

[法國] M. 李道尔著

紙 上 电 泳

科学技術出版社

內 容 提 要

這是一本介紹近代科學中用途很廣的“紙上电泳法”的專著，由著者綜合了各國有關報告中的資料加以整理而寫成的。內容共分 23 短章，全面扼要地討論了紙上电泳的理論、操作，和在生物化學、有機和無機化學、分析化學、放射化學等方面的應用，並以適當篇幅介紹了連續电泳、柱式电泳和凝膠电泳等有關的方法。

每章後均附有參考文獻，以備讀者作進一步查考，和研究時的需要。

本書可供科學研究人員、高等學校師生、工廠和化驗室技術人員參考之用。

紙 上 电 泳

PAPER ELECTROPHORESIS

原 著 者 [法國] Michael Lederer
原 出 版 者 Elsevier Publishing Company
· 1955 年版
譯 者 陶義訓 夏壽萱 馬立人

*

科學技術出版社出版

(上海南京西路 2004 號)

上海市書刊出版業營業許可証出 079 號

科學出版社上海印刷廠 新華書店上海發行所總經售

*

統一書號：15119·686

開本 787×1092 耗 1/32·印張 5 1/8·字數 105,900

1958 年 6 月第 1 版

1958 年 7 月第 1 次印刷·印數 1—1,700

定價 (10) 0 75 元

原 序

近几年来，有几种新颖的分离技术被应用于无机化学和有机化学中。关于紙上色层分析法和离子交换法已經有了很多完善的报导，但紙上电泳到目前为止还只是附在紙上色层分析法的書籍中作为一章，或仅在关于蛋白質电泳及其临床应用的更專門論著中有所闡述。

在目前情况下，如有一本小册子来討論現時所用的紙上电泳的許多技术，供那些需要初步了解紙上电泳的操作方法和应用的化学家們使用，似乎是比一本包括全部文献的綜述性論著更有用处。本書的編写將有助于分析化学、有机及无机化学、放射化学以及生物化学等部門的工作者們；書中并指出在那些情况中紙上电泳或柱体电泳可用于改进或加速現有的分离方法，尤其是在其他分离方法尚未成功或只有少量样品可供研究而手边并无很多分析設備的地方。

从本書內容中可看到，許多領域迄今尚未開闢，因此，关于分离的原理將尽可能完善地加以敘述，以使讀者在研究其他分析方法或在他的特殊要求下应用現行方法时有所帮助。

这里也提到了在血清蛋白質方面和临床应用方面的許多工作，但不加詳細的討論，因为有几种更專門地討論到临床化学的論著已經問世：

“紙上微量电泳”，馬歇勃夫、雷拜罗特、杜伯特和伯倫納里等氏著(巴黎, 1954)①：

“紙上电泳”馮德米氏著(索倫德公司, 阿勞, 1954)②。

但是, 为了一般应用, 有关临床化学方面的文献也已列入, 以备查考原文。

米契尔·賴德婁

巴黎, 1955年3月

① “Microélectrophorèse sur papier,” by Macheboeuf, Rebeyrotte, Dubert and Brunerie(Paris, 1954)

② “Die Papierelektrophorese,” by Oh. Wunderly (Sauerländer and Co., Aarau, 1954)

譯 序

紙上电泳法, 由于其操作簡單, 所需器材均为一般實驗室所常备, 故自 1948 年开始創建以来在短短几年中已經在各方面取得了广泛的应用。临床化学中血漿蛋白的紙上电泳分离已成为不少大医院内的一項常規檢查方法。在生物化学和有机、无机化学中, 紙上电泳亦为實驗室中一項新穎的分析利器。数年来各国所发表的文章报导数以千計, 其进展之速和应用范围之广可想而知。本書著者賴德婁氏搜集了近年来的有关报告, 編成本書, 內容精萃扼要、簡洁明了, 苏联卡普朗斯基教授在本書俄譯本(1956 年莫斯科出版)的序言中也备加推荐。我們鑒于国内在这方面尚未有系統的介绍, 故將本書譯出以供讀者們参考。但由于本書涉及的面甚广, 譯者限于水平, 虽謹慎从事恐难免仍有不周之处, 祈讀者随时予以指正。

本書譯名都以中国科学院編譯局和卫生部卫生教材編审委员会編訂的各專科名詞为依据, 个别新名詞因未有統一譯名者即由譯者暫拟, 并以①, ②等标明附列原文。至于引用参考文献, 則以数字加注于右角。

譯者 1957, 12

目 录

原序 譯序

1. 緒論.....	1		
历史.....	1	命名.....	6
替賽里厄斯氏法.....	2	参考文献.....	6
替賽里厄斯氏法的应用范围.....	3		
2. 溶液的导电性.....	8		
电化学的要点.....	8	离子的独立迁移率和绝对速度.....	11
电导率的温度变化.....	9		
稀释度与电导率的变化.....	9		
3. 理論概要.....	13		
影响质点在电场内移动的因素.....	13	紙上电泳的理論.....	18
		参考文献.....	23
4. 紙上电泳的技术.....	24		
支持滤紙的方法.....	24	制备性的方法.....	36
其他技术问题.....	34	参考文献.....	38
5. 連續电泳分离.....	39		
原理.....	39	几种用途.....	45
仪器.....	40	参考文献.....	47
6. 超微量电泳.....	48		

参考文献	49		
7. 色层分析与电泳的合并应用	49		
同时的色层分析和电泳	49	参考文献	51
电泳后接着进行色层分析	50		
8. 有机酸	51		
高級脂肪酸	52	二元及三元羧酸	53
酮酸	52	参考文献	53
9. 碳水化合物和羟基化合物	53		
單糖类	54	多元醇和酚类	60
甲醚和二糖	57	类脱氢黄素酮	61
多糖类	58	参考文献	62
10. 含氮化合物	63		
胺类	63	二硝基苯代氨基酸	70
氨基糖	64	胍基衍生物	71
氮茛(吡啶)衍生物	65	肽类	71
磺胺	65	碘化甲腺氨酸和碘化酪氨酸	72
氨基酸及肽	66	参考文献	72
氨基酸的双向分离法	68		
11. 生物鹼	74		
参考文献	76		
12. 蛋白質	76		
电泳的詳細操作法	77	溶菌酶	88
濾紙上蛋白質的定量測定	79	血清球蛋白的进一步分离	89
濾紙上血清各分离部分中		某些临床的結果	89
类脂肪的檢定	84	参考文献	97
纖維蛋白原的測定	88		
13. 核酸和衍生物, 磷酸酯	103		

核酸.....	103	硫胺素及硫胺素磷酸酯...	109
核酸的水解产物.....	104	維生素 B ₂ 及 B ₆ 組.....	111
三磷酸腺苷、二磷酸腺苷及有 关物質的分离.....	107	参考文献.....	111
14. 抗生素.....			113
参考文献.....			113
15. 类三萜烯.....			114
参考文献.....			115
16. 固醇.....			115
参考文献.....			116
17. 染料.....			116
参考文献.....			117
18. 无机化合物.....			118
离子的順序.....	118	参考文献.....	128
有分析和制备价值的分离	121		
19. 物理化学研究.....			129
参考文献.....			132
20. 柱体电泳.....			133
玻璃粉柱体内的电泳.....	134	纖維素或淀粉板内的电泳.....	138
淀粉柱体内的电泳.....	135	参考文献.....	139
纖維素柱体内的电泳.....	136		
21. 凝膠内的电泳.....			139
硅凝膠内的电泳.....	140	参考文献.....	152
琼脂凝膠内的电泳.....	143		
22. 多孔介質内扩散速率的測量.....			153
参考文献.....			154
23. 电动限外过滤法.....			154
参考文献.....			156

1. 緒 論

历 史

近来許多关于色层分析法历史的論著^[1]只是有助于說明这样一个問題，那就是一个一般現象的应用或发现（如吸附分析，或者是質点或离子在电場里的移动及其在分析上的应用），不可能仅仅归功于某一个人。在这里，我們并不企图把早期的工作作一全面的商討，而只是把它作一簡單的概述。我們并将敘述一下进行电泳测定和分析所用的主要仪器装置。

洛奇氏^[2]被認為是首先(在 1886 年)试图在一个裝着含有指示剂(如酚酞)的凝膠管中,如图 1 所示的,进行离子速度测定的人。他将一种酸和一种鹼或 Ba^{++} 和 SO_4^{-} 离子分别加到两个电极上,然后进行电解并測量指示剂变化或沉淀形成的速率。



图 1 測量离子速度的仪器(依洛奇氏)

在图 2 所示的仪器中,惠特翰氏利用有色离子进入无色溶液中的速率測量了离子在自由溶液(不含固定性的凝膠)中的移动。

很明显,在以上的方法中都不能得出精确的結果,同时对于

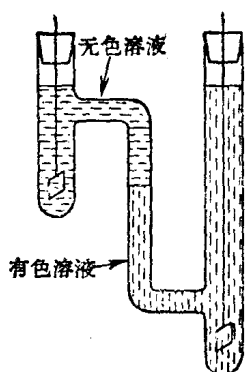


图 2 测量溶液中离子速度的
的仪器(依惠特翰氏)

移行速度不同的物质真正的分离也并未
试作设计。

1923年坎德尔氏^[3]曾发展了一个
在琼脂凝胶内进行电泳的分析方法；他
成功地分离了许多对稀土元素以及其他
金属。但是，令人惊奇的是这一工作完
全被遗忘了，直到最近才被他人所继续。

替赛里厄斯氏法

1925年替赛里厄斯氏继续了司卫
德堡，介特和司各特等氏的工作，将移动界面(moving bound-
aries)的观察转变为一种分析方法。

替赛里厄斯氏在他的诺贝尔奖金演讲^[4]中曾将他方法的发展
做了一个总结。第一个重要的步骤是光学方法上的发展，这个
方法能将一个无色移动界面的折光率变化定量地记录下来。
这样的方法那时已被司卫德堡氏用于超速离心机上，并且现在
也被应用于胶体溶液的其他研究，如扩散的测定中。在亚历山
大和约翰生两氏的著作^[5]中有一整章来讨论这些方法，司万生
氏^[6]的论文中也总结了最近的一些进展。

由于在电泳池的几何形状上和它的分段形式的结构上作了
改进，并应用恒温装置来维持最适宜的温度(4°C)以防止扩散，
结果获得了一个能定量分析蛋白质混合物如血清蛋白质的方
法。阿勃来姆生等氏^[7]曾著有一书专门讨论这个方法的原理和
结果。

图 3 显示了电泳分析的整套仪器。这一仪器在生物学研究

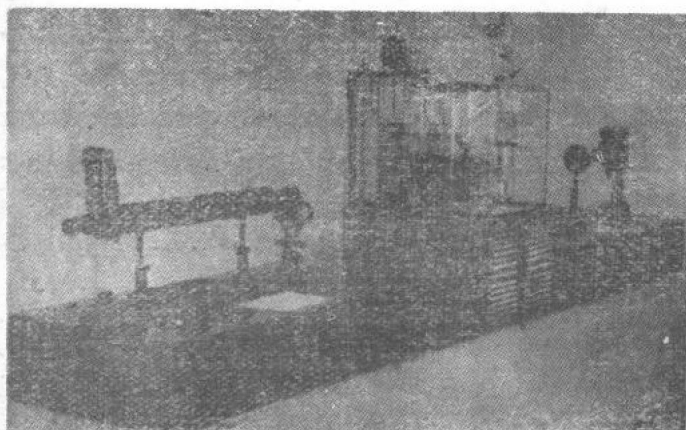


图 8 替氏电泳仪

机构中被广泛地应用着；但是，目前该仪器在实验室中所占的地位与电子显微镜相似。那就是，它需要专家的管理，它的装配和操作都需要相当多的时间和设备。作为一般实验室的操作技术来说它是太精细了，花费也太大，而且有机和无机化学工作者们通常对它的使用都不很熟悉。现在已发展了一种容量很小和操作较简单的微量方法（恩特伐埃婁 Antweiler 电泳仪，图 4）。

替赛里厄斯氏法的应用范围

虽然电泳分离是可能的，但是通常是在进行着一种前沿分析 (frontal analysis)。这样，在中央的隔室里如有一个 A-B-C 的混合物，因为移动的差异将产生一小部分纯 A、一部分的 A-B、和另一部分的 A-B-C，但并不是分离成纯粹的 A、B 和 C 的区带。

图 5 表明了用司万生氏的直接光学方法所获得的人血清典

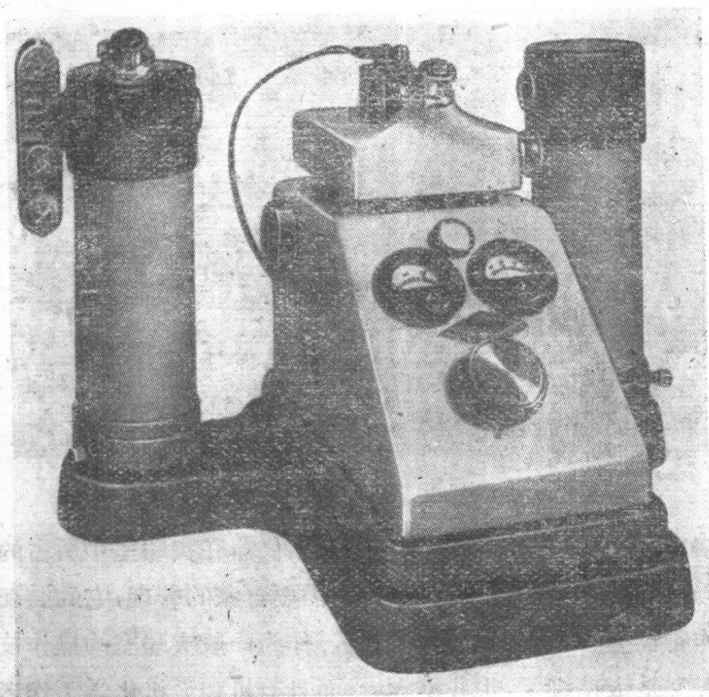


图 4 恩特伐埃婁微量电泳仪,具有費而泡特-司万生氏阴影装置



图 5 正常人血清的电泳曲线,用司万生氏的直接光学方法获得

型曲綫。替賽里厄斯氏法已成為电泳分析的基础,因此,如欲証明紙上电泳分析的正确性,常需参考它的結果。

凝膠和紙上电泳的現代技术、与柱式和紙上分溶层析的技术获得了同时的发展。在几篇較早的文献中叙述了应用玻璃絨、石棉纖維等的柱体或濾紙叠所作的分离。但是直至在分溶层析上应用了相似的微量技术以后,电泳在微量化学分析上的广泛应用好象剛剛被实现。濾紙条就在此时受到应用——卫蘭德和費修两氏^[8]用于氨基酸的分离,杜倫氏^[9]則用于蛋白質的分离,后来許多作者更用于分离几乎一切能电离的化合物。很多形式的濾紙支架和通电的裝置曾經得到应用。

在最近的一篇評論中,替賽里厄斯和弗罗丁两氏^[10]指出在紙上或多孔介質中进行电泳比在“自由”溶液中的电泳有下列一些优点:

(i) 移动速度不同的物質能够完全分离成区帶而并非仅是界面的分离。

(ii) 在区帶电泳 (Zone electrophoresis) 中所謂界面异常現象 (Boundary anomalies) 干扰較少,因此也可用来研究低分子量的物質(如氨基酸、肽类、核苷酸等)。此外,区帶电泳(尤其是在紙条上所进行的)仅需少量試样,并能用簡單而价廉的设备进行。

但是,在取得这些优点的同时,也牺牲了界面法較高的准确性[尤其是关于迁移率 (Mobility) 和等电点的測定]。区帶电泳所需的支持介質也帶入了一些新的因素,这些因素能以一种难以控制的方式来影响电泳的結果。

命 名

电移动法 (Electromigration) 的术语还很混乱。至今尚未决定出一个肯定的命名。

馬丁和辛奇两氏^[11]建議將較小离子在一个电场中移动的过程称为离子电泳 (Ionophoresis)；將大分子的移动称为电泳 (Electrophoresis)；而將在电场里使較小离子与大分子和質点分开的手續称为电透析 (Electrodialysis)。为了区分“自由”法和那些应用填充柱体或濾紙等稳定介質的方法，替賽里厄斯和弗罗丁两氏^[10]。采用了“区帶电泳”的名詞，用来表示在一个电场中將一細条物質分成为不同迁移率的各种成分的过程。在应用濾紙作分离时，許多作者对紙上电泳、紙上离子电泳和离子分离法 (Ionography)^[12]等名詞的使用不加区别。电层析 (Electrochromatography) 也被作为区帶电泳的同义詞来应用。斯特来因氏^[13]屢次为采用这个名詞而辯护。关于瓊脂凝膠中的分离，有些捷克科学家們使用了瓊脂电泳 (Agarophorese) 的名詞。

司万生氏^[14]曾对在填充柱体中电泳的早期方法作了評論。馮德来^[15]，米开里斯和海斯^[16]，麦克唐納^[12]和賴德婁^[17]等氏都曾作了紙上电泳的文献概述。关于电泳方法的一般性著作替賽里厄斯氏^[4,18,19]曾有所貢獻。替賽里厄斯和弗罗丁^[10]，以及肯克尔^[20]等氏也发表了两篇卓越的綜述，討論到区帶电泳在生物化学上的应用。胥来秋和許尔紙制造商^[21]所作的文献概述可視為医学杂志上有关文献的很有价值的索引。

参 考 文 献

- [1] H. Weil and T. I. Williams, *Nature* **166** (1950) 1000.
H. Weil and T. I. Williams, *Nature* **167** (1951) 906.
L. Zechmeister, *Nature* **167** (1951) 405.
- [2] O. Lodge, *Brit. Assoc. Reports* **38** (1886).
- [3] J. Kendall and J. F. White, *Proc. Natl. Acad. Sci. Wash.* **10**
(1924) 458.
J. Kendall and B. L. Clark, *ibid.* **11** (1925) 393.
- [4] A. Tiselius, *Naturwiss.* **37** (1950) 25.
- [5] A. E. Alexander and P. Johnson, *Colloid Science* Vol. 1, Oxford
(1949).
- [6] H. Svensson, *Acta Chem. Scand.* **4** (1950) 399, 1329.
H. Svensson, *ibid.* **5** (1951) 72, 1301, 1410.
- [7] H. A. Abramson, L. S. Moyer and M. H. Gorin, *Electrophoresis
of Proteins and the Chemistry of Cell Surfaces*, Reinhold, New
York (1942).
- [8] T. Wieland and E. Fischer, *Naturwiss.* **35** (1948) 29.
- [9] E. L. Durrum, *J. Amer. Chem. Soc.* **72** (1950) 2943.
- [10] A. Tiselius and P. Flodin, *Advances in Protein Chem.* VIII
(1953) 461.
- [11] A. J. P. Martin and R. L. M. Synge, *Advances in Protein
Chem.* II (1945).
- [12] H. J. McDonald, *J. Chem. Educ.* **29** (1952) 428.
- [13] H. Strain and T. R. Sato, *Chem. and Eng. News* **32** (1954) 1190.
- [14] H. Svensson, *Advances in Protein Chem.* IV (1948) 251.
- [15] Ch. Wunderly, *Chimia* **7** (1953) 145.
- [16] C. Michalec and I. M. Hais, *Chem. Listy* **47** (1953) 284.
- [17] M. Lederer, *Research* **4** (1951) 371.
- [18] A. Tiselius, *Scientia* **45** (1951) 163.
- [19] A. Tiselius, *Rendiconti dell' Istituto Superiore di Sanita* XIII
(1950) 916.

- [20] H. Kunkel, in *Methods of Biochemical Analysis*, edited by D. Glick, Vol. 1, page 141, Interscience, New York (1954).
- [21] *Literaturzusammenstellung über die Papierchromatographie*, Heft 2, Carl Schleicher and Schüll, Dassel/Kr. Einbeck (1952).

2. 溶液的导电性

电化学的要点

在討論电泳方法时，將电化学的某些要点重行扼要地加以叙述是必要的。我們可簡短地重提一下：电离学說主要是基于电解現象、溶液的导电性和酸、鹼、鹽的反常冰点降低性質(冰点的降低，沸点的升高)等所提供的証据。

物質的电阻通常是用欧姆氏定律来表示的，这个定律叙述流过的电流与所加的电压成正比：

$$\frac{E}{I} = R$$

此处 E 是电压(伏特)， I 是电流(安培)， R 是电阻(欧姆)。在定量测定上，我們应用了比电阻或电阻率(Specific resistance or Resistivity)这一术语，它的定义是一块長 1 厘米截面 1 平方厘米的物質的电阻。

在衡量溶液的导电性时，最为常用的是电导率(Conductivity，常用符号 K 表示)，电导率是电阻率的倒数。

导电是离子的一般性質，因此，可用当量电导率(Equivalent conductivity)来比較在相同条件下不同离解物質的电导率。当量电导率 Λ 可以这样来表示：

$$A = KV$$

此处 V 是含有 1 克当量物质的体积。电导率通常用交流电来测量以防止电极的极化和电解。所用的电极是光亮的或黑化的铂片。为了校正仪器的形状差异（电极间的距离和表面面积），可用一已知当量电导率的溶液，如 $N/10$ 氯化钾溶液在已知温度下来求出池常数 (Cell constant)。

在测定电导率时曾经观察到离子的几种对纸上电泳很重要的性质：

电导率的温度变化

表 1 显示了 0°C 与 25°C 之间 $N/10$ 氯化钾的电导率。

表 1 $0.1N$ 氯化钾的电导率

温 度, $^{\circ}\text{C}$	电 导 率
0	0.007129
10	0.009316
18	0.011163
25	0.012852

这里可以看到由 $0 \sim 25^{\circ}\text{C}$ 电导率增加了几乎 50%。这种增加是由于溶液中离子运动加快的缘故，在纸上电泳中，当考虑到滤纸受热而使电流改变和在较高温度下迁移率增大等现象时，必须加以注意。

稀释度与电导率的变化

当测定一个溶液的比电导率时，可以发现随着溶液的逐渐稀释，电导率增加，在无限稀释时达到最大值。 α 是用来表示表