

临床 电泳

■ 主编 康熙雄



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

临床电泳

主 编：康熙雄

编 者：（以姓氏笔画为序）

王 平（北京市海淀区医院）

王 蓓（首都医科大学）

王雅杰（首都医科大学附属北京天坛医院）

张国军（首都医科大学）

李振荣（北京大学第三医院）

陈肖燕（浙江大学医学院附属邵逸夫医院）

赵玉平（北京协和医学院血液学研究所血液病医院）

赵 昕（北京医院）

姚宏静（北京协和医学院血液学研究所血液病医院）

贾 玫（北京大学人民医院）

康熙雄（首都医科大学附属北京天坛医院）

董一红（首都医科大学附属北京天坛医院）

编写秘书 董一红（首都医科大学附属北京天坛医院）



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

图书在版编目 (CIP) 数据

临床电泳 / 康熙雄主编. — 北京: 人民卫生出版社,
2006. 12

ISBN 7-117-08188-0

I . 临… II . 康… III . 电泳—临床应用

IV . R313

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2006) 第 137785 号

临 床 电 泳

主 编: 康熙雄

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010-67616688)

地 址: 北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

邮 编: 100078

网 址: <http://www.pmph.com>

E-mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-67605754 010-65264830

印 刷: 三河市富华印刷包装有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 20.75

字 数: 492 千字

版 次: 2006 年 12 月第 1 版 2006 年 12 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 7-117-08188-0/R·8189

定 价: 50.00 元

版权所有, 侵权必究, 打击盗版举报电话: 010-87613394

(凡属印装质量问题请与本社销售部联系退换)

序 言

在分析化学、生化检验领域高新技术日新月异的今天，传统的电泳技术以其方便、实用的特点，在医学实验技术领域中依然散发着无可替代的独特魅力。自第一台电泳仪器诞生起，电泳技术就真正登上了历史舞台。20 世纪 70 年代后，丰富多彩的电泳形式使其应用范围不断扩大，现已广泛应用于蛋白质、核酸、酶、病毒、细胞以及其他小分子物质的分离、分析与研究。随着电泳技术的不断成熟，仪器的不断更新，电泳技术在临床中的应用也得到了进一步的发展。

康熙雄教授在他从事检验医学三十多年的工作中积累了大量的实践经验和深厚的理论功底。为了促进电泳技术在临床工作中的广泛应用，康教授带领一批工作在第一线的专家和青年骨干以严谨求实的作风，与时俱进的理念，撰写了《临床电泳》一书。

本书结合国内外文献，全面介绍了电泳技术的基本原理、操作方法，重点介绍了电泳技术在临床工作中的具体应用，将基础理论、实验方法和临床应用三者紧密相联系，充分体现理论联系实际、实际联系临床，理论为实验服务、实验为临床服务的原则。相信此书的出版不仅为电泳技术在临床中的推广应用做出贡献，而且将为基础医学研究者、检验工作者及临床医生提供有力帮助。

饶子和 院士

二〇〇六年十一月

前言

1937年瑞典学者 Tiselius 建立了“移界电泳法”，开创了电泳技术的新纪元，Tiselius 也因其在电泳技术方面的卓越成就于1948年获得诺贝尔奖。近年来随着电泳技术的崛起和发展，该领域的新技术、新方法和实用技术不断涌现，并逐渐应用于科研和临床。

为了促进电泳技术的普及和应用，提高电泳技术实验室检测和临床运用水平；为了方便临床工作者更好的理解临床电泳检查与疾病的关系，正确评价、分析检测结果，从而做到合理、科学的为广大患者选择该检验项目，准确地发挥电泳技术在临床中的作用，我们参考大量的国内外文献资料并结合多年的工作经验，编写了这本名为《临床电泳》一书。本书旨在反映目前临床电泳的高新技术，注重电泳技术的临床应用，因而适用于广大医疗工作者。

全书分为三篇，共十九章。主要内容包括电泳技术的基础知识、基本原理；各种电泳技术的相关介绍及目前常用电泳仪器的介绍；电泳技术在临床中的应用。在整个篇章的安排上突出了技术方法和临床应用的比重，辅以基础理论与研究进展的介绍。本书重点突出“临床应用”，介绍了临床常用的血清蛋白电泳、尿蛋白电泳、脂蛋白电泳、同工酶电泳、免疫固定电泳、血红蛋白电泳及脑脊液蛋白电泳，涵盖了大量的临床电泳图谱，图文并茂，生动易懂，力求在反映电泳各项技术特点的基础上，使该技术充分服务于临床，最终达到不仅为基础医学工作者提供技术支持、指导，同时也为临床医生更好的判定临床电泳结果，指导疾病诊疗提供有力帮助。

由于电泳技术发展日新月异，故临床应用前景广阔，限于作者的水平，恐难跟上该领域的最新进展，疏漏不当之处在所难免，恳请读者提出宝贵的意见和建议。

康熙雄

二〇〇六年十一月

目 录

第一篇 电泳技术的基础知识

第一章 电泳技术的概述	3
第一节 电泳技术的发展历史	3
第二节 电泳技术的分类	4
第二章 电泳技术的基本原理	7
第三章 影响电泳迁移率的因素	9
第一节 pH 在缓冲系统中的作用	9
第二节 溶液离子强度的影响	10
第三节 电场强度的影响	11
第四节 电渗现象的影响	11
第五节 电泳时生热问题	12

第二篇 常用电泳技术

第一章 醋酸纤维素薄膜电泳	15
第一节 分离原理	15
第二节 电泳技术	16
第三节 其他醋酸纤维素薄膜电泳技术介绍	22
第四节 操作注意事项	27
第二章 琼脂和琼脂糖凝胶电泳	29
第一节 分离原理	29
第二节 电泳技术	30
第三节 DNA 琼脂糖凝胶电泳分离测定原理	30

第四节	琼脂和琼脂糖免疫电泳·····	34
第三章	等电聚焦电泳·····	44
第一节	分离原理·····	44
第二节	电泳技术·····	45
第三节	操作注意事项·····	56
第四节	实践应用·····	57
第四章	聚丙烯酰胺凝胶电泳·····	64
第一节	分离原理·····	64
第二节	圆盘型聚丙烯酰胺凝胶电泳·····	67
第三节	平板型聚丙烯酰胺凝胶电泳·····	75
第四节	聚丙烯酰胺凝胶电泳异常现象的可能原因及对策·····	77
第五节	实践应用·····	78
第五章	双向电泳·····	84
第一节	概述·····	85
第二节	分离原理·····	87
第三节	操作方法·····	89
第四节	实践应用·····	99
第六章	免疫固定电泳·····	114
第一节	分离原理·····	115
第二节	操作方法·····	115
第三节	操作注意事项·····	116
第四节	实践应用·····	117
第七章	毛细管电泳·····	122
第一节	概述·····	122
第二节	分离原理·····	123
第三节	毛细管电泳的主要分离模式·····	124
第四节	毛细管电泳仪·····	130
第五节	实践应用·····	138
第六节	毛细管电泳技术展望·····	140
第八章	其他电泳·····	142
第一节	纸电泳·····	142
第二节	淀粉凝胶电泳·····	142
第三节	等速电泳·····	143

第四节	单细胞凝胶电泳·····	144
第五节	脉冲场凝胶电泳·····	145
第六节	显微细胞电泳·····	146
第九章	常用电泳仪器简介·····	149
第一节	电泳仪概述·····	149
第二节	法国 Sebia 公司电泳系统介绍·····	151
第三节	美国 Helena 公司电泳系统介绍·····	153
第四节	意大利 Interlab 全自动电泳系统介绍·····	157
第五节	日本常光公司全自动电泳系统介绍·····	160
第六节	小结·····	162
 第三篇 电泳技术在临床中的应用 		
第一章	血清蛋白电泳·····	165
第一节	血清蛋白电泳技术介绍·····	165
一、	血清蛋白的醋酸纤维素薄膜电泳技术·····	166
二、	血清蛋白的琼脂糖凝胶电泳技术·····	167
第二节	血清蛋白电泳测定的基础知识·····	167
一、	血清蛋白电泳简介·····	167
二、	血清蛋白电泳的标本·····	168
三、	生理因素对血清蛋白电泳的影响·····	168
第三节	正常血清蛋白电泳图谱的特征·····	169
第四节	异常血清蛋白电泳图谱特征及相关疾病·····	171
一、	低蛋白血症型·····	172
二、	急性炎症或急性时相反应症型·····	174
三、	慢性炎症型·····	174
四、	肾病型·····	175
五、	肝硬化型·····	176
六、	弥漫性肝损害型·····	176
七、	弥漫性宽 γ 球蛋白血症型·····	177
八、	M 蛋白血症型·····	178
九、	高 $\alpha_2(\beta)$ 球蛋白血症型·····	181
十、	妊娠型(高 α 型)·····	182
十一、	蛋白质缺陷型·····	183
第五节	血清蛋白电泳新进展·····	184
第二章	尿蛋白电泳·····	187
第一节	概述·····	187

一、蛋白尿形成机制	188
二、蛋白尿分类	189
第二节 尿蛋白电泳分类	190
一、醋酸纤维素薄膜电泳	190
二、十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳	190
三、十二烷基硫酸钠-琼脂糖凝胶电泳	192
四、尿蛋白免疫固定电泳	205
第三节 尿蛋白电泳的临床应用	212
一、确定尿蛋白类型	212
二、早期糖尿病性肾病的诊断	212
三、早期高血压肾病的诊断	212
四、慢性肾炎、肾病	213
五、判断肾功能不全	213
六、本-周氏蛋白的过筛和确诊实验	213
第三章 脂蛋白电泳	215
第一节 血浆脂蛋白的结构、种类和功能	215
一、血浆脂蛋白的结构	216
二、血浆脂蛋白的种类	216
三、血浆脂蛋白的代谢与功能	218
第二节 血浆脂蛋白的临床意义和测定方法	221
一、血浆脂蛋白的临床意义	221
二、血浆脂蛋白的测定方法	224
第三节 血浆脂蛋白电泳	226
一、血浆脂蛋白电泳分析	226
二、血浆胆固醇电泳分析	236
三、血浆甘油三酯电泳分析	242
四、载脂蛋白成分定性和定量电泳分析	246
第四节 脂蛋白电泳的现状与进展	250
第四章 同工酶电泳	256
第一节 同工酶的概念	256
第二节 同工酶的测定方法	257
一、电泳法	257
二、层析法	258
三、免疫分析方法	258
四、电化学发光法	258
五、动力学分析法	258
第三节 肌酸激酶同工酶的测定	259

一、概述	259
二、琼脂糖电泳测定法	260
三、临床意义	262
第四节 乳酸脱氢酶同工酶的测定	265
一、概述	265
二、醋酸纤维素薄膜电泳测定法	265
三、临床意义	267
第五节 碱性磷酸酶同工酶的测定	268
一、醋酸纤维素薄膜电泳测定法	268
二、临床意义	269
第六节 γ -谷氨酰基转移酶同工酶的测定	270
一、琼脂糖电泳法测定	270
二、临床意义	271
第七节 淀粉酶同工酶的测定	271
一、琼脂糖电泳法测定	271
二、临床意义	272
第八节 谷草转氨酶同工酶的测定	272
一、醋酸纤维素薄膜电泳测定法	273
二、临床意义	273
第九节 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶同工酶的测定	274
一、聚丙烯酰胺凝胶电泳测定法	274
二、临床意义	275
第十节 其他同工酶的测定及临床意义	275
一、酸性磷酸酶的测定及临床意义	275
二、酮酸激酶的测定及临床意义	276
三、糖原磷酸化酶 BB 的测定及临床意义	276
第五章 临床免疫固定电泳	278
第一节 免疫固定电泳简介	278
一、免疫固定电泳原理	278
二、免疫固定电泳的方法	278
三、标本的采集、处理及保存	279
第二节 正常免疫固定电泳图谱特征	279
一、免疫球蛋白简介	279
二、正常免疫球蛋白的免疫固定电泳图谱特征	282
第三节 异常免疫固定电泳图谱特征及相关疾病	282
一、多发性骨髓瘤	283
二、巨球蛋白血症	286
三、重链病	287

四、淀粉样变性	288
五、良性单克隆免疫球蛋白血症	289
六、多克隆免疫球蛋白病	290
第四节 免疫固定电泳的临床应用及展望	290
第六章 血红蛋白电泳	292
第一节 血红蛋白的结构和功能	292
一、血红素的结构	292
二、血红蛋白的结构	293
三、血红蛋白的功能	293
第二节 正常人体血红蛋白组成	294
第三节 血红蛋白病	295
一、地中海贫血	295
二、异常血红蛋白病	298
第四节 血红蛋白电泳	300
一、醋酸纤维素薄膜电泳	301
二、枸橼酸-琼脂糖凝胶电泳	301
三、珠蛋白链电泳	302
四、血红蛋白 A ₂ 电泳	302
五、胎儿血红蛋白电泳	303
第五节 血红蛋白电泳图谱特征及相关疾病	303
一、以醋酸纤维素薄膜为介质的血红蛋白电泳图谱	303
二、血红蛋白电泳仪	311
第七章 脑脊液的寡克隆电泳检测	314
第一节 概述	314
第二节 血脑屏障状态的评价	315
第三节 脑脊液蛋白的电泳检测	315
一、脑脊液寡克隆区带与多发性硬化	316
二、常规脑脊液寡克隆区带电泳	317
三、等电聚焦脑脊液寡克隆区带电泳	319
第四节 小结	322

第一篇

电泳技术的基础知识

临床电泳

电泳技术的概述

带电质点在电场中向与其电性方向相反的电极泳动的现象,称为电泳 (electrophoresis, EP) 或离子泳 (ionophoresis)。电泳技术是分析化学、生化检验领域常用的分析技术之一。很多生物学上的可移动大分子,如氨基酸、多肽、蛋白质及核酸等,都具有可电离的基团,因此在具有一定 pH 值的溶液中,能够形成带电荷的阳离子和阴离子,通过电泳方法可以将处于同一体系中的不同组分分开。电泳的形式很多,项目也很多,都是根据电泳的基本原理设计的。掌握电泳的基本原理对掌握每一项具体的电泳技术大为有利,在实际工作中,电泳的操作和电泳的定性、定量分析技术是分离分析技术中的一种重要手段。

第一节 电泳技术的发展历史

1808 年俄国科学家赖斯 (Reis) 在潮湿的泥土中插入二玻璃管,并在玻璃管内放入少量的沙子和适量的水,同时在玻璃管内插入电极 (图 1-1-1),通电后,发现悬浮泥粒和水在电场中发生相对移动。这种在电场中液体内的悬浮的固体颗粒向一定方向移动的现象就是原始的电泳 (electrophoresis) 现象。相反,若固体颗粒不动,而液体定向移动的现象称为电渗 (electroosmosis)。在同一电场中,电泳和电渗往往同时发生。电泳的发现到应用经过了近一百年的历史。当时 (1907 年) 有学者利用这一现象,采用琼脂凝胶做载体进行电泳,研究过白喉毒素的迁移率 (move rate) 和无机离子的移动速度 (move degree)。直到 1937 年狄塞里斯 (Tiselius) 成功的研制了界面电泳,它是在一 U 型管内自由溶液中进行的,仪器复杂昂贵,曾应用于正常人血清蛋白的分离,获得白蛋白 (albumin)、 α_1 球蛋白 (α_1 -globulin)、

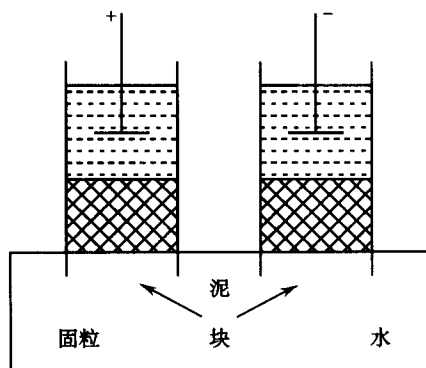


图 1-1-1 рейс 电渗电泳实验

α_2 球蛋白 (α_2 -globulin)、 β 球蛋白 (β - globulin)、 γ 球蛋白 (γ - globulin) 等五种成分, 分离结果并予以命名, 至今仍被人们所公认。随后, Wieland 和 K'anig 等于 1948 年采用滤纸条作载体, 成功的进行了纸上电泳。从那时起, 电泳技术逐渐被人们所接受并予以重视, 继而发展为以滤纸、各种纤维素粉、淀粉凝胶、琼脂或琼脂糖凝胶、醋酸纤维素薄膜、聚丙烯酰胺凝胶、葡聚糖凝胶为载体; 有平槽、圆槽、方槽、长槽、管型、板型等多种电泳装置; 更新了连续和不连续缓冲系与载体离子浓度, 采用高压电位分离多种氨基酸和核苷; 利用琼脂的特性, 将免疫反应与电扩散技术相结合, 成为多种

样品适用的免疫电泳技术。

各种电泳技术的发挥, 实际上是对氨基酸质点和蛋白质电解行为的一种应用。因此, 电泳技术不但应用于生物基础理论的实验研究和工农业生物电制备, 而且大量适用于临床疾病诊断和疗效观察。如血红蛋白 (Hb) 的分子遗传病的研究、微生物的探索、氨基酸和肽链的鉴别、核酸的纯化与结构基因 (gene) 定位分析、血脂分型、冠心病临床诊断、血清中蛋白质多聚体的分离、酶和激素的监测和提取等。它既能将混合性生物活性物质予以分离, 又能获得其中的蛋白质、亚基的迁移变化; 既可探明细胞游走时间和规律, 又可以追溯核酸测序中的变位情况等。由于电泳技术不断补充更新, 极大地加速了电泳技术的应用范围, 如毛细管电泳技术 (capillary electrophoresis, CE) 是近几年来分析化学中发展最为迅速的领域之一, 它是指以高压电场为驱动力, 以毛细管为分离通道, 根据样品中各组分之间迁移速度和分配行为上的差异而实现分离的一类液相分离技术。广泛用于离子型生物大分子, 如氨基酸、肽、蛋白质及核酸等的快速分析, 以及 DNA 序列和 DNA 合成中产物纯度测定等, 甚至可用于单个细胞和病毒的分析, 如在缓冲液中加入表面活性剂则可用于分离中性化合物。

电泳技术的不断发展必将为生物学、细胞生物学、生物化学、分子生物学、分子遗传学、免疫化学、临床化学、病毒学、微生物学、动植物学、法医学等学科的发展与研究, 做出重要贡献。

第二节 电泳技术的分类

一、按分离的原理分类

电泳按其分离的原理不同可以分为以下几类 (如图 1-1-2):

1. 区带电泳 不同的离子在均一的缓冲体系(或称载体电解质)中分离成独立的区带, 并用染色的方法可以区分开来, 如果用光密度计扫描可以分离出一个个独立的峰。区带电泳随时间的延长和距离加大而扩散严重, 影响分辨率。加入不同的介质可减少扩散, 特别

是在凝胶中进行，它兼具分子筛的作用，分辨率大大提高，是目前使用最多的电泳技术。

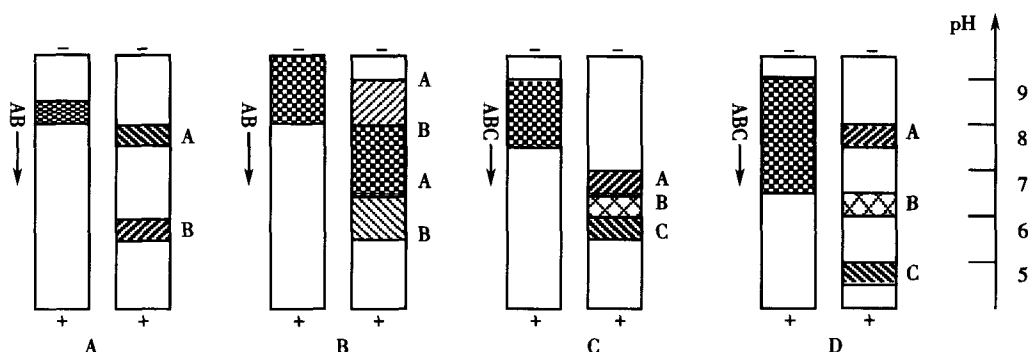


图 1-1-2 不同电泳法的分离原理示意图

A. 区带电泳；B. 移动界面电泳；C. 等速电泳；D. 等电聚焦电泳

2. 移界电泳 它只能起到部分分离的作用，如将浓度对距离作图，则得到一组台阶状的图形。最前面的成分有部分纯的，其他部分都有重叠。各界面可用光学方法显示，这就是 Tiselius 最早建立的电泳方法。

3. 等速电泳 在电泳达到平衡后，各区带依次相随，分成清晰的界面，以等速移动。按浓度与距离作图也是台阶状，区带没有重叠，而是分别保持。

4. 等电聚焦电泳 从分离的图形上来看像区带电泳，但原理不同。它是由多种带有等电点的载体两性电解质在电场中自动形成的 pH 梯度，被分离的组分分别移动到其相应等电点而形成狭小的区带，分辨率很高。

二、按有无固体支持物分类

从电泳使用支持物与否的角度来看，电泳可分为两大类，即无支持物的自由界面电泳或称移界电泳（moving boundary electrophoresis）和使用支持物的区带电泳（zone electrophoresis）。

1. 自由界面电泳除溶液外无其他支持物，在外电场作用下的离子或带电胶体粒子在溶液中定向泳动。不同组分由于泳动速度不同而彼此分开，分离情况可由溶液折光率的改变显示出来。自由界面电泳又可分为：①显微镜电泳（也称细胞电泳）即在显微镜下直接观察细胞的电泳行为。②移界电泳。③柱电泳：用密度梯度保持分离区带不再混合，再配以 pH 梯度则称为等电聚焦。④自由流动幕电泳：这是一种制备用的连续电泳装置，溶液自上流下形成一层薄的液膜，两个电极与液流方向垂直加在液膜的左右两边，被分离的物质经电泳分离后，由下面分管收集。⑤等速电泳。

2. 区带电泳又称电色谱法，是在固体或半固体支持物上进行电泳，电泳过程可以是连续的也可以分批的。常用的支持物有滤纸、醋酸纤维、淀粉、淀粉凝胶、琼脂、琼脂糖、聚丙烯酰胺等。仪器可以使用小的湿室、垂直或水平的槽、柱、毛细管，也可以使用幕，如滤纸连续电泳用的纸幕；此外，还可以配合免疫扩散，称为免疫电泳；使用多孔的凝胶，起到分子筛的作用，称为凝胶电泳；配合 pH 梯度的等电聚焦以及使用

高压的高压电泳等。

三、综合分类

以上的分类使有些电泳没有适当的位置，较全面的考虑各种因素，可以得到更系统的电泳分类，如表 1-1-1。

表 1-1-1 电泳的分类

电 泳 名 称	
1. 热对流控制	
A. 泳动槽形状	
(1) 矩形	移界电泳 (moving boundary EP)
(2) 毛细管	毛细管电泳 (capillary EP)
(3) 薄层	连续自由幕电泳 (continuous free flow EP)
B. 支持物	
(1) 海绵、玻璃珠、淀粉粒	区带电泳 (zone EP)
(2) 滤纸	滤纸电泳 (paper EP)
(3) 醋酸纤维素膜	醋酸纤维薄膜电泳 (cellulose acetate film EP)
2. 阻力控制	
A. 溶液黏度	
(1) 甘油、蔗糖、尿素、甲基纤维素等	
(2) 浓度变化	密度梯度电泳 (density gradient EP)
B. 凝胶	
(1) 琼脂或琼脂糖	琼脂 (糖) 凝胶电泳 (agar(ose) gel EP)
	免疫电泳 (immuno EP)
(2) 淀粉	淀粉凝胶电泳 (starch gel EP)
(3) 聚丙烯酰胺	聚丙烯酰胺电泳 (PAGE)
(4) 不连续凝胶	盘状电泳 (dise EP)
(5) 梯度孔径凝胶	梯度凝胶电泳 (gradient gel EP)
3. 驱动电力控制	
A. 均一电压	
(1) 低电压 (2 ~ 10V/cm)	低压电泳 (low voltage EP)
(2) 高电压 (50 ~ 200V/cm)	高压电泳 (high voltage EP)
(3) 超高电压 (100 ~ 1500V/cm)	
B. 不均一电压	
(1) pH 梯度	等电聚焦 (electrofocussing)
(2) 不连续离子强度	等速电泳 (isotachopheresis)

(王 蓓 张国华)