



一个多用途的垂直升降电泳装置

何全品 林斯骏

(中国科学院上海细胞生物学研究所)

O'Farrell^[1]在1975年发表双向电泳法,它的第一向是细长圆柱状凝胶等电点聚焦电泳,第二向为板状十二烷基硫酸钠(SDS)凝胶电泳。由于该法分离蛋白质能力强,分辨率高,重复性好,又有极为清晰的图谱,因此近年来发展较快,目前已成为生化分离、分析和制备的手段之一。

双向电泳中第二向竖板电泳槽,那种普通使用的单边的,固定式结构的电泳装置,不能满足多样性的要求。因此,我们在Reid和Bielecki^[2], O'Farrell^[1]以及藤田忍^[3]等人设计电泳槽的基础上加以改进,现将试制的结果分述如下:

一、结 构

垂直升降电泳槽由顶盖、上槽、下槽、电极和冷却部分组成(图1, 2)。

1. 顶盖 屋顶式, 128×130×20毫米, 盖于上槽上方, 防止电泳过程中灰尘和其他杂物落入槽内, 影响实验。

2. 上槽 128×116×64毫米, 是活动槽, 通过固定于下槽两侧的柱子, 可调节槽的高低, 调节范围约250毫米。

3. 下槽 180×158×66毫米(或180×164×150毫米, 冷却时用), 槽底部设有两条薄片, 平行于白金丝的两侧, 使电极缓冲液中电场均一, 又可防止因白金丝通电后产生的气

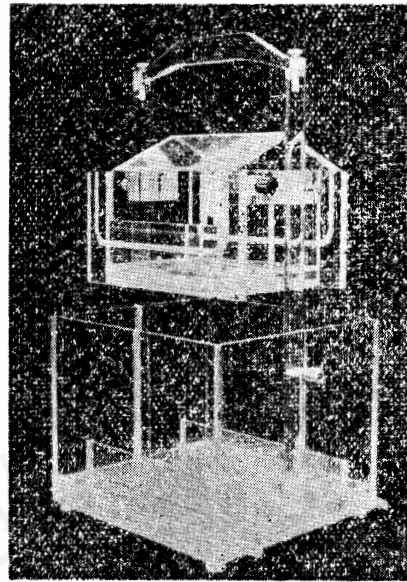


图1 垂直升降电泳槽

泡进入凝胶板的底部。该槽两侧分别竖立着一根长约312毫米, 直径为15毫米的圆柱, 作为上槽的支撑及其升降的轨道。

4. 电极 用白金丝铺设于上、下槽底部的中央, 它的一端连接于电极插座, 使用时接上电源即可。

5. 冷却部分 上、下槽底部分别增设一个冷却室。冷却水进入上层冷却室后流入下层冷却室, 吸收电极溶液中热量后从排水孔排出。为了使常用的凝胶板冷却, 一般把下槽容量增大, 电极液浸没凝胶板。上槽底部紧贴下槽电极液表面。

参 考 文 献

- [1] Ford, C. E. et al., 1956. *Stain Technology*, 31:6.
[2] Festenstein, H 1968. *Lancet* 1:182.
[3] Clement, B. S. et al., 1976. *Acta*

Cytologica. 20:390—393.

- [4] Prasad, N et al., 1970. *Acta Cytologica*. 14:523.
[5] 江苏新医学院七〇九科研组, 1977, 科研资料选编(1) 134—140.
[6] 吴祖泽编著, 1978, 造血细胞动力学概论, 科学出版社,

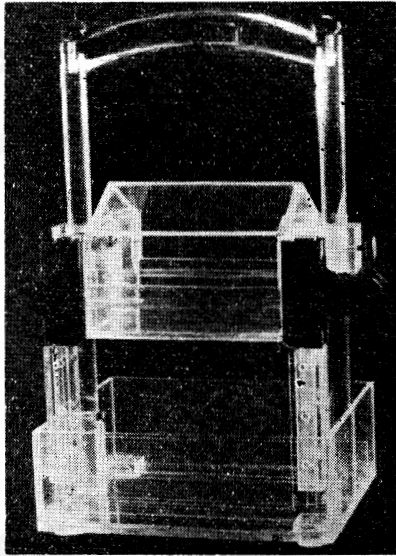


图2 竖板电泳装置

6. 盘状电泳装置 (图3) 在上槽底部可加工两排孔洞, 孔径为12毫米, 每排有六个孔洞, 以备作盘状电泳或双向电泳中的第一向电泳之用。

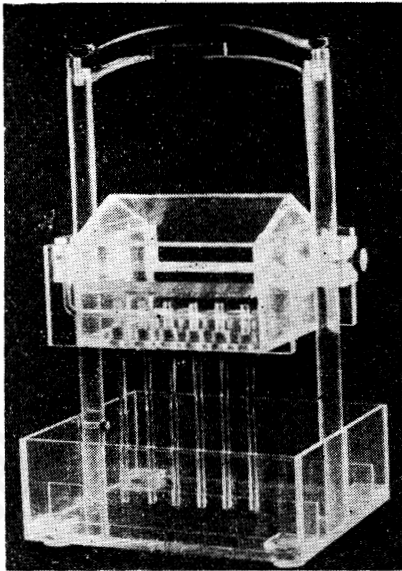


图3 盘状电泳装置

二、附件

1. 支架 平板为 300×250 毫米, 平板下方装有三个调节螺丝, 调节平板面呈水平状态; 平板的中央设有 $50 \times 50 \times 120$ 毫米垂直于

平板面的方柱。方柱的前、后面有转动旋钮, 可以同时固定两个以上凝胶模框。方柱的左右侧各安装一对锯齿状条片, 作为固定盘状电泳的玻璃管之用。这种架子还可作为一般凝胶电泳的水平铺胶之用。

平板上方可加罩子 $300 \times 250 \times 300$ 毫米, 起防尘保湿作用(图4)。

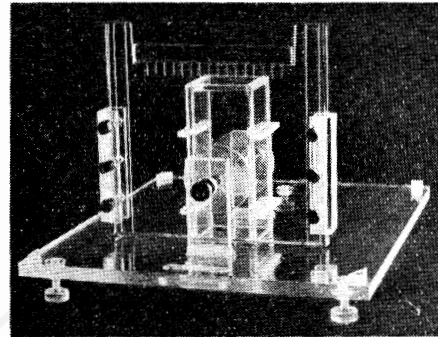


图4 支架

2. 凝胶模框 通常使用由一块方形玻板(164×164 毫米), 另一块同样大小玻板, 其上方为凹状, 两板之间放入四根衬条(玻璃条), 用C字形轧头有机螺丝旋紧, 用橡皮膏密封底部, 即形成模框。在灌胶之前, 为了防止漏胶, 在每侧两条衬条之间的空隙中注入1%琼脂糖溶液(融化状态; 沿衬条边缘注入, 防止气泡发生), 使衬条与玻板面密封。待琼脂糖溶液凝好后, 灌入丙烯酰胺混合溶液, 制成凝胶板。若有特殊要求, 则可通过用不同长度的玻板(包括有凹口的玻板)和不同规格的衬条(宽窄、长短和厚薄)来调节模框的尺寸, 以便制备合适的凝胶板。

3. 样品槽模板 在玻璃凝胶模框里灌满凝胶溶液(分离胶或其上的间隔胶)后, 插入样品槽模板, 待胶聚合后, 拉出模板, 使凝胶的上端呈现孔穴, 可以进行不同样品的比较实验。

三、应用结果

电泳槽加工完成后, 进行如下实验, 观察其使用效果。

1. 均匀凝胶电泳 10%聚丙烯酰胺凝胶。

十二烷基硫酸钠—三羟甲基氨基甲烷—甘氨酸电泳缓冲液。每板电流 20mA。电泳时间为 4—5 小时。样品为大鼠肝及其肝癌 3M 氯化钾提取物。电泳结果如图 5。上述两种提取物图谱不同，条带挺直平整和清晰。

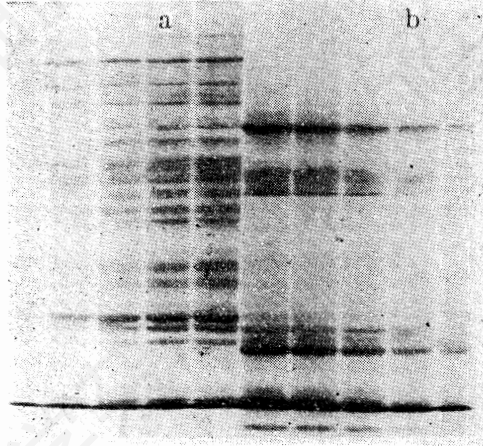


图 5 10% 丙烯酰胺凝胶电泳

- a. 正常大鼠肝 3MKCl 提取物
b. 大鼠肝癌 BERH-2 的 3MKCl 提取物

2. 梯度凝胶电泳 10—15% 丙烯酰胺线性梯度凝胶。电泳条件同 1，样品系高低分子量标准蛋白质，结果如图 6。

a 为低分子量标准蛋白质。c 为高分子量标准蛋白质。b 为 a 和 c 的混合物。图谱表明不同分子量蛋白质，有不同的迁移率。不同种蛋白质能清楚地分开。即使高低分子量蛋白质混合起来，各种蛋白质仍按其迁移率而分开，区带集中而平直。

3. 双向电泳 第一向柱状凝胶等电点聚焦电泳，玻璃管为 2.5×130 毫米。丙烯酰胺浓度为 4%，其中含有 2% 安福林 (Ampholine) 1.6% 为 pH 5—7，0.4% 为 pH 3.5—10)，电极液分别为

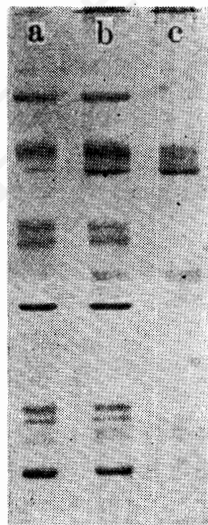


图 6 10—15% 丙烯酰胺线性凝胶电泳

0.02M 氢氧化钠和 0.01 M 磷酸溶液。预电泳 75 分钟，加上林蛙卵的无去污剂的低渗缓冲液提取物后，继续电泳，400V，18 小时。然后调到 800V，1 小时。电泳结束，随即捅出凝胶，经 SDS 样品缓冲液处理 30 分钟后，铺于第二向凝胶上，进行第二向电泳。此向凝胶为 10—15% 的线性梯度胶；SDS-Tris-甘氨酸电极缓冲溶液 pH8.8。每板电流 20mA，电泳 4—5 小时。电泳结果如图 7，蛋白质点子多，散得开，点子清晰。

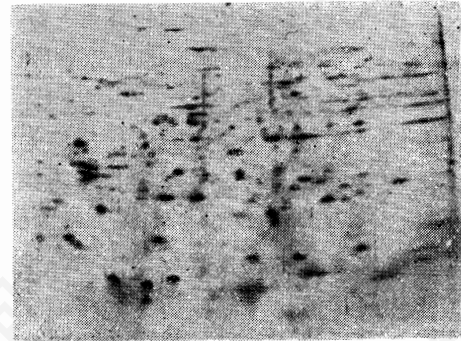


图 7 蛋白质的双向电泳图谱

第一向等电点聚焦凝胶电泳，凝胶浓度为 4%；第二向 SDS-PAEG，凝胶浓度 10—15%，是线性梯度凝胶

四、摘要

本电泳装置经过多次实验，表明仪器性能良好，可满足各种电泳的要求。它具有活动的上槽，能调节上下的距离直至 250 毫米，槽的两侧至少可同时做二块凝胶板，便于比较实验。凝胶板的大小和厚薄可用不同长度的玻板和不同规格的衬条(宽窄、长短、厚薄)来调节凝胶模框。本电泳槽不仅能做单向或双向电泳，还可作盘状电泳。因此是一种多用途的电泳装置。

参考文献

- [1] O'Farrell, P. H., 1975, *J. Biol. Chem.*, 250: 4007—4021.
[2] Reid, M. S. and R. L. Bielecki, 1968, *Anal. Biochem.*, 22: 374—381.
[3] 藤田 忍, 1976, 生化学, 48: 902.