

BESCHREIBUNG UND ANWENDUNGSHINWEISE

Product	A+ Stärke hydrolisiert Säure-hydrolisierte Stärke- und Agarose Vormischung zur Protein-Horizontalzonen-Elektrophorese
Item-Nr.	#1350

Eigenschaften

Weißes Pulver, liefert nach Verarbeitung gemäß angegebener Vorschrift durchscheinende Gele, welche in 3 mm dünne Scheiben geschnitten werden können und der Literatur entsprechende Trennergebnisse liefern. Die Smithies Formel wurde für Plasma Proteine entwickelt, die von Leinemann für die Analyse der Isoenzyme in Pflanzengewebe. Eine gute Zusammenstellung von Formeln und Verfahren bei anderen Anwendungen findet sich bei Janice Britton-Davidian, *Starch Gel Electrophoresis in Vertebrates* (1993) *Methods in Enzymology* 224, 98-112.

Herstellung der Gele nach O. Smithies (1955) *Biochem. J.* 61, 629-63

Genaue Einhaltung der Methode sichert gute Ergebnisse. (250 ml)

- 1. Wasserbad:** Auf Kochplatte mit Magnetrührer schwach siedendes Wasserbad vorbereiten.
- 2. Stärkesuspension:** In 500 ml Saugflasche 25 g Stärke in 240 ml kaltem Boratpuffer möglichst gleichmäßig und ohne Klumpen suspendieren
- 3. Rührmagnet:** Einen sehr kräftig dimensionierten Magnetstab verwenden, der auch für ein sehr viskoses Medium brauchbar ist.
- 4. Erwärmen:** Um Verdampfen zu vermeiden Gefäß mit Alufolie oder Parafilm verschließen. Dann in das Wasserbad einstellen und rühren. Ab 55 °C wird das Gel sehr viskos, man muss kräftig rühren und gelegentlich schwenken um Klumpen aufzulösen. Nach 20 Minuten sinkt die Viskosität wieder, man rührt noch 5 Minuten mit verminderter Geschwindigkeit um Luftblasen auszutreiben.
- 5. Entlüften:** Noch ganz warm für 30 Sekunden in der Saugflasche mit Wasserstrahlpumpe sieden
- 6. Gel ausgießen:** In abgedeckte Form ausgießen, 2 Stunden lang im Kühlschrank erstarren lassen.

Herstellung der Pufferlösungen nach Smithies

Für horizontale Gele: - 0,023 M Borsäure- 0,0092 M NaOH, pH 8,6

1 Liter aus 1,42 g Borsäure + 0,368 g NaOH oder 9,2 ml 1 N NaOH Lösung

Für vertikale Gele: - 0,026 M Borsäure- 0,0104 M NaOH, pH 8,6

1 Liter aus 1,612 g Borsäure + 0,416 g NaOH oder 10,4 ml 1 N NaOH Lösung

Herstellung der Gele nach der Leinemann Mikrowellenmethode Institut für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung, Universität Göttingen. (250 ml)

- 1. Heiße Pufferlösung:** In 500 ml Saugflasche 160 ml TRIS-Citrat Puffer im Mikrowellengerät fast zum Sieden erhitzen.
- 2. Stärkesuspension:** 28 g Stärke in 80 ml kaltem Citratpuffer in einem Becher suspendieren, 5 g Sucrose zugeben, gut umrühren, Suspension zur heißen Pufferlösung in der Saugflasche geben
- 3. Erwärmen im Mikrowellengerät:** Die Suspension 1 Minute lang zum Kochen erhitzen. Zwischendurch umrühren.
- 4. Entlüften:** Noch ganz warm für 30 Sekunden in der Saugflasche mit Wasserstrahlpumpe sieden.
- 5. Gel ausgießen:** Heiß in die Form ausgießen, 30 Minuten lang bei Raumtemperatur erstarren lassen.

Herstellung der Pufferlösung nach Leinemann

0,023 M Citronensäure - 0,05 M TRIS

1 Liter aus 4,83 g Citronensäure + 6,06 g Trishydroxylaminomethan

