



M Ű E G Y E T E M 1 7 8 2



# ELVÁLASZTÁSTECHNIKA (BMEVEMBM203)

# AZ ELVÁLASZTÁSTECHNIKA KORSZERŰ MÓDSZEREI (BMEVESAM203)

---

TÖRÖK KITTI

KTOROK@MAIL.BME.HU

# Elektroforetikus technikák, bioanalitika, kapcsolt módszerek

---

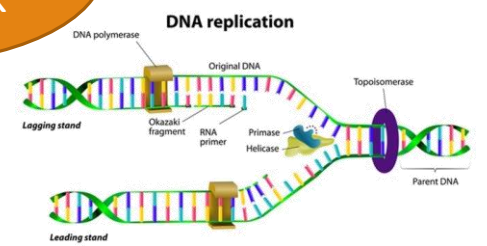
ELVEK ÉS ALKALMAZÁSOK

# Bioanalitika - csoportosítás

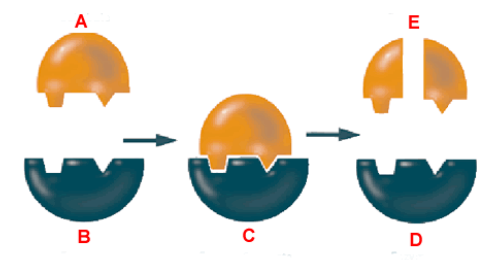


## Biokémiiai reakción alapuló módszerek

### DNS alapú módszerek



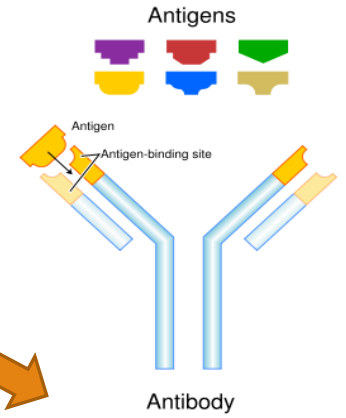
- PCR
- RT-PCR
- PCR-ELISA
- DNS chipek
- ...



### Enzimes módszerek

- Szubsztrát meghatározás
- Enzimaktivitás mérés
- Immobilizált enzimes technikák
- ...

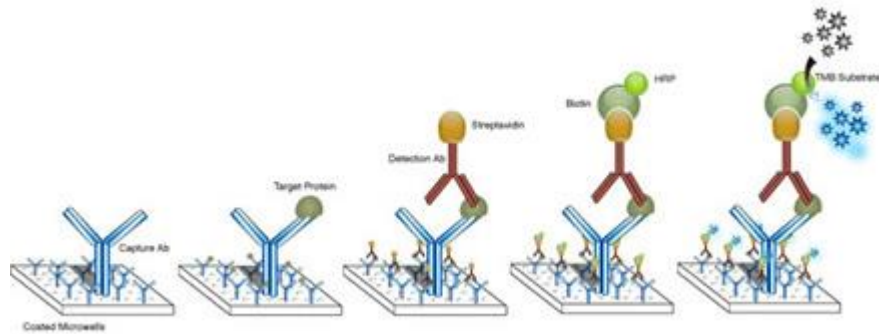
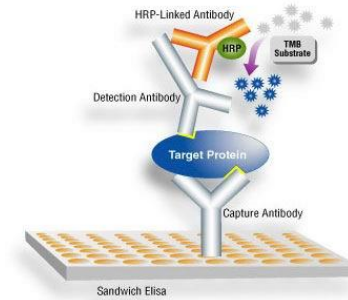
### fehérje alapú módszerek



### Immunanalitikai módszerek

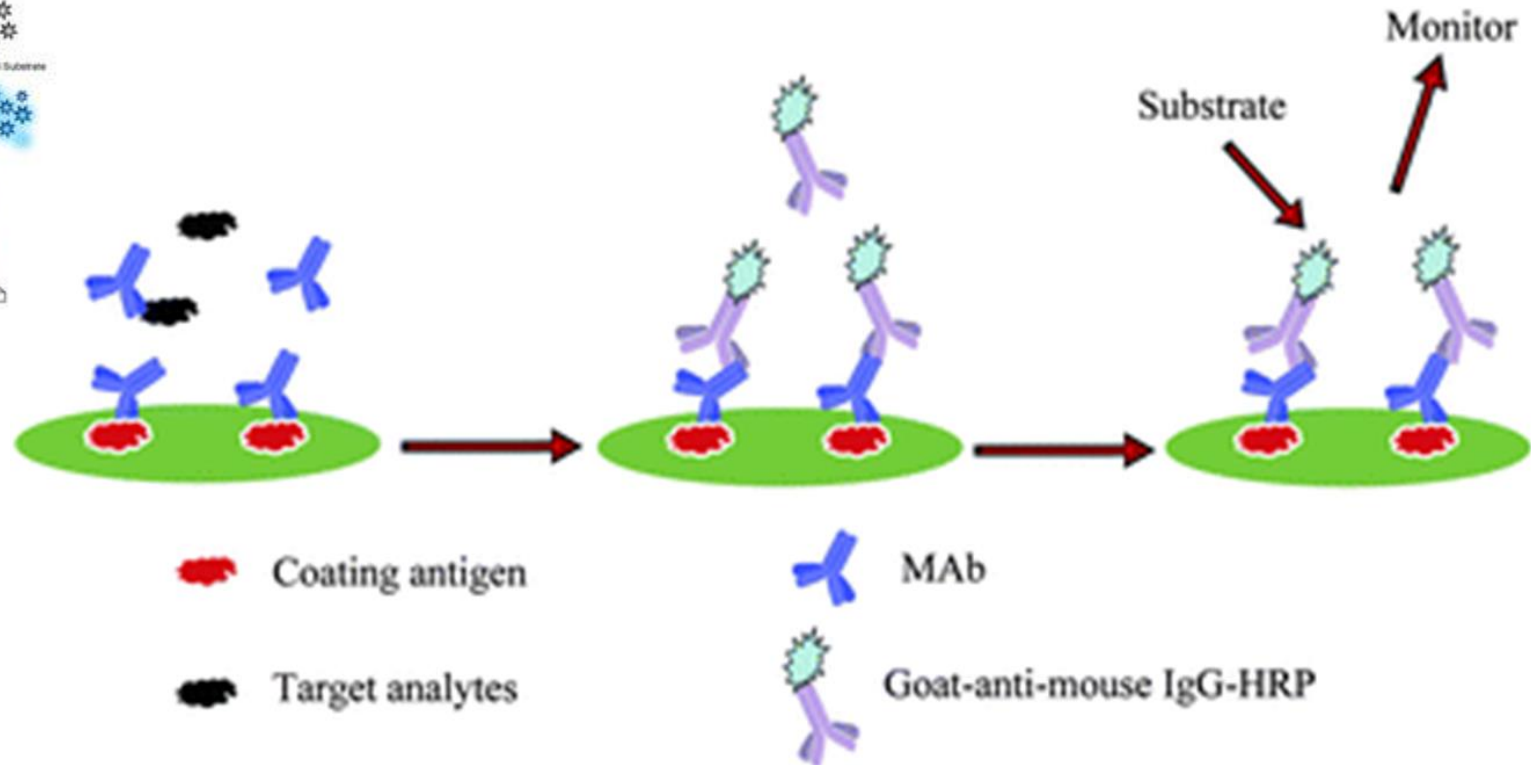
- ELISA
- LFD
- Immunoblot
- Immundiffúzió
- ...

# ELISA



## Alkalmazási terület

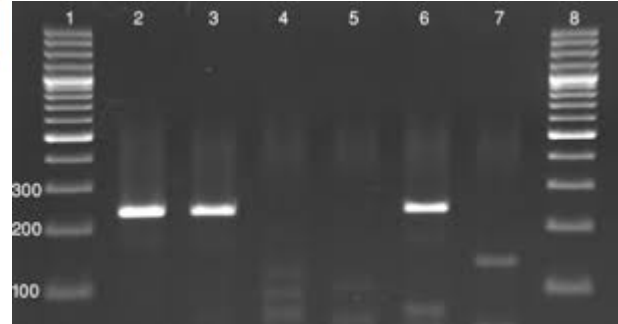
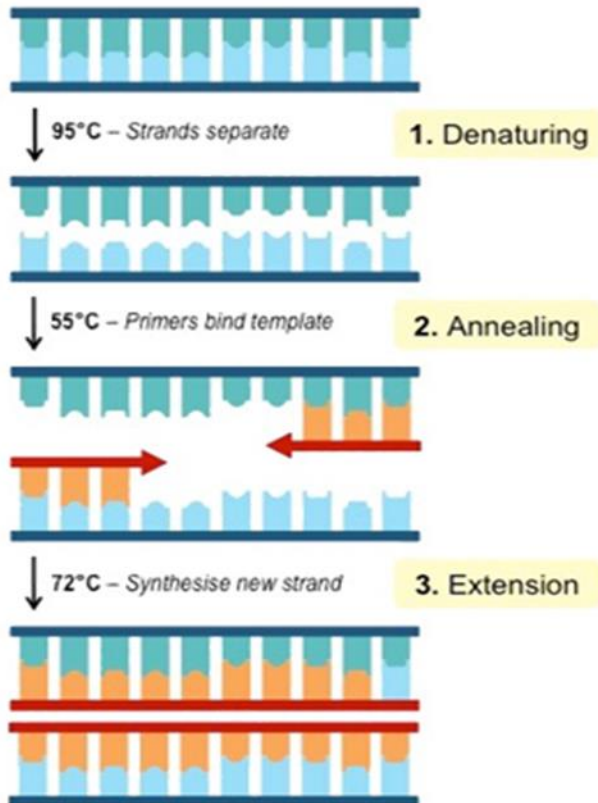
- kémiai és mikrobiológiai szennyezők
- toxinok
- szermaradványok
- génmódosított szervezetek (gmok)
- allergének
- mikrobák fajspecifikus meghatározás
- stb...



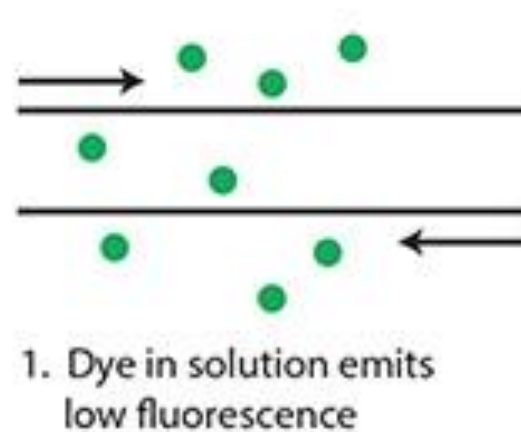
# PCR



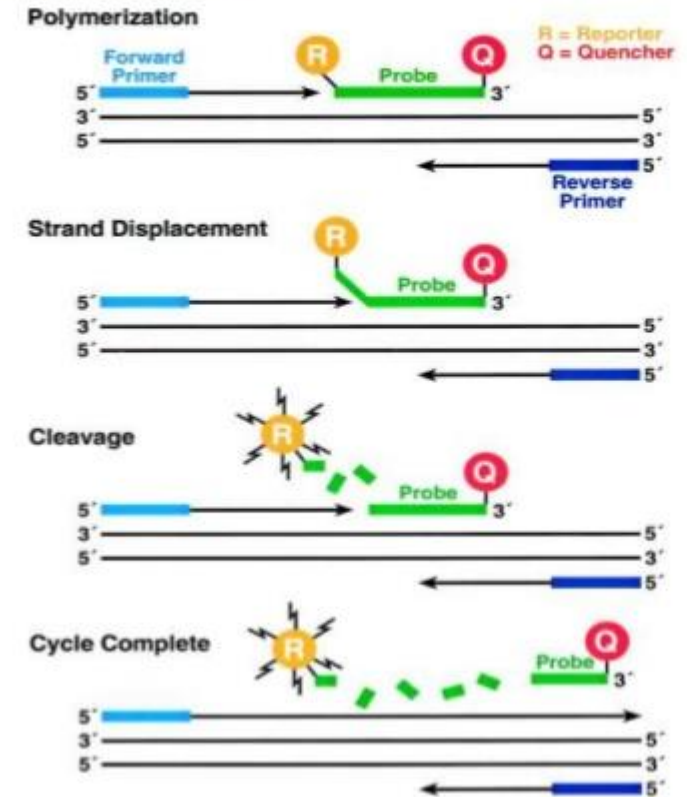
## PCR Process (ONE Cycle)



Action of



## TaqMan probe :-

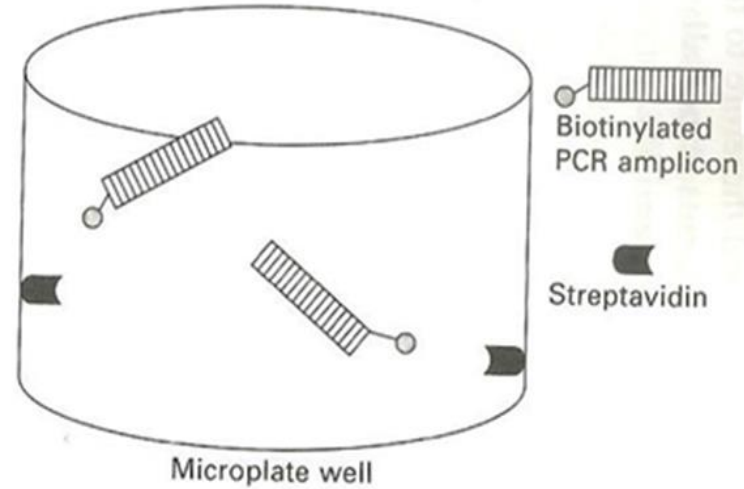


# PCR-ELISA

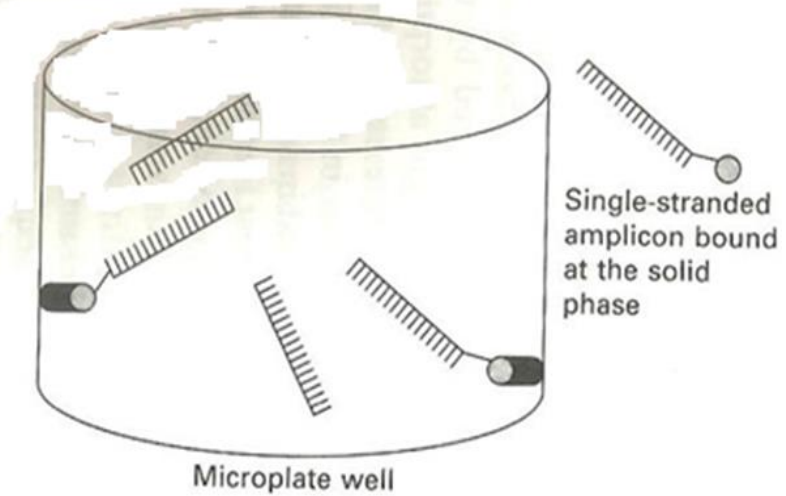
PCR termék immunanalitikai meghatározása

Csak minőségi meghatározás

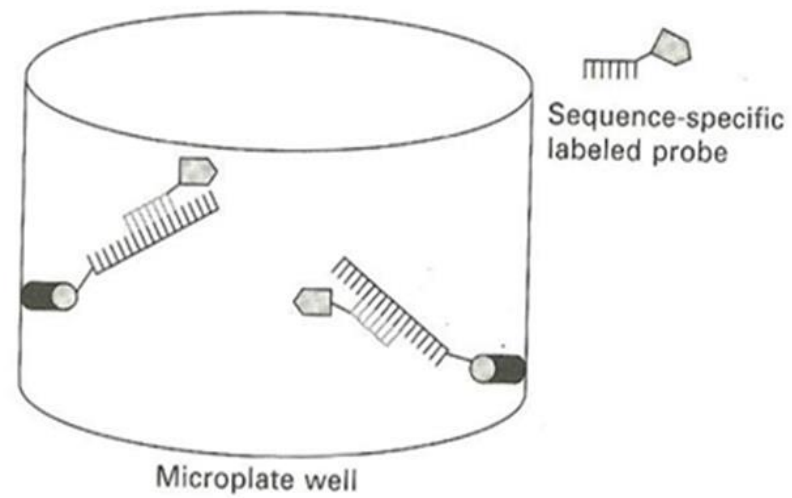
(a) Amplicon-binding to the solid phase



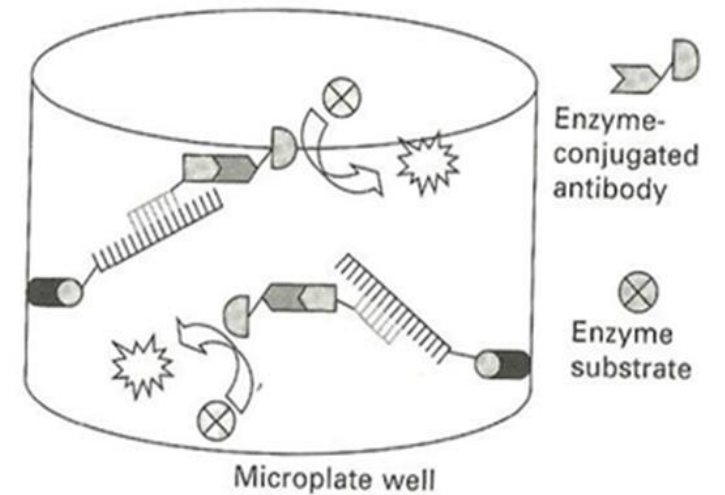
(b) Denaturation of double-stranded amplicons



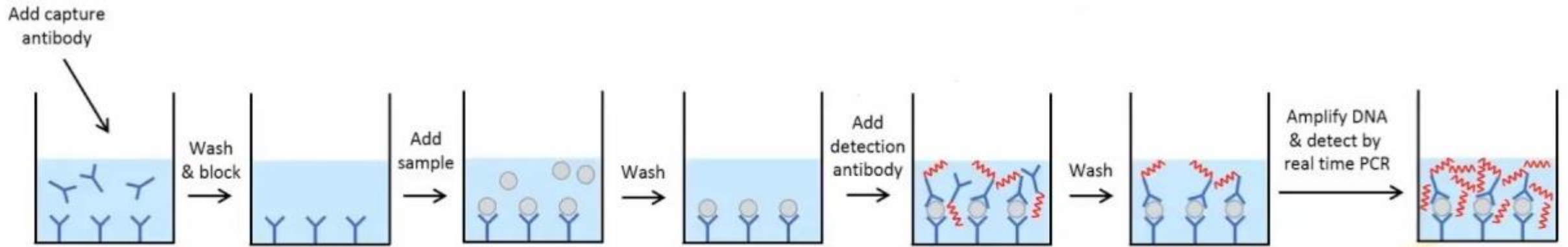
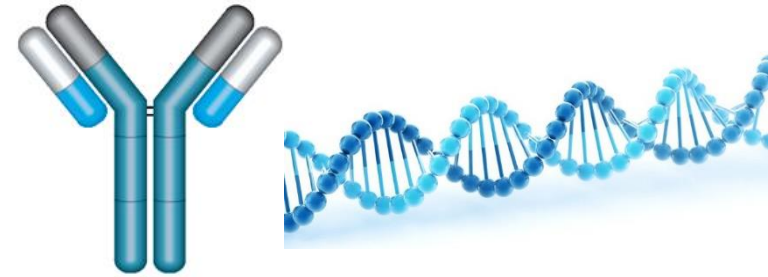
(c) Probe hybridization



(d) Probe detection



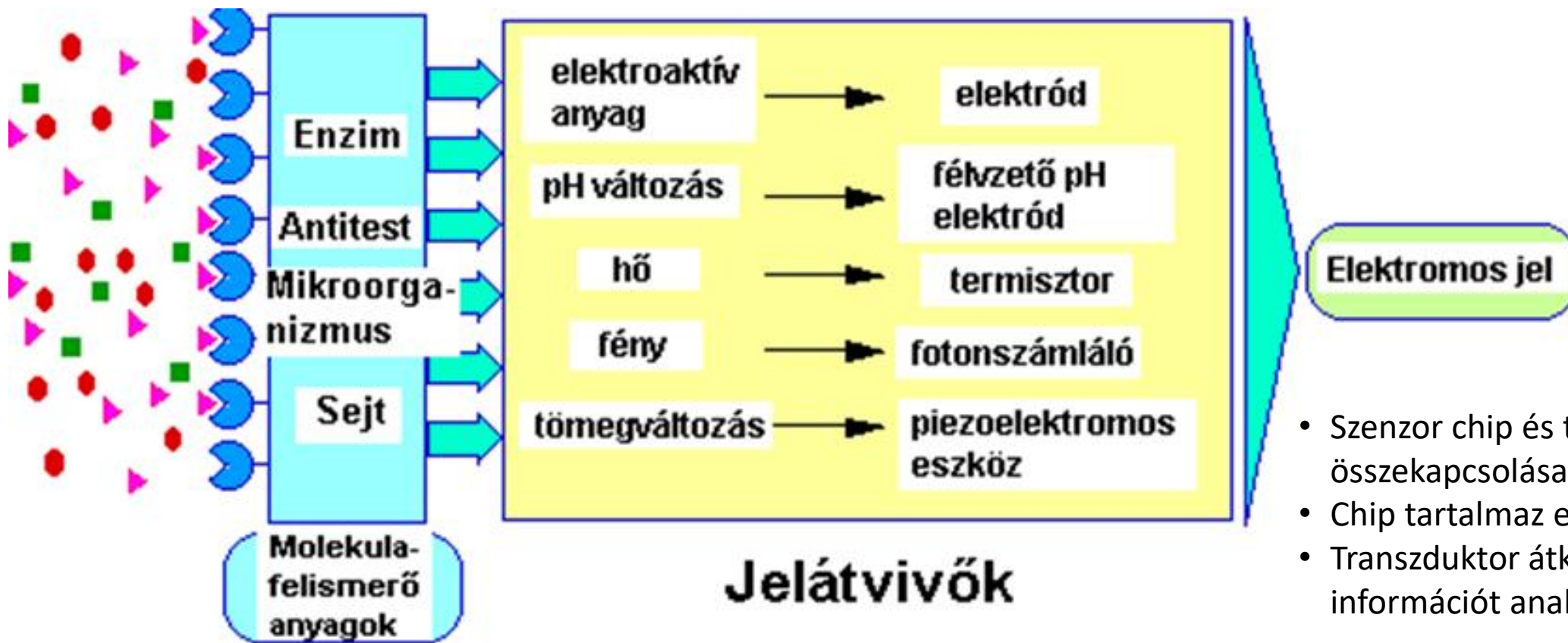
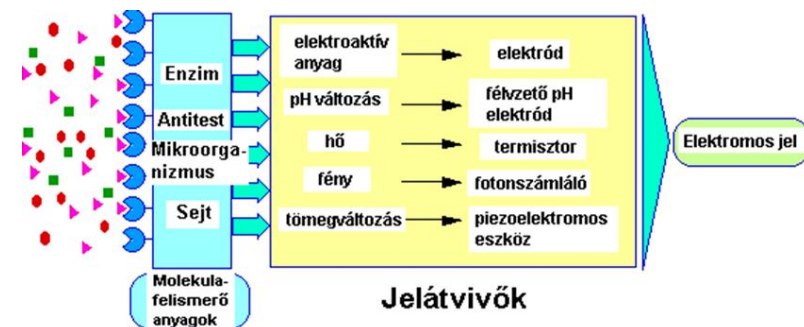
# Immuno-PCR



- Jelerősítés PCR technikával
- Marker DNS az antigén antitest komplexen
- Nagyobb érzékenység



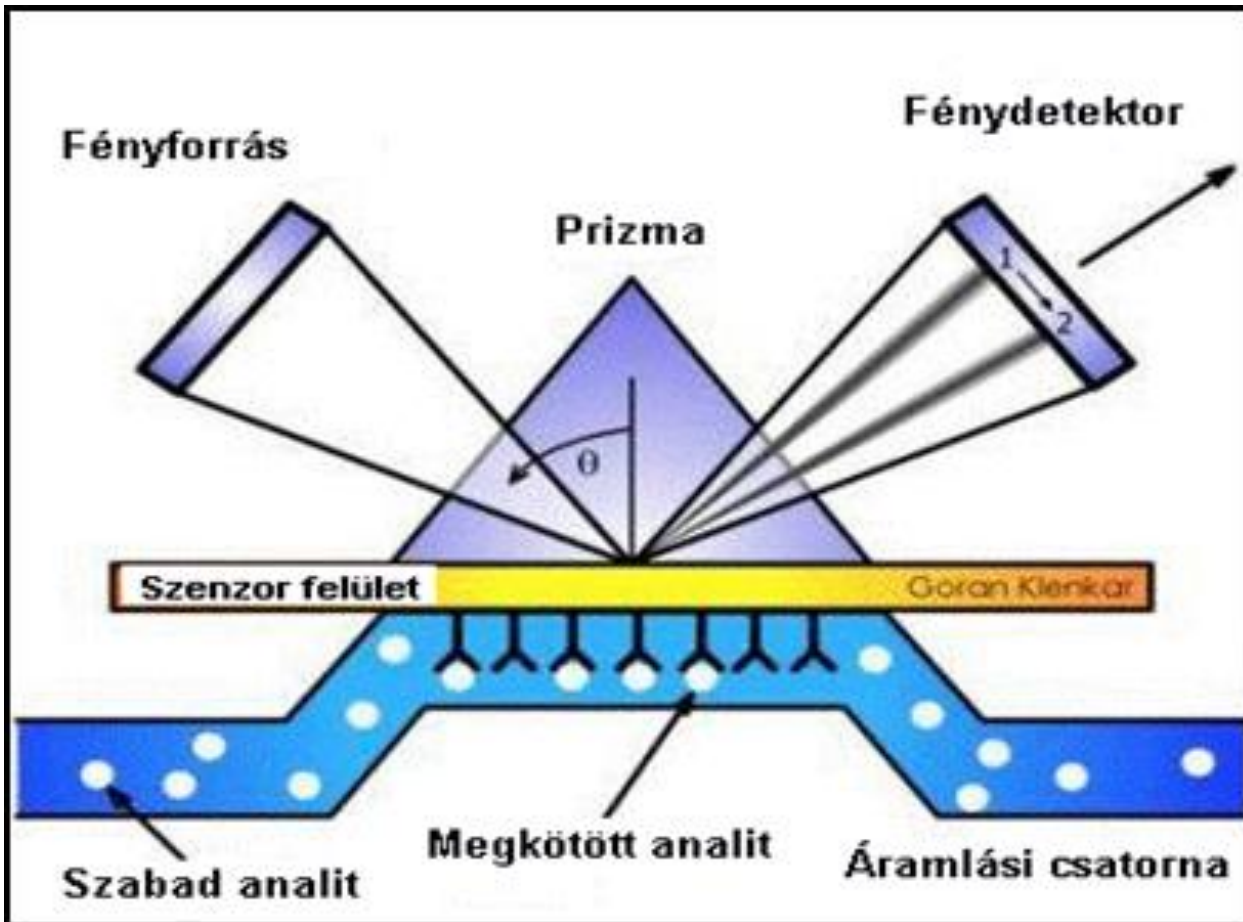
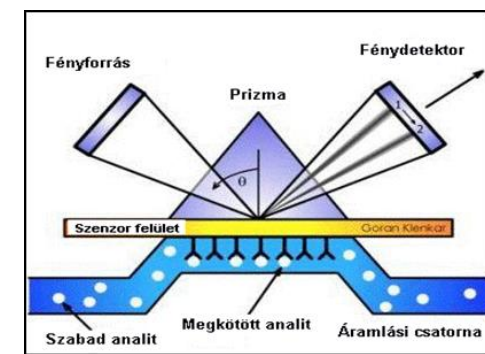
# Bioszenzorok



- Szenzor chip és transzduktor összekapcsolása
- Chip tartalmaz egy bioaktív receptort
- Transzduktor átkonvertálja a biokémiai információt analitikai jellé



# SPR – felületi plazmon rezonancia



- affinitás-alapú optikai jelátvivő rendszer
- a molekulák közötti kötéseket a felület közelében kialakuló törésmutató lokális változásaiból határozza meg

## Alkalmazási terület:

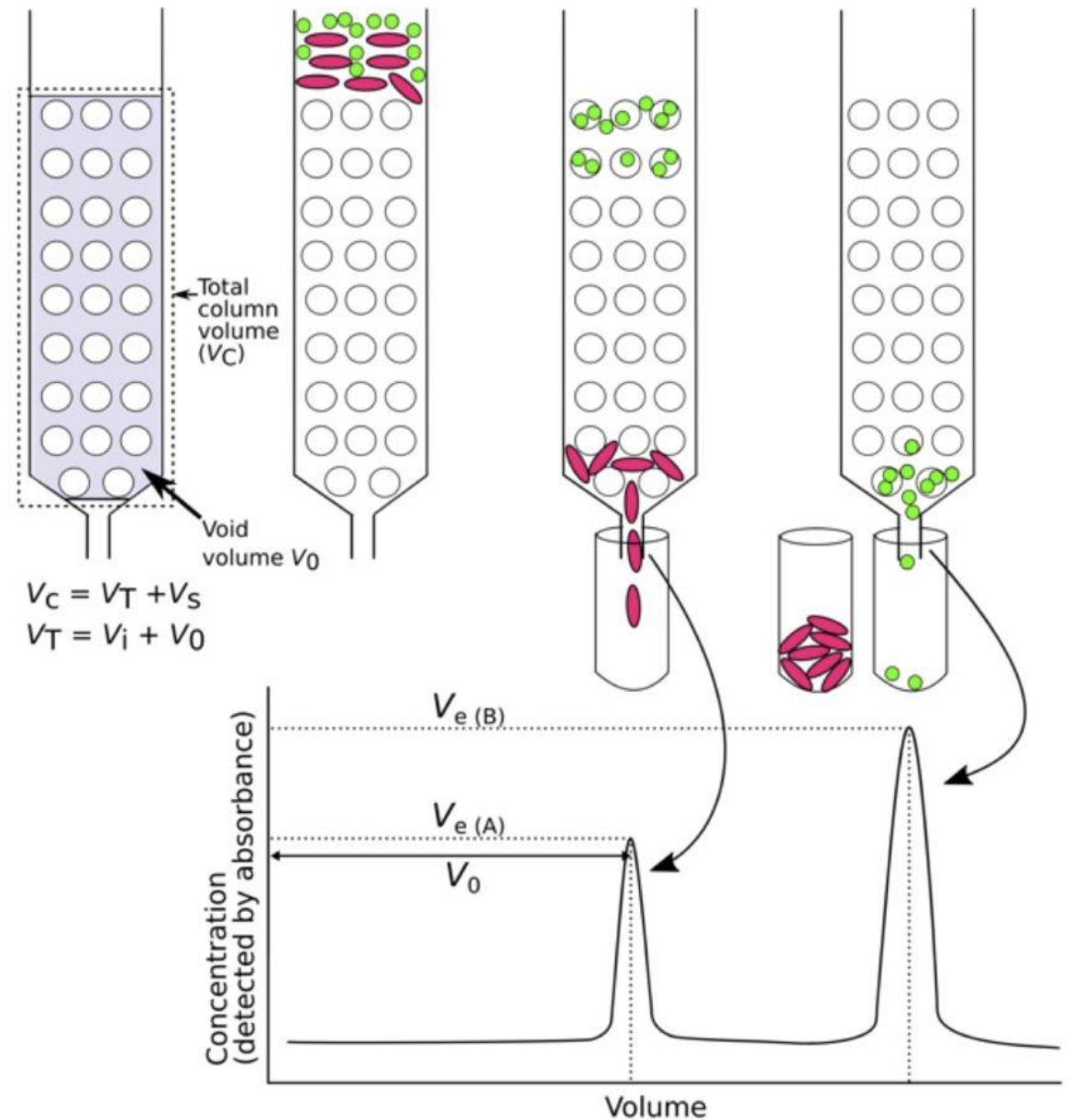
- Vitamin analitika
- Állatgyógyszer maradványok
- Allergén analitika
- Kutatás-fejlesztés

# Gélszűrés, gélkromatográfia

Fehérjék méret szerinti elválasztása  
Preparatív kromatográfia

## Alkalmazási terület:

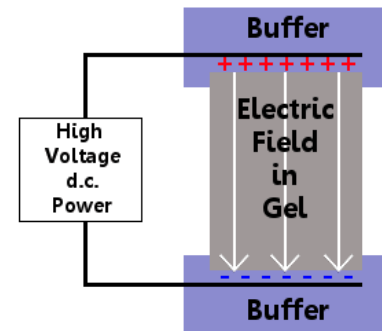
- Fehérjetisztítás, sómentesítés
- Frakcionálás molekulaméret szerint
- Kutatás-fejlesztés
- Termékelőállítás



$V_T$  = total solvent accessible volume, which includes the void volume and the internal pore volume  
 $V_S$  = volume of beads inaccessible to solvent  
 $V_i$  = internal pore volume

Figure 1

# Elektroforézis – definíció



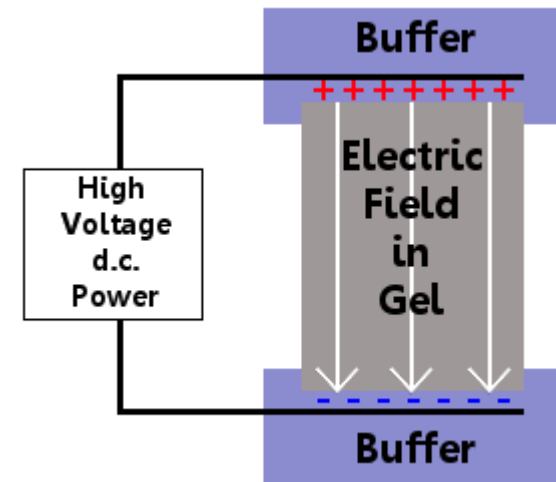
A töltéssel rendelkező részecskék elektromos erőter hatására eltérő sebességgel vándorolnak.

$$v = \mu_e * E \quad \rightarrow \quad \begin{aligned} F_e &= q * E \\ F_s &= -6\pi\eta r v \end{aligned} \quad \rightarrow \quad \mu_e = \frac{q}{6\pi\eta r}$$

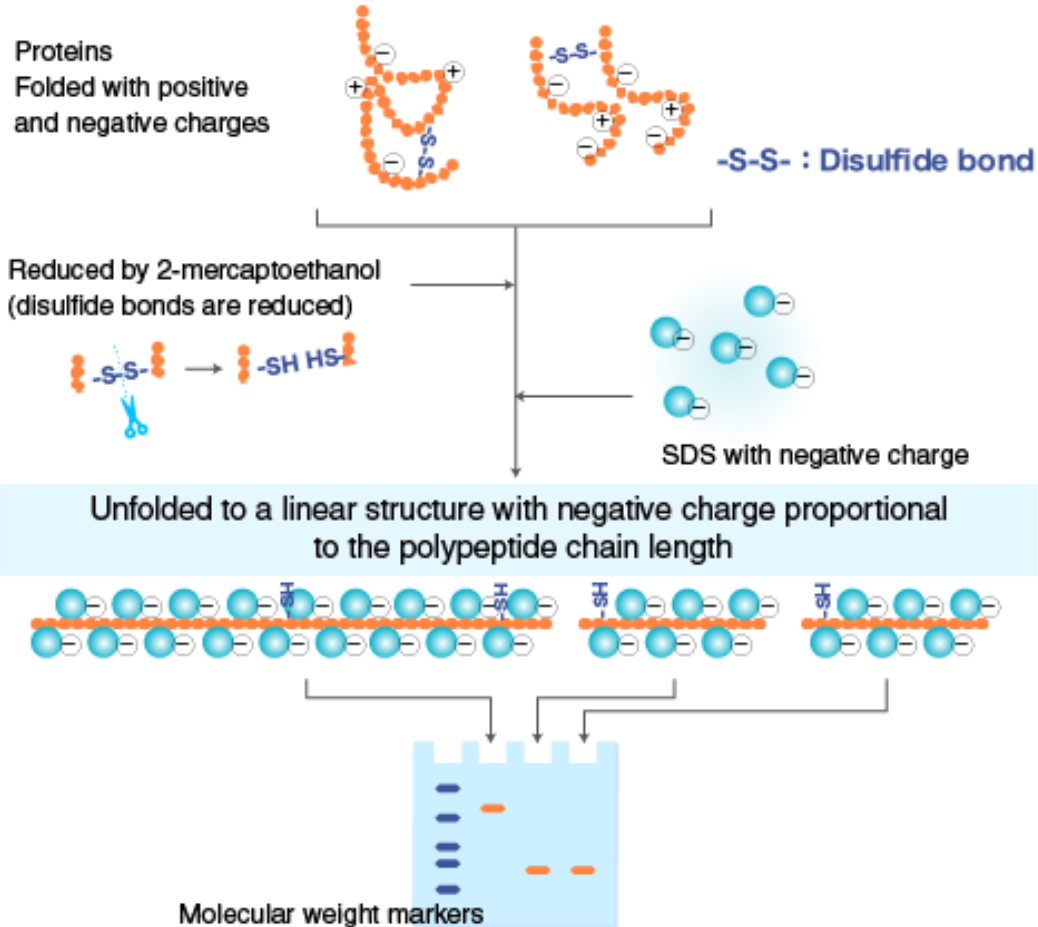
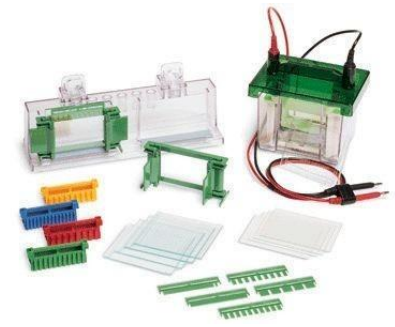
$v$  – az ion sebessége  
 $\mu_e$  – elektroforetikus mozgékonyság  
 $E$  – elektromotoros térerő  
 $F_e$  – elektromos erő  
 $F_s$  – súrlódási erő  
 $q$  – az ion töltése  
 $\eta$  – az oldat viszkozitása  
 $r$  – az ion sugara

- Egy-egy elektród egy-egy puffer tartályba merül
- Két tartály között a részecskék számára átjárást biztosítunk
- Két elektród között potenciálkülönbséget hozunk létre
- Kationok a katód felé, anionok az anód felé vándorolnak
- Ionok eltérő töltésük és méretük miatt eltérő sebességgel vándorolnak

↓  
Elválaszthatók egymástól



# Gélelektroforézis



- Nukleinsavak és fehérjék vizsgálata
- Agaróz vagy poliakrilamid gél
- Méret szerinti elválasztás

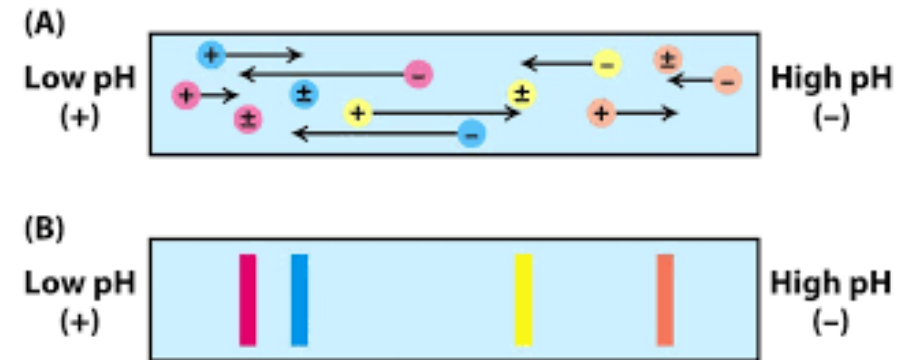
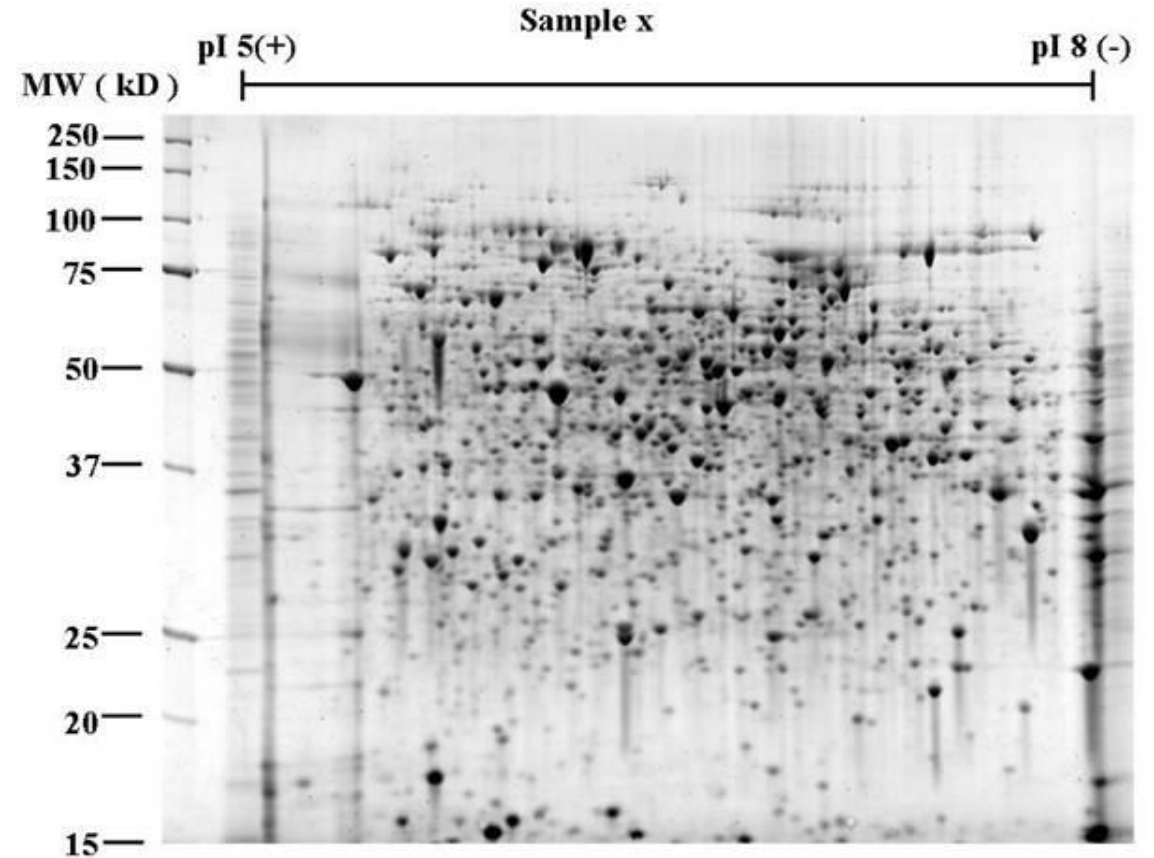
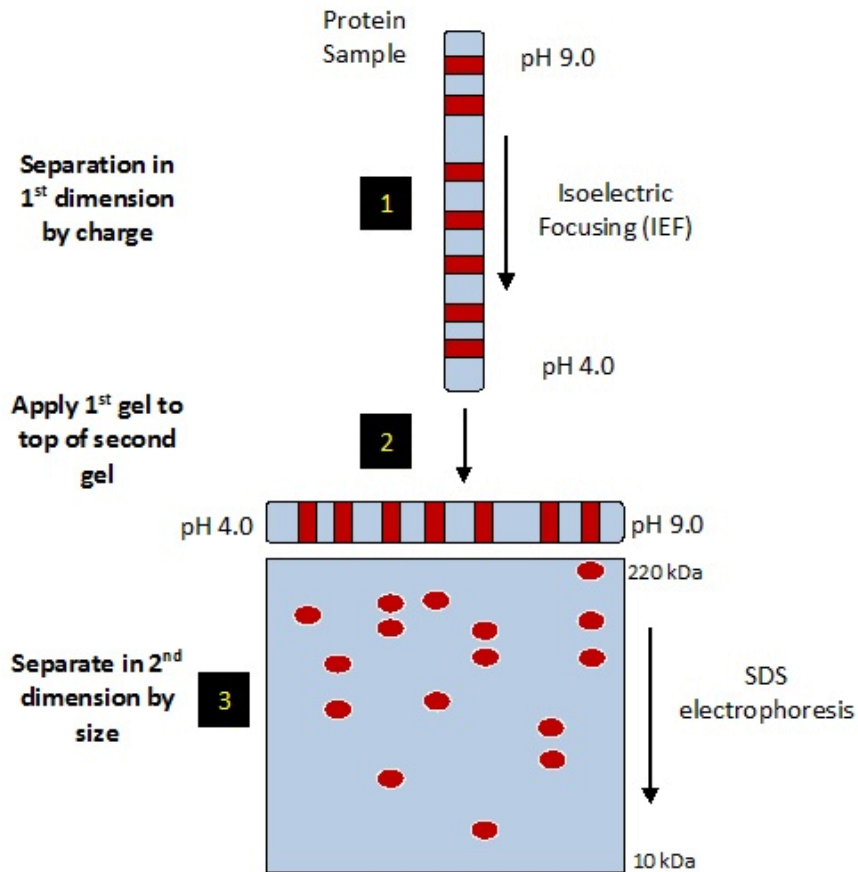
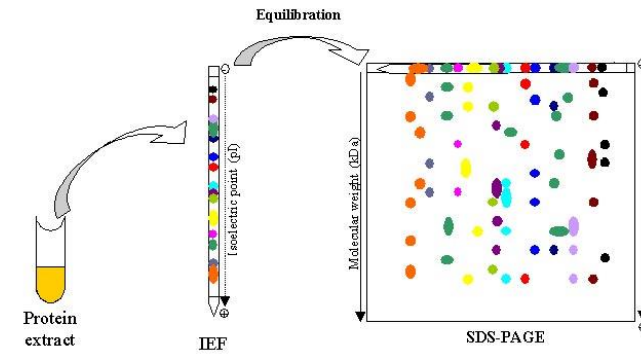


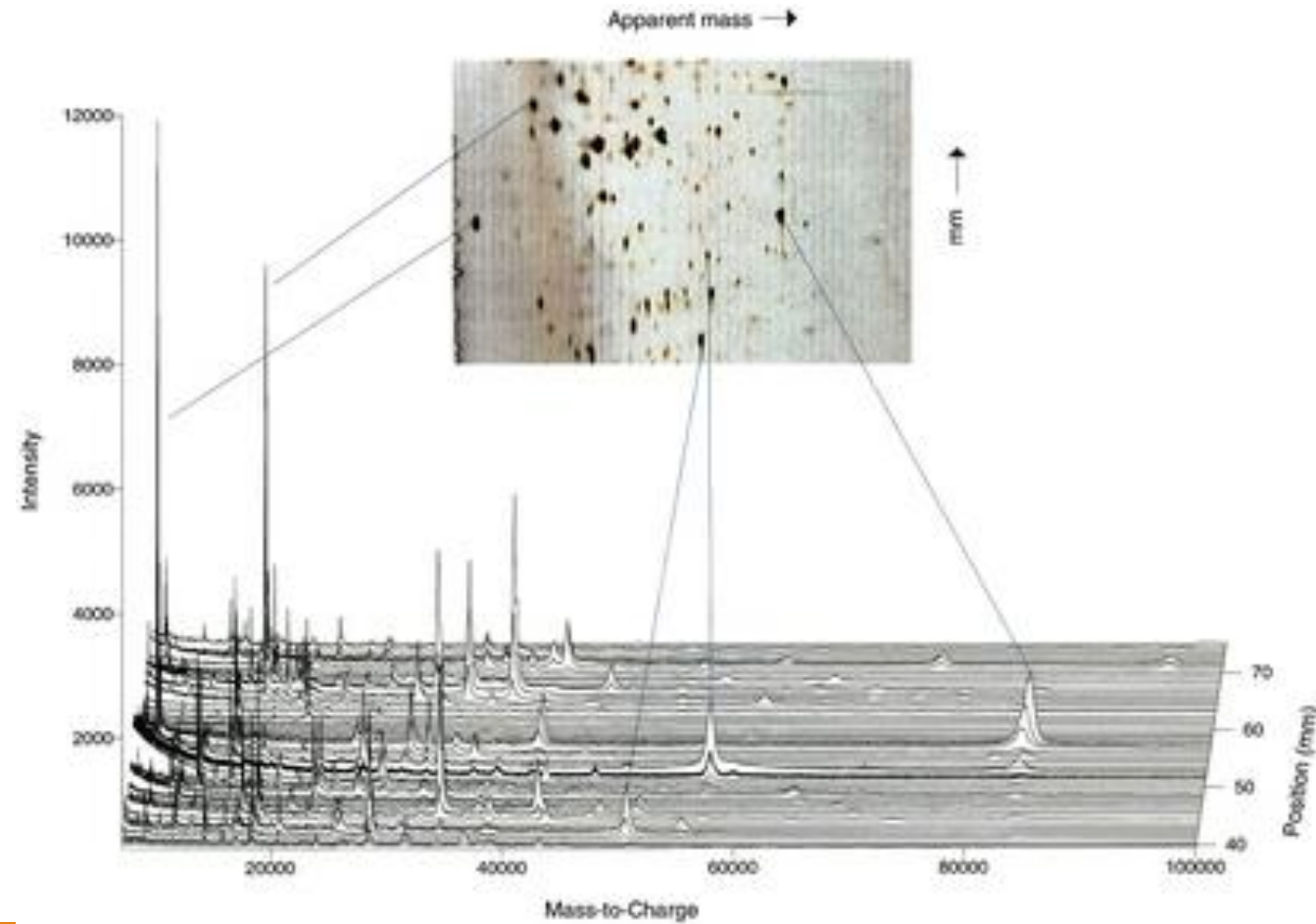
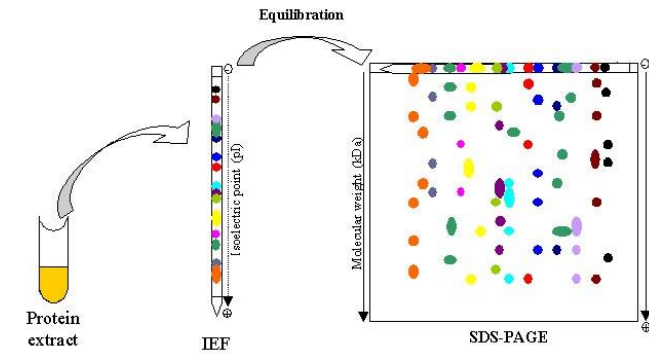
Figure 3.11  
Biochemistry, Seventh Edition  
© 2012 W. H. Freeman and Company

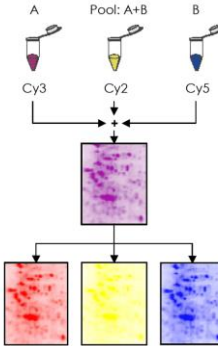
Fehérjék elválasztása izoelektromos pont szerint

# 2D-gélelektroforézis

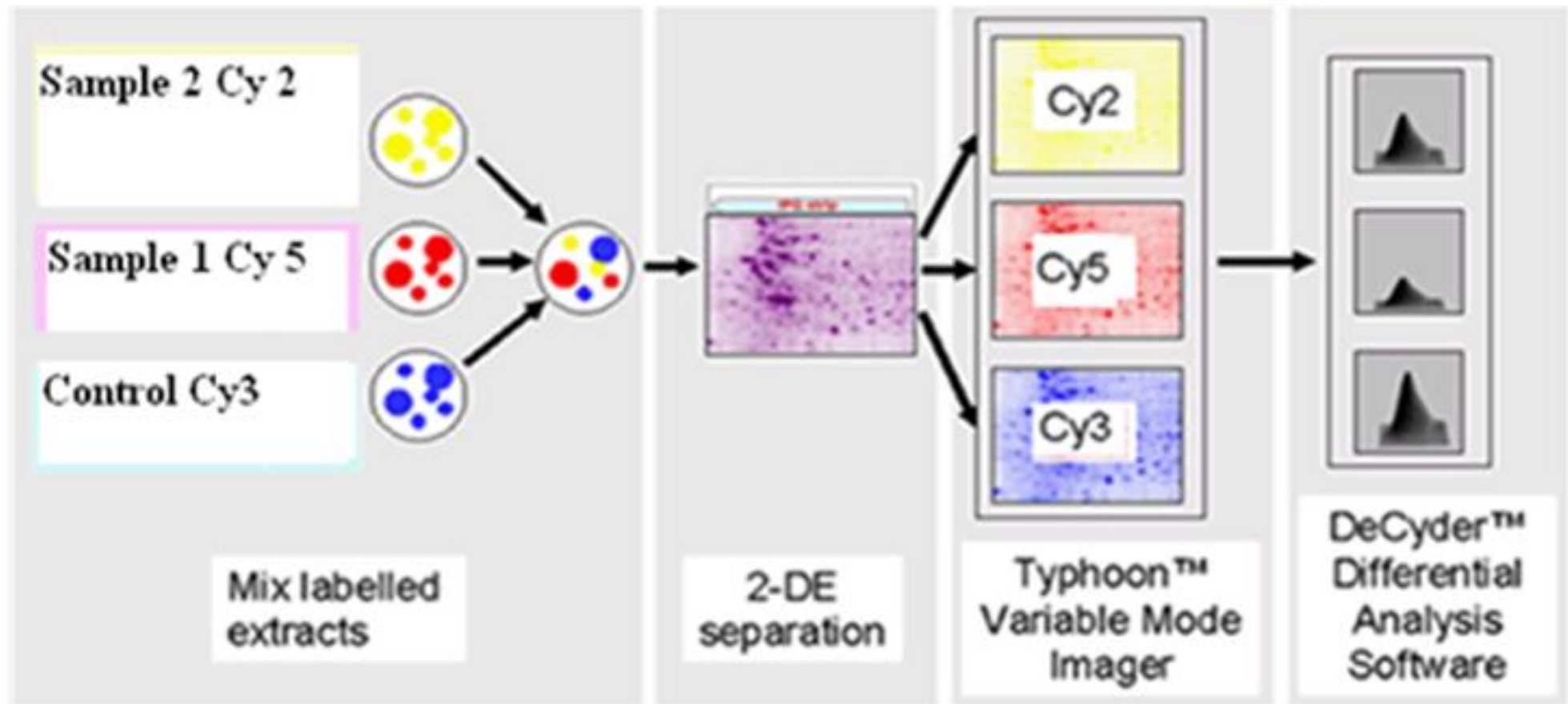


# 2D-gélelektroforézis + MS

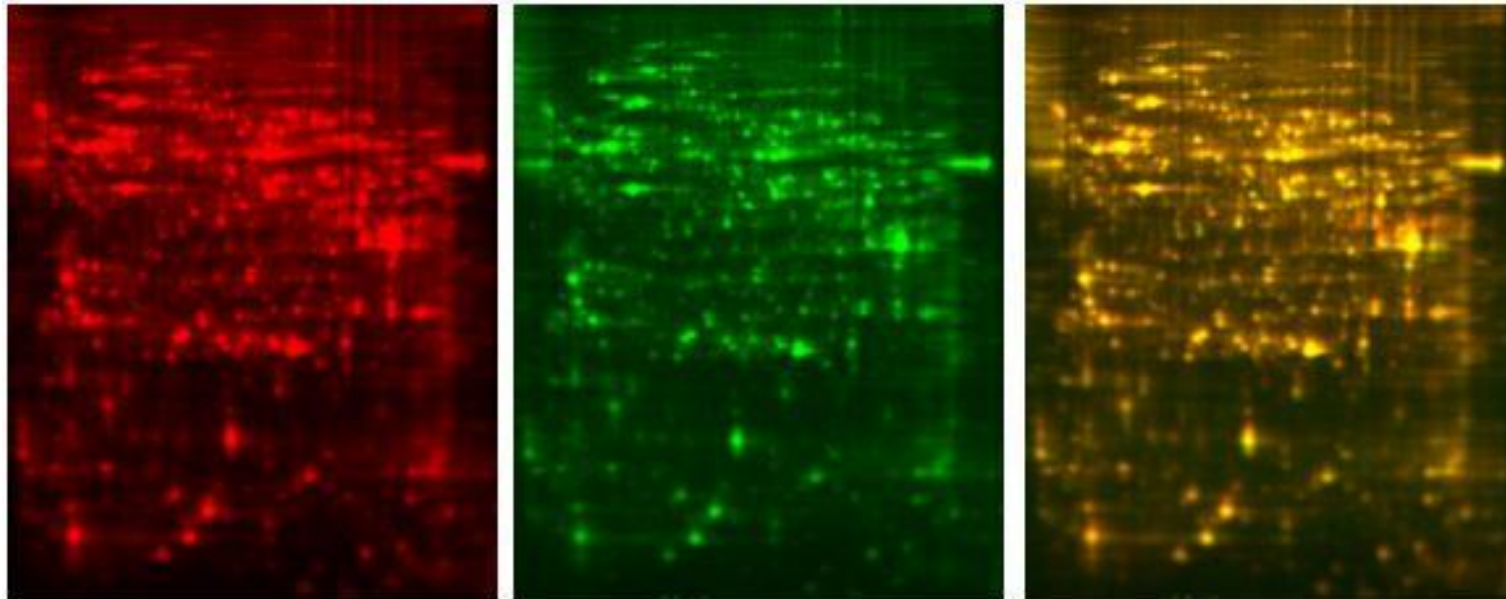
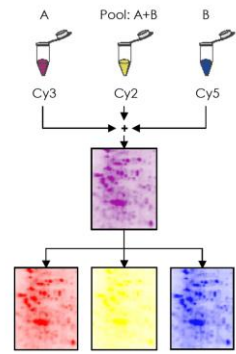




# DIGE



# DIGE



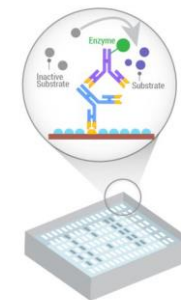
Fluoreszcens festés  
Összehasonlító elemzés

## Alkalmazási terület:

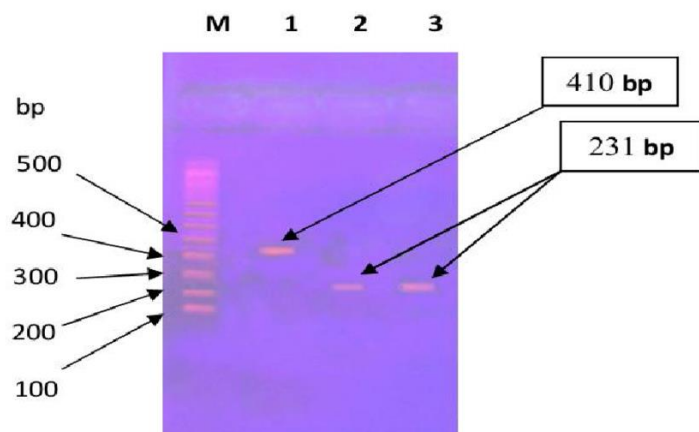
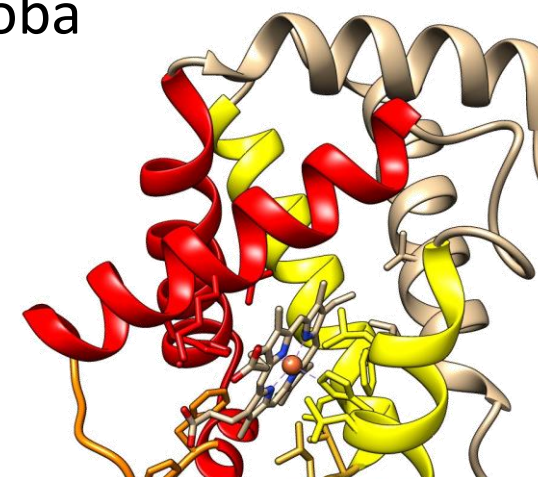
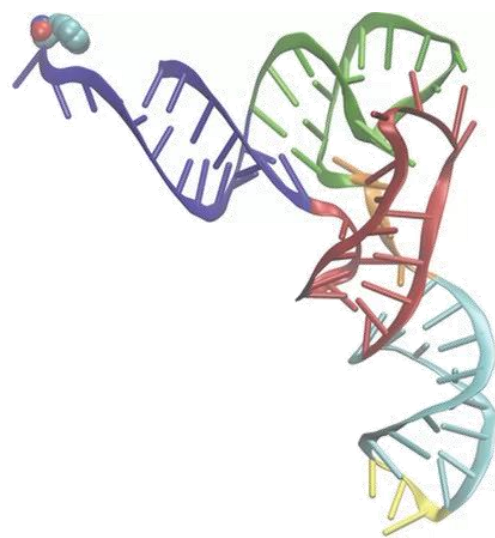
- Fehérje azonosítás
- Orvosdiagnosztika
- Kutatás-fejlesztés



# Blottolási technikák



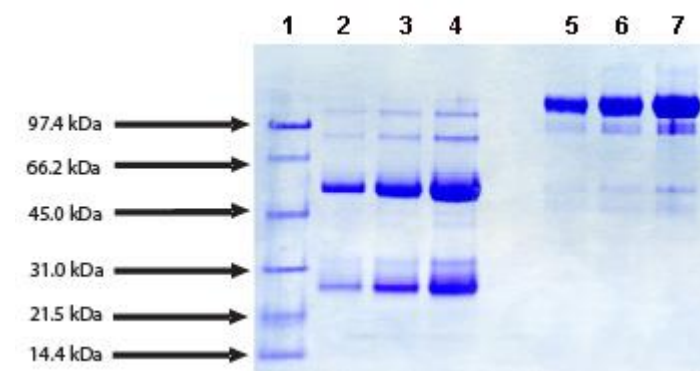
## Gélelektroforézis + immunanalitika/jelölt próba

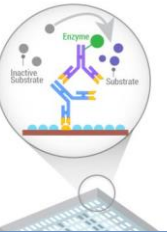


Western blot → fehérjék

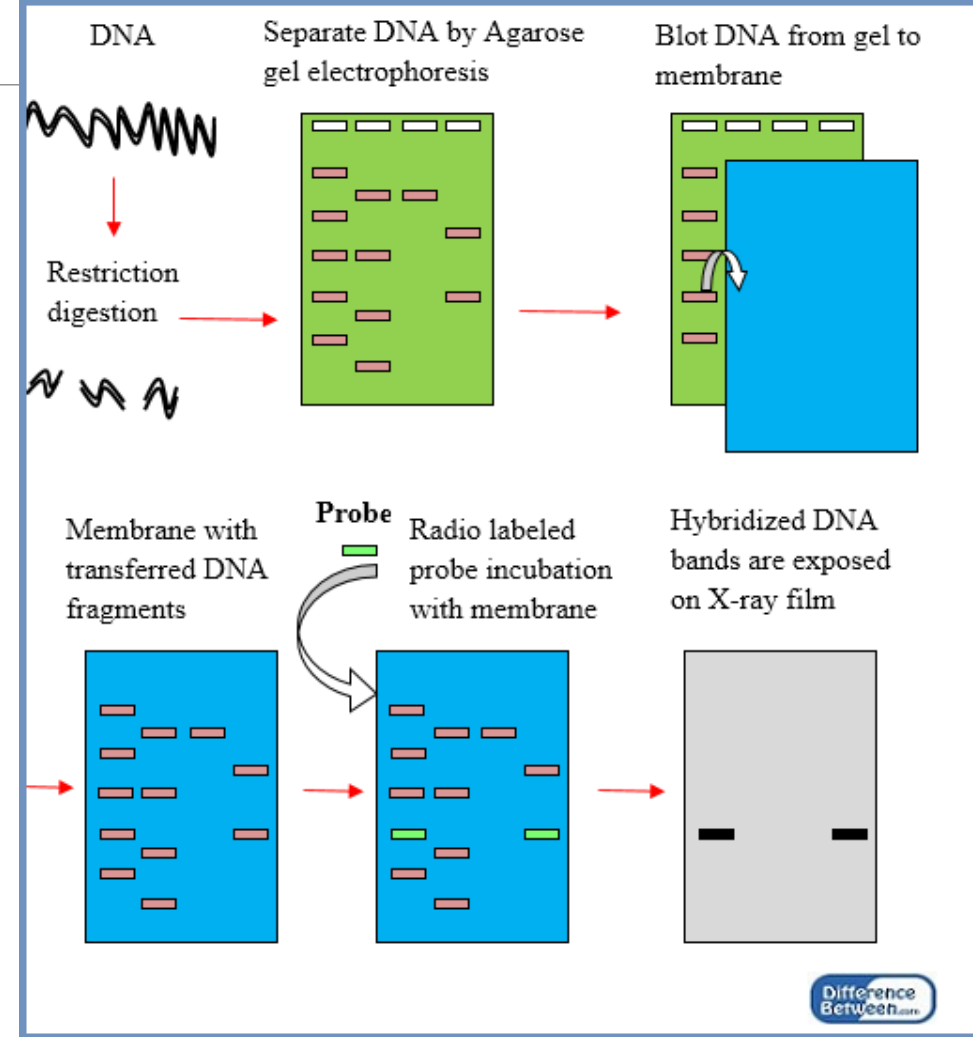
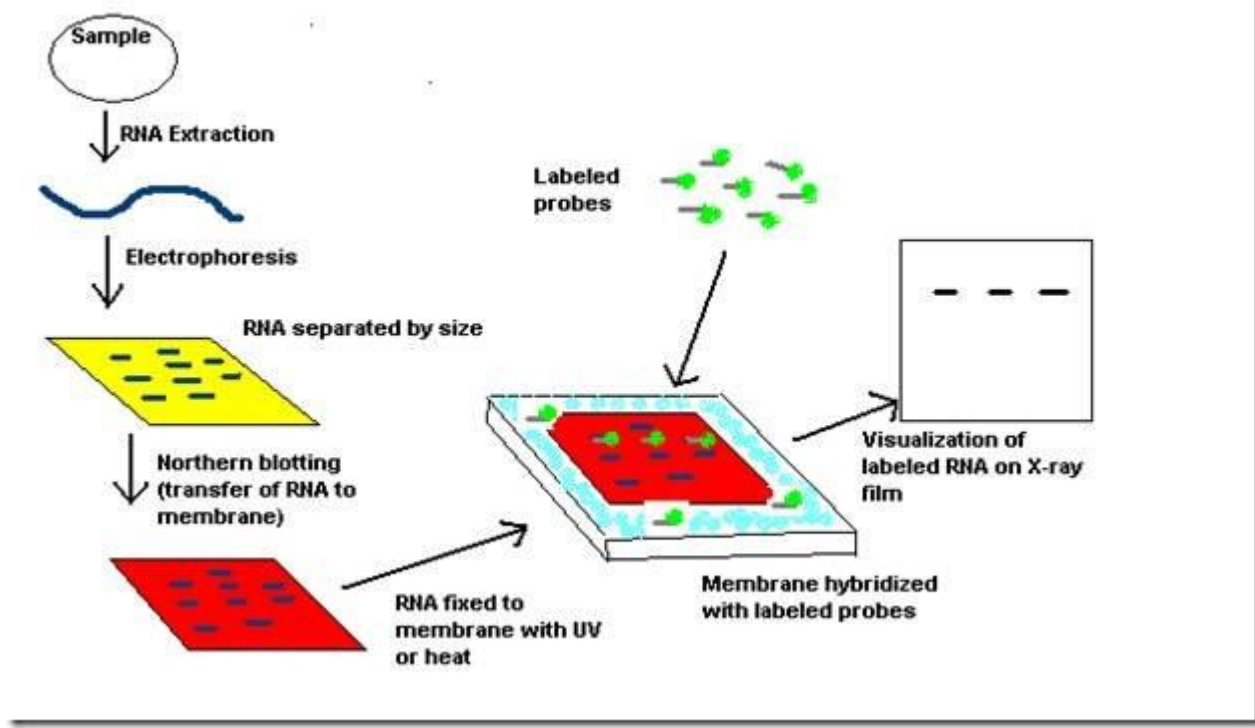
Northern blot → RNS

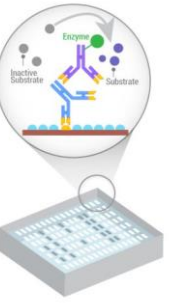
Southern blot → DNS



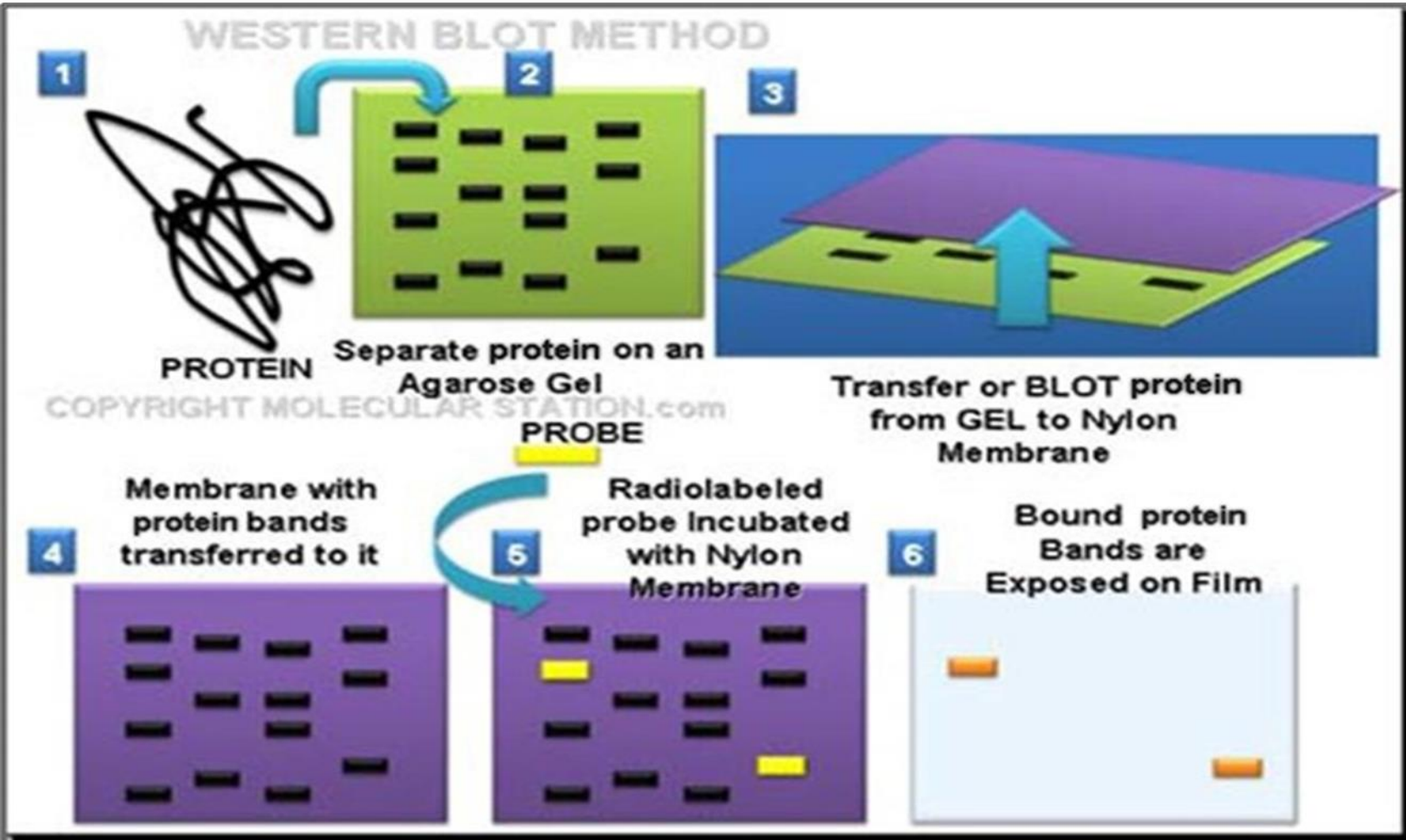


# Northern és southern blot



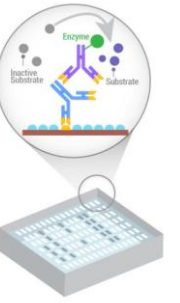


# Western blot



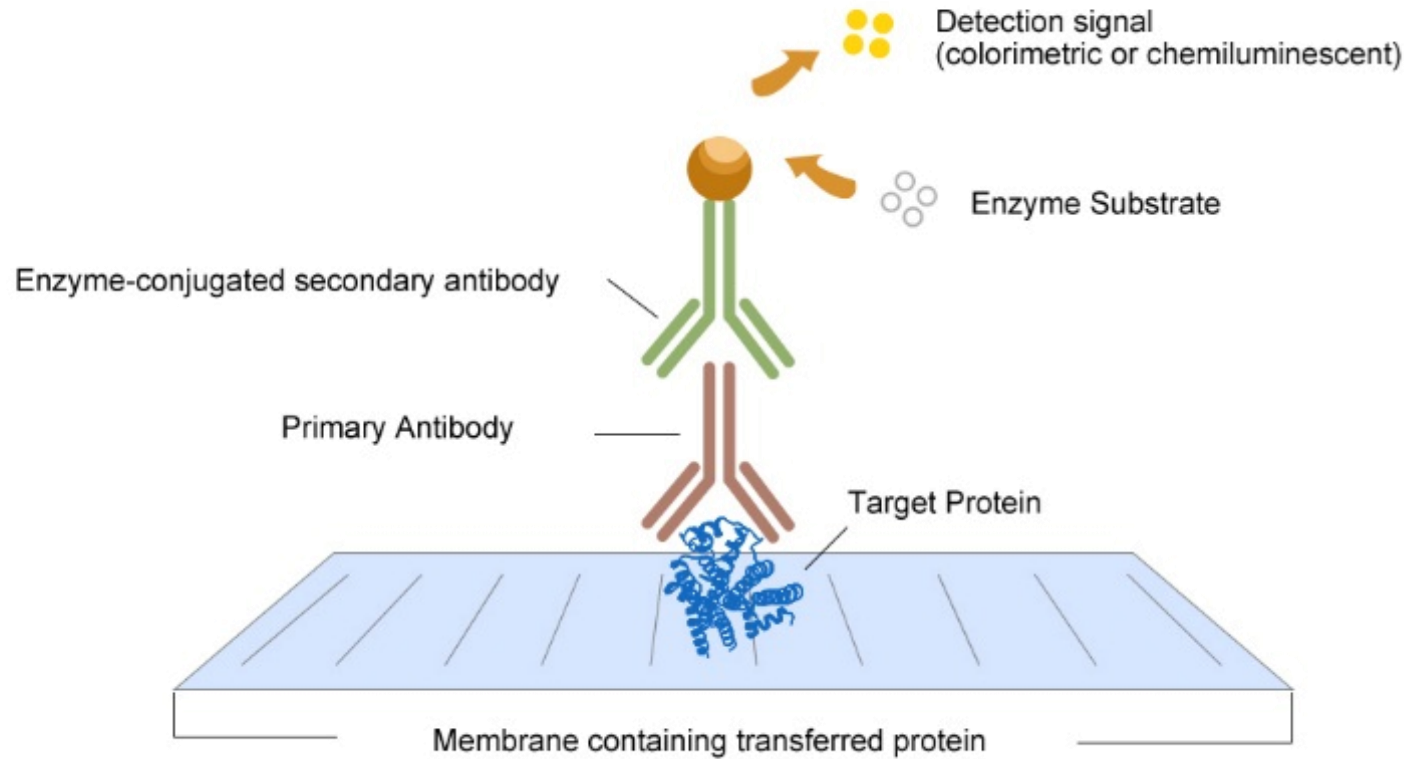
## LÉPÉSEI:

1. Gél elektroforézis
2. Fehérjetranszfer nitrocellulózra
3. Blokkolás
4. Első antitest adagolás, mosás
5. Második antitest adagolás - azonosítás

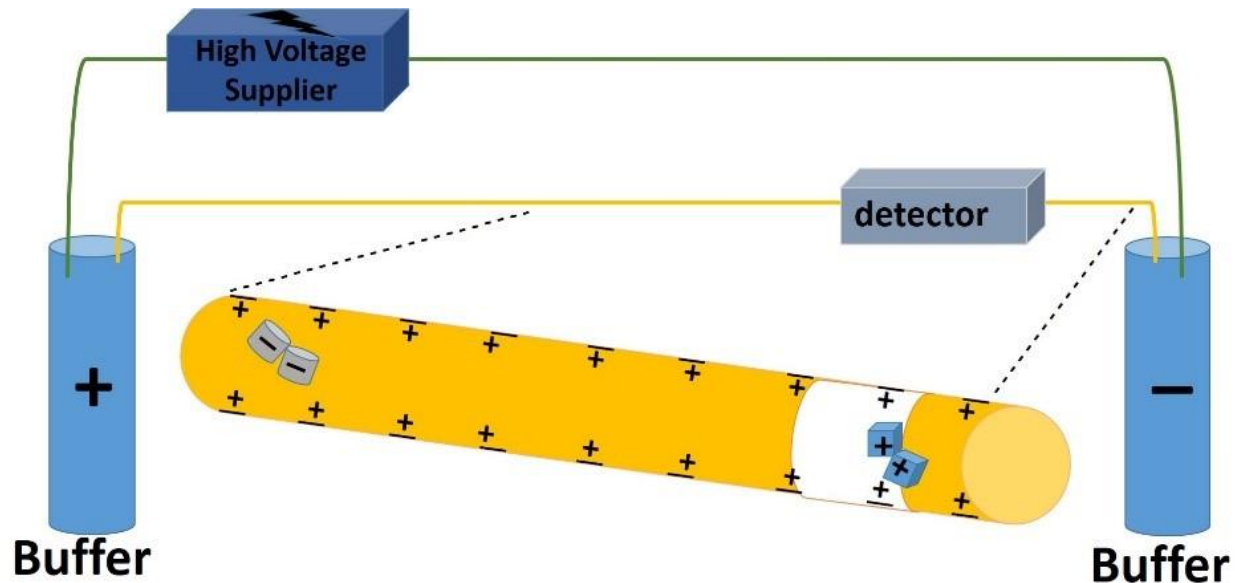
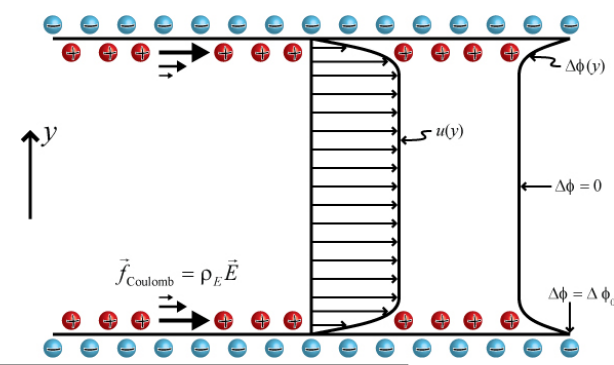


# Western blot

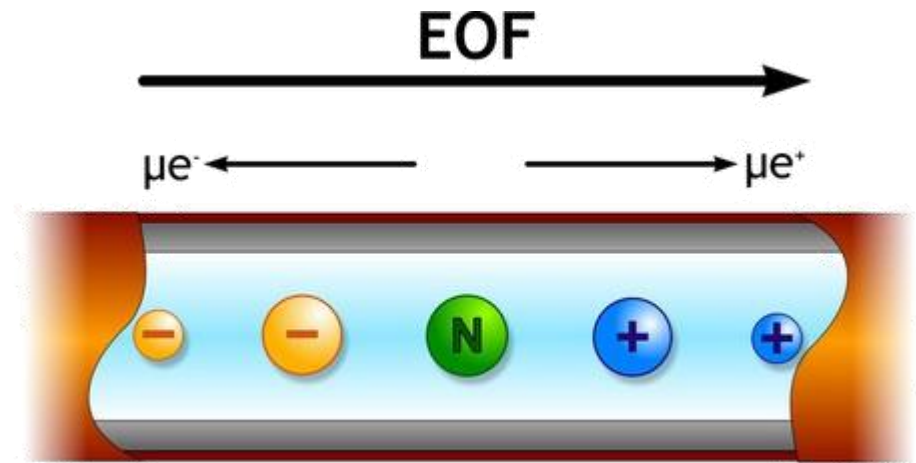
## Detection in Western Blots



# Kapilláris elektroforézis



WynSep  
What you need in separation



# Lab-on-a-chip

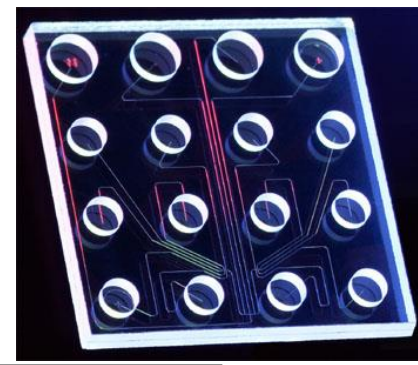
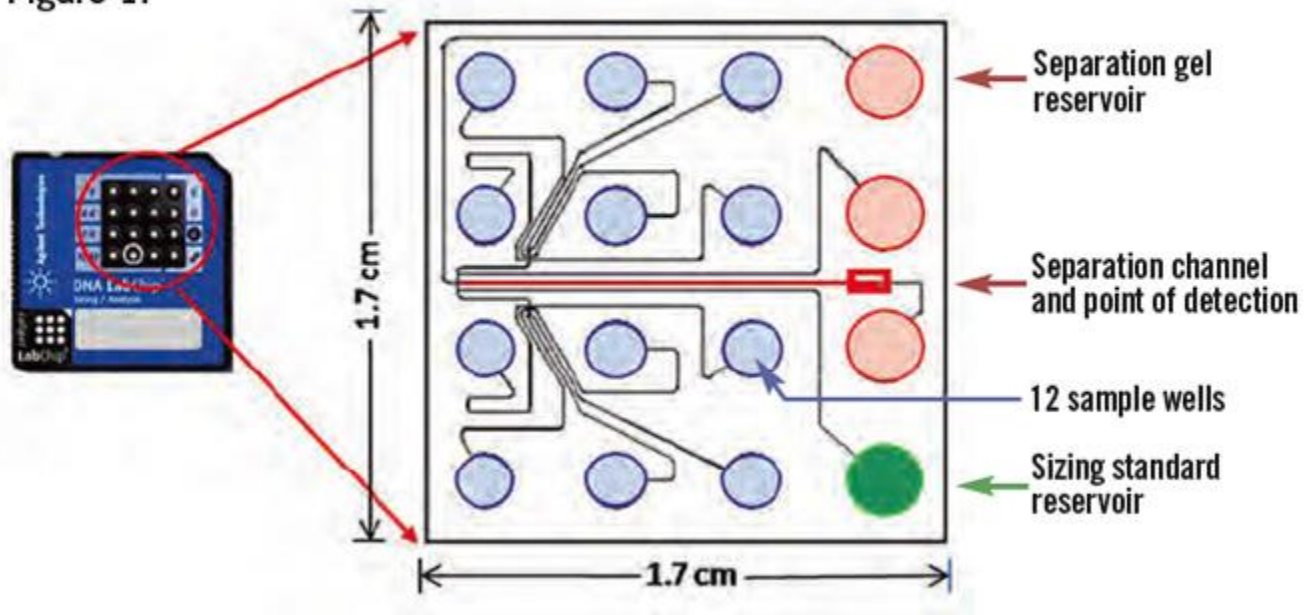
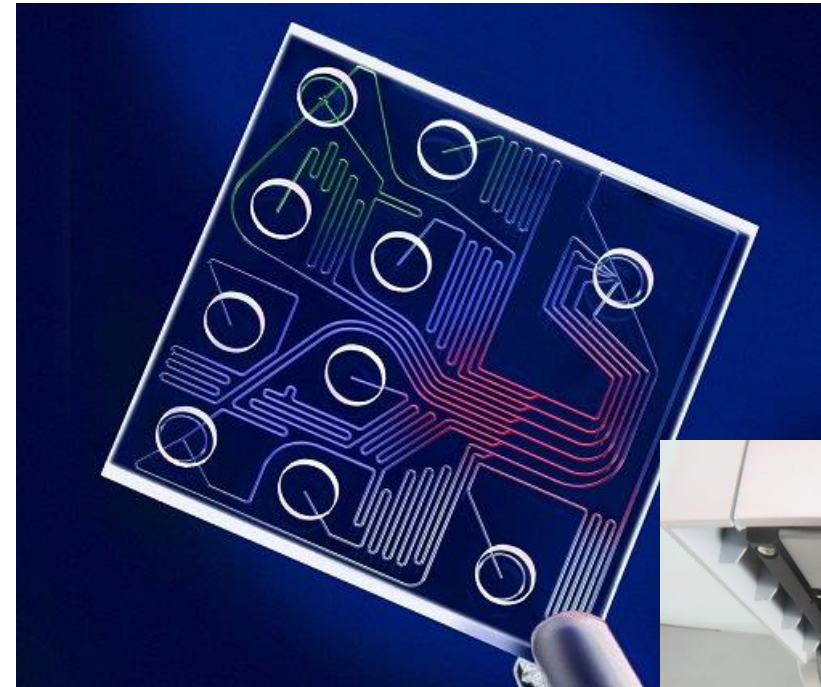
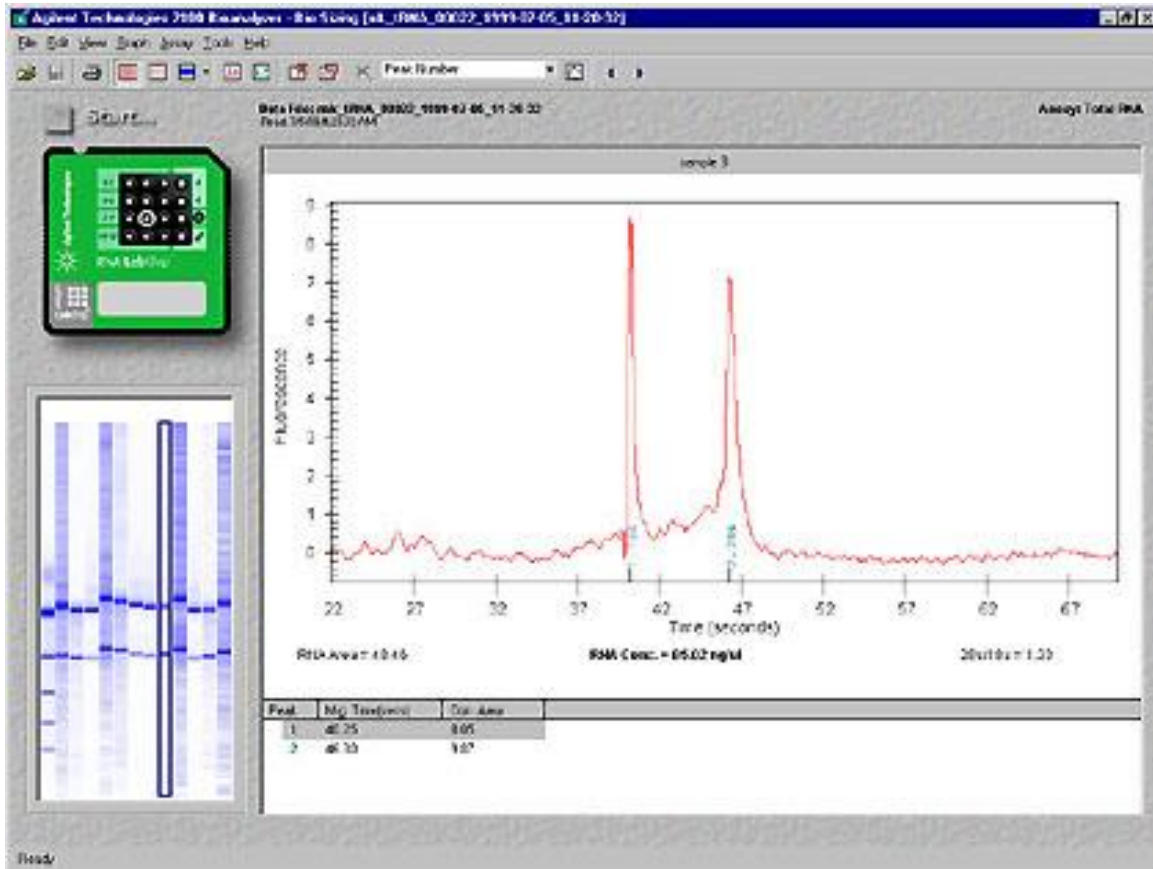
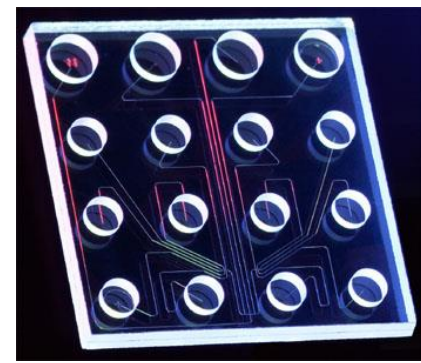


Figure 1.

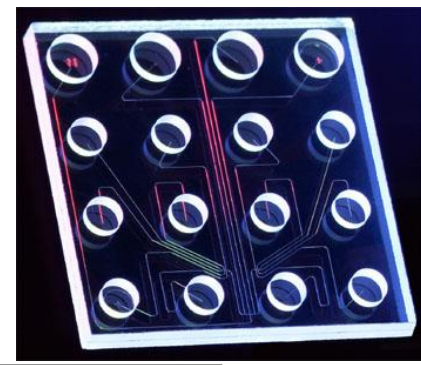


- az SDS tartalmú gél injektálása a kapilláris csatornába történik
- a gél nyomás hatására egyenletesen eloszlik
- a minták feszültség különbség hatására haladnak a gélben
- és a szeparációs csatornában elektrokinetikai erők hatására válnak szét
- a detektálás lézerindukált fluoreszcens detektorral történik

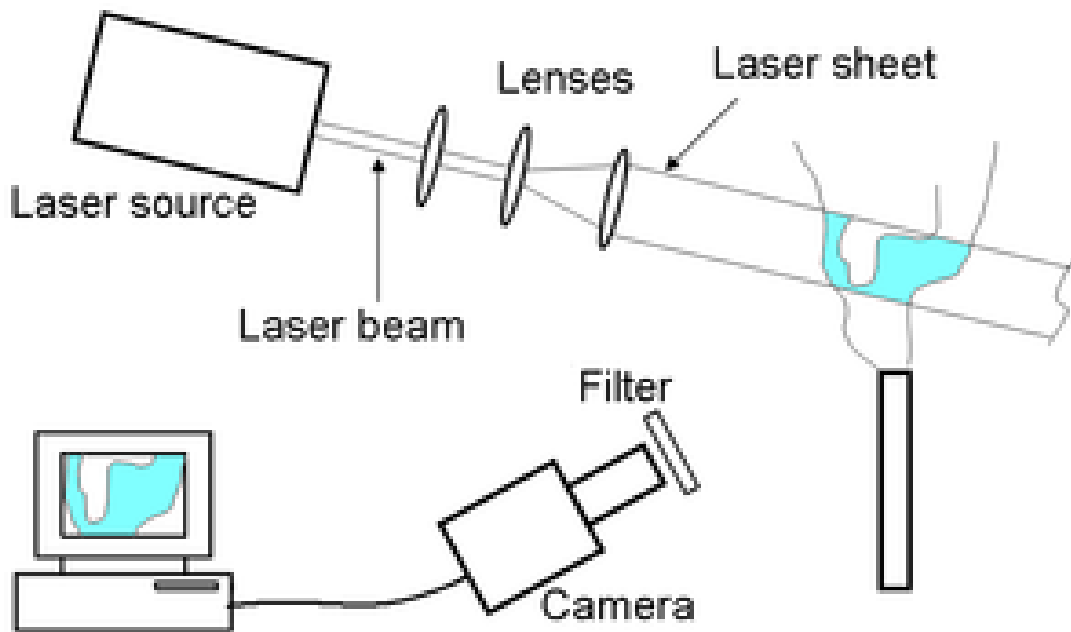
# Lab-on-a-chip



# Lab-on-a-chip



## Lézer indukált fluoreszcens detektor



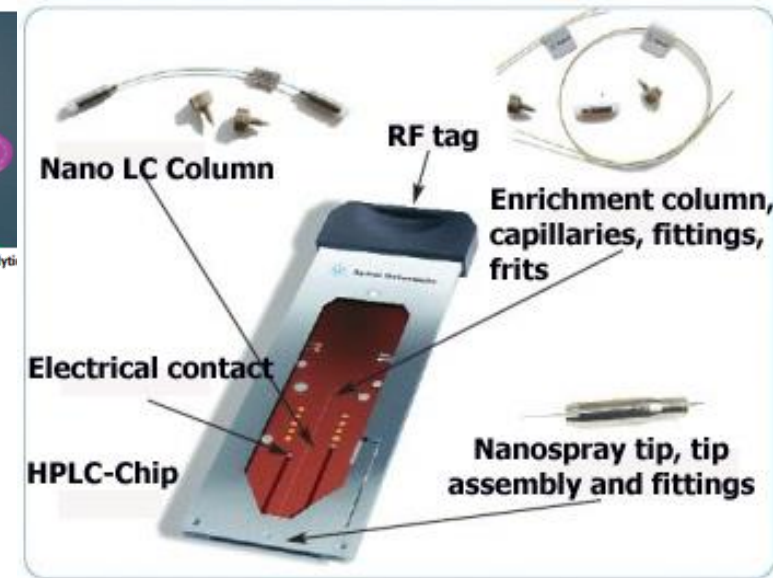
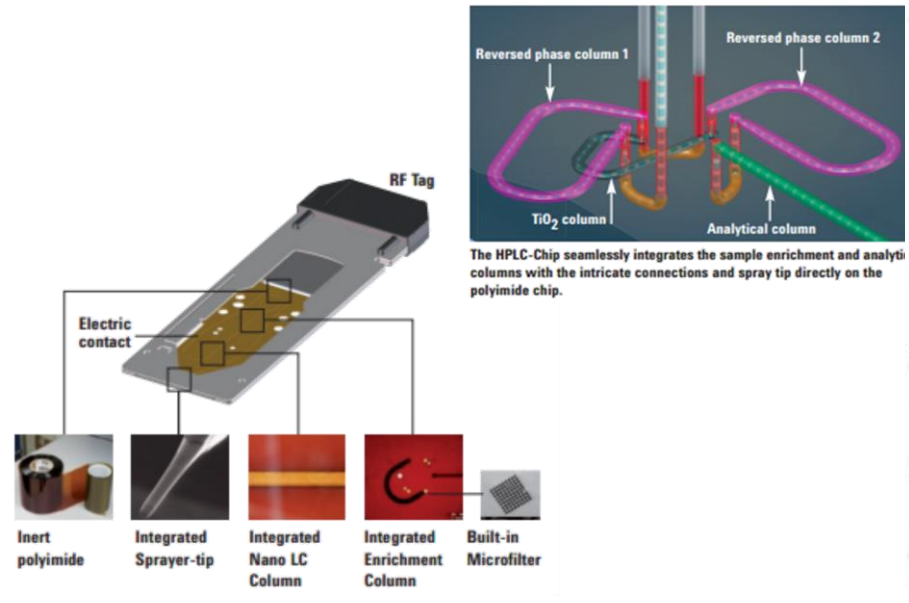
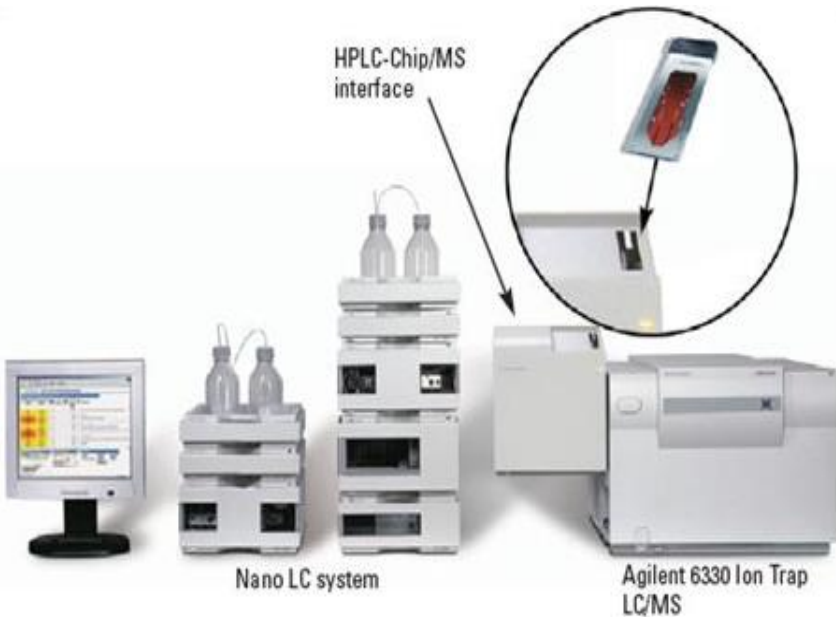
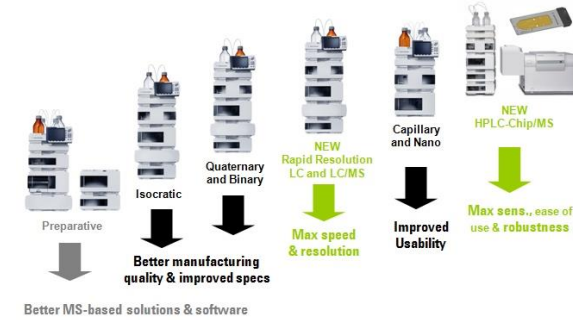
Jelenleg nukleinsavak (DNS, RNS) és fehérjék elválasztására alkalmazható

### Alkalmazási terület:

- Orvosbiológiai kutatások
- Robbanóanyagok azonosítása
- Környezeti és szennyvizek szennyezésének nyomonkövetése
- Mezőgazdasági vagy kertészeti vizek tápanyag ellenőrzése
- Élelmiszerek termelésének minőségi ellenőrzése
- Fajtaazonosítás

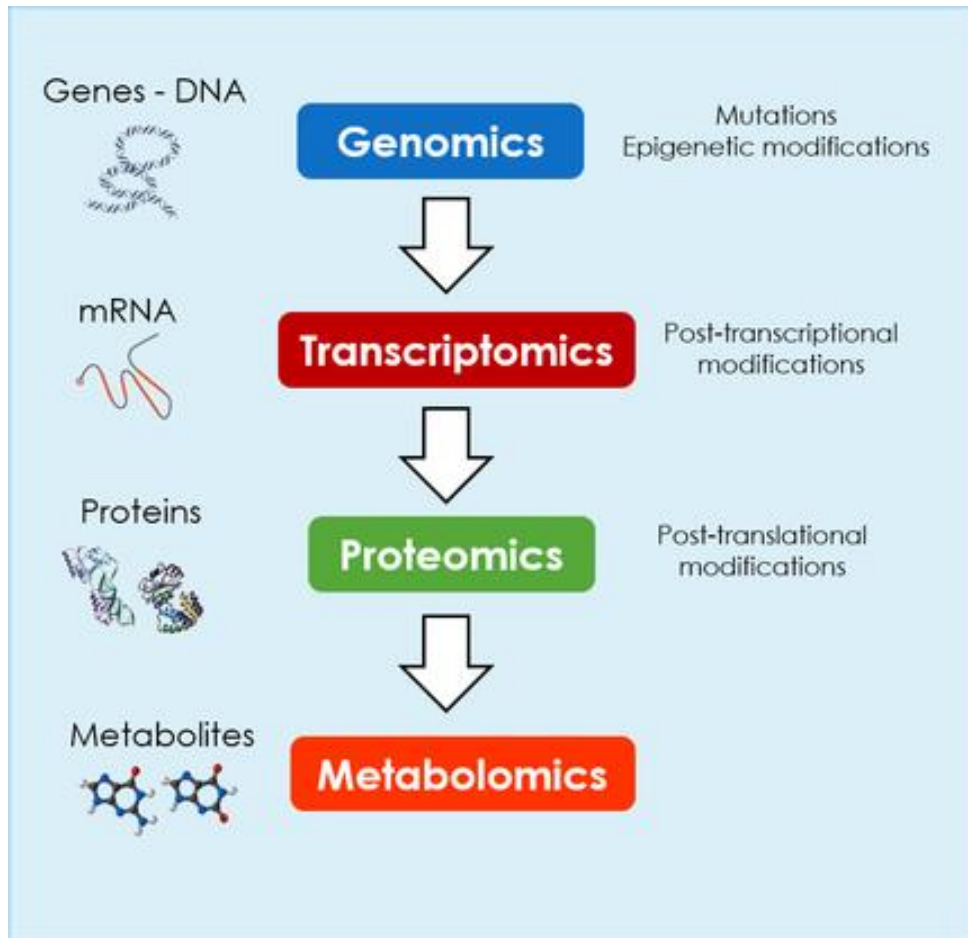


# HPLC Chip



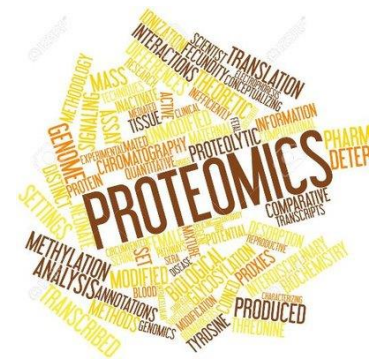
A kapillárisokat chipre integráltan is lehet működtetni (chip-HPLC). Az ilyen irányú fejlesztéseknek az egyik folyamánya lehet, hogy a kromatográfiai rendszerek, és a miniaturizálás fejlesztése nagy sebességgel közelít ahhoz, hogy egy akaratáska méretű hordozható HPLC valóság legyen. Az olyan komponensek, mint a hosszú életű, és kisméretű akkumulátorok, nano méretű folyadékáramot biztosító pumpák, chip HPLC, mikro méretű számítógépes egységek már léteznek, egyedül a kompakt kisméretű detektorok hiányoznak a hordozható, nagy hatékonyságú LC rendszerekhez.

# „OMIKA” technológiák



- a gének statikus szekvenicáinak feltárása
- a fehérjék azonosítása
- a dinamikus funkciók és kölcsönhatások feltárása
- ...

# Proteomika

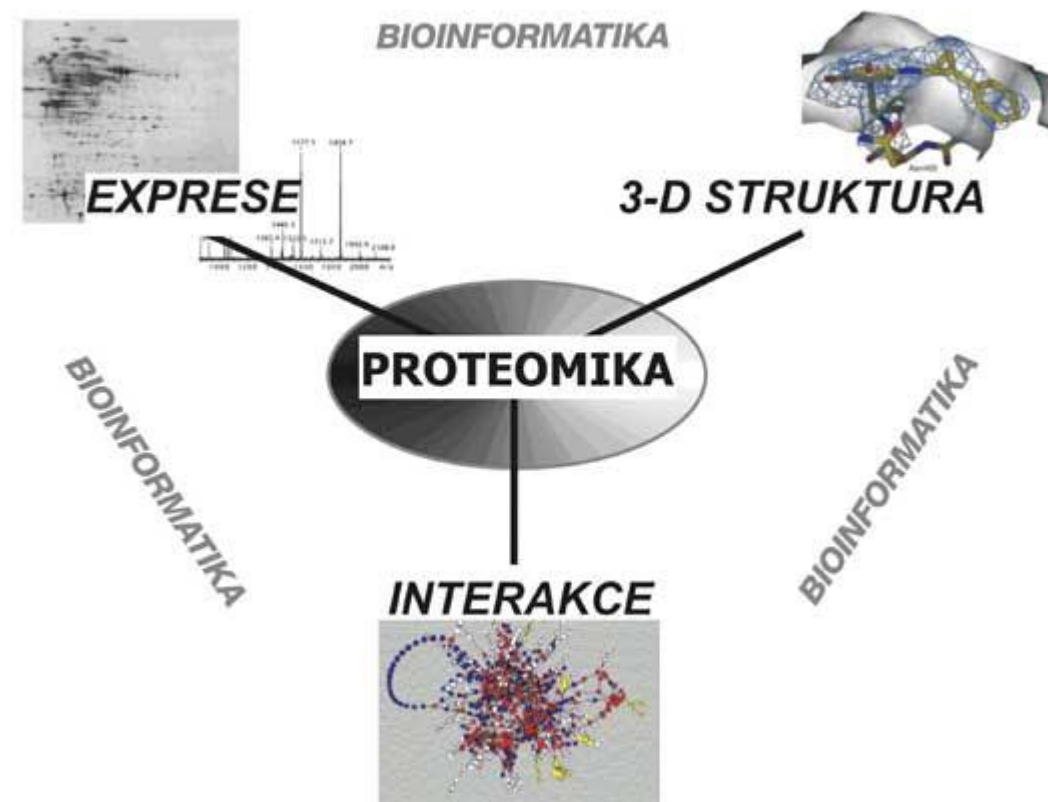


**Proteomika:** a proteomot (teljes fehérjeállományt) alkotó fehérjék analízise, összetételének vizsgálata

- azonosítás (szekvencia, 3d szerkezet)
- mennyiségi meghatározás
- adatbázisok összeállítása
- szerkezeti módosítások (pl. poszt-transzlációs)
- funkciók
- aktivitás
- ...

## Interdiszciplináris terület

- Elválasztástechnika
- Analitika
- Bioinformatika
- Adatbázisok, adatbányászat





*Köszönöm a figyelmet!*

---

