



PROTEOMIKA

- Detekcja, identyfikacja, oznaczanie ilościowe białek
- Poznanie ich struktury, funkcji, oddziaływań



Rozdział chromatograficzny

Reakcje immunologiczne, Bioczipy

Rozdział elektroforetyczny

Spektrometria mas



Fundusze Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



Rzeczpospolita
Polska



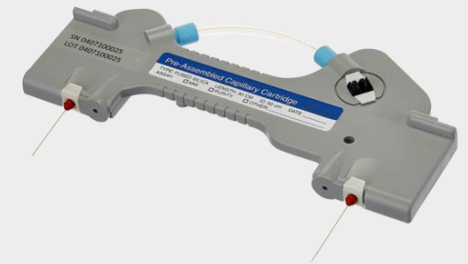
Instytut
Matki i Dziecka

Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny



Elektroforeza kapilarna (CE) a elektroforeza klasyczna

- Krótszy czas analizy
- Oznaczenie większej liczby próbek w jednej sekwencji
- Rozdział i detekcja białek zaprogramowane w jednej metodzie
- Lepsza powtarzalność metody
- Wiele sposobów obróbki danych i tworzenia raportów
- Możliwość połączenia CE ze spektrometrem mas



Rodzaje elektroforezy kapilarnej

- Elektroforeza strefowa (CZE z ang. *capillary zone electrophoresis*) – rozdział mieszaniny naładowanych cząstek zależny od ich ruchliwości w wolnym roztworze, cząstki o tej samej ruchliwości będą tworzyć strefy
- Elektroforeza żelowa (CGE z ang. *capillary gel electrophoresis*) – rozdział cząstek zależny od ich wielkości, żel tworzy sito molekularne dla migrujących w nim cząstek

➤ Izoelektroogniskowanie (CIEF z ang. *capillary isoelectric focusing*) – rozdział białek i peptydów na podstawie wartości ich punktów izoelektrycznych

Punkt izoelektryczny (pI)

wartość pH, przy której cząsteczki posiadające anodowe i katodowe grupy funkcyjne osiągają wypadkową ładunków równą 0

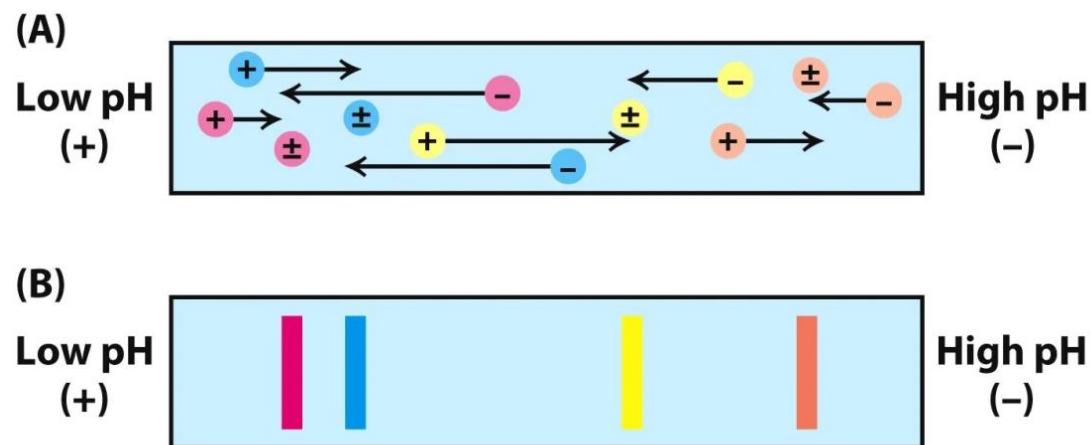
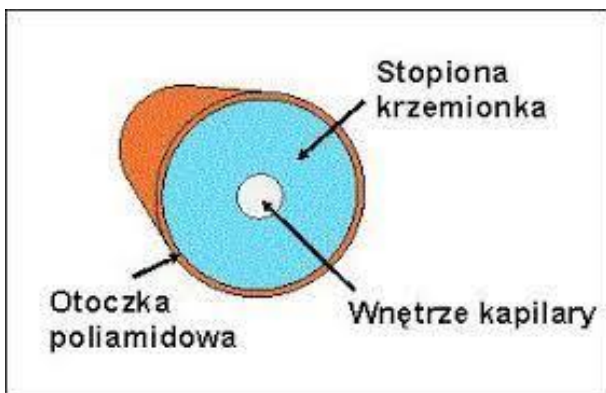


Figure 3.11
Biochemistry, Seventh Edition
© 2012 W. H. Freeman and Company

- Izotachoforeza (CITP z ang. *capillary isotachophoresis*) – odpowiednio dobrany bufor wprowadzany do kapilary nadaje ładunek cząstkom i powoduje ich migrację ze stałą prędkością
- Techniki łączące elektroforezę kapilarną z cechami chromatografii
 - Kapilarna elektrochromatografia (CEC z ang. *capillary electrochromatography*)
 - Micelarna elektrokinetyczna chromatografia (MEKC z ang. *micellar electrokinetic chromatography*)
- Elektroforeza kapilarna w połączeniu z MS

Budowa i parametry kapilary

- Zazwyczaj stosuje się neutralne kapilary wykonane z krzemionki, pokryte z zewnątrz warstwą poliamidu
- Najczęstsze wymiary:
 - Długość około 50cm
 - Średnica wewnętrzna: 25-75µm



<http://chemfan.pg.gda.pl/Badania/ce.html>



Ruchliwość cząsteczek w kapilarze

Ruchliwość elektroforetyczną cząsteczek określa wzór:

$$\mu = \frac{q}{6\pi\eta r}$$

gdzie:

q – ładunek cząsteczki

η – lepkość roztworu

r – promień cząsteczki

Izolacja białka
z matrycy

Przygotowanie
próbek

Etapy analizy białek za pomocą CE



Fundusze
Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



Rzeczpospolita
Polska



Instytut
Matki i Dziecka

Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny



Etapy rozdziatu i detekcji białek w aparacie do CE

1. Wprowadzenie żelu oraz próbki (5 μ l) do kapilary
2. Równoczesne pobieranie anolitu od strony anodowej i katolitu od strony katodowej
3. Utworzenie stref na podstawie uzyskanych przez cząsteczki pI
4. Wprowadzenie mobilizatora chemicznego
5. Przejście stref przez okno detekcji
6. Pomiar absorbancji przy $\lambda=280\text{nm}$

Protein Separation by Capillary Gel Electrophoresis: A Review

[Zaifang Zhu](#), [Joann J. Lu](#), and [Shaorong Liu](#)*

> [J Chromatogr A](#). 2020 Oct 11;1629:461513. doi: [10.1016/j.chroma.2020.461513](#). Epub 2020 Aug 29.

Indirect capillary electrophoresis immunoassay of membrane protein in extracellular vesicles

[Yumeki Tani](#)¹, [Takashi Kaneta](#)²

Affiliations + expand

PMID: 32889296 DOI: [10.1016/j.chroma.2020.461513](#)

Review > [Electrophoresis](#). 2005 Apr;26(7-8):1291-305. doi: [10.1002/elps.200410132](#).

Combining capillary electrophoresis with mass spectrometry for applications in proteomics

[David C Simpson](#)¹, [Richard D Smith](#)

Affiliations + expand

PMID: 15765477 DOI: [10.1002/elps.200410132](#)

Review > [Electrophoresis](#). 2018 Oct;39(20):2492-2511. doi: [10.1002/elps.201800079](#).

Epub 2018 Jun 19.

Determination of protein charge variants with (imaged) capillary isoelectric focusing and capillary zone electrophoresis

[Julia Kahle](#)¹, [Hermann Wätzig](#)¹

Affiliations + expand

PMID: 29770965 DOI: [10.1002/elps.201800079](#)



Fundusze Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



Rzeczpospolita
Polska



Instytut
Matki i Dziecka

Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny



> [Int J Biol Macromol.](#) 2018 Jul 1;113:900-906. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.03.032. Epub 2018 Mar 7.

A novel monitoring approach of antibody-peptide binding using "bending" capillary electrophoresis

Jianhao Wang¹, Zhilan Zhu¹, Xiang Wang², Li Yang¹, Li Liu¹, Jianpeng Wang¹, Eseosaserea Igbinigie³, Xiaoqian Liu¹, Jinping Li⁴, Lin Qiu⁵, Yong-Qiang Li⁶, Pengju Jiang⁷

Affiliations + expand

PMID: 29524489 DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2018.03.032](#)

> [Methods Mol Biol.](#) 2019;2030:307-313. doi: 10.1007/978-1-4939-9639-1_23.

Amino Acid Analysis by Capillary Electrophoresis-Mass Spectrometry

Akiyoshi Hirayama¹, Satsuki Ikeda², Asako Sato², Tomoyoshi Soga²

Affiliations + expand

PMID: 31347127 DOI: [10.1007/978-1-4939-9639-1_23](#)

> [Methods Mol Biol.](#) 2004;276:153-68. doi: 10.1385/1-59259-798-X:153.

Affinity capillary electrophoresis to examine receptor-ligand interactions

Maryam Azad¹, John Kaddis, Valerie Villareal, Lili Hernandez, Catherine Silverio, Frank A Gomez

Affiliations + expand

PMID: 15163857 DOI: [10.1385/1-59259-798-X:153](#)

> [Anal Chem.](#) 2007 Feb 1;79(3):1158-63. doi: 10.1021/ac061099g.

Capillary electrophoresis assay for G protein-coupled receptor-mediated GTPase activity

Emily E Jameson¹, Jian Pei, Susan M Wade, Richard R Neubig, Graeme Milligan, Robert T Kennedy

Affiliations + expand

PMID: 17263349 DOI: [10.1021/ac061099g](#)



Fundusze
Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



Rzeczpospolita
Polska



Instytut
Matki i Dziecka

Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny



Podsumowanie

Elektroforeza kapilarna:

- Jest nowoczesną metodą rozdziału i detekcji białek
- Umożliwia oznaczanie ilościowe białek, wyliczanie stosunków między frakcjami białek,
- Za jej pomocą możemy oznaczać m.in. białka receptorowe, błonowe, przeciwciała, wiązania antygen-przeciwciało, ligand-receptor
- Daje możliwość badania polimorfizmu białek (np. oznaczanie izoform transferyny w diagnostyce zaburzeń glikozylacji)