

## 1. Wstęp

Konieczność rozdzielania makromolekuł pojawiła się wraz z rozwojem wiedzy na temat budowy materii. Szczególne w tym zakresie miejsce zajmują potrzeby podyktowane rozwojem wiedzy o materii ożywionej, ze względu na konieczność zachowania aktywności biologicznej izolowanych makrocząsteczek, niezbędnej dla dalszego postępowania poznawczego.

W najwcześniejszych pracach nad strukturą i składem komórek stosowano, z dużym powodzeniem, metody zaczerpnięte z laboratorium chemicznego, polegające na sekwencyjnej ekstrakcji wybranych związków chemicznych ze skomplikowanej mieszaniny wieloskładnikowej. Ekstrakcja wzbogacana była przez selektywne wytrącanie związków chemicznych (precypitację) oraz frakcjonowanie podziałowe. Metody te do dziś nie straciły swego znaczenia, choć na bazie ich osiągnięć rozwinęły się nowe techniki separacji makromolekuł, takie jak elektroforeza i chromatografia cieczowa. Techniki te dają doskonałe rezultaty zarówno w zakresie prac analitycznych jak i w skali preparatywnej, przy czym chromatografia cieczowa znacznie przewyższa techniki elektroforetyczne tak w skali procesu preparatywnego, jak i w zaawansowaniu technicznym i technologicznym. Aktualny stan wiedzy dotyczącej technik chromatografii cieczowej, w zakresie zastosowań do separacji biomolekuł, można znaleźć w doskonałej pracy zespołowej (1), redagowanej przez Jan-Christer Janson'a oraz Lars Ryden'a. Techniki elektroforetyczne opisane są również interesująco w wyżej cytowanej pracy oraz, znacznie szerzej, w monografii Reinerja Westermeiera (2), dotyczącej współcześnie stosowanych metod i technik elektroforetycznych.

Niniejsze opracowanie nie stanowi konkurencji w stosunku do cytowanych wyżej pozycji, ale w dużej mierze opiera się na zawartych tam informacjach. Jest próbą syntetycznego zebrania najważniejszych informacji o złożach i technikach stosowanych w chromatografii cieczowej oraz zilustrowania ich licznymi przykładami zastosowań, opartymi na opublikowanych metodach i wynikach badań. Przykłady te zostały tak pomyślane i przygotowane, aby nawet mało doświadczony badacz mógł w krótkim czasie powtórzyć eksperyment i w następnej kolejności poszerzyć go o dodatkowe aspekty, istotne dla prowadzonych przez niego badań. Jako dodatkowy element wspomagający rozwiązywanie rzeczywistych problemów badawczych, pozwalający praktycznie bez nakładów finansowych doskonalić strategię separacji biomolekuł, polecam prosty program komputerowy **The protein purifier** (3).

Jako podstawę do przeglądu aktualnie dostępnych źródeł i gotowych kolumn oraz podstawowego sprzętu do chromatografii przyjęto aktualny (na 1999 rok) katalog firmy Amersham Pharmacia Biotech.

Ilustracje prezentujące aparaturę i sprzęt stosowane w chromatografii cieczowej pochodzą z różnych materiałów promocyjnych firmy Amersham Pharmacia Biotech i reprodukowane są za jej zgodą. Nazwy własne produktów firmy Amersham Pharmacia Biotech zaznaczone są w tekście opracowania wytłuszczonym drukiem.

Chromatogramy i histogramy zawarte w niniejszym opracowaniu przygotowane zostały na podstawie przetworzonych komputerowo danych eksperymentalnych uzyskanych w rzeczywistych warunkach opisanych w poszczególnych przykładach.

W zakończeniu wstępu chcę podziękować Dyrektorowi polskiego przedstawicielstwa firmy Amersham Pharmacia Biotech, Panu Andrzejowi Reńskiemu, za zaproszenie do przygotowania tego opracowania, oraz dr Annie Janiak i dr Markowi Wełnickiemu za przeczytanie tekstu i cenne uwagi.

## **1.2. Literatura**

1. Janson J-C., Ryden L. – editors. Protein Purification - Principles, High Resolution Methods and Applications, 2<sup>nd</sup> edition, J. Wiley & Sons. Inc., New York 1988.
2. Westermeier R. Electrophoresis in Practice, 2<sup>nd</sup> edition, A Wiley company, Weinheim 1997.
3. The protein purifier – edukacyjny program komputerowy firmy Amersham Pharmacia Biotech.