

Stundenprotokoll vom Donnerstag, 11. April 2002

Es fehlen: keine

Kurztest zurückbekommen.

Besprechen der Hausaufgabe, Flussschema zur ADH-Isolierung (Zettel bekommen wir noch)

Fehler auf dem Zettel:

Feine Zelltrümmer und gelöste Bestandteile

Eisbad statt Zentrifugation

Zur Hitzedenaturierung: bei 55°C bleibt ADH in Lösung. Andere Eiweiße fallen dann aus. Durch das Abkühlen bleibt das Eiweiß erhalten. Bei Raumtemperatur zersetzen sich die Eiweiße langsam, deswegen werden sie im Kühlschrank aufbewahrt, nahe am Gefrierpunkt. Jedoch darf es nicht zu kalt werden, da sonst die Eiskristalle die Tertiärstruktur verändern.

Warum sind bestimmte Eiweiße bei bestimmter Acetonkonzentration löslich und andere nicht?

Siehe Protokoll Mo080402: Aussalzen.

Der positive Teil von Aceton ist gegenüber von Wasser mehr abgeschirmt. Beim Wasser ist der positive Teil besser zugänglich.



Schwächerer Dipol,
weil ΔEN kleiner ist (3,5-2,5=1)

Stärkerer Dipol,
weil ΔEN groß ist (3,5-2,1=1,4)

Aprotisch polares Lösungsmittel

Dipolcharakter

Protisch polares Lösungsmittel

Unpolare Stoffe lösbar
(über Kohlenwasserstoffrest, CH_3 :
London-WW)

Wasserstoffbrücken mit anderen
Dipolen

Können keine Ionen (Salze) lösen
Der Kohlenwasserstoffteil
verhindert dies.

Salze hiermit lösbar

Die einzelnen Proben sind zur Kontrolle da, damit man sicher sein kann, dass man überhaupt noch das richtige Endprodukt erhalten kann. Sonst würde man erst nach langer Arbeitszeit am Ende feststellen, dass man unterwegs das Eiweiß z.B. zerstört hat und am Ende nichts erhält.

Durch die Dialyse wird das Aceton rausgeholt, damit das gefällte ADH zurück in die Lösung kann.

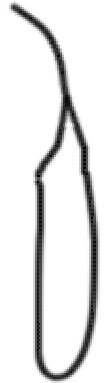
Ei, Ei – Eiweißanalyse

Quelle: Eiklareiweiß

1. Schritt: Hydrolyse

Eiklarlösung mit 2 mol/l HCl (aq) in Reagenzglas einschmelzen und über Nacht bei 100°C inkubieren.

Zur Hydrolyse: ein bisschen Lösung in Reagenzglas und dazu kommen zwei daumenbreit Salzsäure. Zwei Bunsenbrenner im Kreuzfeuer aufstellen und dann das obere Ende des Reagenzglases reinhalten, damit es ganz heiß wird und glüht. Um ein Abknicken des weich gewordenen Glases zu vermeiden, das Ende mit einer Zange halten. Beim Erhitzen immer drehen und wenn das Glas ganz flüssig geworden ist, ganz langsam mit der Zange daran ziehen, damit der obere Teil zu einem Zipfel wird und der Inhalt verschlossen ist.



Reaktion: Säurekatalysierte Spaltung der Peptidbindung, was eine hohe E_A erfordert, deswegen bei 100°C.

Wegen zu geringer Protonkonzentration (2 molar verwendet, statt 4 molar) bleiben einige Peptide erhalten.

Zettel: „Chromatographie“

HA: Zettel lesen