

# **KT XÉT NGHIỆM CƠ BẢN**

## **PHƯƠNG PHÁP ĐIỆN DI**

# PHƯƠNG PHÁP ĐIỆN DI

**Điện di:** là sự chuyển động của các phân tử huyền phù hoặc keo ở dạng ion dưới tác dụng điện trường.

Các phương pháp điện di:

- Điện di trong dung dịch tự do
- Điện di trên chất giá (điện di vùng)
- Điện di mao quản

# PHƯƠNG PHÁP ĐIỆN DI

- Áp dụng điện di DNA, RNA, Protein
- Các chất giá thường được dùng:
  - Giấy.
  - Thạch agar-agar.
  - Agarose.
  - Acetat cellulose.
  - Gel tinh bột.
  - Polyacrylamid.

# PHƯƠNG PHÁP ĐIỆN DI

**Agarose**: polysaccharide tự nhiên được phân lập từ tảo biển, có kích thước lỗ gel lớn, thích hợp cho phân tách các phân tử có kích thước lớn và điện di dựa trên độ tích điện.

Dùng để phân tách các protein  $> 500$  kDa và các DNA có kích thước  $> 2000$  bp. (base pair)

Các loại agarose khác nhau dựa trên các đặc tính lý hóa như nhiệt độ đông đặc, độ dai, kích thước lỗ gel, và độ điện thẩm.

# PHƯƠNG PHÁP ĐIỆN DI

**Polyacrylamide**: được hình thành bởi quá trình đồng trùng hợp giữa acrylamide ( $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}_2$ ) và cross linker, thông thường là *N,N'* methylenebisacrylamide ( $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}=\text{CH}_2$ )

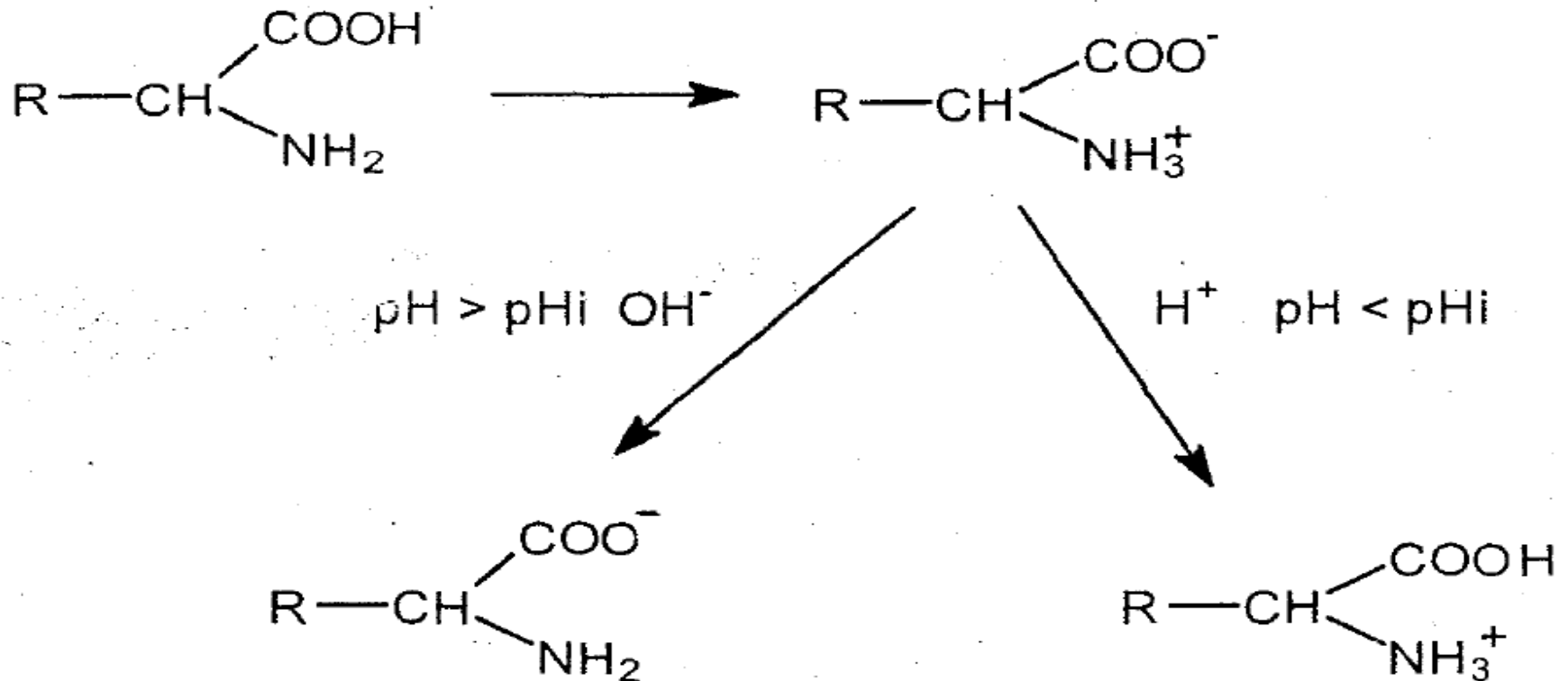
- pH ổn định
- Trơ
- Trong suốt
- Có thể hình thành nhiều gel có kích thước lỗ gel khác nhau

# Ứng dụng của kỹ thuật điện di

- Phân tách các acid amin, các protein, DNA trong dung dịch chất cần phân tách.
- Trong Y học:
  - ✓ *Điện di phân tách các Pro trong huyết thanh:* dùng các chất giá là giấy, acetate cellulose, agar – agar.
  - ✓ *Điện di phân tách hemoglobin:* dùng chất giá là giấy, gel tinh bột.
  - ✓ *Điện di phân tách các isoenzym trong huyết thanh:* dùng các chất giá là agarose, acetat cellulose, gel polyacrylamid.

# NGUYÊN TẮC CHUNG CỦA PP ĐIỆN DI PROTEIN

Trong dd đệm có pH khác với pHi của Pro, các ph. tử Pro. tích điện sẽ chuyển dịch về các điện cực trái dấu khi có dòng điện một chiều chạy qua dd.



# NGUYÊN TẮC CHUNG CỦA PP ĐIỆN DI PROTEIN

Điện tích của các tiểu phân Pro càng lớn khi pH của môi trường càng khác xa với pHi của Pro.

Trong môi trường dd đệm **pH=8.6** hầu hết các Pro của huyết thanh đều tích điện âm và sẽ di chuyển về điện cực dương.

Các Pro khác nhau sẽ di chuyển với tốc độ khác nhau.

# NGUYÊN TẮC CHUNG CỦA PP ĐIỆN DI PROTEIN

Tốc độ di chuyển của Pro. trong điện trường:

$$V = E.Q/f$$

- V: tốc độ di chuyển
- E: Cường độ điện trường
- Q: Điện tích của protein
- f: Hệ số ma sát, tùy thuộc vào khối lượng và hình dạng protein và độ nhớt của môi trường.

# Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình điện di

## 1. CÁC TIỂU PHÂN PROTEIN

+ *Trọng lượng phân tử và cấu hình các tiểu phân:*

- TLPT nhỏ: di chuyển nhanh
- Hình cầu (Alb) di chuyển nhanh hơn bầu dục (Glo) và nhanh hơn hình sợi (Fib)

+ *Trạng thái hydrat hóa (phân tử Pro được bao quanh bởi các phân tử nước):* Khả năng hydrat hóa càng cao thì di chuyển càng nhanh.

+ *Thế điện động (giữa đ.tích của Pro và lớp đ.tích bề mặt của nó tạo nên 1 thế điện động):* Thế điện động tăng thì tốc độ di chuyển tăng.

# Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình điện di

**2. DUNG DỊCH ĐỆM:** giúp duy trì pH của dung dịch trong suốt quá trình điện di.

\* *pH của dd đệm:* yếu tố quan trọng nhất.

+ pH càng xa  $pH_i$  của Pro tính linh động của Pro càng tăng.

+  $pH < 3$  hoặc  $pH > 10$ : Pro có thể bị biến tính và không di chuyển.

\* *Lực ion của dd đệm:* lực ion tăng thì tính linh động của Pro giảm và ngược lại.

\* *Bản chất của ion:* cùng pH nhưng bản chất ion khác nhau thì kết quả điện di sẽ khác nhau.

# Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình điện di

## 3. ĐIỆN THẾ:

- Điện thế lớn thì tốc độ di chuyển của Pro cao.
- Điện thế quá cao → bay hơi nước nhiều ảnh hưởng tốc độ điện di.
- Thông thường 120 – 400V, nếu chất giá là polyacrylamid có thể lên tới 1200V.

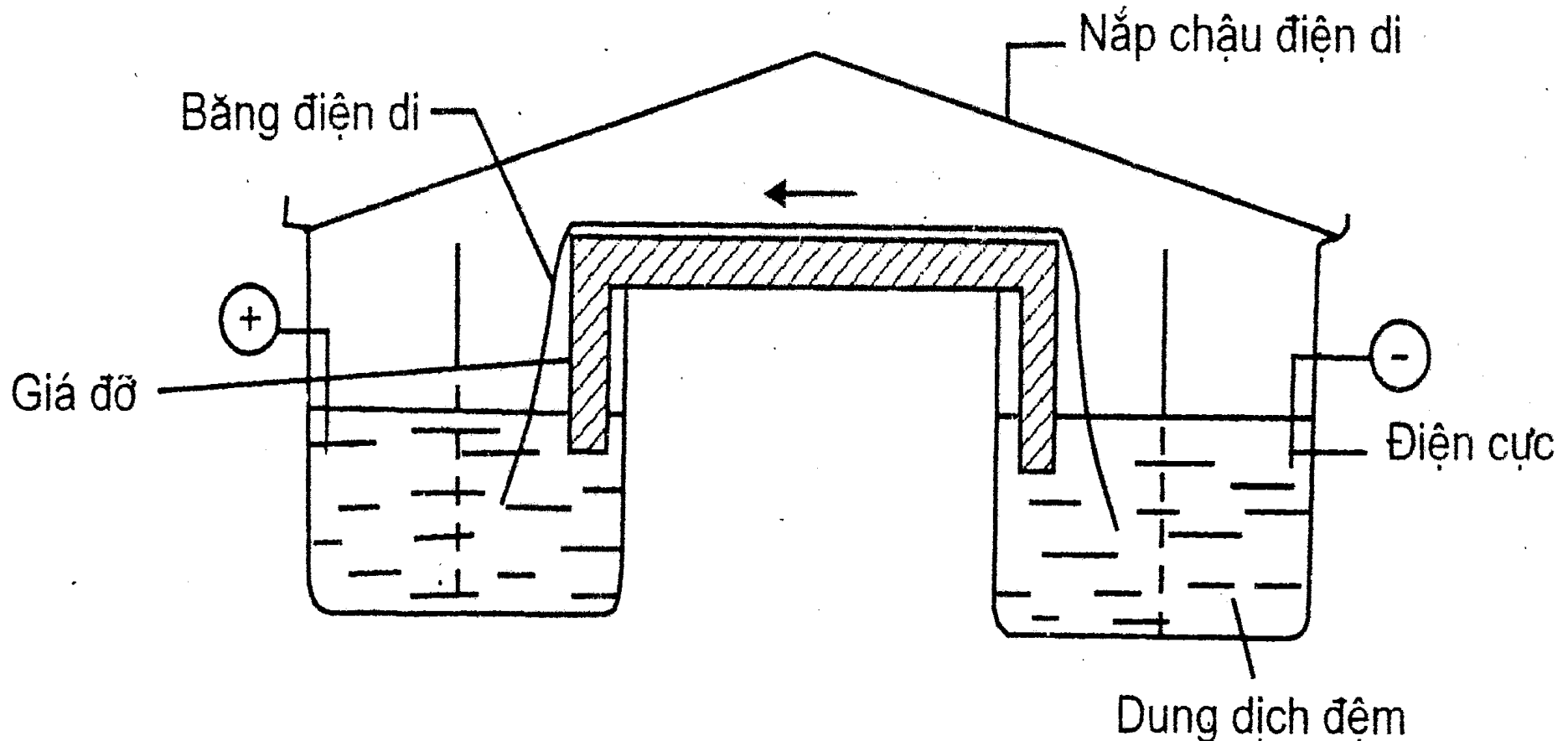
## 4. NHIỆT ĐỘ:

Nh. độ tăng nước bốc hơi nhiều, điều kiện điện di bị thay đổi liên tục. → làm mát, hoặc đặt trong tủ lạnh

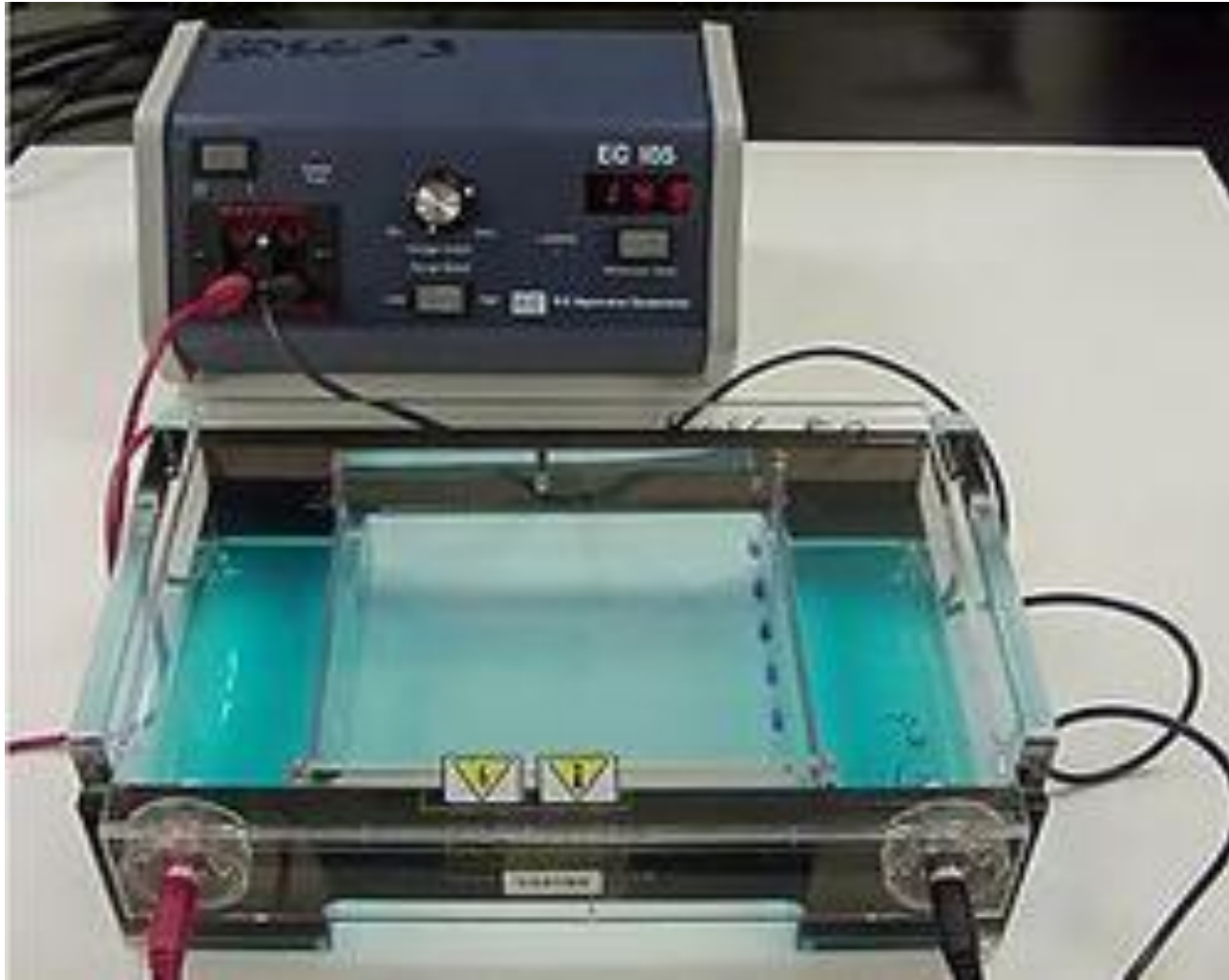
5. LOẠI CHẤT GIÁ: ảnh hưởng đến khả năng phân tách các Pro. Giấy, agar-agar, acetate cellulose: kém, gel tinh bột, agarose, polyacrylamide: tốt

# Điện di protein huyết thanh trên giấy

## Sơ đồ chậu điện di



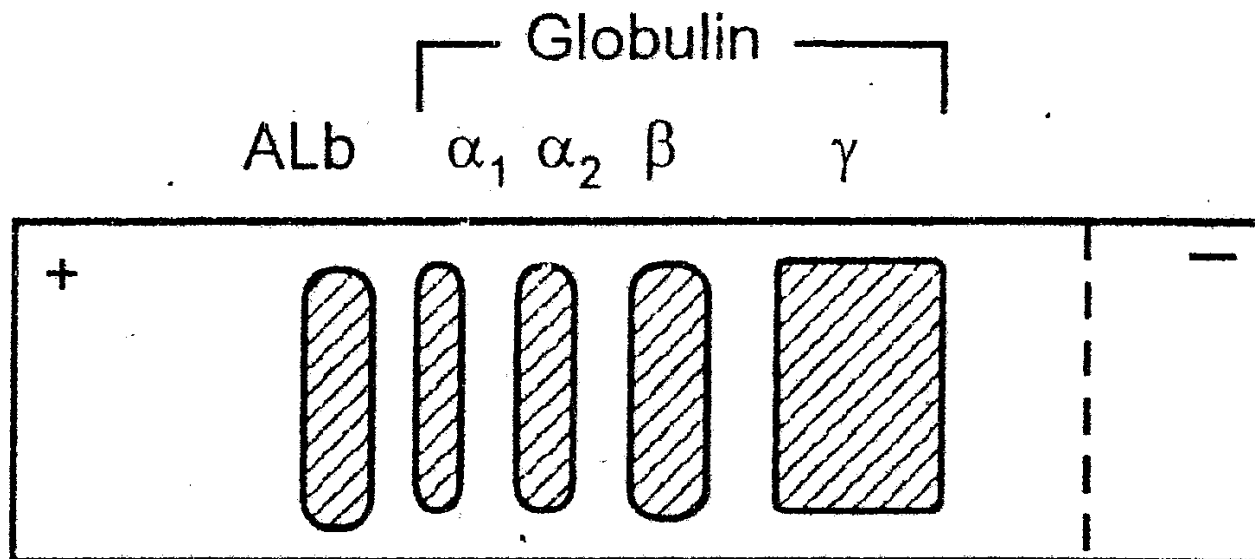
# Điện di protein huyết thanh trên giấy



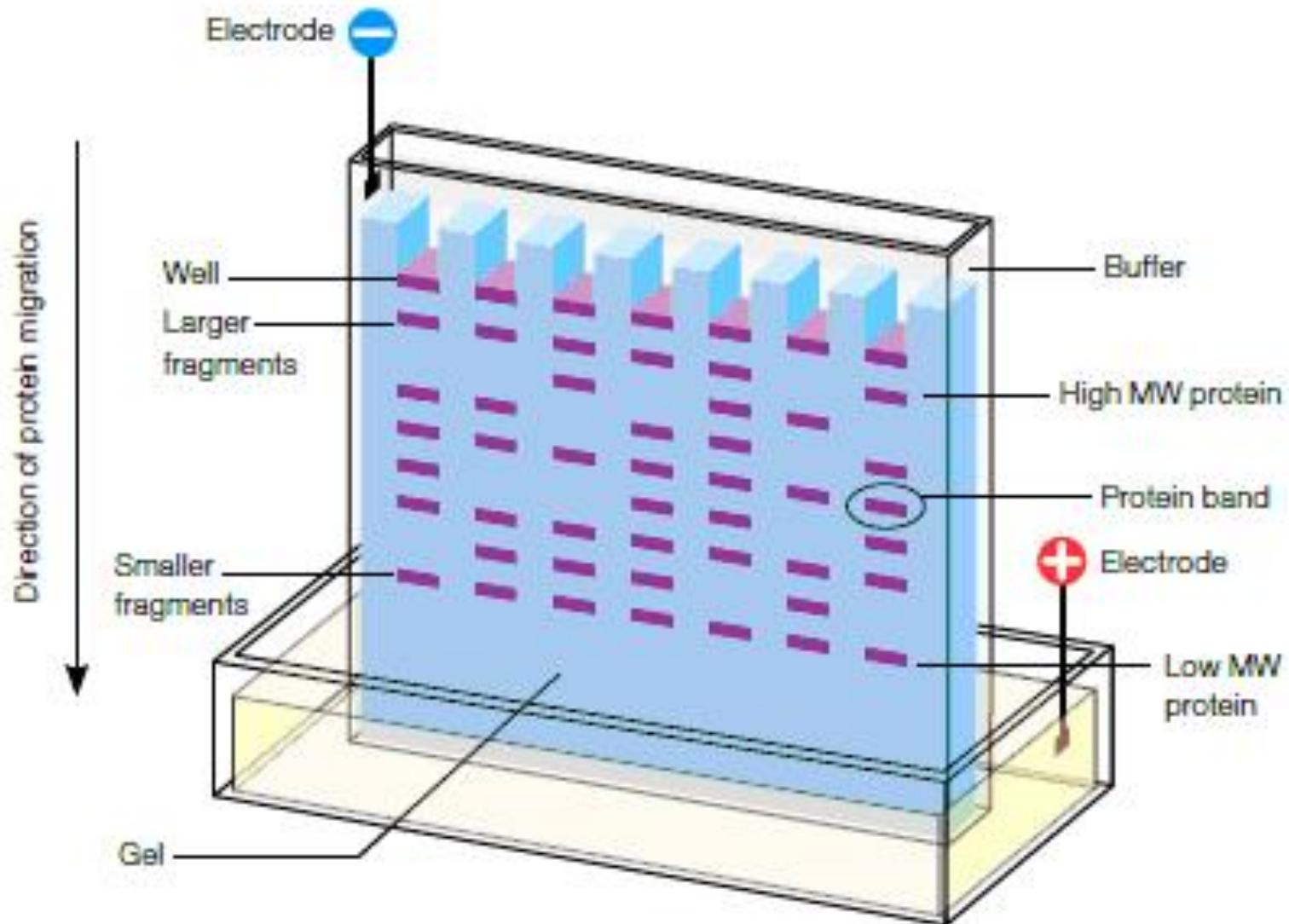
# Điện di protein huyết thanh trên giấy

## *Kết quả:*

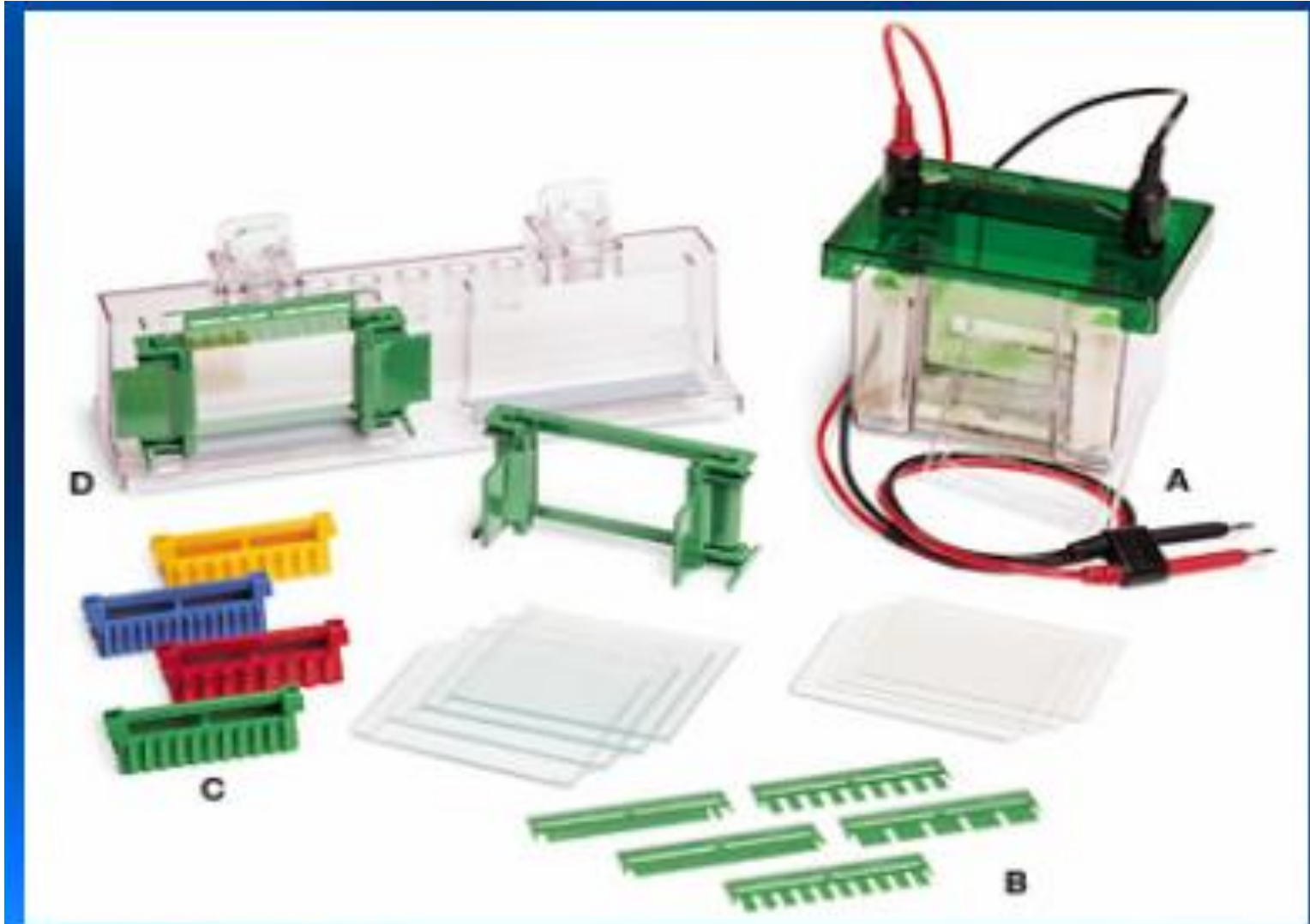
- Điện di Pro huyết thanh trên giấy tách được 5-6 thành phần: từ cực dương đến cực âm lần lượt là albumin, globulin  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$ ,  $\beta_2$  và  $\gamma$ .
- Có thể tính kết quả bằng máy đo màu trên băng điện di. Tính kết quả bằng cách chiết rút màu. Băng điện di được cắt thành những mẫu nhỏ tương ứng với 1 vệt Pro.



# Điện di protein huyết thanh bằng pp SDS - Polyacrylamide



# Điện di protein huyết thanh bằng pp SDS - Polyacrylamide



# Điện di protein huyết thanh bằng pp SDS - Polyacrylamide

## Nguyên tắc

- SDS (Sodium Dodecyl Sulfate): chất hoạt động bề mặt và mang điện tích âm lớn. Để làm biến tính và âm hóa Pro.

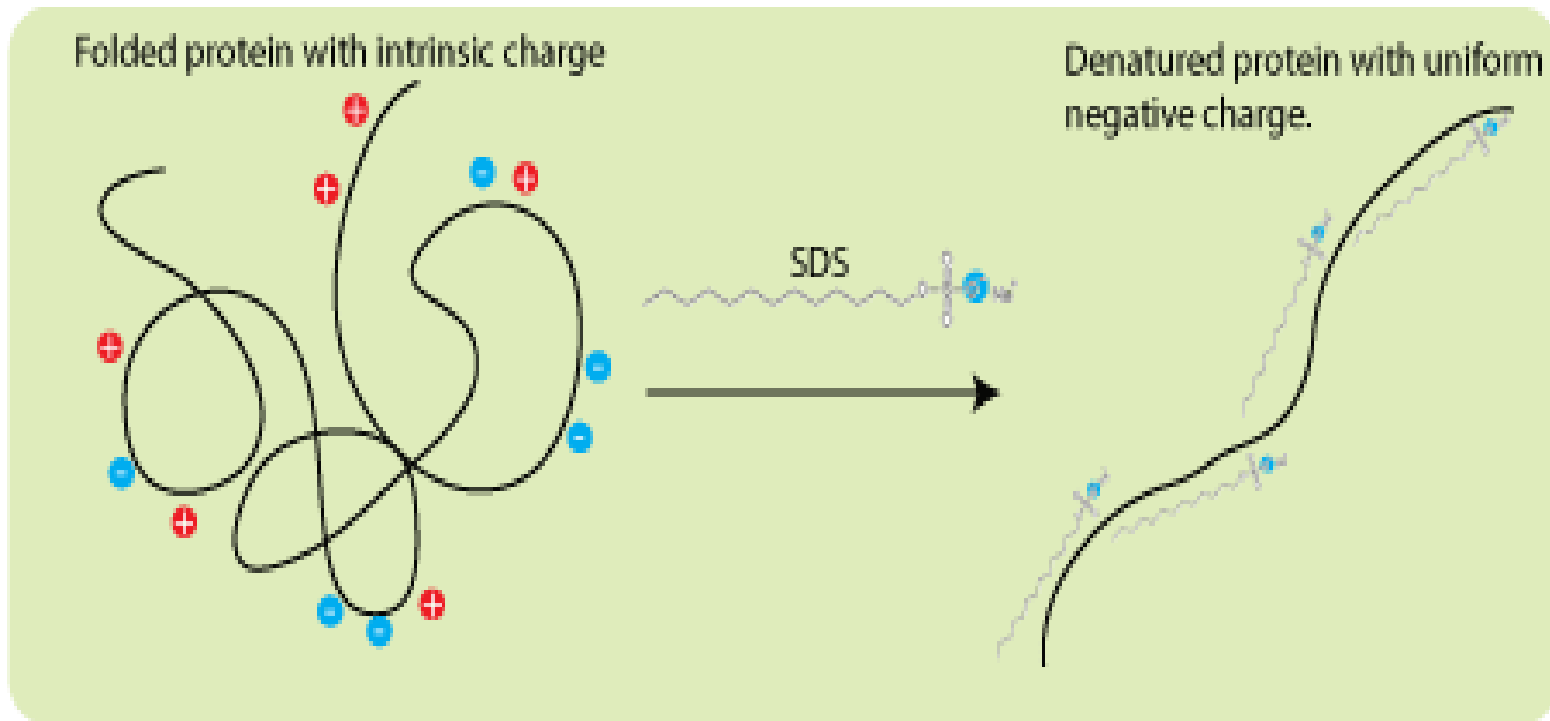
- Thêm chất MercaptoEthanol để phá vỡ cầu nối -S-S- của Pro.

=> Pro. thành dạng thẳng → sự di chuyển trong Gel chỉ phụ thuộc vào kích thước.

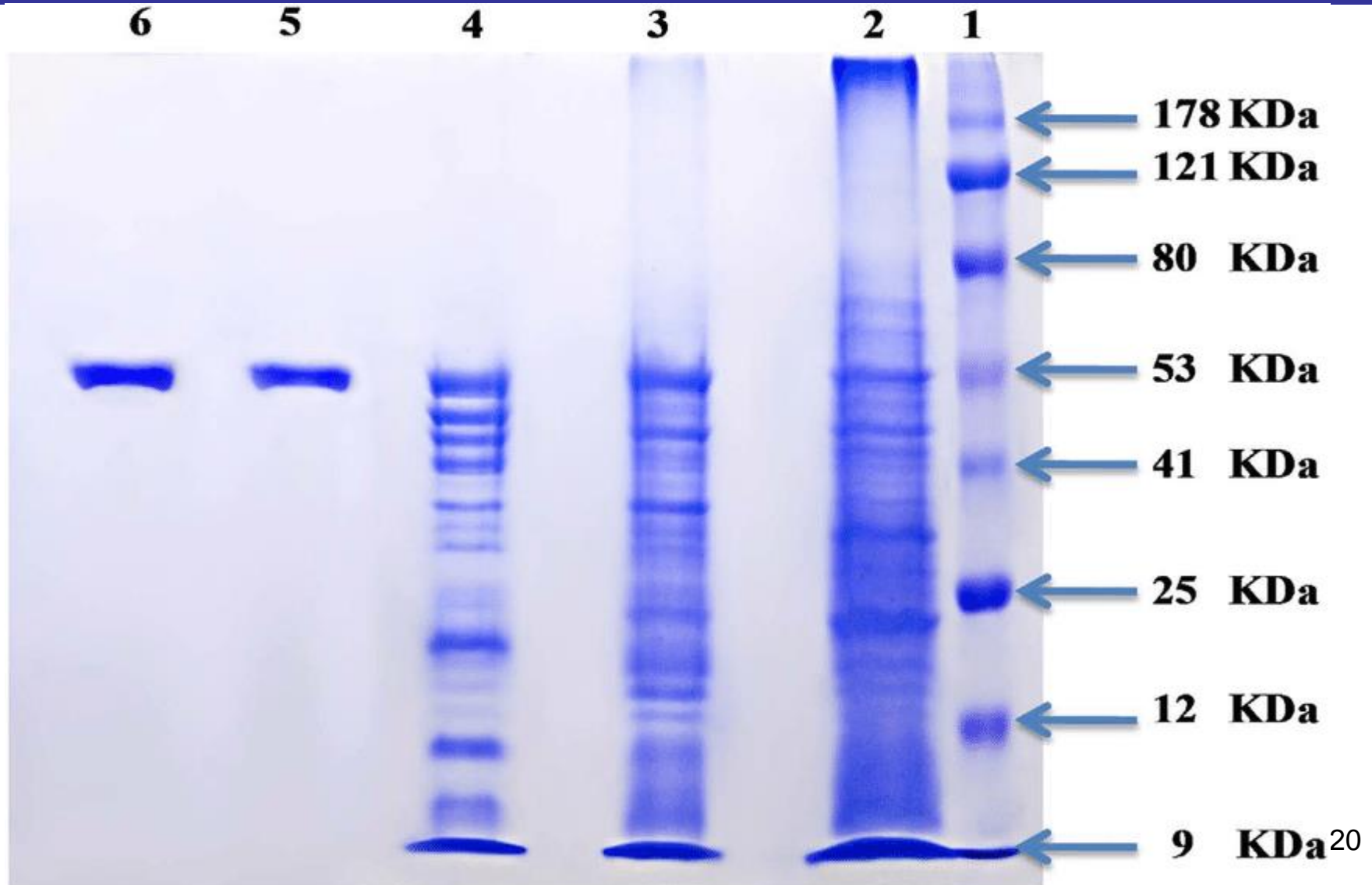
- Sử dụng kèm một băng Pro chuẩn chứa hỗn hợp Pro có kích thước khác nhau.

# Điện di protein huyết thanh bằng pp SDS - Polyacrylamide

## Nguyên tắc



# Điện di protein huyết thanh bằng pp SDS - Polyacrylamide



# MÁY ĐIỆN DI BÁN TỰ ĐỘNG

- **Model : QuickGel Chamber**
- Hệ thống điện di thu gọn và dễ sử dụng được thiết lập đặc biệt cho QuickGel.
- Các xét nghiệm điện di trên máy : Điện di protein, điện di miễn dịch ImmunoFix , Hemoglobin ( Acid, Alkaline Hgb ), CK& LD Isoenzyme.



# Máy điện di tự động Hydrasys, Hyris 2 (hãng SEABIA) thuộc dòng thể hệ mới và hiện đại nhất hiện nay

- máy điện di máy sẽ giúp phát hiện các thành phần điện di protein máu và nước tiểu, phân tích các tổn thương cụ thể và các xét nghiệm Iso - enzym, điện di miễn dịch, điện di huyết sắc tố để phát hiện bệnh Thalassemia và Thalassemia (bệnh huyết tán di truyền vốn gặp khá nhiều ở VN và khu vực miền Trung - Tây nguyên).
- Tất cả các quá trình này đều được thực hiện bởi sự tự động hoàn toàn của máy, hạn chế các rủi ro hay kết quả thiếu chính xác khi thực hành trên máy bán tự động hoặc thủ công.



# MÁY ĐIỆN DI TỰ ĐỘNG

- **Model SPIFE 3000**

- Điện di protein , Cholesterol (HDL , LDL , VLDL, Lp(a) ) Điện di miễn dịch ImmunoFix , Hemoglobin ( Acid, Alkaline Hgb ), CK Isoenzyme , LD Isoenzyme , Điện di miễn dịch IgG .

- \* 300 xét nghiệm /giờ/Protein ( gel 100 test ).

- \* 100 xét nghiệm /80 phút ( điện di Cholesterol )

- \* 80 xét nghiệm / 40 phút ( Lipoprotein )

- \* 20 xét nghiệm / 55 phút.( Hemoglobin )

