

一种制备珠型固定化细胞颗粒的简易方法

曹 晖 彭珍荣

(武汉大学生命科学学院 武汉 430072)

珠型固定化细胞颗粒有总表面积大、机械强度高和便于操作等优点,从而被固定化细胞实验广泛采用。实验室包埋制备珠型固定化细胞颗粒多用注射器滴注法,但由于海藻酸钠、聚乙烯醇等的高粘度,以及手的用力不均,致使注射器制备固定化颗粒费力、大小不均一,且常带有小突起,而固定化颗粒的均一性对于它的应用是非常重要的。本文用蠕动泵代替注射器制备固定化细胞颗粒,得到了较好的效果。该法简单易操作,现介绍如下。

1 材料与方法

1.1 菌种

假单胞菌(*Pseudomonas* sp.)135。

1.2 主要化学试剂和仪器

海藻酸钠(化学纯),聚乙烯醇(化学纯),蠕动泵,搅拌器,4×6mm 乳胶管。

1.3 操作程序

1.3.1 菌悬液的制备:发酵液离心收集菌体,用与其等重量的蒸馏水打散成菌悬液。

1.3.2 包埋剂与菌悬液的混合液的制备:11g 聚乙烯醇和 1g 海藻酸钠加 100ml 蒸馏水,水浴加热使之溶解并混匀,灭菌,冷却至 40℃,与 15ml 菌悬液混合。

1.3.3 固定化细胞珠型小颗粒的制备:取两根长度适当的 4×6mm 乳胶管,分别在一端装上用废 1ml 移液管拉成的滴头(滴头内径约 0.8~1.0mm)。两根乳胶管以相反方向分别装入蠕动泵,无滴头端浸入混合液中,滴头端分别固定在装有搅拌器的饱和硼酸-氯化钙硬化剂溶液之上(如图 1)。调节蠕动泵速度,以流滴尽量快而

乳胶管又不明显膨胀为宜。开动蠕动泵和搅拌器,两个滴头就可以同时进行珠型固定化细胞颗粒的制备。如果气温偏低,最好在 20℃ 以上温室中进行实验。

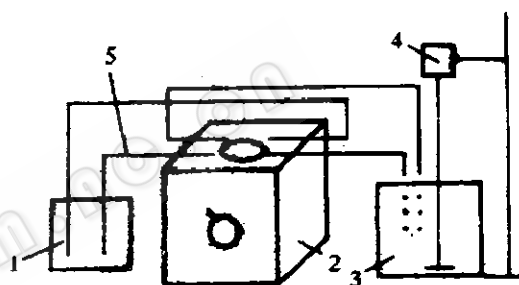


图1 蠕动泵制备珠型固定化细胞颗粒示意图

1. 包埋剂与菌悬液的混合液, 2. 蠕动泵,
3. 硬化剂, 4. 搅拌器, 5. 乳胶管

2 效果

经过反复实验,证明此法不费力,操作简便,因为是双滴头,制备速度至少比注射器法快二倍以上。如果用多个滴头速度会更快,而且可以在实验室条件下制备大量珠型固定化颗粒。此法所制珠型颗粒明显比注射器制颗粒更整齐,颗粒直径为 3.0~3.5mm;而注射器制颗粒为 2.5~4.0mm,直径最大差值为 1.5mm,是蠕动泵制颗粒直径最大差值的三倍。同时实验证明此法所制珠型颗粒机械强度的稳定性略高于用注射器制得的珠型颗粒,固定化细菌细胞的产酶特性与注射器制得的相同,不受影响。