

两性电解质

保存温度: 2-8℃ 保存。

产品简介:

两性电解质就是既能当酸又能当碱用的电解质。通常为两性元素的氧化物的水合物、氨基酸等。两性电解质在大于其等电点的 pH 环境中解离成带负电荷的阴离子, 向电场的正极泳动; 在小于其等电点的 pH 环境中解离成带正电荷的阳离子, 向电场的负极泳动。这种泳动只有在等于其等电点的 pH 环境中, 即蛋白质所带的净电荷为零时才能停止。两性电解质适用于植物蛋白的等电聚焦。两性电解质的常用浓度为 2%~2.5%, 2% 用于 2mm 厚的凝胶, 2.5% 用于 0.5 mm 厚的凝胶, 3% 用于超薄胶。pH 梯度范围的选择取决于被分析的蛋白质的等电点。对于未知的样品通常先用宽的 pH 范围来找出欲测蛋白质 p 的位置, 然后再用合适的窄 pH 范围更好地分辨这些谱带并准确的测定其等电点。使用窄范围的载体两性电解质可以提高分辨率并增加载样量。

实验材料:

- 1.30% 丙烯酰胺(Acr-Bis): 30g 丙烯酰胺 +1.5g 双丙烯酰胺加水至 100 mL, 定溶后过滤。
2. 甘-T: 23mL 丙三醇 +0.5 mL TRITON 加水至 100mL。
3. 1% 四甲基乙二胺(TEMED): 1 mL TEMED 加水至 100mL。
4. 1% 过硫酸铵(AP): 1g 过硫酸铵加水至 100 mL。
5. 正极液(0.5mol/L 磷酸溶液): 取磷酸 1.6ml, 加水至 50ml
6. 负极液(1.0mol 或 0.2mol 氢氧化钠溶液): 1.0mol: 称取氢氧化钠 2g, 加水溶解并稀释至 50ml; 0.2mol: 称取氢氧化钠 0.4g, 加水溶解并稀释至 50ml。

电泳操作:

(1) 样品处理

浸泡: 先将所需鉴定的种子浸泡一段时间, 以备取胚使用。

取胚: 用镊子把种子的胚取出, 放入 0.5 或 1.5m 离心管内。

研磨: 在离心管内加入 0.1m 蔗糖提取液, 然后将胚研成匀浆, 放入冰箱保存。

(2)凝胶制备

1.配制凝胶前, 应把玻璃板准备好。即将两块干净的玻璃板叠放在一起, 之间夹上所需凝胶厚度的胶条进行四边密封, 一端留有小口用来凝胶。然后用文具夹夹玻璃板四周固定好。注意夹子作用力点在胶条正中, 以防漏胶。

2.配制凝胶时, 先将所需贮备液自冰箱中取出放置室温。

3.将各种贮备液体按一定比例混合(见表 1)最后加入 0.5mL 1%过硫酸铵, 搅拌均匀。然后用注射器吸净混合液, 排除气泡, 缓缓注入玻璃板的夹隙内。

4.将注入混合液的玻璃板静置放好, 隔夜使用。

表 1 凝胶贮存液配比表

试剂名称	加入量(mL/板)
30%丙烯酰胺(Acr-Bis)	2.8
40%蔗糖	1.5
甘-T	3
1%TEMED	2.2(夏季), 2.7(冬季)
蒸馏水	5.5(夏季), 5.0(冬季)
两性电解质	0.5-0.7

电泳:

1.制胶板: 将胶板取出, 揭去上层的玻璃板和胶条, 然后用蒸馏水轻轻冲洗一下胶面。

2.预电泳: 将已聚合的聚丙烯酰胺凝胶放到冷却板上, 用正极液与负极液分别润湿正极与负极电极条, 然后分别放于阳极与阴极上, 将电极对准电极条中心, 起始电压 200V 预电泳 30min(电泳时的环境温度一般为 0~4°C)

3.上样: 样品匀浆与 2x 上样缓冲液 1: 1 混匀, 以 5000rmin 离心 5min, 上清液即为上样电泳样品液



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

4.电泳: 初始 50V 电压电泳待电流降至每板胶 3mA 以下时, 加压至 200-320V 继续电泳, 当电泳降至每板胶 3mA 以下时, 升高电压至 500 V, 继续电泳 15 小时左右, 电泳至电流不再变化时, 切断电源结束电泳(电泳时的环境温度一般为 0~4°C)

5.取出胶板, 进行后续固定与染色。

