

研究型大学  
药学实验系列教材



# 生物化学与分子生物学 实验指导

主编 费 正





# 生物化学与分子生物学 实验指导

第二版

王志华主编

高等教育出版社

北京·上海·天津·南京·武汉·西安·沈阳

http://www.pearsonhighered.com

研究型大学药学实验系列教材

# 生物化学与分子生物学 实验指导

---

主 编 费 正  
编 委 (以姓氏笔画为序)  
丁廷波 李 悅 费 正  
董继斌 廖雪玲  
审 阅 楼 滨

---

復旦大學出版社

**图书在版编目(CIP)数据**

生物化学与分子生物学实验指导/费正主编. —上海:复旦大学出版社,2012.2  
ISBN 978-7-309-08207-4

I. 生… II. 费… III. ①生物化学-实验-医学院校-教学参考资料  
②分子生物学-实验-医学院校-教学参考资料 IV. ①Q5-33②Q7-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2011)第 112866 号

**生物化学与分子生物学实验指导**

费 正 主编

责任编辑/魏 岚

复旦大学出版社有限公司出版发行

上海市国权路 579 号 邮编:200433

网址:fupnet@fudanpress.com http://www.fudanpress.com

门市零售:86-21-65642857 团体订购:86-21-65118853

外埠邮购:86-21-65109143

上海世纪嘉晋数字信息技术有限公司

开本 787×960 1/16 印张 8 字数 141 千

2012 年 2 月第 1 版第 1 次印刷

ISBN 978-7-309-08207-4/Q · 80

定价: 32.00 元

---

如有印装质量问题,请向复旦大学出版社有限公司发行部调换。

版权所有 侵权必究

# 前 言

当今药学科学正在经历着突破性的发展，面临着前所未有的发展机遇，生物医药和新药创制已被列为国家重大高技术产业和科技重大专项。我国医药事业的振兴、科教兴国战略的实施迫切需要大批创新人才。培养社会发展急需的创新性药学专业人才是对药学教育工作者提出的更高、更新的要求。

药学是一门基于实践的应用性学科，其理论和发明创造来源于实验结果的总结，其构想、创意和设计也都必须依赖于实践来完成。通过实验教学培养学生的创新精神、创新思维和实践能力，在药学本科教育中起着重要作用，是培养和造就创新性专业人才的突破口。

在研究型大学中，如何贯彻新的教育思想，着重培养学生的实践能力和创新能力，是我们面临的又一挑战。我们根据药学专业教学培养方案，结合近年的实验教学实践和改革经验，编写了这套《研究型大学药学实验系列教材》。本系列教材的内容具有以下特色：

(1) 将基础课与相关专业课的实验内容整合，如将有机化学实验、药物化学实验、天然药物化学实验整合为《药物化学实验指导》，将分析化学和药物分析实验整合为《药物分析实验指导》等。整合后实现了从基础操作到专业实验，再到综合设计性实验的一体化教学，减少了一些基本知识与操作技能的重复介绍，使教材内容更精练。

(2) 对实验内容进行合理精减、精心选择，删除陈旧的、不易开展的实验，精选可操作性强、实用性强的实验。

(3) 引入一些新方法和新技术，使实验教学内容紧跟学科的发展。

(4) 新增了设计性实验和综合性实验，让学生在掌握各专业基本实验技能的基础上，提高实验设计能力、综合知识能力和创新能力，便于学生发挥能动性和创

造性。

本系列教材由复旦大学出版社出版,共包括6本:《生物化学与分子生物学实验指导》、《药物分析实验指导》、《药用植物学与生药学实验指导》、《药物化学实验指导》、《药理学实验指导》和《药剂学实验指导》,可作为药学专业课程的配套实验教材,供高等医药院校药学专业学生使用,也可供成人高等学历教育选用。

本系列教材是参编作者多年教学经验的总结。教材将在教学实践的探索中边使用边修订、完善,以便紧跟各专业主干教材的不断更新,紧随各相关专业的最新发展。

复旦大学药学院  
侯爱君 叶德泳  
2011年12月

# 目 录



## 第一篇 理论篇

第一章 生物大分子的制备	3
第一节 细胞的破碎与细胞器的分离	3
第二节 蛋白质、核酸的提取、分离和纯化	4
第三节 样品的浓缩、干燥和保存	7
第二章 电泳技术	9
第一节 电泳	9
第二节 聚丙烯酰胺凝胶电泳	11
第三节 Western 印迹术	19
第三章 细胞培养	21
第一节 细胞培养基本知识	21
第二节 细胞培养基本技术	26
第三节 细胞培养常用研究方法	31
第四章 分子生物学	34
第一节 聚合酶链式反应(PCR)获取目的基因	34
第二节 外源基因与载体的连接	37
第三节 重组 DNA 的筛选鉴定	42
第四节 重组 DNA 的表达	44
第五节 表达产物的分离纯化	49

## 第二篇 实验篇

第一章 基础性实验	53
实验一 蛋白质定性实验	53
实验二 改良 Lowry 比色测定法(Hartree 法)定量蛋白质	56

实验三	紫外分光光度法定量蛋白质	59
实验四	考马斯亮蓝法(Bradford 法)定量蛋白质	60
实验五	肝脏谷丙转氨酶活性测定	61
实验六	血中葡萄糖的测定 ——葡萄糖氧化酶-过氧化物酶法	64
实验七	肝糖原的提取与鉴定	65
实验八	血清脂蛋白琼脂糖电泳	66
实验九	血清总胆固醇测定	67
实验十	血清高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇的测定	69
实验十一	醋酸纤维薄膜电泳	72
实验十二	不连续聚丙烯酰胺凝胶电泳	73
实验十三	聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS)	76
实验十四	等电聚焦电泳	78
实验十五	Western 印迹术	80
实验十六	聚合酶链式反应(PCR)	81
实验十七	反转录-聚合酶链式反应(RT - PCR)	84
实验十八	真核细胞总 RNA 的制备	86
<b>第二章</b>	<b>综合性实验</b>	88
实验一	乳汁过氧化物酶的提取纯化与活性鉴定	88
实验二	动物组织中核酸的提取、鉴定及含量测定	91
实验三	重组质粒的构建与筛选	95
实验四	5 - 氟尿嘧啶对肝癌细胞株 HepG2 的杀伤实验	109
<b>第三章</b>	<b>设计性实验</b>	112
实验一	血清白蛋白的分离纯化及鉴定	113
实验二	血浆高密度脂蛋白、低密度脂蛋白的分离及鉴定	114
实验三	糖尿病的发病机制与分型	115
实验四	乳酸脱氢酶同工酶(LDH)的测定与急性心肌梗死(AMI)的临床鉴定	116
<b>附录</b>	<b>常用缓冲液配方及单位换算</b>	118

# 第一篇 理

## 论

### 篇





# 第一章

## 生物大分子的制备

生物大分子在生物化学这个领域里主要是指蛋白质(或酶)和核酸,它们是生命活动的物质基础。研究这些大分子物质的结构和功能已成为探索生命奥秘的中心课题。而要研究生物大分子,首先需要提取高纯度的具有生物活性的目的物质。

生物大分子的分离制备与一些传统的化学制品的分离制备相比有着较大的差异:待分离的生物大分子在原料中的含量较少或极少,而且经过繁复的分离过程更会增加它们的损耗;生物大分子在生物体内是具有一定的生物活性的,一旦离体极易造成生物活性的丧失,所以在分离制备的时候选择合适的条件如 pH 值、缓冲溶液、温度和离子强度等是防止生物大分子失活的重要步骤;生物大分子种类繁多,分离制备的方法也各不相同,不同的方法得到的结果也不相同。新型的方法和仪器不断地出现,为更好的分离制备提供了便利条件。在具体的实验中,为得到最好的分离效果,应灵活使用各种实验方法。

生物大分子分离制备过程主要包括:样品预处理,包括组织和细胞的破碎以及细胞器的分离等;蛋白质、核酸的提取、分离和纯化;样品的浓缩、干燥和保存。

### 第一节 细胞的破碎与细胞器的分离

微生物、植物和动物因其自身含有蛋白质等大分子物质,或者能够分泌大分子物质到培养基中,均可以作为提取生物大分子的原料,但提取时应注意选用样本含量丰富的生长期。如微生物在对数生长期,酶和核酸的含量较高,可以获得较高的产量。

#### 一、细胞的破碎

一般除了可以分泌到细胞外的大分子如蛋白质(酶)等可以直接通过离心的方法来进行分离外,大部分样本需要通过细胞的粉碎来获取目的物。常用的细胞粉碎方法如下。

1. 组织粉碎器 通过坚固的刀片的剪切力破碎组织和细胞,释放细胞或大分子到溶液中去。

2. 玻璃匀浆器 由一根表面磨砂的玻璃杵和一个内壁磨砂的玻璃管组成,通过它们之间的相互挤压和摩擦使细胞破碎。此法对生物大分子破坏较少,是用得较多的细胞破碎方法。

3. 超声波 利用一定功率超声波处理细胞悬液,使细胞急剧震荡破裂,释放内容物。在此处理过程中会产热,可用冰浴降温。

4. 反复冻融 将细胞保存在-20℃以下冷冻,37℃融化。这样反复几次即可使细胞破碎。

5. 化学处理 一些化学试剂(如苯、甲苯)、抗生素、表面活性剂(如 SDS、Triton X-100)、金属螯合剂(EDTA)、变性剂等都可以改变细胞膜的通透性,使内容物有选择的渗透出来。

6. 酶法 利用一些特异性的酶将细胞壁(膜)消化溶解的方法。如溶菌酶、蛋白酶、内切酶、糖苷酶等。

## 二、细胞器的分离

细胞器的分离一般可采用差速离心方法和密度梯度离心法,这是利用细胞内各种细胞器的分子量大小不同,经离心后沉淀于不同的区域而得到所需的组分。

常用于密度梯度离心的介质有:蔗糖、聚蔗糖(ficoll)、聚乙二醇等。

## 第二节 蛋白质、核酸的提取、分离和纯化

### 一、蛋白质(酶)的提取

经过上述的细胞破碎和适当的提取,就可以从中提取蛋白质(酶)了。所谓提取是指在一定的条件和溶液中,让被提取的生物大分子充分释放出来的过程。影响提取的因素主要是被提取物在溶液中的溶解度及由固相扩散到液相的难易程度。提取的原则是“少量多次”,分多次提取比一次提取的效果要好得多。

1. 水溶液提取法 大部分蛋白质都可以溶于缓冲溶液和稀酸溶液中,而蛋白质的溶解度会随着温度的提高而增加。但伴随着温度的提高,会使蛋白质变性失活的可能性增加。故一般在提取蛋白质(酶)时,应保持在较低的温度环境下(4℃以下)操作。另外也可采用一些蛋白酶的抑制剂如 PMSF(苯甲基磺酰氟)、二异丙基氟磷酸、碘乙酸等来防止蛋白质的变性失活。

在蛋白质的提取过程中还可通过调节 pH 值或盐浓度来提高蛋白质的得率。

蛋白质(酶)是一种两性电解质,用稀酸或稀碱调节 pH 值在该蛋白质的等电点附近,一般控制在 pH 6~8 范围内(pH 值应在蛋白质和酶的稳定范围内,过酸或过碱均会导致蛋白质的失活)。总的来说,碱性蛋白质可用偏酸的缓冲液来提取,反之用偏碱的缓冲液来提取。

盐浓度(即离子强度):离子强度对生物大分子的溶解度有极大的影响。有些物质,如 DNA-蛋白质复合物,在高离子强度下溶解度增加。而另一些物质,如 RNA-蛋白质复合物,在低离子强度下溶解度增加,在高离子强度下溶解度减小。绝大多数蛋白质和酶,在低离子强度的溶液中都有较大的溶解度,低浓度的中性盐可促进蛋白质的溶解,该现象称为盐溶。盐溶现象的产生主要是少量离子的活动,减少了偶极分子之间极性基团的静电吸引力,增加了溶质和溶剂分子间相互作用力的结果。所以低盐溶液常用于大多数生化物质的提取。通常使用 0.02~0.05 mol/L 磷酸缓冲液或 0.09~0.15 mol/L NaCl 溶液提取蛋白质(酶)。

2. 有机溶剂提取法 并不是所有的蛋白质(酶)都可以用稀酸(碱)或者盐溶液来溶解的,有些蛋白质和脂质结合得比较牢固或分子中有较多的非极性侧链,可用一些有机溶剂如乙醇、丙酮、异丙醇、正丁醇等来溶解,这些溶剂可以与水互溶或部分互溶,同时具有亲水性和亲脂性。其中,正丁醇在 0℃ 时在水中的溶解度为 10.5%,40℃ 时为 6.6%,同时又具有较强的亲脂性,因此常用来提取与脂结合较牢或含非极性侧链较多的蛋白质、酶和脂类。如动物组织中一些线粒体及微粒上的酶常用正丁醇提取。

有些蛋白质(酶)既溶于稀酸、稀碱,又能溶于含有一定比例的有机溶剂的水溶液中,在这种情况下,采用稀的有机溶液提取常常可以防止水解酶的破坏,并兼有除去杂质提高纯化效果的作用。

## 二、核酸的提取、纯化、浓缩和定量

1. 核酸的提取和纯化 核酸的提取没有统一的方法,但第一步都是将细胞破碎,然后去除蛋白质以及多糖等。细胞器的核酸提取一般采取先提纯细胞器,再溶解细胞器膜,待释放出细胞器核酸后,再进一步提取纯化之,利用差速离心通常能达到纯化细胞器的目的。而天然细胞内的脱氧核糖核酸与核糖核酸分别与蛋白质结合形成 DNP(脱氧核糖核蛋白)和 RNP(核糖核蛋白)。要提取 DNA 或者 RNA 就要先除去与它们结合的蛋白质,DNP 和 RNP 在不同的盐浓度溶液中的溶解度不同,如 DNP 在 0.14 mol/L NaCl 溶液中的溶解度很低,而在 1 mol/L NaCl 溶液中的溶解度很大,而 RNP 在 0.14 mol/L NaCl 溶液中的溶解度却很好。这样利用 DNP 和 RNP 在不同盐浓度中的不同溶解度就可以顺利地将它们分开。

天然的 DNA 分子有线性的也有环形的,根据 DNA 分子的大小和形状,利用

蔗糖梯度区带超速离心或氯化铯密度梯度平衡超速离心,可将它们分离开来。

天然的 RNA 有 mRNA、rRNA 和 tRNA 等,分离时一般采用先分离细胞核、核蛋白和线粒体等相应的细胞器,然后再从这些细胞器中分离某一类的 RNA。

但最终要将核酸与蛋白质彻底分开却不是一件轻而易举的事情,常用的有阴离子去垢剂,如十二烷基硫酸钠(SDS),脱氧胆酸钠,4-氨基水杨酸钠和蔡-1,5-二磺酸钠等,它们都可以起到将核酸从蛋白质中分离出来的作用,此外还具有一定的抑制核糖核酸酶和溶解细菌和病毒的作用。实验室中另外一个常用的分离核酸与蛋白质的方法是酚-氯仿混合溶液,其可使蛋白质变性并可抑制核糖核酸酶的活性。另外由于氯仿的比重较大,可使有机相和水相完全分开来,大大地减少了水相中的酚残留量。如要防止在振摇过程中产生气泡,可在酚-氯仿混合溶液中加入少许的异戊醇。

另外也可以用一些酶来去除核酸中的蛋白质或酶,可用蛋白水解酶如链蛋白酶、蛋白酶 K 等将蛋白质消化后再用有机溶剂来抽提核酸,也可用核糖核酸酶将 DNA 分子中少量 RNA 杂质除去。

在核酸的提取和分离过程中,还要注意防止核酸的降解,保证其一级结构的完整性。在提取核酸的过程中有许多因素能导致 DNA 降解成小片段,例如:①物理因素降解。因为 DNA 分子量较大,机械张力或高温很容易使 DNA 分子发生断裂。因此,在实际操作时应尽可能轻缓,尽量避免过多的溶液转移,剧烈振荡等,以减少机械张力对 DNA 的损伤,同时也应避免过高的温度。②细胞内源 DNA 酶的作用。细胞内常存在活性很高的 DNA 酶,细胞破碎后,DNA 酶便可与 DNA 接触并使之降解。为避免和钝化 DNA 酶的作用,在溶液中常加入 EDTA, SDS 以及蛋白酶等。EDTA 具有螯合  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$  的作用,而  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$  是 DNA 酶的辅因子。SDS 和蛋白酶则分别具有使蛋白质变性和降解的作用。③化学因素也会降解 DNA。如在过酸的条件下,由于 DNA 脱嘌呤而导致 DNA 的不稳定,极易在碱基脱落的地方发生断裂,因此,在 DNA 的提取过程中,应避免使用过酸的条件。

2. 核酸的浓缩 最常用的方法为乙醇沉淀法。在待浓缩的样品中加入中等浓度的单价阳离子(如 2~2.5 mol/L 醋酸铵、0.3 mol/L pH 5.2 醋酸钠、0.8 mol/L 氯化锂或 0.2 mol/L 氯化钠等,DNA 和 RNA 的沉淀醋酸钠用得最多)和一定量的无水乙醇,然后在冰水浴中放置 15~30 min, 4°C 12 000 g 离心 10 min, 弃上清液得沉淀。在沉淀中加入 70% 乙醇 0.5~1 ml, 4°C 12 000 g 离心 2 min 洗涤,弃上清液得沉淀。最后将乙醇挥发后即可。具体操作可用 1/10 的单价阳离子储存液和 2 倍体积的无水乙醇。

3. 核酸的定量及纯度检定 DNA 和 RNA 的定量检测可通过测定 260 nm

和 280 nm 处的紫外线吸收。当  $A_{260} = 1.0$  时相当于 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$  的双链 DNA、40  $\mu\text{g}/\text{ml}$  单链 DNA 或 RNA 或者 20  $\mu\text{g}/\text{ml}$  的单链寡核苷酸。而利用  $A_{260}/A_{280}$  的比值可检查 DNA 或 RNA 的纯度, DNA 的  $A_{260}/A_{280}$  应为 1.8, RNA 的  $A_{260}/A_{280}$  应为 2.0。而当它们有污染的时候, 则  $A_{260}/A_{280}$  的比值要明显低于上述值。

### 第三节 样品的浓缩、干燥和保存

大分子生物样品经过一系列的分离提取和层析会导致样品的稀释, 而许多分析和利用都需要高浓度/高纯度的样品, 所以大分子样品的浓缩、干燥和保存至关重要。

#### 一、蛋白质浓缩技术

1. 透析袋浓缩法 利用透析袋浓缩蛋白质溶液是应用最广的一种。将要浓缩的蛋白质溶液放入透析袋扎紧, 把高分子[分子量(MW): 6 000~12 000]聚合物如聚乙二醇或蔗糖等撒在透析袋外即可。但在使用聚乙二醇时在个别情况下会使蛋白质稍有变性, 而优点是形成的平衡时间较短, 通常到达 30% 时蛋白质就会达到最大量的沉淀。另外也可将吸水剂配成 30%~40% 浓度的溶液, 将装有蛋白液的透析袋放入即可。操作时应在 4℃ 环境中, 以免蛋白质变性。吸水剂用过后, 可放入烘箱中烘干反复使用。

2. 冷冻干燥浓缩法 此为浓缩蛋白质的最佳方法之一, 它既不易使蛋白质变性, 又可保持蛋白质中天然成分。其原理是在冷冻状态下直接升华去除水分。具体做法是将蛋白液在低温下冷冻, 然后移置干燥器内(干燥器内装有干燥剂, 如 NaOH、 $\text{CaCl}_2$  和硅胶等)。密闭, 迅速抽真空, 并维持一定的真空状态数小时后即可获得含有蛋白质的干燥粉末。蛋白质的粉末形状与其所含的盐有关。干燥后的蛋白质可保存于 4℃ 环境中。另外也可用专业冻干机进行冷冻干燥, 效率更高并且一次容量也大。

3. 吹干浓缩法 可将待浓缩的蛋白质溶液装入透析袋内, 在 4℃ 环境下用电风扇吹。此法较为简单, 但速度较慢。

4. 超滤膜浓缩法 超滤法是使用一种特殊的薄膜对溶液中各种溶质分子进行选择性的快速过滤方法, 液体在一定压力下(氮气压或真空泵压)通过膜时, 溶剂和小分子可透过, 而大分子被截留。这是近年来发展起来的新方法, 最适于生物大分子尤其是蛋白质和酶的浓缩或脱盐, 并具有成本低、操作方便、条件温和, 能较好地保持生物大分子的活性, 回收率高等优点。应用超滤法关键在于膜的选

择,不同类型和规格的膜,其水的流速,分子量截留值(即大体上能被膜保留分子的最小分子量值)等参数均不同,必须根据具体需要来选用。另外,超滤装置形式,溶质成分及性质、溶液浓度等都对超滤效果有一定影响。

5. 凝胶浓缩法 选用孔径较小的凝胶,如 Sephadex G - 25 或 G - 50,将凝胶直接加入蛋白质溶液中。根据干胶的吸水量和蛋白质溶液需浓缩的倍数而称取所需的干胶量。放入冰箱内,凝胶粒子吸水后,通过离心除去,但成本较大。

6. 其他浓缩法 其他的蛋白质浓缩方法还有:丙酮、三氯醋酸沉淀蛋白质,但会引起蛋白质的变性,可用于 SDS - PAGE;低温有机溶剂沉淀法也可沉淀蛋白质,要注意 pH 值的影响;离子交换层析等都可以用于蛋白质的沉淀。

## 二、干燥

生物大分子制备得到的产品,为防止变质,易于保存,常需要干燥处理,最常用的方法是冷冻真空干燥。冷冻真空干燥适用于不耐高温,易于氧化物质的干燥和保存。整个装置包括干燥器、冷凝器及真空干燥。真空干燥的原理:在抽真空的条件下,同时增加了温度因素。在相同压力下,水的蒸汽压随温度下降而下降,故在低温低压下,冰很易升华为气体。操作时一般先将待干燥的液体冷冻到冰点以下使之变成固体,然后在低温低压下将溶剂变成气体而除去。利用此法干燥得到的产品具有疏松、溶解度好、保持天然结构等优点,适用于各类生物大分子的干燥保存。

## 三、保存

生物大分子的稳定性与保存方法的关系很大。干燥的制品一般比较稳定,在低温情况下其活性可在数日甚至数年无明显变化,储藏要求简单,只要将干燥的样品置于干燥器内(内装有干燥剂)密封,保存于 0~4℃ 冰箱即可。

液态储藏时应注意以下几点:

(1) 样品不能太稀,必须浓缩到一定浓度才能封装储藏,样品太稀易使生物大分子变性。

(2) 一般需加入防腐剂和稳定剂,常用的防腐剂有甲苯、苯甲酸、氯仿、百里酚等。蛋白质和酶常用的稳定剂有硫酸铵糊、蔗糖、甘油等,如酶也可加入底物和辅酶以提高其稳定性。此外,钙、锌、硼酸等溶液对某些酶也有一定保护作用。核酸大分子一般保存在氯化钠或柠檬酸钠的标准缓冲液中。

(3) 储藏温度要求低,大多数可在 0℃ 左右冰箱内保存,但有些应存于低温冰箱或超级低温冰箱,具体应视不同物质而定。

# 第二章

## 电泳技术

### 第一节 电泳

#### 一、原理

电泳是指带电粒子在电场中，受电场力的作用向与其自身所带电荷相反方向电极泳动的过程。电泳的泳动速度受3种因素影响：分子量的大小、分子所带的电荷量和本身的生物学与化学性质。

电泳过程是带电颗粒在电场的作用下发生迁移的过程。许多重要的生物分子，如氨基酸、多肽、蛋白质、核苷酸、核酸等都具有可电离基团，它们在某个特定的pH值下可以带正电或负电，在电场的作用下，这些带电分子会向着与其所带电荷极性相反的电极方向移动。电泳技术就是在电场的作用下，由于待分离样品中各种分子带电性质以及分子本身大小、形状等性质的差异，使带电分子产生不同的迁移速度，从而对样品进行分离、鉴定或提纯的技术。

一般来说，带电粒子可认为是球形，其在电场中泳动的速度受到两种力的影响：即电场中的推力  $F = EQ$  ( $E$  是电场强度， $Q$  是带电物质所带的电荷数)，以及带电粒子在电场中泳动时受到的阻力  $F' = 6\pi\gamma\eta v$  ( $6\pi$  为常数， $\gamma$  是带电粒子分子的半径， $\eta$  是介质的黏滞常数， $v$  为带电粒子泳动的速度)。当带电粒子在电场中受到的推力与阻力达到平衡时 ( $F = F'$ ) 即  $EQ = 6\pi\gamma\eta v$ ，由此可得出带电粒子在电场中泳动速度  $v = \frac{EQ}{6\pi\gamma\eta}$ 。从此式可看出，带电粒子在电泳时泳动的速度与其所带的电荷量成正比，与分子的半径成反比。也就是说，带电粒子的半径小、分子量小、带电荷数多，则在电场中泳动的速度就快，反之则相反。

各种带电分子，在同一pH值的缓冲液中，它们各自所带的电荷数也不同，分子量也不同，因此在电场中的泳动的速度也不同，从而起到分离各种蛋白质的作用。

#### 二、电泳分类

电泳按其分离的原理不同可分为：①区带电泳：电泳过程中，待分离的各组分