

- 1. Hafta:** Protein Saflaştırmasının Genel Özellikleri: Protein saflaştırma laboratuvarının genel özellikleri, saflaştırma işlemlerinde kullanılan tamponların özellikleri, hücre içi, hücre dışı ve membran proteinlerinin saklama koşulları.

Prof. Dr. Şule Pekyardımcı

Proteinler birçok hastalığın teşhis ve tedavisinde kullanılmaktadır ve yeni ilaçların hazırlanması için de oldukça önemlidir. Proteinlerin bu amaçlarla kullanılabilmesi için de yapısında bulunan aminoasit bileşimi ve dizilişinin, moleköl ağırlığının ve diğere fiziksel özelliklerinin bilinmesi yani yapısının aydınlatılması gerekir. Yapı aydınlatılması için de proteinin saflaştırılması gerekir. Bir proteinin bir hücre ve dokudan saf olarak izolasyonu oldukça güç bir olaydır. Proteinin konsantrasyonu düşükse binlerce farklı protein arasından istenen proteini ayırarak saf halde elde etmek için bu proteine uygun saflaştırma tekniklerinin çok iyi belirlenmesi gerekir.

Saflaştırma işlemine başlamadan önce saflaştırılacak proteinin nerede kullanılacağına bilinmesi çok önemlidir. Çünkü yapılacak işlemler ona göre belirlenir. Yapılan her saflaştırma basamağından sonra ortamda bulunan protein sayısı azalmalıdır.

Protein saflaştırması 5 basamakta incelenir.

- a) Saflaştırma kaynağının belirlenmesi ve hazırlanması
- b) Proteinin özelliklerinin araştırılması
- c) Saflaştırma ve protein tayin yöntemlerinin belirlenmesi
- d) İlk izolasyonlar
- e) Son izolasyonlar

Kaynağın hazırlanması için saflaştırılacak protein veya enzimin izole edileceğı kaynağın belirlenmesi gerekir. Kaynak belirlenirken hücre tipi, saflaştırılacak proteinin intraselüler mi, ekstraselüler mi veya membran proteini mi olduğı, ayrıca ortamda proteazların veya glikozidazların olup olmadığı belirlenir. Protein kaynağı olarak kültür ortamı kullanılacaksa kültür hacminin daha fazla olması için daha fazla hücre üretilmesi gerekir.

Saflaştırılacak proteinin özelliklerinin saflaştırmaya başlanmadan önce belirlenmesi de çok önemlidir. Saflaştırma basamaklarında yapılacak işlemler proteinin özellikleri göz önüne alınarak düzenlenmelidir.

Intraselüler proteinler hücre lizisi ile alınır. Bu işlem hücrenin parçalanmasıdır.

Çözünebilen proteinler hücre lizatlarından genellikle amonyum sülfat veya polietilen glikol çöktürmesiyle ayrılır.

Rekombinant proteinler hücrede genellikle hatalı katlanmış şekilde ve inaktif çözünmez agregatlar halinde bulunur.

Renatürasyon işleminde ilk adım inclusion bodies adı verilen bu inaktif proteinleri 6M üre ile çözmektir. Bu işlem hızlı ve güvenilir bir yöntemdir. Daha sonra denatüre edici madde diyalizle veya kromatografik yöntemlerle ortamdan uzaklaştırılarak protein tekrar doğal aktif haline çevrilir. Bu yeniden katlanma ve aktif hale gelme işlemi 7-10 gün sürebilir.

Daha yüksek saflaştırma işlemleri için genellikle kromatografik yöntemler uygulanır. Bu işlemler 4 sınıfta toplanır

- a) İyon – değişim Kromatografisi
- b) Hidrofobik Kromatografi
- c) Afinite Kromatografisi
- d) Jel Filtrasyon Kromatografisi

Proteinlerin saflaştırılmasında bugün kullanılan yöntemler oldukça gelişmiştir. Saflaştırmada kullanılan yöntemlerden bir veya birkaçı arka arkaya kullanılarak protein saf veya safa yakın bir şekilde elde edilir. Bugün pek çok enzim ve proteinin saf olarak kristal halde izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Bir doku veya hücre grubundan proteinleri izole edebilmek için öncelikle yapılması gereken bazı işlemler vardır.

Bunun için önce saflaştırılmak istenen proteinin en fazla bulunduğu doku veya hücre grubu belirlenir. İlgilenilen proteini kararlı halde tutacak tampon çözeltiler kullanılarak doku ve hücreler homojenize edilir. Saflaştırılacak proteinin bulunduğu yere göre hücre membranının veya hücredeki diğer organel membranlarının da parçalanması gerekebilir. Daha sonra elde edilen bu homojenat santrifüjlenerek üstte kalan süpernatant kısmı alınır, böylece sulu ortamda çözünen proteinler hücre partiküllerinden arındırılır. Elde edilen protein karışımı süpernatant halinde alınır ve saflaştırma yöntemleri kullanılarak proteinlerin saf olarak izolasyonu gerçekleştirilir.

Alfa amilaz, proteaz ve lipazlar genellikle bakteriyel kültür ürünleridir ve çok miktarda üretilir. Bu tür işlemlerde maliyeti azaltmak için kısmi saflaştırma yapılır.

Ancak araştırma ve analiz amaçlı kullanılacak proteinlerin aktiviteleri ortamda bulunan bozucu maddelerden etkilendikleri için yüksek saflıkta olmalıdır.

Protein saflaştırma yöntemlerinin büyük bir çoğunluğu protein ve enzim çalışmalarının en fazla çalışıldığı dönem olan 1960-1970 yılları arasında bulunmuştur.

Herhangi bir protein saflaştırma işlemine başlamadan önce temel laboratuvar malzemelerinin sağlanması, uygulanacak protein saflaştırma işleminde saflaştırılacak protein veya enzimlerin genel özelliklerinin öğrenilmesi ve buna uygun olarak yapılacak işlemlerin ve kullanılacak yöntemlerin belirlenmesi gerekmektedir. Bunların dışında tüm bu parametrelerin birbirlerini nasıl etkileyebilecekleri, girişim etkilerinin olup olmayacağı da göz önüne alınmalıdır. Dolayısıyla protein saflaştırma aşamalarında kullanılacak ekipman, gerekli tamponlar, protein tayin yöntemleri, girişim yapabilecek maddelerin uzaklaştırılmasının nasıl yapılacağı önceden planlanmalıdır.

Protein Saflaştırılması için Laboratuvar Donanımı

Protein saflaştırılması ve karakterizasyonu ile ilgili çalışmalar yapılacak bir laboratuvar da gerekli olabilecek materyaller şunlardır.

- 1-** Kimyasal maddeler
- 2-** Cam ve plastik malzemeler
- 3-** Küçük cihazlardan oluşan ekipmanlar
- 4-** Fraksiyonlama işlemlerinde kullanılan aygıtlar
- 5-** Ölçüm ve tayinlerde yararlanılan aletler

Tuzlar, tamponlar, tüpler, pipetler, karıştırıcılar, su banyoları ve benzeri materyaller genellikle her biyokimya laboratuvarında bulunan, en az maliyetli, en sık kullanılan en temel malzemelerdir. Bir laboratuvar oluşturulurken pahalı cihazlara da gereksinim duyulacaktır. Ancak planlama yapılırken, kompleks bir cihazın çalışmasını destekleyecek daha basit ekipmanlar yeterli oranda temin edilememişse söz konusu cihazın alımı ekonomik açıdan uygun olmayacaktır. Temel ekipmanların sayı ve oranının laboratuvar da çalışacak kişi sayısı ile da ilişkili olduğu göz önüne alınmalıdır.

Protein saflaştırılması ve karakterizasyonuna yönelik bir laboratuvar da gerek duyulan madde, malzeme ve cihazlar aşağıdaki şekilde özetlenebilir;

Kimyasal Maddeler: Tuzlar (genellikle klorür formu), sodyum ve potasyum fosfatlar, amonyum sülfat, tris ve diğer organik tamponlar, EDTA, asit ve bazlar, indirgeme reaktifleri (2-merkaptoetanol, ditiyotreitöl, glutatyon), proteaz inhibitörleri, deterjanlar, gliserol, çeşitli iyon değişim ve jel filtrasyon reçineleri.

Cam ve Plastik Eşyalar: Çok farklı boyutlarda tüpler, erlen ve beherler, huni ve pipetler, pastör pipetleri, mikropipetler (özellikle küçük hacimler için), cam-plastik şişeler, kavanozlar, süzgeçler, buz banyoları, tek ve çift çeperli kolonlar.

Bir Kullanımlık Malzemeler: Diyaliz torbaları, plastik eldivenler, tartım kağıt ve kapları, filtre kağıtları, alüminyum folyo, pH kağıdı, cam pamuğu, şırınga ve iğneler, işaretleme bantları, plastik küvetler.

Küçük Cihazlar ve Aksesuarları: Isıtıcılar, bekler, zaman sayaçları, vorteks karıştırıcılar, manyetik karıştırıcı ve manyetik barlar, blender, terazi, vakum pompası, peristaltik pompalar ve hortumları, pH-metre ve elektrotları, cam ve kuartz küvetler, makas ve benzerleri malzemeler.

Büyük Cihazlar: Saf su ve bidistile su cihazları, buz dolabı, derin dondurucu (-20°C ve mümkünse -70°C), buz makinası, inkübatörler (su banyolu ve banyosuz, çalkalamalı ve çalkalamasız olabilir), termostatlar, kriyostat, otoklav, soğuk oda, liyofilizatör, santrifüjler ve ultrasantrifüj, sonikatör, ultrafiltrasyon sistemi, UV ve görünür bölge spektrofotometreleri, jel elektroforez cihazı, refraktometre, kondüktometre ve fraksiyon kollektörü.

Yukarıdaki cihazlardan bazıları oldukça pahalı aygıtlardır. Hepsinin birden sağlanması mümkün olmayabilir. Özellikle kısıtlı kaynaklar durumunda en zorunlu ihtiyaçları iyi belirlemek çok önemlidir. Örneğin bir spektrofotometre, liyofilizatör gibi cihazların olması oldukça önemlidir. Ancak soğuk oda ya da su banyolarının olmaması, kriyostat, termostat ve çift çeperli kolonlar varlığında işlerin yürümesi açısından büyük bir engel değildir. Bazı kompleks cihazların birkaç laboratuvar ile birlikte ortak kullanımı veya bu hizmetin bir merkez laboratuvar tarafından sağlanması da uygulanan bir yöntemdir.

Bu amaçla biyokimya ve moleküler biyoloji laboratuvarlarında sık kullanılan cihazlardan bir tanesi santrifüjlerdir. Özellikle değiştirilebilir rotorlarla büyük ve küçük hacimli özel şişelere sahip soğutmalı ve yüksek hızlı santrifüjler çok sık kullanılırlar. Protein

saflaştırılmasına yönelik çalışacak bir laboratuvarında büyük hacimli bir santrifüj, ekstraktların hazırlanması gibi başlangıç adımlarında zaman tasarrufu sağlar. Özellikle hücre içi organellerin içerdikleri bazı proteinlerin eldesi amacıyla fraksiyonlanmaları söz konusu olduğunda, ultrasantrifüjlere (100.000 rpm) gereksinim duyulur. Ancak oldukça pahalı olmaları, genelde birkaç laboratuvar tarafından ortak kullanılmalarını zorunlu kılmaktadır.

Santrifüjleme işleminin öncesinde ve sonrasında blenderler, homojenizatörler, sonikatörler ve basınç hücreleri gibi aletler de kullanılır. Bunlardan, proteinlerin kaynak materyalinden izolasyonları sırasında ve santrifüjleme işlemlerinden sonra çökeleklerin homojen hale getirilmesinde yararlanır.

Protein fraksiyonlama yöntemlerinden en önemlilerinden biri de kolon kromatografisidir. Kolon kromatografisini pratik bir şekilde uygulayabilmek için farklı boyutlardaki tek ve çift çeperli kolonlar, anyon ve katyon değiştirici reçineler (DEAE-Selüloz ve CMC gibi), farklı por büyüklüğündeki hidroksiapatit, hidrofobik jeller gibi kolon matriks maddeleri en çok kullanılan materyallerdir. Protein fraksiyonlarının toplanmasında çok sayıda tüp ile zamandan büyük tasarruf sağlayacak bir fraksiyon kollektörünün olması oldukça önemlidir. Ayrıca peristaltik pompalar, gradient oluşturucular, UV monitörleri ve kondüktometre özellikle protein elüsyonunun sağlıklı bir şekilde yürütülmesi ve kromatografik işlemin gidişinin izlenmesi açısından önemlidir. Protein saflaştırılması için, ayarlanabilir sabit akım (0-50 mA) ve sabit voltaj (0-200 V) fonksiyonuna sahip bir güç kaynağı ve izoelektrik odaklama için ayarlanabilir bir jel elektroforez cihazı fraksiyonlama işlemlerinde ileri bir aşamayı göstermektedir.

Enzim veya protein için karakteristik tayin yöntemleri ve ayrıca ortamda bulunan toplam protein miktarının belirlenmesi için tayin yönteminin belirlenmesi gerekir. Bunun için protein veya enzime uygun, hızlı ve oldukça hassas yöntemler seçilmelidir.

İlk saflaştırma basamaklarında proteinler sudan ve diğer hücre komponentlerinden ayrılır. Bu basamakta protein konsantrasyonu artırılır, gerekirse hücre lizisi yapılır ve denatüre olan protein ve enzimler için tekrar katlanma gerçekleştirilir.

Ekstrasellüler proteinlerin diğer hücre artıklarından arındırılması için genellikle ultrafiltrasyon veya adsorbsiyon yöntemleri kullanılır ve saflaştırılacak protein konsantre

edilir. Intraselüler proteinler hücre lizisi ile alınır. Bu işlem hücrenin parçalanmasıdır. Çözünebilen proteinler hücre lizatlarından genellikle amonyum sülfat veya polietilen glikol çöktürmesiyle ayrılır.

Rekombinant proteinler hücrede genellikle hatalı katlanmış şekilde ve inaktif çözünmez agregatlar halinde bulunur.

Renatürasyon işleminde ilk adım inclusion bodies adı verilen bu inaktif proteinleri 6M üre ile çözmektir. Bu işlem hızlı ve güvenilir bir yöntemdir. Daha sonra denatüre edici madde diyalizle veya kromatografik yöntemlerle ortamdan uzaklaştırılarak protein tekrar doğal aktif haline çevrilir. Bu yeniden katlanma ve aktif hale gelme işlemi 7-10 gün sürebilir.

Protein saflaştırılması işlemlerinde saflaştırmanın gidişini izleyebilmek için bazı ölçüm ve tayinlerin yapılması gerekmektedir. Protein konsantrasyonunun belirlenmesinde, bakteri kültürlerinin büyümesinin izlenmesinde, enzimatik aktivite tayinlerinde en sık kullanılan cihaz spektrofotometredir. Özellikle UV ve görünür bölgede (200–800 nm) ölçüm yapabilen bir spektrofotometre temel cihazlardan biridir.

Görünür bölgedeki ölçümlerde cam, UV bölgedeki ölçümlerde ise kuartz küvetler kullanılmaktadır. Küçük hacimler için mikroküvetlere (0,2 ml), ayrıca hücre büyümesinin izlenmesinde ve boyar örneklerle yapılan çalışmalarda da bir kullanımlık küvetlere gerek vardır. Kullanılacak spektrofotometrenin termostatik ölçüm aparatının bulunması özellikle bazı enzimatik analizler için büyük yarar sağlar. Bazı enzimatik analizlerde ise radyoizotop işaretleme tekniklerinin kullanılması gerekebilir. Refraktometre, sukroz ve gliserol gibi maddelerin kullanıldığı gradient santrifüjleme tekniklerindeki gradientler, kondüktometre ise kromatografik kolonlardaki tuz gradientlerinin ölçülmesinde kullanılmaktadır.

TAMPONLAR

Saflaştırma işlemlerinin bütün aşamalarında proteini denatürasyondan korumak için pH'ı kontrol etmek ve uygun bir değerde tutmak oldukça önemlidir. Bu işlem ancak bir denge uyarınca proton alan veya veren tamponlar kullanılarak yapılabilir. Tamponlar belli bir konsantrasyon aralığında çalışan maddelerdir.

Bir tamponun tamponlama kapasitesi, asidik ve bazik formlarının eşit olduğu yerde, yani K_a değerinde maksimumdur. Herhangi bir tamponun tamponlama kapasitesi

konsantrasyona bağılıdır ve pKa civarında ± 1 pH birimlik sapma çerçevesinde hesaplanabilir. Maksimum tamponlama kapasitesine $\text{pH} = \text{pKa}$ şartlarında ulaşılır. Seçilecek tampon konsantrasyonu ise uygulanacak işlemle ilişkilidir. Örneğin fazla miktarda protonun salındığı bilinen bir sistemde yüksek tampon konsantrasyonlarına gerek vardır. Eğer tampon, tamponlama aralığının sınırında kullanılacaksa daha yüksek konsantrasyonlara gerek duyulur. Genellikle 20–50 mM'lık konsantrasyonlar yeterlidir. En uygun tamponun belirlenmesinde de pekçok faktör gözönüne alınmalıdır. En iyi tamponun seçiminde birinci adım saflaştırılacak proteinin optimum pH'sının belirlenmesidir. Bu sayede protein molekülü ve pH ilişkisi konusunda yorum yapılabilmesi, böylece amaca uygun tampon ve pH aralığının belirlenmesi kolaylaşır. Tamponlama kapasitesinin yüksek olduğu pKa değeri civarında çalışabilme olasılıkları araştırılmalıdır. Anyonik veya katyonik türlerin seçimi çalışmanın amacına uygun yapılmalıdır. Örneğin uygulanacak bir anyon değişim kromatografisi için katyonik bir tampon tercih edilmelidir. Seçilecek tamponun kimyasal reaktivitesine de dikkat edilmelidir. Mesela primer amin grubu içeren tamponlar (Tris gibi) protein ya da amino asit analizlerinde girişim yapabilirler ve bazı enzimleri inaktive edebilirler.

Tamponların biyokimyasal aktiviteleri de tampon seçiminde çok önemlidir. Örneğin fosfat tamponlarındaki fosfat bir bileşen olarak biyokimyasal reaksiyonlara katılarak herhangi bir enzimi aktive ederken bir diğerini inhibe edebilmektedir. Genelde inorganik tamponlar "Good" tamponlarına göre daha fazla yan etkiye sahiptir. Örneğin fosfat tamponu, karboksipeptidaz, üreaz, birçok kinaz ve dehidrogenaz türü enzimleri inhibe eder. Borat tamponları mono ve oligosakkaritlerle, nükleik asitlerin riboz birimleriyle ve bazı nükleotidlerle kovalent kompleksler oluşturabilir. Tris ve diğer primer amin tamponları ise aldehit ve ketonlar ile schiff bazı oluşturur.

Tamponların metallerle kompleksleşmesi ek bir sorun ortaya çıkabilir. İnorganik tamponlar da bu konuda da önemli sorunlara yol açabilirler. Enzimatik aktivite için zorunlu metallerle şelat oluşturabilirler. Bunlara ilave olarak tamponların toksik olmaması (barbiton ve kokodilat tamponları gibi), protein absorbansının izlendiği 280 nm de absorpsiyon vermemesi (maleat tamponu gibi) istenir. Kullanılacak tamponun enzimatik reaksiyonların izlenmesinde çalışılacak spektral bölgede absorpsiyonunun olmaması gereklidir. Yine glisin

ve tris gibi çoğu primer amin esaslı tamponlar Bradford gibi boya-bağlama esaslı protein tayinleriyle girişim yaparlar.

Ayrıca bir tamponun pKa değerinin sıcaklıkla değişmesi dezavantaj olarak kabul edilir. Tris tamponu böyle bir özelliğe sahiptir; 0°C de pH'sı 8.85 iken 25°C de pH 8.00 dir. Tüm bu etkiler göz önüne alındığında Good ve arkadaşları tarafından geliştirilen "Good" tamponları (HEPES, BIS-TRIS, MES, MOPS VE PİPES gibi), genelde inorganik tamponlara göre daha az yan etkiye sahiptir. Bunlar biyolojik ve kimyasal olarak reaktif ve toksik olmamaları, UV bölgede absorpsiyon göstermemeleri, pKa'larının sıcaklığa ve iyonik şiddete çok bağımlı olmaması, metal iyonları ile şelat oluşturma kapasitelerinin düşük olması gibi özelliklerinden dolayı tercih edilmektedir. "Good" tamponlarından HEPES, EPPS, ve BICIN Lowry yöntemi ile protein tayininde pozitif bir girişim etkisi gösterir. Ancak bunlar klasik tamponlardan oldukça pahalı oldukları için büyük hacimlerde tampon kullanımının gerekli olduğu işlemlerde ekonomik değildir.

Protein saflaştırılması ve karakterizasyonu çalışmalarında uygun bir pKa değerine sahip bir tampon belirlendikten tampon konsantrasyonu doğru olarak belirlenmelidir. Yüksek iyonik kuvvet özellikle enzim aktivitesini azalttığı için mümkün olan en düşük konsantrasyon seçilmelidir. Tercih edilen bir tamponun hangi konsantrasyonda kullanılabileceğine karar vermek için 10–20 mM'lık bir tamponun pH'sındaki değişimin, protein ilavesinden yeterli bir süre sonra ölçülmesi gerekir. pH birimi değişimi $\pm 0,05$ civarında ise 10–20 mM'lık konsantrasyonun uygun olduğuna karar verilir. Ancak pH birimi değişimi $\pm 0,1$ den büyükse tampon konsantrasyonunun da 50 mM civarında olması gerekmektedir.

Protein saflaştırmaları sırasında bazen tamponun hızlı bir şekilde uzaklaştırılması gerekmektedir. Bu durumda uçucu tamponlar kullanılmaktadır. Bunlar özellikle elektroforezde ve iyon değişim kromatografisinde tercih edilir. Bu tamponlar piridin haricinde düşük UV bölgede absorbans vermezler. Amino asit analizlerinde de tampon konsantrasyonu çok yüksek olmadığı sürece ninhidrinle girişim yapmazlar.

Protein saflaştırması işlemlerinde kullanılacak tamponlar distile veya bidistile suyla hazırlanmalıdır.

Tamponların büyük bir çoğunluğu (tris ve sodyum asetat gibi) tampon tuzunun çözülmesi ve HCl veya NaOH ile pH'ın ayarlanarak son hacme tamamlanması ile hazırlanır.

Tamponların hazırlanmasıyla ilgili olarak kitaplarda standart hazırlama reçeteleri bulunmaktadır.

Tampon hazırlarken kullanılacak pH metrelerin mutlaka ticari pH standartlarıyla kalibre edilmesi gerekmektedir. Hazırlanacak tamponda monovalent katyonların girişim etkisinden şüpheleniyorsa veya çalışmada monovalent katyonların etkisi incelenecekse pH ayarlama amacına yönelik titrasyon tetrametilamonyum hidroksit ile yapılabilir. Benzer şekilde bir tamponun bileşeni olarak ortamda bulunabilecek klorür, asetat, sülfat ya da glutamat gibi anyonların enzim aktivitesi ya da protein-DNA etkileşmeleri üzerine belirgin etkiler yapabilecekleri unutulmamalıdır.

Protein Kararlılığı ile Saklama Koşullarının İlişkisi

Yeni bir protein saflaştırma işlemiyle ilgili olarak yapılması gereken en önemli araştırmalardan biri kararlılık ile saklama koşullarının ilişkisinin incelenmesidir. Genel olarak saflaştırma basamakları arasındaki saklama periyotlarının kısa olması istenir. Ancak her zaman böyle bir imkân olmayabilir. Bu nedenle bir saflaştırma işleminde her bir adımdan sonra, saflaştırılacak proteinin kararlılığı ile saklama koşulları ilişkisi incelenmelidir. Bunun için, küçük porsiyonlardaki protein çözeltileri farklı koşullar altında (buz içinde, dondurarak, oda sıcaklığında, kararlılığı arttırıcı bir reaktif varlığında ya da yokluğunda) tutulur ve farklı saklama sürelerinden sonra aktiviteleri ölçülür. Bazı saklama koşulları proteinin kararlılığı için çok olumlu ancak ileriki saflaştırma adımları için olumsuz niteliklere sahip olabilir. Örneğin -20°C de %50 lik gliserolde saklama, kararlılık için uygun koşullar sağlar. Ancak daha ileri saflaştırma adımları söz konusu ise ilave bir diyaliz işlemiyle ortamdan uzaklaştırılması gerekir. Bu nedenle daha çok son saklama adımları için kullanışlıdır. Son saklama adımlarında yüksek konsantrasyonda gliserolün yanısıra, stabilize edici substrat ilavesi ve serum albumini gibi proteinler katılabilir. Saklama koşullarının seçimi kararlılık için neyin etkili olduğuna ve saflaştırılmış proteinin daha sonra hangi amaçla kullanılacağına bağlıdır. Öncelikle ilgilenilen, enzim aktivitesinin incelenmesi ise serum albumininin olumsuz bir etkisi yoktur. Buna karşılık yapısal bir inceleme planlanıyorsa bu yol seçilemez. Protein kararlılığı ile saklama koşullarının ilişkisinde dikkat edilmesi gereken önemli bir konu da, protein çözeltilerinin dondurma-çözme işlemlerinden etkilenebileceğidir. Saflaştırmanın son adımından sonra liyofilizasyon işleminin

uygulanması ve proteinin kuru preparat şeklinde saklanması en sağlıklı yoldur. Ancak bu mümkün olmazsa dondurarak saklamak gerekir. Böyle durumlarda dondurma ve çözmenin çok kısa sürelerde gerçekleştirilmesi, mümkün olduğunca tekrardan kaçınılması ve özellikle saflaştırmanın ara adımlarında uygulanmasına dikkat edilmelidir. Ayrıca protein çözeltileri cam tüp veya kaplarda saklanmamalıdır. Yapılan çalışmalar protein fraksiyonlarının saklanması, polipropilen esaslı plastiklerin cam veya polietilen gibi diğer plastiklerden daha güvenli olduğunu göstermiştir.