

生物化学实验教学优化：硼砂硼酸缓冲液在醋酸纤维薄膜电泳中的应用及教学效果

者湘漪^{1,2}, 李冬妹¹, 潘泽民^{1*}

1.石河子大学医学院生物化学教研室 / 新疆地方与民族高发疾病教育部重点实验室, 新疆 石河子 832002

2.石河子大学医学院组织胚胎学教研室, 新疆 石河子 832002

DOI:10.61369/EDTR.2026020007

摘要 : 目的: 通过比较硼砂硼酸缓冲液以及巴比妥缓冲液的蛋白质分离效果, 从而探讨在血清醋酸纤维薄膜电泳实验中, 硼砂硼酸缓冲液能否替代巴比妥缓冲液。方法: 选取健康家兔血清, 分别在两种缓冲液环境中进行醋酸纤维薄膜电泳。巴比妥缓冲液: pH 8.6, 电电压为 110–120V, 通电 40–50 min; 硼酸缓冲液: pH 8.6, 电压 110 V, 电泳时间 45 min。比较两种缓冲液的蛋白分离效果。结果: 两种缓冲液的电泳分离血清蛋白效果相当。结论: 硼砂硼酸缓冲液可以替代巴比妥缓冲液进行醋酸纤维薄膜电泳实验。

关键词 : 醋酸纤维薄膜电泳; 巴比妥缓冲液; 硼砂硼酸缓冲液; 实验教学; 教学效果

Evaluation of Protein Separation Effect of Borax Boric Acid Buffer in Cellulose Acetate Film Electrophoresis Experiment

Zhe Xiangyi^{1,2}, Li Dongmei¹, Pan Zemin^{1*}

1.Department of Biochemistry, School of Medicine, Shihezi University / Key Laboratory of Endemic Diseases of Xinjiang and Ethnic Groups, Ministry of Education, Shihezi, Xinjiang 832002

2.Department of Histology and Embryology, School of Medicine, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832002

Abstract : Objective: To compare the protein separation effects of borax boric acid buffer and barbital buffer, so as to explore whether borax boric acid buffer can replace barbital buffer in serum cellulose acetate film electrophoresis experiment. Methods: the serum of healthy rabbits were selected and subjected to cellulose acetate film electrophoresis in two buffer environments. Barbital buffer: pH 8.6, electric voltage 110–120V, power on for 40–50 min; Boric boric acid buffer: pH 8.6, voltage 110 V, electrophoresis time 45 min. The protein separation effects of the two buffers were compared. Results: the electrophoretic separation effect of the two buffers was the same. Conclusion: borax boric acid buffer can replace barbital buffer for cellulose acetate film electrophoresis.

Keywords : cellulose acetate membrane electrophoresis; barbital buffer solution; borax-boric acid buffer solution; experimental teaching; teaching effectiveness

血清醋酸纤维薄膜电泳实验在医学院生物化学实验教学中非常重要, 利用此实验可以将血浆蛋白分为: 清蛋白、 α 1-球蛋白、 α 2-球蛋白、 β -球蛋白和 γ -球蛋白, 其重复性好, 技术简单, 分析结果快速, 许多临床实验室用来检测血清蛋白组分^[1]。学生通过此实验能够学习并掌握电泳技术的原理、电泳必须具备的条件以及影响电泳的因素等知识, 是医学生必须掌握的实验技能之一^[2-4]。另外, 对于掌握血清蛋白的分类和含量有重要的意义, 有助于学生理解清蛋白与球蛋白比例倒置在肝硬化诊断中的作用(正常人清蛋白/球蛋白 = 1.5–2.5: 1; 而肝硬化清蛋白/球蛋白 = 0.5:1)。

多年来, 血清醋酸纤维薄膜电泳实验都使用 pH 为 8.6, 离子强度为 0.06^[5]的巴比妥钠/巴比妥缓冲液, 巴比妥钠为短时巴比妥类催眠药, 对中枢的抑制作用随剂量增加可以达到镇静催眠的作用。由于巴比妥钠和巴比妥是麻醉药品和精神药品类, 其采购、储存及使用均受到严格限制, 不仅给实验教学准备带来诸多困难, 同时存在实验室管理风险。因此, 继续使用该缓冲液已不符合当前教学要求, 若无替代缓冲液, 将影响实验课程的开设。

因此, 寻找一种安全稳定、易于获取且能够满足实验技术要求的缓冲液, 已成为当前生物化学实验教学改革中一项迫切而重要的任务。这不仅关乎单一实验项目的存续, 更影响到学生对电泳技术原理的直观理解。替代缓冲液必须在分离效果上达标或超越原体系, 保

基金项目: 新疆生产建设兵团国际科技合作计划项目 (2019BC007)。

作者简介: 者湘漪 (1990.04–), 女, 汉族, 湖南邵阳人, 硕士研究生, 职称: 讲师, 研究方向: 人体重要功能蛋白质的克隆与基因工程;

通讯作者: 潘泽民 (1966.07–), 男, 汉族, 湖南武冈人, 博士, 职称: 教授, 研究方向: 人体重要功能蛋白质的克隆与基因工程。

证各蛋白条带清晰可辨；在操作性上适合本科教学，即配制简便、条件易控；同时，还需符合实验室安全规范与管理的要求。为解决这一教学困境，保障实验教学连续性与有效性，本研究基于教学实践，探索并优化了采用硼砂硼酸缓冲液进行血清醋酸纤维薄膜电泳的实验方法。通过与原方法的直接对比，评估其分离效能、可操作性与教学适用性，旨在为实验教学提供一个安全、规范且可靠的替代方案，推动该经典实验课程的现代化改进与可持续发展。

一、实验材料

（一）血清标本

新鲜采集的健康家兔血清^[6,7]，加微量溴酚蓝示踪剂，4℃保存备用。

（二）仪器设备

DYY III型电泳槽、DYY-6C型双稳时电泳仪、分光光度计。

（三）主要试剂

pH 8.6巴比妥缓冲液，pH 8.6硼砂硼酸缓冲液（已申请国家发明专利），氨基黑10B染色液，2.5%醋酸漂洗液，0.4mol/L NaOH。

二、实验步骤

（一）醋酸纤维薄膜的处理

将醋酸纤维素薄膜（2cm×8cm）分别浸泡于巴比妥缓冲液与硼砂硼酸缓冲液中，浸泡时将薄膜无光泽面向下，以便缓冲液迅速均匀渗入。约10-20分钟^[8]，待充分浸透后（即膜条无白斑或点状的不透区），取出，用滤纸轻轻吸去多余的缓冲液。

（二）点样

吸取少量血清滴于玻璃板上，用加样器的钢口蘸取样品，然后将钢口平直印于薄膜无光泽面，距一端约2cm，待血清全部渗于膜内，移开点样器，迅速将膜条置于电泳槽架上，点样面向下，点样端近阴极，槽架上事先放置好4~6层滤纸搭桥，膜条要紧贴滤纸。把仪器盖好，平衡5分钟。

（三）通电

接上电泳仪的电源，巴比妥缓冲液组：电压为110-120V，夏季通电40-50分钟^[9]，冬季60分钟左右^[10]；硼酸缓冲液组：电压110V，电泳时间45min。断电后，将薄膜条从电泳槽中取出。

（四）染色

薄膜直接浸于氨基黑10B染色液^[11]中，1-5分钟后取出，用漂洗液连续清洗数次^[12]，使底色漂净为止，即得五条蛋白色带，用滤纸吸干薄膜。

（五）定量

剪下各蛋白色带，另从靠近阴极端不含底色的膜条中，剪下相当于白蛋白带宽度的膜条作为空白，盛于6支标明记号的试管

内，向各管加入0.4mol/L NaOH 4ml，振荡数次使色泽浸出，30分钟后，用分光光度计650nm比色。

三、结果与讨论

本研究分别以硼砂硼酸缓冲液、巴比妥缓冲液为介质进行醋酸纤维薄膜电泳实验，通过比较两种缓冲液中蛋白分离效果，从而探讨硼砂硼酸缓冲液能否替代苯巴比妥缓冲液，电泳结果显示：以巴比妥-巴比妥钠缓冲液为介质的醋酸纤维素薄膜电泳，可以跑出五条区带，区带之间距离较近，过于集中，不太清晰（见图1A），达不到预期教学目的；而在使用硼砂硼酸缓冲液为介质的血清醋酸纤维薄膜电泳实验中分离效果良好，能够分出五条蛋白质条带，并且条带清晰可辨不拖尾（见图1B），使得学生更好的识别血清蛋白条带及其定性定量的方法，并取得良好的实验效果，提高学生实验成功率。

从教学层面看，硼砂硼酸缓冲液具有多重优势。其一，试剂获取便利，成本低廉，硼砂与硼酸均为常规化学试剂，便于实验室日常采购与管理。其二，缓冲液配制方法简单明确，pH值与离子强度易于计算与调节，适合学生参与准备环节，有助于学生深入理解缓冲溶液的作用原理及其在电泳中的关键影响。其三，该体系稳定性良好，可重复使用，让学生在试剂管理与循环利用中体会到科研实践的严谨性与环保意识。

在教学效果与育人价值上，本替代方案取得了积极反馈。学生实验成功率显著提升，因条带不清导致的重复实验率下降。清晰的电泳图谱增强了学生的成就感和学习兴趣，使其更专注于结果分析与临床关联的讨论。教师可借此引导学生对比不同缓冲条件的电泳结果，理解实验条件优化在科学研究中的意义，从而将实验从单纯的操作模仿升华为探究性学习过程。

综上所述，在生物化学实验教学中，采用硼砂硼酸缓冲液替代传统的巴比妥缓冲液用于血清醋酸纤维薄膜电泳，不仅在技术层面上完全可行，且能获得更优的分离效果与稳定的重复性。更重要的是，该改革有效破解试剂管制带来的教学困境，消除教学与管理的安全隐患，增强实验教学的规范与可持续性。其简便、经济、稳定的特点，契合本科实验教学需求，有利于培养学生扎实的操作技能、科学的思维习惯与良好的实验室素养。建议在相关院校的生物化学实验课程中推广应用此方案，并持续收集教学反馈，进一步优化实验设计与教学指导策略，以全面提升医学生

物化学实验的教学质量与育人成效。

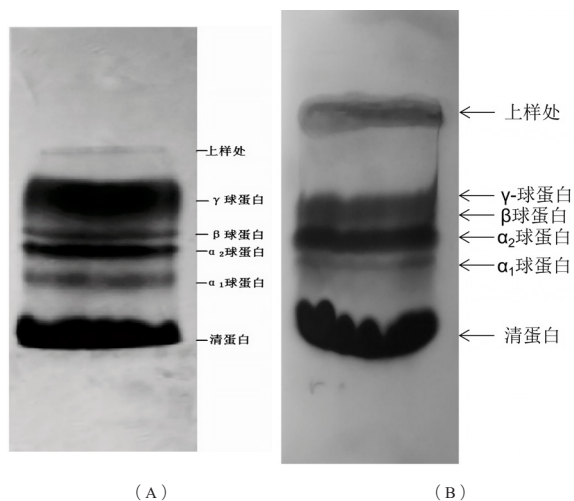


图1: 两种缓冲液的电泳效果图。

A: 以巴比妥-巴比妥钠缓冲溶液为介质; B: 硼砂硼酸缓冲液为介质

参考文献

- [1] 粟敏, 陈琳. 醋酸纤维素薄膜电泳实验优化 [J]. 时代教育, 2017(07): 11.
- [2] 侯燕芝. 医学生物学实验教程 [M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2007: 66-68.
- [3] 尹丽, 陈秀敏, 王永和等. 血清蛋白醋酸纤维素薄膜电泳几种缓冲液的效果分析 [J]. 中国医学创新, 2010, 7(11): 145-146.
- [4] Ryoko Machi, Ryo Kubota, Nobuo Hiratsuka. Urinary protein fraction in healthy subjects using cellulose acetate membrane electrophoresis followed by colloidal silver staining [J]. Journal of Clinical Laboratory Analysis, 2004, 18 (4): 231-236.
- [5] 贺智英. 影响血清蛋白醋酸纤维素薄膜电泳实验结果的常见因素及相应对策 [J]. 中国医药导报, 2011, 8(34): 162-163.
- [6] 靳彩虹, 柴连明, 武洋. 血清蛋白醋酸纤维素薄膜电泳实验常见的问题及对策 [J]. 卫生职业教育, 2013, 31(02): 107-108.
- [7] 翁闪凡, 庄锡伟. 醋酸纤维素薄膜电泳血清蛋白电泳的影响因素分析与对策 [J]. 检验医学与临床, 2010, 7(06): 502-503.
- [8] 芦晓红, 杨志录, 唐秀英等. 人血清蛋白醋酸纤维素薄膜电泳实验方法的改进 [J]. 宁夏医学杂志, 2003(02): 88-89.
- [9] 刘箭, 杜希华, 徐德立等. 生物化学实验教程 [M]. 北京: 科学出版社, 2009: 26-29.
- [10] 程驰, 赵兴秀. 血清蛋白醋酸纤维素薄膜电泳的影响因素分析 [J]. 实验科学与技术, 2012, 10(03): 24-26.
- [11] 王长凤, 赵志彬, 刘亚辉. 如何做好血清蛋白醋酸纤维素薄膜电泳实验 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2009, 7(12): 277-278.
- [12] 邱雁临, 夏服宝, 康旭. 提高醋酸纤维素薄膜电泳实验成功率的探讨 [J]. 实验科学与技术, 2008(02): 6-8+12.
- [13] 杨红军, 李磊, 石东里等. 醋酸纤维素薄膜电泳实验材料和缓冲液的改良替代研究 [J]. 滨州学院学报, 2016, 32(6): 69-71.
- [14] 宋凤艳, 詹嘉红. 两种缓冲液条件下人血清蛋白醋酸纤维素薄膜电泳结果的比较 [J]. 韩山师范学院学报, 2008, 29(06): 67-69.
- [15] 陶爱丽, 石建州, 崔艳等. 醋酸纤维素薄膜电泳分离鸡蛋清蛋白缓冲溶液的优化 [J]. 南阳师范学院学报, 2023, 22(04): 50-53.