

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10^ο ΣΥΣΚΕΥΕΣ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗΣ

10.1. Γενικά

Η ηλεκτροφόρηση είναι μια αναλυτική μέθοδος που χρησιμοποιείται συνήθως στη βιολογία και στην ιατρική. Εφαρμόζεται για το χωρισμό – σπάσιμο – διάλυση των πρωτεϊνών, νουκλεϊκών οξέων και άλλων ουσιών, όπως μικρών οργανιδίων. Με τη μεταβολή των πρωτεϊνών του ορού μπορούμε να διαπιστώσουμε διάφορες παθήσεις του ανθρώπινου οργανισμού, όπως ο αποφρακτικός ίκτερος, η κίρρωση του ήπατος, οι χρόνιες λοιμώξεις, οι σοβαροί τραυματισμοί κτλ. Έτσι, προσδιορίζουμε από τι πάσχει ένας ασθενής, όταν ήδη έχουμε κάνει μία ποικιλία εξετάσεων και έχουμε αμφιβολία ως προς το είδος της ασθένειας. Σημειώνεται ότι η ηλεκτροφόρηση είναι συμπληρωματική άλλων εξετάσεων και βοηθητική για περισσότερη έρευνα στον ασθενή.

10.2. Αρχή λειτουργίας

Η ηλεκτροφόρηση είναι το φαινόμενο κατά το οποίο έχουμε μεταφορά ιόντων, μεγάλων και μικρών ηλεκτρικών σωματιδίων – μορίων, με την επίδραση ηλεκτρικού πεδίου. Βασίζεται στο ότι τα διάφορα λευκώματα του ορού ή οι λιποπρωτεΐνες του ορού του αίματος, όταν βρεθούν σε ηλεκτρικό πεδίο, συμπεριφέρονται διαφορετικά, λόγω του ότι έχουν διαφορετική σύσταση στο μόριο τους και διαφορετικό μοριακό βάρος και ηλεκτρικό φορτίο.

Έτσι, εάν στα λευκώματα του ορού επιδράσουμε με ηλεκτρικό πεδίο, τότε θα υπάρξει μία μετακίνηση των φορτίων, άλλα προς την άνοδο και άλλα προς την κάθοδο, ανάλογα με το ηλεκτρικό φορτίο τους και το pH του διαλύματος, π.χ. πολύ αλκαλικό.

Τα αρνητικά φορτισμένα και μικρότερου μοριακού βάρους σωματίδια, όπως η λευκωματίνη, θα πάνε πιο γρήγορα από τα θετικά σωματίδια, όπως οι σφαιρίνες, που έχουν μεγαλύτερο μοριακό βάρος, στην άνοδο. Αυτή την ταχύτητα μπορούμε να τη μετρήσουμε τοποθετώντας κατάλληλα μέσα, όπως χαρτί ειδικού τύπου ή ειδική μεμβράνη, στην επιφάνεια του διαλύματος, στην οποία θα στάξουμε μία σταγόνα ορού και αφήνοντας ταυτόχρονα να περάσει ηλεκτρικό ρεύμα. Θα παρατηρήσουμε τότε το διαχωρισμό των ουσιών του

ορού, επειδή οι ουσίες που υπάρχουν μέσα στον ορό θα πάνε προς την άνοδο με διαφορετική ταχύτητα.

Εάν τώρα σταματήσουμε το ηλεκτρικό ρεύμα και κατόπιν χρωματίσουμε την ειδική μεμβράνη ή το χαρτί, θα δούμε ότι σχηματίζονται από τη μεταφορά των λευκωμάτων, κάθετες ταινίες, που κάθε μία έχει διαφορετικό κλάσμα λευκώματος. Καθένα από τα κλάσματα που έχουν σχηματιστεί αντιστοιχεί και σε διαφορετικές παθήσεις (σχήμα 10.1).

Αφού έχει γίνει ο διαχωρισμός των κλασμάτων, απαιτείται τώρα η ποσοτική και ποιοτική ταυτοποίηση των κλασμάτων που γίνεται με πολλούς τρόπους.



Σχήμα 10.1. Διαφορετικά κλάσματα ηλεκτροφορήσεων

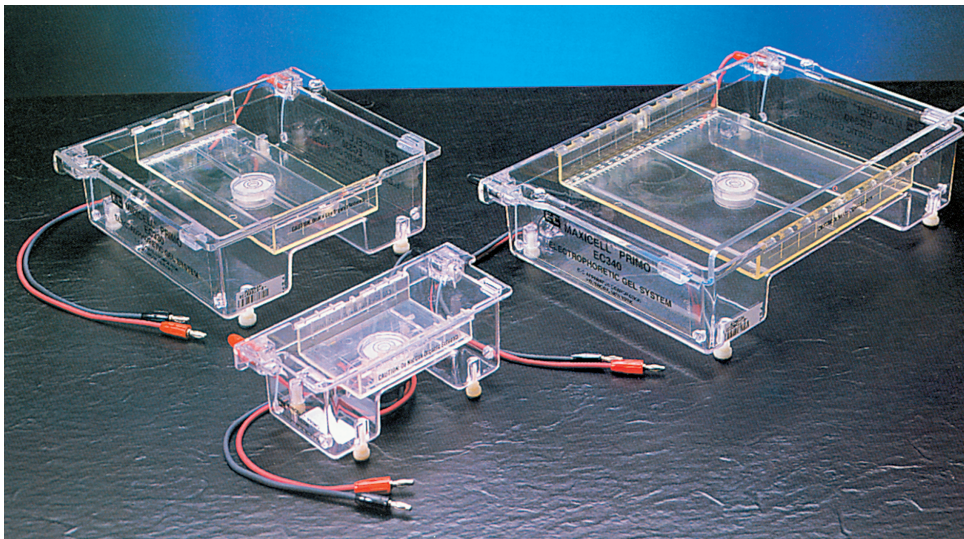
10.3. Περιγραφή της συσκευής

Η συσκευή ηλεκτροφόρησης αποτελείται από:

- Ι. **Μία πλαστική λεκάνη ή μπανάκι ή λεκανάκι**, όπως λέγεται στα εργαστήρια. Πρόκειται για μία πλαστική λεκάνη ειδικών διαστάσεων, που στην πρόσοψή της έχει, σε εμφανές σημείο, δύο θέσεις τοποθέτησης των ακροδεκτών, από το τροφοδοτικό. Οι θέσεις αυτές σημειώνονται με μαύρο για το πλην (-) της πηγής και κόκκινο για το συν (+) της πηγής. Ο λόγος που σημειώνονται τα χρώματα είναι να μην υπάρχει περίπτωση λάθους στην τοποθέτηση των

καλωδίων από το τροφοδοτικό. Μέσα στο λεκανάκι υπάρχει κατά μήκος ένα σύρμα κατάλληλα τοποθετημένο και σε απόσταση από τα άκρα της λεκάνης. Πρόκειται για σύρμα πλατίνας, λευκόχρυσου, ειδικά επεξεργασμένο και ειδικής κατασκευής και πάχους, απ' όπου περνά το ρεύμα από το τροφοδοτικό, με σκοπό την ηλεκτροφόρηση των διαφόρων ουσιών. Το μήκος του είναι αυστηρά προκαθορισμένο για κάθε κατασκευαστή. Δεν επιτρέπεται αλλαγή μήκους σε περίπτωση αντικατάστασής του, γιατί τότε τα αποτελέσματα των ηλεκτροφορήσεων θα είναι διαφορετικά από τα προηγούμενα. Η λεκάνη χωρίζεται σε δύο μέρη, κανάλια, όπως ονομάζονται. Τα κανάλια έχουν στην εξωτερική τους πρόσοψη τα σημεία συν (+) και πλην (-), όπου τοποθετούμε τους ακροδέκτες από το τροφοδοτικό. Με κόκκινο χρώμα έχουμε το συν (+) και με μαύρο χρώμα το (-).

2. **Το τροφοδοτικό.** Είναι ένα ανεξάρτητο τμήμα, ειδικής κατασκευής και έχει τη δυνατότητα να ρυθμίζεται η τάση του, ανεξάρτητα από το ρεύμα που βγάζει και αντίστροφα. Έτσι, έχουμε διαφόρους τύπους τροφοδοτικών, ανάλογα με το είδος των μετρήσεων που θέλουμε να κάνουμε.
 - Α. Τροφοδοτικό σταθερής έντασης. Είναι ο τύπος του τροφοδοτικού όπου έχουμε εξασφαλίσει πάντα σταθερό ρεύμα στην έξοδό του, το οποίο διοχετεύεται στο λεκανάκι της ηλεκτροφόρησης, μεταβάλλοντας μόνο την τάση εισόδου της συσκευής. Τη μεταβολή αυτή την παρατηρούμε είτε σε όργανο απλό, αναλογικό, είτε σε μια μικρή οθόνη, display, που είναι στην πρόσοψη του τροφοδοτικού.



Σχήμα 10.2. Διάφορα λεκανάκια ηλεκτροφορήσεων

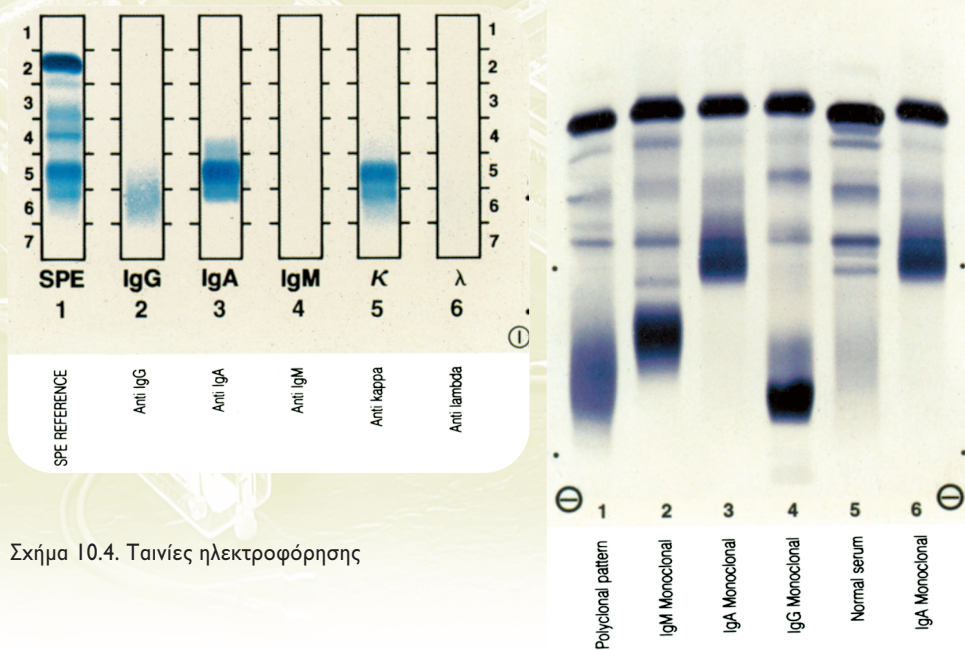
- Β. Τροφοδοτικό σταθερής τάσης. Είναι σχεδόν ίδιο με το προηγούμενο τροφοδοτικό, με τη διαφορά ότι τώρα έχουμε στην έξοδο σταθερή τάση, που τροφοδοτεί το λεκανάκι, με οποιαδήποτε μεταβολή στο ρεύμα εισόδου. Το ρεύμα εισόδου το μεταβάλλουμε εμείς μέσω ενός ειδικού ρυθμιζόμενου διακόπτου–ποτενσιόμετρο, που υπάρχει επάνω στο τροφοδοτικό. Την ένδειξη της μεταβολής του ρεύματος τη βλέπουμε είτε σε όργανο αναλογικό είτε σε μικρή οθόνη, display, που υπάρχει επάνω στο τροφοδοτικό.
- Γ. Τροφοδοτικό σταθερής έντασης και σταθερής τάσεως. Είναι τα πλέον διαδεδομένα τροφοδοτικά που βρίσκουμε στα εργαστήρια.



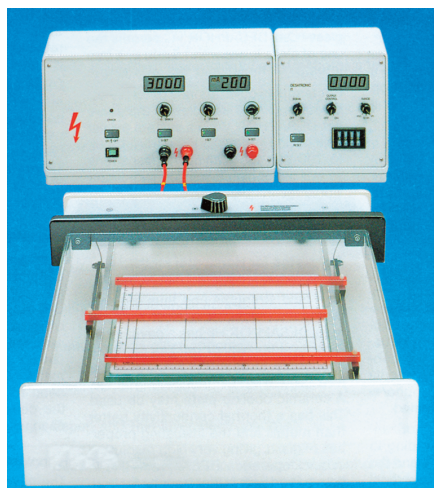
Σχήμα 10.3. Τροφοδοτικό σταθερού ρεύματος

Αποτελεί συνδυασμό των δύο ανωτέρω περιπτώσεων και η έξοδός του, το σημείο από όπου παίρνουμε τάση ή ρεύμα για το λεκανάκι, είναι μαρκarisμένο με ευκρίνεια, ώστε να μην υπάρχει περίπτωση λάθους στην τοποθέτηση των ακροδεκτών. Η μεταβολή της τάσης ή του ρεύματος παρακολουθείται πάλι από όργανα, που υπάρχουν στην πρόσοψη της συσκευής είτε αναλογικά είτε οθόνες, από όπου μπορούμε να παρακολουθήσουμε όλες τις αναγκαίες μεταβολές που θέλουμε τόσο στην τάση όσο και στο ρεύμα.

3. Πυκνόμετρο. Πρόκειται για όργανο το οποίο διαβάζει τις ταινίες των ηλεκτροφορήσεων και βγάζει τα αποτελέσματα είτε στην οθόνη είτε σε χαρτί ειδικού τύπου (θερμικό). Αποτελείται από μία οθόνη υπολογιστή, όπου δίνονται οι διάφορες εντολές και διαβάζονται τα αποτελέσματα, ένα ειδικού τύπου πληκτρολόγιο, ένα καταγραφικό, και μία ειδική θέση, όπου τοποθετούνται οι ταινίες ηλεκτροφόρησης.



Σχήμα 10.4. Ταινίες ηλεκτροφόρησης



Σχήμα 10.5. Συσκευή ηλεκτροφόρησης με τη λεκάνη και το τροφοδοτικό της.



Σχήμα 10.6. Συσκευή μέτρησης κλασμάτων ηλεκτροφόρησης



Ανακεφαλαίωση

Η ηλεκτροφόρηση είναι μια αναλυτική μέθοδος που χρησιμοποιείται για το χωρισμό των πρωτεϊνών, νουκλεϊκών οξέων και άλλων ουσιών, όπως μικρών οργανιδίων. Είναι συμπληρωματική άλλων εξετάσεων.

Βασίζεται στο ότι τα διάφορα λευκώματα ή οι λιποπρωτεΐνες του ορού του αίματος, όταν βρεθούν σε ηλεκτρικό πεδίο συμπεριφέρονται διαφορετικά. Η διάταξη που χρησιμοποιείται για την ηλεκτροφόρηση αποτελείται από τη λεκάνη, όπου γίνεται η ηλεκτροφόρηση των ουσιών, το τροφοδοτικό και το πυκνόμετρο, που διαβάζει της ταινίες της ηλεκτροφόρησης. Η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων της μεθόδου εξαρτάται, όπως και όλες οι αναλυτικές μέθοδοι, από μια σειρά βημάτων σωστής χρήσης της συσκευής.



Ερωτήσεις



1. Τι ονομάζουμε ηλεκτροφόρηση;
2. Από τι αποτελείται η συσκευή της ηλεκτροφόρησης;
3. Να εξηγήσετε τι αποτέλεσμα θα έχουμε, εάν συνδεθούν διαφορετικά οι ακροδέκτες στη λεκάνη.

Ασκήσεις

1. Να περιγράψετε τη συσκευή ηλεκτροφόρησης που υπάρχει στο εργαστήριό σας.
2. Από πόσα μέρη αποτελείται και ποια εργασία κάνει κάθε μέρος;
3. Να περιγράψετε τον τύπο του τροφοδοτικού που έχετε. Δηλαδή, εάν είναι σταθερού ρεύματος ή τάσης και ποια είναι η μέγιστη ένδειξη που παίρνουμε από τα όργανα σε ρεύμα ή τάση και να δικαιολογήσετε την απάντησή σας.