

Protein-Analytik: Arbeitsblatt Isoelektische Fällung

Was ist der Isoelektrische Punkt (=IEP) und was geschieht mit Proteinen wenn sie diesen erreichen?

Je nach Protein schwankt der IEP äußerst stark. Die folgende Tabelle zeigt einige Beispiele:

Verschiedene Proteine mit ihren IEP

Protein	IEP
Pepsin	1,0
Collagen	6,7
Myoglobin	7,0
Hämoglobin	7,07
Ribonuclease	9,6
Cytochrom C	10,6
Lysozym	11,8

Allgemeines: Fällung mit Säure Trichloressigsäure

Diese Art der Präzipitation beruht darauf, dass das Ladungsverhältnis der Proteine verändert wird. Durch den Einsatz von Trichloressigsäure kommt es zur Bildung von ausschließlich positiven Ladungen, während die negativen Ladungen am Proteinmolekül verschwinden. Diesen Vorgang nennt man Protonierung. Eine irreversible Denaturierung ist die Folge.

Durch eine Zugabe von 10%iger TCA-Lösung lassen sich fast alle Proteine fällen. Diese Methode ist sehr schnell, einfach und dient häufig dazu, um Proteine für die SDS-Page aufzukonzentrieren.

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:

- Trichloressigsäure CCl₃COOH (0,3 mol/l)
- Trichloressigsäure CCl₃COOH (10%ig)

Entsorgung: normal

Gefahrenhinweise für die einzusetzenden Chemikalien

Trichloressigsäure	
---------------------------	---

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 Trichloressigsäure (0,3mol/l) beziehungsweise Trichloressigsäure (10%ig) versetzen. Bei positiven Proben zeigt sich sofort eine irreversible Ausfällungsreaktion.

Tipps

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

Ergebnis und Interpretation: