

TEMA 2- Cuestiones

2.1 Razónese cuál será el orden de elución de la mezcla artificial de hemoglobinas mutantes de la cadena α , J (Toronto), I, O (Indonesia) y A en una cromatografía de cambio de ión en carboximetilcelulosa (CM-celulosa), un cambiador catiónico, sabiendo que

		Hb A
Hb J	Asp	Ala
Hb I	Glu	Lys
HbO	Lys	Glu

2.2 Se desea separar la siguiente mezcla de proteínas:

Albúmina de Suero (68000 ± 3000), Catalasa (240000 ± 10000), Citocromo c (12400) y β -galactosidasa (520000 ± 10000).

¿Qué tipo de Sephadex se puede utilizar?. ¿Cuál será el orden de elución?.

2.3 En una columna de Sephadex G-25 equilibrada con tampón fosfato 10 mM, pH 7,5 se carga una proteína disuelta en tampón fosfato potásico 1 M, pH 7,5, y cuyo peso molecular es de 240000 dalton. La elución se lleva a cabo con el tampón en el que está equilibrada la columna. ¿A qué volumen eluirá la proteína? ¿A qué molaridad cabe esperar obtener la proteína? ¿Como se explica el gráfico de absorción de la figura si la proteína estaba pura?.

Absorbancia frente a volumen de elución en mililitros obtenida de una columna de Sephadex G-25 a la que se ha aplicado una proteína cuyo peso molecular es 240000 dalton.

NOTA:

Rango de fraccionamiento

	Péptidos y proteína globulares	Dextranos
Sephadex G-10	- 700	- 700
Sephadex G-15	- 1500	- 1500
Sephadex G-25	1000 - 5000	100 - 5000
Sephadex G-50	1500 - 30000	500 - 10000
Sephadex G-75	3000 - 70000	1000 - 50000
Sephadex G-100	4000 - 150000	1000 - 100000
Sephadex G-150	5000 - 400000	1000 - 150000
Sephadex G-200	5000 - 800000	1000 - 200000