

C6200–Biochemické metody

12_URČOVÁNÍ VELIKOSTI A TVARU

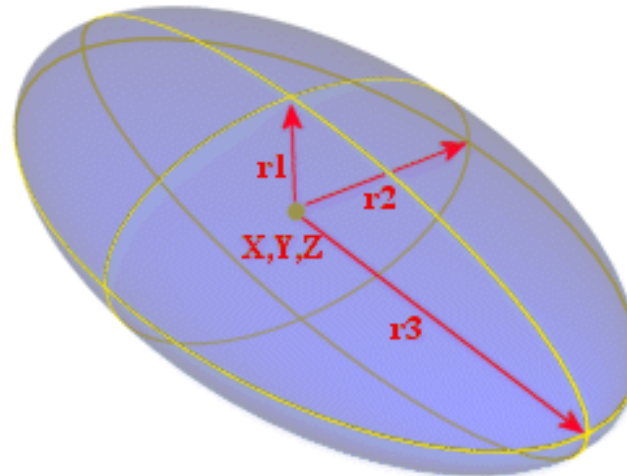
Petr Zbořil

Možnosti

- Struktura makromolekul – od primární po kvarterní
 - Chemické metody stanovení primární struktury – sekvenace
 - Bílkoviny – Edmanova, NA – Sangerova aj., propojení
 - 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 aplikace (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	Π	M_r, B
Rozptyl světla	R_g	M_r, B
RTG rozptyl v malých úhlech	R_G	tvar
Sedimentační rovnováha	dc/dx	M_r

Metody dynamické

Metoda	Měřená veličina - vypočtený parametr
Sedimentační rychlost	dx/dt s, M_r
Difusimetrie translační	D M_r, V
Difusimetrie rotační	Θ a/b
MS	m/z M_r
Viskosimetrie	η_{sp} M_r, B, v