



Arbejdsspørgsmål

Oprensning og analyse af proteiner

Baseret på side 47-64

Side 47-50 – Generel karakteristik af proteiner

1. Kom med eksempler på proteiners anvendelse i bioteknologiske sammenhænge.
2. Forklar hvorfor det er vigtigt at kunne oprense og analysere proteiners struktur.
3. Hvilken masseenhed anvendes for proteiner, og hvilken sammenhæng er der mellem denne og et proteins molare masse?
4. Hvad afgør et proteins nettoladning? Inddrag figur 53.
5. Hvordan defineres det isoelektriske *punkt* for et protein?

Side 50-54 – De indledende oprensningstrin

6. Hvad vil det sige at lysere en celle?
7. Forklar ved hjælp af figur 54 hvordan lysozym ødelægger bakterieceller.
8. Forklar ved hjælp af figur 55 hvordan opløsningsmidlet Triton-X-100 kan ødelægge cellemembraner.
9. Forklar ved hjælp af figur 56 princippet i gradientcentrifugering, og hvad der opnås ved denne metode.
10. Forklar ved hjælp af figur 57 princippet i fældning af proteiner ved hjælp af salt.
11. Forklar ved hjælp af figur 58 hvordan man kan oprense proteiner ved hjælp af *dialyse*. Inddrag begrebet osmose i forklaringen.

Side 54-60 – Søjlekromatografi

12. Forklar begreberne *stationær* og *mobil fase* i forbindelse med kromatografi.
13. Forklar hvilken betydning fordelingsforholdet D har for et stof i forbindelse med kromatografi.
14. Forklar det generelle princip i søjlekromatografi ved hjælp af figur 59.
15. Hvad er det særlige ved *gelfiltrering*? Inddrag figur 61.
16. Forklar princippet i *ionbytningskromatografi*, herunder hvad forskellen er på en *kationbytter* og en *anionbytter*. Inddrag figur 62 og 63.
17. Forklar princippet i *hydrofob interaktionskromatografi (HIC)*. Inddrag figur 64.
18. Hvad er den grundlæggende kemiske forskel på de stoffer som kan oprenses ved hjælp af hhv. ionbytningskromatografi og HIC?
19. Forklar princippet i *affinitetskromatografi*, herunder funktionen af en ligand. Inddrag figur 66.
20. På hvilken måde adskiller HPLC sig fra de øvrige søjlekromatografiske metoder?



Side 60-64 – Proteinelektroforese

21. Forklar hvorfor stoffet *polyacrylamid* anvendes til proteinelektroforese frem for agarose.
22. Hvilken funktion har stoffet *SDS*? Inddrag figur 71 og 72.
23. Hvilken funktion har stofferne 2-mercaptoethanol og dithiothreitol? Inddrag figur 73.
24. Hvilke informationer får man om et protein ved hjælp af *SDS-PAGE*? Inddrag figur 74.
25. Hvad er forskellen på *SDS-PAGE* og *native PAGE*? Inddrag figur 75 og 76.
26. Forklar princippet i *isoelektrisk fokusering (IEF)*. Inddrag figur 77.
27. Hvad kan *2D-PAGE* anvendes til?