着百年研究历史的课题. 到 70 年代初, 解剖学与生理学中的大量工作已证实了 BAT 在冬眠动物与新生哺乳动物中的作用^[1]. 后来, Nedergaard 等以显微热量计测定 BAT 细胞悬浮液产热; Foster 与 Frydman 用改进的放射性微球体 (microspheres) 技术研究不同适应状态下 BAT 的血流分配, 二者相近的结果表明 BAT 也是冷适应 (cold adapted) 成年实验动物非战栗产热 (nonshivering thermogenesis, NST) 的主要来源. 随后, 食物诱导性 BAT 产热的发现则进一步说明了 BAT 兼性产热 (facultative thermogenesis) 的重要性^[2]. 近十几年对解偶联蛋白 (uncoupling protein, UCP) 的发

现与研究揭开了 BAT 兼性产热调节的分子机制. BAT 研究现已涉及并深入到生物学及相关学科的许多领域, 它的产热参数如 UCP 量、GDP 结合量、细胞色素氧化酶活性、甲状腺素-5' -脱碘酶活性等已逐渐成为衡量动物能量代谢状况的重要指标.

1 BAT 的特征与产热作用

BAT 见于食虫、食肉、翼手、啮齿、兔形、偶蹄、灵长等目动物, 主要分布在肩胛间、肩胛下、颈部、肾周、胸大动脉和下腔静脉周围,

* 国家自然科学基金资助项目, 39170106.

收稿日期: 1992-12-05, 修回日期: 1993-03-29

其中最常见、研究最多的是肩胛间的 BAT (interscapular BAT, IBAT)。丰富的血红蛋白与细胞色素使 BAT 呈棕褐色, 胞浆中多而小的脂滴使 BAT 又名“多空泡性脂肪组织”, 以区别于胞浆内通常只有一个大脂滴的白色脂肪组织 (white adipose tissue, WAT)^[1]。几乎每个棕色脂肪细胞都直接与毛细血管接触并受到无髓交感神经末梢支配, 胞内线粒体多而大、嵴狭窄而密集, 线粒体内膜上有大量的嘌呤核苷结合位点以及酰基肉毒碱转移酶 (acylcarnitine transferases) 等^[3], 这些特征是 BAT 产热的结构基础。

新生哺乳动物发达的 BAT 是防止体温下降的重要热源^[1], 冬眠动物的 BAT 终生存在, 在冬眠季节尤其发达。Nedergaard 等人发现冬眠动物惊醒过程中 WAT 并未减少, 而从 BAT 释放的脂肪完全氧化放出的热量足以复温动物^[4]。NST 期间, BAT 的脂肪分解量大大超过其自身氧化所消耗的量, 血浆中的脂肪酸浓度可超过 1.5mmol/L, 这些脂肪酸大部分在 BAT 以外被利用而间接产热。有资料表明, 高浓度脂肪酸对不含 UCP 的肝脏、肌肉等组织也有刺激呼吸和轻度解偶联作用^[5]。大多数冬眠动物 BAT 的脂肪储量有限, 在生理性饥饿的冬眠季节中, BAT 所消耗的脂类主要由丰富的 WAT 周期性地补充^[4]。

在温暖环境中生活的成年小型哺乳动物的 BAT 产热并不显著, 而在冷环境中适应几周后, BAT 的产热能力可提高几倍到十几倍。Foster 等测得冷适应大鼠的 BAT 产热可占注射去甲肾上腺素 (norepinephrine, NE) 引起 NST 的 60%, 而早年低估为 5%—15%^[2]。Heldmaier 等人从大鼠、小鼠、仓鼠得到的综合实验结果认为, BAT 产热约占 NST 的 20%—70%, 其中温适应动物为 20%—30%, 冷适应动物为 50%—70%^[5]。冷适应动物热暴露后, BAT 产热量又下降。

如上所述, BAT 的产热能力可随抵御寒冷的需要而调节。研究还发现, BAT 产热对于调节能量摄入与消耗间的平衡也有重要作用。以

丰富的食物喂养 (cafeterial fed) 大鼠, 几周后, 大鼠体重增长远不及营养摄入量的增加, 而 BAT 的体积与产热能力都提高了几倍, 这种食物诱导的 BAT 产热增强与冷适应引起的变化很相似。以增强 BAT 产热功能来加剧能量耗费有助于防止动物体重过大, 与之相反, 禁食动物以及妊娠、哺乳期动物的 BAT 萎缩, 产热能力低下^[2]。现已证实 BAT 产热功能过低是动物过度肥胖症 (obesity) 的重要原因。而大鼠由于长期完全剥夺睡眠造成 BAT 产热过于旺盛, 尽管摄入的营养多于正常动物却仍极度消瘦^[6]。

2 解偶联蛋白与 BAT 产热

在一般细胞, 底物氧化释放能量、经电子传递链泵出质子形成跨线粒体内膜的 H^+ 梯度, 再由 F_0-F_1 ATP 合成酶将 H^+ 导回基质并将其化学渗透能转移到 ATP 中。由于 ATP 的合成受可利用的 ADP 与 P_i 的浓度限制, 而 ADP 主要来自 ATP 的水解, 因而线粒体呼吸速率受到 ATP 合成速率及由组织需能状况决定的 ATP 转化率的双重限制^[2]。初入冷环境的动物靠增强 Na^+-K^+ 泵、 Ca^{2+} 循环等消耗 ATP 的 NST, 以及加速 ATP 分解的战栗产热等共同来维持体温, 冷适应后战栗产热停止, NST 主要由增强了的 BAT 产热来提供^[5]。

大多数动物 BAT 线粒体的 F_0-F_1 ATP 合成酶的活性与数量都较低, 甚至仅及心肌的 10%, ATP 转化产热量不大, 以哇巴因 (ouabain) 处理使 BAT 产热减少约 10%。BAT 线粒体呼吸链的组成成分及对呼吸抑制剂的敏感性与常规线粒体一样^[2], 近年对辅酶 Q 与细胞色素 C 氧化酶的研究较多。BAT 细胞未受到产热刺激时, 跨内膜的 H^+ 梯度正常地用于 ATP 合成, 但速率较低。如果脱开限速的 ATP 合成而进入解偶联状态, BAT 线粒体的呼吸速率及相应的产热将随即提高。研究发现, 人工解偶联剂、高浓度的游离脂肪酸 (free fatty acids, FFA) 或过量 Ca^{2+} 负荷都能增加线粒体膜的质子通透性。但要作为 BAT 正常状态下

的产热机制,解偶联要有可调控的、足以说明BAT产热特色的结构基础.系列实验表明位于线粒体内膜外表面的嘌呤核苷结合位点有这些功能,它是一种分子量为32 000的蛋白质,存在于各种动物的BAT中并具有很强的组织特异性,它的含量随动物冷、温适应状态的改变而增减^[2].

这种线粒体核苷结合蛋白自被发现以来有过许多名称,如“GDP结合蛋白”、“解偶联蛋白”、“32K蛋白”、“产热素(thermogenin)”等,各自反映了它的一些特征.现在通用“uncoupling protein”,而从事冬眠研究的学者常用“thermogenin”以强调其产热作用.UCP约占线粒体内膜蛋白总量的6%—14%^[2]、细胞总蛋白量的1%^[15].仓鼠的UCP共有306个氨基酸残基,由三个相似区域组成,每个区域含有二个跨膜 α 螺旋结构.UCP的三级结构还不很清楚,已知它与ATP/ADP载体等相似,它们的蛋白序列有很强的同源性,可能由同一段跨膜序列复制成三份后各自进化而来.不同种动物的UCP及其前体的分子量大小不完全一样,氨基酸序列也有较大差异^[7].

将纯化的UCP重组于脂质体膜以研究其通道性能是近年常用的方法,多数实验证实UCP的 H^+ 通道可被嘌呤核苷抑制而由脂肪酸激活,但Kartiyar等认为脂酰CoA酯与GDP竞争结合UCP上的同一个位点,脂肪酸则作用于另一位点^[8].Malan以一定比例的FFA/清蛋白溶液模拟在体状况,发现GDP与FFA间的相互作用是非竞争性的,FFA只能增加已打开的UCP通道的质子通透性.他由实验结果推测GDP与 H^+ 对UCP的结合是同时的、相互协同的,核苷浓度与pH值的共同作用可能是控制UCP质子通道的关键^[9].此外,Jezeq等发现重组于脂质体膜的UCP还具有导通 Cl^- 及其它一些单价阴离子的能力,GDP对它的抑制不能被脂肪酸解除,这种导通性的意义尚不清楚.作用于UCP的各种因子如脂肪酸,脂酰CoA酯,GDP, H^+ 及阴离子等相互之间的复杂关系还有待进一步研究^[10].

UCP的数量标志着BAT的产热能力.冷暴露等适宜刺激可很快使UCP的mRNA增加几倍,翻译出的UCP由胞浆进入线粒体,未发现有可切下的信号肽在起作用.Casteilla等将大鼠UCP的cDNA转入中国仓鼠卵巢细胞获得稳定表达,发现UCP定位于线粒体膜并使之产生解偶联呼吸;加入GDP后引起复偶联,显著降低了的线粒体膜电位也得到恢复^[11],这表明将UCP单独插入普通线粒体即足以引发解偶联呼吸,说明UCP是BAT解偶联呼吸产热的核心因素.

3 解偶联呼吸的产生过程

众多实验表明,BAT的产热活动受中枢神经系统、尤其是下丘脑神经核团的控制.Amir等向下丘脑腹内侧核(VMN)或室旁核(PVN)微量注射兴奋性谷氨酸,引起剂量依赖性的IBAT升温,用交感阻断剂chlorisondamine chloride或心得安(propranolol)预先处理可抑制此效应,提示NE参与将中枢产热指令传给BAT的过程,并且主要经 β 型受体起作用^[12].在外周,交感神经直接支配BAT的脂肪细胞与血管,由 α 、 β 肾上腺能途径共同引发BAT的产热反应.

NE作用于BAT细胞膜的 α 、 β 受体,产生多相的膜电位变化,这些电位变化主要反映 Na^+ 内流与 K^+ 外流.胞内 Na^+ 与胞外 K^+ 的增加促使 Na^+-K^+ 泵活动加强,产生一小部分热. Na^+ 内流触发胞内 Ca^{2+} 释放(丰富的线粒体是BAT主要的胞内 Ca^{2+} 库),使胞浆游离 Ca^{2+} 浓度从约200nmol/L上升到1.5 μ mol/L. Ca^{2+} 直接作用或者通过钙调素作用于一些胞内过程,如调节鸟嘌呤核苷环化酶及线粒体甘油-3-磷酸脱氢酶的活性,后者参与控制脂肪酸的去向是被氧化还是被酯化^[13].此外,NE激活 α_2 肾上腺能受体,增强 Na^+-H^+ 交换,可使每百万个BAT细胞每分钟泵出胞外的 H^+ 数由7.06nmol提高到22.8nmol,从而升高胞内pH值,Malan认为这有利于GDP脱离UCP以激活解偶联^[9].冬眠动物激醒初期体温未上升,强

有力的呼吸造成过量换气, 可使动脉血的 CO_2 分压降低一半以促进 BAT 的胞内碱化。

β 肾腺能途径是 NE 刺激 BAT 产热的关键, 每个 BAT 细胞有几万个 β_1 型受体, 仅需激活一部分即可引起最大的反应. NE 与 β_1 型受体结合激活腺苷酸环化酶产生 cAMP, 从而激活 cAMP 依赖性的蛋白激酶, 后者使对激素敏感的脂酶 (hormone-sensitive lipase) 磷酸化, 从而催化甘油三酯水解为甘油和脂肪酸. 脂肪酸又被生成酰基 CoA, 再以酰基肉毒碱形式转运进线粒体基质, 经 β -氧化后进入三羧酸循环. 因 ATP 合成偶联限制着线粒体的呼吸速率, 氧化底物的生成多于消耗. 脂肪酸等积累到一定浓度将解除核苷对 UCP 质子通道的结合抑制, 使线粒体进入解偶联呼吸状态, 底物氧化、产热速率剧增, 达到 BAT 产热的激发状态^[2].

4 甲状腺激素及其脱碘酶与 BAT 关系

甲状腺激素可提高绝大多数组织的耗氧量, 增加产热. 一般认为这是 T_4 , T_3 刺激基因转录作用, 影响一些线粒体呼吸成分的含量和活性, 以及促进 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶合成, 增加用于 Na^+ 循环的能量消耗, 从而以专性产热 (obligatory thermogenesis) 的增强来提高代谢率. 近来有资料表明, 甲状腺激素在 NST 中的作用, 尤其对于冷环境中的小型哺乳动物, 主要是影响 BAT 产热能力, 低甲状腺激素动物不能适应冷环境的主因是这种兼性产热能力过低^[14]. 正常大鼠 4°C 冷暴露或以 NE 处理, 2h 内, BAT 中 UCP 的 mRNA 丰度即可增加 2—3 倍; 同样的处理对甲状腺激素水平过低的动物几乎无效, 若给予 T_3 补偿, 出现的 UCP 表达增加与 T_3 的剂量相关. 同样, 切除支配一侧 IBAT 的神经后, 给予 NE 可以恢复该侧出现下降的 UCP mRNA 水平. 由此可见, UCP 的最有效表达需要 NE 与 T_3 共同参与. Bianco 等认为, 刺激 UCP 基因转录的基本信号是 NE 依赖性的, 它单独刺激的作用有限, 而 T_3 -核受体复合体与由 NE 引发的信号在基因水平的相互

作用则可放大 NE 的刺激效果, 使转录速率提高 10 倍以上^[15].

1983 年, Silva 等人发现 BAT 中有很高的脱碘酶活性, 它属于低 K_m 值、对于抗甲状腺药 propylthiouracil 相对不敏感的 II 型脱碘酶 (type II 5' -deiodinase, 5' D- I)^[6]. 寒冷刺激经交感神经系统激活 5' D- I, 转化 T_4 产生足够数量的 T_3 , 使 BAT 细胞核中 T_3 受体的结合基本饱和, 以放大 NE 对 UCP 表达的刺激作用. α_1 与 β 肾腺能途径都参与 NE 对 5' D- I 的激活, 过度肥胖症动物的 5' D- I 活性过低可能与 β 肾腺能途径的缺陷有关. 由 BAT 中 5' D- I 产生的 T_3 可优先占据自身细胞核受体, 而且在甲状腺素水平低时, 5' D- I 的活性可随 T_4 浓度降低而调高. 这对尽可能维持正常的 BAT 冷反应产热有适应性意义; 以 α_1 受体阻断剂 prazosin 钝化 NE 对 5' D- I 的激活作用, 可抑制 T_4 引起的产热增加, 此时尽管血浆 T_4 浓度较高, BAT 细胞核中 T_3 水平也能下降 80% 以上^[14]. 相反, 高 T_4 水平可抑制 5' D- I 生成 T_3 . 高 T_4 , T_3 水平并不刺激 BAT 产热, 可能是专性产热的提高降低了对兼性产热的需要^[17]. 此外, BAT 中 5' D- I 生成的 T_3 也会有部分进入血浆而参与全身性作用, 人与动物出生前后发达的 BAT 的 5' D- I 作用尤其引人注目.

5 BAT 的增补与影响因素

BAT 的增补 (recruitment) 是个提高产热能力的过程, 主要包括细胞增殖、分化、线粒体生成与 UCP 表达的增加. 在动物冷适应和出生前后 BAT 成熟过程的不同阶段, 以及食物诱导的 BAT 产热增强中, BAT 增补的主要表现各有特色.

哺乳动物冷适应必须有完整的交感神经支配. NE 是调控 BAT 增补的最重要激素, 它主要通过 β 型受体发挥作用. 支配 BAT 的一些神经还含有 P 物质、降钙素基因相关肽及神经肽 Y, 可能是 BAT 正常生长所需. 胰岛素的产热调节作用复杂, 兼有中枢与外周调节, 并主要通过激活交感神经系统来刺激产热. 胰岛素为

BAT 脂肪酸合成所必需. 糖尿病动物不出现食物诱导性产热, 低温耐受力与 NE 刺激的产热也明显不足, 依剂量补偿胰岛素可使 UCP 量、GDP 结合量、细胞色素氧化酶活性等正常化, 高胰岛素水平还可增加线粒体数目, 从而提高 BAT 的 UCP 总量^[17]. 短日照通过松果体分泌褪黑激素以促进 BAT 增补. 妊娠动物的高催乳激素水平则使 BAT 功能减退. 其它垂体激素也间接参与调控 BAT 产热能力^[2].

在自然环境中, 食物、温度、光照的季节性变化综合影响着动物的状态. 冬眠动物是典型的例子, 进入冬眠季节前, 它们的 WAT 储量猛增, BAT 也得到相应增补, 但产热却不活跃, 这种能量消耗的减少有利于肥育, 尚不太低的环境温度也还不需要 BAT 增加产热. 低交感神经活动及由此而来的 UCP 遮蔽 (masking) 现象与此有关. 在冬眠动物的入眠期与深眠期, 产热抑制尤其明显; 开始觉醒时, 交感神经末稍分泌的 NE 可很快逆转 BAT 的产热抑制. 研究发现, 将动物冷暴露, BAT 的 GDP 结合量很快上升, 而显著的 UCP 增多则要冷适应几周后才出现, 提示冷暴露可能打开了 (unmasking) 被遮蔽的 UCP 潜在的 GDP 结合位点^[3].

参 考 文 献

- 1 Smith R E, Horwitz B A. *Physiol Rev*, 1969; **49**: 330
- 2 Nicholls D G, Locke R M. *Physiol Rev*, 1984; **64**: 1
- 3 Cannon B, Nedergaard J, Romert L *et al.* In: Wang L C

- H *et al.* eds. *Strategies in cold: Natural torpidity and thermogenesis*, New York: Academic Press, 1978: 567
- 4 Nedergaard J, Carneheim C, Alexson J *et al.* In: Malan A *et al.* eds. *Living in the Cold I*, Paris: Colloques INSERM/John Libbey Eurotext Ltd, 1989: 387
- 5 Heldmaier G, Klaus S, Wiesinger H *et al.* In: Malan A *et al.* eds. *Living in the Cold I*, Paris: Colloques INSERM/John Libbey Eurotext Ltd, 1989: 347
- 6 Stefano B, Bernard M, Bergmann *et al.* *Endocrinology*, 1990; **127**: 882
- 7 Miroux, Bruno, Casteilla L *et al.* *J Biol Chem*, 1992; **267** (19): 13603
- 8 Kartiyar S S, Shrago E. *Biochem Biophys Res Commun*, 1991; **175**: 1104
- 9 Malan A. In: Malan A *et al.* eds. *Living in the Cold I*, Paris: Colloques INSERM/John Libbey Eurotext Ltd, 1989: 333
- 10 Jezek P, Orosz D E, Garlid K D. *J Biol Chem*, 1990; **265** (31): 19296
- 11 Casteilla L, Blondel O, Klaus S. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989; **87**: 5154
- 12 Amir, Shimon. *Brain Res*, 1990; **511** (2): 341
- 13 Nedergaard J, Mohell N, Nanberg E *et al.* In: Heller H C *et al.* eds. *Living in the Cold: Physiological and biochemical adaptations*, New York: Elsevier Science Publishing Co. Inc., 1986: 83
- 14 Carvalho S D, Kimura E T, Bianco A C *et al.* *Endocrinology*, 1991; **128** (4): 2149
- 15 Bianco A C, Sheng X Y, Silva J E. *J Biol Chem*, 1988; **263** (34): 18168
- 16 Abelenda M, Puerta M L. *Horm Metab Res*, 1992; **24** (2): 60
- 17 Geloën A, Trayhurn P. *Am J Physiol*, 1990; **258** (2): R418

单克隆抗体生产的新时代

张志文 邹长江

(北京医科大学生理教研室, 北京 100083)

摘要 由 fd 噬菌体与质粒重组载体噬菌粒 (phagemid) 构建大容量, 高效筛选的表面表达抗体基因片段文库, 经突变、模仿体内 B 细胞亲和力成熟过程 (affinity maturation) 以免疫亲和层析筛选高亲和

DNA double helix, antisense inhibit translation or transcription. Both strategies can be applied to control the expression of oncogenes and growth factors in tumor cells. Here, the application of antisense was reviewed in cancer research briefly. a. Inhibition of oncogene and growth factor expression to suggest their function in tumor cells. b. Discrimination between proto-oncogene and activated oncogene. c. Problems and approaches in antisense gene therapy.

Key words antisense, oligodeoxynucleotide, tumor

Thermogenesis in Brown Adipose Tissue and Its Regulation. Ye Zucheng, Cai Yipeng. (Dept. of Biology, Peking University, Beijing 100871). *Prog. Biochem. Biophys. (China)*, 1994; 21 (2): 135

Brown adipose tissue (BAT) is a kind of facultative-thermogenic organ, especially important in small mammals. The key element in BAT heat production is the uncoupling protein (UCP), a unique protein located in the inner membrane of BAT mitochondria. Thermogenic stimulation of this tissue opens the UCP's proton channel, results in a proton short-circuit, thus bypasses the relatively small amount of ATP synthetase present in BAT mitochondria resulting in a severalfold accelerated oxidative metabolism. The structural and functional state of BAT is regulated by many factors, such as norepinephrine, thyroid hormone, insulin, pH, and food, environmental temperature etc.

Key words brown adipose tissue, uncoupling protein, proton channel, facultative thermogenesis, norepinephrine

A New Era in Production of Monoclonal Antibodies. Zhang Zhiwen, Zou Changjiang. (De-

partment of physiology, Beijing Medical University, Beijing 100083). *Prog. Biochem. Biophys. (China)*, 1994; 21 (2): 139

Construction of complex antibody libraries that expressed soluble antibody fragments on the surface of fd-phagemid with high screening efficiency subjected to rounds of *in vitro* mutations. The individual antibody gene can then be affinity matured by emulating the process that occurs in B-cells *in vivo*. The affinity matured antibody fragments are selected for their ability to bind antigen after phage recovery. This novel recombinant DNA methods may replace the technology of using mice and hybridoma for the selection and production of antibodies.

Key words antibody fragment, surface display vector, affinity maturation

A Current Break Through Electrophoresis Technique with Supermost Resolution: Immobilized pH Gradients Isoelectrofocusing. Guo Yaojun, Guo Qiang. (Institute of Biophysics, CAS, Beijing 100101). *Prog. Biochem. Biophys. (China)*, 1994; 21 (2): 143

The mentioned immobilized pH gradients isoelectrofocusing is a electrophoresis technique developed in 80' s. An approximate linear pH gradient is generated by titrating weak acidic and basic acrylamide derivatives which then covalent bound into the polyacrylamide matrix. The pH gradient is stable and independent of electric field fluctuation. The present method provides higher resolution and larger loading capacity comparing with conventional carrier ampholyte isoelectrofocusing. It can analyse and purify protein with only minor *pI* difference.

Key words isoelectrofocusing (IEF), immobilized pH gradient (IPG), carrier ampholyte