

失重飞机上进行的电泳分离实验^{*}

蒋远大 张志远 王海波 刘文喜 周顺林 冯学章 吴汉基

(中国科学院空间科学与应用研究中心 北京 100080)

摘 要

介绍了用 A3-1 连续自由流电泳仪在俄罗斯失重飞机上进行的实验情况及结果. 进行了 4 个架次的飞行试验, 获得了飞行试验的数据和电泳分离图像. 试验结果表明, 电泳仪装置工作良好, 从分离图像可以看出重力变化对电泳分离过程的影响并证实微重力环境对生物材料的电泳分离是有利的.

关键词 失重飞机; 电泳分离; 微重力; 飞行试验

1 引言

在微重力环境下, 用连续自由流电泳仪 (CFFE) 对生物大分子及细胞的分离和纯化是空间生命科学和生物技术研究领域里的主要内容之一. 由于 CFFE 具有可连续工作及适用于蛋白质、细胞等大多数生物材料分离的特点, 国外已研究多年, 并在卫星、飞船、航天飞机或用探空火箭、失重飞机进行了大量的空间飞行试验^{[1]~[6]}. 20 世纪 80 年代末期, 中国科学院空间科学与应用研究中心先后与中国科学院微生物研究所, 中国科学院上海生物化学研究所合作, 开展了 CFFE 的研究工作, 并在大量试验的基础上研制了 A3 型连续自由流电泳仪^[7], 但是, 尚未进行过空间飞行试验. 1998 年初, 根据中俄航天合作计划, 获得了利用俄罗斯 IL-76MOK 失重飞机进行连续自由流电泳分离实验的飞试机会. 为此, 按照飞机搭载试验的条件和要求, 在 A3 电泳仪的基础上研制了 A3-1 型电泳仪.

这次飞行试验的目的有二个, 一是验证 A3-1 电泳仪硬件系统 (如电控系统、流体系统、CCD 摄像与信号传输系统) 的运行性能; 二是利用失重飞机多架次、每架次有 10—12 个抛物线飞行时所产生的超重 (+g) 和失重 (-g) 环境, 用所研制的带摄像系统的电泳仪装置, 了解重力变化对电泳分离生物样品过程的影响. 虽然, 失重飞机每个抛物线飞行提供的微重力持续时间较短 (约 24 s), 不可能深入研究微重力对电泳分离过程的作用, 但能达到上述目的也是很有意义的.

2 试验设备

2.1 A3-1 电泳仪的硬件系统

A3-1 电泳仪的硬件系统包括电源调节单元 (PCU)、检测单元 (DU) 和电泳单元 (EU) 三部分, 图 1 为组成框图, 图 2 为实物照片.

^{*} 国家载人航天工程资助项目

2002-08-26 收到原稿, 2003-03-21 收到修定稿

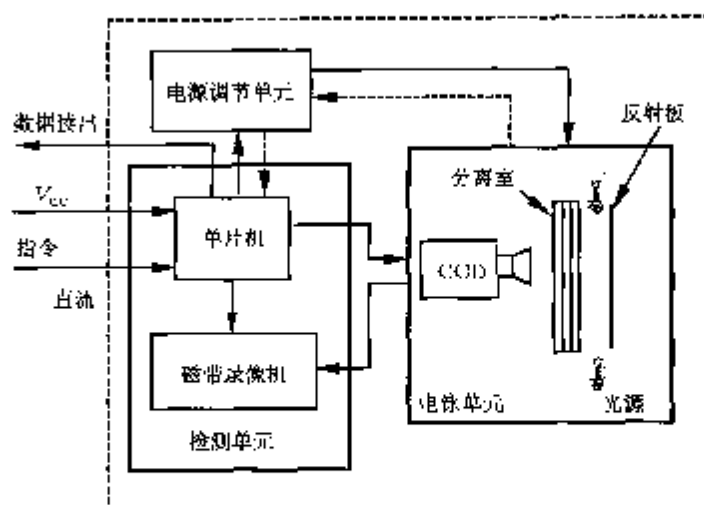


图 1 A3-1 电泳仪装置组成框图

Fig.1 The block diagram of A3-1 CFFE device

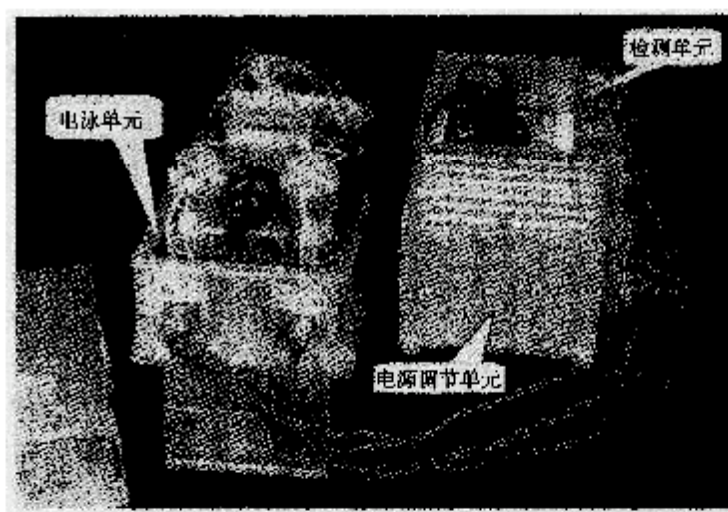


图 2 A3-1 电泳仪装置实物照片

Fig.2 The photograph of A3-1 CFFE device

电源调节单元 把来自电源总线的 28 V 直流电转换成电泳单元所需的各种电源, 同时把来自电泳单元并表征电泳过程特性的遥测参数送到检测单元记录、存储起来。

检测单元 由单片机及其接口组件和磁带录像机 (Video Hi 8) 组成。它接收来自飞行试验控制系统的操作指令, 通过单片机控制电泳单元的供电、检测、存储电泳过程的运行数据, 控制录像系统的开启和停止, 磁带录像机记录来自 CCD 摄像头拍摄的电泳分离图像。

电泳单元 是一个生物样品的电泳分离系统 (见图 3)。它由缓冲液和样品储箱、驱动泵、分离室、单向阀、收集箱和气液分离器等主要部件组成。分离室呈长方形, 内腔的尺寸

为: 长 270 mm, 宽 60 mm, 间隙 3 mm. 分离室下方的中线上, 有一缓冲液的入口孔, 该孔的上方是样品入口孔. 缓冲液及被分离的样品向上流动, 经分离室上方出口处的 30 根收集管及其单向阀汇集到一个有机玻璃的收集箱上. 分离室的右侧上方装有一个信号灯, 每当飞机处在小于 $0.3g$ 的飞行区域时, 来自飞机上微重力仪的信号将使它点亮. 若处在高于 $0.3g$ 的飞行状态, 该灯熄灭. 分离室的两边是正、负电极室, 室内装有铂丝电极. 两路电极缓冲液经驱动泵、电极室、气液分离器构成流体循环回路. 电泳过程中因电解作用在电极周围产生的气体被电极液带至气液分离器, 经疏水膜和亲水膜分离后排出, 从而保证电极室不会因气体的累积影响电泳的正常进行. 电极室与分离腔之间用离子交换膜隔开. 当对生物样品进行电泳分离时, 位于分离室正面的 CCD 摄像头将对电泳的分离过程进行摄像, 并把图像记录于检测单元的磁带录像机的盒式磁带上. 而表征电泳过程的各种性能参数则通过 A/D 和 I/O 接口组件储存于检测单元的 EPROM 中.

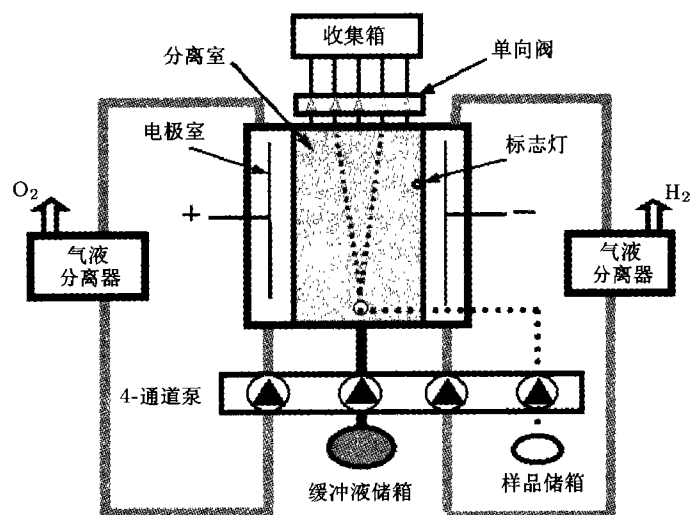


图 3 电泳分离系统组成框图

Fig.3 Schematic diagram of electrophoresis separation system

2.2 样品和化学制品

试验用的样品和配制缓冲液用的化学制品是由中国科学院上海生物化学研究所提供的, 属于分析纯等级. 为了便于在线观察和摄像, 选择了两种有色的标准蛋白: 牛血红蛋白 (Hb, 黄色) 和细胞色素 C (Cyt. c, 红色) 作为被分离的样品. 每次试验时, 取标准蛋白 Hb 和 Cyt. c 各 100 mg, 溶于不含甘油的电泳缓冲液中, 4°C 保存. 加注前再用缓冲液稀释至每毫升溶液含 10 mg 的 Hb 和 10 mg 的 Cyt. c, 然后离心取上清液. 缓冲液及电极液选用同一配方配制的 TEA 缓冲液. 它包含 3.5 mMol TEA, 0.7 mMol NaAc 和 10% 的甘油, 用苯甲酸把其 pH 值调节到 8.2 左右.

3 实验过程及运控模式

每个架次的飞行试验大都经历如下过程.

- (1) 飞试前 10 h, 在试验准备间对电泳单元进行清洗, 加注缓冲液和样品.
- (2) 飞机起飞前, 把电泳仪装到飞机的实验舱内. 设备安装固定好后, 由飞试总体组操作员给各载荷加电, 电泳仪操作员将检测单元内的录像机置于录像等待状态.
- (3) 飞机起飞后, 当进入第一个失重状态 ($0.3g$) 时, 飞试控制系统指令检测单元控制电源调节单元给电泳单元供电, 电泳仪开始工作. 与此同时置于录像状态的录像机, 开始记录图像, CPU 记录和存储电泳仪的各种工作参数.
- (4) 电泳仪持续工作约 1 h 后, 由检测单元控制自动停止工作.
- (5) 飞机返回落地停稳后, 由总体组操作员给各载荷断电, 电泳仪操作员关闭录像机, 然后将电泳仪卸下带回试验准备间, 取出录像带并读取数据, 为下一次飞试作好准备.

在每个架次的飞行中, 飞机进行 10—12 个抛物线飞行 1 h 左右. 其中, 每个抛物线飞行又包括平飞 (约 180 s), 超重飞行 (约 20 s), 失重飞行 (约 24 s), 超重飞行 (约 20 s) 等 4 个过程, 然后进行下一个抛物线飞行, 如图 4 所示.

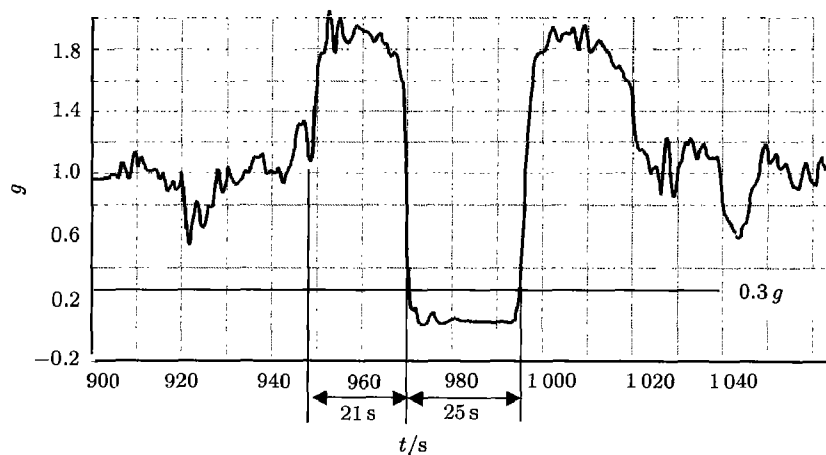


图 4 第 4 次飞行试验中第一个抛物线飞行的重力变化曲线

Fig.4 The relation of gravity vs time in a parabolic flight

4 实验结果及分析

我们一共进行了 4 个架次的飞行试验, 每个架次的实验条件列于表 1. 从实验中获得的数据和分离图像中可得出如下结果.

- (1) A3-1 硬件系统各部分在所有飞行试验运行中工作良好, 满足了试验和测控的要求.
- (2) 电泳仪飞试运行初期, 可以看到在分离室的左方出口形成较大的气泡 (直径大于 3 mm), 经过一两次超重、失重飞行后, 大气泡消失, 留下个别细小气泡 (直径大于 0.3 mm)

在出口处, 这些气泡的存在未见对分离产生影响. 我们分析, 气泡的存在是由于系统在进行样品和缓冲液充注时, 存有少量气体或流体系统除气不彻底所致.

(3) 在 4 个架次的实验中, 第 1 和第 2 次实验得到的分离图像 (分离条带) 很模糊, 看不清楚, 其原因可能是由于水质、环境温度等因素的影响, 导致缓冲液的 pH 值偏高, 电导偏低, 出现分离电流较低 (分离电流仅为 22 mA) 而使分离结果不好 (条带扩散严重而看不清楚) 的现象. 为此, 在其后两个架次的飞试中, 缓冲液的配制作了一些调整, 降低了 pH 值, 增加了电导, 使得在第 3 和第 4 次实验得到的分离图像较为清晰, 可以清楚地看到分离条带的形状和变化. 图 5—7 是第 4 次实验过程中一个抛物线飞行不同时段记录到的分离图像. 从记录的图像中可以看到, 样品的分离条带在抛物线飞行的各段有不同的表现.

①平飞段 (约 1g, 见图 5), 样品条带清楚, 与地面情况类似, 但有一些扩散, 靠近出口处条带弯曲明显, 这与飞机飞行时的角度和电泳仪分离室的方位有关.

②超重段 (约 1—2g, 见图 6) 飞行时, 样品条带扩散严重, 条带不明显.

③失重段 (0—0.3g) 飞行时, 样品能很好地分离, 两条样品条带明显, 条带集中且笔直 (见图 7). 这说明, 在 20 多秒的失重时间内能够形成两条样品条带, 如果时间更长一些效果必将更好, 条带更清晰.

表 1 实验中的运行参数

Table 1 Operating conditions used in the experiments

实验 次数	实验 日期	缓冲液			样品浓度		电参数	
		流量 (ml/min)	pH	电导率 σ ($\mu S/cm$)	牛血红蛋白 C Hb (%)	细胞色素 C Cyt.c (%)	分离电压 (V)	分离电流 (mA)
1	1999-07-13	20	8.57	57.8	1	1	380.9	22
2	1999-07-16	20	8.6	62	1	1	361	23.4
3	1999-07-20	20	8.18	90	1	1	361	28
4	1999-07-21	20	8.2	77	1	1	361	27

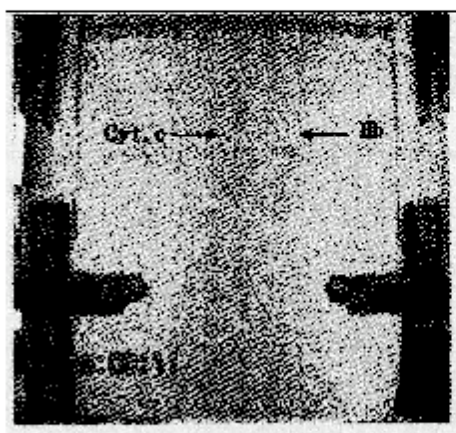


图 5 平飞段 (~1g) 分离图像

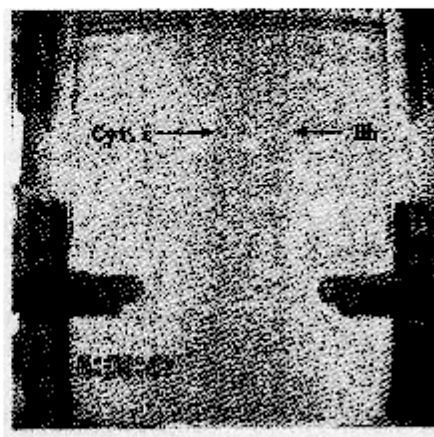


图 6 超重飞行段 (1—2g) 分离图像

Fig.5 The separation picture in the horizon flight. Fig.6 The separation picture in the overweight flight

由此可见,用失重飞机进行电泳分离试验,由于重力变化频繁,样品分离时好时坏,分离过程的检测以摄像或光电检测为宜,收集分离产物意义不大。

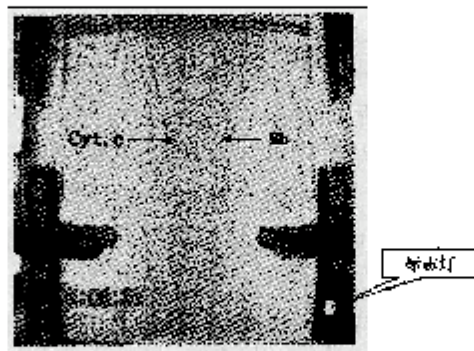


图 7 失重段 ($<0.8g$) 分离图像

Fig.7 The separation picture in the weightless flight.

5 结论

综上所述,这次飞行试验证实了 A3-1 电泳仪的工作能力,清楚地看到了重力变化对电泳分离过程的影响以及微重力环境对生物材料的电泳分离是有利的,达到了飞行试验的目的。然而,由于失重飞机提供的微重力时间很短(只有 25 s),难于深入进行微重力环境下生物材料的电泳分离研究。要解决这个问题,只有利用返回式卫星、飞船、空间实验室或空间站进行飞行试验才有可能。

致谢 特别感谢中国科学院空间科学与应用总体部对这项工作的支持,对中国科学院上海生物化学研究所夏其昌教授及其研究组提供生物材料和技术帮助,对中国科学院微生物研究所李钦教授和其研究组在研制 A3-1 电泳仪过程中提供的帮助,在此一并表示感谢。

参 考 文 献

- [1] Hannig K *et al.* Electrophoresis Experiment MA-014 in Apollo-Soyuz Test Project Summary Science Report, 1977, 1, NASA SP-412
- [2] Bekey I, Herman D. Space stations and space platforms—concepts, design, infrastructure and uses. *Prog. Astron. Aeron.*, 1985, 99:167—200
- [3] Wu Hanji, An Shiming. Space electrophoretic separation of biological materials for pharmaceutical production. *Chin. J. Space Sci. Tech.*, 1990, (5):31—38. in Chinese (吴汉基, 安世明. 药用生物材料的空间电泳分离. 中国空间科学技术, 1990, (5):31—38)
- [4] Bauer J ed. *Cell Electrophoresis*. Boca Raton: CRC Press, 1994
- [5] Michael J Clifton *et al.* Protein separation by continuous-flow electrophoresis in microgravity. *Amer. Ins. Chem. Eng. J.*, 1996, 42(7):2 079—2 096
- [6] Kobayashi H, Ishii N, Nagaoka S. Bioprocessing in microgravity: free flow electrophoresis of *C. elegans* DNA. *J. Biotech.*, 1996, 47:367—376
- [7] Wu Hanji, Zhou Shunlin, Liu Wenxi. The hardware system used for the research of electrophoresis in space. *Chin. J. Space Sci.*, 1999, 19(supp.):43—50. in Chinese (吴汉基, 周顺林, 刘文喜. 空间电泳研究用的硬件系统. 空间科学学报, 1999, 19(增刊):43—50)

THE ELECTROPHORETIC SEPARATION EXPERIMENTS ON THE WEIGHTLESS AIRCRAFT

JIANG Yuanda ZHANG Zhiyuan WANG Haibo

LIU Wenxi ZHOU Shunlin FENG Xuezhang WU Hanji

(Center for Space Science and Applied Research, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080)

Abstract

This paper presents the separation experiments and results by a A3-1 continuous free-flow electrophoresis device on board the Russian weightless aircraft. The A3-1 device consists of power conditioning unit, detection unit and electrophoresis unit. The power conditioning unit converts 27 V DC coming from the bus into the power sources required for electrophoresis unit. The detection unit has a video tape recorder used for recording the separation picture and a single chip which control the power supply, the detecting, record and storage of operating data. The electrophoresis unit is a electrophoresis separation system in which the rectangular separation chamber has the following internal dimensions: 270 mm long, 60 mm wide, and 3 mm thick (gap). During operation of A3-1 device, the separation process is monitored with a CCD head placed the front of separation chamber and recorded in the video tape recorder (Video Hi8) in the detection unit. The carrier buffer (the electrode buffer is the same), used for all experiments, contains 3.5 mMol TEA (Triethanolamine), 0.7 mMol NaAc and 10% glycerol. The sample to be separated is a kind of mixture containing two colored model proteins, Hemoglobin (HB, yellow) and Cytochrome c (red).

The flight test was performed for four times. For each flight the aircraft would conduct 10—12 parabolic flights and lasted nearly one hour. The pictures of electrophoretic separation and the experimental data were obtained. The results showed that the A3-1 CFFE device worked well and the effect of gravity change on the electrophoretic separation process of biological samples can be seen clearly from the pictures. The shape of sample filament is different under different flight state. The filament under the horizontal flight (near 1 *g*) appears spread and bent to the right near the outlet. The filament under the overweight (1—2 *g*) flight is not clear due to serious spread, the separation of sample was bad. But the filament under the microgravity (0—0.4 *g*) condition is quite clear (less spread) and almost in a straight line. It was shown that the microgravity environment is beneficial to the electrophoresis separation of biological material.

Key words Weightless aircraft, Electrophoretic separation, Microgravity, Flight test