Flußschema zur Alkoholdehydrogenase-Isolierung aus Bäckerhefe

gefriergetrocknete Bäckerhefe

Suspension, Inkubation — Wasseraufnahme der Zellen

lebende Bäckerhefe

Inkubation Zimmertemp. — Autolyse, Selbstzerstörung

zerteilte Bäckerhefe

Zentrifugation — Niederschlag verwerfen, grobe Zelltrümmer

feine Zelltrümmer und gelöste Bestandteile

Zentrifugation — Niederschlag verwerfen, feine Zelltrümmer

gelöste Zellbestandteile

Hitzeschritt und Zentrifugation — Hitzedenaturierung hitzeinstabile Proteine entfernt

hitzestabile gelöste Zellbestandteile

erste Acetonfällung — Entfernung der bei 0-50 % unlöslichen Zellmoleküle

50%-acetonlösliche Zellbestandteile-Fraktion

zweite Acetonfällung — Fällung der Proteine, die bei 50-55% Aceton unlöslich sind

50-55%-acetonunlösliche Zellbestandteile-Fraktion

Dialyse — entfernt Aceton, löst Protein

gelöste, separierte Zellbestandteile

erste Ammoniumsulfatfällung — fällt Proteine, die bei 0-36 % unlöslich sind

0-36%-unlösliche Ammoniumsulfatfraktion

Verdünnung, ca 1:50 — löst die meisten Proteine

gelöste Ammoniumsulfatfraktion

zweite Ammoniumsulfatfällung, Zentr. — entfernt Proteine 0-30 % und amorphe Proteine

Fremdprotein-freie Ammoniumsulfatfraktion

dritte Ammoniumsulfatfällung — fällt ADH in 30 - 36 %

30-36%-unlösliche Ammoniumsulfatfraktion

©Dr. Schäffler/Che/LK/Biochemie/Proteine/Isolierung