

简单介绍两种简便的微量凝胶电泳方法*

范佩芳

(中国科学院上海细胞生物学研究所)

在不同材料的组蛋白和碱性蛋白的研究中,摸索了二种简便的微量电泳方法。

一、微量圆盘电泳

采用0.1毫升或0.2毫升的移液管作电泳管。把一根移液管截成几段长度相等(每段长45毫米),同一根移液管截成的电泳管标以相同号数,以示内径相同。

灌胶时,不需显微操作器等一些较为复杂的设备。取二根玻璃管,玻璃管的一头拉成小于电泳管内径的毛细管,另一头套上橡皮滴头,其中一根毛细滴管较长作灌胶用。另一根略短作覆盖水或缓冲液用。灌胶前,先将毛细滴管内的胶液挤到毛细管顶端,然后将它慢慢插入电泳管底部,毛细滴管随胶液上升不断上移,直到胶液达到所需高度。再用另一根短的毛细滴管,在胶面上轻轻覆盖一层水或电泳缓冲液,成胶后,用打洞的青霉素瓶橡皮塞固定在圆盘电泳槽内,进行电泳。

为了便于取出凝胶,并能清晰地分出组蛋白各组分,凝胶系统里须含0.37% Triton_x-100^[1,2](图1)。

二、小型垂直板电泳

电泳槽可分成固定式和升降式二种[图2]。

电泳板一般为长80毫米×宽74毫米。它由二块玻璃板和中间凝胶组成。其中一块玻璃板有一个15毫米×50毫米的凹槽。灌胶前,在两块玻璃板之间左右两边各放一条5毫米宽的载玻片作嵌条,电泳板下面先包一层橡皮膏,再包一层牛皮胶纸封住。左右两边玻璃板和嵌条之间用1%琼脂乘热封住,然后灌胶。胶液只需3—4毫升。升降式电泳槽的电泳板可长可短,如用长一点的电泳板,各边再接上一段

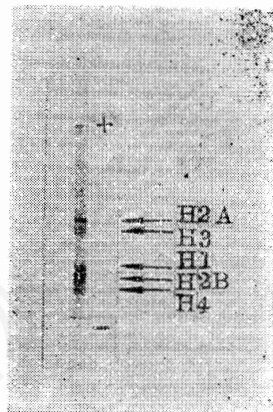


图1 小牛胸腺总组蛋白在15%丙稀酰胺、Triton-醋酸-尿素系统里的微量圆盘电泳图谱
它能清晰地分成五条带

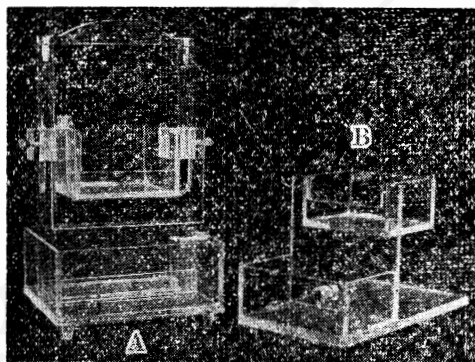


图2 电泳槽

- A. 小型垂直升降式板电泳槽
- B. 小型垂直固定式板电泳槽

载玻片嵌条。加样时,只需在已成胶的胶面上插上几条剖成一半的直径1.5毫米左右的橡皮管(可用自行车上气门芯的橡皮管)。在每二根橡皮管之间加样,电泳和染色后的胶板能干燥制成胶片。把胶板夹在滤纸和玻璃纸之间,放在略大于胶板的一块玻璃上,展平,中间不留汽泡,四周用夹子夹住,自然干燥。通常在

20℃室温下, 24小时左右即能制成干胶片, 其表面光洁, 犹如彩色照片, 可长期保存(图3)。

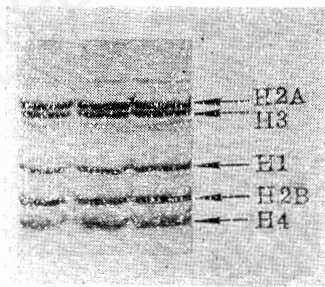


图3 小牛胸腺总组蛋白在15%丙烯酰胺—Triton—醋酸—尿素电泳系统里的小型垂直板电泳图谱

结果与图1一致

上述两种电泳方法, 对于样品量少, 普通电泳很难鉴定的情况下很适用。从制胶到染色结束, 在室温20℃情况下, 一天即可完成。它们都具有所需试剂省、样品量少、电泳时间短、染色快、分色简便、操作方便等优点。微量圆盘电泳采用移液管作电泳管, 基本解决了电泳管内径粗细不均的缺陷。用直接灌胶法也避免了虹吸法灌胶时, 丙烯酰胺溶液污染电泳

管外壁对人体的毒害。小型垂直板电泳, 由于采用很薄的载玻片作嵌条, 其分辨率高, 分离的蛋白带很清晰, 便于不同样品间的比较鉴定, 它也能进行梯度电泳, 同时能方便地制成干胶片作长期保存。

用上述二种方法也可以进行双相凝胶电泳, 亦得到满意结果(图4)。

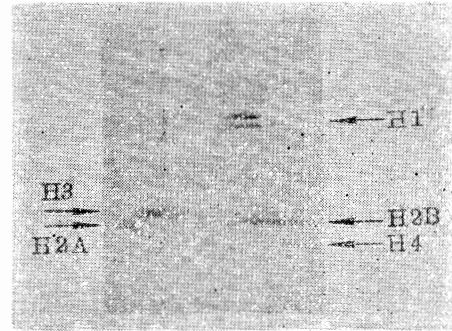


图4 小牛胸腺总组蛋白双相电泳图谱

第一相为 Triton—醋酸—尿素微量圆盘电泳
第二相为 SDS 小型垂直板电泳

* 周维影同志参加技术工作, 特此致谢。

参 考 文 献

- [1] Alfageme, C. R. and Zweidler, A. et al 1974 *J. Biol. Chem.* 249:3729—3736.
- [2] Hamana, K. and Iwai, K. 1976 *J. Biol. Chem.* 79:125—129.

防止超薄切片铅污染的一种方法

黄 福 林

(南京部队总医院电镜室)

采用密封的有机玻璃操作箱, 以广口容器盛钠石灰长期置于操作箱内, 利用钠石灰不断吸收 CO₂ (其吸收 CO₂ 的能力可达钠石灰量的 25%)。造成一个基本无 CO₂ 的环境。铅染色时, 临时打开箱盖, 迅速送入样品, 盖上箱盖。然后通过操作箱上的橡皮手套, 按一般程序进行铅染色。我室 CO₂ 浓度虽比一般环境为高, 利用这种方法, 自 1973 年以来, 很少出现铅污染现象。

钠石灰内加有指示剂, 呈粉红色。色彩消褪表示吸收 CO₂ 能力降低或消失, 此时需要更换新的钠石灰。