

Величина рН образца и концентрирующих слоев выбирается так, чтобы быть приблизительно на 3 единицы ниже, чем верхнее значение pK_a глицина. Поэтому, на пересечении этих слоев только около 0,1% глициновых молекул имеют отрицательный заряд. Таким образом, быстродвижущиеся хлорид-ионы постепенно замещаются ионами глицина, которые при рН 6,8 в концентрирующем геле нейтрализуются и перестают участвовать в проведении тока. Сопротивление верхней части концентрирующего геля резко возрастает, а вместе с ним возрастает и напряженность поля. Локализованные зоны высоковольтного градиента между передним и задним ионными фронтами вызывают относительно высокую скорость миграции белков в концентрирующем геле, которая не ограничивается благодаря крупнопористой структуре этого геля.

На границе концентрирующего и разделяющего гелей белки достигают высокоплотных слоев геля и замедляются из-за уменьшающегося размера пор разделяющего геля. Более высокое значение рН, с которым фронт электродного буферного раствора встречается в разделяющем геле, также заставляет глицинат мигрировать быстрее, и напряженность поля падает, что также снижает скорость движения белков. Таким образом, происходит концентрирование пробы и все компоненты образца, независимо от первоначальной высоты столбика пробы в лунке, входят в нижний гель практически одновременно в виде узкой зоны с высокой концентрацией белка.

В мелкопористом разделяющем геле начинается процесс медленной миграции белков и их фракционирования в зависимости от молекулярных масс, а то обстоятельство, что процесс разделения начинается с узкой исходной зоны, обеспечивает высокую разрешающую способность системы в целом.

Оборудование

Прибор для электрофореза состоит из:

- 1) источника постоянного тока с регулируемым напряжением и со