

Methoden zur Reinigung und Analyse von Proteinen (und Nukleinsäuren)

	Strukturerhaltung	Zweck	Wann angewendet?	Prinzip	Sonstiges
Proteinfractionierung	Mit $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \rightarrow$ nativ	Reinigung, Anreicherung Enzymaktivität	Meist 1. Methode	Trennung nach Löslichkeit	Salting out entzieht Proteinen Hydrathülle \rightarrow Ausfallen
Ionenaustauschchromatographie	Nativ	Auftrennung auch für Nukleotide	Häufig 2. Methode	Trennung nach Ladung (abh. Von pH/ Ionenstärke d. Lsg.)	Anionentauscher: pos. geladene zuerst eluiert Kationentauscher: neg. zuerst
Gelfiltration	Nativ	Reinigung \rightarrow MW-Bestimmung	Späte Anwendung \rightarrow Verdünnung	Trennung nach: Stokescher Radius \rightarrow MW	Große Proteine zuerst eluiert
Elektrophorese Proteine	SDS \rightarrow denaturierend	Analyse, MW-Bestimmung	Spät, da sonst zuviele Banden. Meist gereinigtes Protein	Trennung nach Ladung \rightarrow MW	Polyacrylamid/SDS
Elektrophorese Nukleinsäuren	Nativ/ Denaturierend	Restriktionskarte, Auftrennung		Trennung nach Ladung \rightarrow MW	DNA: Agarose/nativ RNA: Agarose/Formaldehyd
IEF	Nativ, membrangebunden	Analyse, IEP-Bestimmung, Modifikationen eines Proteins	Spät, wenig Aussage	Trennung nach IEP (PI)	Kathode (basisch) -- Anode (sauer) +
ELISA	Nativ, membrangebunden	Antigen(Protein)-Nachweis \rightarrow Quantifizierung	Einfache, schnelle, billige Methode	Antikörper-Spezifität	Nachweis über an AK gebundenes Enzym
Dot-Blot	Nativ, membrangebunden	Antigen(Protein)-Nachweis \rightarrow ohne Quantifizierung		Antikörper-Spezifität	
DC	Struktur bleibt erhalten	Auftrennung, Anreicherung	Auftrennung Pigmente, Lipide	Polare Wechselwirkungen mit Kieselsäure (Silicagel)	Keine Proteine
Radioaktivität	Struktur bleibt erhalten	Aufklärung von Prozessen z.B. Stoffwechsel, Replikation, Biosynthesewege	???	Markierung eines Substrates \rightarrow Messung in Produkten	Proteine ^{131}I , ^{35}S Nukleinsäuren ^{32}P , ^{33}P , ^{35}S Kohlenwasserstoffe ^3H , ^{14}C
Enzymkinetik	Nativ	Bestimmung Enzymaktivität, Enzymverhalten	Kontrolle der Reinigungsschritte	Umsetzung einer chem. Reaktion	Feststellung Inhibitortyp

pH > IEP \rightarrow Anion –

pH < IEP \rightarrow Kation +