

newed by new bud germination to form bulb somewhat similar to the bulb of *Allium sativum* L.. The second age plant have no flower and germination rate was very low.

Key Words *Corydalis yanhuso* Tuber cultivation Plant renewal anatomy

牵牛子及其伪品的可溶性蛋白质电泳鉴别

河北省职工医学院中医系(保定 071000) 马晓莉*

吉林省长春中医学院附属药厂 王 晶

摘 要 对牵牛子及其伪品进行了可溶性蛋白质电泳鉴别,同时实验比较了两种染色剂考马斯亮蓝 R-250 和 G-250 的染色效果。

关键词 牵牛子 伪品 电泳鉴别

牵牛子是常用中药,药典收载的正品为旋花科植物裂叶牵牛 *Pharbitis nil* (L.) Choisy 及圆叶牵牛 *P. purpurea* (L.) Voigt 的干燥成熟种子^[1]。由于同科某些植物的种子性状与其相似,市场上常有同科其他植物的种子误充牵牛子销售。我们通过市场调查,采集标本,用连续性非解离聚丙烯酰胺凝胶电泳技术,对牵牛子及其伪品进行了分析,所得蛋白电泳图谱有显著差异,可作为鉴别依据。同时比较了两种蛋白质染色剂考马斯亮蓝 R-250 和 G-250 的染色效果。

1 实验材料、仪器及药品

1.1 实验材料:裂叶牵牛 *Pharbitis nil* (L.) Choisy 的种子(1996 年 10 月采于本院药园)。

圆叶牵牛 *P. purpurea* (L.) Voigt 的种子(1996 年 10 月采于本院药园)。

田旋花 *Convolvulus arvensis* L. 的种子(1996 年 7 月采于本院校园)。

大花牵牛 *Pharbitis Limbata* 的种子(1996 年 10 月采于保定市市区)。

蘿藦 *Ipomoea aquatica* Forsk. 的种子(购于保定市种子公司)。

以上药材由作者采集、鉴定。

1.2 仪器: DY-74 型电泳仪(汕头市广播仪器厂), 80-2 型离心机(国华仪器), 圆盘电泳槽(北京市六一仪器厂)。

1.3 药品: 丙烯酰胺为化学纯, 双丙烯酰胺为进口原装, 四甲基乙二胺为生化试剂, 考马斯亮蓝 R-250 和 G-250 为进口分装, 其余药品均为分析纯。

2 实验方法

2.1 试剂的配制及凝胶的制备见文献^[2], 凝胶浓度为 6.3%。考马斯亮蓝 G-250 染色液的配法: 取考马斯亮蓝 G-250 100 mg、浓磷酸 100 mL、无水乙醇 45 mL, 加水溶解, 稀释至 1 000 mL。

2.2 样品液的制备: 取实验材料 0.5g, 加电极缓冲液 5 mL 研磨成匀浆, 转移至离心管中, 3 000 r/min 离心 15 min, 取上清液 0.5 mL 加入 0.05% 溴酚蓝示踪指示剂 1~2 滴, 混匀, 备用。

2.3 电泳: 调节电流按 1 mA/管 进行电泳, 2 min 后, 按 3.5 mA/管 进行电泳, 待示踪指示剂行至距末端 0.5 cm 时, 关闭电源, 全程约 40 min。

2.4 染色: 考马斯亮蓝 R-250 染色法: 将胶条置固定液中固定 10 min, 再用洗脱液反复

* Address: Ma Xiaoli, Department of Traditional Chinese Medicine, Hebei Medical College of Continuing Education, Baoding

马晓莉 女, 理学学士, 讲师, 从事中药药剂专业的教学、科研及中药电泳鉴别法的科研工作。曾在《中药材》、《基层中药杂志》、《河北中医》等刊物上发表专业论文数篇。

洗脱,至背景清晰为止。考马斯亮蓝 G-250 染色法:将胶条置染色液中,室温条件下染色 30 min 即得。

3 结果与讨论

3.1 牵牛子及其伪品的蛋白电泳图谱(图 1)各不相同,有显著差别,可作为鉴别依据。我们按颜色的深浅将谱带分为 2 级,色深者为 I 级,色浅者为 II 级。同种实验材料在相同条件下,分别用两种染色剂染色,所得电泳图谱,圆叶牵牛相同,其它实验材料略有差异(图 1),用考马斯亮蓝 G-250 染色时,一些细带、弱带不能为肉眼所见,没有考马斯亮蓝 R-250 效果好,且用 G-250 染色谱带颜色均比 R-250 浅。但用 G-250 和 R-250 一样,所

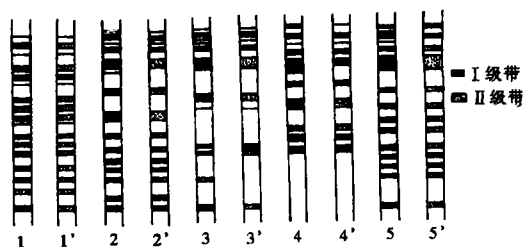


图 1 牵牛及其伪品的蛋白电泳图谱

1、1'-圆叶牵牛子 2、2'-裂叶牵牛子 3、3'-蘿菜子
4、4'-田旋花子 5、5'-大花牵牛子 1~5-用考马斯
亮蓝 R-250 染色所得图谱 1'~5'-用考马斯亮
G-250 染色所得图谱

得电泳图谱都能反映出不同材料的特征谱带,可以做为鉴别依据。

3.2 近年来报道的蛋白质电泳鉴别法中,均用考马斯亮蓝 R-250 为染色剂,该染色剂的特点是灵敏度高,所得电泳谱带清晰,科研中常用^[3],但存在染色、脱色操作繁琐,时间长等缺点。而考马斯亮蓝 G-250 灵敏度低,但具有操作简便,时间短等优点,被广泛用于学校实验教学。本实验结果表明,考马斯亮蓝 G-250 可以应用于生药的电泳鉴别。

3.3 已报道的电泳鉴别法中,多选用解离型非连续性聚丙烯酰胺凝胶电泳法,不仅配胶繁琐,需制备分离胶和浓缩胶,而且电泳时间长,约需 3 h~4 h。本实验采用连续性非解离聚丙烯酰胺凝胶电泳法,与前法比较有以下优点:1)配胶简便,只需制备分离胶;2)电泳时间短,约需 40 min。

我们通过 5 次重复试验,重现性、稳定性良好,结果可靠,可做为牵牛子及其伪品的鉴别依据。

参考文献

- 1 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中国药典. 部. 北京:人民卫生出版社,1995:128
- 2 夏 雷,等. 中国中药杂志,1990;15(7):11
- 3 袁晓华,等主编. 植物生理生化实验. 北京:高等教育出版社,1983:243

(1997-03-17 收稿)

作者来稿注意事项

根据国家标准 GB/T 3179-1992《科学技术期刊编排格式》的要求,作者来稿应注意以下 3 点:(1)论文应附 250 字以内的中文摘要,3~8 个关键词以及与之相对应的英文摘要和关键词。摘要以第 3 人称方式简要介绍论文的目的、方法、结果和结论等。关键词应尽量选用符合《中国中医药学主题词表》和《医学主题词表》等的规范词,置于摘要下方。(2)根据《关于出版物上数字用法的规定》,本刊实行 3 位分节法,废除撇分节法(如 2,456 改为 2 456)。但年份、页数、部队番号、仪器型号、标准号不用 3 位分节法。(3)参考文献的引用应按下列格式:[期刊]作者.(3 名作者以后方可用“等”或“et al”)刊名,年;卷(期);起始页码
[书籍]作者.(3 名作者以后方可用“等”或“et al”)书名. 版次. 出版地:出版社,年;起始页码
内部资料、个人通讯、报纸及未公开发表的文章不能引用。

以上要求,请广大作者予以合作。

《中草药》杂志编辑部