

Protein-Analytik: Arbeitsblatt zum Aussalzen von Proteinen

(Chemische Fällungsreaktion)

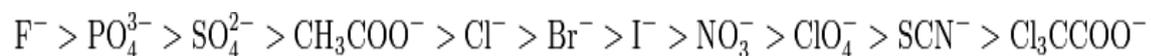
Salze beeinflussen die Löslichkeit von Proteinen maßgeblich. In geringen Konzentrationen bewirken sie eine Erhöhung der Löslichkeit von Proteinen.

Was ist der Einsalz-Effekt?

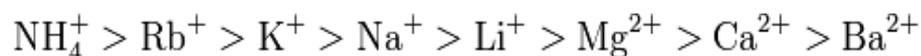
Erhöht sich die Salzkonzentration weiter, nimmt die Löslichkeit von Proteinen ab und es kommt zum Aussalzen der Proteine (Proteinaggregation). Dieser Effekt beruht darauf, dass nicht mehr genügend Wasser-Moleküle für die Lösung der Proteine (=Solvatisierung) verfügbar sind, damit erhöht sich die Wechselwirkung der Proteine untereinander und sie aggregieren.

Ist dieser Vorgang reversibel oder irreversibel? Begründe deine Antwort!

Durch die Hofmeister Reihe, lässt sich eine Aussage treffen, wie gut sich das jeweilige Salz als Fällungsmittel eignet.



Hofmeister Reihe Anionen



Hofmeister Reihe Kationen

Je weiter links ein Salz in der Hofmeister Reihe vorkommt, umso besser dient es als Fällungsmittel und ist äußerst schonend. Diese Salze nennt man antichaotrope oder komotrope Salze. Diese verstärken die hydrophoben Effekte in wässrigen Lösungen und fördern somit die hydrophobe Wechselwirkung, was zum Ausfall von Proteinen

führt. Die in den Hofmeisterreihen rechts stehenden und damit ungeeigneten Anionen beziehungsweise Kationen, nennt man chaotrope Salze. Chaotrope Salze wirken genau umgekehrt, das heißt sie mindern die hydrophoben Effekte.

In der Regel wird Ammoniumsulfat $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ zum Aussalzen verwendet.

Nenne einige Gründe warum gerade Ammoniumsulfat eingesetzt wird!

Da verschiedene Proteine bei verschiedenen Salzkonzentrationen ausfallen, lässt sich durch eine schrittweise Erhöhung der Konzentration und laufender Abtrennung der Proteinaggregate, die Konzentration eines bestimmten Proteins analysieren (=fraktionierte Fällung).

Versuch:

Für den nachfolgenden Versuch können die hier aufgelisteten Proben und deren Probenvorbereitung eingesetzt werden:

1. Vollmilch
2. Sojamilch
3. Molke
4. Suppenwürze (Suppenwürfel in warmen H_2O lösen und auf 100 ml auffüllen)
5. Eiklar (auf 100 ml mit ention. H_2O auffüllen und durch Faltenfilter filtrieren)
6. Tofu (zerkleinern)
7. Naturjoghurt

Chemikalien:

- Ammoniumsulfat $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (1 mol/l)
- Kupfersulfat CuSO_4 (5%ig)

Entsorgung: Ammoniumsulfat: normal

Kupfersulfat: Schwermetalle

Gefahrenhinweise für die einzusetzenden Chemikalien

| | |
|---------------------|---|
| Kupfersulfat |  |
|---------------------|---|

Geräte:

- Eprouvetten und Eprouvettenständer
- Kolbenhubpipette oder gewöhnliche Pipette mit Pipettierhilfe
- Spritzflasche

Durchführung:

1 ml der Probe (oder bei festen Proben einen halben Spatel voll mit ca. 2 ml ention. H₂O bedecken) wird mit 1 ml Ammoniumsulfat oder Kupfersulfat versetzt. Sofort zeigt die Probe eine Ausfällungsreaktion.

Tipps

Generell ist die genaue Probenmenge nicht ausschlaggebend. Sollte nach Zusatz von 1 ml Ammoniumsulfat oder Kupfersulfat keine Reaktion auftreten, kann man einen weiteren Milliliter hinzusetzen.

Ergebnis und Interpretation: