



臺北醫學大學
TAIPEI MEDICAL UNIVERSITY

生物化學實驗報告

SDS-PAGE 蛋白質電泳原 理簡介與膠片製備

組 別：第 14 組

主寫人：陳相瑋 b202110082

組 員：李品辰 b202110064

王威鈞 b202110089

日 期：2023/10/17

實驗目的：

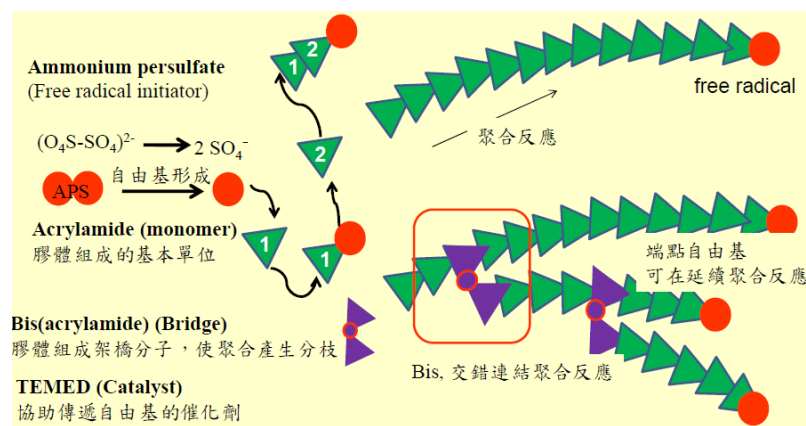
1. 透過 SDS-PAGE 電泳分析蛋白質分子量

實驗原理：

一、 聚丙烯醯胺膠體電泳

1. 膠體成分

- a. 丙烯醯胺 (acrylamide, 單體分子)
 - 具有神經毒性，須戴手套、避免吸入。
 - 構成孔洞分離物質，acrylamide 濃度越高則孔洞越小。
- b. Bis-acrylamide (架橋分子)
 - 可看作兩個丙烯醯胺單體分子連結，形成分叉點，幫助膠體聚合。
 - 和 Acrylamide 一樣具有神經毒性。
- c. ammonium persulfate (APS, 自由基)
 - 產生自由基啟動膠體聚合反映。
- d. tetramethylethylenediamine (TEMED, 催化劑)
 - 幫助自由基傳遞

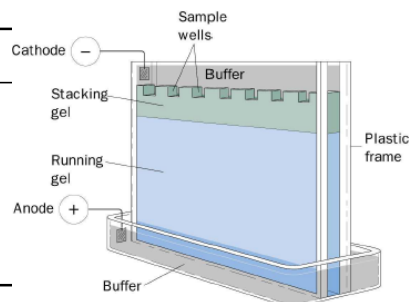


2. 梯度電泳系統

a. Stacking Gel 功能

Stacking gel 保證電泳時所有待測物在相同起跑點。樣品為鹼性環境 (pH8.3)，待測蛋白、Glycine 與 Cl^- 都帶負電。通電後因為 Stacking gel 是酸性環境 (pH6.9)，Gly 轉為電中性阻礙待測蛋白前進，最終 Cl^- 和 Gly 會把待測蛋白壓在同一條起跑線。

名稱	pH	緩衝液	膠體濃度
上層緩衝液 (-)	8.3	Tris-glycine	-
樣本	8.3	Tris-glycine	-
Stacking gel	6.9	Tris-HCl	低 (約 4%)
Separating gel	8.3	Tris-HCl	高 (約 20%)
下層緩衝液 (+)	8.3	Tris-glycine	-



二、 SDS 及分子量測定

Sodium dodecyl sulfate(SDS) 是界面活性劑，會在蛋白質分子表面均勻佈上一層負電荷，使得蛋白質電泳的結果不受蛋白質自身電性影響。因此 SDS 電泳的結果只和蛋白質分子量相關。 β -mercaptoethanol(β -ME, 2-ME) 和 Dithiothreitol(DTT) 都能打斷雙硫鍵，同樣濃度下 DDT 效果較好。兩者會搭配 SDS 使用。

三、 蛋白質染色方法

實驗步驟：

實驗器材

步驟

實驗結果及討論：

結果

實驗數據

實驗作圖

實驗討論：

延伸討論

參考資料

- [1] Sephadex - wikipedia. <https://en.wikipedia.org/wiki/Sephadex>. (Accessed on 10/24/2023).
- [2] Sephadex g-50 fine 9048-71-9. <https://www.sigmaaldrich.com/TW/en/product/sigma/g5080>. (Accessed on 10/24/2023).
- [3] Molecular sieve - wikipedia. https://en.wikipedia.org/wiki/Molecular_sieve. (Accessed on 10/24/2023).
- [4] Ymc-sec mab/ymc-pack diol 分子篩層析管柱 (size exclusion chromatography, sec) /凝膠過濾層析管柱 (gel filtration chromatography, gfc) - ymc taiwan co., ltd. https://ymctaiwan.com/portfolio/ymc_sec/#1607415269821-f456a30f-6b38. (Accessed on 10/24/2023).