

1997-05-28

A Novel Focusing Electrophoresis Technique Based on the Mobility Differences

Dongyung Chen

Huashui Lin

Yongliang Zhou

Bingwei Mao

Zhaoxiong Xie

Xiangdong Zhuo

Zhaowu Tian

Recommended Citation

Dongyung Chen, Huashui Lin, Yongliang Zhou, Bingwei Mao, Zhaoxiong Xie, Xiangdong Zhuo, Zhaowu Tian. A Novel Focusing Electrophoresis Technique Based on the Mobility Differences[J]. *Journal of Electrochemistry*, 1997 , 3(2): Article 6.

DOI: 10.61558/2993-074X.3109

Available at: <https://jelectrochem.xmu.edu.cn/journal/vol3/iss2/6>

This Article is brought to you for free and open access by Journal of Electrochemistry. It has been accepted for inclusion in Journal of Electrochemistry by an authorized editor of Journal of Electrochemistry.

基于电迁移率差异而分离的 新型聚焦电泳技术

陈东英 林华水 周勇亮 毛秉伟 谢兆雄 卓向东 田昭武*

(固体表面物理化学国家重点实验室及化学系 厦门大学 厦门 361005)

毛细管区带电泳已成为十几年来发展最快的分离分析技术 Hjertén 于 1967 年在玻璃管中进行了自由溶液的区带电泳, 1981 年 Jorgenson 进一步采用微小直径的毛细管, 从而大大提高了区带电泳的分辨率, 并具有分离速度很快, 应用范围很广等显著优点, 不但可以用于无机和有机小离子, 还可以用于肽、蛋白质、糖类、核酸以及药物、天然产物等, 特别适用于生命科学领域。近几年来, 有关毛细管区带电泳的文献急剧增长, 1989 年以来各大仪器公司争先推出多种型号的仪器, 商品仪器大量涌入市场。这些市场热和研究热的现象, 一方面表明人们被这种具有显著优点的分离新技术所吸引, 另一方面也表明毛细管区带电泳技术在实用中还有不少问题亟待改进: 例如, 为了得到高的分辨率和分离速度, 毛细管区带电泳必须在分离管两端施加数万伏的高压; 毛细管内径一般在 $100\ \mu\text{m}$ 以下, 在如此细小的分离管道内, 为了能得到良好的分离效率和分辨率, 进样量只能为纳升级甚至亚纳升级, 而要准确且自动化地把纳升级的样品注入毛细管是一个很大的难题, 而且进样量很小也导致检测浓度下限不理想; 为了提高检测浓度的下限, 人们努力寻找预浓缩的办法, 但是至今未有可以现场预浓缩的理想办法; 样品区带在毛细管内运动并逐渐移向检测窗口, 使阵列化毛细管电泳的发展遇到检测系统过于复杂的困难^[1]。这些问题都是由毛细管区带电泳的内在原理决定的。

本文提出的新型聚焦电泳技术是我们根据电化学原理首创的, 实现了分离样品按其电迁移率的大小而定位聚焦, 从原理上根本性地改变了已有的各种电泳分析的模式^[2], 是一种新型的电泳分析技术。分离效率和富集效果同时得到大大提高; 分离管长度和工作电压大大降低。它既具有等电聚焦电泳的聚焦的优点, 又避免了等电聚焦只适用于蛋白质和多肽等两性电解质的致命缺点, 适用范围与毛细管区带电泳相同。它既保留了上述的区带电泳技术的优点, 又针对性地克服了区带电泳技术的上述主要问题。

1 原理

新型的聚焦电泳技术的独特原理不同于区带电泳或等电聚焦的原理。在该技术中, 样品溶液中的离子 i 的线速度 v_i 被设计成沿分离管从正值到负值变化, 呈 x 的单调递减函数 (x 是分

离管中样品位置坐标). 样品根据各自的电迁移率的差异(而不是根据等电点的差异)在分离管道内分离成狭窄区带, 发生定位聚焦, 相应此位置的 $v_i = 0$ 如果离子 i 由于扩散或者其它因素, 偏离了聚焦位置, v_i 将不再为零. 为了保持动态平衡, i 离子将最终回到聚焦带, 并在聚焦位置形成浓度高斯分布. 由于这种聚焦效应, 样品注入区带长度可以大大超过区带电泳的注样长度, 甚至在整个分离管道内都可注入样品溶液. 注样量的增加将简化注样过程并改善浓度检测下限. 在我们实验室, 已经成功地验证了上述原理. 实现这种聚焦的理论和具体细节将另文详细描述.

2 实 验

本快报提供两个足以说明聚焦效果和区带分离的演示实验结果. 以下为两个实验的主要条件:

1) 演示聚焦效果的实验(Fig 1):

- 电泳通道长度: 3.5 cm
- 施加电压: 200 V
- 缓冲液: 巴比妥 1mM, pH 8.6
- 样品: 荧光素钠 0.23 mg/ml
- 注样体积: 10^{-3} cm^3
- 样品区带起始长度: 2 cm

2) 演示氨基酸区带分离实验(Fig 2):

- 电泳通道长度: 3.8 cm
- 施加电压: 100 V
- 缓冲液: Tris 1mM, pH 8.1
- 样品: Gly 1.46 mM, L-Pro 1.56 mM, L-Thr 1.2 mM, L-Met 1.4 mM
- 注样体积: $2 \times 10^{-4} \text{ cm}^3$
- 样品区带起始长度: 0.4 cm
- 茚三酮进行样品后处理显色

因为所选择的样品具有颜色, 所以可以取白光为光源, 检测系统只须采用简易型 CASIO-QV 10 数字式相机, 将摄得区带图像输入计算机进行数据处理, 得到如图的相应曲线.

3 新型的聚焦电泳技术的优点^{3]}

1) 通过聚焦的办法实现了在分离的同时进行现场浓缩, 使检测浓度下限改善数十倍, 并可缩短毛细管数十倍(只需数厘米), 工作电压从数万伏降低为数百伏, 提高了操作的安全性, 有利于小型化、便携化和集成化.

2) 进样溶液量可为微升级或亚微升级, 便于建立准确且自动化的进样技术.

3) 由于样品是根据各自电迁移率的差异实现分离, 所以这种新型的聚焦电泳技术应用范围广泛, 如同区带电泳. 样品既发生定位聚焦, 如同等电聚焦, 却不局限于蛋白质等的分离, 而且不需要 pH 梯度场及昂贵的缓冲液.

4) 便于建立阵列毛细管的检测技术. 因电泳后样品分离为聚焦峰且位置固定不变, 在阵

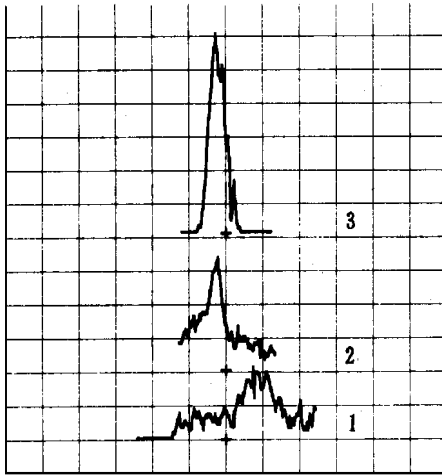


图 1 荧光素钠的聚焦效果

曲线 1, 2, 3 分别表示聚焦的初始状态、中间状态、最终状态。

Fig. 1 Focusing effect on fluorescein sodium zone

Curves from bottom: stage 1; stage 2; stage 3

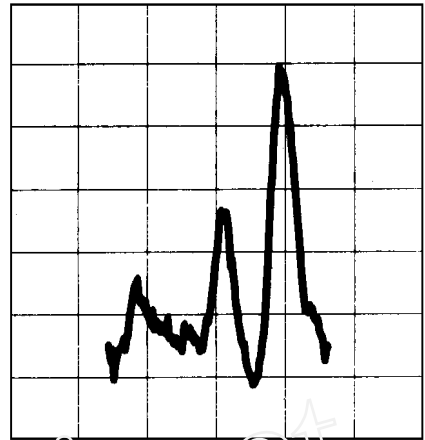


图 2 氨基酸混合物的分离(注样 16 min 后) 右侧峰有一肩峰表示不完全分离

Fig. 2 Separation of a mixture of amino acids (16 min after injection). The shoulder on the right side of the right peak corresponds to imperfect separation

列毛细管情况下,成为固定不变的二维的聚焦峰图象。这就有可能改变区带电泳的扫描检测方式为聚焦电泳的 CCD 二维成像方式,在同一时刻检测全部阵列通道,并将信息输入计算机处理。这样,可提高阵列毛细管的数目,实现现场标定,并可降低仪器成本。

A Novel Focusing Electrophoresis Technique Based on the Mobility Differences

Chen Dongyung Lin Huashui Zhou Yongliang Mao Bingwei

Xie Zhaoxiong Zhuo Xiangdong Tian Zhaowu*

(State Key Lab for Phys. Chem. of Solid Surf. and Chem. Dept., Xiamen Univ., Xiamen 361005)

Abstract In this report, we present a novel analytical focusing electrophoresis technique. The principle of the technique is based on the mobility differences and has been proved successfully in our laboratory. The technique is of the same applicability as that of CZE, not limited to the protein like big molecules, with greatly improved efficiency of separation and enrichment. Advantages of this novel technique are: 1. Since large volume of dilute sample solution can be injected and very narrow and concentrated zones can be obtained,

extremely dilute sample can be analyzed by this novel technique in comparison with CZE. 2. Instead of with extremely small injection volume (nanoliters or less) in CZE, microliter quantities of sample can be injected in this novel technique. This quantity is similar to that in HPLC and is much easier to be handled. 3. Since species in a mixture are separated on the basis of their mobility differences, the field of application is as wide as that of CZE and is much wider than that of IEF (not restricted in proteins and no pH gradient is needed). 4. The separated narrow zones of different samples are stationary after focusing at different positions along the electrophoresis channel. Therefore, the length of the electrophoresis channel can be shortened to several centimeters and the applied voltage can thus be reduced to several hundreds of volts. This will facilitate the fabrication of miniaturized instrument and the optical detection system for an array of electrophoresis channels.

Key words Electrophoresis, Focusing

References

- [1] Clarire R L. St. Capillary electrophoresis *Anal. Chem.*, 1996, 68: 569R- 586R (1996)
- [2] Koegler W S, Ivory C F. Focusing protein in an electric field gradient *J. Chromatography A*, 1996, 229: 229
- [3] 陈东英. 一种新型的聚焦电泳技术. 理学博士学位论文, 厦门大学, 1996, 中国