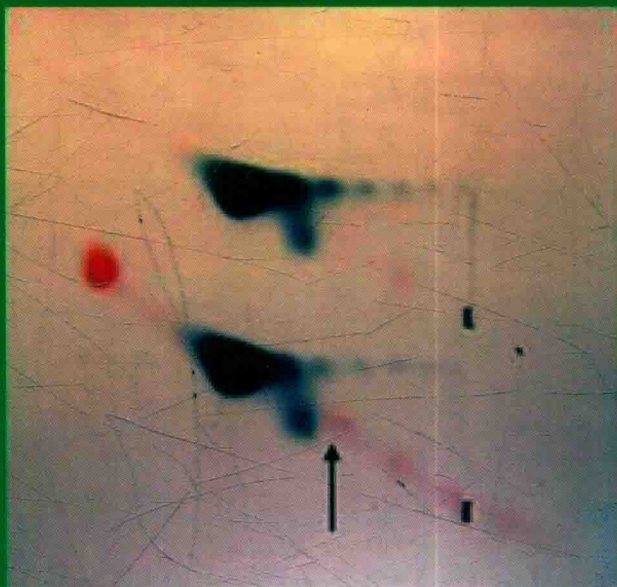


淀粉-琼脂糖凝胶释放电泳 ——发现和研究

Starch-agarose Gel Release Electrophoresis
——Discovery and Research

秦文斌 著

Author Qin Wenbin



科学出版社

淀粉-琼脂糖凝胶释放电泳

——发现和研究的

Starch-agarose Gel Release Electrophoresis

——Discovery and Research

秦文斌 著

Author Qin Wenbin

科学出版社

北京

内 容 简 介

本书的主要内容：一是在基础理论方面，发现红细胞内各种蛋白质的两种存在状态：①红细胞内 HbA₂ 与 HbA₁ 结合存在，还有 PRX₂（过氧化物还原酶 2）参与；②红细胞内 HbA₁ 与 CA₁（碳酸酐酶 1）结合存在。二是在临床实践方面，发现各种疾病释放情况不同：①溶血性疾病时全血 HbA₂ 现象消失；②地中海贫血时，全血再释放增强；③球形红细胞增多症时，释放现象消失，而且红细胞内没有 HbA₃；④糖尿病时，血糖浓度与全血的多带再释放相关；⑤阻塞性黄疸时，红细胞和全血再释放都增强；⑥溶血性黄疸时，红细胞和全血再释放都减弱；⑦肝细胞性黄疸时，位于二者之间，红细胞再释放减弱、全血再释放增强。

本书可作为生物专业及医学相关专业研究人员的参考用书。

图书在版编目(CIP)数据

淀粉-琼脂糖凝胶释放电泳：发现和研究 / 秦文斌著. —北京：科学出版社，2018.8

ISBN 978-7-03-058338-3

I. ①淀… II. ①秦… III. ①电泳-应用-琼脂-淀粉制品-研究
IV. ①TQ151.7

中国版本图书馆 CIP 数据核字（2018）第 165284 号

责任编辑：周 园 / 责任校对：郭瑞芝
责任印制：张欣秀 / 封面设计：陈 敬

科学出版社出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码：100717

http://www.sciencep.com

北京虎彩文化传播有限公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2018 年 8 月第 一 版 开本：787×1092 1/16

2018 年 8 月第一次印刷 印张：28 3/4

字数：720 000

定价：298.00 元

（如有印装质量问题，我社负责调换）

著者简介

秦文斌，男，1928年生，沈阳人，1953年毕业于中国医科大学研究生班，后留校任助教，1956年支援边疆来到内蒙古，扎根边疆。目前虽已离休，但仍在做实验研究，继续写书和发表文章。著者长期从事血红蛋白研究，1978年参加第一届全国科学大会，获先进个人奖（相当于全国劳动模范待遇）。1984年出版《血红蛋白病》；2015年出版专著《红细胞内血红蛋白的电泳释放——发现和研究》；2016年出版专著《基因诊断多重PCR和通用引物PCR》；



2017年再出版专著《无氧条件下红细胞内血红蛋白的电泳释放——发现和研究》。此次出版的《淀粉-琼脂糖凝胶释放电泳——发现和研究》，是著者的终身之作。

1981年著者开始淀粉-琼脂糖凝胶释放电泳研究，时至今日已经过去30多年。在这漫长的岁月里，著者做过成千上万次电泳实验，积累下许多经验和教训，发现这种凝胶电泳具备很多优点。第一，电泳释放作用，将完整红细胞或全血加入凝胶进行电泳，发现从红细胞释放出来一些“特殊的血红蛋白”，即初释放血红蛋白类和再释放血红蛋白类。第二，这种电泳还发现血红蛋白的相互作用，包括交叉互作和混合互作。第三，它能由红细胞分离和准备各种血红蛋白等，用于进一步分析。第四，进一步分析中，最明显的例子就是用来做质谱分析，从而进入著者提出的“电泳释放蛋白质组学”，它与经典蛋白质组学不同，是对由细胞释放出来的蛋白质进行的蛋白质组学研究。

总之，著者创建的淀粉-琼脂糖凝胶释放电泳，在基础理论和临床应用两方面都有许多新发现。

第一，在基础理论方面，发现红细胞内各种血红蛋白等的不同存在状态：①红细胞内HbA₂与HbA₁结合存在，还有PRX₂（过氧化物还原酶2）参与，它们又与红细胞膜疏松结合；②红细胞内HbA₁与CA₁（碳酸酐酶1）结合存在，它们又与红细胞膜牢固结合。第二，在临床应用方面发现：①全血HbA₂现象，有助于了解溶血性疾病的存在；②地中海贫血时，全血再释放增强；③球形红细胞增多症时，其红细胞内快泳血红蛋白消失；④糖尿病时，血糖浓度与全血的多带再释放相关；⑤阻塞性黄疸时，红细胞和全血再释放都增强；⑥溶血性黄疸时，红细胞和全血再释放都减弱；⑦肝细胞性黄疸时，位于二者之间，红细胞再释放减弱、全血再释放增强。

著者认为，科研无止境，永远在路上。

主要参与者

多年来和我一起做过实验的人们（包括家人和好友）（按姓氏汉语拼音排列）

白桂兰	白利平	白秀梅	宝勿仁	曹国栋	车桂花	常建萍	常江	陈宁	陈德喜
陈启明	陈晓东	陈言东	崔丽霞	崔珊娜	党彤	丁国平	丁海麦	丁海涛	丁慧荣
丁晓岭	董乐乐	董艳丽	窦君	杜茂林	额尔登	冯慧琼	付建刚	高敏	高阳
高桂英	高丽君	高雅琼	高永生	高长青	葛华	郭俊	郭春林	郭晓玲	韩丽红
韩丽莎	韩明友	郝吉林	郝亚胜	郝艳梅	何海英	何培生	和姬苓	和彦苓	贺其图
洪高明	侯安国	胡凤英	华淋	华伟	黄颖	霍建新	霍秀丽	贾粉	贾恭
贾璐	贾春梅	贾存德	贾国荣	贾尼娅	贾瑞平	贾彦彬	姜慧荣	姜素媛	焦健霞
焦玲君	焦勇钢	金树琦	经鑫爱	居红格	睢天林	康耀霞	孔凡青	寇晓丽	李斌
李贵	李静	李莉	李琴	李薇	李鑫	李喆	李成义	李豪侠	李嘉欣
李金萍	李俊峰	李丕宇	李晓红	李晓晶	李月春	李增艳	梁彩云	梁友珍	林爱卿
刘芬	刘佳	刘健	刘丽	刘睿	刘丽萍	刘素梅	刘文学	龙桂芳	卢艳
卢文英	吕莲英	马强	马登峰	马宏杰	孟俊	孟祥军	孟云清	孟云霞	那日苏
南蕾	潘桂兰	裴娟慧	奇那顺	乔姝	秦浩	秦然	秦良光	秦良伟	秦良谊
秦佩媛	秦艳晶	秦玉珍	尚忠义	邵国	申玲	沈靖	沈木生	石继海	石瑞丽
史平	斯琴	宋芳	宋瑞琪	宋玉娥	苏燕	苏丽娅	孙刚	孙桥	孙洪英
孙丽蓉	孙小荣	折志刚	腾喻	田伟	田春燕	田慧芳	田园青	田志华	王程
王辉	王琪	王燕	王英	王步云	王彩丽	王翠峰	王大光	王海龙	王建勋
王媚媚	王秋风	王树平	王小利	王晓明	王晓平	王兴业	王秀娜	王迎新	王颖慧
王宇晗	王玉珍	王云丹	王占黎	魏枫	魏春华	乌兰	吴涤	吴刚	吴丽娥
武莎莎	席海燕	谢基明	辛佳音	邢娟	邢少姬	邢晓雁	熊睿	徐春秋	徐春忠
徐秀菊	闫斌	闫宇	闫春华	闫国珍	闫巧梅	闫少春	闫秀兰	杨静	杨森
杨颖	杨国安	杨文杰	杨艳红	杨占君	姚莉萍	尹卫东	于玲	于慧	于昌连
袁桂梅	袁晓俊	岳秀兰	张坤	张敏	张园	张爱萍	张春阳	张宏旺	张宏伟
张建国	张晶晶	张巨峰	张利荣	张茂林	张素英	张向今	张秀兰	张学明	张永红
张永强	张咏梅	张友良	赵敏	赵明清	赵淑梅	赵喜君	郑玉云	周成江	周家瑛
周俊红	周立社	朱王亮	朱秀珍	卓纳					

特此致谢：睢天林、岳秀兰和周立社等在早期实验中贡献明显；高丽君、韩丽红、高雅琼、宝勿仁等在后来实验中贡献明显。其中，高丽君的贡献是多方面的，除了在实验中，在制图、协助写书、排版、校对等方面亦贡献明显；苏燕在发表 SCI 文章方面贡献明显，高雅琼也逐渐开始发表 SCI 文章；周立社在出版和发放书籍方面贡献明显；邵国将分子进化概念引入血红蛋白研究；王占黎、于慧从生物信息学角度加强了血红蛋白研究。还有国内的折志刚、邢晓雁、白利平、王玉珍、王程、李琴、王大光、丁海涛等，国外的曹国栋、陈德喜、李金萍、武莎莎（医生）也都对本书做出了明显贡献。

关于序言的说明

本书是前两本书的集成和发展，故将它们的序言也都放在这里，衷心感谢两位序言作者，并留做永久纪念。第一本书：《红细胞内血红蛋白的电泳释放——发现和研究》2015年由科学出版社出版，由曾溢滔院士作序，有中文和英文两种文字。第二本书：《无氧条件下红细胞内血红蛋白的电泳释放——发现和研究》2017年由科学出版社出版，由广西医科大学龙桂芳教授作序。具体见后。

序 一

秦文斌教授和我是同行，共同研究血红蛋白多年，还一起发表过文章。我国 20 世纪 60 年代曾有一个“血红蛋白协作组”，组长是广西医科大学的梁徐教授（已过世），副组长是我和秦文斌教授。秦教授于 1984 年出版的《血红蛋白病》（人民卫生出版社），我在 2003 年出版的《人类血红蛋白》（科学出版社），医科院基础所张俊武教授和广西医科大学龙桂芳教授于 2003 年出版的《血红蛋白与血红蛋白病》（广西科学技术出版社），这些书全面介绍了国内外血红蛋白研究的新进展。

以上三本书，还有国外出版的许多有关血红蛋白的书籍，其中提到的血红蛋白都是来自红细胞裂解后的“溶血液”。过去认为，红细胞里边的血红蛋白与溶血液中血红蛋白相同，从 1981 年开始，秦教授用完整的红细胞做凝胶电泳，先后发现了血红蛋白的“初释放”和“再释放”现象。“初释放”是指红细胞电泳通电一次由红细胞释放出来的血红蛋白，“再释放”是指通电两次（停电一再通电）由红细胞释放出来的血红蛋白，多次停电一再通电也属于“再释放”。通过一系列实验，秦教授发现红细胞里血红蛋白存在下述许多特殊现象。

秦教授在“初释放”中发现，由红细胞释放出来的血红蛋白与溶血液的血红蛋白不同。在红细胞里的血红蛋白 A_2 是与血红蛋白 A_1 结合存在，刚释放出来时还在一起，随着电泳的进行，血红蛋白 A_1 带着血红蛋白 A_2 往前移动，慢慢分开，出现血红蛋白 A_2 与溶血液血红蛋白 A_2 电泳位置的差异，这就是秦教授所提出的“血红蛋白 A_2 现象”（1981 年）。这一发现，揭示出红细胞的一个奥秘，那就是红细胞内的血红蛋白不是孤立存在，而是彼此依存，相互作用，共同完成运氧等生理功能。

秦教授在“再释放”中观察到，又有血红蛋白由红细胞再释放出来，它不是血红蛋白 A_2 与 A_1 的复合物，而是血红蛋白 A_1 与碳酸酐酶 2 (CA_2) 结合存在，这是秦教授发现的红细胞的又一个奥秘。“再释放”血红蛋白与临床关系密切，不同形态的红细胞（如球形红细胞与靶形红细胞）“再释放”结果互异，中药也能影响“再释放”等，上述现象在秦教授的书里都有详细记载；在 Biji T. Kurien 和 R. Hal Scfield 教授主编的 *Protein Electrophoresis* (Humana Press, 2012) 里也有一章专门介绍秦教授的上述原创工作。

秦教授常说自己是本土科技工作者，我知道，他毕业于中国医科大学（沈阳），支援边疆来到内蒙古包头医学院，就在那里完成了他毕生的血红蛋白研究事业。今年他已经 86 岁，想出此书留给后人，可敬可贺，我祝福他身体健康、安度晚年。

中国工程院院士 
2014 年 6 月于上海

Foreword

Professor Wenbin Qin and I used to work in the same field of hemoglobin research. We studied hemoglobin(Hb) for many years, and published some articles as co-authors. In 1960's, there was a "Hemoglobin Research Group" in our country. The leader of this group was Professor Liang Xu (died) of Guangxi Medical University, the vice leaders of this group were Professor Wenbin Qin and me. In 1984, Professor Qin completed a book Hemoglobin Disease (published by People's Medical Publishing House). In 2003, my book Human Hemoglobin (Science Press), and then Professors Junwu Zhang and Guifang Long's book Hemoglobin and Hemoglobin Disease (Guangxi Science and Technology Press) were also published. In these books the progresses of hemoglobin researches were introduced comprehensively.

Hemoglobin referred in the above three books and the other related books published in other countries are all isolated from hemolysate. In the past, hemoglobin isolated from red blood cells (RBCs) was thought to be identical to that from hemolysate. From 1981, Professor Qin began to utilize RBCs gel electrophoresis, and found the "initial release" and "re-release" phenomenon of hemoglobin. The "initial release" refers to the release of Hb from RBC by continuous electrophoresis without power-off of electricity. The "re-release" refers to the release of Hb by uncontinuous electrophoresis with more than two times of power off electricity. Through a series of experiments, Professor Qin discovered the following findings.

Professor Qin observed that during "initial release", hemoglobin released from RBCs was different from that released from hemolysate. In RBCs, HbA₂ was combined with HbA₁. These two Hbs were firstly released together from the RBCs and then moved forward. However, with the electrophoresis, HbA₂ was separated with HbA₁ gradually, and the band position of RBC HbA₂ was found to be proceeding different from that of hemolysate HbA₂. This was the "Hemoglobin A₂ phenomenon" proposed by Professor Qin in 1981. This finding reveals that hemoglobin does not exist separately in RBCs, they could interact with each other to function physiologically in oxygen transportation.

Professor Qin also found that hemoglobin could be further released from RBCs during "re-release electrophoresis". The re-released Hb is not HbA₂ and HbA₁, but a complex of HbA₁ and carbonic anhydrase₂ (CA₂). This was another important finding by Professor Qin in RBCs. Re-released hemoglobin is closely associated with clinical diseases. Different morphological RBCs (such as spherocytes and target RBCs) have different "re-release" results. Chinese medicine can also affect their "re-release". These above phenomena were wrote in detail in this book, and the original work of Professor Qin was also described in Protein Electrophoresis (Humana Press, 2012) edited by Professors Biji T. Kurien and R. Hal Scfield.

Professor Qin always says that he is a native Chinese scientist. I know that he was graduated from Chinese Medical University (Shenyang), and came to Baotou Medical College, Inner Mongolia for intelligent support. He completed his lifelong hemoglobin research career there. Now, he is eighty-six years old, wrote this book for young researchers. I am honored to write this preface and wish him a healthy and happy life.

Yitao Zeng

Academician of Chinese Academy of Engineering

June 2014, Shanghai

序 二

秦文斌教授是我的同行，共同研究过血红蛋白，寄过血红蛋白病患者血液标本，以配合秦教授的血红蛋白释放研究。我曾是博导，评审博士生毕业论文时，多次请秦教授为评委，帮助完成博士生的论文答辩。

20世纪60年代，中国研究血红蛋白的人很多，比较有影响的带头人是：中国医学科学院的梁植权教授（院士）（已过世），上海儿童医院的曾溢滔教授，包头医学院血红蛋白研究室的秦文斌教授，广西医科大学儿科梁徐教授，（已过世）和我本人。那时候全国有一个血红蛋白科研协作组，组长是梁徐教授，副组长是秦文斌教授和曾溢滔教授。这几位都出过书，秦教授于1984年出版《血红蛋白病》（人民卫生出版社），曾溢滔教授（院士）于2003年出版《人类血红蛋白》（科学出版社），同年，我和医科院基础所的张俊武教授共同出版《血红蛋白与血红蛋白病》（广西科学技术出版社）。2015年，秦文斌教授又出版《红细胞内血红蛋白的电泳释放——发现和研究》（科学出版社），曾溢滔院士作序。

前边那几本书里研究的“血红蛋白”，都是使红细胞溶血，游离出来血红蛋白，研究它的结构及与疾病的关系。秦文斌教授2015年这本书，是用电泳的方法使血红蛋白离开红细胞，看看电泳释放出来的血红蛋白与来自溶血液的血红蛋白有无差异。实验结果显示，红细胞释放出来的血红蛋白与来自溶血液者不尽相同，其中包括“初释放现象”（也称“血红蛋白A₂现象”）和“再释放现象”。A₂现象的核心内容是，红细胞内HbA₂与HbA₁结合存在，而溶血液里二者是彼此分开的。“再释放现象”显示，红细胞内有一部分血红蛋白与细胞膜结合牢固，第二次通电才能释放出来，与多种疾病相关。

以上说的是秦教授2015年出版的书，在本书《无氧条件下红细胞内血红蛋白的电泳释放——发现和研究》中，秦教授想研究镰状细胞贫血患者红细胞的电泳释放，此病多见于美国黑人，在国内未能找到标本。此时，他想到梅花鹿的红细胞也是镰状，决定用它研究。实验过程中，普通电泳看不出梅花鹿红细胞的特点，后来，在凝胶里加入偏重亚硫酸钠，发现多带释放明显增强。将这套办法应用于人体红细胞，又发现一系列新情况。偏重亚硫酸钠还原能力很强，此时血红蛋白处于还原状态和无氧状态，所以称之为“无氧条件下红细胞内血红蛋白的电泳释放”。无氧条件下，人体红细胞的血红蛋白A₂现象消失，红细胞内的血红蛋白的相互作用消失。无氧条件下，红细胞外的血红蛋白之间的交叉互作也消失，当HbA₁穿过HbA₂时，后者不出现应有的区带变形。电泳过程中，无氧条件时血红蛋白区带拐弯，而有氧条件时不拐弯，说明无氧血红蛋白(Hb)与有氧血红蛋白(Hb-4O₂)的电泳行为明显不同。这样，就可以推测出，肺侧（有氧）和组织侧（无氧）红细胞内血红蛋白的存在状态。

科研无止境，永远在路上。秦文斌教授今年已经八十九岁，还在实验研究，还在专心写作，我钦佩他的治学精神，预祝他身体健康，安度晚年。

旭辉芳

2017年4月于广西

前 言

今年我已经 89 岁，虽已离休，但还在做实验研究，继续写书和发表文章。

1984 年我出版了第一本书《血红蛋白病》。离休后 2015 年出版第二本书《红细胞内血红蛋白的电泳释放——发现和研究》。2016 年出版第三本书《基因诊断多重 PCR 和通用引物 PCR》。2017 年出版第四本书《无氧条件下红细胞内血红蛋白的电泳释放——发现和研究》。

现在是第五本书《淀粉-琼脂糖凝胶释放电泳——发现和研究》，也是最后一本，是本人一生的“总结性”著作*。

从 1981 年开始淀粉-琼脂糖凝胶释放电泳研究，时至今日，已经过去 30 多年。在这漫长的岁月里，我做过成千上万次电泳实验，积累下许多经验和教训，发现这种凝胶电泳具备很多优点。

1. 它的电泳释放效果很好，将完整红细胞加入凝胶进行电泳，就能从红细胞释放出来一些“特殊的血红蛋白”，即初释放血红蛋白（也称“血红蛋白 A 型血现象”）和再释放血红蛋白。将全血加入凝胶进行电泳，除“血红蛋白 A₂ 现象”外，还能发现“纤维蛋白原现象”。

2. 利用这种电泳可以研究蛋白质的相互作用，包括交叉互作和非交叉互作（混合互作）。交叉互作是在凝胶中一种血红蛋白穿过另一种血红蛋白时，后者区带变形，说明发生交叉互作，区带不变形为没有发生交叉互作。混合互作是两种成分相继加入凝胶的同一位置，通电后发生互作。

3. 它可由红细胞分离和制备各种血红蛋白，用于进一步分析。进一步分析中，最明显的例子就是与质谱连接，从而进入蛋白质组学研究。但是，这里的蛋白质组学与众不同，它是由我们提出来的，称之为“电泳释放蛋白质组学”，是对由细胞释放出来的蛋白质进行蛋白质组学研究。

归纳起来，创建“淀粉-琼脂糖凝胶释放电泳（简称淀琼电泳）”后的主要收获如下。

1. 在基础理论方面，利用它发现了红细胞内各种血红蛋白的存在状态：①HbA₂ 与 HbA₁ 结合存在，还有 PRX₂（过氧化物还原酶 2）参与；②HbA₁ 与 CA₁（碳酸酐酶 1）结合存在；③这些都是“电泳释放蛋白质组学”的独特成果。

2. 在临床实践方面，利用它发现：①全血 HbA₂ 现象，有助于鉴别溶血性疾病是否存在；②地中海贫血时，全血再释放增强；③球形红细胞增多症时，红细胞内快泳血红蛋白消失；④糖尿病时，血糖浓度与全血的多带再释放相关；⑤阻塞性黄疸时，红细胞和全血再释放都增强；⑥溶血性黄疸时，红细胞和全血再释放都减弱；⑦肝细胞性黄疸时，位于二者之间，红细胞再释放减弱、全血再释放增强。

科研无止境，永远在路上。

秦文斌

2017 年 12 月于鹿城包头

* 本书部分内容为作者在不同时期的论文和作品，有的已公开发表，在编辑形成本书时，为与原文保持一致，部分未进行统一处理，因此存在个别单位、体例等方面的一致。

目 录

第一篇 总 论

前言	1
第一章 淀粉-琼脂糖混合凝胶电泳	5
第一节 基本操作	5
第二节 操作注释	7
第三节 强调“丽春红-联苯胺染色法”	8
第二章 淀粉-琼脂糖凝胶双向对角线释放电泳	10
第三章 初释放电泳 举例	18
第四章 再释放电泳 举例	19
第五章 交叉互作 举例	21
第六章 混合互作 举例	22
第七章 其他细胞 举例	23
第八章 电泳释放蛋白质组学——红细胞初释放电泳释放蛋白质组学 举例	24
第九章 制备电泳举例——人 HbA ₁ 与 HbA ₂ 的交叉互作研究	35
第十章 染色法 举例	36

第二篇 全血释放电泳

第十一章 全血释放电泳概况	37
第十二章 红细胞和全血再释放电泳类型及临床意义	40
第十三章 血浆成分对红细胞释放血红蛋白的影响	55
第十四章 纤维蛋白原现象的发现和研究的	73

第三篇 初释放电泳

前言	80
第十五章 血红蛋白 A ₂ 现象——I. A ₂ 现象的发现及其初步应用	82
第十六章 血红蛋白 A ₂ 现象——II. α 链异常血红蛋白的 A ₂ 现象及其意义	87
第十七章 血红蛋白 A ₂ 现象——III. δ 链异常血红蛋白的 A ₂ 现象及其意义	91
第十八章 红细胞外 HbA ₂ 与 HbA 间的相互作用	95

第十九章 血红蛋白 A₂ 现象发生机制的研究——“红细胞 HbA₂”为 HbA₂ 与 HbA 的结合产物..... 100

第二十章 血红蛋白 A₂ 现象与红细胞膜关系的研究——I. 血红蛋白 A₂ 现象与溶血的关系..... 104

第二十一章 血红蛋白 A₂ 现象与红细胞膜关系的研究——II. 红细胞外血红蛋白与磷脂间的相互作用..... 108

第二十二章 血红蛋白 A₂ 现象异常症(秦氏病)..... 114

第二十三章 初释放研究的国外引用情况..... 118

第四篇 再释放电泳

前言..... 126

第二十四章 血红蛋白释放试验与轻型β-地中海贫血..... 129

第二十五章 不连续通电的红细胞电泳——一种新的血红蛋白释放试验..... 133

第二十六章 普通外科患者血红蛋白释放试验的比较研究..... 138

第二十七章 血糖浓度和血红蛋白释放试验的比较研究..... 143

第二十八章 尿毒症患者低渗血红蛋白释放试验的初步结果..... 146

第二十九章 血红蛋白释放试验与血液流变学检测结果相关性的研究..... 150

第三十章 肝硬化患者血红蛋白释放试验明显异常..... 153

第三十一章 人红细胞电泳中再释放蛋白质的分子互作..... 158

第三十二章 剖宫产前后血红蛋白释放试验的连续观察..... 164

第三十三章 肝内胆管癌与血红蛋白释放试验..... 168

第三十四章 血红蛋白释放试验鉴别黄疸类型的初步研究..... 178

第三十五章 中药穿心莲和当归对小鼠红细胞血红蛋白再释放的影响..... 181

第三十六章 梅花鹿镰状红细胞内血红蛋白的电泳释放..... 186

第三十七章 遗传性球形红细胞增多症患者红细胞内快泳血红蛋白缺失?..... 190

第三十八章 慢阻肺患者红细胞内血红蛋白的电泳再释放——一例报告..... 196

第三十九章 球形红细胞与靶形红细胞电泳释放血红蛋白明显不同..... 199

第四十章 α-地贫与球形红细胞增多症血红蛋白电泳释放的比较研究..... 205

第四十一章 缺氧对小鼠红细胞再释放血红蛋白的影响..... 222

第四十二章 贲门癌与血红蛋白释放试验..... 224

第五篇 交叉互作电泳

前言..... 228

第四十三章 淀粉-琼脂糖混合凝胶交叉互作电泳..... 231

第四十四章 血红蛋白 F 与血红蛋白 A₂ 之间的交叉互作..... 233

第四十五章	血红蛋白 A ₃ 与血红蛋白 A ₂ 之间没有交叉互作	236
第四十六章	大鼠血红蛋白之间的交叉互作——大鼠红细胞结晶的可能机制	239
第四十七章	羊膜动物与非羊膜动物血红蛋白的交叉互作行为不同——脊椎动物 血红蛋白的分子进化	243
第四十八章	几种鱼类血红蛋白不与人血红蛋白相互作用及其进化意义	253
第四十九章	美国锦龟血红蛋白与人血红蛋白相互作用的生物信息学和计算机 模拟研究	258
第五十章	生物信息学方法推测脊椎动物血红蛋白相互作用机制	264
第五十一章	血红蛋白的聚丙烯酰胺凝胶交叉互作电泳	271

第六篇 混合互作电泳

前言		277
第五十二章	蒿甲醚抗疟机制的研究——蒿甲醚与红细胞成分的混合互作	278
第五十三章	青蒿素类药物与一些物质的混合互作——表现为凝集反应	286
第五十四章	偏重亚硫酸钠与红细胞相互作用——将偏重亚硫酸钠加入标本 无氧与 有氧同在一胶板	298
第五十五章	肝素与 DNA 之间的相互作用	301
第五十六章	肝素与染料之间的相互作用——用凝胶电泳发现肝素与染料之间的 相互作用	304
第五十七章	计算机模拟法分析鸡血红蛋白与溴酚蓝特异性互作的结构基础	311

第七篇 其他细胞内成分的电泳释放

前言		319
第五十八章	血小板内成分电泳释放的初步研究	320
第五十九章	粒细胞内蛋白质电泳释放的初步研究	324
第六十章	淋巴细胞内蛋白质电泳释放的初步研究	328
第六十一章	胃癌细胞内蛋白质电泳释放的初步研究	333
第六十二章	小鼠胚胎成纤维细胞内蛋白质电泳释放的初步研究	337
第六十三章	比较几种细胞的释放结果	340

第八篇 电泳释放蛋白质组学

前言		341
第六十四章	红细胞初释放蛋白质组学	342
第六十五章	红细胞再释放蛋白质组学	343
第六十六章	其他细胞电泳释放蛋白质组学展望	344

第一节	血小板电泳释放蛋白质组学展望	344
第二节	粒细胞电泳释放蛋白质组学展望	345
第三节	淋巴细胞电泳释放蛋白质组学展望	346
第四节	胃癌细胞电泳释放蛋白质组学展望	346
第五节	NIH 3T3 电泳释放蛋白质组学展望	347

第九篇 制备电泳

前言	348	
第六十七章	制备电泳通则	350
第六十八章	制备人 HbA ₁ 与 HbA ₂ ——用于交叉互作研究	351
第六十九章	制备大鼠四种血红蛋白——用于交叉互作研究	352
第七十章	制备 HbA ₂ 与 HbA ₁ 之间成分——用于血红蛋白 A ₂ 现象机制的研究	353
第七十一章	制备定时再释放区带——用于再释放机制的研究	359
第七十二章	制备电泳拾零	363

第十篇 无氧条件下红细胞内血红蛋白的电泳释放

前言	365	
第七十三章	无氧条件下的血红蛋白电泳释放——偏重亚硫酸钠琼脂胶电泳	366
第七十四章	比较有氧和无氧电泳结果的三种方法	371
第七十五章	无氧条件下正常分娩者红细胞内血红蛋白的电泳释放——将偏重亚硫酸钠加入标本 无氧与有氧同在一胶板	372
第七十六章	无氧条件下脑出血患者红细胞内血红蛋白的电泳释放——将偏重亚硫酸钠加入标本 无氧与有氧同在一胶板	375
第七十七章	无氧条件下乳腺癌患者红细胞内血红蛋白的电泳释放——将偏重亚硫酸钠加入标本 无氧与有氧同在一胶板	378
第七十八章	无氧条件下胃癌患者红细胞内血红蛋白的电泳释放——将偏重亚硫酸钠加入标本 无氧与有氧同在一胶板	381
第七十九章	四种情况(正常分娩、脑出血、胃癌、乳腺癌)的比较和分析——将偏重亚硫酸钠加入标本 无氧与有氧同在一胶板	384
第八十章	无氧条件下血红蛋白之间不能交叉互作——一个电泳槽里两种胶板	386
第八十一章	有氧和无氧条件下糖尿病患者的红细胞指纹图	390
第八十二章	无氧胶中血红蛋白区带泳动时的拐弯现象	393
第八十三章	无氧释放总结	395

第十一篇 红细胞内蛋白成分的存在状态及其电泳释放图解

前言	396
第八十四章 红细胞内的游离蛋白成分及其电泳释放	397
第八十五章 红细胞内血红蛋白 A ₂ 等的初释放现象	398
第八十六章 红细胞内血红蛋白 A ₁ 等的再释放现象	399
第八十七章 红细胞内初释放现象与再释放现象同时存在状态及其电泳释放	400
第八十八章 红细胞内全部成分的存在状态及其电泳释放	401
第八十九章 无氧条件下红细胞内蛋白成分的存在状态及其电泳释放	402
第九十章 球形红细胞增多症时红细胞内蛋白成分的存在状态及其电泳释放	403
第九十一章 靶形红细胞增多症时红细胞内蛋白成分的存在状态及其电泳释放	404

附 录

附录一 名词注释	406
附录二 红细胞释放电泳(溶血液电泳)历年发表的文章	423
附录三 红细胞释放电泳	427
附录四 电泳成分染色法	429
附录五 电泳图画	438

第一篇 总 论

前 言

1 淀粉-琼脂糖凝胶释放电泳

(1) 淀粉-琼脂糖凝胶释放电泳的特点或优点, 在于它的半流动性、可塑性、事实上的等渗性, 活体红细胞加入此凝胶后, 可保持完整性, 通电后释放出其中成分, 从而发现内在规律。

(2) 显示电泳结果的是“丽春红-联苯胺染色法”, 此染色法是我们自己创建的, 它的特点是红(非血红蛋白)蓝(血红蛋白)并存, 鲜艳悦目。

(3) 释放内容: 初释放和再释放。

(4) 引发出来的内容: 交叉互作和非交叉互作(混合互作)。

(5) 红细胞以外的细胞也能释放。

(6) 把释放与质谱分析联系起来, 产生“电泳释放蛋白质组学”。

(7) 淀粉-琼脂糖凝胶, 也能分离和制备蛋白质。

(8) 国内外有过这类技术吗?

1) 按“淀粉-琼脂糖凝胶电泳”查文献, 未查到。

2) 按“琼脂糖-淀粉凝胶电泳”查文献, 有如下两篇: ①A chalavardjian. Agarose-starch gel electrophoresis of rat serum lipoproteins. Journal of Lipid Research, 1971, 12(3): 265。发表于1971年, 是研究血清脂蛋白, 与血红蛋白无关, 与释放无关。②XY Yu, XB Guo. Detection of GLO I phenotypes in blood and blood stains using agarose starch gel electrophoretic analysis. Hunan Yi Ke Da Xue Xue Bao, 2000, 35(2): 203。发表于2000年, 而我们的实验是开始于1981年。

(9) 综上所述, 淀粉-琼脂糖凝胶释放电泳, 是我们的原创技术。

2 红细胞释放电泳

(1) 在我们创建“淀粉-琼脂糖凝胶释放电泳”之前, 没有人用完整红细胞做电泳, 那时都是用红细胞溶血液做实验, 无法知道红细胞内部的情况。

(2) 红细胞释放电泳发现了“初释放现象”, 见下文所述。

(3) 红细胞释放电泳还发现了“再释放现象”, 见下文所述。

(4) 在“初释放现象”启发下, 我们又发现了“交叉互作”, 见下文所述。

3 全血释放电泳

(1) 用全血做电泳，更是史无前例，查阅国内外文献，没有人做过“全血电泳”。做“红细胞电泳”，需要先由全血分离红细胞，比较复杂。全血较简单，用样品就可直接上电泳。

(2) 全血电泳也有“初释放”和“再释放”，只是情况比“红细胞电泳”复杂一些，因为全血除了红细胞还有白蛋白、球蛋白和纤维蛋白原等。正因如此，“全血电泳”更能反映疾病的复杂内容。也正因如此，“全血电泳”还能显示血浆成分与红细胞之间的相互作用。

(3) “全血电泳”发现了“纤维蛋白原现象”，这是“红细胞电泳”所没有的。

“全血电泳”能揭示许多疾病的特点，“红细胞电泳”在这方面则相对差一点。

4 初释放现象

(1) 将活体红细胞加入凝胶，第一次通电，有血红蛋白由完整红细胞释放出来，我们把这次释放称作“初释放”。初释放的主要内容是，发现了血红蛋白 A_2 现象。

血红蛋白 A_2 现象是指红细胞与其溶血液并排单向电泳时，溶血液 HbA_2 靠后(阴极侧)，“红细胞 HbA_2 ”靠前(阳极侧)的现象。实际上，“血红蛋白 A_2 ”就是红细胞内 HbA_2 与 HbA_1 结合产物，详见下一项。

(2) 将活体红细胞加入凝胶，做双向电泳。第二向电泳时 HbA_2 与 HbA_1 分开，上下对应，都脱离对角线，这说明 A_2 现象是 HbA_2 与 HbA_1 的结合产物。质谱分析结果进一步证明， A_2 现象里还有第三者参加，那就是 Prx(过氧化物还原酶)，红细胞内 HbA_2 的存在状态是 HbA_1 - HbA_2 -Prx。

5 再释放现象

(1) 将活体红细胞加入凝胶，第一次断电后再通电，又有血红蛋白由完整红细胞释放出来，我们把这次释放叫作“再释放”。再释放电泳也有单向和双向之分。

(2) 单向再释放电泳

1) 单向单带再释放电泳：只释放出一个区带，按通电时间控制它的位置，称“定时释放”“定点释放”，简称为“定释”。

2) 单向多带再释放电泳：释放出多个区带，称“多带再释放”。因为多带像梯子，也称“梯带再释放”。

(3) 双向再释放电泳

1) 双向再释放电泳也有单带再释放和多带再释放之分。

2) 单向再释放，弄清再释放出来的血红蛋白是哪种血红蛋白。

3) 双向再释放，证明它是 HbA_1 。

4) 质谱分析，进一步证明它是 HbA_1 与 CA_1 (碳酸酐酶 1)的结合产物。

6 交叉互作

(1) 血红蛋白 A_2 现象的机制，是红细胞内 HbA_2 与 HbA_1 之间的相互作用，在红细胞外二者也能相互作用吗？带着这个问题，我们进行了一系列实验，结果发现，溶血液 HbA_2 与