

## 静电泳动核酸电泳技术

梁世平 邓红 张世敏

(中国科学院武汉病毒研究所·武汉430071)

### 提 要

本文提出了一种新的核酸电泳技术,即静电泳动核酸电泳技术。这种方法较常规的核酸展层技术操作简便,省工省时,节省试剂,效果令人满意。

**关键词:** 核酸 静电泳动 电泳技术

核酸电泳技术是分子病毒学,分子遗传学以及遗传工程中非常重要的研究手段。迄今为止,在核酸电泳样品制备技术方面已经有了多种成熟的方法。其中包括蛋白质单分子膜技术,采用某些变性剂的方法及无蛋白质展层技术等生物化学方法。

我们根据核酸的分子结构及物理性质,设计了静电泳动制备核酸电泳样品的方案,并且进行了一系列试验,认为这种方法是可行的,且方法简便,经济实用。

## 材 料 与 方 法

### 一、材料及其原理

核酸

柞蚕核型多角体病毒 DNA

松毛虫质型多角体病毒 DNA

核酸溶液 pH 值在大于其等电点 pH 值时 (即  $\text{pH} > \text{pI}$ ), 分子带有大量的负电荷, 在静电场中将沿着电场力的方向泳动。

介质

纯水

电介质在平行板的静电场中, 在电场的作用下, 无极分子的正、负电荷的中心会发生相对的位移, 形成偶极子现象, 正、负电荷中心位移的大小, 或偶极矩的大小与外电场场强成正比。在垂直电场方向的两个面就积累了束缚电荷, 电荷的符号相反, 形成取向极化, 产生净余电矩和面束缚电荷, 对外产生电场作用。纯净的水是非导体, 在静电场的作用下, 则以等效的电偶极子形式出现。

### 二、方法

将核酸样品用纯水稀释为 0.5—1 微克/毫升的水溶液, pH 值为 7—7.5。吸取水溶液悬滴在光滑的蜡板上, 形成每滴 50 微升的半球形液珠。将蜡板移置于 SBC-2 喷镀仪和离子溅射靶和地之间, 即

本文于 1990 年 6 月 22 日收到 8 月 20 日修回

平行板电极间。设上、下平行板间的距离为 $l$ ，板间电压为 $V$ ，加电压作用时间为 $t$ 。分别以三个量中的两个量作为常量，另一个作为变量进行试验：

1.  $l$ 为12mm,  $V$ 为3kv,  $t$ 分别为2', 5', 15'.
2.  $t$ 为5',  $V$ 为3kv,  $l$ 分别为6mm, 12mm, 18mm
3.  $t$ 为5',  $l$ 为12mm,  $V$ 分别为1kv, 2kv, 3kv

经处理后的液珠中带有负电荷的核酸，在外静电场的作用下，向着正束缚电荷的液面泳动，最后到达液珠上表面。去掉静电压，用喷涂过碳膜的Formvar铜网沾取液珠表面核酸，然后乙醇脱水30"， $U_{AC}$ 染色30"，乙醇洗涤，最后进行钨-铀合金旋转投影。JEM-100C电镜观察。（如操作示意图）

## 结果与讨论

电镜观察在静电场下泳动的核酸分子的分布状况。我们可以看到：

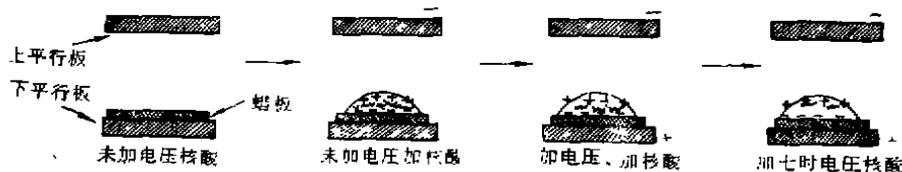
1. 当场距一定 ( $l = 12\text{mm}$ )，静电压一定 ( $V = 3\text{kv}$ )，只改变加静电压时间 $t$ ，在处理2分钟后，核酸分子分布呈簇枝状。处理5分钟后，核酸分子伸展接近自然状态，部分呈直线状。处理15分钟，核酸被全部拉伸开成一条长直线。

2. 当时间一定 ( $t = 5$ 分钟)，静电压一定 ( $V = 3\text{kv}$ )，只改变场距时，在 $l = 6\text{mm}$ 时，核酸分子全呈直线状出现，并且为同一走向的分布。当 $l = 12\text{mm}$ 时，同(1)中处理5分钟所述。当 $l = 18\text{mm}$ 时，大部分的核酸没有分散开，呈超螺旋状分布。

3. 当时间一定 ( $t = 5'$ )，场距一定 ( $l = 12\text{mm}$ )，只改变静电压，在 $V = 1\text{kv}$ 时，核酸的伸展大部分呈自然分布，各个视野中都可以看到如此的结果，而当 $V = 2\text{kv}$ 时，核酸分子的分布较 $V = 1\text{kv}$ 差， $V = 3\text{kv}$ 时的情况如(1)中处理5分钟所述。

从以上结果来看，核酸分子分布出现拉伸呈直线状况，是由于核酸分子经过静电作用后，泳动到了液珠的表面，除了把自身的负电荷与正电荷复合后，还带了大量的正电荷（静余电荷），在缝间形成斥力而拉伸成直线状态。一旦有一部分在一个方向上拉开，那么下一个分子也由于排斥力而在同一个方向上拉伸。而核酸分子分布呈自然状况，可能是因为核酸分子泳到液珠表面时，由于电场的作用比较适时地使其从三维构型转到了弯曲的或一定走向的线状或环状二维构型。因此，我们认为，当电压为1kv，场距为12mm，处理时间为5分钟，应用静电泳动核酸电镜技术进行核酸的制样是最为合适的（如图版Ⅷ1，2为DNA，图版Ⅷ3，4为RNA）。

用静电泳动法制备核酸样品，操作非常简便，不但免去了配制各种试剂的繁琐工



操作示意图

序,而且还节约了试剂,且效果与沿用已久的常规方法所制核酸样品差异不大。因此,我们认为静电泳动核酸电泳技术是一项值得推广的新技术。

### 参 考 文 献

- (1) A.H.克罗默著,1980,《生命科学用物理学》人民卫生出版社 340—346。
- (2) 梁百先等编,1985,《电磁学教程》高等教育出版社 140—156。

## Electrostatic Electrophoresis Electron Microscope Technique for Nucleic Acid

Liang Shi-ping Den Hong Zhang Shi-min

(Wuhan Institute of Virology, Academia Sinica, Wihan 430071)

This paper presents a new technique for nucleic acid electron microscopy, i.e., a technique using electrostatic field to cause electrophoretic motion. With water as mediam, the negatively charged nucleic acid molecules will move along the direction of an electrostatic field of electrode distance 12mm and voltage 1KV. After under the action of this static field for 5 minutes, on the surface of drop, appear natural distributions of two dimensional structure of linear or ring shape. Compared with the routine technique of nucleic acid spreading, the above method is easier to work with, capable of saving more labor and time, ane economizing on reagents. These effects will make the user feel quite satisfactory.

**Key words:** Nucleic acid    Electrostatic electrophoresis    Electron microscope technique