

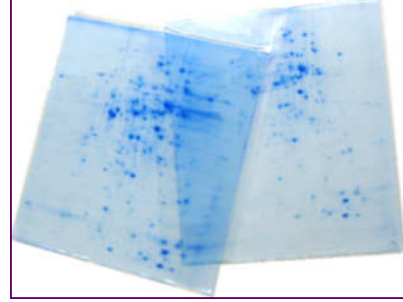
Elektroforez Sistem Laboratuvarı (ESL)



Elektroforez, protein, DNA RNA gibi makromoleküllerin elektrik alan altında moleküler ağırlığına göre ayrılmasına dayalı bir yöntemdir. Jel matrisine yüklenen proteinler elektrik alan altında taşıdıkları elektrik yüklerine göre hareket ederler. Bu hareket esnasında molekülün büyüklüğü ve yapısı jel matrisinin içerisindeki porlardan geçişinde bir direnç oluşturur ve bu direnç hareket hızını etkiler, bunun neticesinde moleküller elektrik yükleri, molekül ağırlıkları, 3 boyutlu yapıları gibi farklı parametrelerin de etkisiyle ayrışırlar. Jel matrisi üzerindeki protein/DNA/RNA varlığı Comassie Blue, Gümüş Nitrat, SYBR Green gibi farklı boylar kullanılarak tayin edilebilir. Elektroforez Sistem Laboratuvar'ında Dikey Elektroforez Sistemi (Amersham, Biorad), Pulsed Field Jel Elektroforez Sistemi (Amersham), izoelektrik Odaklama Sistemi (Biorad) ve İki Boyutlu Jel Elektroforez Sistemi



Dikey Elektroforez Sistemi (VGE): Peptid ve proteinlerin moleküler ağırlığı esasında ayrıştırılması amacıyla kullanılan sistemlerdir. Proteinler SDS ile denature edilerek negatif yüklü hale getirilir, yaklaşık olarak tüm proteinlerin eşit molekül ağırlığı/ elektrik yükü oranına sahip olduğu SDS-PAGE analizlerinde proteinler jel matrisi içerisinde kütleleri ile doğru orantılı bir dirençle karşılarak farklı hızlarda ilerlerler. Proteinin 3 boyutlu yapısının korunmasının tercih edildiği Native-PAGE analizlerinde ise protein yükü de proteinlerin ayrışmasında belirleyici bir parametredir. Her iki durumda da litrede nanogramdan milligram düzeyine kadar proteinlerin molekül ağırlıkları saptanabilmektedir.



İzoelektrik Odaklama Sistemi(IEF): Proteinlerin izoelektrik noktalarının tayininde kullanılan sistemlerdir. Amfolit çözeltiler kullanılarak pozisyona bağlı olarak değişken pH değerlerine sahip hale getirilen bir jel içerisinde proteinlerin elektrik alan etkisinde hareket etmeleri esasına dayanır. Her bir protein elektrik yükünün nötr olduğu pH bölgesinde hareketini sonlandırır. Bu şekilde karışım içerisindeki tüm proteinler elektrik yüklerinin sıfır olduğu pH noktalarında toplanırlar. Protein derişimine bağlı olarak gümüş nitrat ve ya comassie mavisi ile boyama yapılabilmektedir.

Pulsed Field Jel Elektroforez Sistemi(PFGE): Birbirine yakın büyüklükteki DNA örneklerinin birbirinden ayrıştırılmasında kullanılan bu teknikte, elektrik alanının farklı frekanslarda 3 farklı yön değiştirmesi sonucu normal bir agaroz jel analizinden farklı olarak, 20kb üzerindeki DNA fragmanları için daha net bir jel görüntüsü elde edilir. 8 Mb büyüklüğe kadar DNA örnekleri ayrıştırılabilir. Genellikle tür tayini çalışmalarında kullanılır.



İki Boyutlu Jel Elektroforez Sistemi (TDGE): IEF ve Dikey elektroforez sistemlerinin entegre bir şekilde kullanıldığı "iki boyutlu jel elektroforezi" tek bir jel üzerinde proteinlerin moleküler ağırlıkları ve izoelektrik noktalarına göre analiz edilmesine imkan tanır. Farklı boyama teknikleriyle litre başına nanogramdan miligram düzeyine kadar proteinler tanımlanabilir.