

***Gelová***

***elektroforéza***

# Elektroforéza:

- Separačná metóda, ktorá využíva schopnosť nabitých častíc pohybovať sa v elektrickom poli
- Objavená r. 1948 – Arne Tiselius /Nobelova cena za chémiu/

1902 - 1971



# Použitie na analytické aj preparatívne účely:

- Separácia veľkých molekúl – proteíny alebo nukleové kyseliny
- Separácia menších nabitých molekúl – cukry, peptidy, nukleotidy

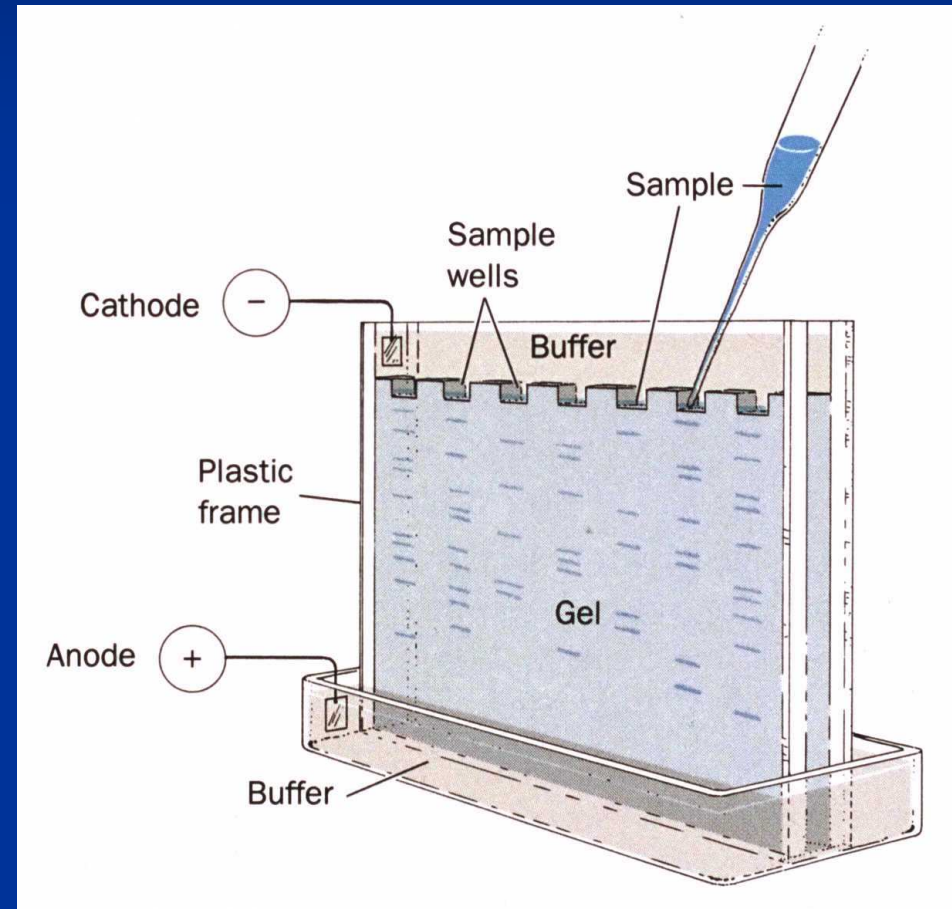
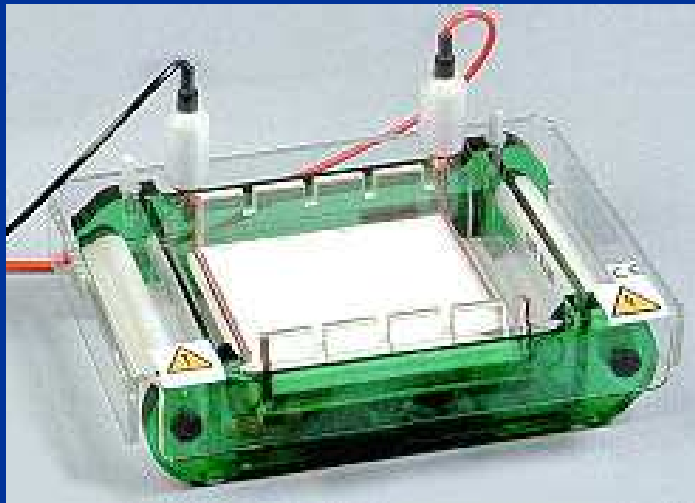
# Princípy:

- Rýchlosť pohybu častíc závisí na veľkosti náboja a veľkosti molekuly
- Pohyblivosť látky ovplyvňujú: celkový povrchový náboj, veľkosť a tvar molekuly, koncentrácia nosiča

# Elektroforéza na nosičoch:

- Nosiče musia byť hydrofilné, nerozpustné vo vode a majú mať čo najmenšie adsorpčné schopnosti
- Najpoužívannejšie nosiče: **agarózový a polyakrylamidový gel**
- Nosiče vytvoria zložitú sieťovú štruktúru s pórmi
- Veľkosť pórov možno ovplyvniť složením roztoku a koncentráciou polyméru

# Horizontálna a vertikálna elektroforéza:



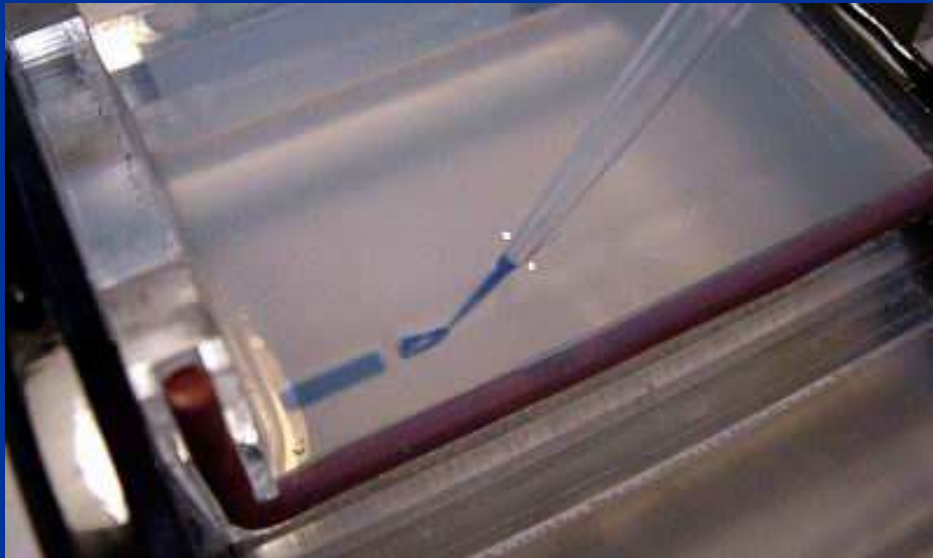
# Praktické prevedenie elektroforézy:

- Roztok agarózy sa vyleje do pripravenej formy s hrebienkom
- Po ochladení a gelifikaci sa vyberie hrebienok a gel z formičky
- Plátok gelu s jamkami sa vloží do elektroforetickej vaničky a zaleje sa pufrem

- Elektroforéza musí prebiehať vo vodnom roztoku o stálom pH, preto sa používajú pufry
- Ich úlohou je neutralizovať ionty  $H^+$  a  $OH^-$ , ktoré vznikajú hydrolýzou vody na elektródach

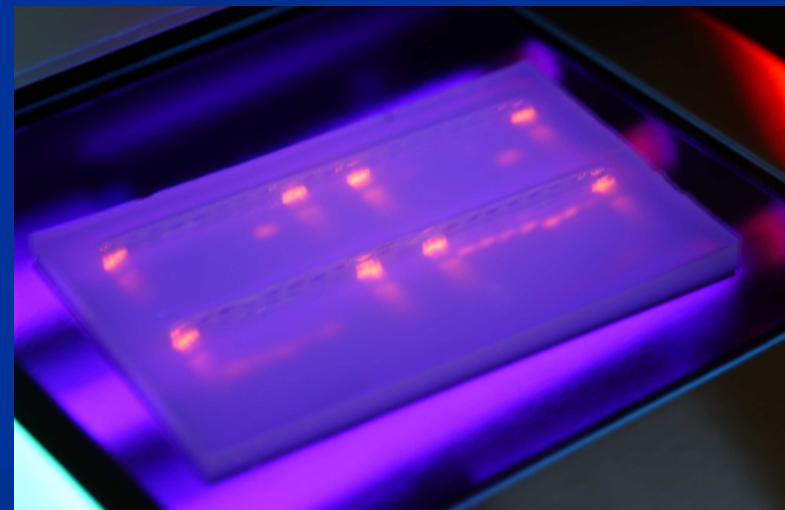
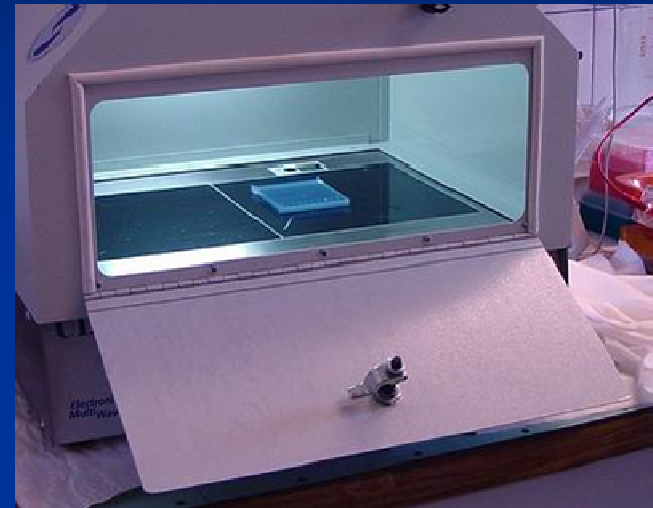


# Nanášanie vzoriek DNA na gel

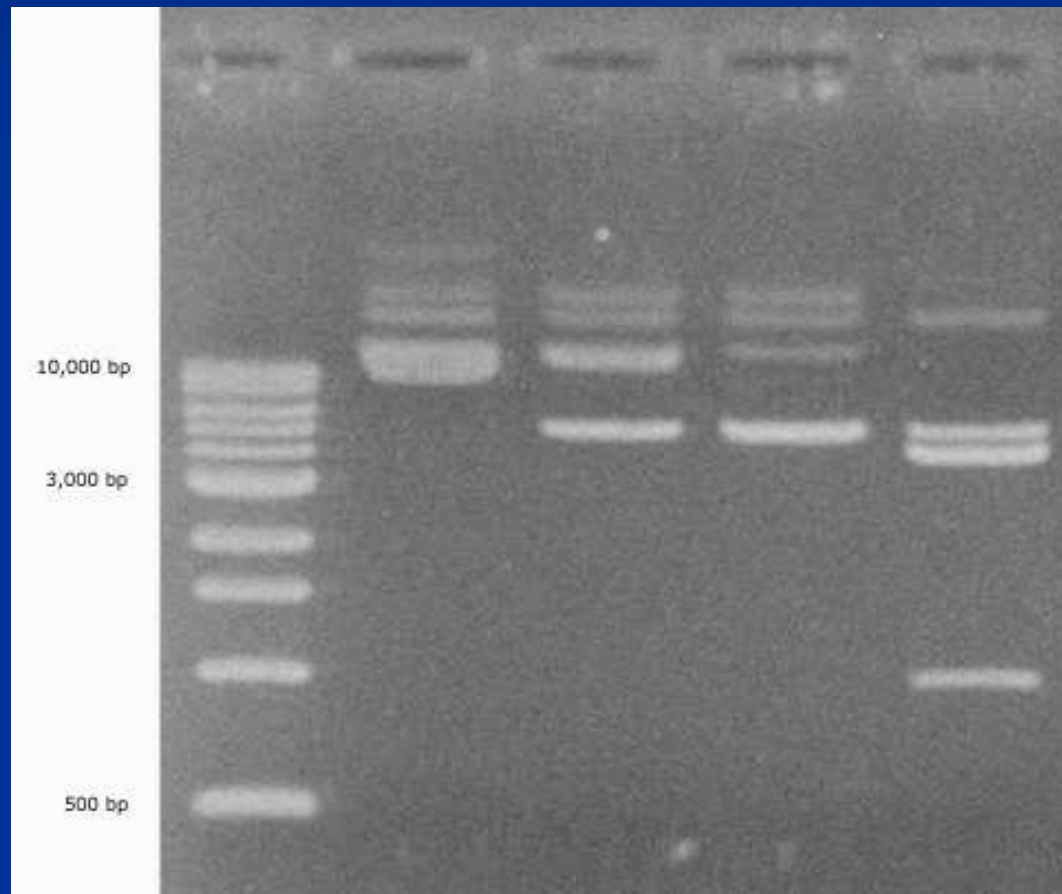


# Výsledky:

- Po skončení elektroforézy je možné vzorky zafarbit' ethidium bromidem
- Po vložení do UV-transiluminátora molekuly DNA žiaria



# Vzorky na agarózovom geli:



# Zistenie molekulovej hmotnosti:

- Poloha konkrétnej molekuly závisí na sile elektrického poľa a dobe putovania gelom-teda na okamžiku kedy vypneme zdroj el.energie
- Molekulovú hmotnosť zistíme porovnaním s veľkosťami známych molekúl, ktoré nazývame **markery molekulovej hmotnosti**

# Zdroje informácií:

- <http://biologie.upol.cz/metody/Trideni%20molekul%20nukleovych%20kyselin.htm>
- <http://sweb.cz/biochemie/x/metody/elektroforeza.htm>
- [sweb.cz/biochemie/x/metody/elektroforeza.htm](http://sweb.cz/biochemie/x/metody/elektroforeza.htm)
- [www.lf2.cuni.cz/Ustavy/biochemie/vyuka/elektrofor.ppt](http://www.lf2.cuni.cz/Ustavy/biochemie/vyuka/elektrofor.ppt)