تخلیص پروتئین با روش FPLC

چکیده:

تجزیه، تخلیص و شناسایی پروتئین‌ها، که هرکدام از آن‌ها وظیفه‌ی خاصی در بدن موجودات زنده برعهده دارند، در پیشرفت علوم زیستی، بیوتکنولوژی، پزشکی و صنعت دارو اهمیت خیلی زیادی پیداکرده‌است. برای تخلیص پروتئین‌ها ابتدا باید غشای سلول را تخریب و سپس محتویات داخل سلول را استخراج نمود. برای جداسازی پروتئین‌های موجود در محتویات داخل سلول از سایر اجزا، معمولا از روش رسوب دهی با نمک آمونیوم سولفات، فیلتراسیون و سانتریفیوژ استفاده می‌شود. برای خالص‌سازی پروتئین موردنظر و جداسازی آن از مخلوط پروتئینی به‌دست‌آمده می‌توان روش‌های متعددی از جمله الکتروفورز دو بعدی، انواع روش‌های کروماتوگرافی (مانند کروماتوگرافی تبادل یون، کروماتوگرافی اندازه طردی، کروماتوگرافی میل‌ترکیبی و کروماتوگرافی برهم‌کنش آبگریزی) استفاده نمود. این روش‌ها قدرت‌تفکیک زیادی دارند اما بسیار زمان‌بر هستند. برای رفع این مشکل، از روش کروماتوگرافی مایع با عملکرد سریع Fast Performance Liquid Chromatography استفاده می‌نمایند. این روش در سال ۱۹۸۲ در سوئد، توسط Pharmacia گسترش پیدا کرد و تجاری شد. به دلیل این‌که این روش بیشتر برای تخلیص پروتئین‌ها به کار می‌رود، آن را Fast Protein Liquid Chromatography نیز می‌نامند. روش FPLC، جداسازی پروتئین را در زمان بسیار کوتاه‌تر نسبت‌به سایر روش‌ها امکان‌پذیر می‌سازد. و با توجه به این‌که در صنعت، برای تخلیص پروتئین در مقیاس انبوه، پارامتر زمان بسیار اهمیت دارد، اخیرا این روش به شکل خیلی گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرد. از دیگر مزایای این روش، ساده بودن کار با سیستم FPLC و در عین حال مقرون به صرفه بودن آن از لحاظ اقتصادی است. قابل ذکر است که این روش همه‌ی انواع کروماتوگرافی را در بر می‌گیرد و در هر دو مقیاس تجزیه‌ای و تهیه‌ای قابل استفاده است. روش FPLC علاوه بر پروتئین‌ها برای تخلیص سایر بیومولکول‌ها مانند لیپوپروتئین‌ها، RNA و DNA نیز کاربرد دارد.

References:

ÄKTAFPLC SYSTEM MANUAL, Amersham Pharmacia biotech, Edition AB, 18-1140-45.

Protein purification handbook, Amersham biosciences, Edition AC, 18-1132-29.