

Separation mha laddning

- alla proteiner har ett pH där de är neutrala - **isoelektrisk punkt.**

$pH > \text{isoelektrisk punkt} \rightarrow \text{lågre pH}$

$pH < \text{---} \text{---} \text{---} \text{---} \rightarrow \text{högre pH}$

Separation med ultracentrifugering

- provet centrifugeras i en lösning med densitetsgradient.
 \rightarrow proteiner separeras beroende på densitet, massa & form
= sedimentationskoefficient.

Elektrofores - fores = migrering

SDS - rätar ut protein

- tar bort laddning \rightarrow separation måste ske mha storlek.

Markörer med kända storlekar för att få referenser.

Isoelektrisk fokusering

- använder gel med pH-gradient
- använder proteinernas isoelektriska punkt.
- proteinerna vandrar genom gelen tills de når sin isoelektriska punkt (de är oladdade)

kan kombineras med en SDS-page-gel \rightarrow 2D-gel.



Masspektrometri

- acceleration av protein i elektriskt fält är proportionell mot förhållandet mellan proteinets massa/laddning
- Väldigt känslig metod → lite protein krävs för att göra analys.
- Enzym används för att klyra protein i peptidkedjor
Kedjornas fingeravtryck jämförs med kända fingeravtr. från databas

Immunologiska metoder

- Antikroppar kan identifiera vilket protein/kolhydrat som helst.
→ kan användas för att studera protein.

Antigener binder till antigen.

- polyklonala binder till flera delar (epitop) av antigen.
- monoklonala ——— " ——— en del (epitop) ——— " ———

ELISA - Enzyme Linked Immunoabsorbant Assay

Strukturbestämning av protein

1. Röntgenkristallografi

- mkt protein kristalliseras mha ammoniumsulfat. Ammoniumsulfat binder till vatten \rightarrow proteinet kristalliseras.
- Bra upplösning
- Kan studera stora molekyler.

2. NMR.

- protein i lösning = bra för att proteinet är i sin "naturliga" miljö. Olika konformationer kan studeras.
- kräver mycket datorkraft
- sämre upplösning