

7-Centrifugace

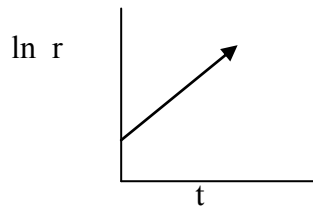
1. Srovnáváme pohyb částic o stejné hmotnosti a rozměrech. Co bude mít větší s
 - a) tuhá nebo ohebná tyčinka?
 - b) plná nebo dutá koule?

2. Popište rovnici separace 2 látek o hodnotách s_1 a s_2 sedimentujících v jedné kyvetě!

$$s = v/\omega^2 r \quad v = dr/dt \quad s = dr/dt \cdot \omega^2 r$$

$$r = f(t), \omega^2 = \text{konst.}$$

$$s \omega^2 \cdot dt = dr/r \quad s \omega^2 \cdot t = \ln r$$



3. Makromolekuly sedimentují ve vodě při 20 °C, byla zjištěna hodnota

$$s_{20,WP}^0 = 14,2 \text{ S}, D = 5,82 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1} \text{ a } \nu = 0,74 \cdot 10^{-3} \text{ m}^3 \cdot \text{kg}^{-1}.$$

$$M_r = s R T / D (1 - \nu \rho_1), 1 \text{ S} = 10^{-13} \text{ s}$$

$$v = dr/dt = M_r \cdot (1 - \nu \rho_1) \cdot D \cdot \omega^2 r / RT$$

Vypočtěte M_r !

4. Předpokládáte, že reagens X způsobí kovalentní vazbu mezi řetězci DNA. Jak to potvrdíte pomocí centrifugace?

5. Reagens Y způsobilo, že s vysoce kompaktní bílkoviny kleslo o ca 40%. Jaký účinek Y na bílkovinu lze předpokládat, jestliže je pík při sedimentaci a) užší, b) širší?

6. Bílkovina dala při sedimentaci ve vodě jeden pík odpovídající M_r 50 000. V 6 M guanidinium chloridu se objevily 2 píky odpovídající 5000 a 15 000. Plocha pomalejšího píku je 2/3 rychlejšího. Jaké závěry lze učinit?

7. DNA při centrifugaci v CsCl dala jeden pík. Po působení etidium bromidu dala 2 píky, plocha rychlejšího byla dvojnásobná oproti pomalejšímu. Co z toho lze vyvodit?

8. Zjišťujeme s suprahelikální DNA v závislosti na koncentraci etidium bromidu. Hodnota s nejprve klesá, po dosažení minima pak roste. Co se děje s DNA?

9. Lipoprotein je centrifugován v 1 M NaCl. Pík se objevil u dna a pohyboval se k hladině. Vysvětlete!