

Elektroforézis

Alapok

Töltött részecskék (ionok, felületi töltéssel bíró részecskék) elválasztása elektromos erőterben való vándorlási sebességük alapján

Elválaszthatók

- szervesetlen anionok és kationok
- aminosavak
- vitaminok
- gyógyszerek
- fehérjék
- DNS, RNS
- Nukleotidok

páratlanul nagy hatékonysággal

Az elektroforézis kifejlesztése



1930s

Arne Tiselius
az elektroforézis módszerének
kidolgozása szérum fehérjék
tanulmányozására
kémiai Nobel díj 1948



1980s

Jorgenson & Lukacs
modern kapilláris elektroforézis
gyorsabb
sokkal nagyobb felbontás
kis mennyiségű minta

Elektroforézisen alapuló technikák

- Kapilláris elektroforézis
 - Kapilláris zónaelektroforézis (CZE)
 - Micelláris elektrokinetikus kromatográfia (MEKC)
 -
- Gélelektroforézis
 - Agaróz gélelektroforézis DNS, RNS elválasztására
 - Poliakrilamid gélelektroforézis (PAGE) fehérjék, kisebb DNS-ek elválasztására
 - Na-dodecilszulfát poliakrilamid gélelektroforézis (SDS-PAGE) fehérjék elválasztására molekulatömegük alapján

HPLC és kapilláris elektroforézis összehasonlítása

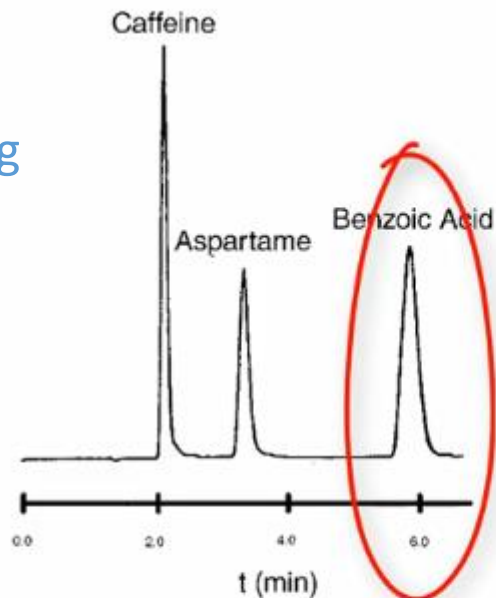
keskenyebb csúcsok
nagyobb elméleti tányérszám
jobb elválasztás

Hatékonyság

rövidebb idő alatt

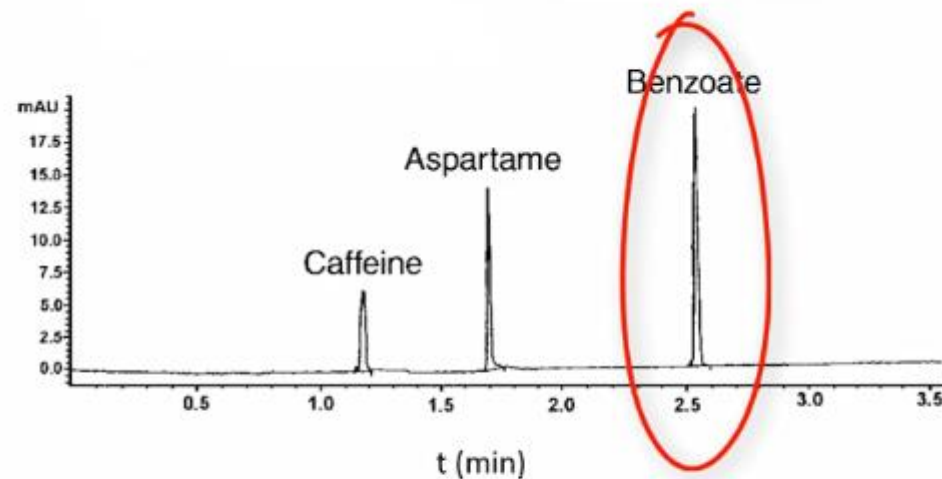
<<

Mintamennyiség
néhány 10 μ l



HPLC - kromatogram

Mintamennyiség
0,1-10 nl



kapilláris elektroforézis - elektroferogram

A készülék és az elektroosztatikus áramlás

<https://www.youtube.com/watch?v=3X-ZSdF9hWg>

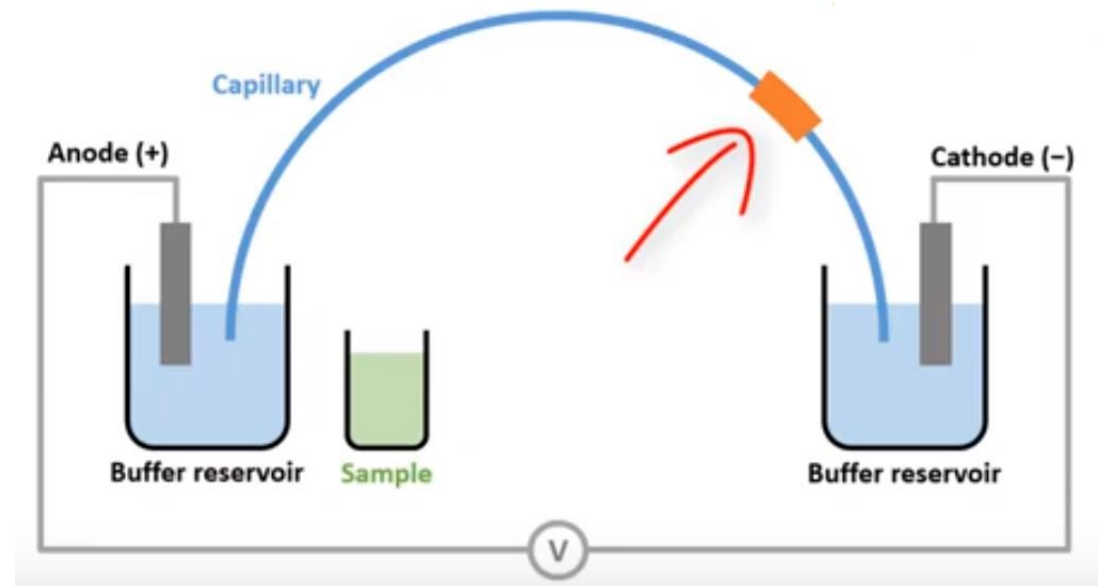
Az elektroforetikus mozgékonyág

Detektorok

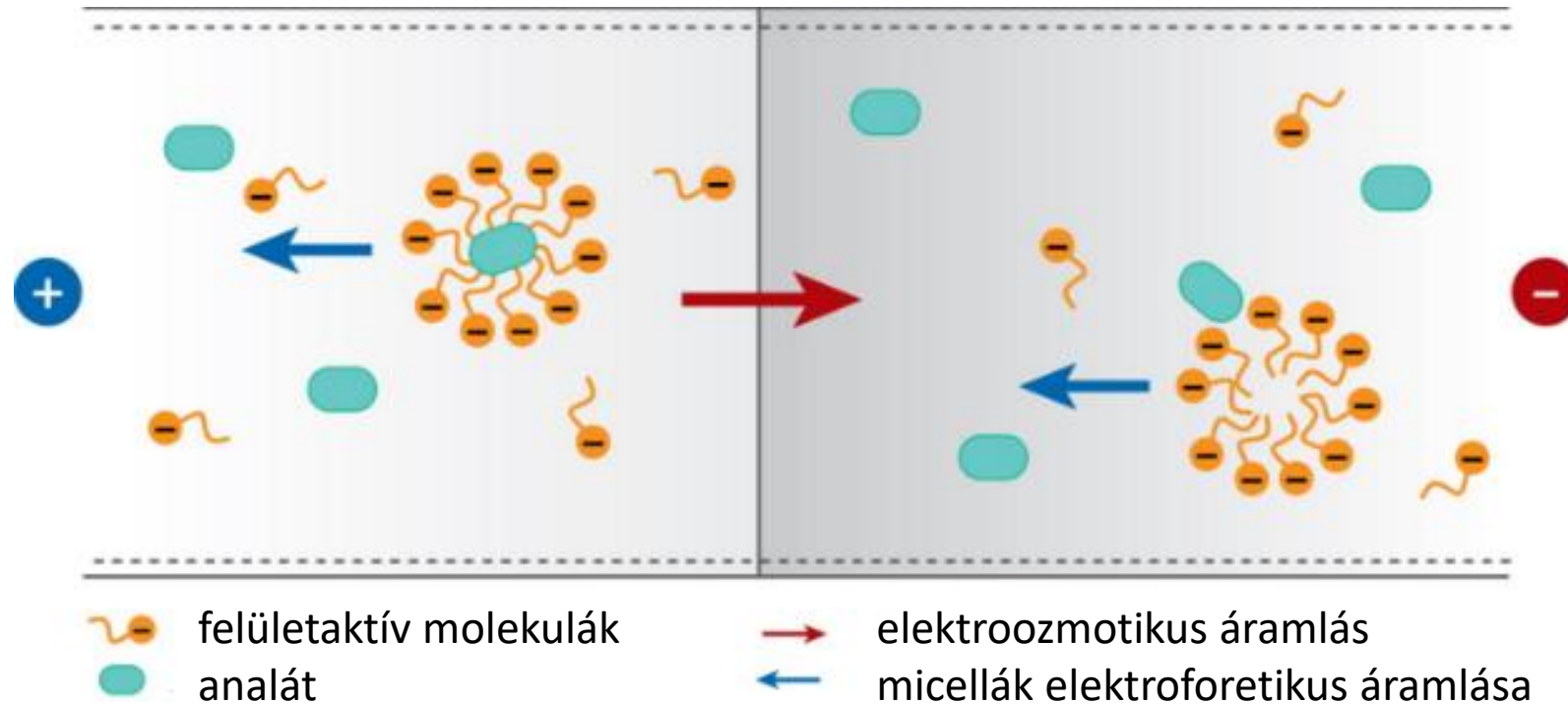
„on-column” detektálás

hasonlóak a HPLC detektorokhoz

- UV-Vis
- fluoreszcens
- elektrokémiai
- MS



Micelláris elektrokinetikus kromatográfia



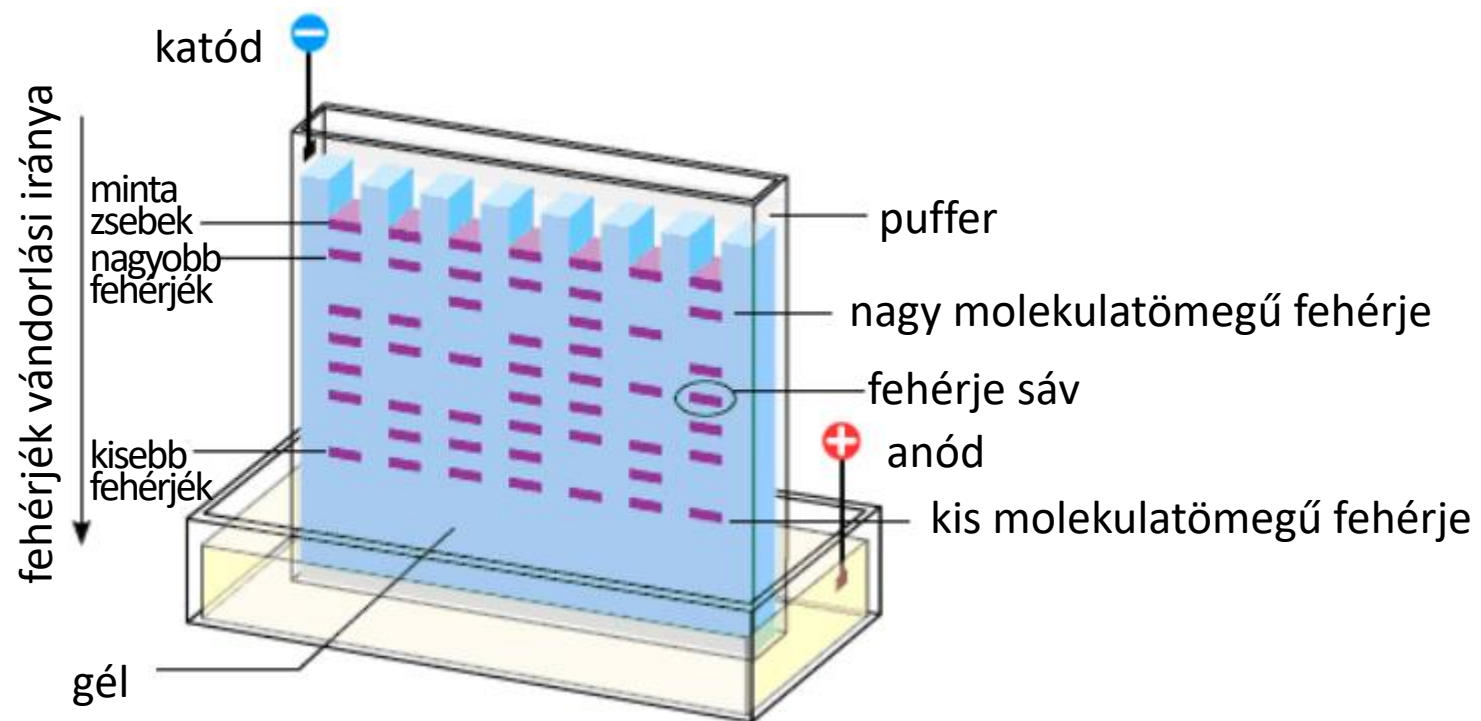
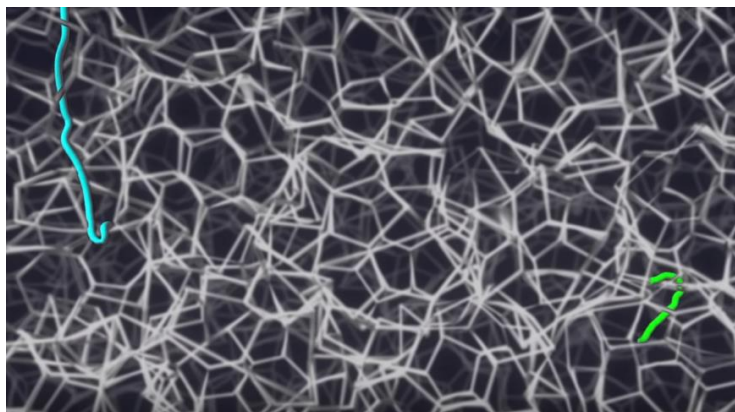
A **semleges analátot** micellákba zárják a negatív töltésű felületaktív molekulák, amelyeket az anód vonz, míg az oldat belseje az elektroosmózis miatt a katód felé vándorol.

Elektroforézisen alapuló technikák

- Kapilláris elektroforézis
 - Kapilláris zónaelektroforézis (CZE)
 - Micelláris elektrokinetikus kromatográfia (MEKC)
 -
- Gélelektroforézis
 - Agaróz gélelektroforézis DNS, RNS elválasztására
 - Poliakrilamid gélelektroforézis (PAGE) fehérjék, kisebb DNS-ek elválasztására
 - Na-dodecilszulfát poliakrilamid gélelektroforézis (SDS-PAGE) fehérjék elválasztására molekulatömegük alapján

Gélelektroforézis

gél – méret szerint szűrés



KÜLÖNBSÉGEK

töltés

tömeg

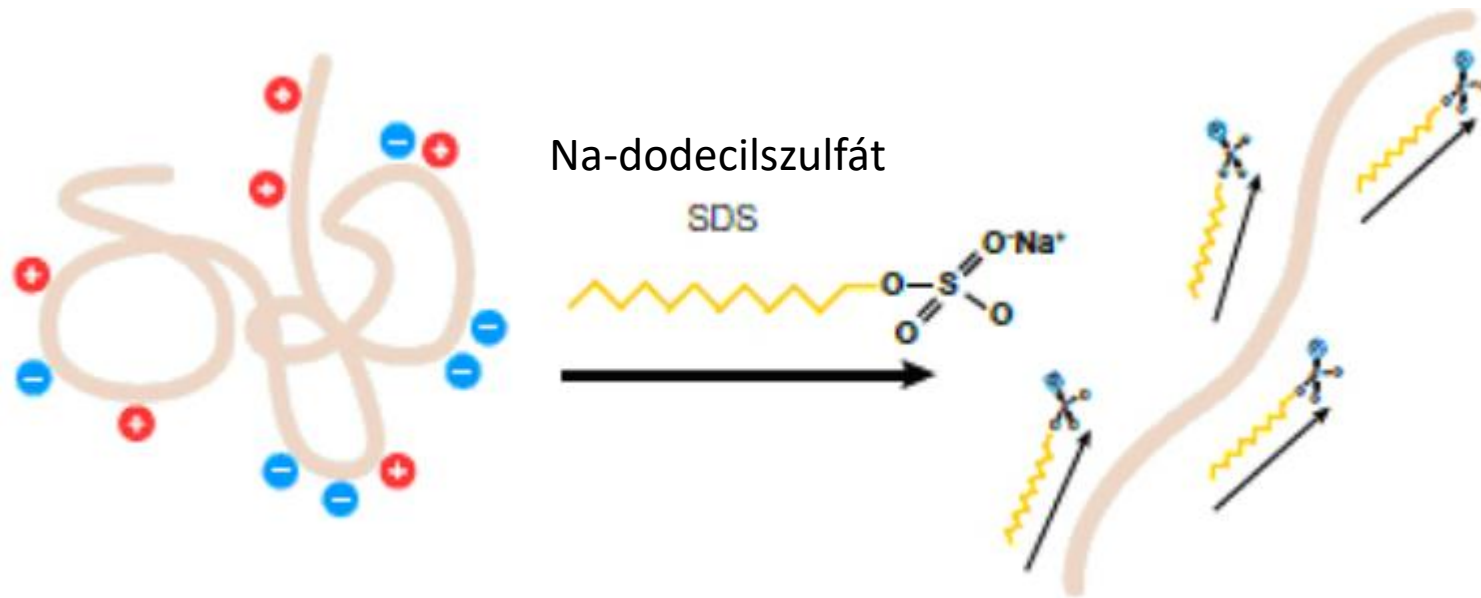
alak

lassú
vándorlás

positively charged	high molecular weight	elongated
negatively charged	low molecular weight	round/globular

gyors
vándorlás

SDS-PAGE



- a fehérjék kigombolyodnak, hasonló hosszúságú alakjuk lesz
 - negatívan töltöttek az eredeti töltésüktől függetlenül
 - hasonló *töltés/tömeg* arány minden fehérjére
- vándorlási sebesség csak a méretüktől függ

MOLEKULATÖMEG MEGHATÁROZÁS

