

Elektromigrační metody



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Historie elektromigračních metod

- ◆ 1975 O'Farrell
2D-elektroforéza
- ◆ 1976 Everaerts, Mikkers
isotachoforéza
- ◆ 2003 Karger
Multikapilární CE – lidský genom

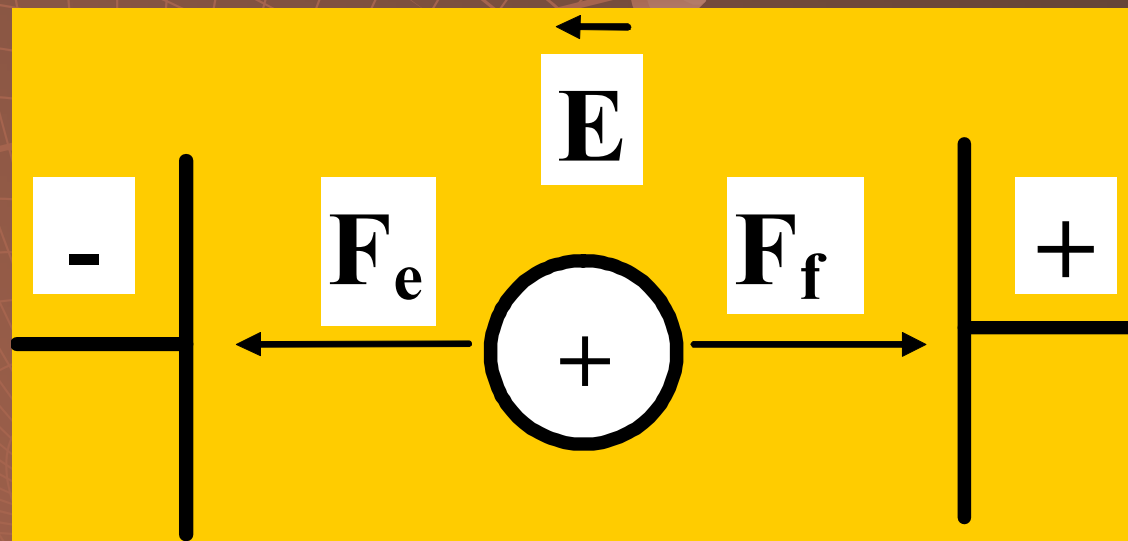
Podstata

*„Pohyb elektricky nabitých
částic
v elektrickém poli“*



Teoretické aspekty elektromigračních metod

Mobilita



Elektrická síla F_e

$$F_e = E \times Q$$

E = intenzita elektrického pole [V/m]

Q = náboj částice = $z_i \times e$ []

Frikční síla F_f

$$F_f = v \times f$$

v = rychlost částice

f (frikční koeficient) = $6\pi \cdot \eta \cdot r$

Ustálený stav

$$E \times Q = v \times f$$



$$v = \frac{E \times Q}{f}$$

mobilita \implies

$$\mu = \frac{v}{E} = \frac{Q}{f}$$

$[\text{m}^{-2} \text{V}^{-1} \text{s}^{-1}]$

Iontová mobilita

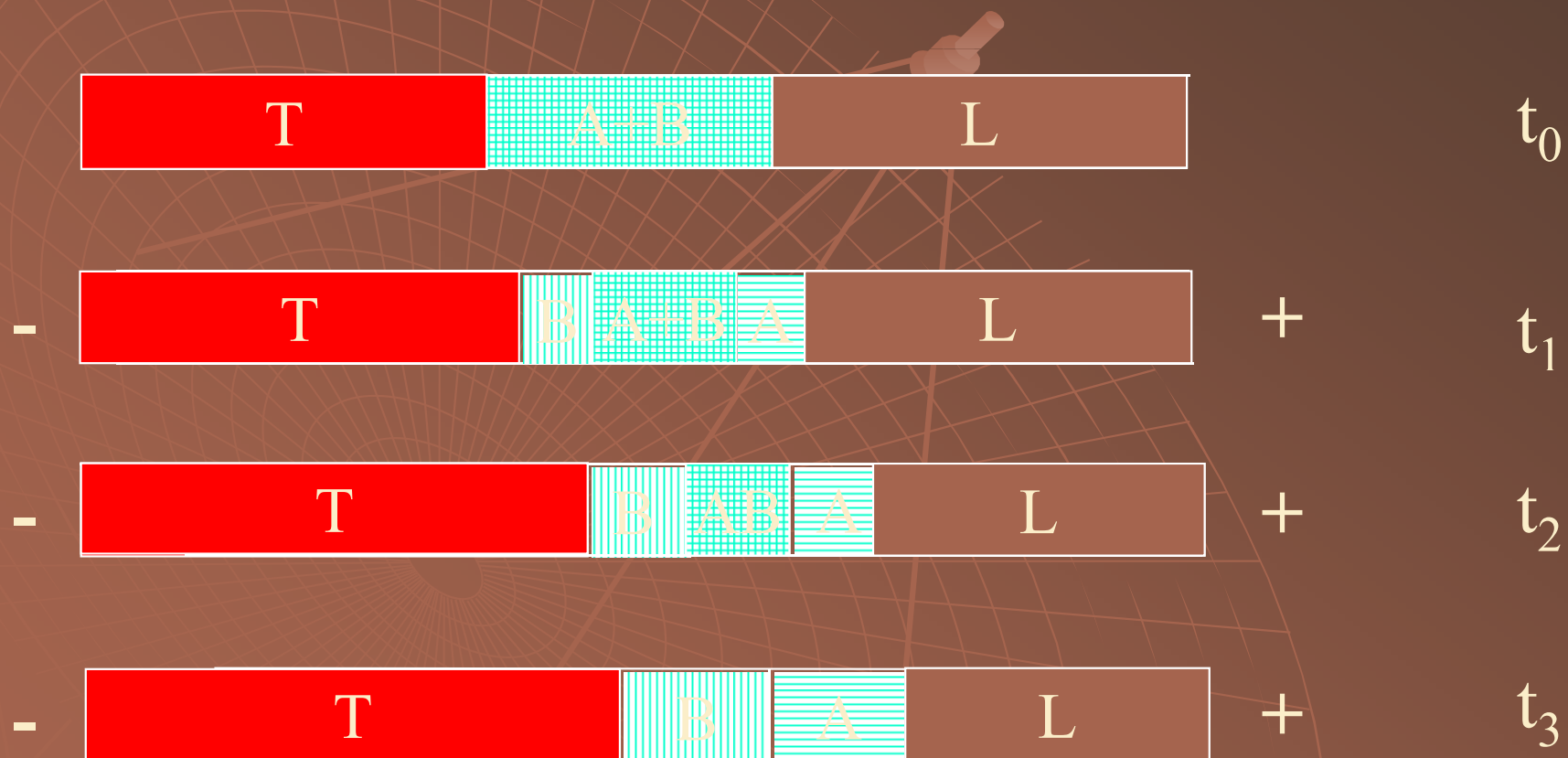
(limitní zředění, teplota 298 K)

<i>KATIONTY</i>	$ \mu_0 .10^9$	<i>ANIONTY</i>	$ \mu_0 .10^9$
H ₃ O ⁺	362.5	OH ⁻	205.5
Li ⁺	40.1	F ⁻	57.4
Na ⁺	51.9	Cl ⁻	79.1
K ⁺	76.2	NO ₃ ⁻	74.1
Tris ⁺	29.5	SO ₄ ⁻	82.9
β-alanin	36.7	k.mléčná	36.5
ethanolamin	44.3	k.octová	42.4
imidazol	52.0	MES	28.0

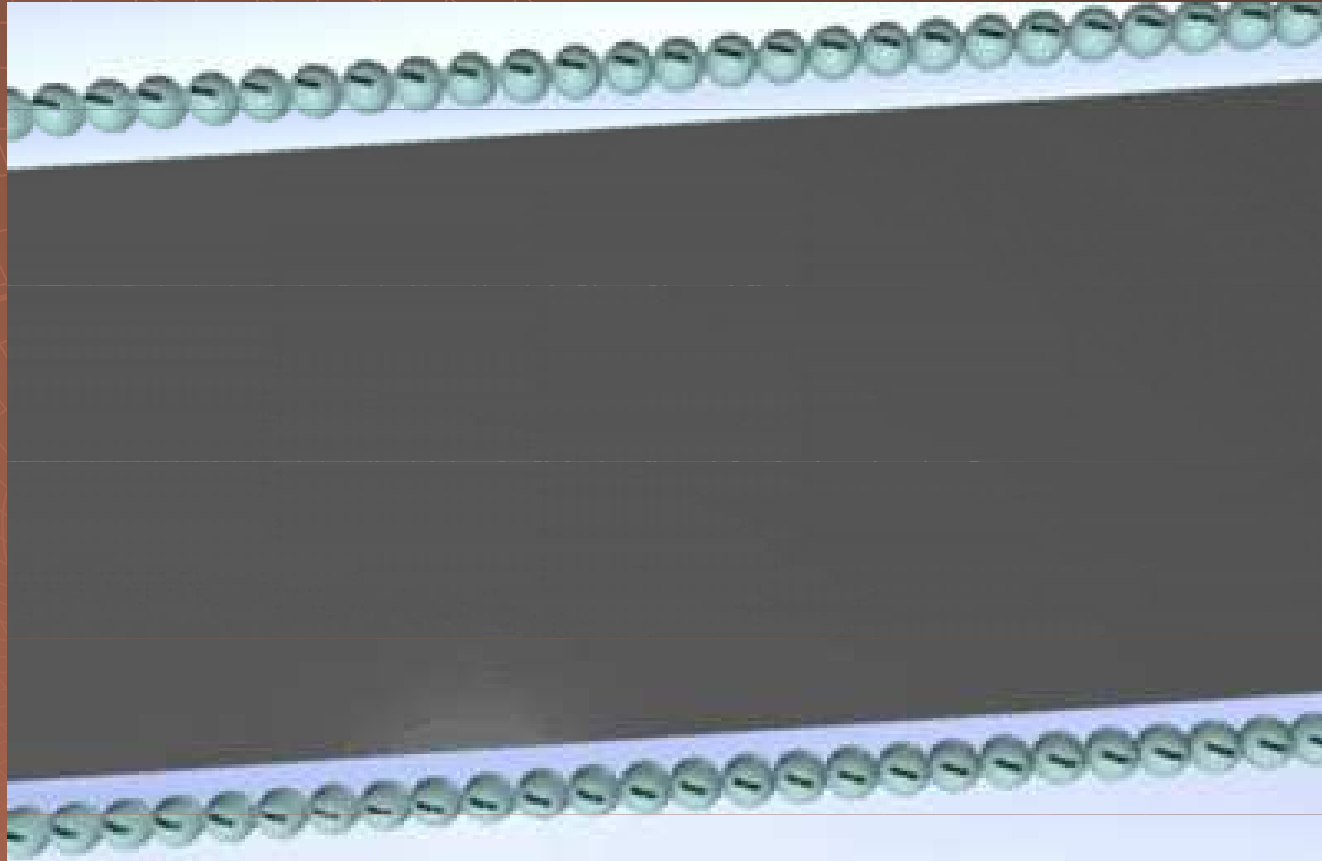
Izotachoforéza

„Vzorek je umístěn mezi dva elektrolyty : vedoucí L (leading) s nejvyšší mobilitou a - uzavírající T (terminating) s nejmenší mobilitou“

Izotachoforéza



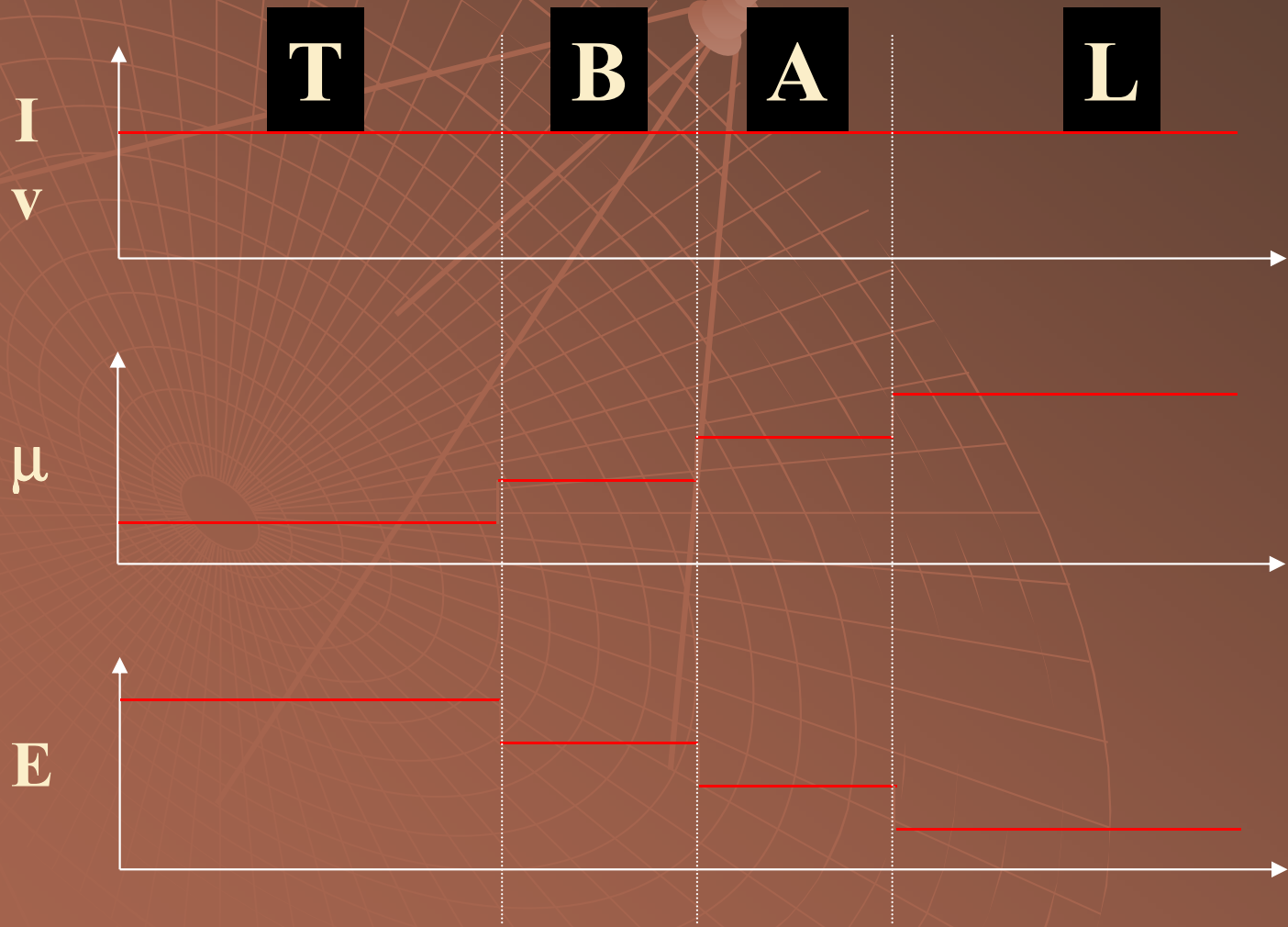
Izotachoforéza



Izotachoforéza

$$\mu_L > \mu_A > \mu_B > \mu_T$$

$$\mu = \frac{v}{E}$$

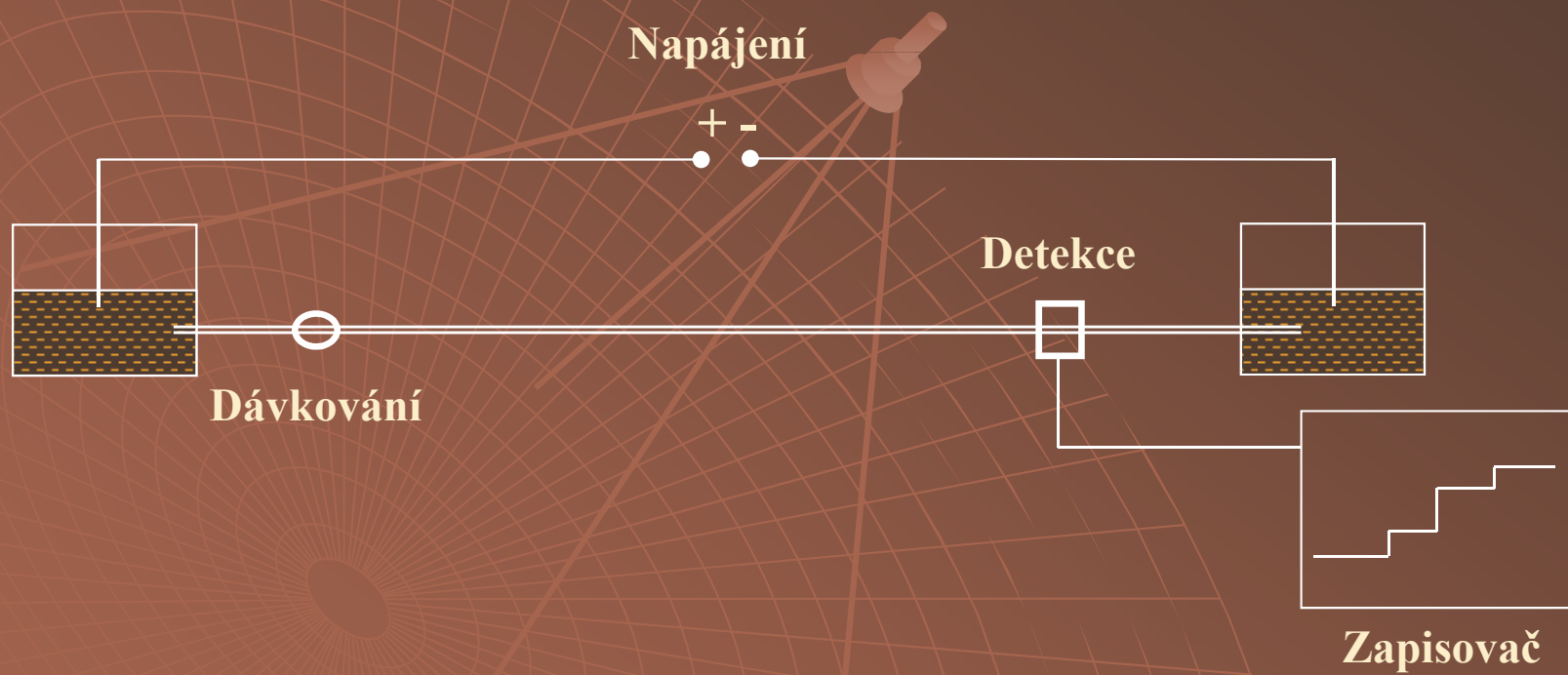


Kohlrauschova regulační funkce

$$\sum_i \sum_z \frac{|z| c_i}{\mu_i} = K_x$$

$$c_i = c_L \cdot \frac{\mu_L + \mu_R}{\mu_L} \cdot \frac{\mu_i}{\mu_{ii} + \mu_R} \cdot \frac{z_L}{z_i}$$

Analytická ITP



Analytická ITP instrumentace

- ◆ Napájení - stejnosměrné 3 kV 0,2 – 0,5 mA
- ◆ Kapilára 0,1 – 2 mm
- ◆ Dávkování - dávkovací ventil
- ◆ Detekce - universální – konduktometrická
– potencialně gradientová
- selektivní – UV-VIS

Analytická ITP

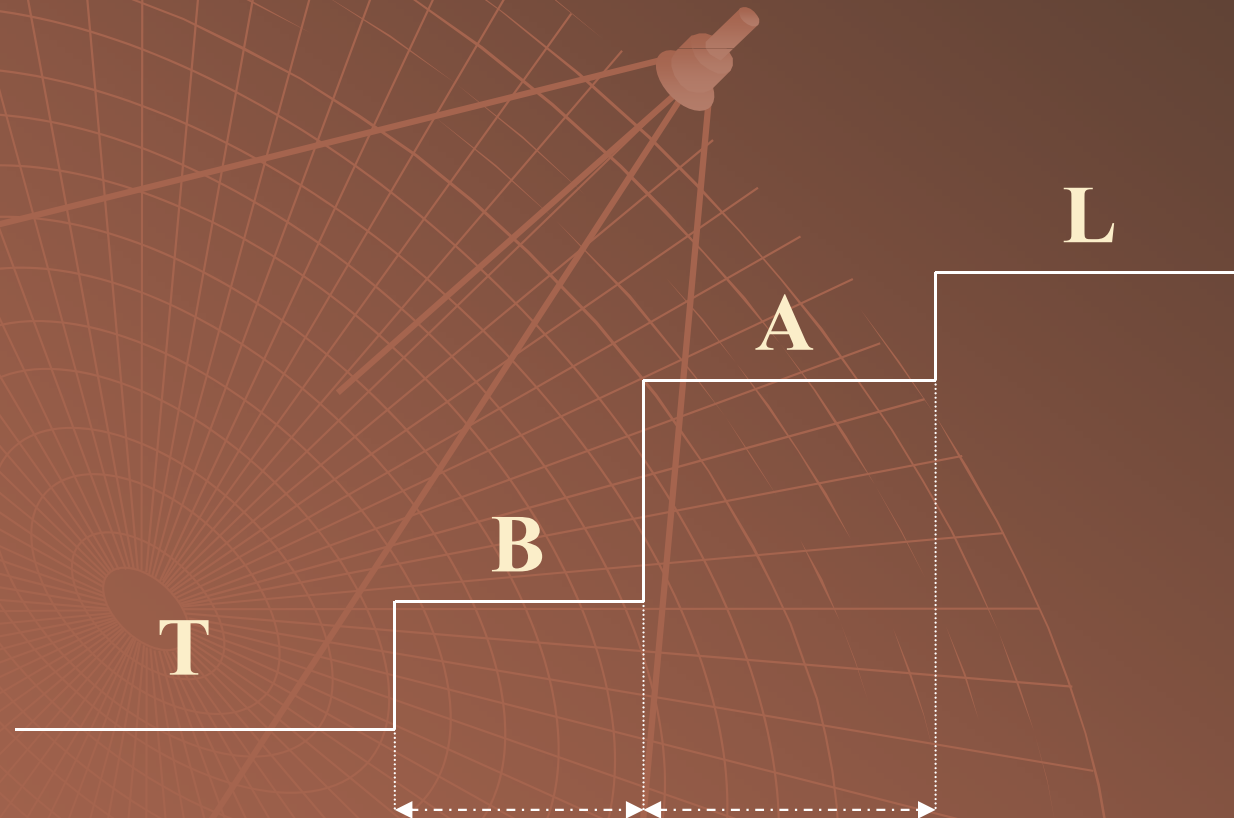
Metoda spojování kapilár



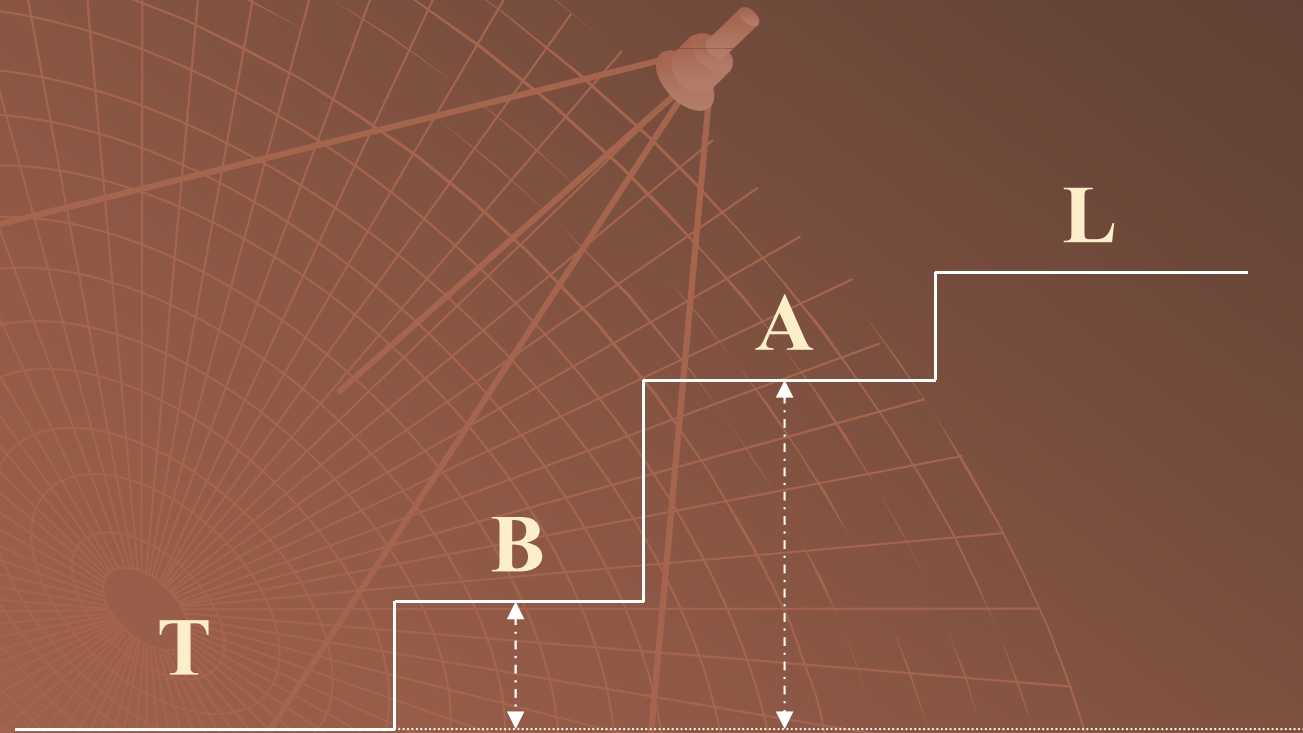
Analytická ITP Villa Labeco



Izotachoforetický záznam kvantita



Izotachoforetický záznam kvalita



Preparativní ITP

V gelech - Sephadex



Preparativní ITP

Kontinuální plošná

