Elválasztástechnika

Elválasztástechnikák

Oszlopkromatográfia

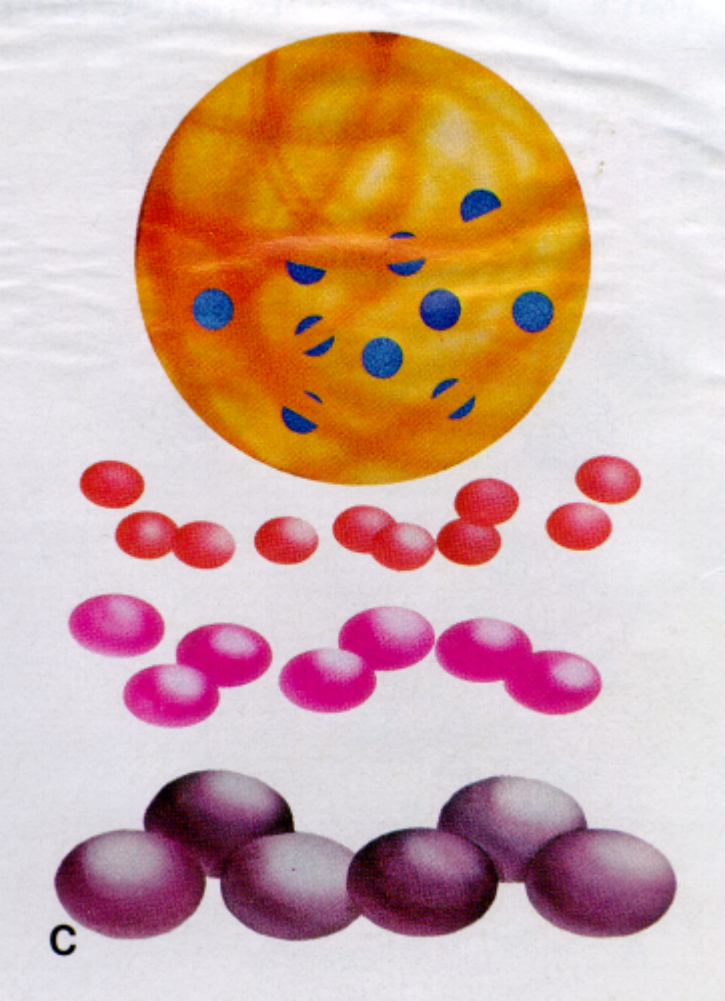
1. *Gélszűrés és gélpermeációs kromatográfia*
2. *Ioncserés kromatográfia*
3. *Affinitás kromatográfia*
4. *Adszorpciós kromatográfia*

Elektroforézis

1. *natív*
2. *SDS*
3. *izoelektromos fókuszálás*
4. *2D elektroforézis*

1. Gélszűrés és gélpermeációs kromatográfia

Az elválasztás alapja: molekulaméret különbség

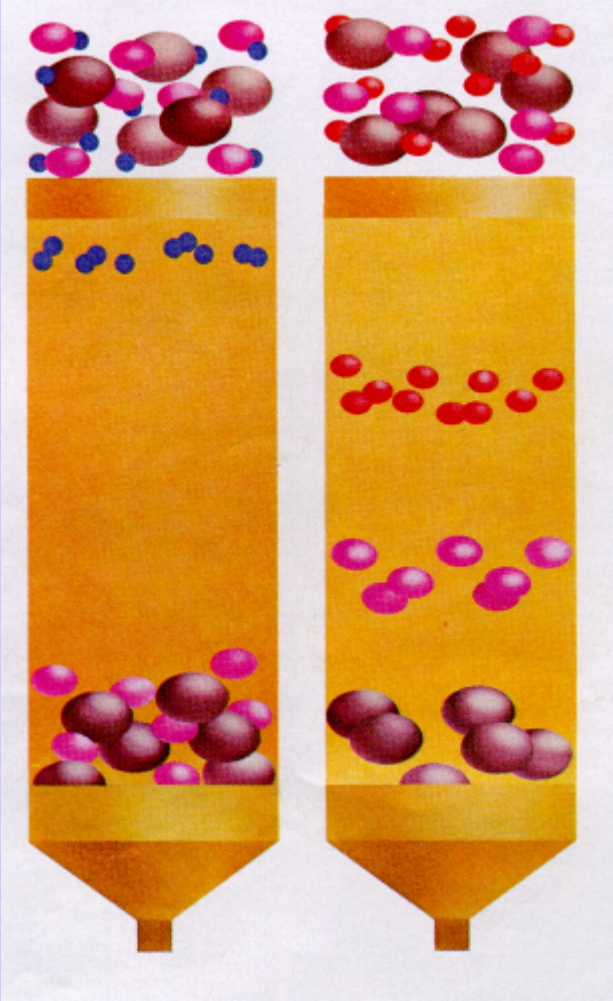


Oszloptöltet: porózus anyag (agaróz vagy keresztkötött poliakrilamid)

Eluálás: kiszorítás (sóoldat, víz, híg sav)

1. Gélszűrés és gélpermeációs kromatográfia

sómentesítés, puffercsere



frakcionálás, molekulatömeg meghatározás

2. Ioncserés kromatográfia

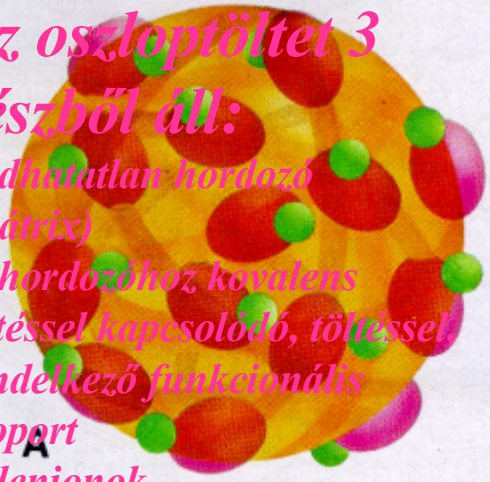
Az elválasztás alapja: töltéskülönbség

Az oszloptöltet 3 részből áll:

-oldhatatlan hordozó (mátrix)

-a hordozóhoz kovalens kötéssel kapcsolódó, töltéssel rendelkező funkcionális csoport

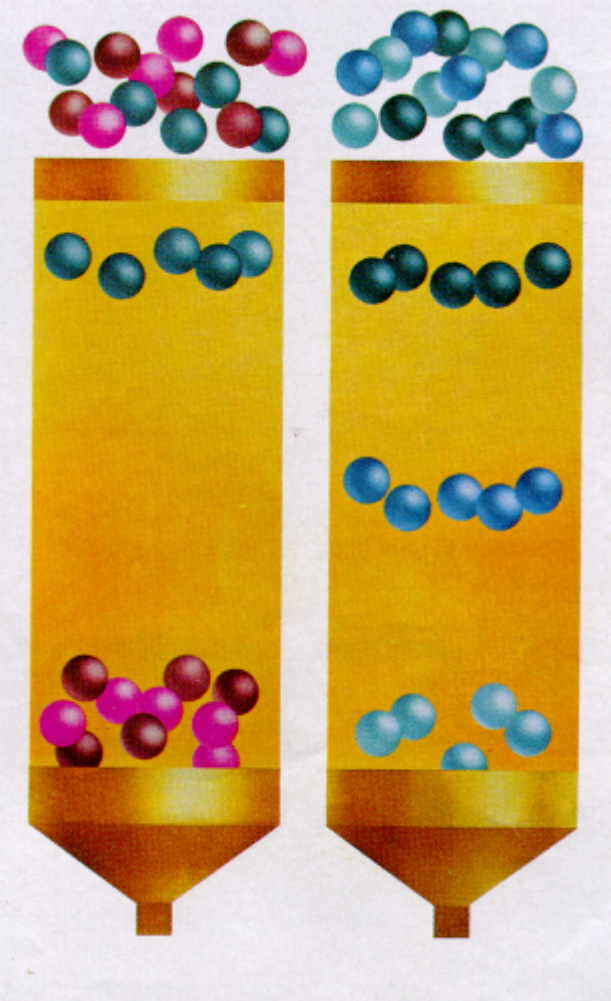
-ellenionok



Eluálás: az ionkötés megbontásával (sók, pH)

2. Ioncserés kromatográfia

tisztítás



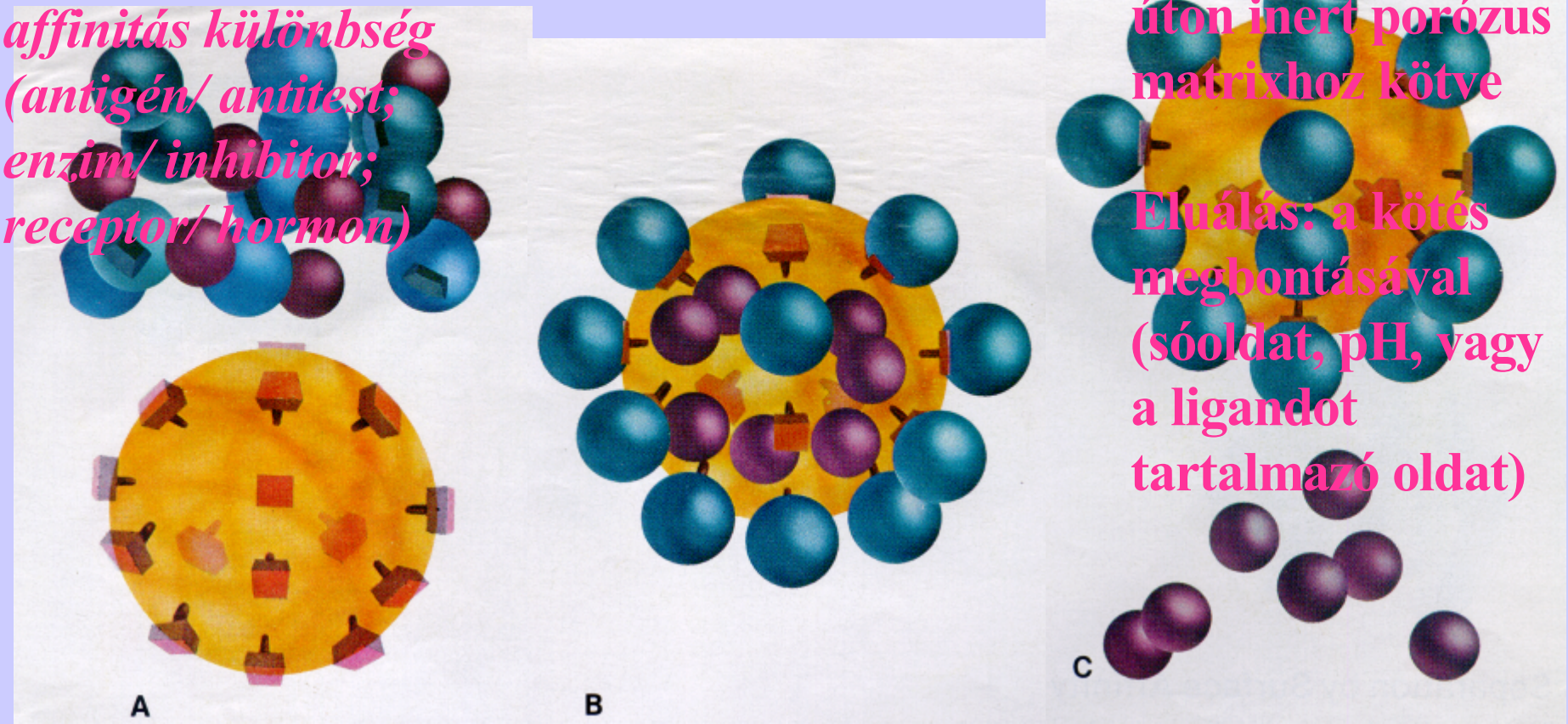
frakcionálás,

3. Affinitás kromatográfia

Az elválasztás alapja: Biospecifikus affinitás különbség (antigén/ antitest; enzim/ inhibitor; receptor/ hormon)

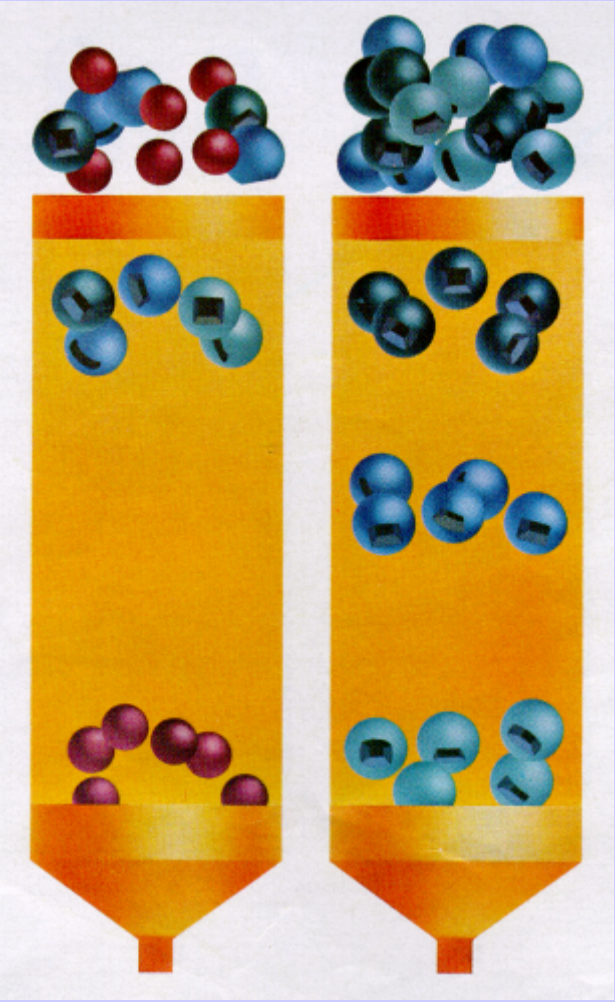
Oszloptöltet: a ligandum kémiai úton inert porózus matrixhoz kötve

Eluálás: a kötés megbontásával (sóoldat, pH, vagy a ligandot tartalmazó oldat)



3. Affinitás kromatográfia

specifikus ligandok: híg minták tisztítása



osztályspecifikus ligandok: tisztítás és frakcionálás

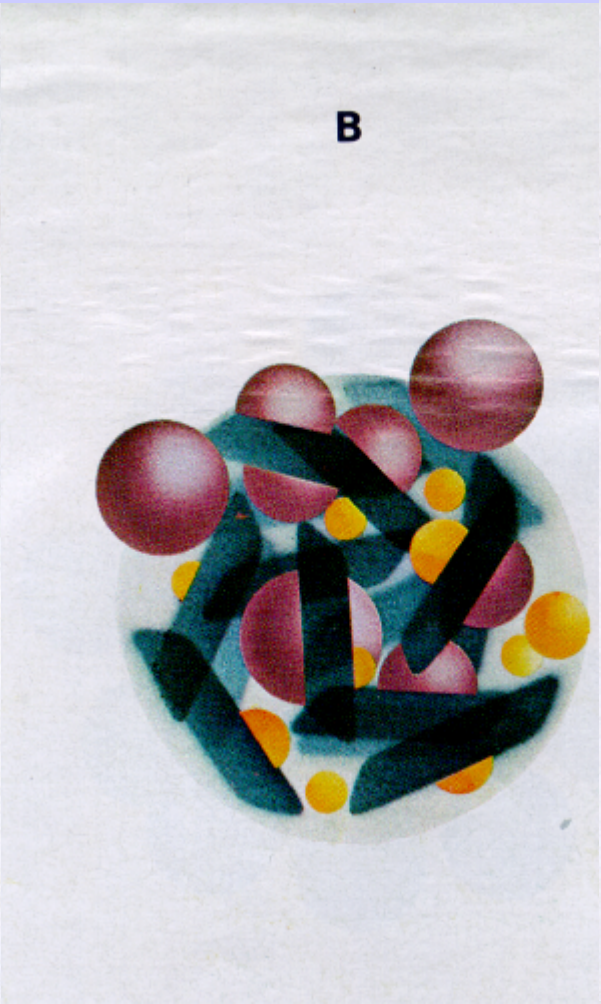
4. Adszorpciós kromatográfia

Az elválasztás alapja: felület-affinitás különbség (igen nagy felület a tömeghez képest)

- **normál fázisú rendszer: poláros kölcsönhatás**
- **fordított fázisú rendszer: hidrofób kölcsönhatás**

4. Adszorpciós kromatográfia

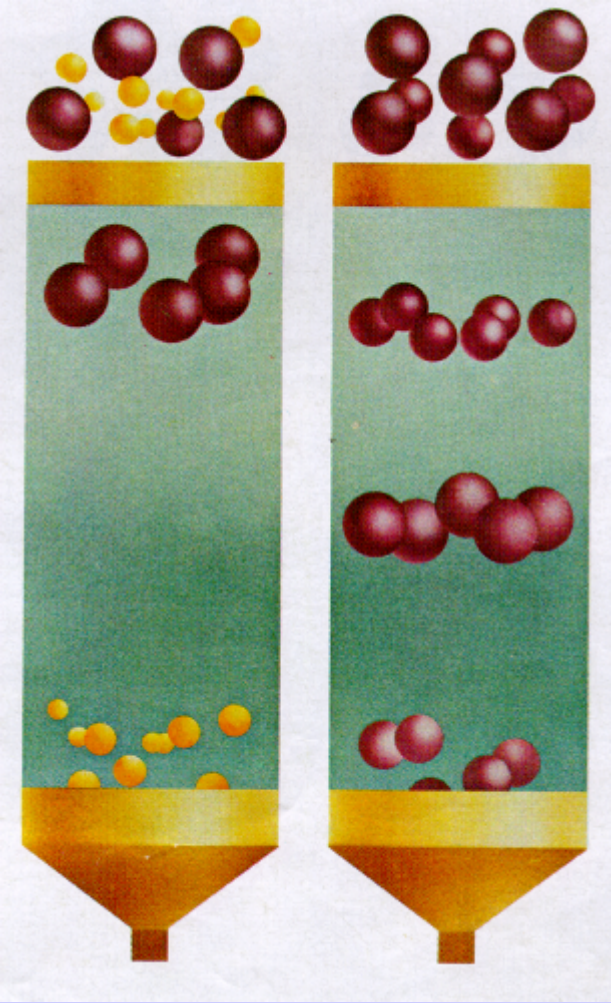
Oszloptöltet: -
hidroxiapatit (kristályos kalciumfoszfát)
-normál fázisú rendszer: szilikagél, aluminiumoxid
-fordított fázisú rendszer: derivatizált szilikagél (C4, C8, C18)



Eluálás: folyamatos megoszlás az álló és mozgó fázis között
-hidroxiapatit: mozgó fázis: foszfát puffer
-normál fázisú rendszer: mozgó fázis: apoláros oldószer pl. hexán
-fordított fázisú rendszer: mozgó fázis: vizes oldat

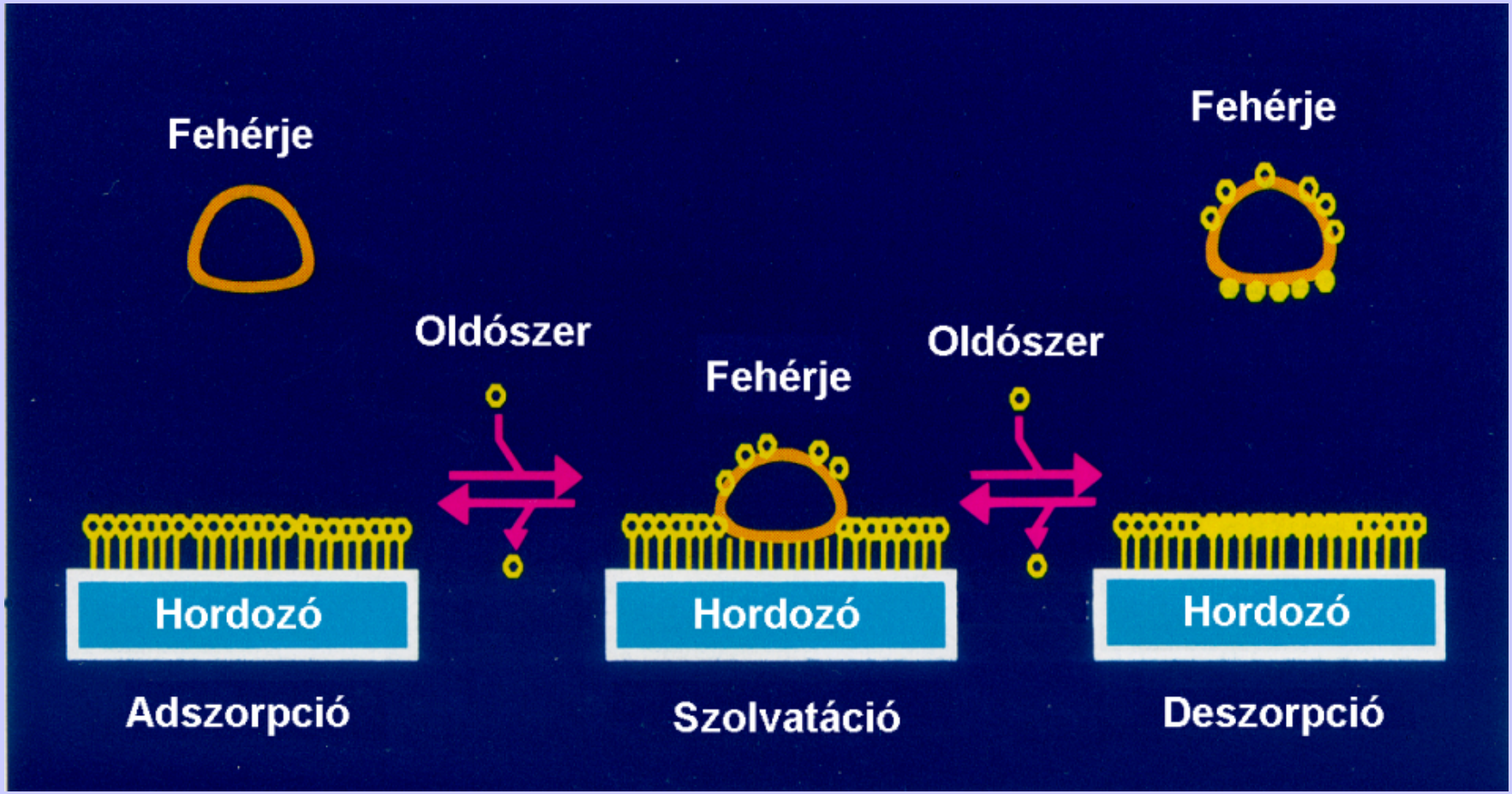
4. Adszorpciós kromatográfia

tisztítás

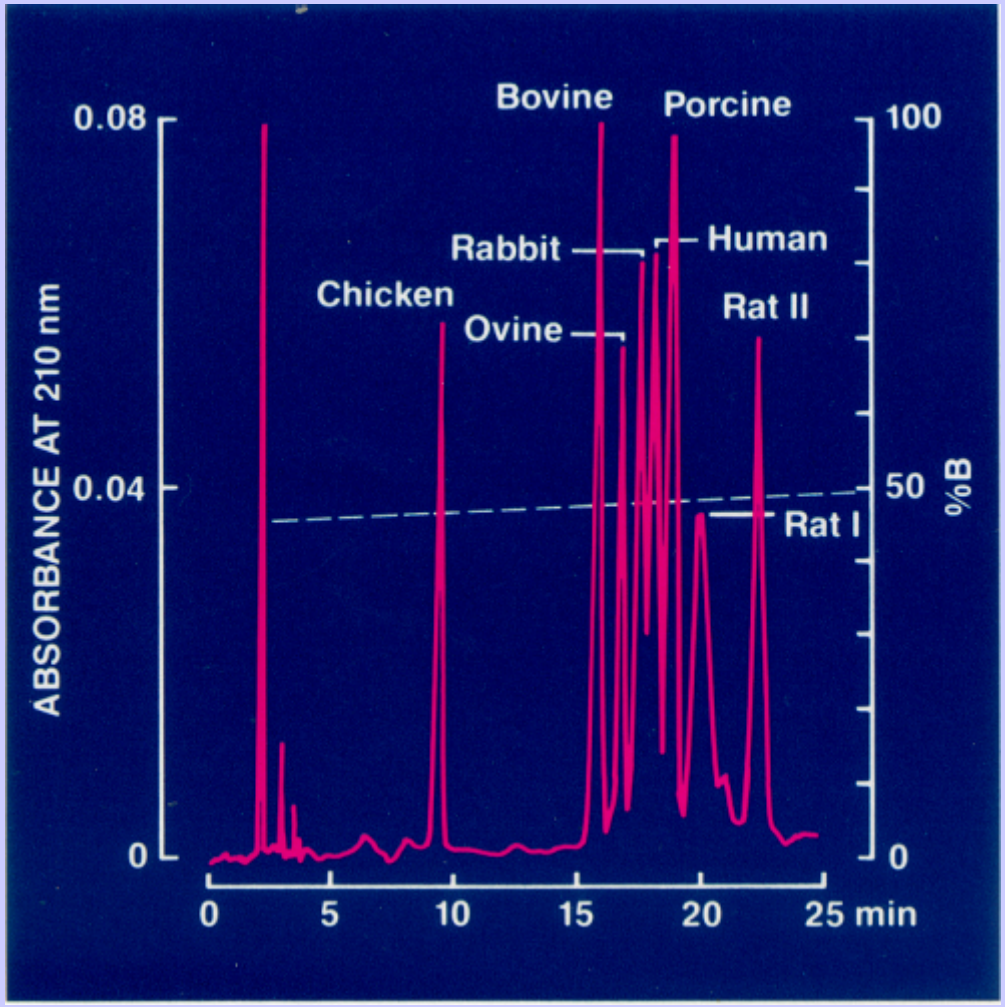


frakcionálás

Fordított fázisú HPLC (RP-HPLC)



Fordított fázisú HPLC (RP-HPLC)



Elektroforézis rendszerek

- *Mátrix*
  - *agaróz*
  - *poliakrilamid (PAGE)*
  - *üvegfelület (kapilláris elektroforézis)*
- *Futtatórendszer*
  - *lap elektroforézis*
    - »*horizontális*
    - »*vertikális*
  - *kapilláris elektroforézis (CE)*

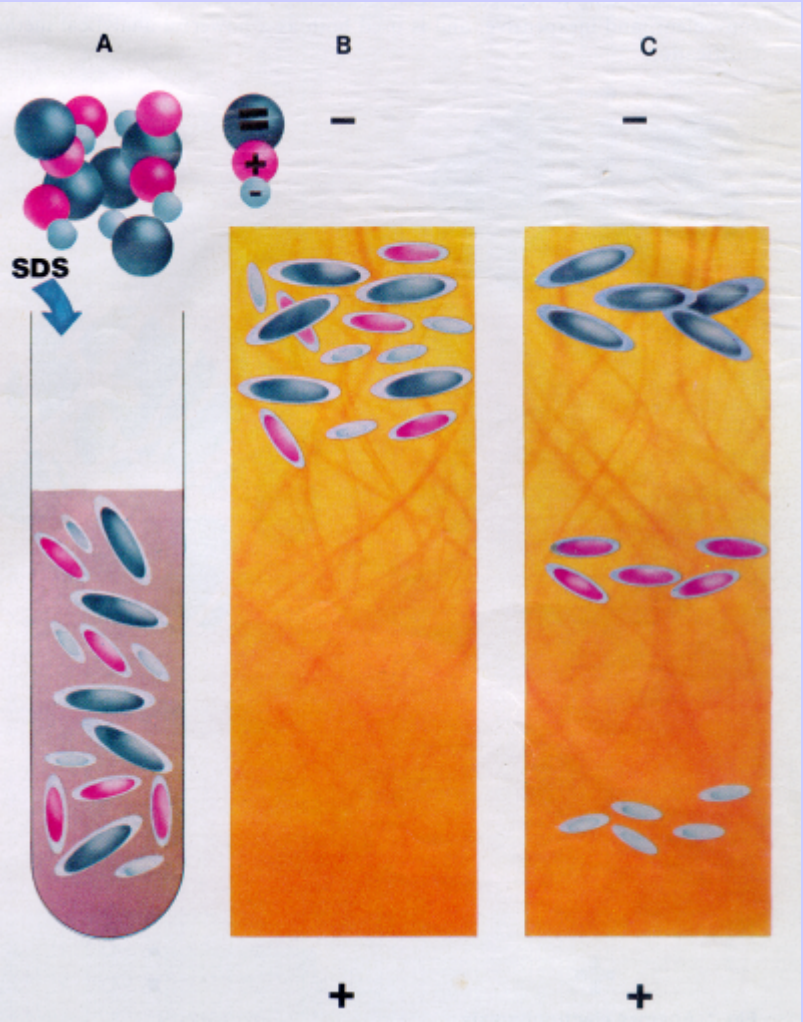
A
B
C

Fehérjék elelktroforetikus elválasztása

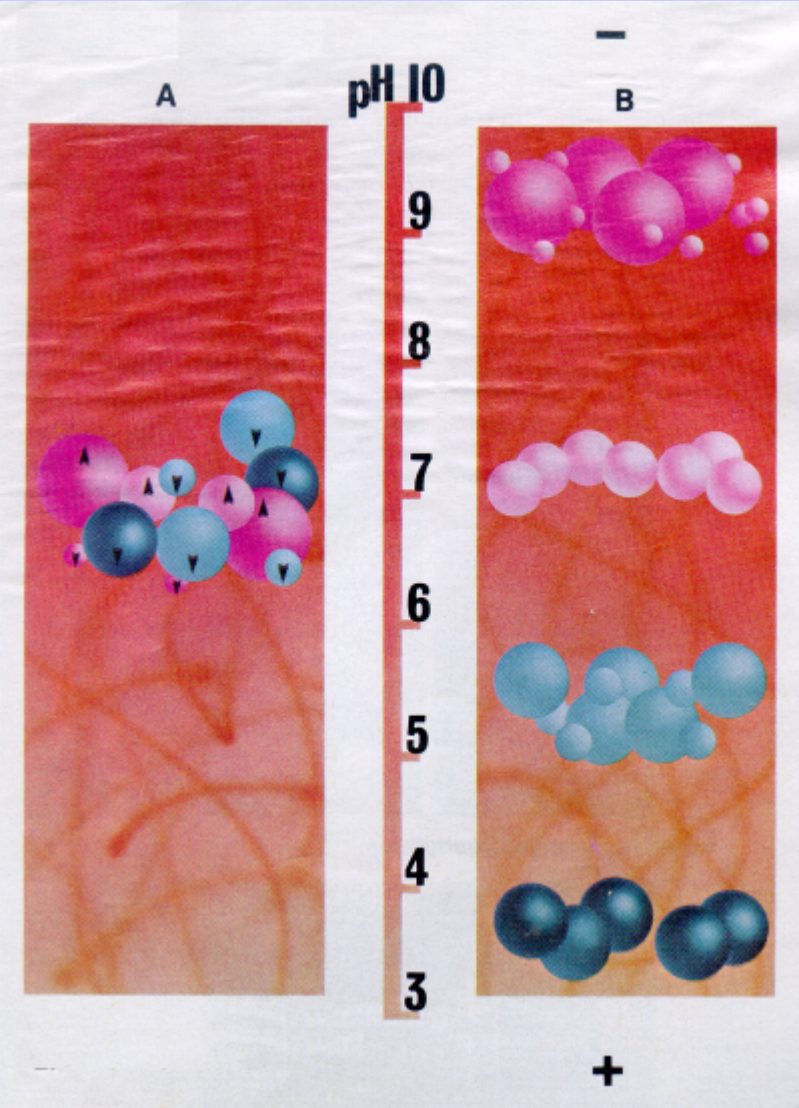
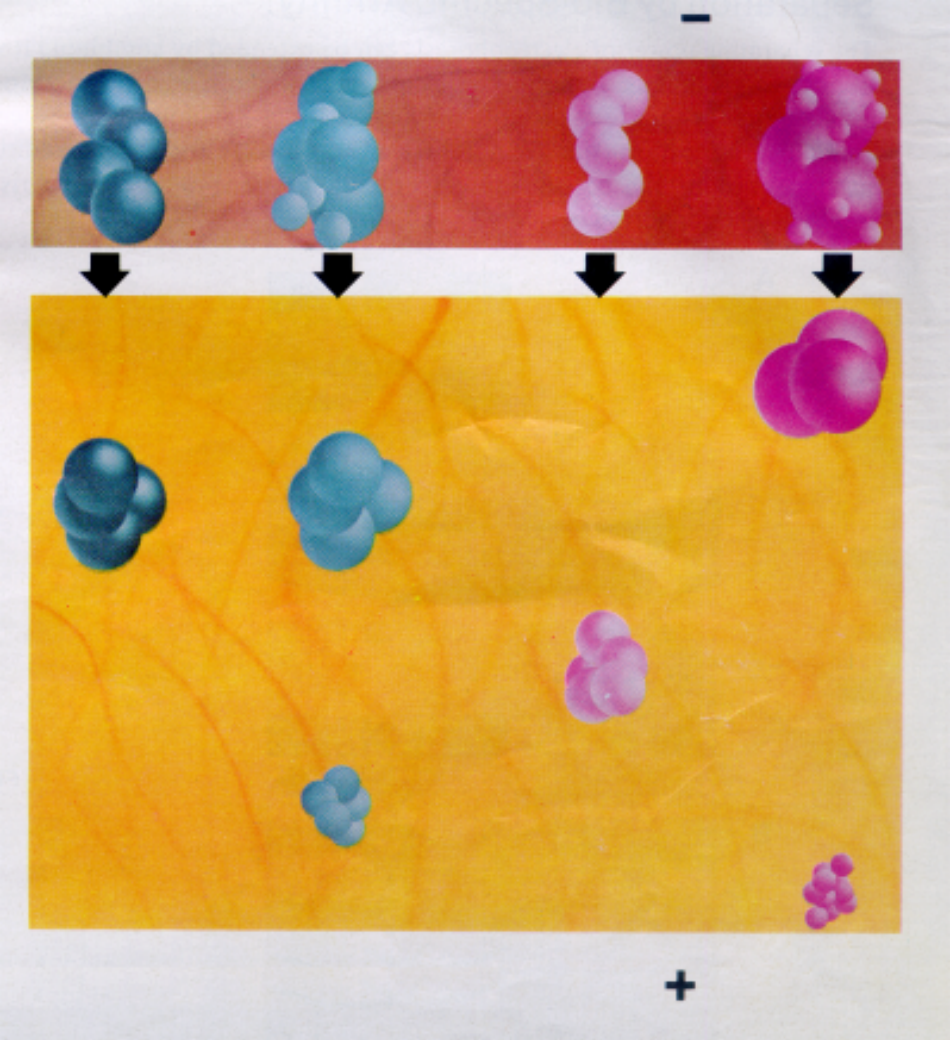
A fehérje tulajdonságai alapján

3. *natív: töltés, méret, alak*
   - *homogén*
   - *gradiens*
4. *SDS: méret*
   - *homogén*
   - *gradiens*
5. *izoelekromos fókuszálás: izoelektromos pont*
6. *kétdimenziós elektroforézis: két elektroforézis technika kombinálása (izoelektromos fókuszálás + SDS vagy natív elektroforézis)*

2. SDS elektroforézis



3. izoelekromos fókuszálás



4. kétdimenziós elektroforézis