第九次作业

1.不连续PAGE、SDS-PAGE、二维PAGE各有什么特点及优势?

解:不连续PAGE的特点是四个"不连续性":凝胶层具有不连续性(分为样品胶、浓缩胶、分离胶,样品胶和浓缩胶为大孔胶,分离胶为小孔胶),离子成分具有不连续性(电极缓冲液为Tris-甘氨酸,凝胶层缓冲液为Tris-HCl),pH具有不连续性(电极缓冲液pH=8.3,样品胶和浓缩胶pH=6.7,分离胶

pH=8.9) ,电位梯度具有不连续性。它的优势在于,在样品胶和浓缩胶区域,由于Cl⁻比甘氨酸迁移得快,因此形成一个低电导高电势梯度区,导致蛋白质和慢离子加速迁移,从而形成一层浓缩的薄层,实现样品分子的富集。

SDS-PAGE的特点是利用SDS对蛋白质的变性作用,使不同结构的蛋白质变为相同的长条形;同时,利用SDS对蛋白质的包覆,使带有不同电荷的蛋白质变成负电荷相同的蛋白质。它的优势为排除蛋白质形状和电荷的影响,使蛋白质迁移速度只与其相对分子质量有关,从而可以根据蛋白质相对分子质量,将不同蛋白质进行分离。

二维PAGE的特点是将蛋白质等电点聚焦和SDS-PAGE结合,先在pH梯度下进行水平方向的电泳(等电点聚焦),然后在垂直方向上再进行一次电泳,从而将蛋白质从一维迁移变成二维展开。它的优势在于根据等电点和分子质量区分蛋白质,分离能力强,分辨率高,并能检测出细胞在不同条件下蛋白质组的微小变化。