

ENZİM MÜHENDİSLİĞİ – Hafta 11

Prof.Dr.Zekiye Serpil Takaç

AFİNİTE KROMATOGRAFİSİ

- Matrise protein ile sıkı bağ yapabilecek bir ligand bağlanır.
- Bu liganda ilgili protein bağlanır, diğerleri bağlanmadan çıkar.
- Çözünbilir ligand ile elue edilir.

ELEKTROFOREZ

Elektroforetik ayırma, yüklü moleküllerin uygulanan bir potansiyel fark etkisi ile diferansiyel hareketine dayanır. Parçacıkların hareketi taşıdıkları yük, şekil ve boyutu ile orantılıdır. Konveksiyon akımını önlemek için tampon (elektrolit) çözelti bir taşıyıcıya (kağıt, selüloz tozları, nişasta veya poliakrilamid jel) daldırılır. Proteinin taşıyıcıdaki yeri bir boya ile belirlenir. Bu teknik daha çok küçük ölçekte uygulanmasına rağmen, büyük ölçekte de (preparatif) uygulanabilir. Preparatif elektroforezden sonra, ayrılan enzim destekten elue edilir veya sırayla kolondan ayrılır. Kapiler elektroforez protein karışımlarının ayrılması ve analizinde artan bir uygulama alanı bulmuştur.

HİDROFOBİK ETKİLEŞİM KROMOTOGRAFİSİ

Sulu bir çevrede, hidrokarbon ve diğer apolar moleküller su ile değil birbirleriyle etkileşime girerler. Protein yüzeyi yüklü ve polar amino asit yan zincirleri içerir. Ancak bazı apolar yan zincirler de vardır. Bu apolar zincirler birçok proteinin apolar moleküllere bağlanmasını sağlar. Bu etkileşimler hidrofobik etkileşim kromatografisinde önemlidir. Bu teknikte, proteinler oktil veya fenil-sepharose gibi matrise hidrofobik etkileşimlerin daha kuvvetli olduğu yüksek iyonik kuvvette adsorplanır. Proteinin desorpsiyonu iyonik gerilimi azaltarak ve gerekirse hidrofobik etkileşimleri zayıflatmak amacıyla organik çözücüler veya non-iyonik deterjanlar ekleyerek gerçekleştirilir.

ÇÖZÜNÜRLÜKTEKİ DEĞİŞİME DAYANAN YÖNTEMLER

Bir bileşenin bir çözücüdeki çözünürlüğü çözünen-çözünen ve çözücü-çözücü arasındaki kuvvetlerin dengesine bağlıdır. Çözünen-çözünen kuvveti baskınsa bileşen çözünmez, aksi halde çözünür.

Kaynak:

- Bailey JE and Ollis DF, Biochemical Engineering Fundamentals, McGraw Hill, Second Edition, 1986.
- Shuler ML and Kargı F, Bioprocess Engineering: Basic Concepts, 2. Baskı, Prentice Hall, 2001.
- Doran PM, Bioprocess Engineering Principles, Academic Press, 1995.