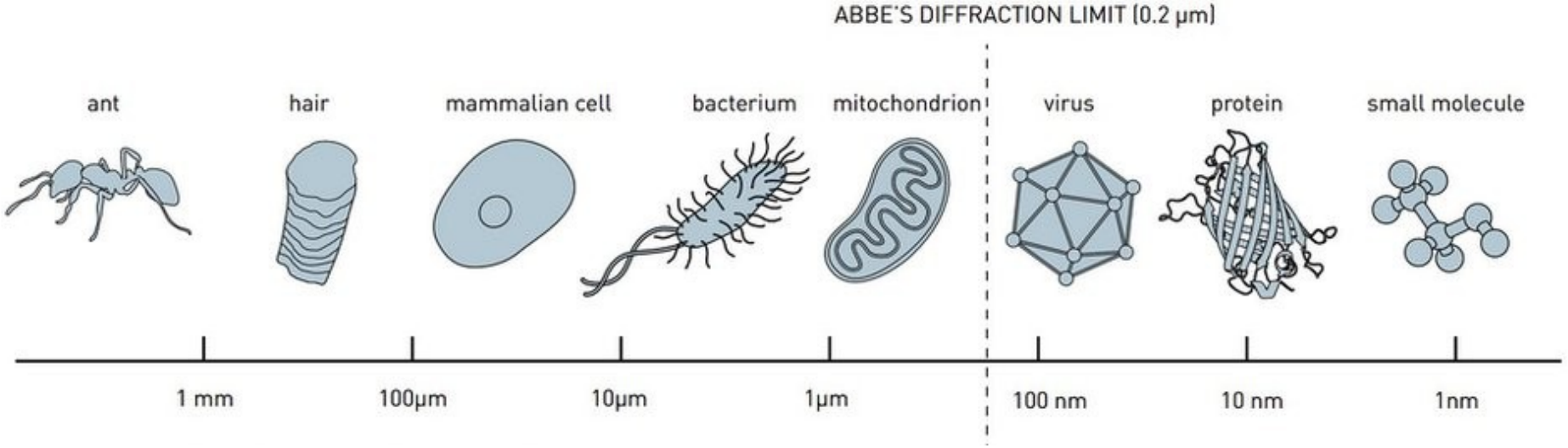
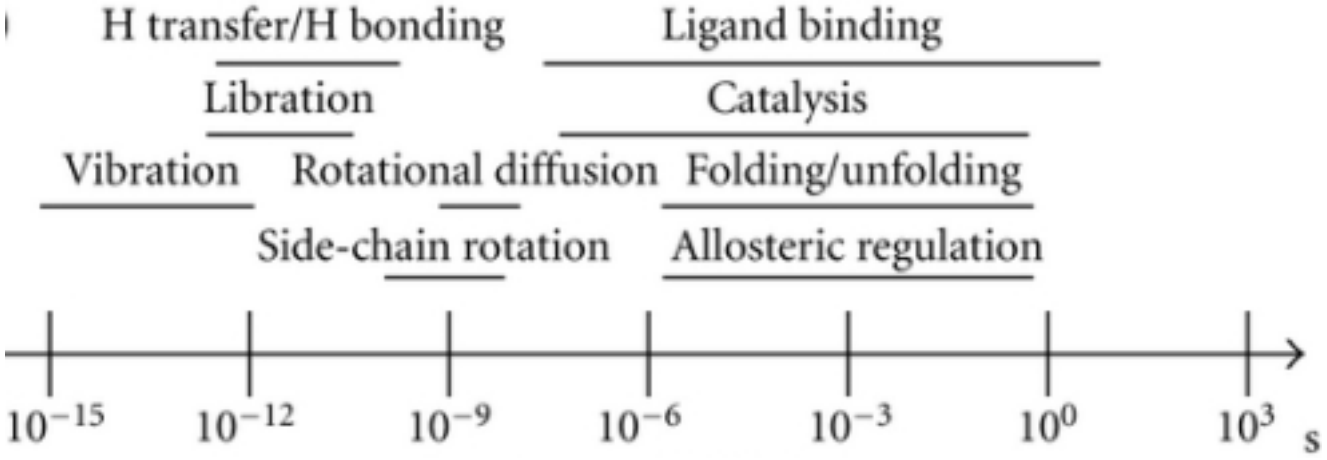
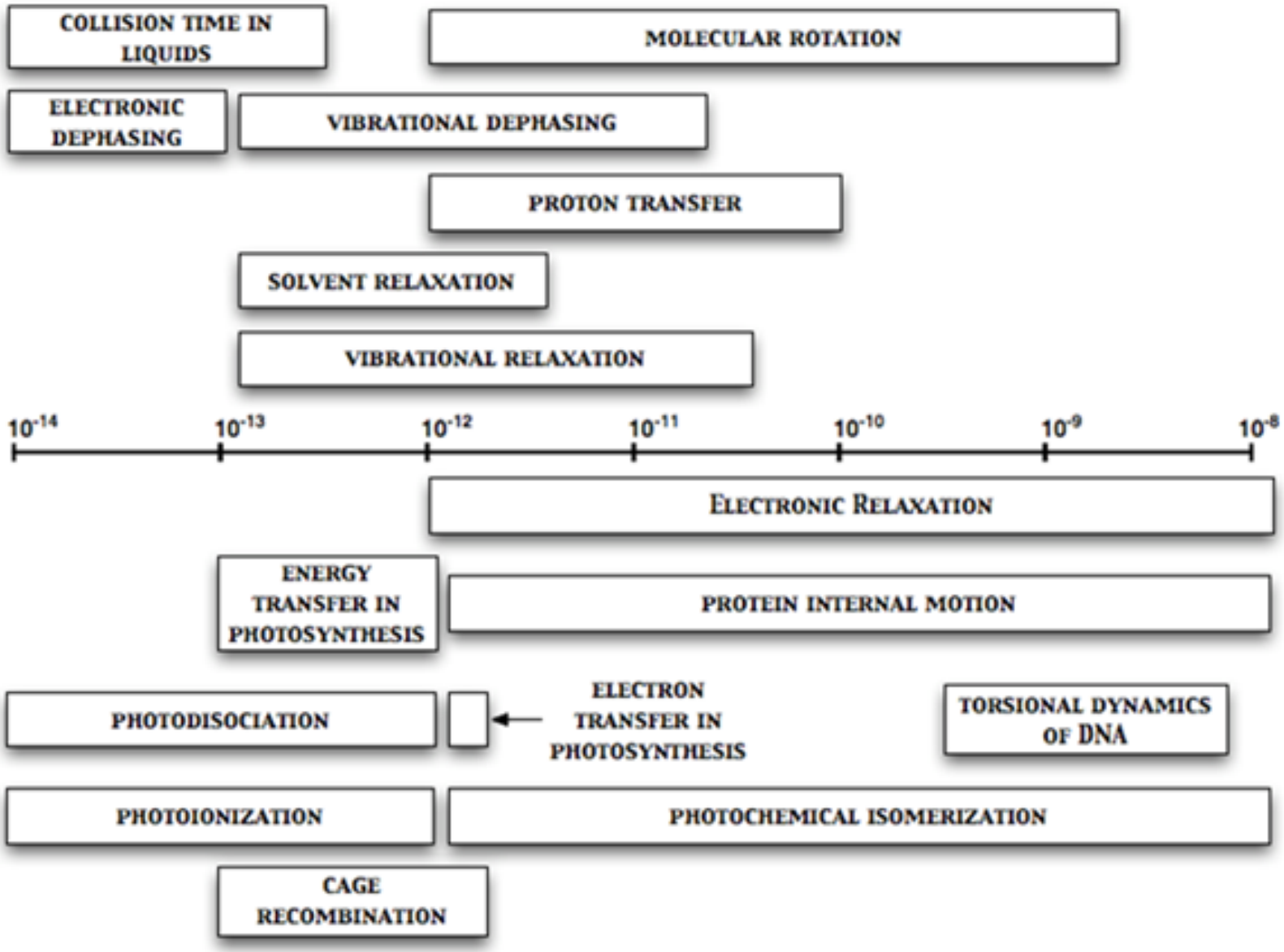
VELIKOST OBJEKTŮ



ČASOVÁ NÁROČNOST FYZIKÁLNĚ-CHEMICKÝCH PROCESŮ



ČASOVÁ NÁROČNOST FYZIKÁLNĚ-CHEMICKÝCH PROCESŮ



ČASOVÁ NÁROČNOST FYZIKÁLNĚ-CHEMICKÝCH PROCESŮ

Unit	Size	Notes
attosecond	10^{-18} s	shortest time now measurable by scientists
femtosecond	10^{-15} s	pulse width on world's fastest lasers
picosecond	10^{-12} s	switching time of the world's fastest transistor
nanosecond	10^{-9} s	time for molecules to fluoresce
microsecond	10^{-6} s	length of time of a high-speed, strobe light flash
millisecond	0.001 s	time for a housefly's wing flap

MODULACE NÁBOJ-NÁBOJOVÝCH INTERAKCÍ:

$$F = \frac{1}{4\pi\varepsilon_0}\frac{Q_1 Q_2}{r^2}$$

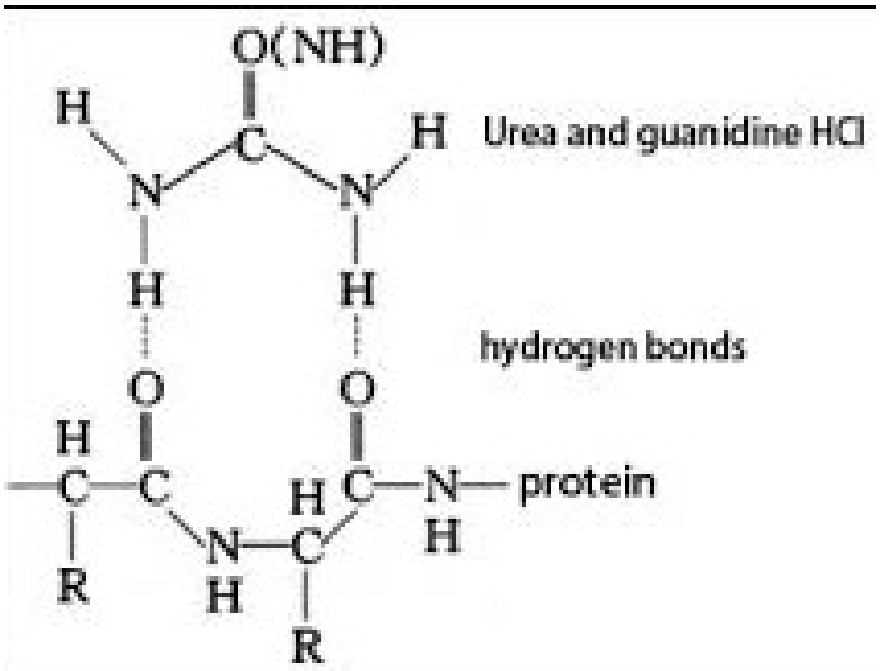
Dielectric constant of cytosol: cca. 60 (50:50 H_2O/ACN)

Solvent	Boiling Pt., °C	Dielectric constant
Water	100	80
Methanol	68	33
Ethanol	78	24.3
1-propanol	97	20.1
1-butanol	118	17.8
acetic acid	118	6.15
Acetone	56	20.7
methyl ethyl ketone	80	18.5
ethyl acetate	78	6.02
Acetonitrile	81	36.6
N, N-dimethylformamide (DMF)	153	38.3
dimethyl sulfoxide (DMSO)	189	47.2
Hexane	69	2.02
Benzene	80	2.28
diethyl ether	35	4.34
tetrahydrofuran (THF)	66	7.52

POUŽÍVANÁ ČINIDLA PŘI PRÁCI S BIOMOLEKULAMI

Denaturace – rozrušení 3D struktury:

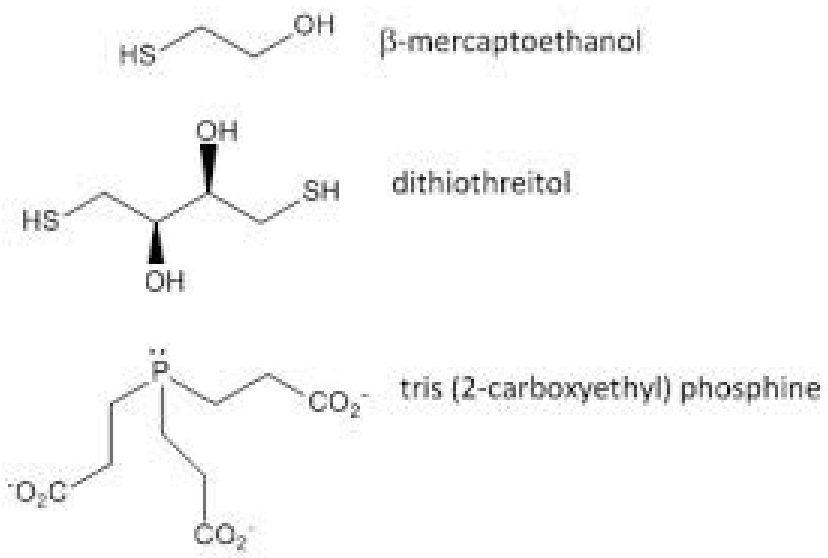
a) chemicky (proteiny, DNA/RNA) – 6 – 8 M UREA nebo Guanidine



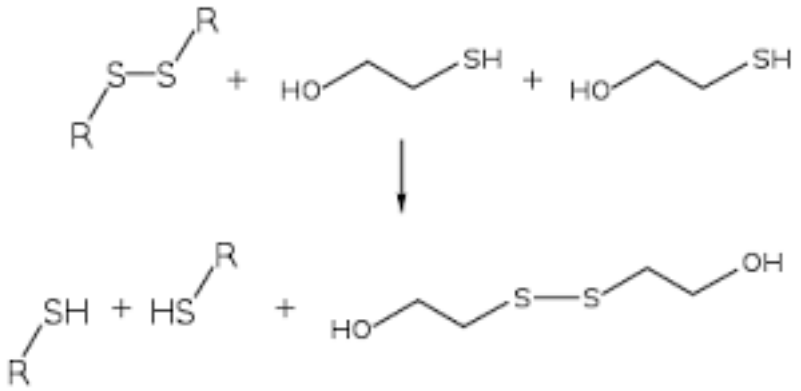
b) teplotou (DNA/RNA)

POUŽÍVANÁ ČINIDLA PŘI PRÁCI S BIOMOLEKULAMI

Simulace redukčního prostředí buňky – relevantní pro proteiny
(eliminace disulfidických můstků – zabránění vzniku oligomerů), DTT, TCEP, merkaptoethanol



Mechanismus



Mechanismus

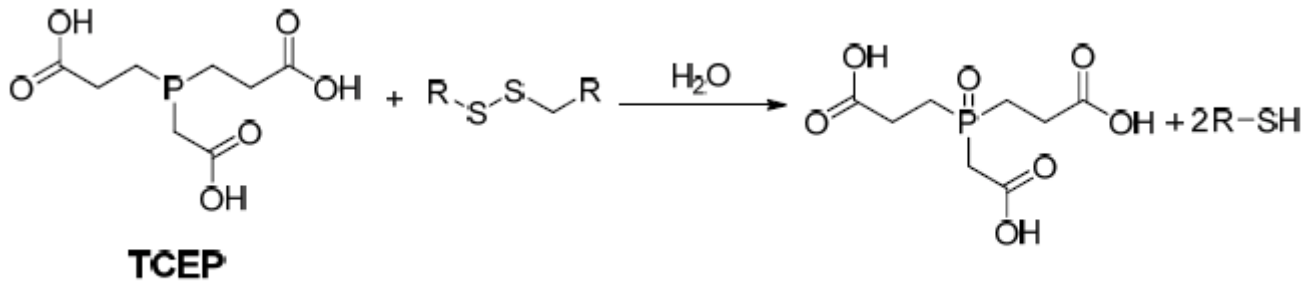


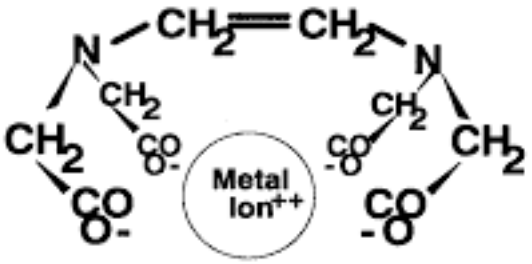
Figure 1. Reduction of organic disulfide bonds with TCEP.

POUŽÍVANÁ ČINIDLA PŘI PRÁCI S BIOMOLEKULAMI

Iontové pasti – dvojmocné ionty (EDTA – Ca^{2+}, Mg^{2+}; EGTA – Ca^{2+})

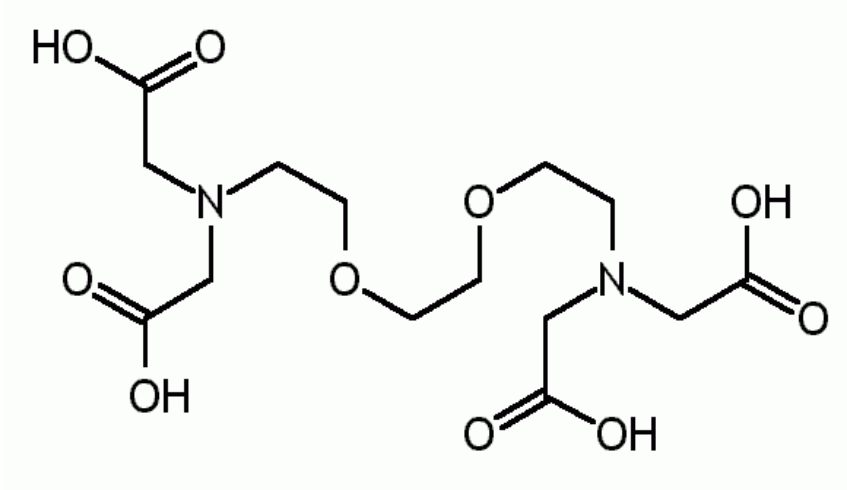
EDTA: inhibice metaloproteinů poškozujících DNA/RNA (nukleázy), proteiny (peptidázy)

EGTA: ve srovnání s EDTA má nižší afinitu pro Ca^{2+}. Používá se tedy pro simulaci vnitrobuněčného prostředí, kde [Ca2+] je 1000 < [Mg^{2+}] – DNA/RNA



Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) chelates a metal ion

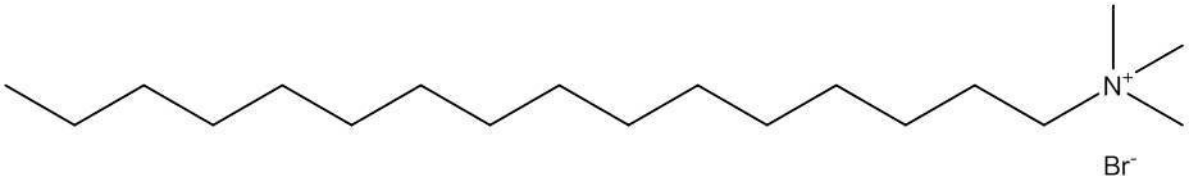
EGTA - ethylene glycol tetraacetic acid



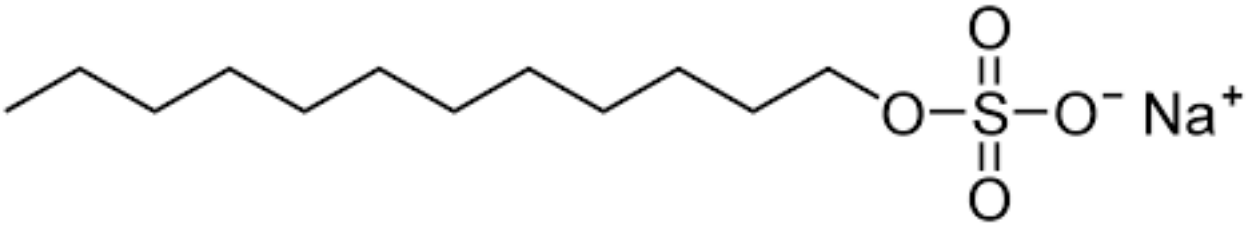
POUŽÍVANÁ ČINIDLA PŘI PRÁCI S BIOMOLEKULAMI

Iontové detergenty – rozvolnění 3D struktury proteinu a/nebo quantitativní dodaní naboje

Cetyl tetraamonium bromide CTAB – rozvodni strukturu protein a dodá kladný náboj (CTAB PAGE) – princip analogický to SDS.

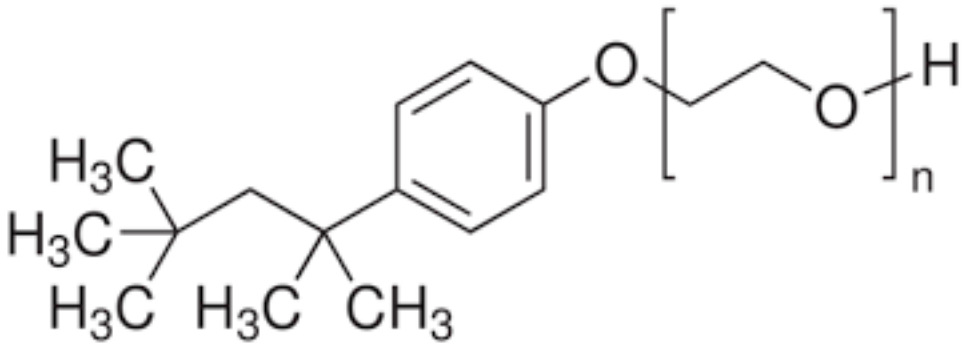


Sodium dodecyl sulfate SDS – rozvodni strukturu protein a dodá záporný náboj (SDS PAGE). SDS It binds to polypeptides in a constant weight ratio of 1.4 g SDS/g of polypeptide. In this process, the intrinsic charges of polypeptides becomes negligible when compared to the negative charges contributed by SDS.
Thus polypeptides after treatment become rod-like structures possessing a uniform charge density, that is same net negative charge per unit weight. The electrophoretic mobilities of these proteins is a linear function of the logarithms of their molecular weights.



POUŽÍVANÁ ČINIDLA PŘI PRÁCI S BIOMOLEKULAMI

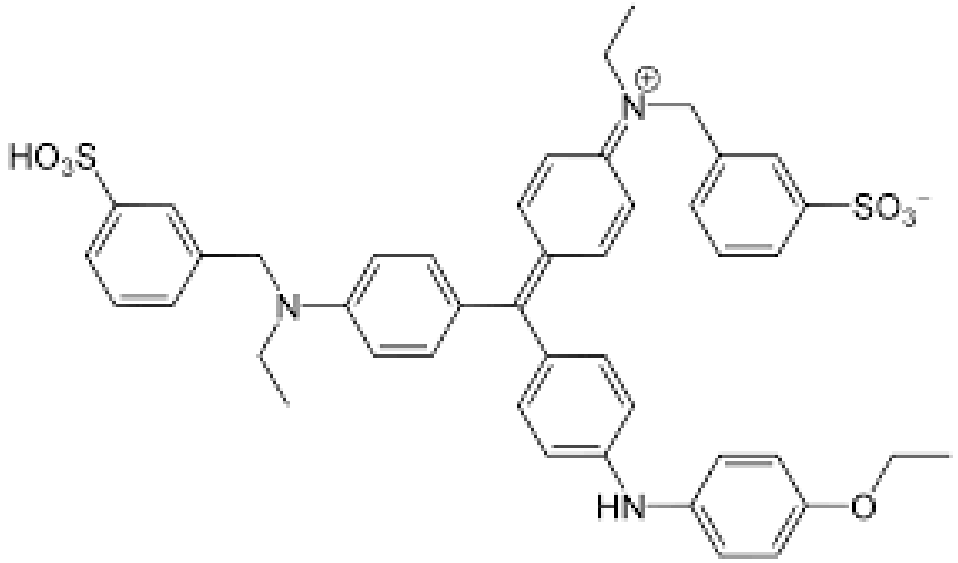
Neiontové detergenty – rozvolnění 3D struktury proteinu



POUŽÍVANÁ ČINIDLA PŘI PRÁCI S BIOMOLEKULAMI

Proteinové barvení (nativní I denaturovaný protein) a dodaní náboje nativnímu proteinu (BLUE NATIVE PAGE) – protein migruje uměrně své velikosti a tvaru

COOMASSIE BLUE

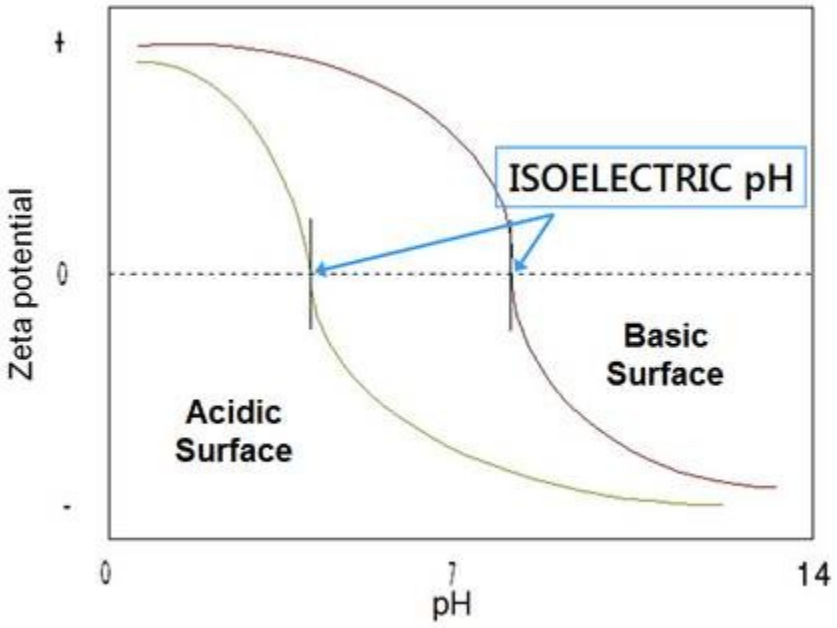


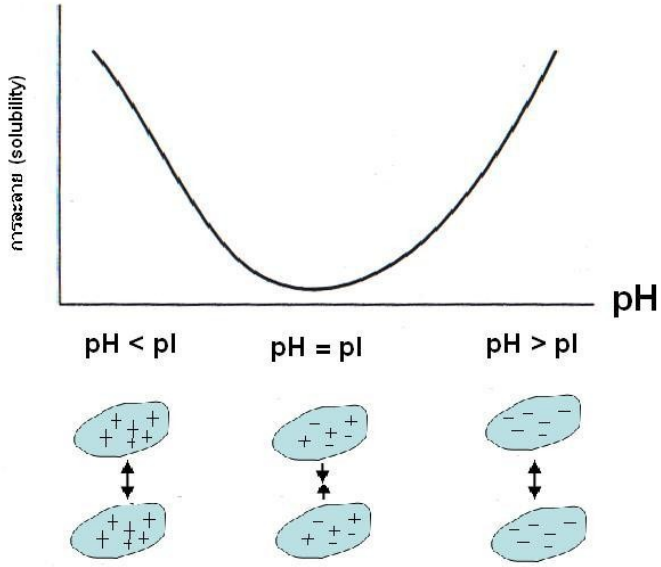
PRVKY TVOŘÍCÍ VODÍKOVOU VAZBU: **H, N, O, F**

Délka vodíkové vazby cca 2.5-3.0 A (1 A = 0.1 nm, délka C-H vazby cca. 1 A)

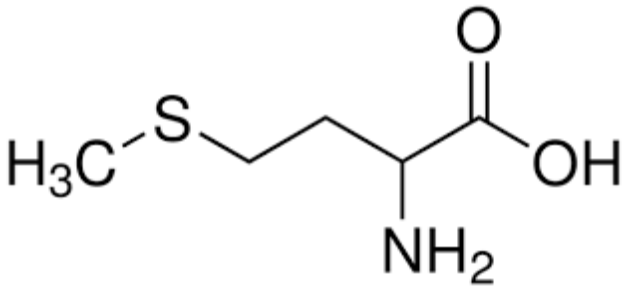
PROTEINS

PI: Isoelectric point – hodnota pH při které částice má nulový náboj
(nehýbe se v elektrickém poli, má nejnižší rozpustnost)

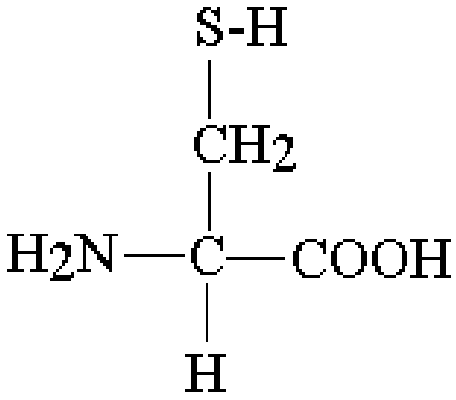




KTERÉ AMK OBSAHUJÍ SÍRU:



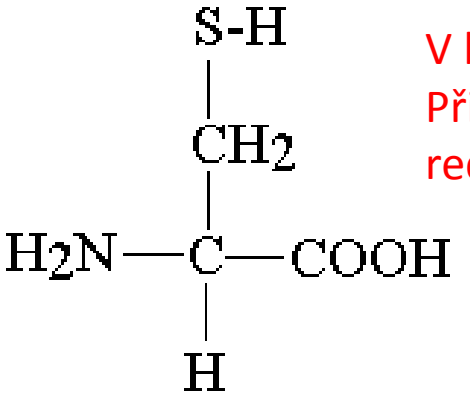
methionine



cysteine

V proteinové chemii se často využívá značení radioaktivní sírou (^{35}S)

KTERÉ AMK tvoří disulfidické vazby:



cysteine

V buňce je redukující prostředí (= disulfidické vazby jsou rozrušeny). Při práci v roztoku se redukující prostředí zabezpečuje přidáním redukčních činidel např. merkaptoethanol, TCEP)