

C6200–Biochemické metody

# 12\_URČOVÁNÍ VELIKOSTI A TVARU

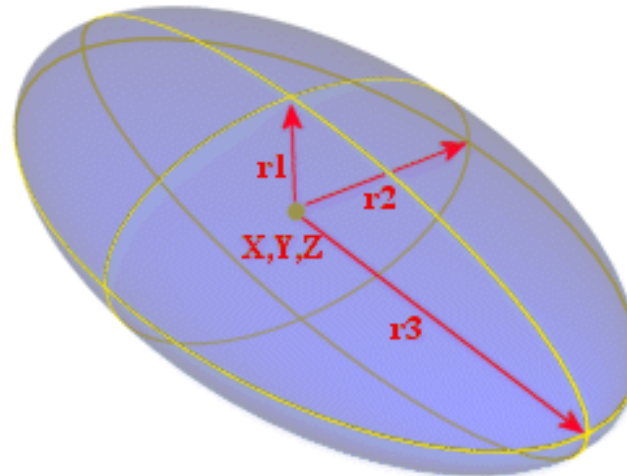
Petr Zbořil

# Možnosti

- Struktura makromolekul – od primární po kvarterní
  - Chemické metody stanovení primární struktury – sekvenace
  - Vyšší strukturní úrovně – fyzikální (fyz. chem.) metody
  - V pevném stavu RTG analýza
    - absolutní metoda
    - v roztoku – vliv hydratace, iontů, asociace atd.
  - hydratační voda –  $0,3 \text{ dm}^3 \cdot \text{kg}^{-1}$  u bílkovin,  $0,5$  u NK
- Stanovení  $M_r$  různými metodami – rozdíly  $\Rightarrow$  lze posoudit vlivy prostředí

# Tvar částice (molekuly)

- Těleso o 3 rozměrech obecně – 3 osy
- Tvar rotačního elipsoidu
  - pouze 2 osy  $\Rightarrow$  2 jsou stejné
    - $r_1 = r_2 < r_3$  rotace kolem  $r_3$  – prolátní – doutníkový
    - $r_1 < r_2 = r_3$  rotace kolem  $r_1$  – oblátní – diskový
    - $r_1 = r_2 = r_3$  koule



# Určení velikosti a tvaru

- Aplikace metod separačních a analytických
  - Jinde probrané – obecnější (elfo, chromatografie, NMR)
  - Speciální – viz dále
- Metody statické – rovnovážné
  - Určení rovnovážné hodnoty měřením – výpočet z termodynamického vztahu
- Metody (hydro)dynamické
  - Sledování pohybu nebo orientace molekul vlivem vnější síly – výpočet z kinetického vztahu

# Metody statické – rovnovážné

Metoda	Měřená veličina - vypočtený parametr	
Osmometrie	$\Pi$	$M_r, B$
Rozptyl světla	$R_g$	$M_r, B$
RTG rozptyl v malých úhlech	$R_G$	tvar
Sedimentační rovnováha	$dc/dx$	$M_r$

Metoda	Měřená veličina - vypočtený parametr
Sedimentační rychlost	$dx/dt$ $s, M_r$
Difusimetrie translační	$D$ $M_r, V$
difusimetrie rotační	$\Theta$ $a/b$
MS	$m/z$ $M_r$
viskosimetrie	$\eta_{sp}$ $M_r, B, v$