果蝇脂类薄层层析

Thin Layer Chromatography Analysis of *Drosophila* Lipid

杨晓，黄勋*

中国科学院遗传与发育生物学研究所，北京

*通讯作者: xhuang@genetics.ac.cn

引用格式：杨晓，黄勋. (2019). 果蝇脂类薄层层析. *Bio-101* e1010282. Doi: 10.21769/BioProtoc.1010282.

How to cite: Yang, X. and Huang, X. (2019). Thin layer chromatography analysis of *Drosophila* lipid. *Bio-101* e1010282. Doi: 10.21769/BioProtoc.10101282. (in Chinese)

摘要：本实验通过薄层层析的方法分离果蝇组织中的脂类。

关键词：果蝇，薄层层析，脂类

材料与试剂

1. 滤纸
2. 铅笔
3. 毛细管
4. 展开剂：不同的展开剂对脂的分辨率和条带不同，应参考自己的样品和分析需求测试合适的展开剂。
 - 1) Chloroform (氯仿)/methanol (甲醇)/acetic acid (醋酸)/formic acid (甲酸)/water (水) (70:30:12:4:2) (Arikketh 等, 2008)
 - 2) Chloroform (氯仿)/ethanol (乙醇)/water (水)/trimethylamine (三甲氨) (30:35:7:35)
 - 3) Chloroform (氯仿)/methanol (甲醇)/acetic acid (醋酸)/water (水) (50:28:4:8) (Nigou 和 Besra, 2002; Vaden 等, 2005; Tamura 等, 2013)
 - 4) Chloroform (氯仿)/methanol (甲醇)/25% ammonia (氨水) (65:35:5) (Aaltonen 等, 2016)
 - 5) Chloroform (氯仿)/methylacetate (醋酸甲酯)/1-propanol (1-丙醇)/methanol (甲醇)/0.25% KCl (氯化钾) (25:25:25:10:9) (Miyata 等, 2016)

6) Chloroform (氯仿)/hexane (己烷)/methanol (甲醇)/acetic acid (醋酸)
(50:30:10:5) (Tasseva 等, 2013)

5. 碘晶体 (化学纯即可)

仪器设备

1. 烘箱
2. 层析缸
3. 层析板 (TLC silica gel 60 F₂₅₄ plate) (Merck, catalog number: 1.05729.0001)
4. 通风橱
5. 含有碘晶体的容器

实验步骤

1. 装配层析缸，放入 1 到 2 片滤纸，将其紧贴缸壁 (图 1)。
2. 倒入 80~100 ml 展开剂 (材料与试剂 4) [可以用 1) ~ 6)不同展开剂]，盖紧层析缸盖，平衡缸内空气 30~60 分钟。

图 1. 层析缸装配实物图

3. 使用铅笔在层析板底部 2 cm 处绘制水平直线，并设计样品点样位置。在距离层析板顶部 2 cm 处绘制水平直线，作为层析流动相终点处的位置。
4. 将层析板放置在 70 °C 烘箱中干燥至少 15 分钟。
5. 用毛细管吸取含有待分析的脂样品的有机溶液 20 µl，在点样位置上样，全完上样

后将层析板置于室温或用吹风机干燥。

注：组织脂样品按照参考文献提供的方法提取，最终由氯仿/甲醇 (1:2) 重新溶解。

6. 将干燥后的层析板放置到层析缸中。注意不要让展开剂液面超过用铅笔绘制的水平线。
7. 当展开剂流动相达到层析板上部绘制的水平线后取出，然后在通风橱内将层析板干燥。
8. 将层析板放置到含有碘晶体的容器中染色 (图 2)，并拍照扫描。

图 2. 层析板置放于染色容器示意图

参考文献

1. Aaltonen, M. J., Friedman, J. R., Osman, C., Salin, B., di Rago, J. P., Nunnari, J., Langer, T. and Tatsuta, T. (2016). [MICOS and phospholipid transfer by Ups2-Mdm35 organize membrane lipid synthesis in mitochondria.](#) *J Cell Biol* 213(5): 525-534.
2. Ariketh, D., Nelson, R. and Vance, J. E. (2008). [Defining the importance of phosphatidylserine synthase-1 \(PSS1\): unexpected viability of PSS1-deficient mice.](#) *J Biol Chem* 283(19): 12888-12897.
3. Miyata, N., Watanabe, Y., Tamura, Y., Endo, T. and Kuge, O. (2016). [Phosphatidylserine transport by Ups2-Mdm35 in respiration-active mitochondria.](#) *J Cell Biol* 214(1): 77-88.
4. Nigou, J. and Besra, G. S. (2002). [Cytidine diphosphate-diacylglycerol synthesis in *Mycobacterium smegmatis*.](#) *Biochem J* 367(Pt 1): 157-162.

5. Tamura, Y., Harada, Y., Nishikawa, S., Yamano, K., Kamiya, M., Shiota, T., Kuroda, T., Kuge, O., Sesaki, H., Imai, K., Tomii, K. and Endo, T. (2013). [Tam41 is a CDP-diacylglycerol synthase required for cardiolipin biosynthesis in mitochondria.](#) *Cell Metab* 17(5): 709-718.
6. Tasseva, G., Bai, H. D., Davidescu, M., Haromy, A., Michelakis, E. and Vance, J. E. (2013). [Phosphatidylethanolamine deficiency in mammalian mitochondria impairs oxidative phosphorylation and alters mitochondrial morphology.](#) *J Biol Chem* 288(6): 4158-4173.
7. Vaden, D. L., Gohil, V. M., Gu, Z. and Greenberg, M. L. (2005). [Separation of yeast phospholipids using one-dimensional thin-layer chromatography.](#) *Anal Biochem* 338(1): 162-164.