



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVEDČENÍU

231222

(11) (B1)

(51) Int. Cl.³

G 01 N 27/26

(22) Prihlášené 30 06 82
(21) (PV 4934-82)

(40) Zverejnené 15 02 84

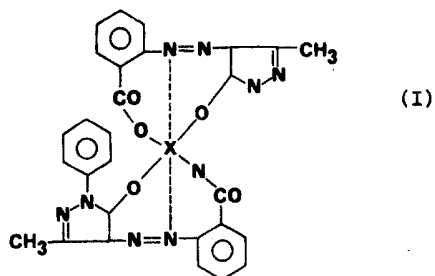
(45) Vydané 15 06 86

(75)
Autor vynálezu

MICHALÍK IVAN doc. ing. CSc., NITRA

(54) Spôsob detekcie bielkovín delených v polyakrylamidovom géli

Vynález spadá do odboru analytických, biochemických metod. Rieši spôsob detekcie bielkovín delených v polyakrylamidovom géli, pri ktorom sa postupuje tak, že elektroforeagamy sa detekujú nasýteným roztokom 1:2 kovokomplexného arofarbiva chromu, kobaltu alebo železa bis(1-fenyl-3-alkyl-5-hydroxyl pyrozolyl) dibenzoovej kyseliny vzorca I

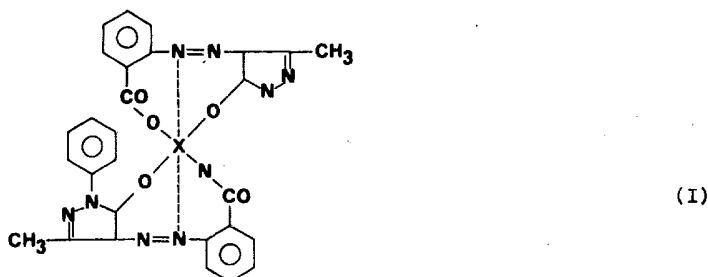


kde X je chróm, kobalt alebo železo v roztoku kyseliny octovej alebo trichlorovej.

Vynález sa týka spôsobu detekcie bielkovín delených v polyakrylamidovom géli.

V súčasnej dobe sa na detekciu bielkovín používa 4-amino-5-hydroxy-3-(paranitrofenylazo)-6-(fenylazo-2,7) naftalendisulfonová kyselina, dvojsodná soľ ako procentuálny roztok v roztoku kyseliny octovej, trichloroctovej alebo v iných rozpúšťadlách, čo je popísané v prácach monografického charakteru autora Davisa D. A., Disc electrophoresis II, N 4 Acad. Sci, 1964 a autora Maurera H. R., Disc elektrophoresis Theorie und Praxis der diskontinuierlicher Polyacrylamidgel-Elektrophorese, Walter de Gruyter and Co., Berlin, 1968. Tieto farbivá vykazujú krátkodobú trvanlivosť v rozsahu niekoľkých dní.

Uvedené nedostatky sú odstránené u spôsobu detekcie bielkovín delených v polyakrylamidovom géli podľa vynálezu, ktorého podstatou je, že na elektroforeogramy sa detekujú nasýteným roztokom 1:2 kovokomplexného azofarbiva chrómu, kobaltu alebo železa bis (1-fenyl-3-alkyl-5-hydroxypyrozolyl) dibenzoovej kyseliny vzorca I



kde X je chróm, kobalt alebo železo v roztoku kyseliny octovej alebo trichlóroctovej.

Výhodou spôsobu detekcie bielkovín delených v polyakrylamidovom géli podľa vynálezu je, že trvanlivosť - stálosť farbiva v závislosti na čase za bežného osvetlenia a teploty presahuje dobu jedného roka. Spektrum poskytovaných farieb je výhodné pre vyhodnotenie elektroforeogramov na rôznych typoch denzitometrov pro rôznej vlnovej dĺžke. Určitý stupeň rozdielnosti v selektívite farbenie jednotlivých komponentov bielkovín umožňuje študovať kvalitatívne aspekty delenia bielkovín.

V dôsledku substitúcie chrómu a metylových skupín inými radikálmi ako je kobalt alebo železo vzniká široké farebné spektrum. Farbivá tohoto typu sa úspešne aplikovali na detekciu bielkovín delených elektroforeticky v polyakrylamidovom géli, nakoľko v oblasti pH pod izoelektrický bod molekule bielkoviny je kladne nabitá, čím sa vytvárajú podmienky pre viazanie elektrostatickými amóniovými zložkami farbiva.

Predmet vynálezu je ilustrovaný na príklade prevedenia.

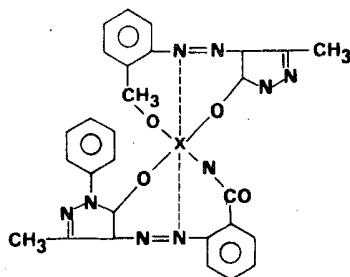
Príklad prevedenia

Rastlinné bielkoviny, izolované zo zrna obilnín, boli delené elektroforetickou metódou v polyakrylamidovom géli. Na priloženom obrázku je znázornené farebné spektrum aplikovaných preparátov, farbených nasýteným roztokom farbiva v 7 %-nej kyseline octovej. Farbenie sa uskutočnilo tak, že polyakrylamidové gély sa preniesli do kadičiek a farbivom a nechali stáť po dobu 12 hodín. Potom sa prebytok detekčného činidla zliat a zvyšok činidla sa odstránil viacnásobnou dekontamináciou roztokom 7 %-nej kyseliny octovej a destilovanou vodou. Použilo sa 1:2 kovokomplexné azofarbivo.

Spôsob podľa vynálezu je možné využiť okrem naznačeného smeru na riešenie problematiky stanovenia špecifických bielkovín, vrátane enzýmov.

P R E D M E T V Y N Á L E Z U

Spôsob detekcie bielkovín delených v polyakrylamidovom géli vyznačený tým, že elektroforeogramy sa detekujú nasýteným roztokom 1:2 kovokomplexného azofarbiva chrómu, kobaltu alebo železa bis (1-fenyl-3-alkyl-5-hydroxyl pyrozolyl) dibenzoovej kyseliny vzorca I



(I)

kde X je chróm, kobalt alebo železo v roztoku kyseliny octovej, alebo trichlórovej.