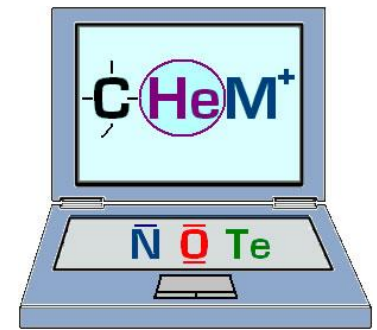




Studijní opora předmětu Seminář biochemie I – chromatografie

- Aminokyseliny His, Lys, Glu se snažíte rozdělit ionexovou chromatografií při pH 5, eluci provádíte gradientem NaCl. Napište pořadí, v jakém se budou AK eluovat.
- V jakém pořadí budou eluovány ze sloupce Sephadexu G-50 proteiny: katalasa (222 kDa), chymotrypsin (21,6 kDa), konkavalin (42,5 kDa), lipasa (6,7 kDa)?
- V jakém pořadí budou ze sloupce Dowexu 50 (katex) eluovány vzrůstající iontovou silou při pH 7 následující proteiny : fibrinogen (pI 5,8), hemoglobin (pI 7,1), lysozym (pI 11), pepsin (pI 1)?
- Vodný roztok obsahuje bílkoviny o známých pI – orosomukoid (3,5), histon 2A (10,2) a sérový albumin (4,9). Chcete je rozdělit ionexovou chromatografií při konstantním pH a máte k dispozici anex. Jaké pH zvolíte? Jakým způsobem bílkoviny z kolony uvolníte? Načrtněte chromatogram, z kterého bude zřejmé, v jakém pořadí budou bílkoviny eluovány.
- Představte si, že máte separovat stejnou směs jako v předchozím případě, ale tato směs obsahuje také NaCl o vysoké koncentraci (0,5 mol/l). Vysvětlete, proč takto zasolená směs nemohla být úspěšně separována pomocí ionexové chromatografie. Navrhněte chromatografický postup, pomocí něhož lze vzorek odsolit. Stručně vysvětlete princip navržené metody.