

Protein-Analytik: Arbeitsblatt zur Fällung durch organische Lösungsmittel

Welche organische Lösungsmittel werden zur fraktionierten Fällung von Proteinen verwendet und welche Eigenschaften besitzen sie?

Wie wirken sie auf Proteine?

Prinzip:

Das Prinzip beruht wie auch beim Aussalzen darauf, dass jedes Protein bei einer definierten Konzentration des Lösungsmittels in wässriger Lösung ausfällt. Die Fällung mit Organischen Lösungsmitteln führt jedoch oft auch zu einem Aktivitätsverlust der Proteine, da es die Eigenschaft besitzt, diese partiell zu entfalten. Temperaturen über 10 °C verstärken diesen Effekt und fördern somit die Denaturierung des Proteins. Deshalb ist zu beachten, dass die Fällung nur bei niedrigen Temperaturen durchgeführt wird und aufgrund der sich bildenden Reaktionswärme, sollte das Lösungsmittel auch nur tropfenweise zugegeben werden.

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 H₂O lösen und auf 100 ml auffüllen)
5. Eiklar (auf 100 ml mit ention. H₂O auffüllen und durch Faltenfilter filtrieren)
6. Tofu (zerkleinern)
7. Naturjoghurt

Chemikalien:

- Ethanol (50%ig)

Entsorgung: normal

Gefahrenhinweise für die einzusetzenden Chemikalien

Ethanol	
----------------	---

Geräte:

- Epruvetten und Epruvettenständer
- 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 Ethanol versetzt. Sofort zeigt die Probe eine Ausfällungsreaktion.

Tipps

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

Ergebnis und Interpretation: