

Rákdiasztikában használható enzim elválasztása elektroforézissel

A veszprémi Pannon Egyetem által szervezett gyakorlaton vehettem részt ismét. A laborgyakorlaton a glikoproteinek (szénhidrátok+fehérjékből létrejött molekulák) láncvégi béta-galaktóz monoszacharid egységeinek lehasítására képes béta-galaktosidáz enzim előállításához szükséges optimális körülményeket kerestük.

A már előre elkészített fehérje-tenyészeteket, amiket különböző körülmények között vizsgáltak, kicsi Eppendorf csövekben kaptuk meg, amikhez redukálószerrel kellett adnunk, hogy a kötéseket fel tudjuk bontani a fehérjékben, azok kiegyenesítése érdekében. Ezután 10 percig lobogó vízfürdőn főztük a mintákat, majd tíz perc leteltével az összes fehérje kitekeredett és szivar alakot vett fel. Ez ahhoz volt szükséges, hogy poliakrilamid gélen méret szerint elválaszthatóak legyenek egymástól a minták.



Ezután következett az akrilamid géleválasztás, amikor a gél kicsi zsebeibe pipettáztuk a fehérje mintákat, plusz az egyik üres zsebbe molekulalétrát tettünk, ami ismert méretű fehérjék keveréke és így az elválasztás után segít az ismeretlen minta komponenseinek azonosításában.

Körülbelül fél óra múlva már dolgozhattunk is a géllal (a már benne lévő mintákkal):



amit először meg kellett festenünk, majd utána kimosni, kiöblíteni vízben, mindezt bekapcsolt vegyifülke alatt, zárt dobozban, mivel az oldatok metanolt tartalmaztak.

A fehérjék már a festés után is jól láthatóvá váltak, mi a jobb azonosítás érdekében, az eredményt megvilágítás felett figyelhettük meg.

