|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | | | 设备名称 | | IEF 等电聚焦电泳仪 |
| 型 号 | | Protein IEF cell |
| 编 号 | | Rotofor电泳槽和小型Rotofor电泳槽 |
| 生 产 商 | |  |
| 生产日期 | | 美国Bio-Rad |
| 购买日期 | | 2005 |
| 启用日期 | | 2005-11 |
| 设备现状 | | 可用 |
| 管理人员 | 姓名 | 杨静 |
| 电话 | 0871-5227774 |
| Email | Yangjin-18@163.com |
| 技术参数 | 主要附件 | 服务领域及功能 | | 收费标准 | 设备使用相关链接 |
| 聚焦室内径/ 长度30mm/ 15cm  样品体积35-58ml  上样量毫克-克  电源3000V/12W | Powerpac3000;再循环水冷却器；真空泵 | 蛋白等电聚焦。 | | 待定 | 1. 操作说明 |

**Rotofor液相等电聚焦电泳操作规程**

Rotofor是美国Bio-rad公司提供的液相等电聚焦的设备。其原理是蛋白样品在液态（缓冲液）而非固态的胶上电泳。在电泳样品室中通过膜将电泳室分隔成20个部分，利用某一pH值范围内的缓冲液（例如 pH3～10）在电泳过程中会在这20个部分形成一个pH梯度，而不同pI的蛋白就在电泳过程中迁移到相应部份的槽中，通过收集，就可把不同pI的蛋白分开。蛋白被分成20个组分（fractions）的同时，仍然可保留蛋白的活性，可供进一步纯化和功能检测之用。具体操作步骤如下：

1.            将整套设备安装完毕后，在阳极电极室内加入0.1M H3PO4，在阴极电极室内加入0.1 M NaOH 溶液各35 ml。

2.            在电泳槽内加入无菌去离子水以5 W恒定功率电泳至电流强度无明显变化。取出去离子水，加入18 ml样品溶液及3%的Bio-lyte (pH范围3～10)的电泳缓冲液以10 W固定功率运行。

3.            起始电压在700 V左右，在2 h后，电压逐步上升至1200 V，并在1250 V附近小范围变化。

4.            当此状态持续30 min时，停止电泳，将接样管插入电泳室上的小孔，用真空泵与接样器连接并抽真空接收20个组分的样品。

5.            样品可在eppendorf管中接收。接收后的蛋白溶液测蛋白浓度，体积及pH值。

6.            观察pH值是否形成梯度并具有一定的线性关系，测量的各组分蛋白浓度及体积则用于总蛋白量的计算，为下一步实验提供依据。