



Patent dodatkowy
do patentu nr _____

Zgłoszono: 06.12.74 (P. 176228)

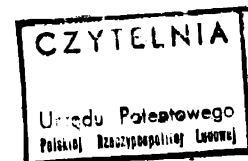
Pierwszeństwo: _____

Zgłoszenie ogłoszono: 17.07.76

Opis patentowy opublikowano: 30.09.1978

MKP G01n 27/26

Int. Cl.² G01N 27/26



Twórcy wynalazku: Jerzy Osada, Kazimierz Wierzbicki

Uprawniony z patentu: Akademia Medyczna, Wrocław (Polska)

Aparat do elektroforezy w żelu poliakryloamidowym

1

Przedmiotem wynalazku jest aparat do elektroforezy w żelu poliakryloamidowym znajdujący zastosowanie w laboratoriach fizjologicznych do prac naukowych i w laboratoriach klinicznych i szpitalnych do celów diagnostycznych. Aparat umożliwia zwłaszcza rozdzielanie białek, enzymów, kwasów nukleinowych, polinukleotydów, hormonów itp. w polu elektrycznym. W aparacie tym można również dokonywać izoelektroogniskowania białek i oznaczania ich punktu izoelektrycznego w grad-

5 iencie pH, jak i oznaczenia ciężarów cząsteczkowych białek i kwasów nukleinowych.

Znany jest aparat do elektroforezy w żelu poliakryloamidowym wykonany ze szkła organicznego, mający kształt prostopadłościanu składającego się z dwóch naczyń i pokrywy, przy czym jedno naczynie znajduje się nad drugim, zaś w dolnym zamocowana jest pompka perystaltyczna przeznaczone do przepompowywania płynu buforowego z jednego naczynia do drugiego w celu utrzymywania stałej temperatury płynu i równomiernego rozmieszczenia stężeń składników buforowych. Do umocowania w aparacie rurek ze spolimeryzowanym żelem służą listwy gumowe z otworami, osadzone w dnie górnego naczynia. Każda taka listwa przystosowana jest do przytrzymywania kilku rurek. Każde naczynie ma elektrodę platynową w postaci cienkiego drutu nawiniętego na szklany nośnik na całej jego długości.

Aparat ma dużą pojemność wymagającą znacz-

2

nej ilości płynu buforowego i wymaga dużej ostrożności przy posługiwaniu się nim, ze względu na konstrukcję elektrod. Przed każdą elektroforezą zachodzi konieczność rozebrania i ponownego złożenia aparatu, co utrudnia jego obsługę.

5 Znany jest inny aparat o identycznym przeznaczeniu, składający się z dwóch prostopadłościanowych naczyń ze szkła organicznego, ustawionych jedno nad drugim, z których górne ma podstawę a w niej wykonane otwory do umieszczania rurek ze spolimeryzowanym żelem. Rurki mocowane są w otworach podstawy przy pomocy pierścienia z gwintem, skośnego kołnierza i pierścienia gumowego. Aparat ten wyposażony jest w elektrody wę-

15 glowe.

Aparat ten, obok stosunkowo znacznych wymiarów gabarytowych, co wymaga dużej ilości płynu buforowego, wymaga także pracochłonnej obsługi, gdyż zachodzi konieczność mocowania najpierw 20 każdej z kilkunastu rurek do podstawy przy pomocy pierścienia i kołnierza, a po zakończeniu elektroforezy wykręcenia ich z podstawy.

Oba opisane aparaty umożliwiają używanie rurek z żelem tylko o długości ograniczonej wysokością 25 dolnego naczynia, wchodzącego w skład aparatu.

Przedmiotem wynalazku jest aparat do elektroforezy w żelu poliakryloamidowym o dwóch szczelnie oddzielonych od siebie przestrzeniach przeznaczonych dla roztworu elektrolitu, którego część 30 znajduje się w przezroczystym naczyniu wchodzą-

cym w skład aparatu, przy czym aparat ten ma elementy mocujące i uszczelniające rurki ze spolimeryzowanym żelom oraz dwie elektrody z drutu platynowego nawinięte na elektroizolacyjnym nośniku, zaś każda elektroda umieszczona jest w innej przestrzeni.

Istota wynalazku polega na tym, że główną część aparatu stanowi rura wykonana z chemicznie odpornego tworzywa sztucznego, podzielona na dwie części poziomą przegrodą, zawierającą szereg otworów z uszczelkami, przy czym górna część rury jest krótsza i wypełniona częściowo roztworem elektrolitu, natomiast w przegrodzie jest zamocowany szczelnie walec stanowiący nośnik elektrod, utworzony z dwóch nierównej długości odcinków, mających wewnętrzne wzdłużne kanały ustawione naprzeciwko siebie. Na poboczu obu odcinków walca nawinięte są elektrody szczelnie wprowadzone do wzdłużnych kanałów i połączone z odpowiadającymi im elektrycznymi przewodami w izolacji, przy czym przewody te są na zewnątrz wyprowadzone poprzez uszczelniony kanał promieniowy wykonany w dłuższej dolnej części walca, tuż pod przegrodą. Dolna część rury ma na poboczu szereg okienek, zaś dolne odcinki rurek i dolny odcinek walca z elektrodą znajdują się w roztworze elektrolitu, zawartym w przezroczystym naczyniu. Jest korzystne, gdy dolna część rury ma dodatkowy otwór usytuowany w pobliżu przegrody, przeznaczony do wyprowadzania przewodów na zewnątrz rury.

Aparat zgodny z wynalazkiem odznacza się prostotą konstrukcji, ma małe rozmiary, dzięki czemu nie wymaga dużej ilości roztworu elektrolitu i może być łatwo umieszczany w chłodni, natomiast rurki z żelom mogą być dogodnie i szybko umocowane w przegrodzie, w otworach z uszczelkami. Rura z przegrodą i osadzonymi w niej rurkami z żelom oraz nośnikiem elektrod może być ustawiona bądź nad przezroczystym naczyniem z roztworem elektrolitu, bądź wewnątrz takiego naczynia, którego wymiary mogą być dostosowane do różnej długości rurek wypełnionych żelom. Aparat zapewnia uzyskanie rozdziałów z dobrą rozdzielczością, działa niezawodnie i nie podlega uszkodzeniom mechanicznym.

Przedmiot wynalazku jest przedstawiony w przykładzie wykonania na rysunku, na którym fig. 1 przedstawia rurę z wyposażeniem w przekroju wzdłużnym, fig. 2 tę samą rurę w widoku z góry, zaś fig. 3 nośnik elektrod w częściowym przekroju wzdłużnym.

Przykładowe rozwiązanie aparatu według wynalazku przedstawia się następująco. Podstawową część aparatu stanowi cylindryczna rura 1 wykonana z polietylenu, której wewnątrz jest przedzielona na dwie nierówne części poziomą przegrodą 2 wykonaną z tego samego materiału, szczelnie dzielącą rurę 1 na dwie przestrzenie. W środku przegrody 2 zamocowany jest szczelnie walec 3, stanowiący nośnik elektrod 4, wykonanych z drutu platynowego w postaci jednego zwoju, nawiniętego na powierzchni walca 3 na jego górnym odcinku 5 i dolnym odcinku 6. W przegrodzie 2, na okręgu wokół walca 3, znajduje się szereg otworów 7 z gumowymi uszczelkami 8, w których są osadzone dwustronnie

otwarte rurki 9 ze spolimeryzowanym żelom poliakryloamidowym, wypełniającym je na długości mniejszej od ich długości. Do elektrod 4 doprowadzone są, poprzez wzdłużne kanały 10 i 11 wykonane wewnątrz odcinków 5 i 6 walca 3, elektryczne przewody 12 i 13 w izolacji, połączone ze źródłem 14 napięcia stałego, przechodzące przez dodatkowy otwór 15 wykonany w rurze 1, pod przegrodą 2.

Górna, krótsza część rury 1 wypełniona jest roztworem elektrolitu 16, który ma poziom powyżej górnych krawędzi rurek 9 z żelom i elektrody 4 nawiniętej na górnym odcinku 5 walca 3. W dolnej, znacznie dłuższej części rury 1 wykonane są okienka 17, umożliwiające obserwację rurek 9 z żelom. Wewnątrz tej dolnej części rury 1 wstawione jest przezroczyste naczynie 18 wypełnione roztworem elektrolitu 16, tak że ten roztwór obejmuje dolną część rurek 9 i elektrodę 4 nawiniętą na dolnym odcinku 6 walca 3. Walec 3 wykonany jest ze szkła organicznego i jest utworzony z dwóch nierównej długości odcinków 5 i 6, jednego usytuowanego nad przegrodą 2, a drugiego pod nią. Odcinki 5 i 6 mają wzdłużne kanały 7 i 8 ustawione naprzeciwko siebie i nad centralnym otworem 19 wykonanym w przegrodzie 2, wokół którego są zamocowane oba odcinki 5 i 6 walca 3. Nawinięte na poboczu walca 3 elektrody 4 są wprowadzone przez uszczelnioną żywicą epoksydową otwory 20 do kanałów 7 i 8 i połączone lutowniem 21 z elektrycznymi przewodami 12 i 13. Lutowniem 21 wypełnia końcowe odcinki obu kanałów 7 i 8. Przewody 12, 13 wyprowadzone są z kanałów 7, 8 poprzez uszczelniony żywicą epoksydową promieniowy kanał 22, wykonany w dolnym odcinku 6 walca 3, tuż pod przegrodą 2.

Posługiwanie się aparatem jest następujące. Rurki 9 ze spolimeryzowanym żelom umieszcza się tak w uszczelkach 8, by ich kilkumilimetrowy odcinek wystawał nad uszczelką 8 i by roztwór elektrolitu 16 zakrywał je oraz elektrodę 4. Rurę 1 z rurkami 9, zawierającymi próbki, wstawia się do przezroczystego naczynia 18, z roztworem elektrolitu 16, tak by zanurzeniu uległa dolna elektroda 4 i końce rurek 9. Całość umieszcza się w chłodziarce, a przewody 12 i 13 łączy ze źródłem 14 napięcia stałego i pozostawia na określony, ściśle dobrany czas. Po zakończeniu procesu elektroforezy rurki 9 wyjmują się z aparatu, z rurek 9 usuwa się żel i poddaje dalszym wymagany badaniom. Elektroforezę prowadzi się w zakresach pH od 2 do 12 i stężeniu żelu poliakryloamidowego od 2% do 15%, jak i w gradiencie stężenia tego żelu.

Zastrzeżenia patentowe

1. Aparat do elektroforezy w żelu poliakryloamidowym o dwóch szczelnie oddzielonych od siebie przestrzeniach przeznaczonych dla roztworu elektrolitu, którego część znajduje się w przezroczystym naczyniu wchodzącym w skład aparatu, mającego ponadto elementy mocujące i uszczelniające rurki ze spolimeryzowanym żelom oraz dwie elektrody z drutu platynowego nawinięte na elektroizolacyjnym nośniku, zaś każda elektroda umieszczona jest w innej przestrzeni, **znamienny tym**, że główną część aparatu stanowi cylindryczna rura (1)

wykonana z chemicznie odpornego tworzywa sztucznego, przedzielona na dwie części poziomą przegrodą (2) zawierającą szereg otworów (7) z uszczelnieniami (8), przy czym górna część rury (1) jest krótsza i napełniona częściowo roztworem elektrolitu (16), natomiast w przegrodzie (2) jest szczelnie zamocowany walec (3), stanowiący nośnik elektrod (4), utworzony z dwóch nierównej długości odcinków (5, 6) mających wewnętrzne wzdłużne kanały (10, 11) ustawione naprzeciwko siebie, zaś na poboczu obu odcinków (5, 6) walca (3) nawinięte są elektrody (4) szczelnie wprowadzone do wzdłużnych kanałów (10, 11) i połączone z odpowiadającymi im elektrycznymi przewodami (12, 13) w izolacji, przy czym przewody (12, 13) są na zewnątrz wyprowa-

dzzone poprzez uszczelniony promieniowy kanał (22) wykonany w dłuższym dolnym odcinku (6) walca (3) tuż pod przegrodą (2), natomiast dolna część rury (1) ma na poboczu szereg okienek (17), a dolne odcinki rurek (9) z żelazem i dolny odcinek (6) walca (3) z elektrodą (4) znajdują się w roztworze elektrolitu (16) zawartym w przezroczystym naczyniu (18).

2. Aparat według zastrz. 1, **znamienny tym**, że dolna część rury (1) ma dodatkowy otwór (15) usytuowany w pobliżu przegrody (2).

3. Aparat według zastrz. 1, **znamienny tym**, że platynowa elektroda (4) połączona jest z przewodem (12, 13) lutowiem (21), wypełniającym końcową część wzdłużnego kanału (10, 11).

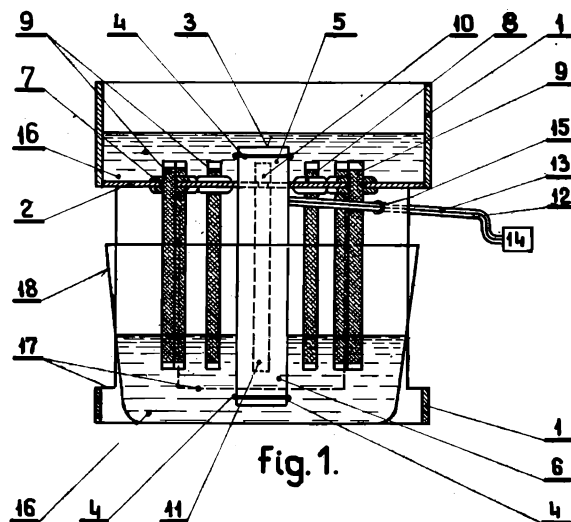
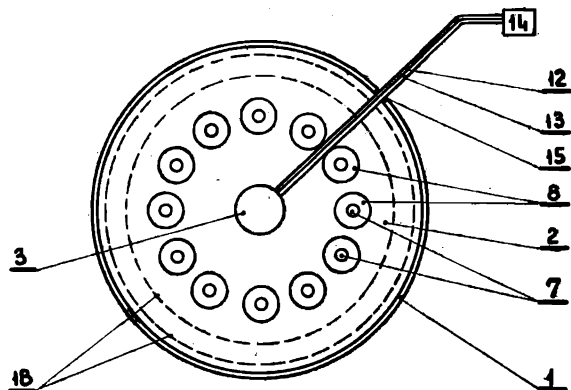


fig. 1.



. fig. 2

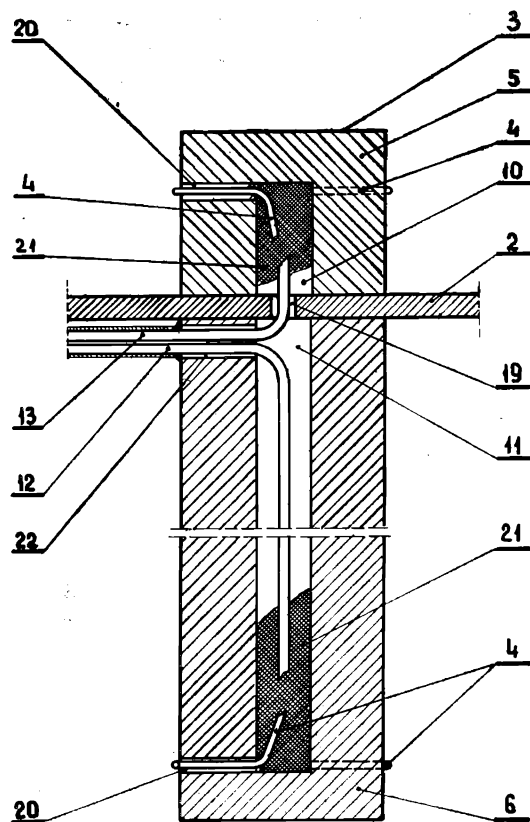


fig. 3