



РАЗДЕЛЕНИЕ **БЕЛКОВ** ПО МОЛЕКУЛЯРНЫМ МАССАМ МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО ГЕЛЬ-ЭЛЕКТРОФОРЕЗА

ПУ 49-2016
ПУ 64-2017

ВВЕДЕНИЕ

Специалистами ГК «ЛЮМЭКС» разработаны практические указания по разделению комплексов «SDS-белок» методом капиллярного гель-электрофореза с использованием систем капиллярного электрофореза (КЭ) «КАПЕЛЬ®-105М» и «КАПЕЛЬ®-205». Практические указания могут использоваться для **оценки молекулярной массы белка** и/или **количественного определения белка**.

МЕТОД ИЗМЕРЕНИЙ

Метод измерений основан на разделении, идентификации и определении комплексов «SDS-белок» в кварцевом капилляре, заполненном гелем, под действием приложенного высокого напряжения. Разделение происходит за счет различной скорости миграции комплексов «SDS-белок» через матрицу геля (молекулярное сито). Пробу необходимо предварительно денатурировать в присутствии SDS, который всегда связывается с белками в стехиометрии 1:1,4. Возникающее при этом у комплексов «SDS-белок» постоянное соотношение заряда к массе позволяет проводить их разделение в соответствии с разницей в молекулярной массе белков.

ПРЕИМУЩЕСТВА МЕТОДА КЭ

По сравнению с разделением белков методом SDS-PAGE метод капиллярного гель-электрофореза обладает несколькими преимуществами:

- полная автоматизация разделения,
- прямое количественное определение,
- отсутствие окрашивания,
- низкая стоимость одного определения,
- короткое время анализа.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАКТИВЫ

При выполнении измерений применяют следующее оборудование и реактивы:

- система КЭ «КАПЕЛЬ®-105М» с функцией ускоренной промывки капилляра или «КАПЕЛЬ®-205»;
- спецкассета;
- вода дистиллированная;
- соляная кислота, х.ч.;
- серная кислота, х.ч.;
- натрия гидроксид, ч.д.а.;
- гель для разделения;
- внутренний стандарт (10 кДа);
- стандарт молекулярных масс (10–225 кДа);
- 2-меркаптоэтанол, ≥99%;
- иодоацетамид, ≥99%;
- трис(гидроксиметил)аминометан (ТРИС, англ. THAM), ≥99,9%;
- додецилсульфат натрия (англ. SDS), ≥ 98%;
- концентраты центрифужные, содержащие мембраны с пределом отсечения по молекулярной массе не более 10 000 Да;
- центрифуга лабораторная с относительным центробежным ускорением не менее 7000 g.

Сбор, обработку и вывод данных осуществляют с помощью персонального компьютера с операционной системой не ниже «Windows® XP/7/8/10», на котором установлено специализированное программное обеспечение.



ПРИМЕРЫ АНАЛИЗА

УСЛОВИЯ РАЗДЕЛЕНИЯ:

Фоновый электролит: гель для разделения комплексов «SDS-белок»

Капилляр: $L_{эфф}/L_{общ} = 32/42$ см, ID=50 мкм

Температура: 25 °С

Детектирование: 220 нм

Проба: стандарт молекулярных масс

1 – 10 кДа

2 – 20 кДа

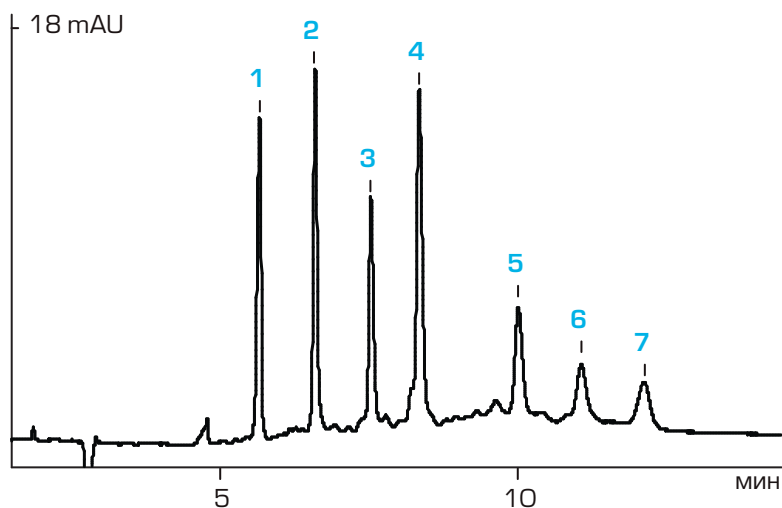
3 – 35 кДа

4 – 50 кДа

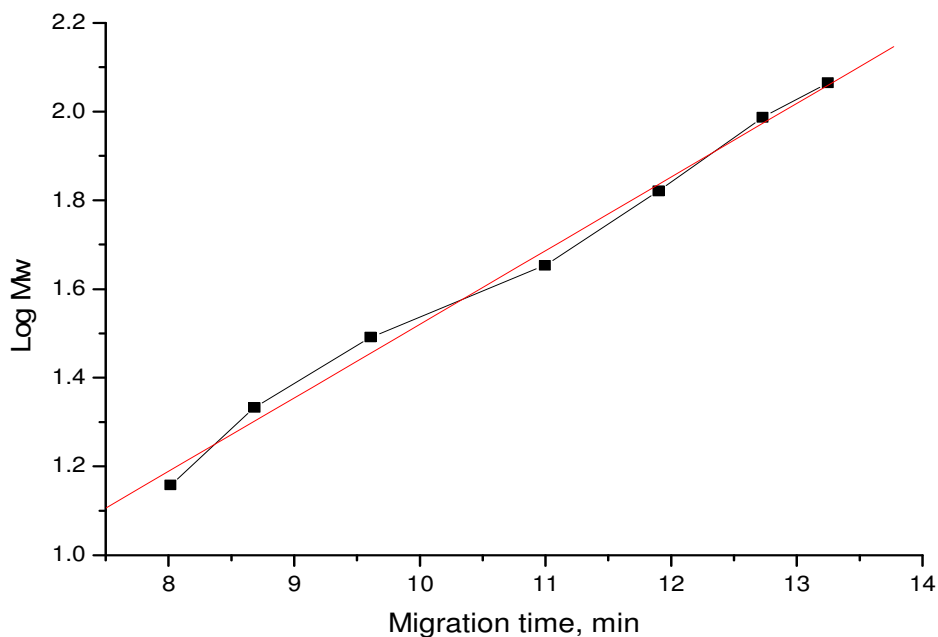
5 – 100 кДа

6 – 150 кДа

7 – 225 кДа



ЗАВИСИМОСТЬ $\text{Log } M_w$ БЕЛКОВ ОТ ИХ ВРЕМЕНИ МИГРАЦИИ



Эта зависимость позволяет проводить прямое определение молекулярной массы неизвестных белков по их времени миграции.

Вся информация в данной листовке является справочной. По вопросу получения более подробной информации следует обращаться к разработчику ПУ – Группе компаний «ЛЮМЭКС».

Центральный офис «ЛЮМЭКС»: 195220, г. Санкт-Петербург, ул. Обручевых, д. 1, лит. Б
Тел./Факс: +7 (812) 335-03-36 E-mail: methodists@lumex.ru

Почтовый адрес: 190900, г. Санкт-Петербург, ВОХ 1234