

9. Fotometrie

1. Vypočítejte hodnoty absorbance pro následující hodnoty prošlého světla v % (tj. transmitanci $T = I/I_0 \cdot 100\%$):

a) 95 b) 88 c) 71 d) 50 e) 17,5 f) 1,0

2. Isolujete látku A (mol.abs.koefficienty $\epsilon = 5248$ při 260 a 3150 při 280 nm) pomocí reagentu B ($\epsilon = 311$ při 260 a 350 při 280nm). Výsledný preparát má $A_{260} = 2,50$ a $A_{280} = 2,00$.

Jaká je koncentrace A?

4. Roztok sloučeniny A má $A_{260} = 0,45$ a $A_{450} = 0,03$, roztok sloučeniny B má $A_{260} = 0,04$ a $A_{450} = 0,81$. Směs 2 ml roztoku A + 1 ml roztoku B má $A_{260} = 0,30$ a $A_{450} = 0,46$.

Existuje interakce mezi A a B? Jaký předpoklad musí být splněn?

3. 3 ml směsi NAD^+ a NADH v 1 cm kyvetě měly $A_{340} = 0,207$ a $A_{260} = 0,900$. Vypočtěte molární koncentrace NAD^+ a NADH , jsou-li hodnoty $\epsilon_{340} = 6,22 \cdot 10^3$ pro NADH a 0 pro NAD^+ , $\epsilon_{260} = 18 \cdot 10^3$ pro obě formy.

5. Spektrum bílkoviny bylo snímáno diferenčně v přítomnosti 20% sacharosy a 20% dimetylsulfoxidu. V sacharose byla absorbance nulová pro všechny vlnové délky, po zahřátí vzorku na 60 °C se objevilo maximum odpovídající Try. Jeho výška odpovídala koncentraci 8 mol Try / mol bílkoviny. V dimetylsulfoxidu bylo získáno spektrum typické pro Try, po zahřátí na 60 °C se výška píku zdvojnásobila. Co lze říci o struktuře bílkoviny?

6. Titrujeme bílkovinu louhem. A_{295} roste s pH, nejostřejší vzestup je při pH 9,6. Při pH 11,7 je pozorován druhý vzestup, jeho výška je 1/3 prvního. Bílkovina obsahuje v molekule 8 zbytků Tyr. Co lze říci o struktuře?

7. Vyisolovali jste DNA z E. coli. Průměrné zastoupení párů GC je 50%. Denaturační křivka není hladká, má dva stupně při 80 a 88 °C. Výška prvního je 1/4 druhého. Jaké je pravděpodobné vysvětlení?