

Pracovní list Aminokyseliny a proteiny – laboratorní cvičení**ÚKOL: Testování rozpustnosti albuminu v závislosti na koncentraci síranu amonného**

Rozpustnost proteinů ve vodě závisí na tzv. solvatačním obalu – vrstvě molekul vody a iontů, které obklopují protein. Tento obal vzniká díky elektrostatickým silám mezi polárními částmi proteinu a molekulami vody tvořící dipóly. Při přidávání soli do roztoků bílkovin se jejich rozpustnost obvykle nejprve zvyšuje (tzv. vsolovací efekt), dosáhne maxima a pak klesá (vysolovací efekt). Během vsolování ionty soli vytvářejí obal kolem nabitých skupin proteinu, čímž snižují jejich vzájemné odpuzování a zvyšují interakci s vodou. Další přídavek soli zmenšuje solvatační obal a snižuje dostupnost vody, což vede ke snížení rozpustnosti. Rozpustnost závisí na typu proteinu, druhu soli a pH. Nejnížší je v izoelektrickém bodě, tedy při pH, kdy má protein celkově neutrální náboj. V tomto online laboratorním cvičení virtuálně připravíte sérii roztoků síranu amonného o různé molaritě a použijete je ke zkoumání, rozpustnosti sérového albuminu.

Nejprve vypočítejte, jak připravit roztoky síranu amonného o různé molaritě:

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (mol/l)	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (g)	H_2O (ml)
1		10
2		10
3		10
4		10
5		10

$M_r((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4): 132.1 \text{ g/mol}$

Pracovní postup:

- Příprava roztoku albuminu: rozpustíte 15 g albuminu ve 100 ml vody.
- Napipetujete 5× 10 ml roztoku do označených zkumavek S1 až S5.
- Do každé zkumavky přidejte 10 ml připraveného roztoku síranu amonného
- Promíchejte, inkubujte 10 minut, centrifugujte.
- Odeberte pipetou supernatant a zvažte vysrážený albumin (po vysušení).

Naměřené hodnoty jsou uvedeny v tabulce:

Koncentrace $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ v zásobním roztoku (M)	Koncentrace $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ve zkumavce (M)	Albumin přidaný (g)	Albumin v supernatantu (g)	Albumin vysrážený (g)	Podíl vyprecipitovaného albuminu (%)
1				0.02	
2				0.28	
3				1.08	
4				1.26	
5				1.45	

Vytvořte graf:

x-ová osa: koncentrace $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (M)

y-ová osa: množství albuminu v supernatantu (g)

Závěr

1. Při jaké koncentraci síranu amonného začíná albumin významně precipitovat?
2. Při jaké koncentraci se precipitace blíží maximu?
3. Popište mechanismus vysolování albuminu.

Shrnutí: struktura a funkce albuminu

4. Popište strukturu sérového albuminu:
5. Jaká je normální koncentrace albuminu v krevní plazmě?
6. Vyjmenujte tři hlavní fyziologické funkce albuminu: