不同纯度水对绵羊蛋白提取及双向电泳的影响

水作为反应体系溶剂，可以增加反应体系均匀度、消除阻碍反应物间接触的因素、增加反应物碰撞的几率。绵羊卵巢组成复杂，富含脂类等干扰物质，适于绵羊卵巢蛋白质组学研究的双向电泳系统的最优条件尚未建立。

本实验分别用超纯水、去离子水、蒸馏水和自来水作为反应溶剂，对绵羊卵巢进行蛋白质提取及 2-DE 分离，旨在检测不同级别水对绵羊卵巢蛋白提取量及双向凝胶电泳的分离容量、灵敏度和分辨率的影响。

不同纯度水对卵巢蛋白提取的影响

SAS9.0 统计对 4 种不同级别水做溶剂时绵羊卵巢蛋白质提取结果显示，表明不同级别水做溶剂时绵羊卵巢蛋白质提取结果之间差异极显著，其中纯水和去离子水做溶剂提取蛋白含量显著高于蒸馏水和自来水做溶剂提取蛋白质的含量（$P<0.05$），超纯水和去离子水做溶剂提取蛋白含量之间差异不明显（$P>0.05$）。蒸馏水和自来水做溶剂提取，蛋白含量之间差异不显著（$P>0.05$）。

反应溶剂	蛋白质含量（μg/μL）
超纯水	$3.014\ 0\pm1.294\ 6^{A}$
去离子水	$2.702\ 0\pm0.654\ 7^{A}$
蒸馏水	$1.698\ 0\pm1.685\ 0^{B}$
自来水	$1.588\ 0\pm1.205\ 6^{B}$

超纯水、去离子水、蒸馏水和矿泉水的电导率不同，溶剂中含有的离子数量就不同。此反应中，溶剂分子或多或少会影响反应分子的性质，甚至参与其作用，因而在溶液中往往随溶剂离子数量的不同而改变其反应速度和反应效率。在相同的提取条件和时间下，反应速率就不同，因而提取蛋白的量也不同。

不同纯度水对卵巢蛋白 2-DE 的影响

本研究中除不同电导率的水外，其他因素均相同。在 IEF 中，由于不同级别水的电导率之间差异显著。对于蛋白质等电点的影响较大，所以等电聚焦的斑点差异显著，电导率最小的超纯水斑点最多，且显著高于其他三种方法。在 SDS-PAGE 不连续电泳中，电泳缓冲液使用的 Tris-甘氨酸缓冲系统。在浓缩胶中，其 PH 环境呈弱酸性。因此，甘氨酸解离很少，其在电

场的作用下游动效率低。当样品进入分离胶后，由于胶中 PH 值的增加，呈碱性，甘氨酸大量解离，泳动速率增加，在电场的作用下，蛋白分子根据其固有的带电性和分子大小进行分离，因此离子的多少在此反应体系中影响至关重要。

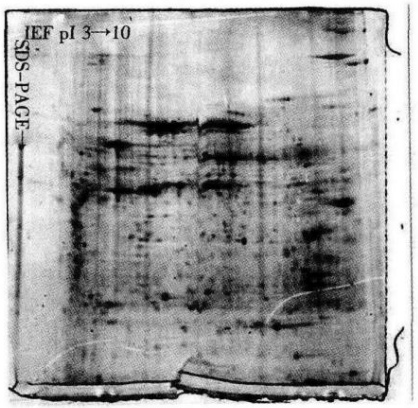

图2　超纯水做溶剂2-DE图谱

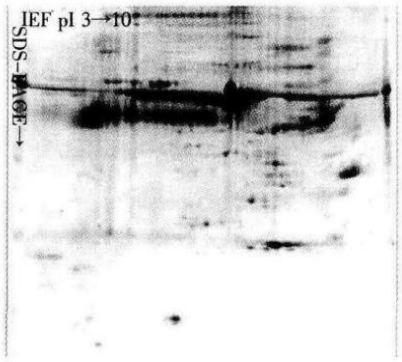

图4　蒸馏水做溶剂2-DE图谱

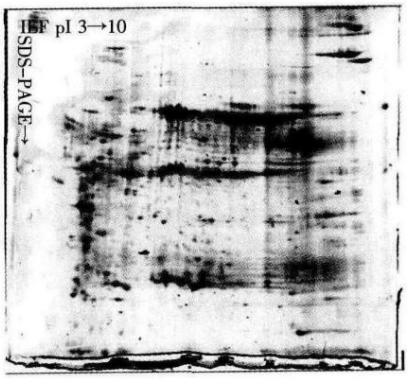

图3 去离子水做溶剂2-DE图谱

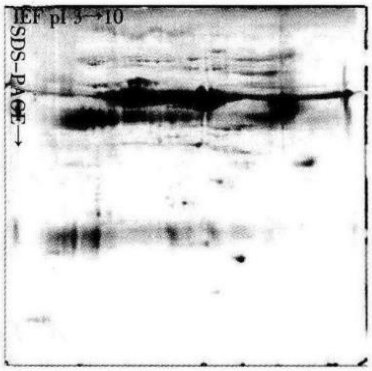

图5　自来水做溶剂2-DE图谱

超纯水、去离子水、蒸馏水和矿泉水的电导率不同，其含有的离子数量也不相同，因而在此反应中会对反应的速率和反应的效率有一定的影响。而且，样品中的盐会增加凝胶条的电导，使其无法达到设置的电压，从而影响蛋白质聚集。带电小分子会引起水的流动，使胶条的一端膨胀而另一端变干，导致两端的酸碱性蛋白无法聚焦，造成拖尾或丢失，使电泳图谱出现水平条纹。

结论

研究运用了不同纯度水，超纯水，去离子水，蒸馏水和自来水作为反应溶剂，对绵羊卵巢蛋白进行提取，运用 PDquest8.0 图像分析软件对 2-DE 图谱进行分析，结合 SAS9.0 软件进行数据分析，根据蛋白质提取量，2-DE 斑点数以及 2-DE 图谱分辨率效果，得出在绵阳卵巢蛋白质组研究时，超纯水做溶剂效果最好，去离子水次之，蒸馏水和自来水不适合做溶剂进行绵羊卵巢蛋白质组研究。