

Kemi - Proteinoprensning

7/2 - 2008

Saltfældning:

- proteiner har forskellig opløselighed i forskellige saltkoncentrationer.
- Man kan lave en fraktioneret fældning af f.eks. 10%, 20% og 100%.
- $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
- Proteinerne denaturerer ikke og genopløses i en buffer

Man får et "bundfald" af opløsning med proteinet. Der er for høj saltkoncentration, så man laver en dialyse.

Dialyse

Opløsningen med proteinet kommer i en slange, hvori der er porrer, som har en størrelse, der gør at proteinet ikke kan komme ud. Slangen "skylles" i forskellige buffere, som fjerner affaldsstoffer trin for trin. Slangen skal så stå natten over i bufferen med magnetomrøring på.

I praksis udskiftes den buffer, proteinet er opløst i med en ny.

Kromatografi

En søjle/kolonne pakket med et materiale der selektivt tilbageholder molekyler med forskellige egenskaber.

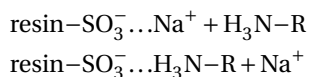
1. Kolonnen gennemskylles med buffer.
2. Opløsningen placeres i toppen af kolonnen og vaskes gennem kolonnen med en buffer.
3. Proteinet vil bindes til kolonnen.
4. Proteinet opsamles i fraktioner.

Praktisk: vi laver en hjemmelavet kolonnen af en engangssprøjte, med et filter i bunden, der skal holde bærematerialet tilbage. Bærematerialet binder så aktive grupper. I dette tilfælde vil vi bruge cellulose.

ionbytter med negativ gruppe = kationbytter

ionbytter med positiv gruppe = anionbytter

I kolonnen sker følgende:



De positive ioner fanges i ionbytteren. Eluering med buffer.

Gelfiltrering

- adskiller proteiner efter størrelse og form.
- lang vandring for små molekyler
- kort vandring for store molekyler

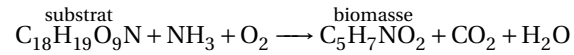
Udbytte

$Y = \text{Udbytte konstant} \sim Y_{x/S}$

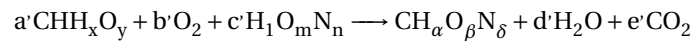
$$Y_{Obs} = \frac{\Delta X}{\Delta S}$$

$$Y = 0,4 - 0,5$$

Lav værdi: ophobning af metabolitter eller lav vækst **eksempel**



$$Y_{\text{obs}} = \frac{b \cdot M_{\text{biomasse}}}{a \cdot M_{\text{substrat}}} \Rightarrow 0,5 = \frac{b \cdot M_{\text{biomasse}}}{1 \cdot M_{\text{substrat}}} \Rightarrow b = 1,74$$



$$\text{C: } a' = 1 + e'$$

$$\text{H: } a'x = c'1 = \alpha + 2d'$$

$$\text{O: } a'y + 2b' + c'm = \beta + d' + 2e'$$

$$\text{N: } c'n = \delta$$
