

ELEKTROFOREZA BIAŁEK NA ŻELU POLIAKRYLAMIDOWYM

XX
STUDENCKA
SESJA
PLAKATOWA

INSTYTUT FIZYKI
WYDZIAŁ FIZYKI, ASTRONOMII
I INFORMATYKI STOSOWANEJ UJ



AUTOR:
PANEK DOMINIK

OPIEKUN:
PROF. DR HAB. E. STĘPIEŃ

33

1 Wprowadzenie

Elektroforeza to metoda rozdzielania mieszanin. Od innych odróżnia ją sposób rozdzielenia oraz substancje ulegające rozdzielaniu. Podstawą działania jest wpływ siły wymuszającej ruch na umieszczonych w (stałym) polu elektrycznym cząstkach (molekuł) obdarzonych ładunkiem [1]. Cząstkami tymi są związki organiczne (np. białka). W badaniach białkami poddawanych elektroforezie były albumina wołowa - BSA (*bovine serum albumine*), proteaza, kazeina oraz trypsyna.

3 Wyniki

Masę wyznaczono dzięki prostej standardowej wykonanej na podstawie standardu dostępnego na PMFB. Prosta przedstawia zależność masy molekularnej MW od względnej odległości prążka białka od "góry" żelu:

$$\ln(MW) = R_f a + b$$

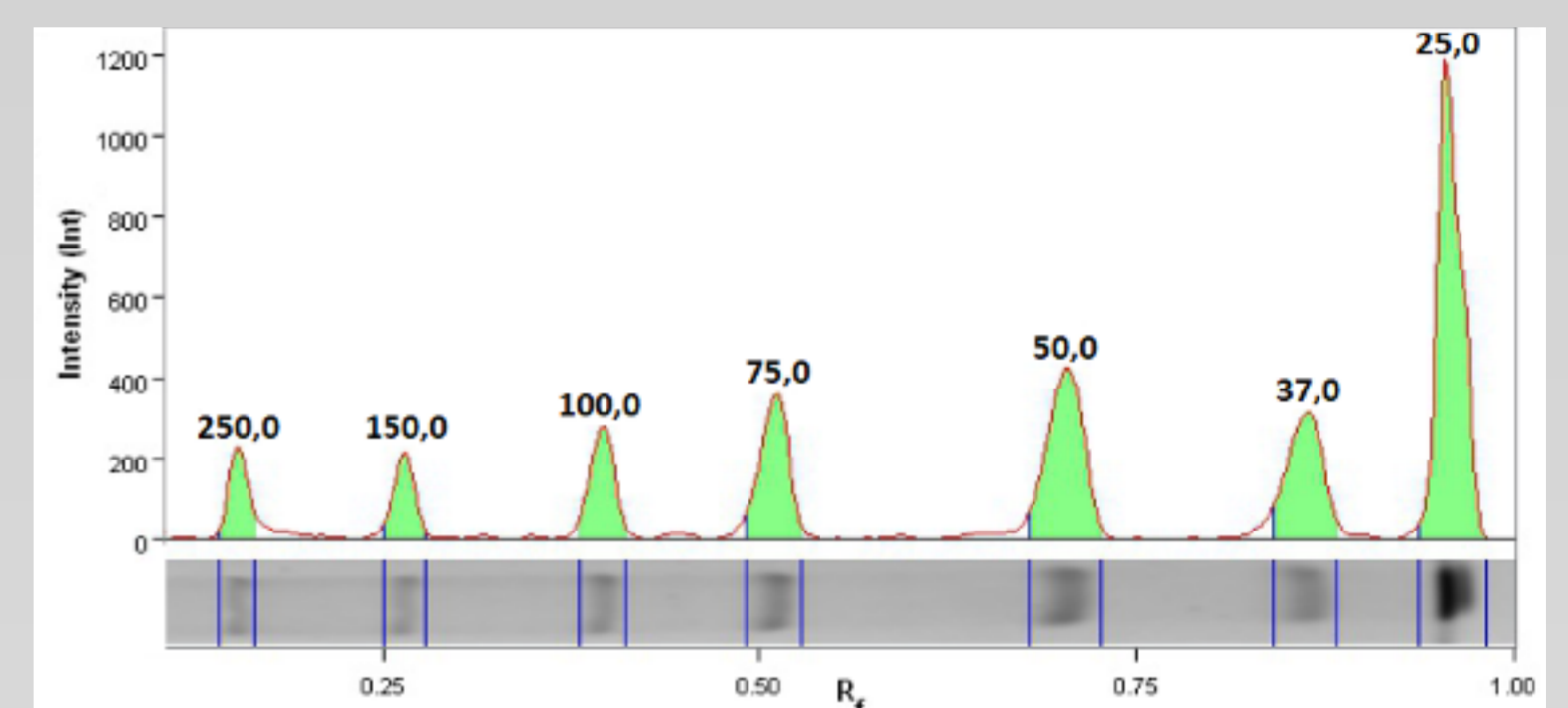
Gdzie R jest odległością względną, a a oraz b to współczynniki regresji liniowej. Otrzymane wyniki zawiera poniższa *Tabela*. Niepewność pomiaru masy liczona była metodą różniczek zupełnej na podstawie parametrów prostej standardowej otrzymanej w programie *OriginPro*.

Białko	Masa wyznaczona, kDa	Niepewność pomiaru, kDa	Masa tablicowa [3], kDa
Kazeina	21,69	2,03	22- 23,7
Trypsyna	23,58	0,98	24
Proteaza	25,8	1,3	22
Albumina	64,72	5,13	66

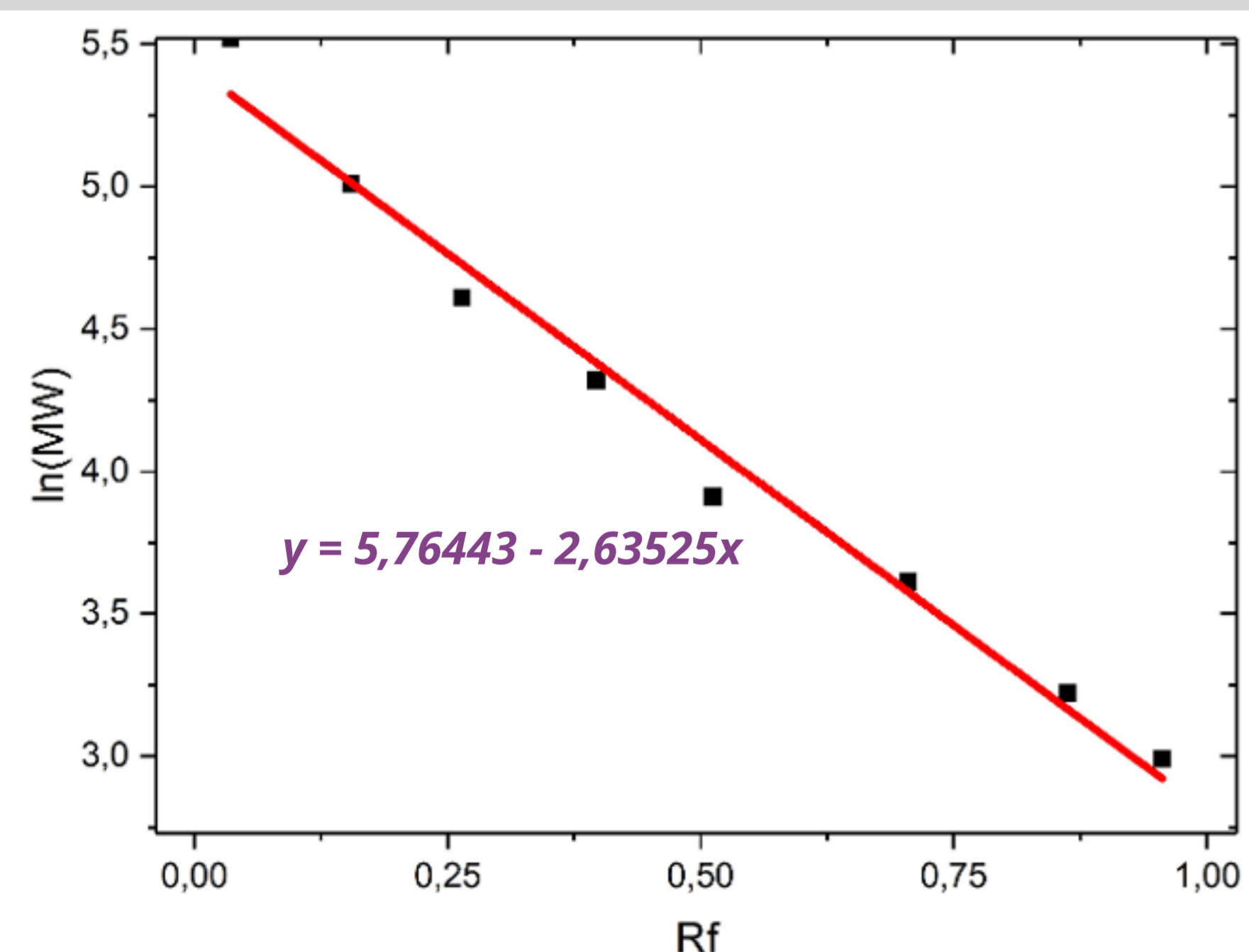
Tabela przedstawiająca wyznaczone eksperymentalnie masy białek wraz z ich niepewnościami oraz danymi podanymi przez producenta [3].

2 Metoda

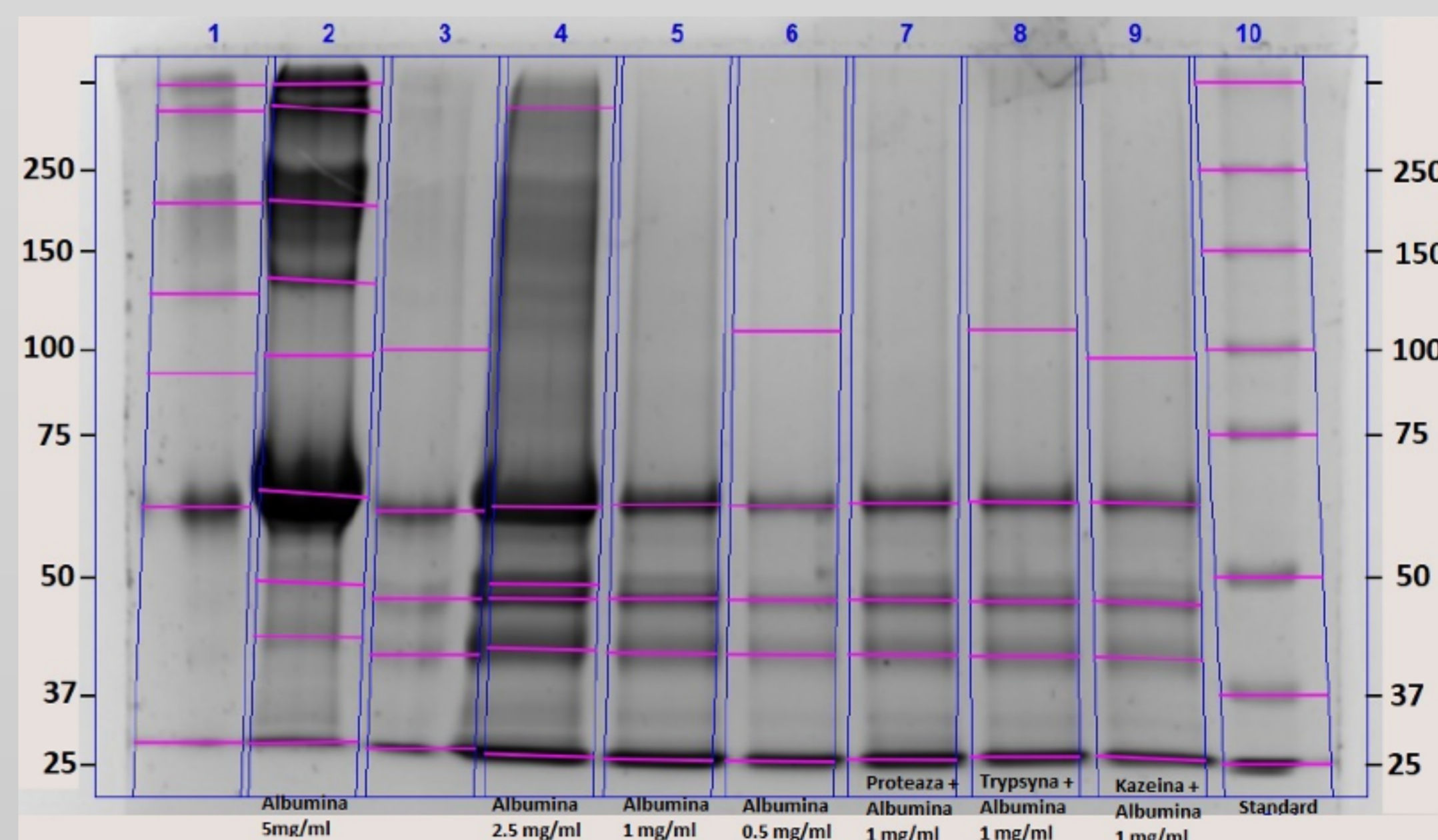
Wykonano żele: dwa o stężeniu 8% oraz dwa o stężeniu 15%. Dane żele - zagęszczający oraz separujący [1], odstawione zostały na czas jednego tygodnia dzięki czemu dobrze spolimeryzowały. Następnie wykonano naważki badanych białek. o stężeniach 0.5 mg/ml, 1 mg/ml, 2,5 mg/ml oraz 5 mg/ml. Po elektroforezie białka wybarwiono techniką Coomassie Blue, a ich rozdział przeanalizowano w programie *ImageLab*.



Schemat obrazujący ilość białka znajdującego się w danym paśmie dla standardu.



Prosta standardowa przedstawiająca zależność logarytmu masy molekularnej białka od jego względnej odległości od góry żelu. Równanie prostej na wykresie.



Białka poddane elektroforezie w żelu 8%. Na dole żelu widoczne podpisane ścieżki zawierające białka o danych stężeniach (ścieżki niepodpisane są puste).

4 Wnioski

Masy białek zgadzają się w granicach niepewności z masami podawanymi przez producenta. Widoczne na rozdiale elektroforetycznym smugi mogą wynikać z zanieczyszczeń białek lub wykonania zbyt dużych stężeń. Zanieczyszczenia najczęściej spotykane w przypadku BSA to różnego rodzaju globuliny występujące we krwi. W kolejnych badaniach można uwzględnić, iż ilość białka wynosząca 5 mg/ml ma bardzo wyraźny wpływ na sąsiadujące z ścieżki. Widoczne też jest zdominowany przez albuminę rozkład wykonanych mieszanek. Ma to swoje uzasadnienie w tym, iż albumina to bardzo ciężkie białko, które mogło pociągnąć za sobą resztę badanych próbek.

Literatura

- [1] instrukcja do ćwiczenia Z48 - PMFB
- [2] <https://en.wikipedia.org/wiki/Globulin>
- [3] sigmaaldrich.com - Products information sheet
sigmaaldrich.com/life-science/metabolomics/enzyme-explorer.html