

Utkast til løsningsforslag Eksamen TFY4310 Molekylær biofysikk 23 Mai 2024

1 TFY4310 2024 05

Ved hybridisering av et s og et p orbitaler får vi:

Velg ett alternativ:

- to innbyrdes vinkelrette orbitaler.
- to orbitaler rettet 180° i forhold til hverandre
- tre orbitaler i et plan
- fire orbitaler rettet tetraedrisk

2 TFY4310 2024 05

Hvilket utsagn under er galt?

Velg ett alternativ:

- PB-likningen behandler løsningsmidlet som et kontinuerlig (uniformt) medium.
- PB-likningen er avhengig av temperaturen
- PB-likningen antar homogen overflateladning

Den lineariserte formen av Poisson-Boltzmann (PB) likningen er gyldig for å beskrive konsentrasjonsprofiler av ioner i løsning utenfor en overflate med høy ladningstetthet

3 TFY4310 2024 05

Interaksjonsenergien mellom fritt roterende dipoler er karakterisert ved:

Velg ett alternativ:

- Beskriver hydratisering av et ion
 - Er alltid negativ (tilltrekkende) eller null
 - Kan være positiv eller negativ (eller null)
- Er alltid null på grunn av gjennomsnittet av de mulige konfigurasjonene

4 TFY4310 2024 5

En hydrogel hvor polymernetverk består av ladete polymerer sveller mer i vandig løsning enn nettverk med nøytrale polymerer fordi:

Velg ett alternativ:

- vann er et dårligere løsningsmiddel for ladete polymerer
- motionene til polymeren utøver et osmotisk trykk i gelen
- polyelektrolytter er mer fleksible enn nøytrale polymerer
- det er færre motioner inne i nettverket enn utenfor

5 TFY4310 2024 5

Hvilket av følgende utsagn er riktig innenfor molekylær modellering hvor periodiske grensebetingelser brukes?

Velg ett alternativ:

- Bevegelsen til partiklene må begrenses til et område som maksimalt er halvparten av simuleringsboksens lengde
- Interaksjonene mellom en partikkel og andre partikler er begrenset til å være i avstand på maks halvparten av simuleringsboksens lengde
- Antall overflatemolekyler er omvendt proporsjonal med antall nabobokser
- hver partikkel vekselvirker bare med partikler i den samme boksen

6 TFY4310 2024 5

Hvilken av påstandene under er i henhold til Frank-Condon-prinsippet?

Velg ett alternativ:

andre vibrasjonsoverganger enn de grunnleggende er tillatt dersom overganger

mellom elektroniske tilstander er involvert

- overgangsdipolmomentet må være null for å observere et bånd i IR-spektroskopi
- bare fundamentale vibrasjonsoverganger ($\Delta v = \pm 1$) er tillatt
- den relative posisjonen til kjernene kan ikke ignoreres under en elektronisk overgang

7 TFY4310 2024 5

a. *Rett eller galt: Vurder følgende påstand: Strukturfaktoren til biopolymerer i en løsning er forskjellig fra 1 når konsentrasjonen er lavere enn overlappskonsentrasjonen.*

Med økende konsentrasjon av biopolymerer i løsning vil de nå en konsentrasjon hvor de begynner å komme bort i hverandre, og for polymerer, hvor midlere avstand mellom massesenterne er mindre enn utstrekning. Dette er overlappskonsentrasjonen, c^* . De vil da kunne ordne seg avhengig av plassering til nabomolekyler, og ikke bevege seg uavhengig av nabomolekyl. En strukturfaktor lik 1 ($S(q) = 1$) tilsier at molekylene i snitt beveger seg uavhengig av hverandre, noe som krever konsentrasjon lavere enn c^* . Påstanden er ikke korrekt – strukturfaktoren er ulik 1 når konsentrasjonen er stor og ikke lavere enn c^* .

b. *Rett eller galt: Vurder følgende påstand: Strukturfaktoren til biopolymerer i løsning kan bestemmes ved hjelp av dynamisk lysspredning*

Strukturfaktoren bestemmes basert på midlere intensitet observert ved lysspredning, og ikke ved dynamisk lysspredning. $S(q)$ er en del av uttrykket for midlere spredning:

$$\langle I_S(q) \rangle = Nb^2(q=0)P(q)S(q)$$

Hvor I_S er intensitet til spredt elektromagnetisk stråling (for eksempel lys), og er avhengig av q :
spredvektoren gitt ved

$$q = \frac{4\pi}{\lambda} \sin(\theta/2)$$

Her er λ bølglengden til el magn stråling i mediet og θ er spredvinkel. Parameter $b(q=0)$ er spredelengden ekstrapolert til $q=0$, $P(q)$ er formfaktoren – en geometrisk faktor for det aktuelle molekyl og $S(q)$ er strukturfaktoren. Den angir plassering i rommet av de ulike biomolekylene. Dynamisk lysspredning brukes ikke til å oppnå data for midlere spredning, men korrelasjon mellom spredningsdata oppnådd ved ulike tidspunkt, slik som intensitetskorrelasjonsfunksjonen:

$$g^{(2)}(q, \tau) \equiv \frac{\langle I(q, 0) I^*(q, \tau) \rangle}{\langle I(q) \rangle^2} = 1 + [g^{(1)}(q, \tau)]^2$$

Og hvor analyse av $g^{(1)}$ gir informasjon om diffusjonskonstanten:

$$g^{(1)}(q, \tau) = \exp(-q^2 D_0 \tau)$$

Påstanden om at «Strukturfaktoren til biopolymerer i løsning kan bestemmes ved hjelp av dynamisk lysspredning» er således ikke korrekt.

c. *Rett eller galt: Vurder følgende påstand: Det er to elektronhaler i hydrogenionet H_3O^+*

Det er totalt 10 elektroner i ett H_3O^+ ion/molekyl. To elektroner er i 1s ikke-bindende orbital til O-atomet. Seks av elektronene er lokalisert i tre σ -molekylære orbitaler (dannet av de tre sp^3 fra O – s fra H) og gir tre bindinger mellom oksygenatomet og de tre hydrogenene; og de resterende to elektronene er i sp^3 -orbitalen som ikke binder et hydrogen, og gir dermed én elektronhale. Påstanden om at det er to elektronhaler i hydrogenionet H_3O^+ er dermed gal.

d.) *Rett eller galt: Vurder følgende påstand: CO₂ molekylet har fire vibrasjonsmoder, men kun tre av disse vil bidra til absorpsjon i infrarødt spektrum.*

CO₂ er et lineært molekyl, som har tre vibrasjonsmoder: symmetrisk strekk, bøyning og asymmetrisk strekk.

Av disse er transisjonsdipolmomentet lik 0 for symmetrisk strekking, og denne vibrasjonsmoden vil dermed ikke være IR aktiv. Utsagnet er ikke rett mht antall vibrasjonsmoder, eller hvor som bidrar til IR spekteret.

e) *Rett eller galt: vurder følgende utsagn: Den relative endringen i avstanden som kreves for halvering av energien for interaksjonspotensial som avhenger av avstand som $\frac{1}{r^n}$ er gitt ved $2^{1/n} - 1$*

Endringene i interaksjonspotensial for $1/r^n$ type potensial kan illustreres ved å beregne den endringen i avstanden som kreves for å halvere energien. Utled et generelt uttrykk som beskriver relativ endringen i avstand som kreves for å halvere energien som funksjon av n.

$V(r) \sim 1/r^n$ kan skrives som: $V(r) \sim konst/r^n$

Ved r_2 er potensialet det halve av hva det er ved r_1 :

$$0.5V(r_1) = 0.5konst/r_1^n = V(r_2) = konst/r_2^n$$

Dette gir: $2 = r_2^n/r_1^n$ som omskrevet blir: $2^{1/n} = r_2/r_1$

Relativ endringen i avstand:

$$\frac{r_2 - r_1}{r_1} = \frac{2^{1/n}r_1 - r_1}{r_1} = 2^{1/n} - 1$$

f) *Rett eller galt: Vurder følgende utsagn: En surfaktant med to hydrofobe karbonkjeder bundet til samme hydrofile hodegruppe har en mindre tendens til å bidra til flate amfifile aggregater i vandig løsning enn en surfaktant med samme hodegruppe og en hydrofob karbonkjede.*

Surfaktantmolekyl i vandig løsning har en tendens til å danne en struktur som er avhengig av critical packing parameter (CPP). For en type surfaktantmolekyl med to hydrofobe karbonkjeder vil CPP kunne være i nærheten av 1, mens for en type med en hydrofob karbonkjede vil CPP være betydelig mindre enn 1. Dette gir en ledetråd til geometri: for surfaktantmolekyl med en hydrokarbokjede; tendens til å inngå i sfæriske strukturer, og med to hydrokarbonkjeder: tendens til å danne flate amfifile aggregater. Dvs., motsatt at utsagn i problemstillingen.

8 TFY4310 2024 5 Virus

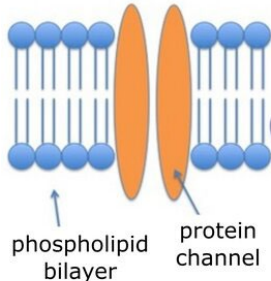
Virus infeksjon.

Virus utnytter celler for å kunne reproduseres. Dette krever at virus må være i stand til å levere genetisk materiale inn i celler. Det genetiske materialet er pakket i en del av virus som modelleres om en sfærisk beholder med indre radius R_V . Det antas at temperaturen er 37° C. Det viser seg at flere virus er utstyrt med proteiner som er i stand til å danne en kanal gjennom lipiddobbeltlag når virus er forankret til en celleoverflate.

a) *Beskriv hovedtrekk til en cellemembran når det gjelder hvilke type molekyl den består av, hvordan den er organisert og hvilke type(r) interaksjoner som fører til organiseringen. Beskriv*

egenskaper til et sett av proteiner som danner en kanal mellom ekstra- og intracellulær del av celler slik som virus kan danne.

Hovedbestandelene av en cellemembran er amfifile molekyler (fosfolipider) og proteiner, det er også sukker / oligosakkarider som «dekorasjon» på både proteinene og hodegruppene av fosfolipidene. Fosfolipidene danner et lipid dobbeltlag i vandig løsning. Vekselvirkninger som bidrar til dette er hydrofobeffekten i vandig løsning (entropi til vann øker ved at lipidkjedene blir nabo med hverandre i stedet for at de er i kontakt med vannmolekyler) og at de hydrofile hodegruppene er i kontakt med vann. De antar en plan, i forhold til mer sfærisk geometri fordi CPP med to lipid kjeder pr hodegruppe er nært en og tilsier en slik geometri.(



De virus proteinene som danner en kanal over cellemembranen må ha deler av overflaten for den transmembrane delene som er hydrofobe for de delen av overflaten som blir stabilisert ved interaksjon med lipidene inne i dobbeltlaget, og hydrofile for de delene som danner kanal som er «vannfylt» og for de delene som vender ut fra lipid dobbeltlaget.

Vi antar her at det genetiske materialet til viruset er RNA. Kanalen som virus er i stand til å danne gjennom cellemembranen utnyttes av virus for å overføre RNA i virus til cellen. Den indre radius til den sfæriske delen av viruset antas å være $R_v = 25 \text{ nm}$. I hvert virus er det pakket ett RNA molekyl som modelleres ved en ideell kjede med 30000 ledd hver med lengde 0.5 nm.

b) Hva er det den volumetriske kompresjonen av RNA inne i viruset i forhold til fritt utenfor, f.eks. når det er frigjort inn i en celle? Utled et uttrykk for kraft – utstrekning for en ideell kjedemodell basert på $f = -\partial(T\Delta S)/\partial r$ og beregn hvor stor kraft RNA utøver på den sfæriske beholderen når molekylet er inne i den.

For en ideell kjede med n ledd, hver med lengde l midlere ende til end avstand gitt ved:

$$\langle R_{ee}^2 \rangle_0 = nl^2$$

Her er indeksen 0 også introdusert for denne referansetilstanden. For det aktuelle RNA molekylet gir dette:

$$\sqrt{\langle R_{ee}^2 \rangle_0} = 0.5 \text{ nm} \sqrt{30000} = 86.6 \text{ nm}$$

Volumet i denne tilstanden:

$$V_0 = \frac{4}{3} \pi \left(\frac{\langle R_{ee}^2 \rangle_0^{1/2}}{2} \right)^3 = 340000 \text{ nm}^3$$

Inne i kula er volumet:

$$V_v = \frac{4}{3} \pi R_v^3 = 65447 \text{ nm}^3$$

Dette gir at RNA molekylet er komprimert volumetriske til $65447/340000 = 0.195$, eller 19.5% av volum om det er fritt i løsning.

Når det gjelder kraft: kraft – avstand er gitt ved: $f = -\partial(T\Delta S)/\partial r$. Når en bruker uttrykket for S, og deriverer mhp $r = R_{ee}$:

$$S = C - k_B \frac{3 R_{ee}^2}{2 \langle R_{ee}^2 \rangle_0}; \quad f = -\partial(T\Delta S)/\partial R_{ee} = k_B T \frac{\partial}{\partial R_{ee}} \frac{3 R_{ee}^2}{2 \langle R_{ee}^2 \rangle_0} = 3 k_B T \frac{R_{ee}}{\langle R_{ee}^2 \rangle_0}$$

Når RNA er inne i den sfæriske delen vil RNA molekylet yte en motkraft på kula som er lik kraften som trengs for å holde det inneklemt med $R_{ee} = 2 R_v$:

$$f = 3k_B T \frac{R_{ee}}{\langle R_{ee}^2 \rangle_0} = 3k_B T \frac{2R_v}{nl^2} = 0.085 \text{ pN}$$

Anta at volumet som hvert ledd (av totalt 30 000) i polymeren okkuperer er gitt ved sylindrerformet geometri, med lengde 0.5 nm og diameter 0.3 nm, og at det er betingelser som gjør at ideell kjedemodell er gyldig.

c). Beregn endring i fri energi til RNA molekylet ved frigjøring fra den sfæriske beholderen til et sfærisk volum med radius beskrevet av ideell kjedemodell. Vurder hvilken tilstand som er energetisk gunstig for RNA molekylet av disse to.

Fri energi til blanding av en polymer (komponent 2) med polymerisasjonsgrad x i et løsningsmiddel (komponent 1) er gitt ved:

$$\frac{\Delta G_{mix}}{N} = RT \left(v_1 \ln v_1 + \frac{v_2}{x} \ln v_2 + \chi_{12} v_1 v_2 \right)$$

Her er $N = N_1 + xN_2$ antall gitterpunkt, v_1 and v_2 er volumfraksjon av løsningsmiddel og polymer og χ_{12} er Flory Huggins interaksjons parameter. Siden det er gitt at det er ideell kjedemodell er $\chi_{12} = 0.5$.

For det aktuelle RNA:

$$\text{Volum til kjeden: } V_{chain} = n l \pi r^2 = 30000 \cdot 0.5 \cdot \pi \cdot 0.3^2 / 4 \text{ nm}^3 = 21025.13 \text{ nm}^3$$

Dette gir for volumfraksjon av kjeden når den er pakket i viruset:

$$v_2 = \frac{V_{chain}}{V_v} = \frac{21025.13 \text{ nm}^3}{65447 \text{ nm}^3} = 0.324$$

Siden x i free energy of mixing er antall ledd i polymerkjeden, antas det at antall gitterpunkter som legges til grunn er gitt ved:

$$N = N_1 + nN_2 = \frac{30000}{v_2} = \frac{30000}{0.324} = 925926$$

Dette gir for RNA pakket i virus hodet:

$$\frac{\Delta G_{mix}}{N} = RT \left(v_1 \ln v_1 + \frac{v_2}{x} \ln v_2 + \chi_{12} v_1 v_2 \right) = -0.1552 RT \text{ og}$$

$$\Delta G_{mix} = -0.1552 \cdot 925926 RT = -143690 RT$$

Og for «frigjort» RNA

$$\frac{\Delta G_{mix}}{N} = RT \left(v_1 \ln v_1 + \frac{v_2}{x} \ln v_2 + \chi_{12} v_1 v_2 \right) = -0.03114 RT \text{ og}$$

$$\Delta G_{mix} = -0.03114 \cdot 4811252 = -149802 RT$$

Og forskjellen: $-149802 RT - (-143690) RT = -6112 RT = -1.57 \cdot 10^7 \text{ J / mol}$

9 TFY4310 2024 5 UV VIS

Du finner en gammel stamløsning av «NADH» i fryseren, men er usikker på i hvilken tilstand den foreligger – med mulig blanding av NADH og NAD⁺. Ved å tine denne prøven og karakterisering av absorpsjon ved 260 nm og 340 nm er følgende absorbanser i en kuvette med 0.2 cm lysvei bestemt: $A_{260} = 0.31$ og $A_{340} = 0.11$. Tallene i indeks her angir at dette er verdier oppnådd ved en bølglengde på henholdsvis 260 og 340 nm.

NADH har en ekstingsjonskoeffesient ved 340 nm $\epsilon_{340} = 6300 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, mens NAD+ absorberer ikke ved den bølglengden. Ved 260 nm er ekstingsjonskoeffesientene til NAD+ $18000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ og NADH $15000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

Hva er andelen av NAD+ i stamløsningen?

I løsningen som karakteriseres, kan NADH enten være tilstede som NADH eller NAD+. I det følgende er konsentrasjonene av disse betegnet: c_{NADH} og c_{NAD^+} , og for ekstingsjons-koeffesienten er bølglengdene og artene angitt som henholdsvis nedskrevne og overordnede. Den observerte absorpsjonen skrives deretter som en to-komponent blanding:

$$A_{340} = c_{\text{NADH}} \epsilon_{340}^{\text{NADH}} l + c_{\text{NAD}^+} \epsilon_{340}^{\text{NAD}^+} l$$

$$A_{260} = c_{\text{NADH}} \epsilon_{260}^{\text{NADH}} l + c_{\text{NAD}^+} \epsilon_{260}^{\text{NAD}^+} l$$

Her er l veilengden til lys i løsningen (0.2 cm i det gitt tilfelle). På grunn av de gitte parametre, forenkles den første av disse likningene:

$$A_{340} = c_{\text{NADH}} \epsilon_{340}^{\text{NADH}} l$$

Dette gir konsentrasjoner som følger:

$$c_{\text{NADH}} = \frac{A_{340}}{\epsilon_{340}^{\text{NADH}} l} = \frac{0.11}{6300 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1} \cdot 0.2 \text{ cm}} = 87.3 \mu\text{M}$$

Og:

$$c_{\text{NAD}^+} = \frac{(0.31 - c_{\text{NADH}} \epsilon_{260}^{\text{NADH}} l)}{\epsilon_{260}^{\text{NAD}^+} l} = \frac{(0.31 - 87.3 \mu\text{M} \cdot 15000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1} \cdot 0.2 \text{ cm})}{18000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1} \cdot 0.2 \text{ cm}} = 13.4 \mu\text{M}$$

Andel NAD+ i prøven:

$$\frac{c_{\text{NAD}^+}}{c_{\text{NAD}^+} + c_{\text{NADH}}} = \frac{13.4 \mu\text{M}}{13.4 \mu\text{M} + 87.3 \mu\text{M}} = 0.133$$

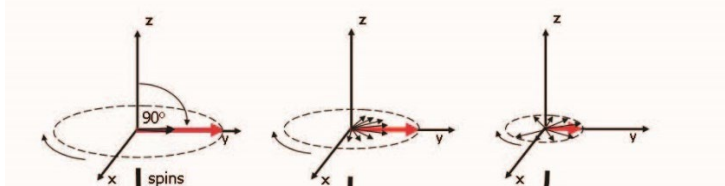
Som er : 13.3%

10 6 TFY4310 2024 5 NMR

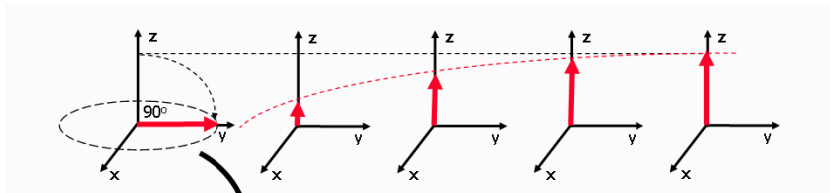
a) *Beskriv mekanismer som ligger til grunn for endring av netto magnetiseringvektor \mathbf{M} , etter at en prøve blir eksponert for en såkalt 90° rf puls i et NMR eksperiment.*

Utgangspunktet for å relaksasjon av netto magnetisering er her: etter at en 90 graders rf puls har blitt brukt. Dette er en rf-puls som har varighet til å snu nettomagnetiseringen fra å være parallell med det (statiske) eksterne magnetfeltet til å være ortogonalt (90 grader) til det.

Når rf feltet slås av etter en 90 graders puls vil netto magnetisering ortogonalt til det eksterne magnetfeltet relaksere ved spin-spin relaksasjon (T_2), som illustrert:

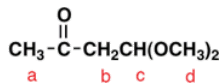


og komponentene langs det eksterne magnetfeltet vil relaksere mot likevekt ved spin-spin relaksasjon (T_1):



(Videre opplysninger: typisk er T1 fem til femti ganger lengre enn T2)

b) *Diskuter forventet ¹H-NMR spektrum av molekylet under. Beskrivelsen bør inkludere kjemisk skift, relative areal og splitting av topper.*



Proton Areal Splitting

Protoner a: tre ekvivalente protoner (relativt areal 3), og det er ingen protoner bundet på naboatom til C som bidrar til ulikt netto magnetfelt som fører til splitting av resonansene

Protoner b): to ekvivalente protoner (relativt areal 2), som har ett proton(c) bundet til C i nabo til C protonene er bundet til. Dette «naboprotonet» kan anta to ulike spinntilstander som gir bidrag til lokalt magnetfelt ved b protonene, og dermed splitter disse i to topper med same intensitet.

Proton c): ett proton (relativt areal 1) som har to protoner (b) bundet til C i nabo til C som binder proton c. De to b) protonene kan hver eksistere i to spinntilstander, som samlet gir 3 ulike kombinasjoner med innbyrdes relativ forekomst 1:2:1 for de samme nettospinn (↑↑; ↑↓, ↓↑, ↓↓). Dette splitter c) protonets resonans i 3 med innbyrdes relativ intensitet 1:2:1

Protoner d): totalt 6 ekvivalente (relativt areal 6) protoner, og ingen protoner på nabotatom til forankringsC – dvs., ingen splitting.

Protons a and b are bound to carbons connected to other carbons while the carbons of protons c and d are bound to an oxygen, which is an electronegative atom. O attracts the electrons in the covalent bonds leaving the protons more exposed to the magnetic field and leading to a larger chemical shift.

Protons in CH₃ groups typically have smaller chemical shifts than protons in CH₂ or CH groups, thus one would expect the following order from low to high chemical shift: a, b, d, and c.

11 TFY4310 2024 5 Diffusjon

Denne oppgaven omhandler diffusjon av makromolekyler/biopolymerer

a) *Det er brukt dynamisk lysspredning for karakterisering av et protein i vandig løsning ved 20°C. I eksperimentet er det benyttet en bølgelengde på 500 nm (i løsningen), og detektoren registrerte signalet ved en spredevinkel på 45°.*

Følgende data ble bestemt for intensitetskorrelasjonsfunksjonen:

τ (μs)	5	10	40	60	100		
intensitetskorrelasjonsfunksjonen: ¹⁾	1.933	1.870	1.574	1.434	1.249		

Beregn en parameter for størrelse til proteinet basert på de gitte dynamisk lysspredningsdata,

For dynamisk lysspredningsdata er den normaliserte intensitetskorrelasjonsfunksjonen gitt ved:

$$g^{(2)}(q, \tau) \equiv \frac{\langle I(q, 0)I^*(q, \tau) \rangle}{\langle I(q) \rangle^2} = 1 + [g^{(1)}(q, \tau)]^2$$

hvor:

$$g^{(1)}(q, \tau) = \exp(-q^2 D_0 \tau)$$

Og D_0 er diffusjonskonstanten oppnådd ved bestemmelse i fortynnet løsning. Denne er relatert til størrelse av biomolekylet ved:

$$D_0 = \frac{k_B T}{6\pi\eta R_p}$$

Her er R_p den effektive hydrodynamiske radius til biomolekylet (partikkel), k_B Boltzmanns konstant, T absolutt temperatur og η the viskositet til løsningsmiddelet.

Dette gir grunnlag for å trekke ut informasjon for de gitt data ved:

$$g^{(2)}(q, \tau) - 1 = (g^{(1)}(q, \tau))^2 = (\exp(-q^2 D_0 \tau))^2 = \exp(-2q^2 D_0 \tau)$$

$$\ln[g^{(2)}(q, \tau) - 1] = -2q^2 D_0 \tau$$

Slik at fremstilling av $\ln[]$ vs. τ vil gi en stigningskoeffesient $-2q^2 D_0$.

Også, tabulerte verdier av $\frac{\ln[g^{(2)}(q, \tau) - 1]}{-2q^2 \tau} = D_0$

gir følgende:

τ (μs)	5	10	40	60	100			
intensitetskorrelasjonsfunksjonen ¹⁾	1.933	1.870	1.574	1.434	1.249			
D_0 (m^2/s)	7.5e-11	7.5e-11	7.5e-11	7.5e-11	7.5e-11			

Dette gir følgende estimat av R_p

$$R_p = \frac{k_B T}{6\pi\eta D_0} = \frac{1.38 \times 10^{-23} \text{ JK}^{-1} 293\text{K}}{6\pi 1.0 \times 10^{-3} \text{ kgm}^{-1}\text{s}^{-1} 7.5 \times 10^{-11} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}} = 2.9\text{nm}$$

b) Diffusjon til et makromolekyl er i et annet laboratorium studert ved et oppsett som består av en lang kanal fylt med en vandig buffer, og hvor en kan injisere en total prøvemengde m med en initiell, liten utbredelse δ langs akse til kanalen. Vi velger et koordinatsystem med x akse langs kanalen, og posisjonen ved injeksjonen velges til $x=0$. Eksperimentet ble gjennomført ved 20°C . Følgende likning beskriver tidsutviklingen av konsentrasjonsprofilen:

$$c(x, t) = \frac{c_0 \delta}{\sqrt{4\pi D_T t}} \exp\left\{-\frac{x^2}{4D_T t}\right\}$$

hvor D_T er er translasjonsdiffusjonskonstanten og c_0 er den initielle konsentrasjonen innenfor utbredelsen δ . Enhet for konsentrasjon er her masse per lengdenhet siden dette gjelder en 1-dimensjonal situasjon.

Ved injeksjon av en prøvemengde $m = 1 \text{ mg}$ er følgende data for konsentrasjonen ved $x=0$ registrert som funksjon av tid:

Tid(sekund)	0.4	1	4	10
$c(x=0, t)$, mg/mm	95.1	60	30.1	19

Beregn diffusjonskonstanten til biopolymeren basert på de registrerte data.

Analysestrategien for de gitt data er basert på den gitte likningen:

$$c(x,t) = \frac{c_0 \delta}{\sqrt{4\pi D_T t}} \exp\left\{-\frac{x^2}{4D_T t}\right\}$$

Ved $x=0$ gir dette:

$$c(x=0,t) = \frac{c_0 \delta}{\sqrt{4\pi D_T t}}$$

Totalmengden som injiseres m er gitt ved: $m = c_0 \delta$. Dette gir:

$$c(x=0,t) = \frac{m}{\sqrt{4\pi D_T t}}$$

Denne likningen omarbeides til:

$$\left(\frac{m}{c(x=0,t)}\right)^2 = 4\pi D_T t$$

Eller uttrykt med ord: forholdet $(m/c(t))^2$ plottet som funksjon av t gir en stigningskoeffisient på

$$4\pi D_T. \text{ Alternativt: } \frac{1}{4\pi t} \left(\frac{m}{c(x=0,t)}\right)^2 = D_T$$

For de oppgitte data: beregner D_T for de aktuelle tidspunktene:

Tid(sekund)	0.4	1	4	10
$c(x=0,t)$, mg/mm	95.1	60	30.1	19
Dt (mm ² /s)	$2.2 \cdot 10^{-5}$	$2.2 \cdot 10^{-5}$	$2.2 \cdot 10^{-5}$	$2.2 \cdot 10^{-5}$

Diffusjonskonstanten er $2.2 \cdot 10^{-5} \text{ mm}^2/\text{s} = 2.2 \cdot 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$

c). Beskriv sammenheng mellom en mikroskopisk beskrivelse av vandringslengde til biopolymerer ved diffusjon og konsentrasjonsprofilen gitt i likningen under deloppgave b) over.

Sammenhengen mellom mikroskopisk utbredelse ved diffusjon i 1D og diffusjonskonstanten er gitt ved:

$$\langle x^2 \rangle = 2D_T t$$

Dette gir at

$$c(x,t) = \frac{c_0 \delta}{\sqrt{4\pi D_T t}} \exp\left\{-\frac{x^2}{4D_T t}\right\} = \frac{c_0 \delta}{\sqrt{2\pi \langle x^2 \rangle}} \exp\left\{-\frac{x^2}{2\langle x^2 \rangle}\right\}$$

eller med andre ord: r.m.s. av vandringslengden er variansen i fordelingen som beskriver tidsutviklingen av konsentrasjonsprofilen.

12 TFY4310 2024 5 Sedimentasjon

Lamm likningen og definisjonslikningen av sedimentasjonskoeffisienten er sentrale innenfor hydrodynamisk basert bestemmelse av egenskaper til biologiske makromolekyler (biomolekyler) i løsning ved sentrifugering (sedimentering).

Beskriv metoden for likevektssentrifugering for kvantitative analyse av biologiske makromolekyler. Beskrivelsen skal omfatte omtale av hvordan eksperiment gjennomføres og hva

som observeres, hvilke ligninger som legges til grunn for analysen, og kvantitative data som oppnås.

Ved likevektssentrifugering er prosessene med sedimentasjon og konsentrasjonsdrevet diffusjon i likevekt (balansert) og gir null netto fluks av makromolekyler:

$$J = \omega^2 r c(r, t) - D_T \frac{\partial c(r, t)}{\partial t} = 0$$

slik at konsentrasjonen av makromolekylet kun er avhengig av posisjon (langs prøvecellen) og ikke av tid.

$$c(r) = c(r_m) \exp \left\{ \frac{M(1 - \bar{V}_1^{(S)} \rho) \omega^2 (r^2 - r_m^2)}{2RT} \right\}$$

Her er c konsentrasjon av biomolekyl, r den faktiske radielle posisjonen, r_m den radiale posisjonen til menisken, M molekylvekt, $\bar{V}_1^{(S)}$ er det partielle spesifikke volumet til biomolekylet, ρ tettheten, R den molare gasskonstanten og T absolutt temperatur.

Om en måler absorbans A langs konsentrasjonsprofilen er dette en parameter som er proporsjonal med konsentrasjon. Dette gir at en kan bearbeide matematisk uttrykk til

$$\ln(c(r)) = \ln(c(r_m)) + \frac{M_1(1 - \bar{V}_1^{(S)} \rho) \omega^2 (r^2 - r_m^2)}{2RT}$$

og

$$\ln(A(r)) = konst + \frac{M_1(1 - \bar{V}_1^{(S)} \rho) \omega^2}{2RT} r^2$$

Dermed vil plotting av $\ln A(r)$ vs r^2 gi et estimat av helningen, og bruke uttrykket at denne er lik

$$\frac{\Delta(\ln(A(r)))}{\Delta r^2} = \frac{M_1(1 - \bar{V}_1^{(S)} \rho) \omega^2}{2RT}$$

gir oss mulighet til beregne molekylvekt M til biopolymeren basert på eksperimentelle data