

APPLICAZIONI della SDS-PAGE

Una delle applicazioni della SDS-PAGE è quella di poter determinare il peso molecolare di una proteina incognita a partire da una retta std ottenuta facendo migrare nello stesso gel una miscela di marker a peso molecolare noto. Infatti, in SDS-PAGE la relazione tra $\log(MW)$ e R_f è approssimativamente lineare su un certo intervallo.

Poiché in uno dei gel sono evidenti le bande dei pesi molecolari, potete calcolare i pesi molecolari delle due proteine presenti nel controllo e valutare se il loro peso molecolare è come atteso.

Per fare questo dovete:

- 1) Mettere il gel colorato tra due fogli lucidi.
- 2) Utilizzando un righello, calcolare la mobilità relativa degli standard di peso molecolare (R_f) e delle due proteine presenti nella lane del CTRL: misurare le distanze (in mm) dal bordo del pozzetto alla posizione di ogni banda del marker e delle bande incognite, e la distanza del fronte di corsa (bbf).
- 3) Calcolare la mobilità relativa (R_f) per ogni banda:
 $R_f = \text{distanza banda} / \text{distanza bbf}$ (valori 0–1).
- 4) Costruire la curva standard: **Log(MW)** (asse y) in funzione di **R_f** (asse x).
- 5) Eseguire una regressione lineare dei punti ottenuti e ottenere l'equazione. Utilizzando quest'ultima insieme ai valori di R_f della banda incognita, ricavate i valori di MW di quest'ultima.