

immobilize polyphenol oxidases. The results of experiment showed that the method was practicle. Optimum pH of the immobilization polyphenol oxidases was 6.64 and 7.17. The effect of the temperature on UTR- Cu^{2+} -enzyme was discussed. Michaelis constant was determined and compared

with the free enzyme. It was suggested that the polyphenol oxidases was immobilized by coordination bond, and the model of immobilization enzyme with UTR- Cu^{2+} was proposed.

Key words coordination polymer, polyphenol oxidases, immobilization

经验介绍

DNA 银染的清除与重染

陈涛 刘欣 曹海燕 解用虹

(天津医科大学生物化学教研室, 天津 300070)

聚丙烯酰胺凝胶电泳因其操作简便, 分辨率高, 重复性好等优点在生物大分子的分离, 提取和鉴定等方面得到广泛的应用, 它已经成为开展分子生物学研究必不可少的技术方法. 显示聚丙烯酰胺凝胶电泳中核酸的方法主要有溴化乙锭 (EB) 染色和硝酸银染色. 硝酸银染色因其灵敏度高, 无致癌毒性, 同时也消除了观测时紫外线对眼睛的伤害, 因此而被更多的研究人员所采用.

许多因素可以影响染色显像的成败与优劣, 如胶的厚度, 试剂的浓度, 冲洗次数和反应温度, 特别是终止时间的掌握等. 染色背景过深和显像不理想是几乎所有研究人员都曾有的经历, 这种情况对初学者就更为常见.

不理想或失败的银染有无挽救的可能呢? 这一问题的答案决定于两个方面, 一是不理想的显像能否有效清除; 二是清洗过的凝胶中的 DNA 是否丢失. 如未丢失, 能否重新染色并获得满意的效果.

我们采用了若干方法来解决第一个问题, 较为理想的方法是将银染不满意或失败的凝胶置于

10% ~ 15% 的硝酸溶液中并轻微振摇, 褪色时间随胶的厚度和原染色的深浅程度而有所不同, 振摇和换液有助于加快褪色, 一般 0.5 ~ 2 h 均能达到完全清除的目的. 解决第二个问题的途径是用原方法重新染色, 但应分析先前染色失败的原因并做必要的改进, 如果背景过深可适当降低反应温度, 延长漂洗时间及适当提前终止时间等等, 一般均能获得较好的染色效果. 如果仍不理想, 还可重复上述清除与重染的过程. 我们曾有意识地将染色满意和不理想的凝胶分别用硝酸褪色, 然后对其进行重新染色, 最终均能获得满意的结果. 这种清除与重染的过程曾重复高达三次, 所得的染色图谱与原较理想的染色结果相比, 均未发现有任何差别.

这些结果说明凝胶中的 DNA 与 Ag^+ 的结合是可逆的, 其染色可被硝酸溶液完全清除, 而且用硝酸脱色凝胶中的 DNA 并未造成其明显丢失, 脱银的 DNA 仍可与银染试剂重新反应并有可能获得满意的结果.