

高效毛细管电泳法研究重瓣榆叶梅花中蛋白质的动态变化

徐毅励¹ 陈媛梅^{1*} 郑彩霞²

(1. 北京林业大学 理学院, 北京 100083;

2. 北京林业大学 生物科学与技术学院, 北京 100083)

摘要 为验证毛细管电泳方法, 研究测定重瓣榆叶梅花生长过程中的 DNA 酶、RNA 酶和细胞色素 C 含量及动态变化的有效性, 以磷酸氢二钠溶液为提取液, 超声提取重瓣榆叶梅花中的蛋白质作为待测液, 考察缓冲液种类、浓度、pH、分离电压、分离温度及进样时间等因素对 HPCE 分离检测蛋白质的影响。确定了 HPCE 最佳测定条件为: 运行缓冲液为 pH 为 2.5、浓度为 30 mmol/L 的磷酸氢二钠溶液, 0.5 MPa 压力进样 5 s, 分离电压为 8 kV, 电泳温度为 25 °C, 检测波长为 254 nm。在最佳条件下, 样品可在 20 min 内完全分离, 线性关系良好。该方法准确、快速、简便, 可同时检测样品中的 DNA 酶、RNA 酶和细胞色素 C。

关键词 重瓣榆叶梅; 花朵; 高效毛细管电泳; 蛋白质; RNA 酶; DNA 酶; 细胞色素 C

中图分类号 S 662.1

文章编号 1007-4333(2016)05-0076-07

文献标志码 A

Study on dynamic changes of protein contents in the flower of *Amygdalus triloba f. multiplex* by HPCE

XU Yi-li¹, CHEN Yuan-mei^{1*}, ZHENG Cai-xia²

(1. College of Science, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China;

2. College of Biological Sciences and Biotechnology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract In order to verify HPCE method and study the effectiveness of measuring, RNase and Cytochrome C and study the effectiveness of their dynamic changes in flower of *Amygdalus triloba f. multiplex*, samples extracted with Disodium hydrogen phosphate solution by ultrasonic treatment were used as the test solutions after separation and purification. The effects of the concentration and pH of buffer, separation voltage, separation temperature and injection time on the separation efficiency were confirmed. The optimal conditions were: the running buffer, 30 mmol/L disodium hydrogen phosphate with pH 2.5; Injection time, 5 s with the pressure of 0.5 MPa; Separation voltage, 8 kV; Electrophoresis temperature, 25 °C; Detection wave length, 254 nm. The samples could be completely separated in 20 min with a good linear relationship under the above conditions. The proposed method could be simultaneously applied for the determination of DNase, RNase and Cytochrome C in flowers of *A. triloba f. multiplex* with the advantages of high accuracy, fast separation and simple extraction.

Keywords *Amygdalus triloba f. Multiplex*; flowers; HPCE; protein; RNase; DNase; cytochrome C

重瓣榆叶梅(*Amygdalus triloba f. multiplex*), 又名小桃红, 属蔷薇科(Rosaceae)桃属落叶灌木或小乔木, 具有开花早、花期长、花朵大、分布地域广、耐干燥土壤、适应性强、易成活等特点^[1-2]。重瓣榆叶梅花粉富含蛋白质、氨基酸、生物酶等化合物, DNA

酶、RNA 酶和细胞色素 C 等为其中重要的蛋白质类化合物。DNA 酶、RNA 酶能催化细胞内的 DNA、RNA 水解, 生成的水解产物能抗氧化、延缓机体衰老^[3]; 在凋亡因子的诱导下, 线粒体释放出大量的细胞色素 C; 细胞色素 C 与活化的 DNA 酶协

收稿日期: 2015-06-11

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(41303044); 中央高校基本科研业务费专项资金资助(2015ZCQ-LY-03)

第一作者: 徐毅励, 硕士研究生, E-mail: xuyiliqq@126.com

通讯作者: 陈媛梅, 副教授, 主要从事天然化合物的提取分离与物理化学性质研究, E-mail: chym11@bjfu.edu.cn

同作用,可加速诱导细胞凋亡^[4]。可以从花粉中将以上成份提取出来,用在保健食品、药品以及营养性化妆品中^[5],寻求和开发无毒天然食用蛋白资源^[6-7]。

高效毛细管电泳(High performance capillary electrophoresis, HPCE)是经典电泳技术与现代微柱相结合的一种分析技术,具有微量、分析快、自动化程度高等特点,已被广泛应用于氨基酸、多肽、蛋白质、核酸、有机分子、无机离子等研究,在临床药物分析、环境监测和生命科学等领域有重要作用^[8-11]。HPCE在蛋白质分析方面的应用主要包括物化常数的测定、纯度分析、微量制备、蛋白质组学(Proteomics)研究、生化反应及其过程的分析、结合蛋白质及其衍生物的研究等众多领域^[12]。与目前常用的蛋白质分析的仪器和方法相比较,HPCE主要有反应速度快、精度高、用量少、能很好地分离相似的蛋白质^[13]等优势。目前,有关HPCE分离检测重瓣榆叶梅花朵中蛋白质的研究还未见报道。本研究主要采用超声波法^[14]提取重瓣榆叶梅花朵中蛋白质,用HPCE法来测定不同开花时间的重瓣榆叶梅花朵中DNA酶、RNA酶、细胞色素C含量,以期了解重瓣榆叶梅花朵生长过程中这3种蛋白质含量的动态变化规律,旨在为综合开发利用重瓣榆叶梅花朵中蛋白质提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料及试剂

材料:重瓣榆叶梅花朵采集于北京林业大学校内,包括花苞期、开花1周、开花2周、开花3周(大部分已凋谢)4个时期。冷藏于-30℃冰箱中。

试剂:Tris-HCl、盐酸、磷酸氢二钾、硼砂、硼酸、乙酸、乙酸钠、羟乙基纤维素、磷酸二氢钾、丙酮、氢氧化钠、盐酸、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)均为分析纯。标准品:牛血清蛋白(95%)、细胞色素C(95%)、RAN酶(95%)、DNA酶(95%)、试验用水均为超纯水。

1.2 主要仪器

本研究使用的仪器有美国Agilent公司的HP^{3D}毛细管电泳仪(配有二极管阵列检测器(DAD)及色谱工作站),北京时代北利离心机有限公司的3K30台式高速冷冻离心机, Ohaus公司的ItemAR2140电子天平,重庆万达仪器有限公司的电热鼓风干燥箱,昆山市超声仪器有限公司的

KQ500DB型超声波清洗器,日本岛津公司的UV-2450紫外可见分光光度计。

1.3 标准溶液及样品溶液的制备

标准品溶液:准确称取0.100g牛血清蛋白,加磷酸氢二钠溶液溶解后定容至100mL,得到标准蛋白储备液;分别准确称取质量均为0.0500g的RAN酶、DNA酶、细胞色素C分别加水溶解后定容至50mL,得到标准样品储备液。冰箱中保存,使用前经微孔滤膜过滤。

样品溶液:取1g重瓣榆叶梅花朵,放入研钵中,加入50mg吡咯烷酮(PVP),在低温下充分研磨,在适宜的条件^[14]下进行超声提取,取上清液经微孔滤膜过滤后,作待测液。

1.4 HPCE方法

分析样品之前,依次用1.0和0.1mol/L NaOH、1mol/L HNO₃、超纯水和缓冲液各冲洗5min,以保证检测物质的峰面积、出峰时间都具有良好的重复性。以pH2.5的30mmol/L磷酸氢二钠溶液为运行缓冲液,加入适量羟乙基纤维素作为添加剂,采用涂层熔融石英毛细管(58.5cm×75μm内径,有效长度50cm;河北邯郸永年光纤制造厂生产),0.5MPa压力下进样5s,于254nm检测波长、25℃电泳温度、8kV恒定电压下进行HPCE。试验结束后,依次用1mol/L NaOH、1mol/L HNO₃、超纯水各冲洗8min,防止缓冲液或样品残留“凝固”后将毛细管电泳柱堵塞住。试验中所有溶液使用前均需水膜或有机膜过滤,防止毛细管电泳柱被堵。同时,还应在低温下超声处理7min,以便除去其中的细小气泡。

2 结果及分析

根据毛细管电泳图谱的出峰时间、峰形、分离度以及仪器所能提供的条件等诸多方面因素,对HPCE的分离蛋白质的条件进行了考察、优化。分离条件主要包括:分离介质、电泳电压、温度及进样时间,且分离介质的性能与所用缓冲液的种类、pH、浓度等因素密切相关。

2.1 缓冲液体系的确定

2.1.1 缓冲液种类

分别用磷酸氢二钠做缓冲液、磷酸二氢钾、硼酸缓冲液、Tris-HCl缓冲液作实验缓冲液体系,在相同的其他条件下进行标准蛋白的分离。结果表明,用磷酸氢二钠缓冲液作试验体系时出峰时间,比磷

酸二氢钾缓冲液体系的出峰时间短,且前者基线更稳定;虽然 Tris-HCl 缓冲液与硼酸缓冲液体系的出峰时间短、基线稳定,但是出峰数少、分离效果差。这是因为在低 pH 下,磷酸氢二钠做缓冲液是高浓度低导电的缓冲液体系,吸附和电渗流值都很小,且有很好的缓冲容量^[15],故能更好的将蛋白质分开。故选择磷酸氢二钠缓冲液为分离缓冲液。

2.1.2 缓冲溶液浓度

大多数情况下,缓冲容量随浓度的增大而增大,离子强度增大,管壁和离子之间相互作用增强;然而缓冲液浓度增大时,电渗流速降低,溶质在毛细管内迁移速度下降^[15-20]。本试验分别配置 10、30、50、70、90 mmol/L 的磷酸氢二钠缓冲液,在相同的其他条件下进行标准蛋白的分离,结果表明,10 mmol/L 的缓冲液峰值较低,30 mmol/L 的缓冲液分离效果较好,而 50 mmol/L 的缓冲液基线稳定性差、分离度低,70、90 mmol/L 的缓冲液几乎不能出现良好的峰形。综合考虑,缓冲液浓度选择 30 mmol/L 为试验缓冲液浓度。

2.1.3 缓冲溶液 pH

缓冲液的 pH 一方面影响溶质组分的电离度,另一方面影响电渗流的大小,从而影响溶质的迁移速率和方向^[15-20]。本试验考察了 pH 为 1.5、2.0、2.5、3.0 和 3.5 的磷酸氢二钠缓冲液对蛋白分离效果的影响。结果表明,在不同 pH 下,标准蛋白均有一定程度的分离,pH 为 1.5 和 2.0 时,出峰数太少、分离度低,且基线不稳;pH 为 2.5 时,出峰数多,分离度高,出峰时间较短,基线稳定;pH 为 3.0 时,分离度高,但最后出峰时间长;pH 为 3.5 时,分离度低,出峰时间较长。综合分离效果,选择磷酸氢二钠缓冲液的 pH 为 2.5。

2.2 电泳条件的确定

2.2.1 电泳检测波长

本试验考察了检测波长为 191、200、214、254 和 280 nm 时的电泳图谱^[15-16]。结果表明,在上述 5 个波长下标准蛋白的电泳图中,在 254 nm 波长下,图谱中的基线比 191、200 和 214 nm 检测波长下的基线更稳定,且比 280 nm 波长下的出峰数更多。综上所述,选择检测波长为 254 nm。

2.2.2 电泳进样时间

进样时间会影响分离效果,如果进样时间过小,得到的峰面积太小,进而导致分析误差过大^[17]。进样时间如果过大,则增加样品塞的长度,使柱效和分

离度降低,在多组成分样品定量分析中,必须使各种被测样品离子浓度尽量保持一致^[15]。因此选择适宜的进样时间,既能保证试验灵敏度的要求,又能获得良好的分离效果。

试验在进样压力为 0.5 MPa 固定不变时,考察了进样时间为 1、3、5、7 和 9 s 时对分离效果的影响。结果表明,随着进样时间的增加,峰面积加大,且对分离效果有影响。进样时间为 1、3、7 和 9 s 时,基本不能将蛋白分开,无良好的峰形出现,且基线不稳,分离度效果很差。而只在进样时间为 5 s 时,分离度高,有多个良好的峰形,基线稳定。综上所述,选择进样时间为 5 s。

2.2.3 电泳电压的确定

柱长一定时,随着操作电压的增加,迁移时间缩短,在一定的范围内,柱效随电压增大而增大,但是电压的过大,柱内的焦耳热较大,柱效反而下降,缓冲液的黏度减小,使操作电压与迁移时间不呈线性关系^[15];因此,常需选择最佳操作电压。本试验考察了电压为 4、6、8、10、12 kV 时对分离效果的影响。结果表明,当电压为 4 kV 时,峰形太宽,且基线不稳。电压为 6 kV 时分离时间不如 8 kV 时短;虽然随着电压增大,迁移时间变短,然而电压为 10 kV 时,有些信号不能接收到,电压为 12 kV 时,基线不稳且“噪声”明显增大。综合所述,选择电泳电压为 8 kV。

2.2.4 电泳温度的确定

温度不仅影响分离的重现性,而且改变缓冲液的粘度,影响电渗流速,使峰展宽,进而影响分离效率^[15-20]。本试验考察了电泳温度为 10、15、20、25 和 30 °C 时对分离效果的影响。结果表明,当温度为 10 °C 时,分离效果不错,但是分离时间较长,而在当温度为 20 °C 时,不如 25 °C 分离效果好。随着温度的升高,出峰时间缩短,但 30 °C 时分离度下降,且测得含量降低。从分离度、出峰时间、避免降解等方面综合考虑,选择电泳温度为 25 °C。

综上,最终确定 HPCE 分析蛋白质的最佳条件为:pH2.5、浓度为 30 mmol/L 的磷酸氢二钠溶液为缓冲液体系,分离电压为 8 kV、进样时间为 5 s、检测波长为 254 nm、温度为 25 °C。

2.3 标准曲线的建立

分别吸取一定量的标准品储备液,配置一系列浓度的 DNA 酶、RNA 酶和细胞色素 C 的标准溶液。按照上述最佳条件进行 5 次平行试验,以质量

浓度(x)为横坐标,峰面积(y)为纵坐标绘制标准曲线,结果见图 1。由图 1 可知,DNA 酶、RNA 酶和细

胞色素 C 的线性方程分别为: $y=1\ 452.2x+1.732\ 0$ 、 $r^2=0.998\ 3$ 、 $y=1\ 657.8x+4.124\ 0$ 、 $r^2=0.997\ 9$ 、 $y=2\ 065.2x+2.572\ 0$ 、 $r^2=0.998\ 8$,且均在 $0.01\sim 0.1\ \text{mg/L}$ 内,峰面积与质量浓度线性关系良好,出峰时间分别为 9.895 、 16.076 和 $13.889\ \text{min}$ 。

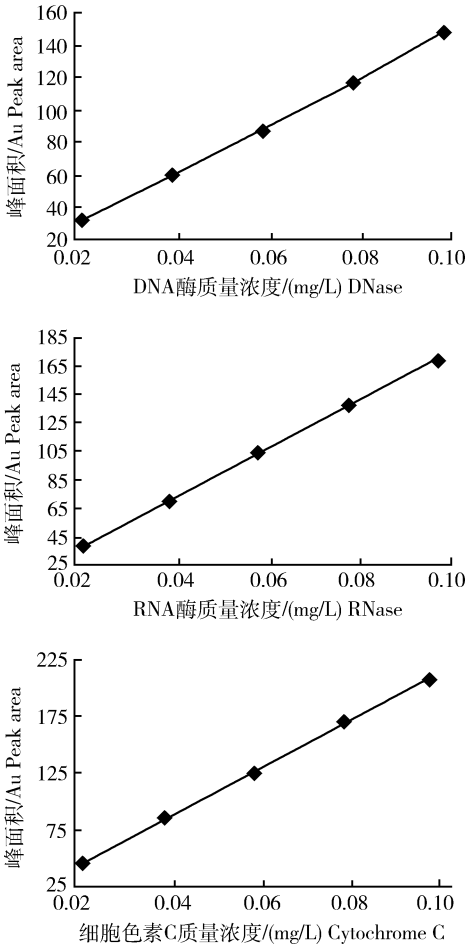


图 1 3 种标准样品的标准曲线

Fig. 1 Standard curves of DNase, RNase and Cytochrome C

2.4 精密度试验

分别取含有 $0.10\ \text{mg/L}$ DNA 酶、 $0.10\ \text{mg/L}$ 细胞色素 C 和 $0.10\ \text{mg/L}$ RNA 酶的标准品溶液,在最佳 HPCE 条件下重复进样 5 次,结果见表 1,从表 1 中可知该方法测定 3 种标准样品的含量,RSD 值均较低,表明本方法的精密度高,方法稳定可行。

2.5 重复性试验

取开花 2 周的样品 5 份,按照“1.3”方法制备待测液,在最佳 HPCE 条件下进行分别试验。测得 DNA 酶、RNA 酶、细胞色素 C 的峰面积的 RSD 值分别为 3.01% 、 1.01% 、 1.67% ,出峰时间的 RSD 值分别为 0.496% 、 0.301% 、 0.186% ,从结果可知,出峰时间和峰面积的 RSD 值均较低,说明该试验方法重复性好,稳定性高。

2.6 回收试验

准确称取开花 2 周的重瓣榆叶梅花朵样品 $1\ \text{g}$,加入不同含量的标样进行试验。平行 5 次,求得 DNA 酶、RNA 酶、细胞色素 C 的平均回收率分别为 92.2% 、 90.9% 、 90.3% ,回收率的 RSD 值分别为 0.942% 、 1.11% 、 0.745% ,说明该方法适用于测定重瓣榆叶梅花朵中的 DNA 酶、RNA 酶、细胞色素 C 的含量。

表 1 精密度试验结果

Table 1 The experimental results of precision

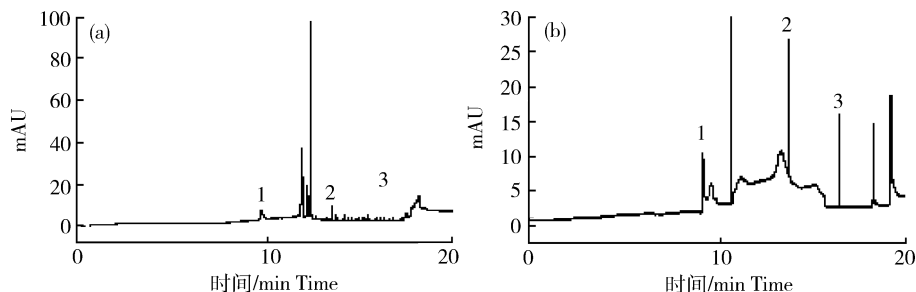
类别 Category	DNA 酶峰 面积/Au DNase	DNA 酶出峰 时间/min DNase	RNA 酶峰 面积/Au RNase	RNA 酶出峰 时间/min RNase	细胞色素 C 峰面积/Au Cytochrome C	细胞色素 C 出峰时间/min Cytochrome C
1	149.342	9.889	167.938	16.042	207.967	13.909
2	147.988	9.964	169.011	16.037	209.453	13.954
3	148.785	9.859	173.083	15.903	206.897	13.667
4	150.067	10.045	168.214	16.113	207.863	14.019
5	149.284	9.795	169.726	16.036	208.321	13.854
平均值	149.093	9.910	169.594	16.026	208.100	13.881
相对偏差/%	0.516	0.976	1.220	0.475	0.443	0.964

2.7 重瓣榆叶梅花朵的测定

图2为样品溶液与添加了DNA酶、RNA酶、细胞色素C标样的样品溶液的电泳图谱。比较图2(a)和(b)可知,添加标样的样品图谱中DNA酶、RNA酶、细胞色素C的峰均比未加标样时的峰明显增高,峰面积明显增大,表明样品中含有DNA酶、RNA酶、细胞色素C。

图3为不同时期重瓣榆叶梅花朵中蛋白质的电泳图谱。利用图3可得到不同时期样品中的DNA酶、细胞色素C、RNA酶的含量,结果见表2。从表2与图3可知,花苞期中RNA酶、细胞色素C的含量分别为0.032和0.408 mg/g,未检测到DNA酶,而在开花1周后花中的DNA酶、RNA酶、细胞

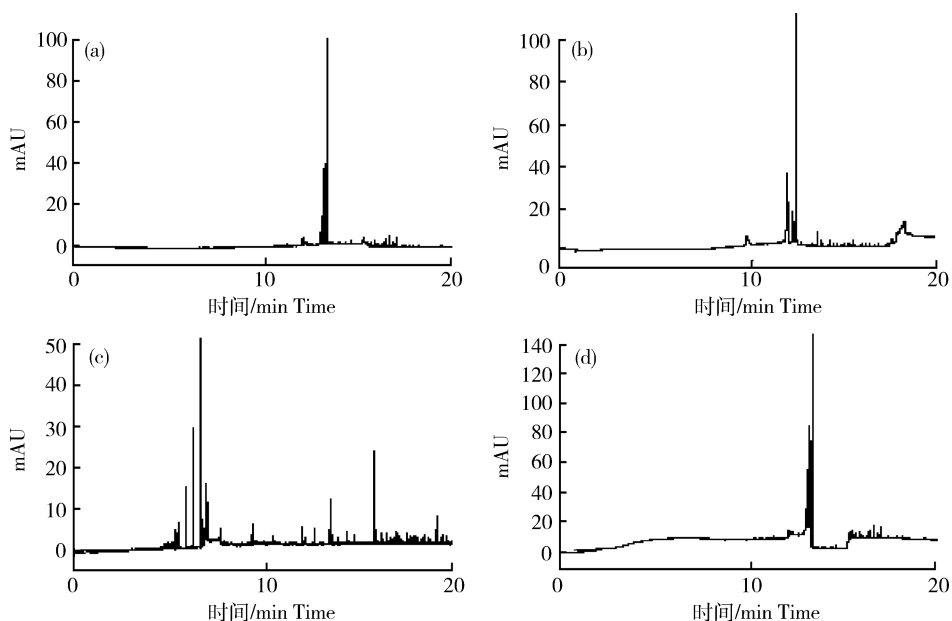
色素C的含量分别为0.801、0.035和0.136 mg/g。开花2周后花中DNA酶、细胞色素C、RNA酶的含量分别为0.030、0.135和0.287 mg/g, RNA酶的含量最多。在开花3周后只有细胞色素C和RNA酶,分别为0.471和0.074 mg/g,检测到少量的DNA酶。植物细胞中的DNA酶、RNA酶的主要作用分别是水解细胞中的DNA、RNA,而细胞色素C是生物呼吸电子传递体,参与细胞呼吸过程,且一定浓度细胞色素C可诱导细胞凋亡^[4]。从图4可知,DNA酶、RNA酶在花的生长过程中含量的变化趋势均是先增加后降低,而花中细胞色素C的含量变化趋势为先降低后增加。这3种蛋白质在花中含量的动态变化均与花的生长过程中的生理代谢对



1, DNA酶 DNase; 2, 细胞色素 C Cytochrome C; 3, RNA酶 RNase。

图2 未加标样(a)和加标样(b)样品图谱

Fig. 2 Electropherograms of samples (a) and samples with three standard proteins (b)



(a)花苞期 (b)开花1周 (c)开花2周 (d)开花3周。

(a)Buds; (b)One-week after anthesis; (c)Two-week after anthesis; (d)Three-week after anthesis.

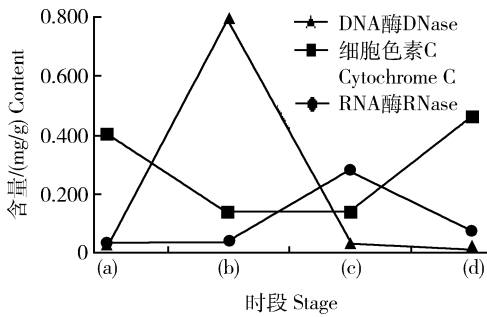
图3 不同时期的重瓣榆叶梅花朵的样品溶液的HPCE图谱

Fig. 3 HPCE fingerprints of the flowers of *Amygdalus triloba* f. *multiplex* in different blooming periods

表 2 不同时期重瓣榆叶梅花朵中 DNA 酶、RNA 酶、细胞色素 C 含量

Table 2 Contents of DNase, RNase and Cytochrome C in flowers of *Amygdalus triloba f. multiplex* for different blooming periods mg/g

组分 Component	DNA 酶 DNase	RNA 酶 RNase	细胞色素 C Cytochrome C
花苞期	0.000	0.032	0.408
开花 1 周	0.801	0.035	0.136
开花 2 周	0.030	0.287	0.135
开花 3 周	0.000	0.074	0.471



(a) 花苞期, (b) 开花 1 周, (c) 开花 2 周, (d) 开花 3 周。

(a) Buds; (b) One-week after anthesis; (c) Two-week after anthesis; (d) Three-week after anthesis.

图 4 重瓣榆叶梅花朵生长过程中蛋白质的含量变化曲线

Fig. 4 Curve of protein contents in the flowers of *Amygdalus triloba f. multiplex* in different blooming periods

这 3 种蛋白质的需求量的变化相一致。根据结果可知,在开花 2 周的重瓣榆叶梅花朵中均能检测到 DNA 酶、RNA 酶、细胞色素 C,并且在这时期花中蛋白质最丰富,故选择开花 2 周的重瓣榆叶梅花朵作为最佳综合开发利用的食品与生物性化妆品原料。

3 结 论

本研究利用 HPCE 分离与测定多种蛋白质的方法,在最佳 HPCE 条件下分离和测定了不同开花时间的重瓣榆叶梅花朵中的 DNA 酶、RNA 酶、细胞色素 C 的含量。结果表明,在花的生长过程中, DNA 酶、RNA 酶的含量是先增加后降低,这 2 种蛋白质含量均在盛花期达到最高,而花中细胞色素 C 的含量是先降低后增加,在开花一周后花中含量最低。在开花 2 周后花中蛋白质最丰富。因此,开花 2 周的重瓣榆叶梅花朵中的蛋白质应用于食品、化

妆品等方面的价值最高。

与凝胶电泳分离蛋白相比较,HPCE 法灵敏度明显提高。利用 HPCE 法分离测定了花在生长过程中 DNA 酶、RNA 酶和细胞色素 C 的含量,揭示了重瓣榆叶梅花朵生长过程中蛋白质含量的动态变化规律。这为寻求和开发天然食用蛋白资源等提供了方法,也为重瓣榆叶梅花朵中蛋白质的开发利用提供了参考资料。

参 考 文 献

[1] 丛欣. 重瓣榆叶梅的绿枝扦插繁殖研究[J]. 园艺学报, 1991, 18(3): 278-280
 Cong X. Studies of the reproduction of green branch cutting of *Prunus triloba* Lindl var *Plena*[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 1991, 18(3): 278-280 (in Chinese)

[2] 何秀贞, 郭元平, 罗玉杰. 榆叶梅蛋白质的提取与分析[J]. 中国林副特产, 1997, (1): 27-28
 He X Z, Guo Y P, Luo Y J. Extract and analyze on the protein of *Prunus triloba* [J]. *Quarterly of Forest By-Product and Speciality in China*, 1997(1): 27-28 (in Chinese)

[3] 柴菜建. 豆渣 DNA 酶解物制备及其抗氧化活性研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2013
 Chai C J. Research on preparation of soybean DNA hydrolysates and antioxidant properties [D]. Haerbin: Northeast Agricultural University, 2013 (in Chinese)

[4] 张贵友, 田瑞华, 戴尧仁. 植物细胞凋亡的研究进展[J]. 生物工程进展, 2001, 21(6): 22-27
 Zhang G Y, Tian R H, Dai R R. Research progress on plant cell apoptosis[J]. *Progress in Biotechnology*, 2001, 21(6): 22-27 (in Chinese)

[5] 李波, 罗心玲, 甘纯砚. 花粉提取液中蛋白质的分子量分布测定[J]. 日用化业, 1988, (6): 28-30
 Li B, Luo X L, Gan C F. Determination of molecular weight distribution of pollen protein extract [J]. *Daily Chemical Industry*, 1988, (6): 28-30 (in Chinese)

- [6] 王妍妍. 毛细管电泳分离油松种子及针叶蛋白质的技术初探[D]. 北京:北京林业大学, 2010
Wang Y Y. Capillary electrophoresis separation of proteins of seeds and needles of *Chinese pine*[D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2010 (in Chinese)
- [7] Wang Y, Fonslow B R, Wong C L, John R, Catherine C, Aleksey N. Improving the comprehensiveness and sensitivity of sheathless capillary electrophoresis: Tandem mass spectrometry for proteomic analysis[J]. *Analytical Chemistry*, 2012, 84(20): 8505-8513
- [8] 陈义. 毛细管电泳技术及应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 23-58
Chen Y. *Capillary Electrophoresis and Its Application*[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005(in Chinese)
- [9] Lee S J, Oh P S, Ko J H, et al. Glycoprotein isolated from *Gardenia jasminoides* ellis has a scavenging activity against oxygen radicals and inhibits the oxygen radical-induced protein kinase C alpha and nuclear factor-kappa B in NIH/3T3 cells [J]. *Environmental toxicology and pharmacology*, 2006, 21(1): 8-21
- [10] 童敬, 饶钦雄, 郭平, 李海燕, 丁双阳. 猪饲料中 3 种大环内酯类药物的高效毛细管电泳 (HPCE) 检测方法[J]. 中国农业大学学报, 2009, (1): 23-31
Tong J, Rao Q X, Guo P, Li H Y, Ding S Y. Determination of macrolides in feeds by capillary electrophoresis[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2009, (1): 23-31(in Chinese)
- [11] 王发祥, 贺伟, 李微, 俞健, 李向红, 王建辉, 刘永乐. 干莲子及其磨皮粉中蛋白质的组成特性比较[J]. 食品科学, 2015, 36(1): 59-63
Wang F X, He W, Li W, Yu J, Li X H, Wang J H, Liu Y L. Comparison of composition characteristics of proteins in lotus seed with its peel waste[J]. *Food Science*, 2015, 36(1): 59-63 (in Chinese)
- [12] 梁琼麟, 罗国安, 王义明. 高效毛细管电泳在核酸, 蛋白质分析中的新进展[J]. 分析化学, 2003, (12): 1514-1519
Liang Q L, Luo G A, Wang Y M. Recent advances of high performance capillary electrophoresis in analysis of deoxyribonucleic acid and protein [J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2003, 31(12): 1514-1519 (in Chinese)
- [13] 张彤, 付进. 毛细管电泳在蛋白质分离分析中的应用[J]. 山东化工, 1998(3): 34-39
Zhang T, Fu J. Application of protein separation and analysis by capillary electrophoresis[J]. *Shandong Chemical Industry*, 1998(3): 34-39 (in Chinese)
- [14] 徐毅励, 陈媛梅. 重瓣榆叶梅花中蛋白质提取工艺及动态含量研究[J]. 西北林学院学报, 2015, 30(3): 191-196
Xu Y L, Chen Y M. Optimal extraction technology and dynamic content of protein in flowers of *Amygdalus triloba* f *Multiplex*[J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2015, 30(3): 191-196(in Chinese)
- [15] 张慧文, 何丽明. 影响毛细管电泳分析结果精密度的因素及其控制[J]. 中国现代应用药学, 2008(z1): 640-643
Zhang H W, He L M. Capillary electrophoresis analysis of the impact factors of precision and control[J]. *Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy*, 2008(z1): 640-643 (in Chinese)
- [16] 陈培, 张磊, 邱丽娟, 陆柏. 大豆质核互作雄性不育系 W931A 及其保持系的差异蛋白质组学比较分析[J]. 作物杂志, 2009(10): 45-48
Chen P, Zhang L, Qiu L J, Lu B. Proteomic analysis of differentiation between cytoplasmic nuclear male-sterile line W931A and its maintainer in soybean[J]. *Crops*, 2009(10): 45-48(in Chinese)
- [17] 刘长付, 陈媛梅, 郑彩霞. HPCE 法研究番茄中类胡萝卜素的动态变化[J]. 中国农业大学学报, 2013, 18(4): 84-90
Liu C F, Chen Y M. Study on dynamic change of carotenoids contents in tomato by HPCE [J]. *Journal of China Agricultural University*, 2013, 18(4): 84-90(in Chinese)
- [18] Righettip G, Sebastiano R, Citterio A. Capillary electrophoresis and isoelectric focusing in peptide and protein analysis[J]. *Proteomics*, 2013, 13(2): 325-340
- [19] Stalmach T A, Albalat A, Mullen W, Mischak H. Recent advances in capillary electrophoresis coupled to mass spectrometry for clinical proteomic applications [J]. *Electrophoresis*, 2013, 34(11): 1452-1464
- [20] 伊爱芹, 陈媛梅, 郑彩霞. 高效毛细管电泳法测定加杨叶芦丁含量的动态变化[J]. 北京林业大学学报, 2010(6): 9-12
Yin A Q, Chen Y M, Zheng C X. Determining the dynamics of rutin content in *Populus × canadensis moench.* leaves by high performance capillary electrophoresis[J]. *Journal of Beijing Forestry University*, 2010(6): 9-12(in Chinese)

责任编辑: 王燕华