Protokollnummer: 12 Datum: 24. 4. 2003
Untersuchungsbeginn:13^{05} Untersuchungsende:14^{45}

Serum- Protein- Elektrophorese

1.) Aufgabenstellung: Trennung von Blutserum

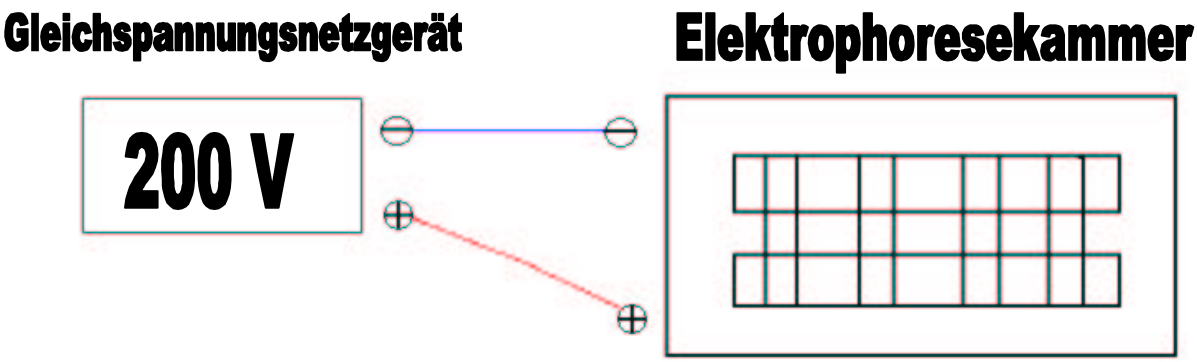
2.) Geräte: Elektrophoresekammer (Wanne + Deckel), Spezialfilterpapier, Kolbenhubpipette, Eppendorf-Hütchen, Gleichspannungsnetzgerät, 5 graue + 1 schwarze Kunststoffschale, Trockenschrank, Pinzette, 4 Objektträger, Messer, Handwalze

3.) Chemikalien: Elektrophorese-Pufferlösung pH 8,6-8,8; Bromphenolblau, Färbelösung, Entfärbelösung, Transparenzbadlösung, Kontrollserum

4.) Prinzip: Die Elektrophorese ist eine physikalische Analysenmethode. Sie dient der Trennung von Stoffgemischen deren Teilchen mehr oder weniger stark ionisiert sind. In einem elektrischen Feld wird zwischen dem Plus-Pol und dem Minus-Pol eine Mikromenge an Substanz aufgetragen. Nach Einschalten der Gleichspannung wandern die positiv geladenen Teilchen zur Kathode und die negativ geladenen Teilchen zur Anode. Die neutralen Partikel bleiben an der Auftragestelle liegen. Wenn der Strom nach einer bestimmten Zeit unterbrochen wird, lassen sich die je nach ihrer Ladungsmenge verschieden weit gewanderten Teilchen innerhalb des elektrischen Feldes fixieren.

5.) Durchführung: Den pH-Wert der Pufferlösung mit pH-Streifen kontrollieren (soll einen pH-Wert von 8,6 bis 8,8 haben). Anschließend Elektrophoresekammer mit Pufferlösung befüllen! (achten, dass Elektrodenplättchen im Puffer eingetaucht sind). Danach eine graue Kunststoffschale mit Pufferlösung befüllen. Nun 4 Acetatfolien nacheinander in die Kunststoffschale tauchen und mit Pufferlösung benetzen, danach zwischen 2 Filterpapierbögen überschüssigen Puffer entfernen. Dann in E.-Kammer einhängen (Acetatfolien müssen straff gespannt sein). Nun werden 10µl Kontrollserum mit 10µl Bromphenolblau in einem Eppendorf-Hütchen vermischt. Danach wird 1 graue Schale mit Farblösung , 3 graue Schalen mit Entfärbelösung (TCA- Lösung 1:2 mit H_2O mischen) und 1 schwarze Schale mit Transparenzbadlösung 5mm hoch befüllt! Anschließend werden auf der Kathodenseite der Acetatstreifen in der E.- Kammer jeweils 2µl Bromphenolblau-Serumgemisch (2 A.-Streifen) aufgetragen. Auf den anderen beiden Acetat-Streifen werden jeweils 2µl Kontrollserum aufgetragen. Danach wird E.-Kammer geschlossen und für 15 min 200V Spannung angelegt! Tatsächliche Dauer: 35min. Die Acetatfolien werden nun in den vorbereiteten Plastikschalen 5 min lang gefärbt und pro Schale 3- 4 min lang entfärbt! Danach werden sie 2 min lang in die schwarze Schale mit der Transparenzbadlösung gegeben ! (→ Deckel verschließen!). Dann werden die Folien auf eine Glasplatte aufgewalzt und 10 min lang im Trockenschrank bei 95 °C getrocknet!

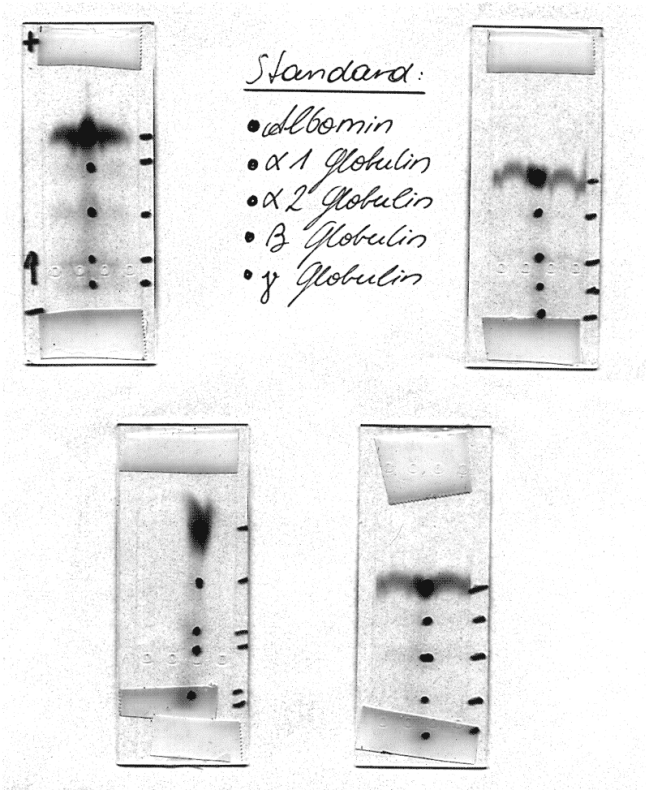
Versuchsanordnung:



6.) Ergebnis:

Nun wurde folgende Auftrennung des Blutserums erhalten:

Albumine	50-40%
α1 Globulin	2- 5 %
α2 Globulin	5- 11 %
β Globulin	9- 17 %
γ Globulin	10- 20 %



7.) Erklärungen: der Farbstoff Bromphenolblau dient zum Erkennen, wie weit die Proteine auf der Acetatfolie gelaufen sind; die Versuchszeit betrug statt den angegebenen 15min etwa 35 min!

8.) Tipps: Acetatfolien in der Entfärbelösung hin und her schwenken, damit man eine bessere Lösung des Farbstoffes erreicht.
Folien immer mit Farbe nach oben einlegen.
Folien beim Überführen in eine andere Wanne abtropfen lassen.
Elektrodenplättchen immer wieder säubern.

© Verfasst von Lindner Katrin, Schellenbacher Birgit, Goebel Maria und Gerhard Pichler
3LM 2003