

разделяющий гель, а затем сверху наслаивают концентрирующий гель.

Приготовление разделяющего геля

В конической колбе готовят рассчитанное в зависимости от объема ячейки количество раствора для разделяющего геля, содержащего требуемую концентрацию акриламида, используя значения, приведенные в Таблице 1. Смешивают компоненты в указанном порядке. В тех случаях, где требуется, перед добавлением раствора аммония персульфата и тетраметилэтилендиамина (TEMED) раствор фильтруют, и, если необходимо, дегазируют раствор через мембрану из ацетата целлюлозы (с диаметром пор 0,45 мкм) под вакуумом при перемешивании. Добавляют соответствующие количества раствора аммония персульфата и TEMED как указано в табл. 1, перемешивают и немедленно заливают в промежуток между двумя стеклянными пластинами ячейки. Оставляют достаточное место для концентрирующего геля (длина зубцов гребенки плюс 1 см). Используя суженную стеклянную пипетку, тщательно наслаивают на гель сверху воду или изобутанол. Оставляют гель в вертикальном положении при комнатной температуре до завершения полимеризации.

Приготовление концентрирующего геля

После окончания полимеризации воду или изобутанол сливают и промывают верхнюю часть геля несколько раз водой, чтобы удалить остатки неполимеризованного акриламида и изобутанола, если он использовался. Сливают с верхней части геля так много жидкости, как только возможно и затем удаляют любую оставшуюся влагу фильтровальной бумагой.

В конической колбе готовят соответствующее количество раствора, содержащего требуемую концентрацию акриламида, используя значения, приведенные в табл. 2. Смешивают компоненты в том же порядке и с использованием тех же приемов фильтрации и дегазирования, что и для разделяющего геля. После добавления соответствующих количеств раствора аммония персульфата и TEMED, как указано в табл.2, перемешивают и немедленно заливают в промежуток между двумя стеклянными пластинами