

FTB 52 (1) 58-63.

(FTB-3411)

Brza i jednostavna metoda izolacije proteina prisutnih u biološkim otopinama u maloj i velikoj koncentraciji pomoću ionsko-izmjenjivačke kromatografije potiskivanja komponenata uzorka

Sažetak

Kromatografija potiskivanja komponenata uzorka (engl. sample displacement chromatography - SDC) na obrnutoj fazi pomoću ionskih izmjenjivača prvi se put spominje krajem 1980-tih godina. Koristila se za preparativno frakcioniranje sintetskih peptida, a nakon toga i za frakcioniranje proteina, najčešće metodom ionske izmjene. Metoda SDC se u novije vrijeme uspješno primjenjuje za koncentriranje proteina prisutnih u kompleksnim biološkim otopinama u srednjoj i maloj koncentraciji, i to pomoću monolitskih nosača ili standardnih kromatografskih stupaca. Uporabom vodenih otopina kao mobilne faze i kromatografskom separacijom u blagim uvjetima proteini se mogu izolirati i u nativnom, biološki aktivnom obliku. Svrha je ovoga rada bila upotrijebiti metodu SDC na nosačima velikog kapaciteta za izdvajanje proteina iz kompleksnih bioloških tekućina, poput ljudske plazme. Spajanjem triju ili više identičnih kromatografskih kolona u seriju tijekom nanošenja uzorka, a odvajanjem za vrijeme elucije vezanih proteina, omogućeno je jednostavno i brzo koncentriranje i razdvajanje komponenata uzorka, uklanjanje nečistoća te koncentriranje proteina prisutnih u uzorku u tragovima. Frakcioniranjem humane plazme dobivena je koncentrirana otopina serum albumina, odvojena od proteina zastupljenih u plazmi u srednjim i malim koncentracijama. Velik broj izdvojenih proteina identificiran je pomoću masene spektrometrije (ESI-MS/MS i MALDI-TOF/TOF-MS). U radu se raspravlja i o primjeni ovih stabilnih kolona, koje se mogu dezinficirati otopinom 1 M natrijevog hidroksida, za daljnju primjenu metode SDC u biotehnologiji i prehrambenoj tehnologiji.

Ključne riječi: kromatografija potiskivanja komponenata uzoraka, ionska izmjena, proteini plazme