

SYMULACJA POMIARÓW MIKROKALORYMETRYCZNYCH PRZEMIAN FAZOWYCH LIPIDÓW

Aparatura

Oprogramowanie komputerowe służące do symulacji pomiarów mikrokalorymetrycznych.

Przebieg ćwiczenia

Ćwiczenie składa się z części praktycznej i teoretycznej. Część teoretyczną można wykonywać w czasie trwania skanów składających się na część praktyczną.

CZEŚĆ PRAKTYCZNA

W ramach ćwiczenia przeprowadzone zostaną następujące badania:

- A. Badanie przemiany fazowej 1,2-dimyristoil-3-fosfatydylocholiny (DMPC)
- B. Badanie przemiany fazowej 1,2-dimyristoil-3-fosfogliceroliny (DMPG)
- C. Badanie przemiany fazowej 1,2-dipalmitoil-3-fosfatydylocholiny (DPPC)
- D. Badanie przemiany fazowej nieznanego lipidu.

- 1. Włączyć komputer i wybrać ikonę „Biofiz”.
- 2. Otworzyć znajdujący się na pulpicie plik „kalorymetr” poprzez dwukrotne kliknięcie lewym klawiszem myszy.

A. Badanie przemiany fazowej lipidu DMPC.

- 1. W oknie programu nacisnąć białą strzałkę widoczną w lewym górnym rogu ekranu.
- 2. Nacisnąć klawisz „konfiguracja pomiarów”. Wyświetli się wówczas okno konfiguracji.
- 3. Wybrać następujące ustawienia pomiarowe:
 - a. okienko - „Nazwa lipidu” - wybrać **DMPC**,
 - b. okienko - „Temperatura początkowa” - wybrać wartość **285 K**,
 - c. okienko - „Temperatura końcowa” - wybrać wartość **315 K**.
 - d. okienko - „Temperatura chłodzenia” - wybrać wartość **280 K**.
 - e. okienko - „Prędkość skanowania” - wybrać wartość **3 K/min**.
- 4. Po wyborze ustawień wcisnąć klawisz „Gotowe”

UWAGA! Postępować zgodnie z poleceniami zamieszczonymi w oknie „info” !

- 5. Po zatwierdzeniu ustawień:
 - a. Rozpoczyna się automatyczne chłodzenie do temperatury podanej w punkcie 3d. Po osiągnięciu tej temperatury nacisnąć klawisz **”Start”**.
 - b. Rozpoczyna się grzanie próbek. Temperatura chłodzenia jest niższa od temperatury początkowej, aby wygasły wszelkie stany nieustalone i zakłócenia zanim rozpocznie się właściwy pomiar.
 - c. Na ekranie monitora zaczyna się pojawiać linia odwzorowująca zależność H(T). Gdy temperatura osiągnie wartość wpisaną w okienku **„Temperatura końcowa”** rozpocznie się automatyczne schładzanie układu.
 - d. Nacisnąć przycisk **„Analiza”**. Na wykresie pojawią się dwa kursory: czerwony i zielony.

UWAGA! W czasie opracowywania wyników należy wykonywać poszczególne czynności (kliknięcia) DOKŁADNIE według podanej niżej instrukcji. Jakakolwiek zmiana może spowodować zawieszenie programu , co wiąże się z koniecznością powtórzenia skanu od początku !

- 6. Za pomocą myszki komputerowej ustawić:

- a. czerwony kursor w miejscu, w którym rozpoczyna się ostatni prostoliniowy odcinek linii bazowej termogramu bezpośrednio przed głównym przejściem fazowym i nacisnąć klawisz „**LB przed pikiem – początek**”.
- b. czerwony kursor w miejscu, w którym rozpoczyna się główna przemiana fazowa i nacisnąć klawisz „**LB przed pikiem – koniec**”.
- c. zielony kursor w miejscu, w którym kończy się główna przemiana fazowa i nacisnąć klawisz „**LB za pikiem – początek**”.
- d. zielony kursor w miejscu, w którym kończy się pierwszy prostoliniowy odcinek linii bazowej termogramu bezpośrednio za głównym przejściem fazowym i nacisnąć klawisz „**LB za pikiem – koniec**”.
- e. naciśnij klawisz „**Wyniki**”
- f. pojawi się nowe okno z parametrami przejścia fazowego. Wpisać te dane do formularza. Następnie nacisnąć klawisz „**Wyjście**”.

B. Badanie przemiany fazowej lipidu DMPG.

1. Nacisnąć klawisz „konfiguracja pomiarów”.
2. Wybrać następujące ustawienia pomiarowe:
 - a. W okienku „Nazwa lipidu” wybrać **DMPG**,
 - b. W okienku „Temperatura początkowa” wybrać wartość **285 K**,
 - c. W okienku „Temperatura końcowa” wybrać wartość **315 K**.
 - d. W okienku „Temperatura chłodzenia” wybrać wartość **282 K**.
 - e. W okienku „Prędkość skanowania” wybrać wartość **3 K/min**.
 - f. Nacisnąć klawisz „**Gotowe**”
3. Wykonać czynności z części A od punktu 5 do 6.

C. Badanie przemiany fazowej lipidu DPPC.

1. Nacisnąć klawisz „konfiguracja pomiarów”.
2. Wybrać następujące ustawienia pomiarowe:
 - a. W okienku „Nazwa lipidu” wybrać **DPPC**,
 - b. W okienku „Temperatura początkowa” wybrać wartość **300 K**,
 - c. W okienku „Temperatura końcowa” wybrać wartość **330 K**.
 - d. W okienku „Temperatura chłodzenia” wybrać wartość **290 K**.
 - e. W okienku „Prędkość skanowania” wybrać wartość **3 K/min**.
 - f. Nacisnąć klawisz „**Gotowe**”
3. Wykonać czynności z części A od punktu 5 do 6.

D. Identyfikacja nieznanego lipidu.

1. Nacisnąć klawisz „konfiguracja pomiarów”.
2. Wybrać następujące ustawienia pomiarowe:
 - a. W okienku „Nazwa lipidu” wybrać „**Nieznany lipid**”,
 - b. W okienku „Temperatura początkowa” wybrać wartość **285 K**,
 - c. W okienku „Temperatura końcowa” wybrać wartość **330 K**.
 - d. W okienku „Temperatura chłodzenia” wybrać wartość **281 K**.
 - e. W okienku „Prędkość skanowania” wybrać wartość **4 K/min**.
 - f. Nacisnąć klawisz „**Gotowe**”.
3. Wykonać czynności z części A od punktu 5 do 6.
4. Na podstawie dotychczas uzyskanych danych zidentyfikować badany lipid.
5. Wpisać jego nazwę do formularza.

II. CZĘŚĆ TEORETYCZNA

1. Narysuj przykładowy termogram dowolnego lipidu.

A. Na rysunku zaznacz: przedprzejście i jego temperaturę, główne przejście fazowe i jego temperaturę,

szerokość połówkową piksu, zmianę entalpii towarzyszącą głównej przemianie fazowej.

2. Odpowiedz na pytania załączone w części II.2 formularza.

Wymagane wiadomości teoretyczne

1. Budowa błon biologicznych.
2. Przemiany fazowe lipidów i ich znaczenie w układach biologicznych.
3. Parametry strukturalne wpływające na temperaturę przejścia fazowego lipidów.
4. Kalorymetria. Zasada działania mikrokalorymetru różnicowego. Parametry termogramu (temperatura przemiany, zmiana entalpii przejścia, szerokość połówkowa)

Literatura

1. M. Bryszewska, W. Leyko, „Biofizyka dla biologów”, PWN, Warszawa 1997.
2. S. Miękiś, A. Hendrich, „Wybrane zagadnienia z biofizyki”, Volumed, Wrocław 1998.

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu Katedra i Zakład Biofizyki i Neurobiologii	Ćwiczenie 9 Symulacja pomiarów mikrokalorymetrycznych przemian fazowych lipidów	
	 Imiona i nazwiska studentów	Wydział: nr grupy: Data:
Ocena:	Podpis prowadzącego ćwiczenia	

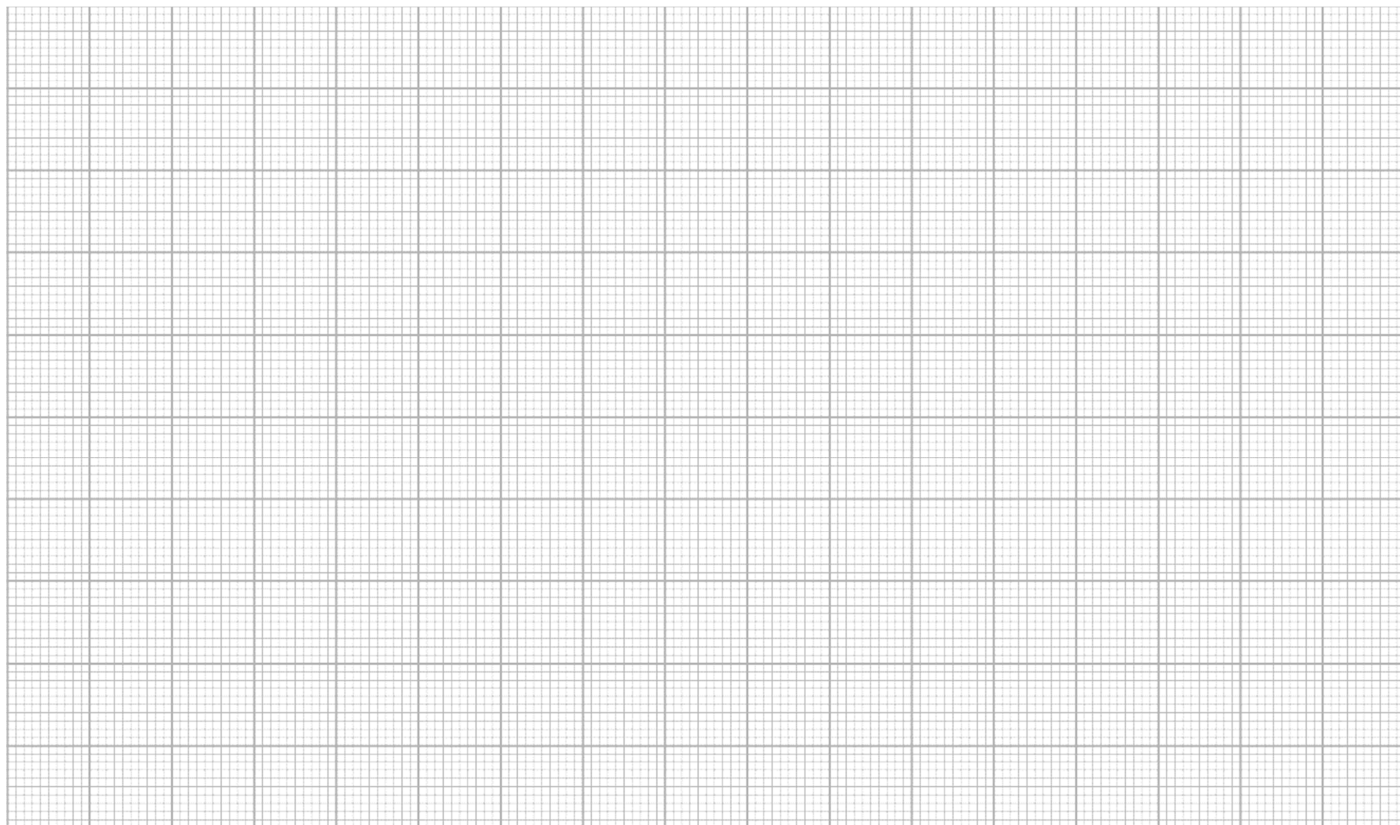
1. Zgodnie z instrukcją wykonać pomiary przemian fazowych.
2. Uzyskane w czasie pomiarów wartości temperatury, entalpii oraz szerokości połówkowej przemiany wpisać do tabeli pomiarowej.

Nr próbki	Temperatura przemiany [°C]	Pole powierzchni pod krzywą	Szerokość połówkowa piku
DMPC			
DMPG			
DPPC			
NIEZNANY LIPID			

Nazwa nieznanego lipidu

II. CZĘŚĆ TEORETYCZNA

1.A.



2.

A. Czym jest przemiana fazowa?

.....

.....

.....

B. Jakie przemiany fazowe są charakterystyczne dla fosfolipidów?

.....

.....

.....

C. Opisz zmiany jakie zachodzą w dwuwarstwie lipidowej w trakcie przedprzejścia.?

.....

.....

.....

D. Jakich informacji dostarcza szerokość połówkowa piku mikrokalorymetrycznego?

.....

.....

E. Co to jest entalpia?

.....

.....

F. Jak można wykorzystać metodę różnicowej mikrokalorymetrii skanningowej w farmakologii?

.....

.....

.....