

## **12. Hafta:** Hidrofobik Etkileşim ve Metal Afinite Kromatografisi

**Prof. Dr. Şule Pekyardımcı**

Hidrofobik etkileşim kromatografisi (HIC) ve yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) teknikleri birbiriyle yakından ilgili olan sıvı kromatografisi (LC) uygulamalarıdır. HIC tekniği biyomoleküllerin yüzeylerindeki farklı hidrofobikliğe dayanarak yapılan bir ayırma ve saflaştırma yöntemidir.

Ayrılacak olan proteinlerin yan gruplarındaki apolar bölgeler, kolondaki matrikse kovalent olarak bağlı ligantlarla (hidrofobik alkil veya aril grupları taşırlar) etkileşime girer. Genel olarak proteinlerdeki hidrofobik grupların çoğu iç kısımlara gömülü olarak bulunur. Ancak yüzeyde yer alan alanin, metiyonin, triptofan ve fenilalanin gibi apolar amino asitler yüzey hidrofobluğunu meydana getirirler.

Numune moleküllerini bağlamak için kullanılan tuz konsantrasyonunu ayarlayarak, numune proteinlerinin hangisinin bağlanacağını ve hangisinin numune uygulaması sırasında yıkanıp gideceğini kontrol etmek mümkündür. İdeal durum, hedef proteinin yeterince güçlü bir şekilde bağlanması, saflaştırılacak proteinden daha az hidrofobik olan proteinlerin adsorblanmadan akan fraksiyonda olması gerekir.