

## 如何制备密度梯度离心液？

密度梯度离心方法是分离生物小分子常用的方法，广泛用于病毒的分选纯化、亚细胞器、蛋白质、质粒 DNA、RNA 等的分离，其最显著的特点是获得样品的纯度高。

制备密度梯度离心液是密度梯度离心分离的前提条件。

如何制备密度梯度离心液？常见的制备方法有层铺法、冻融法、混合法和自动梯度法。

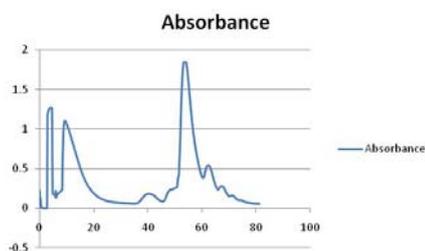
以 5%-20%蔗糖溶液密度梯度为例：

梯度制备方法	层铺法	冻融法	混合法	自动梯度法
步骤复杂程度	a) 配置不同浓度的蔗糖溶液 5%、10%、20% b) 用移液器先将低浓度的蔗糖溶液加入离心管底，然后将吸头插入管底，加入较浓的溶液，此时浓度高的溶液将浓度低溶液顶到上层 c) 如上述依次反复加入	a) 配置 20%浓度的蔗糖溶液 b)-40 度冰箱冷冻至全部冻结，一般过夜 c) 取出置于室温融化数小时即自成梯度	a) 配置 5%和 20%最大和最小浓度的溶液，分别加入两个容器内 b) 通过泵分别以同体积泵入第三容器混合后立即导入离心管中	a) 只需 1:1 体积在离心管中加入高低浓度溶液 b) 放入梯度制备器中离心即可
效率	1 个/15min	1 批/18hour	1 个/10min	最快 6 个/1min
是否线性梯度	点梯度，非线性	曲线形梯度（分为凸指数和凹指数），非线性，梯度范围较窄，最低密度处常常是水溶液，难以支持上样时样品。	线性度较差，如果连续制备，只有第一管的线性梯度最好，后面几管的梯度越来越差，而且原溶液死体积大，浪费严重	完全线性
梯度重复性	差（即使同一个实验员）	较差	较差	高
超速离心过程	形成线性趋势的同时进行区带分离	直接进入区带分离	直接进入区带分离	直接进入区带分离

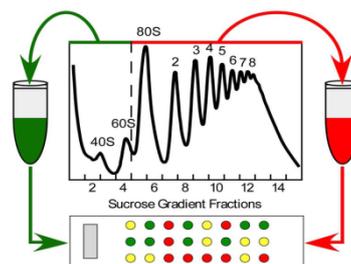
分离效果	欠佳	欠佳	欠佳	有助于提高纯度和分离度，降低分离时间
------	----	----	----	--------------------

为什么要制备线性密度梯度？

实验证明，线性梯度更有利于提高后期的分离效果，线性密度梯度可使不同颗粒物在长时间离心后沉降到不同的位置，从而最大限度的将各种组分分离开来，体现在谱图上即线性密度梯度分离的谱峰更多，组分更多。如下图比较：



层铺法非线性梯度核糖体分离



自动法线性梯度核糖体图谱<sup>[1]</sup>

[1] David G. Hendrickson, PLoS Biology, November 2009, Volume 7, Issue 11

由加拿大 Biocomp 全自动密度梯度制备仪制得线性密度梯度

线性密度梯度还可以使样品在超速离心时，直接进入分离过程，从而大大减少了超速离心的时间，对于等密度梯度离心尤为明显；而非线性密度梯度需要一边进行梯度线性化分布一边分离样品，这使得分离过程复杂而漫长。

Biocomp 自动梯度制备仪可以快速高效制备线性密度梯度，最快 1min 内制备 6-8 个离心管样品，重复性高，多种梯度程序内置，梯度液适用广泛，包括 SUCROSE、GLYCEROL、OPTIPREP、NYCODENZ、FICOLL、PERCOLL、METRIZAMIDE、RENOGRAFIN、NaCl、CsCl、KCl 等梯度介质。

**Biocomp 全自动密度梯度制备和分离系统中国区独家代理商-**

**北京五洲东方科技发展有限公司**

**010-8238866-310**