

C6200–Biochemické metody

^{14}C _MĚŘENÍ RÝCHLÝCH REAKCÍ

Petr Zbořil

Rychlé děje

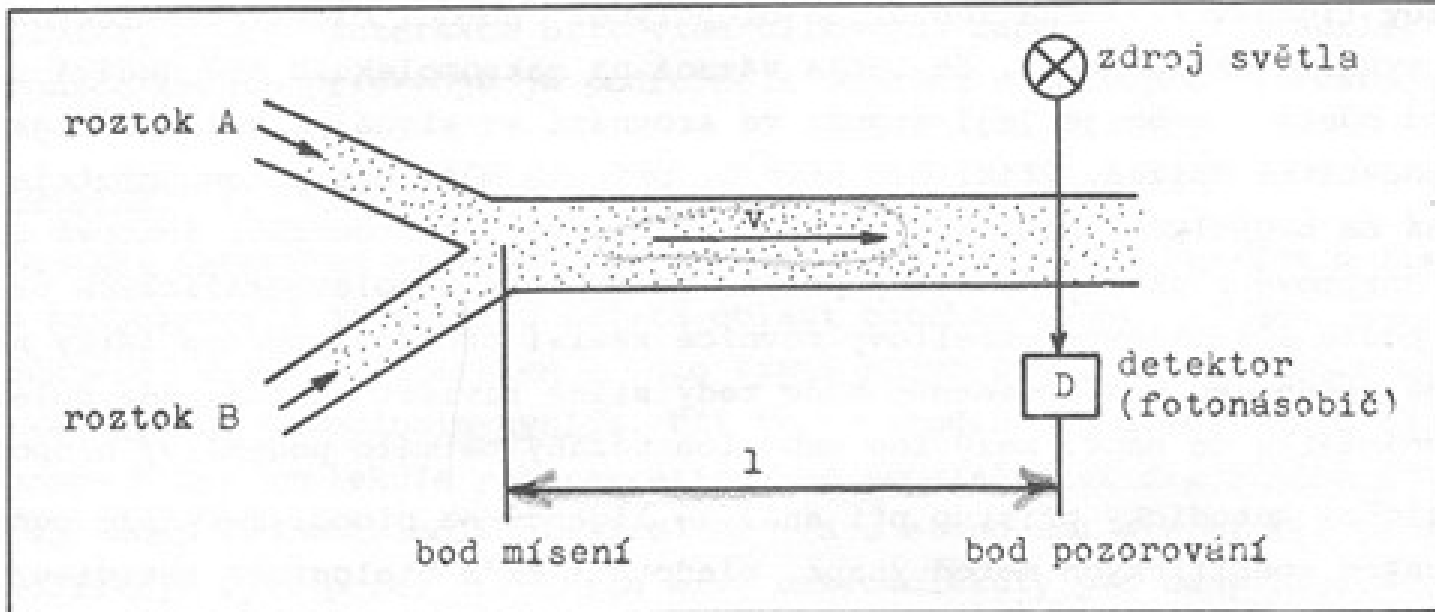
- Problém zaznamenání dat
- Série měření v intervalu s
- Rozdíly ca ms

Monitorování rychlých reakcí

- Rychlé smíchání – mixer, turbinka
 - Kontinuální tok
 - Dlouhodobě probíhající reakce
 - Parametry konstantní v místě = udržují se průtokem
 - Registrace dlouhodobá
 - Velká spotřeba materiálu
 - Zastavený tok
 - Změna parametrů v čase
 - Rychle reagující detektory – záznam dat
 - Menší spotřeba materiálu

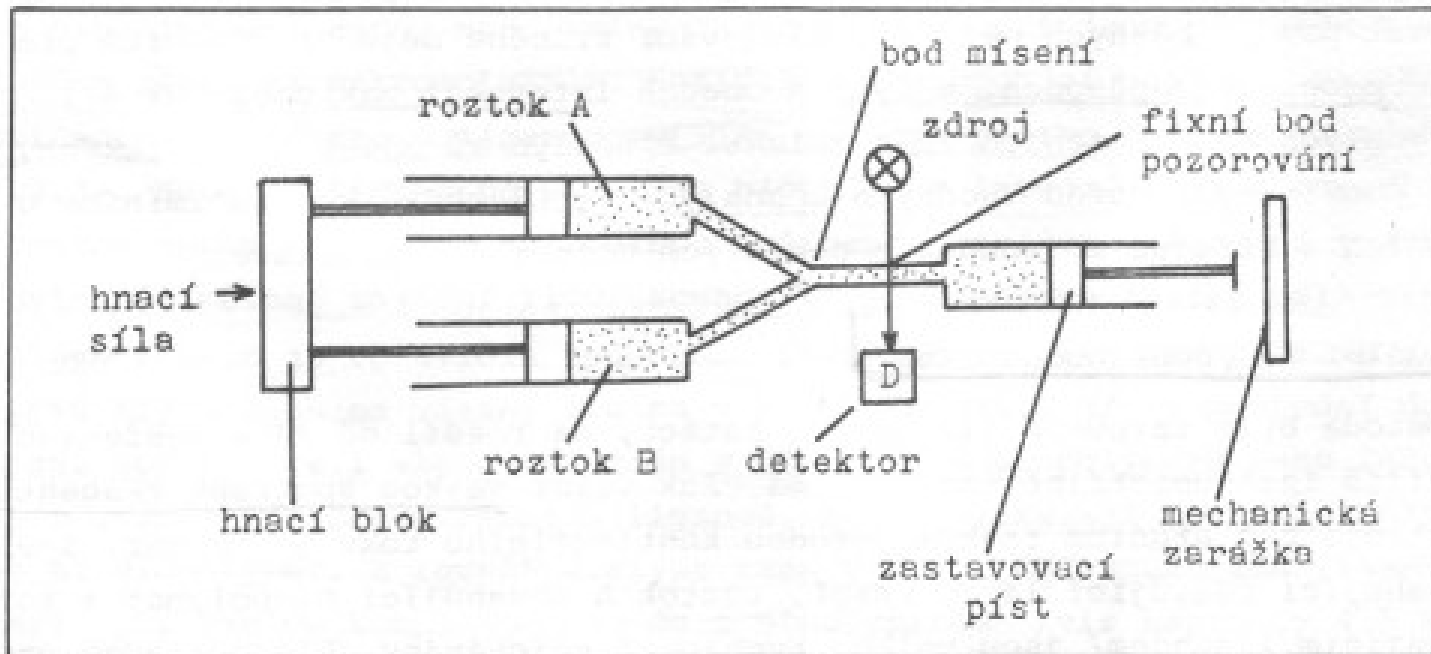
Kontinuální tok

- Místo smíchání reaktantů – $t = 0$
 - $t_i = l/v$, $v = w/S$ – kapilára – vyšší v
 - Detektor se přemísťuje



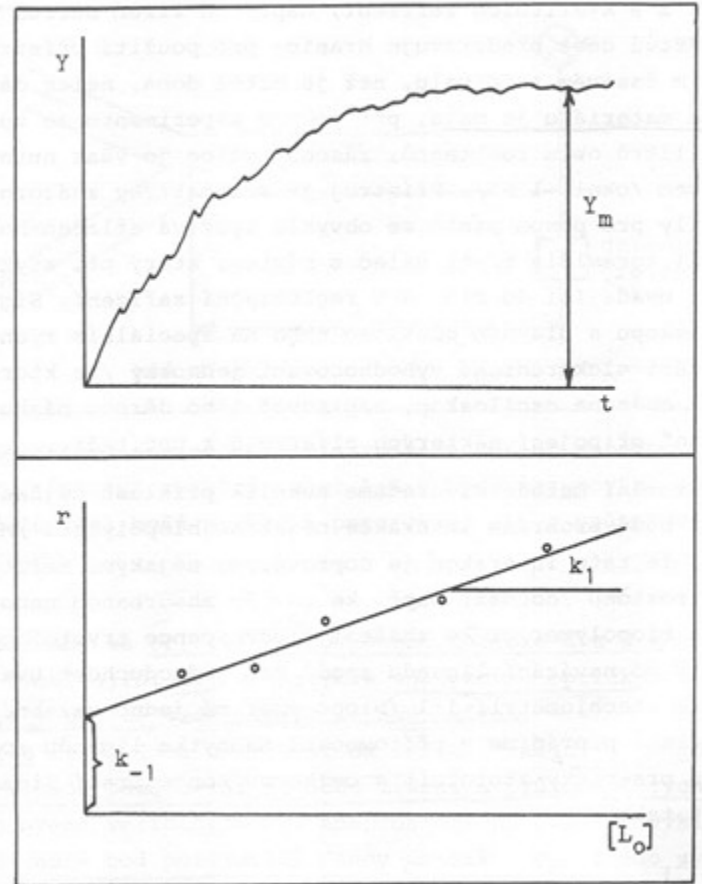
Zastavený tok

- „Stopped flow“
 - Rychlá injekce reaktantů (pneumatický náraz)
 - Zastavení toku zářezkou
 - Rychle reagující detektor (vč. pH apod.) a záznam dat



Užití

- Prestacionární kinetika
 - Enzymové reakce – k
 - Disociační pochody – k
 - Vazebné studie – koenzymy apod.
- $Y = f(t)$ – příklad vazby
 - $Y = Y_m(1 - e^{-rt}) \rightarrow r$ pro řadu $[L_0]$
 - $L_0 =$ volný ligand
 - $r = k_{-1} + k_1[L_0]$



Relaxační techniky

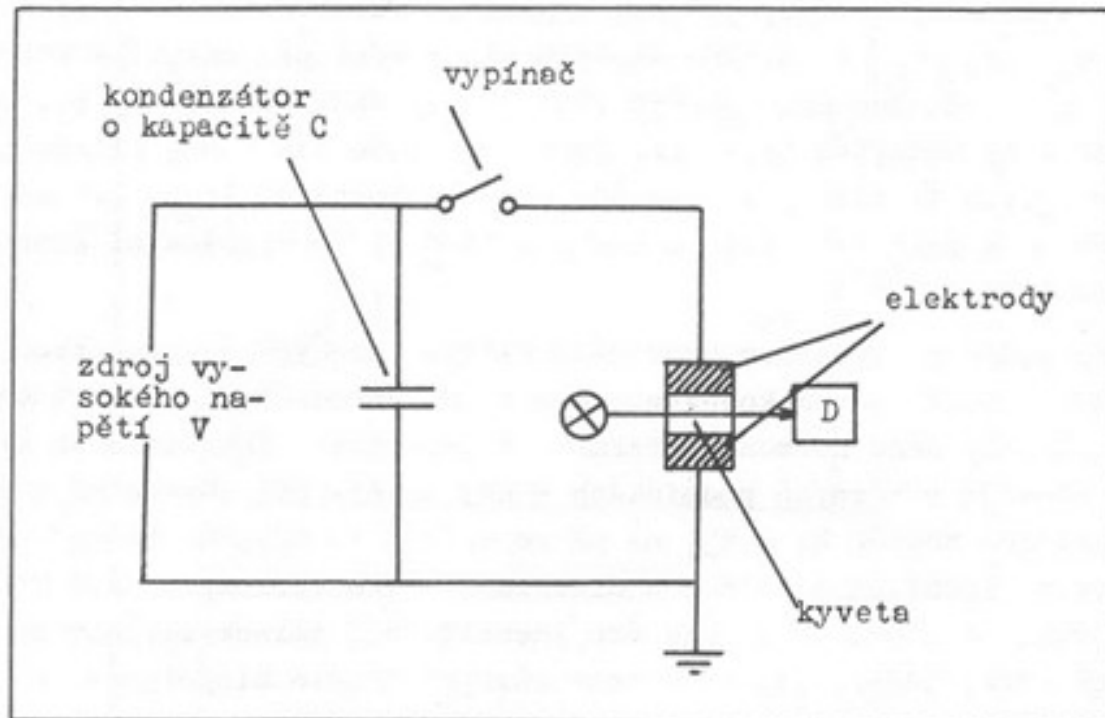
- Přejchod z S_1 do S_2
 - $Y = \sum_{i=1}^m a_i \cdot e^{-b_i t}$
 - m – počet forem, stavů
 - např. E, S, ES
 - Ag, Ab, AgAb
 - M_f , L_f , L_b
 - a – konstanta složky - příspěvek
 - b – relaxační konstanta

Relaxační techniky

- Změna relevantního parametru
 - Perturbace směsi
 - Rychlá změna T , p
 - Teplotní skok
 - Tlakový skok
 - Změna složení směsi – nová rovnováha
 - Klasicky stanovení parametrů v rovnováze
 - Rychlé měření během přechodu

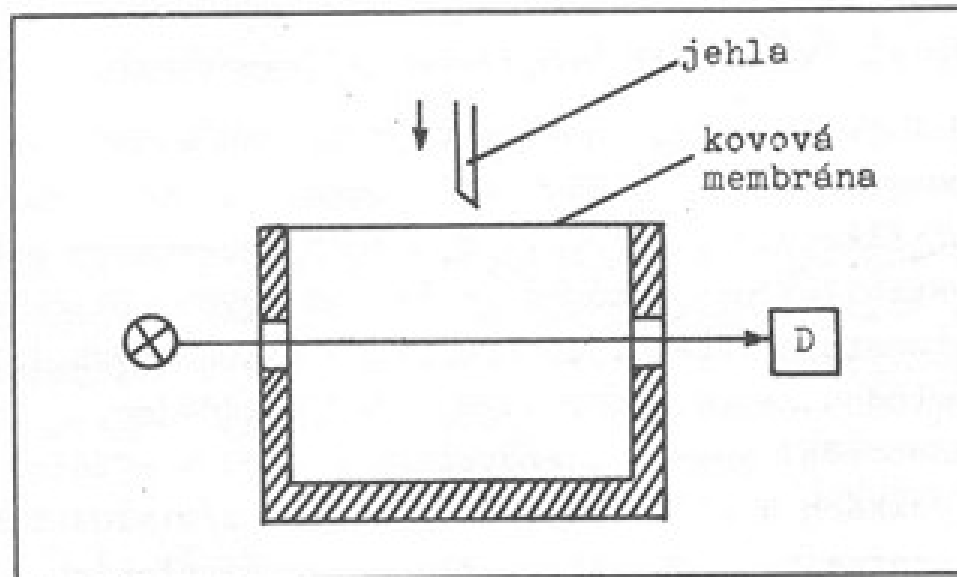
Teplotní skok

- Rychlá změna teploty
 - Výboj kondenzátoru – dodání tepla
- Biochemicky významné



Tlakový skok

- Změna tlaku
 - Dekomprese – rychlé uvolnění jehlou
- Několikanásobky atm. tlaku



DĚKUJI ZA POZORNOST