

药物分析之西药分析电泳法 PDF转换可能丢失图片或格式，
建议阅读原文

https://www.100test.com/kao_ti2020/18/2021_2022__E8_8D_AF_E7_89_A9_E5_88_86_E6_c23_18291.htm

电泳法，是指带电荷的供试品（蛋白质、核苷酸等）在惰性支持介质（如纸、醋酸纤维素、琼脂糖凝胶、聚丙烯酰胺凝胶等）中，于电场的作用下，向其对应的电极方向按各自的速度进行泳动，使组分分离成狭窄的区带，用适宜的检测方法记录其电泳区带图谱或计算其百分含量的方法。各电泳法，除另有规定外，照下述方法操作。

一、纸电泳法

1. 仪器装置 包括电泳室及直流电源两部分。常用的水平式电泳室装置如图，包括两个电泳槽A和一个可以密封的玻璃(或相应材料)盖B；两侧的电泳槽均用有机玻璃（或相应材料）板C分成两部分；外格装有铂电极(直径0.5～0.8cm)D；里格为可放滤纸E的有机玻璃电泳槽架F，此架可从槽中取出；两侧电泳槽A内的铂电极D经隔离导线穿过槽壁与外接电泳仪电源相连。电源为具有稳压器的直流电源，常压电泳一般在100～500V，高压电泳一般在500～10 000V。

2. 操作法

(1) 电泳缓冲液 枸橼酸盐缓冲液(pH3.0) 取枸橼酸(C₆H₈O₇H₂O)39.04g与枸橼酸钠(C₆H₅Na₃O₇·2H₂O)4.12g，加水4000ml，使溶解。

(2) 滤纸 取色谱滤纸置1mol/L甲酸溶液中浸泡过夜，次日取出，用水漂洗至洗液的pH值不低于4，置60℃烘箱烘干，备用。可按需要裁成长27cm、宽18cm的滤纸，或根据电泳室的大小裁剪，并在距长度方向一端5～8cm处划一起始线，每隔2.5～3cm处做一记号备点样用。

(3) 点样有湿点法和干点法。湿点法是将裁好的滤纸全部浸入枸橼酸盐缓冲液(pH3.0)中，湿润后，取

出，用滤纸吸干多余的缓冲液，置电泳槽架上，使起始线靠近阴极端，将滤纸两端浸入缓冲液中，然后用微量注射器精密点加供试品溶液，每点 $10\ \mu\text{l}$ ，共3点，并留2个空白位置。干点法是将供试品溶液点于滤纸上，吹干、再点，反复数次，直至点完规定量的供试品溶液，然后用喷雾器将滤纸喷湿，点样处最后喷湿，本法适用于稀的供试品溶液。(4) 电泳于电泳槽中加入适量电泳缓冲液，浸没铂电极，接通电泳仪稳压电源挡，调整电压梯度为 $18\sim 20\text{V}/\text{cm}$ ，电泳约1小时45分钟，取出，立即吹干，置紫外光灯(254nm)下检视，用铅笔划出紫色斑点的位置。(5) 含量测定 剪下供试品斑点和与斑点位置面积相近的空白滤纸，剪成细条，分别置试管中，各精密加入 $0.01\text{mol}/\text{L}$ 盐酸溶液 5ml ，摇匀，放置1小时，用3号垂熔玻璃漏斗滤过，也可用自然沉降或离心法倾取上清液，按各药品项下的规定测定吸收度，并按吸收系数计算含量。

二、醋酸纤维素薄膜电泳法

1. 仪器装置

电泳室及直流电源同纸电泳。

2. 试剂

(1) 巴比妥缓冲液($\text{pH}8.6$) 取巴比妥 2.76g ，巴比妥钠 15.45g ，加水溶解使成 1000ml 。(2) 氨基黑染色液 取 0.5g 的氨基黑10B，溶于甲醇 50ml 、冰醋酸 10ml 及水 40ml 的混合液中。(3) 漂洗液 取乙醇 45ml 、冰醋酸 5ml 及水 50ml ，混匀。(4) 透明液 取冰醋酸 25ml ，加无水乙醇 75ml ，混匀。

3. 操作法

(1) 醋酸纤维素薄膜 取醋酸纤维素薄膜，裁成 $2\text{cm}\times 8\text{cm}$ 的膜条，将无光泽面向下，浸入巴比妥缓冲液($\text{pH}8.6$)中，待完全浸透，取出夹于滤纸中，轻轻吸去多余的缓冲液后，将膜条无光泽面向上，置电泳槽架上，经滤纸桥浸入巴比妥缓冲液($\text{pH}8.6$)中。(2) 点样与电泳 于膜条上距负极端 2cm 处，条状滴加蛋白含量约 5% 的供试品溶液 $2\sim 3\ \mu\text{l}$ ，在 $10\sim 12\text{V}/\text{cm}$ 电位梯度下电泳。电泳区

带距离以4~5cm为宜。(3) 染色 电泳完毕，将膜条取下浸于氨基黑染色液中，2~3分钟后，用漂洗液浸洗数次，直至脱去底色为止。(4) 透明 将洗净并完全干后的膜条浸于透明液中10~15分钟，取出平铺于洁净的玻板上，干后即成透明薄膜，可于分光光度计上测定和作标本长期保存。(5) 含量测定 未经透明处理的醋酸纤维素薄膜电泳图可按各药品项下规定的方法测定，一般采用洗脱法或扫描法，测定各蛋白质组分的相对百分含量。洗脱法 将洗净的膜条用滤纸吸干，剪下供试品溶液各电泳图谱的电泳区带，分别浸于1.6%的氢氧化钠溶液中，振摇数次，至洗脱完全，于一定波长下测定吸收度。同时剪取与供试品膜条相应的无蛋白部位，同法操作作对照。先计算吸收值总和，再计算各蛋白组分所占百分率。

100Test 下载频道开通，各类考试题目直接下载。详细请访问
www.100test.com