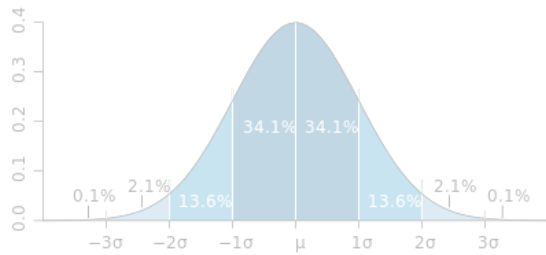
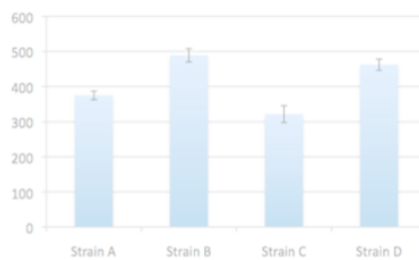


### 3. vaja

## Prileganje krivulj in statistika



$$SE = \sigma / \sqrt{n}$$



Miha Pavšič  
marec 2014

### Pregled vaje

#### Prileganje krivulj

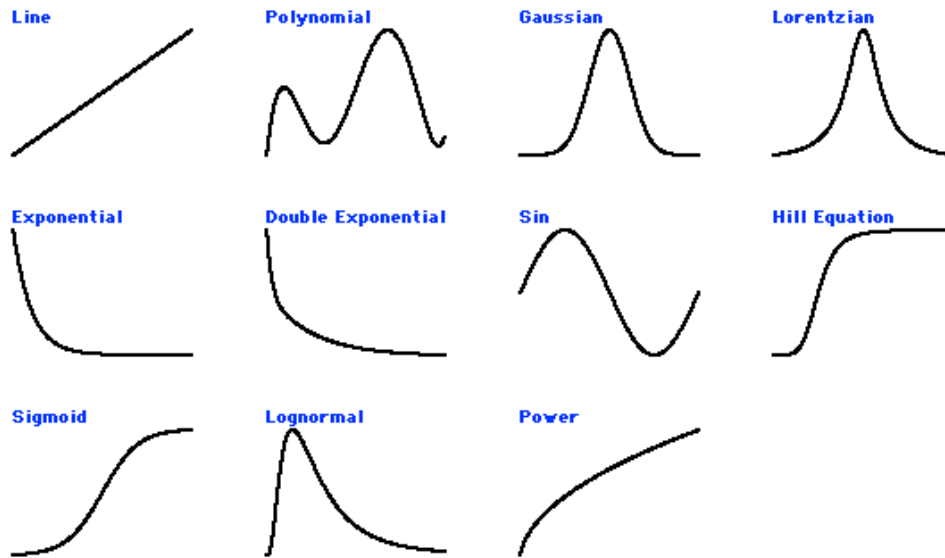
- linearna enačba
  - primer: proteinski test po Bradfordu
- nelinearna enačba
  - primer: Michaelis-Mentenova kinetika
  - preoblikovanje v linearno enačbo

#### Statistika

- histogrami - porazdelitev
- izračun nekaterih pogosto uporabljenih statističnih parametrov
- risanje diagramov z dodano oceno napak

## Izbira tipa krivulje

Kateri tip krivulje izberemo za prileganje na dane podatke je odvisno od tega, kakšna je dejanska zveza med količinama oz. količinami.



## Linearna odvisnost

- enačba  $y = k \times x + n$
- uporabljamo jo, ko je zveza med spremenljivkama linearna

• primer:  $A_{280} = \epsilon_{280} \times c \times l$

$\uparrow$                      $\uparrow$                      $\uparrow$                      $\uparrow$   
 $y$                     konst.                     $x$                     konst.

- včasih lahko zvezo, ki sicer ni linearna, preoblikujemo v linearno odvisnost

• primer:  $y = A \times e^{-kx}$

• preoblikujemo v:  $\ln(y) = \ln(A) - k \times x$

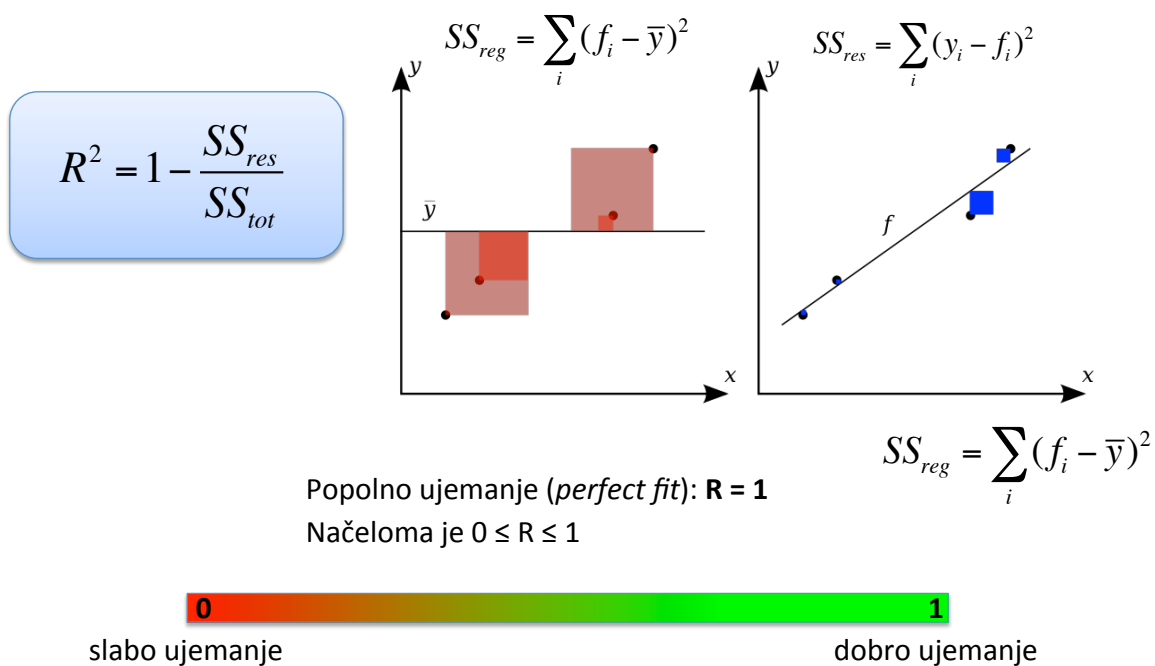
$\uparrow$                      $\uparrow$                      $\uparrow$                      $\uparrow$   
 $y$                     konst.                    konst.                     $x$

- v določenih primerih upoštevamo, da je  $n=0$ 
  - odvisno od primera do primera – poznati moramo zvezo med spremenljivkama oz. **biokemijsko/fizikalno ozadje**

## Kako dobro se naš model ujema s podatki?

### Razlaga na primeru linearne odvisnosti

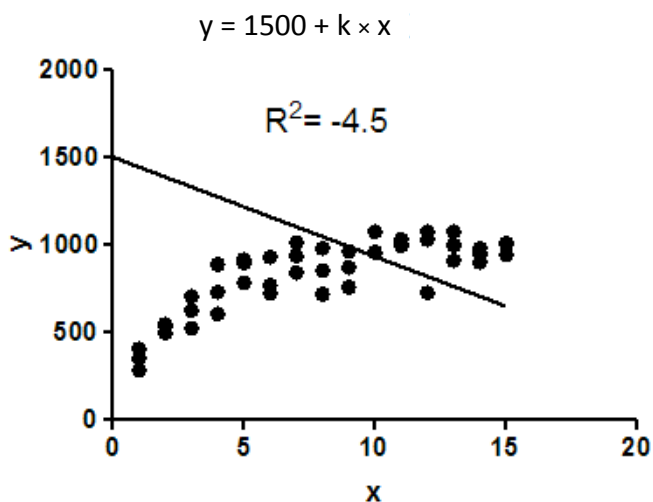
Faktor **R-kvadrat** ( $R^2$ ) nam pove, kako dobro se naš model ujema z dejanskimi podatki.



## Kako dobro se naš model ujema s podatki?

### Razlaga na primeru linearne odvisnosti

V kolikor postavimo **napačen model** (in po možnosti se katerega od parametrov med prileganjem fiksiramo), je lahko  **$R < 0$**  !



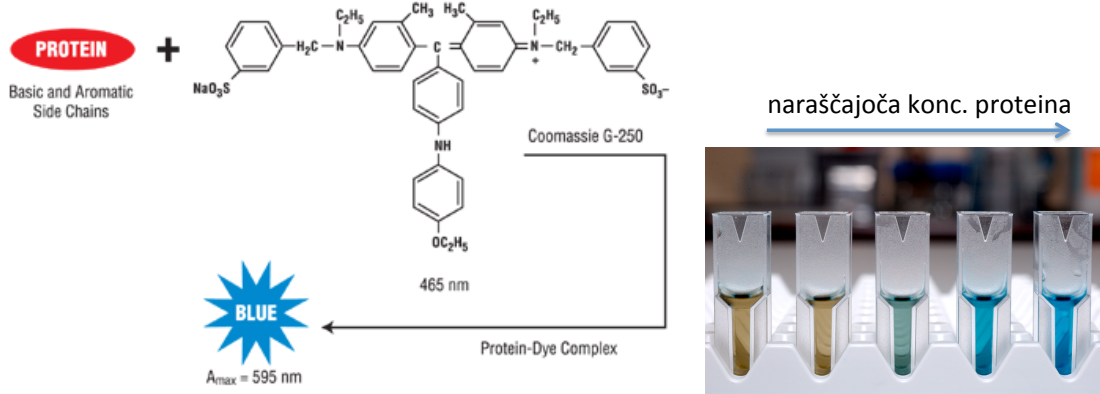
V primeru na desni je:

- bil izbran napačen model in
- parameter  $n$  (1500) fiksiran z napačno vrednostjo.

## Naloga 1: Test po Bradfordu

### Biokemijsko ozadje

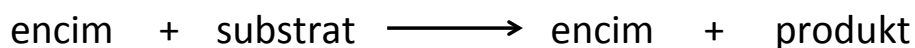
- kolorimetrična metoda za določanje koncentracije proteina/proteinov
- princip:



- metoda ni absolutna – potrebujemo umeritveno krivuljo
  - umeritveno premico narišemo na osnovi meritev z raztopinami BSA (goveji serumski albumin) znanih koncentracij
- v našem primeru je umeritvena krivulja premica ( $A \propto \gamma$ );  $A_{595} = \gamma$ ,  $\gamma = x$ 
  - koncentracija mora biti (v tem primeru) masna!!!

## Naloga 2: Michaelis-Mentenova kinetika

### Biokemijsko ozadje



hitrost encimsko katalizirane reakcije ( $v$ ):

$$v = v_{\max} \frac{[S]}{K_m + [S]}$$

$$v_{\max} = v_0$$

[S] – konc. substrata

$K_m$  – Michaelis-mentenova konstanta;

enaka [S] pri  $v = v_{\max}/2$

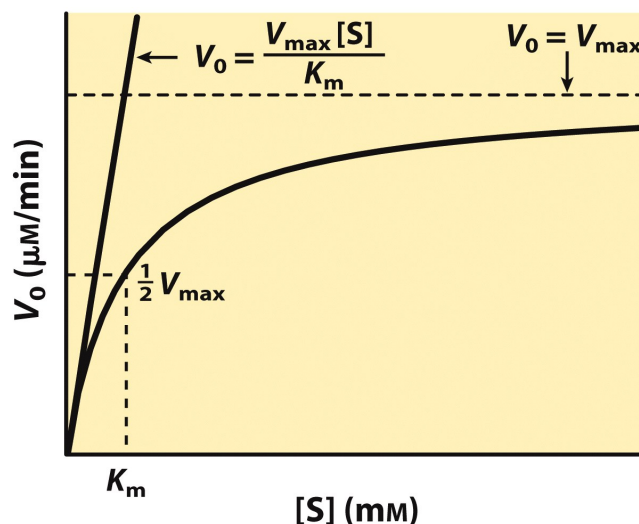


Figure 6-12  
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition  
© 2008 W. H. Freeman and Company

## Naloga 2: Michaelis-Mentenova kinetika

### Biokemijsko ozadje

Michaelis-Mentenovo enačbo obrnemo in preoblikujemo v linearno enačbo:

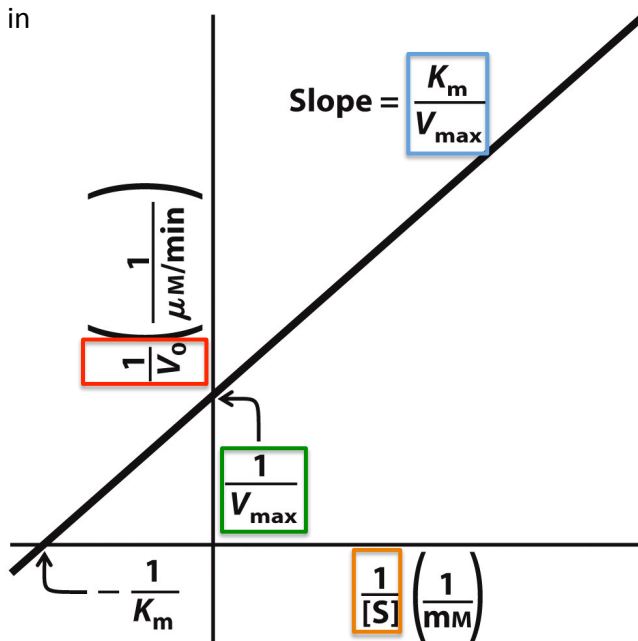
$$v = v_{\max} \frac{[S]}{K_m + [S]}$$

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{v_{\max}} \times \frac{K_m + [S]}{[S]}$$

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{v_{\max}} \times \frac{K_m}{[S]} + \frac{1}{v_{\max}} \times \frac{[S]}{[S]}$$

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{v_{\max}} \times \frac{1}{[S]} + \frac{1}{v_{\max}}$$

y naklon x presečišče-y



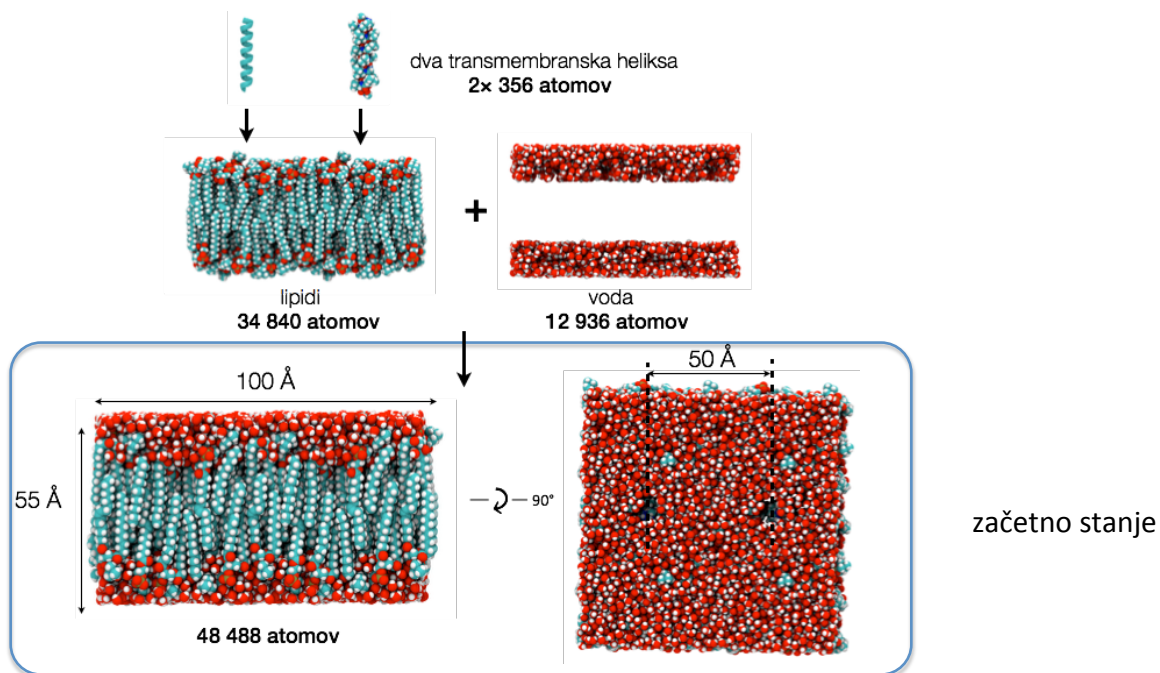
Box 6-1 figure 1  
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition  
© 2008 W. H. Freeman and Company

Lineweaver-Burkov diagram

## Naloga 3: Molekulska dinamika – simulacija dveh heliksov v membrani

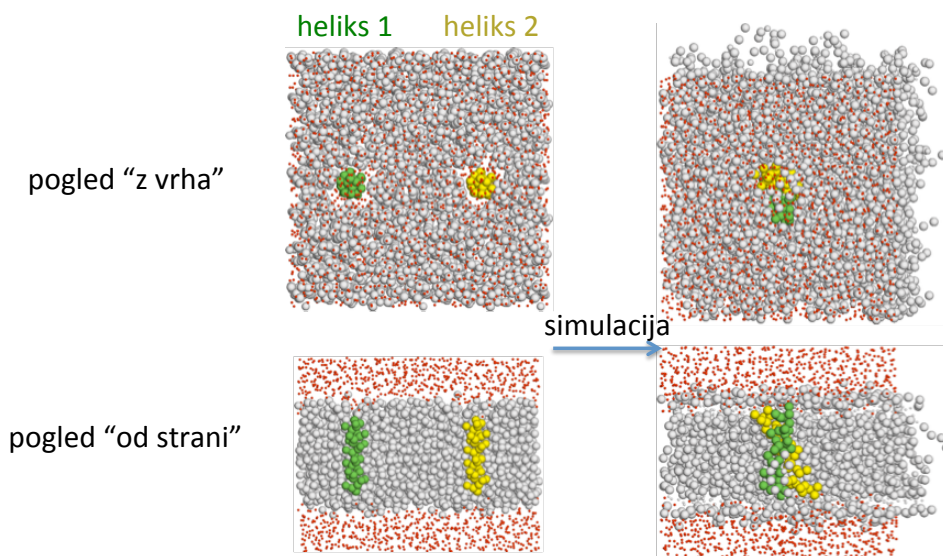
### Biokemijsko ozadje

S pomočjo molekulske dinamike lahko simuliramo gibanje... (makro)molekul (to bomo podrobneje obravnavali na predavanjih proti koncu semestra).



## Naloga 3: Molekulska dinamika – simulacija dveh heliksov v membrani

### Biokemijsko ozadje



Heliksa se zaradi difuzije gibljeta po membrani. Ko se srečata, ostaneta skupaj (dimer je stabilen).

Relativni kot med heliksoma:



- desno  
+ levo

## Standardna deviacija in varianca

**Standardna deviacija (SD,  $\sigma$ )** nam pove, kakšno je sipanje (disperzija) podatkov od povprečja.

izmerjena vrednost    povprečna vrednost

$$s_N = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}$$

N – velikost vzorca

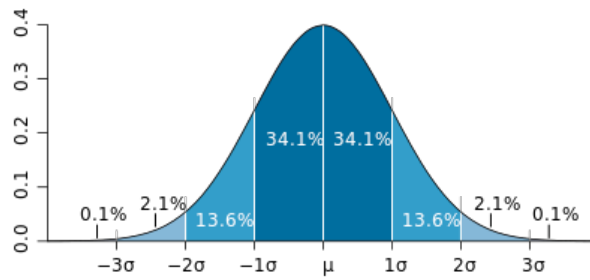
nekorrigirana vrednost

$$s = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}$$

**korrigirana vrednost**  
Besselova korekcija  
(le-to nam izračuna Excel)

Standardna deviacija je kvadratni koren variance.

## Standardna deviacija in varianca – geometrična interpretacija



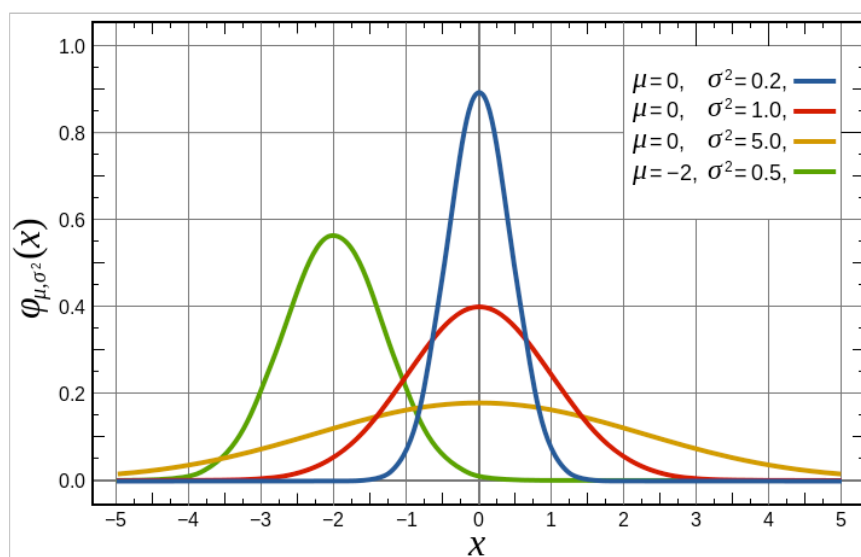
$$f(x; \mu, \sigma^2) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{1}{2}\left(\frac{x-\mu}{\sigma}\right)^2}$$

normalna distribucija  
( $\mu$  - povprečje)

$z\sigma$	% znotraj OZ	% zunaj OZ
1	68,268	31,731
2	95,449	4,550
3	99,730	0,269
4	99,993	0,006
5	99,999	0,000

OZ = območje zanesljivosti (angl. CI, *confidence interval*)

## Standardna deviacija in varianca – geometrična interpretacija



Večja vrednost  $\sigma \rightarrow$  večja raztegnjenost krivulje.

## Standardna napaka povprečja (SE, *standard error of the mean*)

$$SE_{\bar{x}} = \frac{s}{\sqrt{N}}$$

s – standardna deviacija  
N – velikost vzorca

### Standardna deviacija

je merilo, s katerim opišemo variiranje neke lastnosti od povprečja vzorca.

### Standardna napaka povprečja

je ocena, kako daleč je povprečje vzorca od povprečja celotne populacije.

Pri fiksni standardni deviaciji se z večanjem števila vzorca standardna napaka manjša.

## Naloga 5: Vezava /disociacijska konstanta za enostaven primer Biokemijsko ozadje



$$K_d = \frac{[A][E]}{[EA]}$$

disociacijska konstanta

Izmerjen celotni signal pri vezavi spojine A na protein E lahko opišemo kot vsoto:

- signala zaradi specifične vezave (vezava v skladu z zgornjo enačbo)
- signala zaradi nespecifične vezave:  $NS \times [S]$  + ozadje

celotna vezava = specifična vezava + nespecifična vezava

Signal specifične vezave, ki je sorazmeren s količino kompleksa:

$$signal = signal_{\max} \frac{[A]}{K_d + [A]}$$

