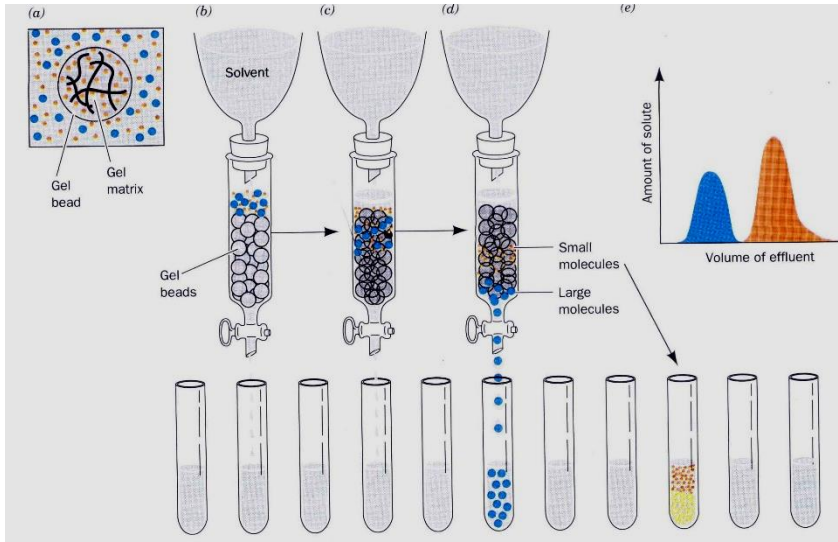


9. Hafta: Jel Filtrasyon Kromatografisi: Jel matriksin seçimi, jellerin hazırlanması, uygulamalar, molekül kütlesi tayini.

Prof. Dr. Şule Pekyardımcı

Size exclusion (boyut-dışlama), jel permeation (jel geçirgenlik), molecular sieving (moleküler elekme) gibi adlarla anılan bu kromatografi yöntemi 1971 yılından bu yana jel filtrasyon kromatografisi adını almıştır. Bu yöntemde proteinler boyutlarına yani molekül büyüklüklerine göre ayrılır. Jel filtrasyon kromatografisinde (GFC) molekülün boyutuna göre bir ayırma gerçekleştirilir. Ayırma işlemi, kolonda bulunan porlu jel matriks ve çözücü arasında meydana gelir. Kolona uygulanan örnek molekülleri, porların boyutundan çok büyükse, matriks tarafından tutulmaz ve kolonu ilk olarak terk eder. Küçük moleküller ise matriks porlarına girer ve burada tutulur.



Jellerin Hazırlanması

Bazı jel filtrasyon kromatografi matriksleri, kuru toz şeklinde (Sephadex ve Biogel) bulunur ve kullanılmadan önce eluent olarak kullanılan çözücüde şişirilmeleri gerekir.

Kolonun Temizlenmesi ve Saklanması

Gerekli durumlarda jellerin çoğu 0,2 M sodyum hidroksit veya non iyonik deterjanlar ile temizlenmelidir. Jellerin çoğu antimikrobiyal ajan kullanılarak, +4°C'de ve karanlıkta saklanmalıdır. Bu amaçla sodyum azit kullanılabilir.

Molekül Kütlesinin Belirlenmesi

Jel filtrasyon kromatografisi, proteinlerin moleküler kütlelerinin belirlenmesinde SDS-PAGE'e karşı önemli bir alternatif olarak kullanılmaktadır. Globüler proteinlerin elüsyon hacımları, moleküler kütleleriyle ilişkilidir. Bu şekilde elüsyon hacmi, moleküler kütlenin logaritmasının lineer bir fonksiyonudur.