



生物化学实验

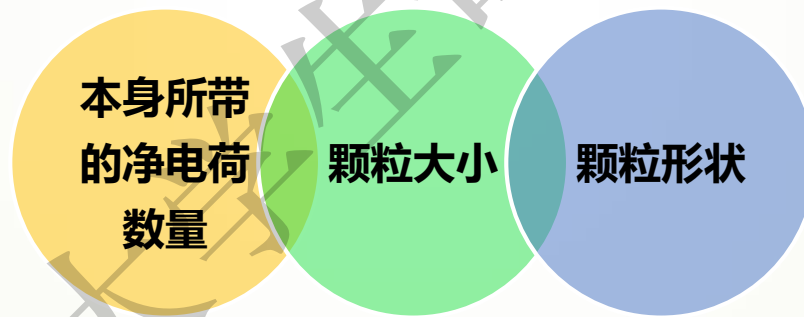
电泳技术

5.2 影响电泳的因素

北京大学 王青松 胡晓倩

影响电泳速度的自身因素

- 生物大分子带电颗粒在电场中的泳动速度与以下自身因素有关：



所带的净电荷数量越多，颗粒愈小，愈接近球形，
在电场中的泳动速度愈快；反之则慢。

影响电泳速度的外界因素

- 被分离物的泳动速度除了受到本身性质影响外，还与外界因素有关，
它们的关系为：

$$v = \frac{\xi * E * D}{C * \eta}$$

- v ：泳动速度
- ξ ：电动势
- E ：电场强度
- D ：介质的介电常数
- η ：溶液的粘度
- C ：常数，数值为 $4\pi \sim 6\pi$ ，由颗粒大小决定。

影响电泳速度的外界因素

1. 电场强度

2. 溶液pH值

3. 溶液的离子强度

4. 电渗现象

5. 焦耳热对电泳的影响

6. 支持物的影响

1. 电场强度

- 电场强度 (Electric field intensity) : 是指每厘米的电位降, 也称电位梯度。它是在给定的电泳支持物两端电极施加电压后所形成的电效应, 单位是 V/cm。公式为:

$$E = V/L \quad (\text{式中} V \text{为电压, } L \text{为两端电极的距离})$$

如: 纸电泳时, 在滤纸两端相距25 cm处, 电压降为250 V, 则电场强度为:

$$250/25 = 10 \text{ V/cm}$$

电场强度对电泳速度起着重要的作用,
电场强度越高, 带电颗粒移动速度越快。

2. 溶液pH值

- 溶液的pH值决定带电颗粒的解离程度，即所带电荷的多少。
- 对于蛋白质、氨基酸而言，溶液pH离等电点 pI 越远，颗粒所带的净电荷越多，泳动速度越快。反之越慢。
- 分离某种蛋白质混合液，需选择一个合适的pH值，使欲分离的各种蛋白质所带的电荷数量有较大差异，有利于彼此的有效分离。
- 为了使电泳时pH恒定，必须采用缓冲液作为电极液。

3. 溶液的离子强度

- 溶液的离子强度影响颗粒的电动势 ξ ，缓冲液的离子强度越高，电动势越小，则泳动速度越慢。反之，则越快。
- 若缓冲液的离子强度过低，则缓冲能力差，不易维持pH恒定，会因溶液pH变化影响泳动速度。
- 通常溶液的离子强度在0.02 ~ 0.2 mol/L之间。

4. 电渗现象

- 电渗(electroosmosis)是指液体在电场中, 对于一个固体支持物的相对移动。在有载体的电泳中, 电渗是影响电泳移动的重要因素。
- 产生电渗现象的原因是固相支持物表面存在可电离的基团, 可吸附电泳溶液中的离子, 从而使靠近介质的溶液层相对带电。如滤纸中含有 OH^- 而带负电荷, 与滤纸相接触的一薄层水溶液带正电荷, 液体便向负极移动。
- 由于电渗现象往往与电泳同时存在, 带电颗粒泳动的表观速度是颗粒本身的泳动速度与电渗携带颗粒的移动速度的矢量和。带电颗粒的泳动方向与电渗方向一致, 泳动速度加快, 反之则泳动速度降低。

5. 焦耳热对电泳的影响

- 电泳过程中，由于通电产生焦耳热，其大小与电流强度的平方成正比。
- 过热对电泳有很大的影响。温度升高，介质粘度下降，分子运动加剧，引起自由扩散变快，迁移率增加，分辨率下降。
- 当电场强度或电极缓冲液以及样品中离子强度增高，电流强度增大，焦耳热会随之增加，不仅降低分辨率，影响泳动速度，严重时还会烧断滤纸、融化琼脂糖凝胶、烧焦聚丙烯酰胺凝胶支持物。
- 解决方法：控制电压或电流，或在电泳系统中安装冷却散热装置（如循环水浴）。

6. 支持物的影响

- 电泳一般要求支持物均匀，吸附力小，否则**电场强度不均匀，影响区带的分离，实验结果无法重复。**
- 根据实验要求，对所用支持物进行预处理，降低支持物的吸附能力。