Электрофорез фукоиданов

Электродный буфер

280 мл 0,2 М HBO_4 + 220 мл 0,2 М буры, титровать до pH 8,35.

ПЕРЕД ПРИМЕНЕНИЕМ РАЗБАВИТЬ ВОДОЙ В 2РАЗА

Буфер для растворения образца

Реактив	Количество, мл
0,2 М боратный буфер pH8,8	6,2
0,05 % бромфеноловый синий	0,2
100% глицерин	1,6 мл

Заливка агарозного геля

В 40 мл 0,1 М электродного буфера 400 мг агарозы (1% агароза). Смесь поставить в микроволновую печь до расплавления агарозы (~30 сек). Остудить до 50-60°С. Залить плашки, дать агарозе застыть в течение 0.5-1h; либо использовать плашки в течение ~2h, либо не вынимая гребёнку завернуть в SaranWrap (SaranWrap накладывать на гребёнку свободно, без натяжения, иначе он её "перекосит"), и убрать в холодильник (можно хранить в течение месяца; для <1% гелей вынимать гребенку из геля можно лишь непосредственно перед применением).

Расход геля для различных типов плашек

сборная плашка 11x11см^2	110-140ml
мягкая крышка "Techne"	~90ml
крышка от иммунологического планшета	~30ml

Электрофорез фукоиданов можно проводить и в полиакриламидных гелях низкой концентрации 5-7,5 %. Электрофорез в этом случае идет намного быстрее (около 30 минут), но нужны гели большой длины для того, чтобы полисахариды могли разделиться. Пятна получаются несколько больше, чем при форезе в агарозе.

7 % акриламидный гель

Реактив	Количество на 2 пластинки	Количество на 3 пластинки
Вода	5,85 мл	14,6 мл
1,5 М трис-HCl pH 8,8	3,75 мл	9,4 мл
30% акриламид	3,5 мл	8,8 мл
50% глицерин	1,5 мл	3,8 мл
1,5 %Персульфат аммония	0,6 мл	1,5 мл
ТЕМЕД	10 мкл	25 мкл

Окраска гелей (способ, общий для всех методов разделения)

Растворите в 1 л 10% уксусной кислоты 0,25 г. Толлуидинового синего О.

Время окраски 1 час при 37 °С (полиакриламидные гели окрашиваются намного быстрее, т.к. они намного тоньше)

По окончании процедуры окраски гель отмывают водой при комнатной температуре