

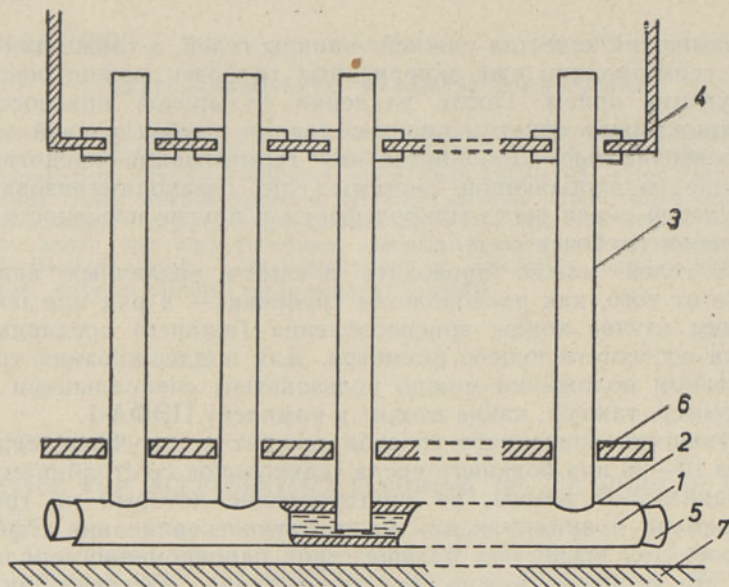
Арво ПОЛОКАЙНЕН

УСКОРЕННЫЙ СПОСОБ ЗАЛИВКИ ЦИЛИНДРИЧЕСКИХ ГЕЛЕЙ

В электрофоретическом анализе в настоящее время наиболее распространена система, в которой разделение происходит в цилиндрических полиакриламидных гелях (Ornstein, 1964; Davies, 1964). Эта система привлекательна прежде всего своей простотой, поскольку практически вся аппаратура, требуемая для ее осуществления, кроме источника питания, легко изготавливается в любой лаборатории. Однако в последнее время на смену цилиндрическим приходят пластинчатые гели, в которых гораздо легче проводить сравнительные исследования смесей биологических макромолекул, хотя для электрофореза в них требуется значительно более сложное оборудование (см., напр., Остерман, 1981). Однако систему электрофореза в цилиндрических гелях ни в коем случае нельзя считать устаревшей, в ряде случаев она просто незаменима, в частности при проведении первого этапа двумерного электрофоретического анализа, при разделении меченых радиоактивными изотопами макромолекулярных смесей с последующим жидкостно-сцинтилляционным подсчетом радиоактивности, содержащейся во фрагментах поперечно разрезанных гелей, а также для точного количественного анализа, включая денситометрирование окрашенных гелей, смесей белков, отличающихся сильным разбросом в концентрациях отдельных компонентов, таких, например, как сыворотка и плазма крови.

Одной из главных причин вытеснения цилиндрических гелей пластинчатыми служит то, что в пластинчатом геле миграция зон анализируемых веществ происходит в одинаковых условиях, в то время как условия разделения в различных цилиндрических гелях могут значительно различаться. Длина пластинчатого геля по всей ширине одинакова, а цилиндрические гели, как бы аккуратно их ни заливали известными способами поштучно, отличаются друг от друга (Маурер, 1971). Это усложняет, а иногда и вовсе исключает возможность проведения сравнительных, прежде всего качественных электрофоретических анализов макромолекулярных смесей в цилиндрических гелях. Кроме того, пластинчатый гель заливается за один прием, на что уходит меньше времени, чем на поштучную заливку цилиндрических гелей для эквивалентного количества анализируемых проб.

Ускорить приготовление серии гельколонок для электрофореза и одновременно получить целую серию гелей одинакового или по крайней мере близкого качества можно путем заполнения трубочек по принципу сообщающихся сосудов, причем сверху на полимеризационную смесь желательного наносится не вода, а какую-либо легкую, не смешивающуюся с водой и с водными растворами жидкость, например, насыщенный водой *n*-бутанол (Neville, 1971) или изобутанол (Barret, Johns, 1973). Для реализации этого принципа предлагается использовать соединительное устройство, например, из тонкостенного прозрачного или полупрозрачного медицинского силиконового шланга с закрытыми концами 1 (рисунок), в котором с одной стороны проделан ряд отверстий 2. В эти отверстия на время заполнения вставляются трубочки 3, одина-



Верхний электродный сосуд электрофорезного аппарата с установленными трубочками и приспособлением для их заполнения. Пояснения см. в тексте.

ково выступающие из поддерживающего устройства 4, например, штатива или верхнего электродного буферного сосуда. Внутренний диаметр силиконового шланга подбирают приблизительно равным внешнему диаметру стеклянных трубочек. Круглые, с ровными краями отверстия в шланге легче всего сделать на сверлильном станке, снабженном хорошо наточенным пробочным сверлом соответствующего диаметра. Очень важно, чтобы края отверстий получились ровными, без трещин и заусенцев, поскольку от этого зависит герметичность соединения трубочек с приспособлением (шлангом). Для обеспечения герметичности соединения, кроме того, необходимо, чтобы диаметр отверстий был приблизительно на 0,5—1 мм меньше диаметра используемых стеклянных трубочек. Оба конца силиконового шланга закрывают пробками 5.

Для заливки полимеризационной смесью вымытые, сухие трубочки устанавливают в верхний электродный сосуд электрофорезного аппарата (или штатив) таким образом, чтобы их нижние концы были на одном уровне. Для фиксации трубочек в вертикальном положении они вставляются в пластину 6 с отверстиями. Затем концы трубочек вставляют в предварительно вымытое и высушенное приспособление. Готовую смесь мономеров вливают в одну из трубочек, при этом одинаковый уровень жидкости устанавливается самопроизвольно во всех трубочках. Приставшие к нижним краям трубочек пузырьки воздуха удаляются гидродинамическими толчками путем массирования соединительного приспособления. Сверху на гелеобразующую смесь в каждую трубочку добавляют по капле насыщенного водой *n*-бутанола и проводят полимеризацию. После окончания полимеризации гелей приспособление (шланг) снимают, предварительно придавив его к трубочкам снизу и разорвав гель, соединяющий содержимое трубочек с содержимым приспособления. Такой способ извлечения трубочек из приспособления позволяет избежать отслоения геля от их стенок. Когда приспособление снято, незатвердевшие мономеры и спирт сливают, поверхность гелей споласкивают буфером. Трубочки с гелями готовы для работы.

Для повышения качества нижней границы гелей, а также для дополнительной герметизации уже заполненных трубочек можно рекомендовать следующий прием. После удаления пузырьков приспособление (шланг) прижимают снизу к нижним концам трубок ровной горизонтальной поверхностью. Дополнительная герметизация предотвращает просачивание из заполненной системы еще незаполимеризовавшейся гелеобразующей смеси через микродефекты и другие неровности в местах соединения трубочек со шлангом.

Заливку гелей можно проводить в самых различных аппаратах независимо от того, как расположены трубочки — в ряд или по кругу. В последнем случае концы приспособления (шланга) соединяют куском трубки соответствующего диаметра. Для поддержания трубочек в вертикальном положении можно пользоваться специальными штативами, например, такими, какие входят в комплект ПЭФА-1.

Эффективность описанного способа состоит в получении серии, состоящей из 10—20 или большего числа гельколонок со столбиками практически одинаковой длины, на приготовление которых не требуется столько времени и внимания как на поштучное заливание. Эффективность способа тем выше, чем больше серия одновременно заполняемых трубочек, что особенно важно при проведении массовых анализов, например, в биохимических или медицинских лабораториях. В то же время благодаря эластичности соединительного шланга его в случае необходимости можно зажать в любом желаемом месте и использовать для заполнения всего лишь нескольких трубочек.

Описанное приспособление может быть с успехом использовано также для заполнения капиллярных трубочек, внутренний диаметр которых меньше 2 мм, так как заливать их обычным способом, сверху, практически невозможно.

Правильное применение описанного способа для заполнения электрофоретических трубочек полимеризационной смесью практически уравнивает возможности цилиндрических и пластинчатых гелей.

ЛИТЕРАТУРА

- Маурер Г. Диск-электрофорез. М., 1971.
- Остерман Л. А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: электрофорез и ультрацентрифугирование. М., 1981.
- Barret, I. D., Johns, E. W. A method for differentiating between arginine-rich histones in polyacrylamide gel. — *J. Chromatogr.*, 1973, 75, 161—164.
- Davies, B. J. Disc electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins. — *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1964, 121, 404—427.
- Ornstein, L. Disc electrophoresis. I. Background and theory. — *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1964, 121, 321—349.
- Neville, D. M., Jr. Molecular weight determination of protein—dodecyl sulfate complexes by gel electrophoresis in discontinuous buffer system. — *J. Biol. Chem.*, 1971, 246, 6328—6334.

*Институт экспериментальной биологии
Академии наук Эстонской ССР*

Поступила в редакцию
2/III 1982

GEELISAMBAKESTE VALAMISE KIIRMOODUS

Kirjeldatud moodusel toimub geelisambakeste valamine polümeriseeruvast segust ühendatud anumate põhimõttel. Lihtne ja kergesti valmistatav seadeldis koosneb läbipaistvast või poolläbipaistvast elastsest voolikust, mille ühele küljele on tehtud rida auke täidetavate torude tarvis. Aukude diameeter on pisut väiksem torude välisläbimõõdust. Vooliku otsad suletakse korgiga. Kogu süsteem täidetakse ühe toru kaudu. Et kõik torud on vooliku kaudu omavahel ühenduses, täituvad nad polümerisatsiooniseguga võrdse kõrguseni. Üksikute torude hermetiseerimiseks on soovitatav suruda torude alumised otsad pärast süsteemi täitmist vastu allolevat voolikut.

DEVICE FOR ACCELERATING FLOODING OF CYLINDRICAL GELS

A quick procedure for serial making of gel columns for electrophoretic analysis is described. The running tubes are filled using the principle of communicated vessels. For this purpose a simple and easily made device of transparent or semi-transparent flexible tubing is used. On the upper side of the tubing there are round holes, the diameters of which are somewhat smaller than those of the glass tubes to be filled; the ends of the flexible tubing are closed with stoppers. The tubes are put into holes of flexible tubing and the whole system is filled with polymerization mixture through one of the tubes. Since the inner cavities of the glass tubes are united with each other, the level of the solution is spontaneously adjusted in all tubes. For additional sealing, the lower ends of the glass tubes are pressed against the flexible tubing lying beneath.