

أنواع أوساط الفصل Support Systems

إن الهجرة الكهربائية للجزيئات يمكن أن تتجزأ يتحمل الجزيئات الخلوية أو البيولوجية المراد فصلها و تثقيتها , تحمل هذه الجزيئات على وسط فصل أو ما يسمى وسط ساند Support Systems أو ما يسمى matrix و أوساط الفصل المستخدم المستخدمة عديدة منها تكون بشكل هلام gel والبعض منها بشكل ورق , إذا كان وسط الفصل أو الوسط الساند بشكل هلام تسمى التقنية gel electrophoresis أما إذا كان وسط الفصل أو الوسط الساند الورقي تسمى paper electrophoresis

أوساط الفصل التي تكون بشكل gel أو هلام يمكن تحضيرها من النشا أو الأكار (Agar) أو الأكاروز (Agarose) أو متعدد الأكريلاميد (Acrylamide).

وسط الفصل (النشا) أو هلام النشا يكون رخيص الثمن لكنه يعتبر وسط ضعيف في الفصل

أما الاكار فهو يستخدم بصورة واسعة في بحوث المايكرو بيولوجي ويعتبر وسط قوي و نقي , أما الاكاروز فيعتبر أقوى وأنقى من الاكار و النشا وسط متعدد الاكريلامايد الذي يسمى polyacrylamide gel فهو يمتلك قوة فصل اكبر من الاكاروز ويمكن التحكم في تحضيره للحصول على سمك اقل وهو يمتلك مدى واسع من الثقوب للجزيئات , إلا إن تحضيره يكون أكثر تعقيدا من باقي أنواع الهلام , علما إن الاكريلامايد السائل غير المتبلر يكون سام جدا وخطر .

الهلام يحضر بثلاث أشكال :

1 - Cylindrical (rod) يكون بشكل اسطوانات ذات أقطار محددة تستخدم لهذا الغرض أنابيب ذات طول و أقطار قياسية تسد من جهة واحدة ويصب الهلام فيها لحين تحوله إلى شكل هلام ثم تحمل العينة المراد فصلها عليه ثم يمرر التيار الكهربائي لبدء الفصل.

2 - vertical slab : بشكل صفيحة عمودية يجري صب الهلام عندما يكون سائل قبل بلمرته وتحوله إلى هلام حيث يصب في صفيحة ذات أبعاد قياسية (من حيث الطول و العرض و السمك) وبعد البلمره يجري تحصيل العينات عليه

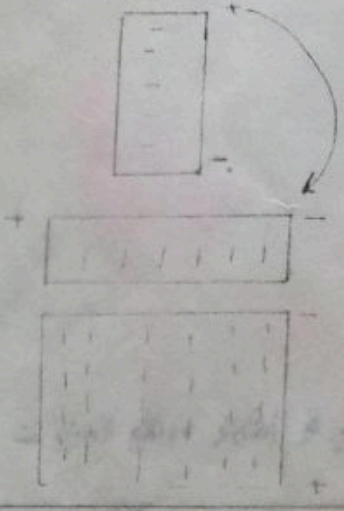
3 - Horizontal slab : صفيحة أفقية مثل السابق لكن توضع بشكل أفقي عند الفصل , هذا النوع يستخدم بشكل أوسع من النوعين السابقين , حيث تسمح لعدة عينات بالمرور على صفيحة الهلام في وقت واحد بوصفها ضمن خطوط متوازية

طرق الفصل بالترحيل الكهربائي

1 - one Dimension والتي تنجز بإمرار تيار كهربائي من تطبيق Cathod و Anode (- أو +)

يمرر التيار على صفيحة أو عمود تمثل وسط الفصل تحمل عليها عينات مراد فصلها أو تشخيصها أو قياس نقاوتها هذه العملية تكون ذات اتجاه واحد فقط.

2 - Two-Dimension Electrophoresis (2D)



هذه التقنية تستخدم لفصل مزيج من المركبات أو الجزيئات الخلوية واحد بعد الآخر (أي إن الفصل يجري مرتين بزوايا قائمة واحد على الآخر) كما موضح في المخطط. الفصل بالاتجاه الأول (يعتمد فيها الترحيل الكهربائي على نقطة التعادل من خلال خلق تدرج في PH في وسط الفصل تنتشر فيه الجزيئات المفصولة وعند تعادل الشحنة في مكان معين تتوقف حركة الجزيئات. أما الفصل في الاتجاه الثاني فيستخدم فيه هلال متعدد الاكرباميد لإكمال الترحيل الكهربائي للعينات المفصولة بالاتجاه الأول

3 - Capillary Electrophoresis

وهي تقنية أخرى من تقنيات الفصل بالترحيل الكهربائي وهي تطبق على البروتينات و الببتيدات والأحماض الامينية و الأحماض النووية و كذلك الأحماض العضوية والايونات غير العضوية inorganic ions

الفصل يكون باستخدام أنابيب شعيرية ذات أقطار داخلية ما بين 0.01 – 0.075 ملم ولهذا سميت capillary electrophoresis والأنابيب مصنوعة من السيلكون المقاومة التي تسمح بمرور أشعة UV صادرة من مصدر (detector) وهي وحدة الجهاز المسئولة عن القياس.

وتملأ الأنابيب بمحلول منظم وتغمر نهايتي الأنبوب في نفس المحلول المنظم ويمرر تيار بفولتية 100 – 700 فولت / سم وعند مرور تيار في الأنبوب الشعيري هذا سوف يمهد لمرور ايونات H الموجبة والتي تسبب في مرور الايونات السالبة و الموجبة وعلى مدى حركتها سوف تتفصل.