

Метод изоэлектрического фокусирования используется для оценки генно-инженерных препаратов, а также некоторых высокоочищенных биотехнологических препаратов (содержание основного компонента не менее 95 %), предназначенных для применения в качестве лекарственных средств.

Электрофоретическое разделение белков методом изоэлектрического фокусирования происходит под действием электрического поля в градиенте рН в соответствии с их изоэлектрической точкой (рI). Местоположение каждого белка определяется значением его изоэлектрической точки. При достижении белком изоэлектрической точки в градиенте рН его суммарный заряд становится равным нулю и он перестает перемещаться в электрическом поле. В результате электрофоретического разделения исследуемого вещества может происходить диффузия белковых молекул из зоны фокусирования, но, попадая в более кислую или щелочную среду, молекулы белка будут терять нейтральность и под действием электрического поля снова возвращаться в зону изоэлектрической точки. Для создания градиента рН применяют смеси синтетических полиаминополикарбоновых кислот (амфолиты) в диапазоне изоэлектрических точек (рI) от 3,0 до 10,0 единиц рН. Смесь амфолитов помещают в стабилизационную среду (полиакриламидный или агарозный гель) и подают напряжение, в результате чего создается градиент, в котором рН увеличивается в направлении от анода (+) к катоду (-).

Для ускорения процесса фракционирования белков используют максимально допустимую напряженность электрического поля.