

两性电解质使用说明书

产品储存: 2-8°C、避光

产品名称: Ampholyte

产品内容:

英文名称	中文名称	货号	规格
Ampholine pH3-6	两性电解质 (pH3-6)	CA2008	12 mL
Ampholine pH3-10	两性电解质 (pH3-10)	CA1971	12 mL
Ampholine pH3.5-10	两性电解质 (pH3.5-10)	CA2002	12 mL
Ampholine pH3.5-9.3	两性电解质 (pH3.5-9.3)	CA2004	12 mL
Ampholine pH3.5-9.5	两性电解质 (pH3.5-9.5)	CA2005	12 mL
Ampholine pH4-6	两性电解质 (pH4-6)	CA1981	12 mL
Ampholine pH5-7	两性电解质 (pH5-7)	CA1991	12 mL
Ampholine pH6-8	两性电解质 (pH6-8)	CA2007	12 mL
Ampholine pH6-9	两性电解质 (pH6-9)	CA2001	12 mL
Ampholine pH8-10	两性电解质 (pH8-10)	CA2009	12 mL
Ampholine pH8-9.5	两性电解质 (pH8-9.5)	CA2010	12 mL

产品说明:

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。

凝胶溶解:

1. 30%丙烯酰胺 (Acr-Bis): 30 g 丙烯酰胺+1.5 g 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 100 mL。

3. 1%四甲基乙二胺 (TEMED) : 1 mL TEMED 加水至 100 mL。
4. 1%过硫酸铵 (AP) : 1 g 过硫酸铵加水至 100 mL。
5. 顺丁烯二酸缓冲液: 3.08 g 氢氧化钠+5.8 g 顺丁烯二酸加水至 100 mL。
6. 1% α -萘脂: 1 g 醋酸- α -萘脂加 100 mL 正丁醇。
7. 7%冰乙酸: 70 mL 冰乙酸加水至 1000 mL。

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 1.5mL 离心管内。

研磨: 在离心管内加入 0.1 mL 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 0.5 mL 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. 点样: 将浸入电极的滤纸条取出, 压半较胶放在胶板上, 然后放入电泳槽内, 注意正负极相吻合。将电泳槽平置于冰箱内 (电泳时的温度一般在 0~4°C 冰箱中进行), 接通电源, 把电泳仪调至电压 50 V, 电泳以每板胶不超过 17 mA 为准, 然后开始电泳。进样时间一般在 1.5~2 小时。
3. 揭样纸: 待电流降至每板胶 3 mA 以下时, 切断电源取出胶板, 揭去样纸 200-320V 继续电泳。
4. 加压: 当电泳降至每板胶 3 mA 以下时, 升高电压至 500 V, 继续电泳 1.5 小时左右。
5. 电泳降至每板胶 3 mA 以下时, 切断电源结束电泳。