

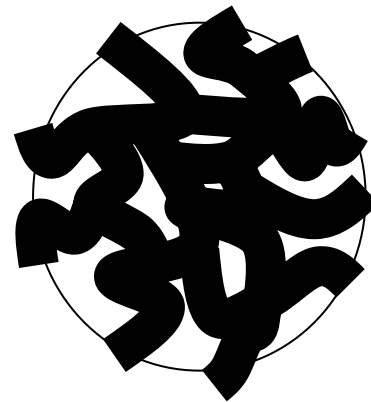
# Χρωματογραφία μοριακής διήθησης

# Χρωματογραφία μοριακής διήθησης

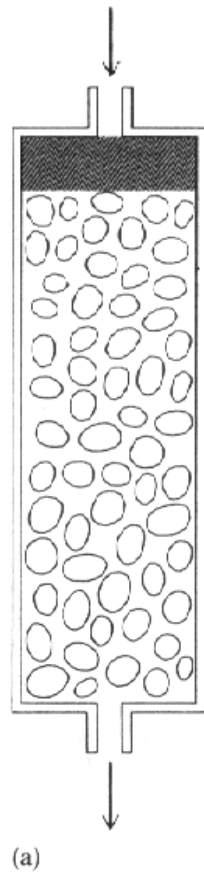
Το υλικό χρωματογραφίας που χρησιμοποιείται αποτελείται από πορώδη σφαιρίδια ενός πολυμερούς υλικού όπως **cross-linked** πολυδεξτράνες και **cross-linked** πολυακρυλαμίδες.

# Χρωματογραφία μοριακής διήθησης

Το υλικό χρωματογραφίας που χρησιμοποιείται αποτελείται από πορώδη σφαιρίδια ενός πολυμερούς υλικού όπως **cross-linked** πολυδεξτράνες και **cross-linked** πολυακρυλαμίδες.



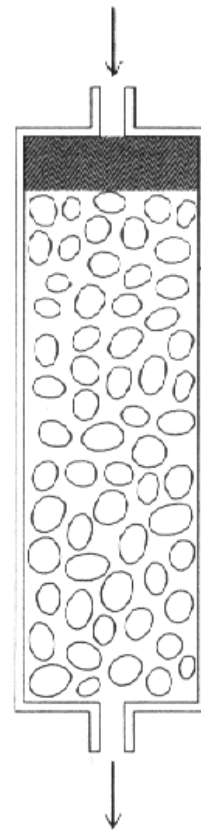
# Χρωματογραφία μοριακής διήθησης



# Χρωματογραφία μοριακής διήθησης

Ο συνολικός όγκος της  
στήλης είναι :

$$V_t = V_o + V_b$$



(a)

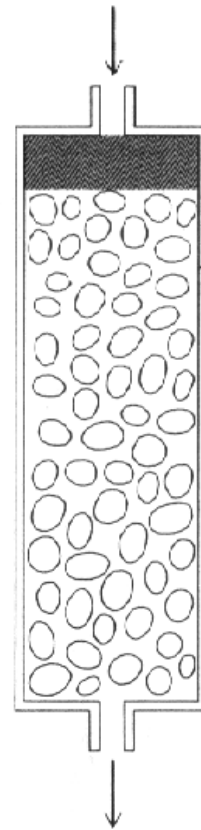
# Χρωματογραφία μοριακής διήθησης

Ο συνολικός όγκος της  
στήλης είναι :

$$V_t = V_o + V_b$$



Συνολικός  
όγκος  
στήλης



(a)

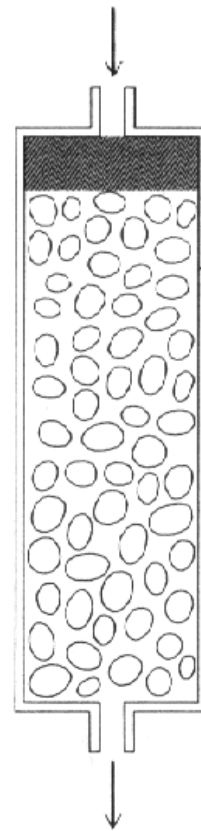
# Χρωματογραφία μοριακής διήθησης

Ο συνολικός όγκος της στήλης είναι :

$$V_t = V_o + V_b$$



Ο όγκος που αφήνεται ανάμεσα στα σφαιρίδια κατά το πακετάρισμα του υλικού. Ο όγκος αυτός καταλαμβάνεται από τον διαλύτη.



(a)

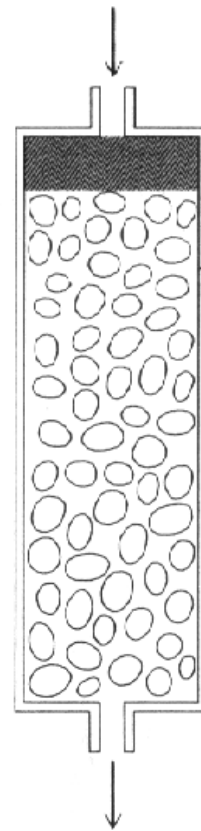
# Χρωματογραφία μοριακής διήθησης

Ο συνολικός όγκος της  
στήλης είναι :

$$V_t = V_o + V_b$$



Νεκρός όγκος



(a)



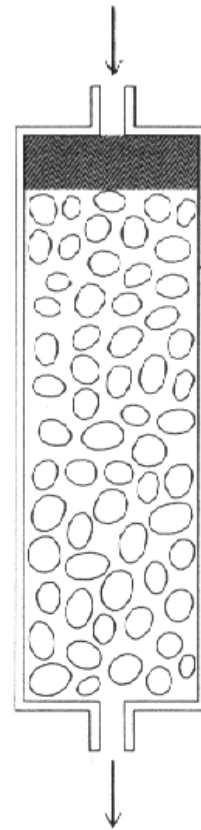
# Χρωματογραφία μοριακής διήθησης

Ο συνολικός όγκος της  
στήλης είναι :

$$V_t = V_o + V_b$$



Ο συνολικός όγκος των  
σφαιριδίων του υλικού.

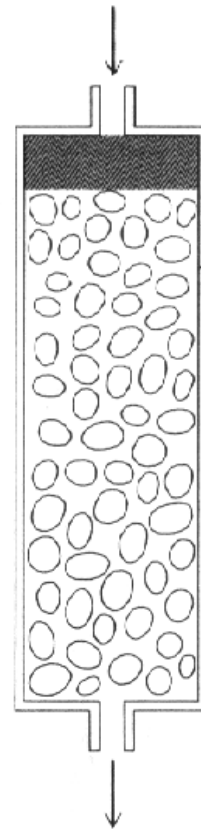


(a)

# Χρωματογραφία μοριακής διήθησης

Όταν διάλυμα μιας ουσίας προστεθεί στη στήλη τότε ανάλογα με το μέγεθος των μορίων της αυτή κατανέμεται στο διαλύτη που βρίσκεται εντός και εκτός των σφαιριδίων σύμφωνα με έναν συντελεστή κατανομής,  $\sigma$ . Ισχύει  $\sigma = C_b / C_o$

12/3/2008



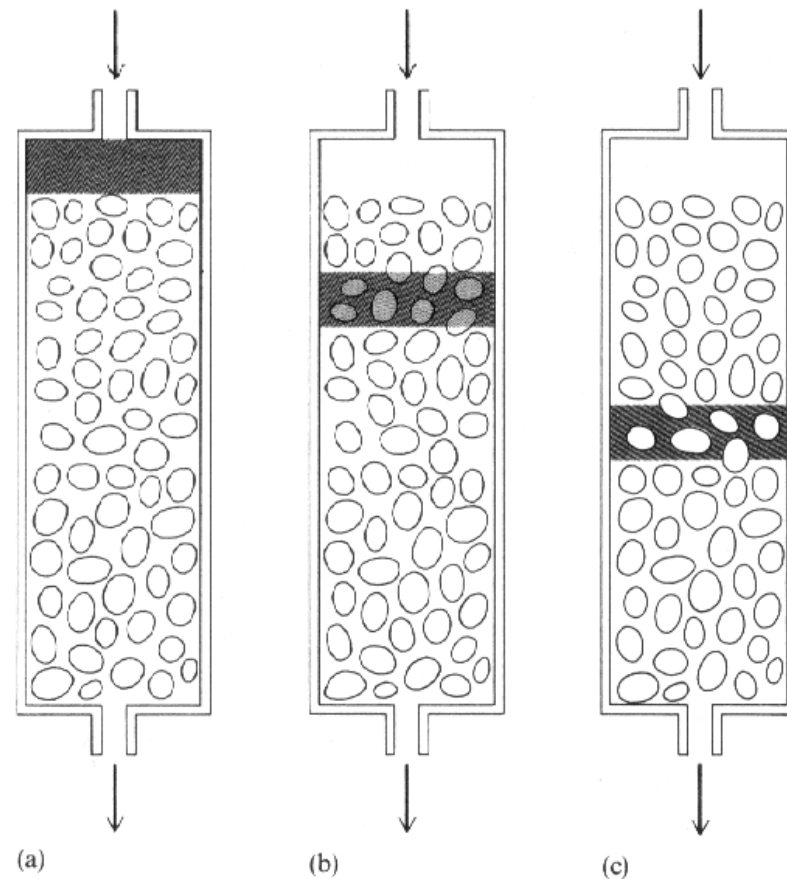
(a)

$C_b$  είναι η συγκέντρωση της ουσίας στους πόρους των σφαιριδίων και  $C_o$  είναι η συγκέντρωση της ουσίας στον εξωτερικό διαλύτη.

# Χρωματογραφία μοριακής διήθησης

Διαχωρισμός με μοριακή διήθηση (μ.δ.)

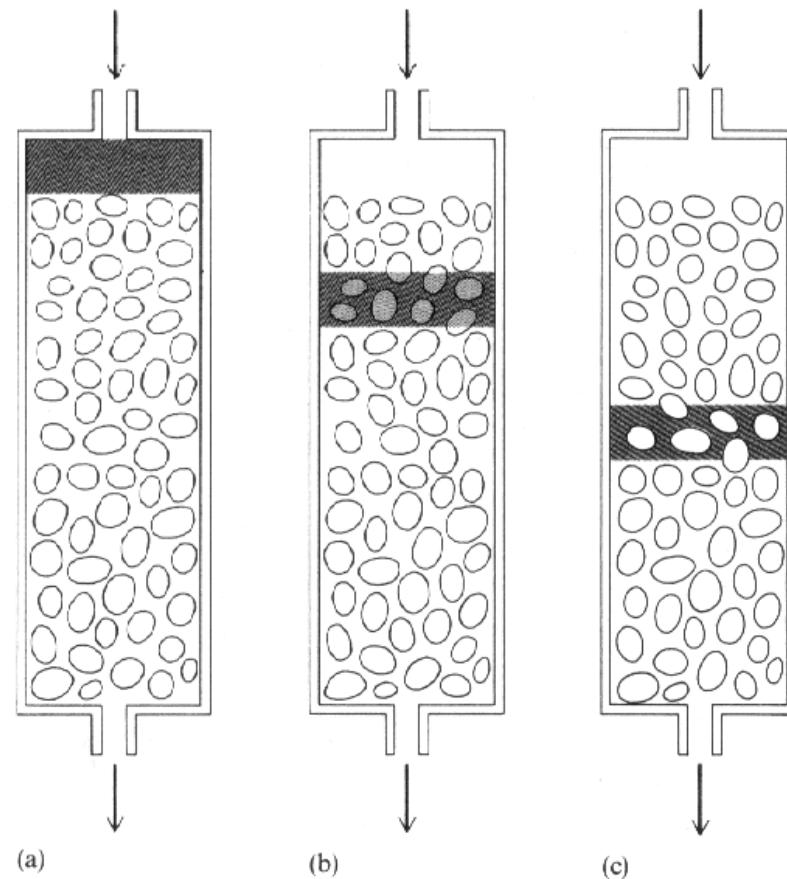
Όταν ένα μίγμα ουσιών προστίθεται σε μια στήλη μ.δ. κάθε ουσία εκλύεται από τη στήλη σε διαφορετικό όγκο ανάλογα με τον συντελεστή κατανομής της ( $\sigma$ ).



# Χρωματογραφία μοριακής διήθησης

Διαχωρισμός με μοριακή διήθηση (μ.δ.)

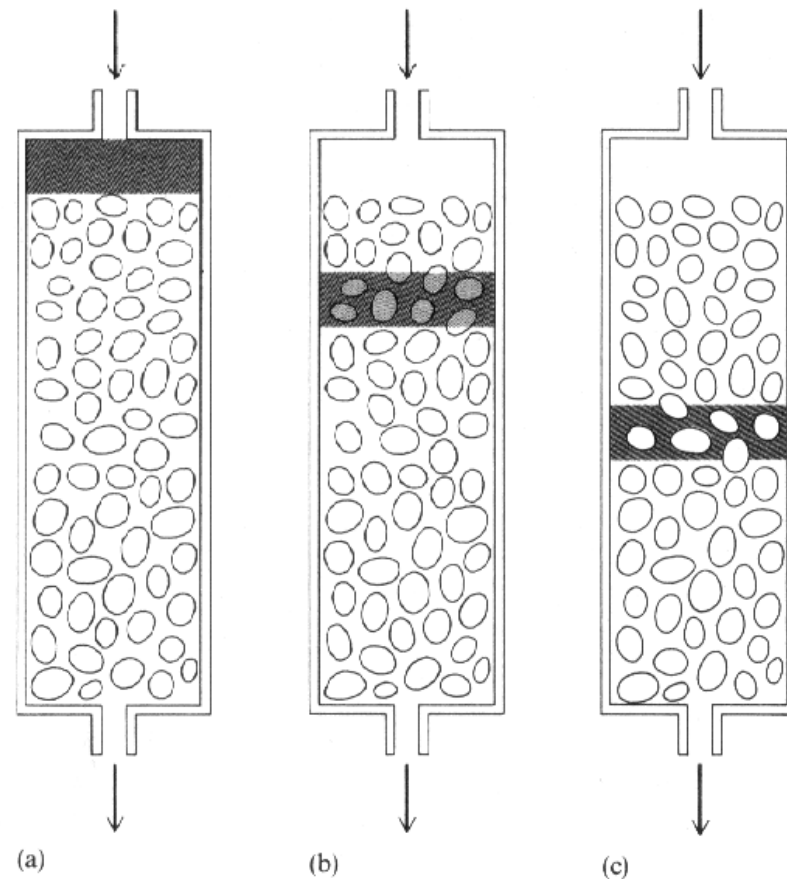
Μια ουσία μεγάλου μοριακού βάρους με μέγεθος μεγαλύτερο από το μέγεθος των πόρων θα εκλουσθεί πολύ γρήγορα σε όγκο ίσο με τον όγκο  $V_0$ .



# Χρωματογραφία μοριακής διήθησης

## Διαχωρισμός με μοριακή διήθηση (μ.δ.)

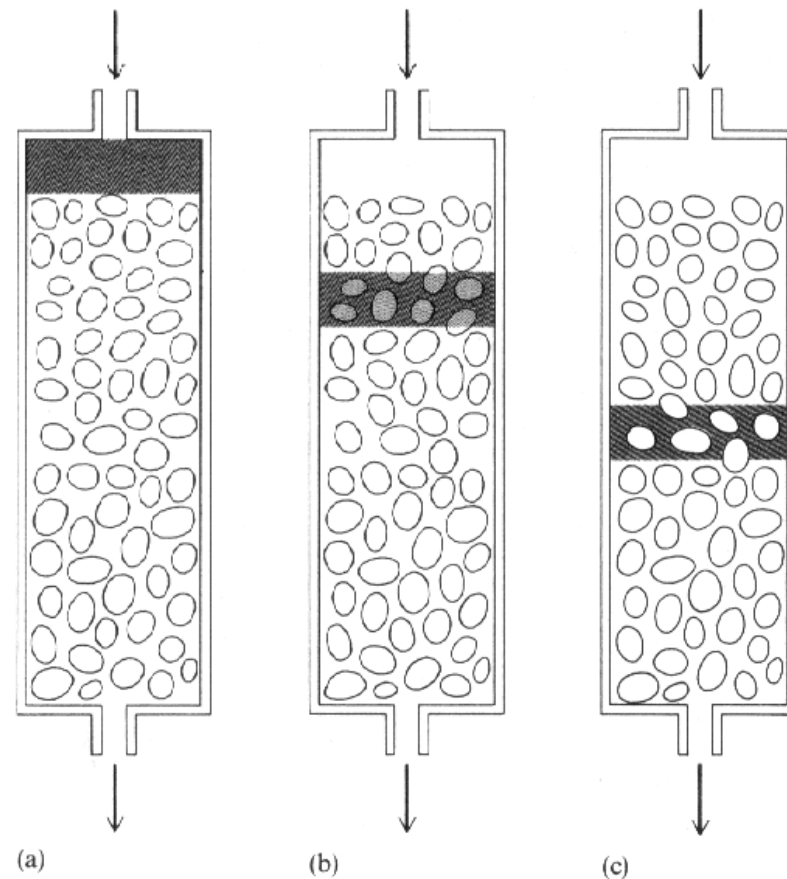
Αντίθετα μια ουσία μικρού μοριακού βάρους με μέγεθος μικρότερο από το μέγεθος των πόρων θα εισχωρήσει στους πόρους πολλών σφαιριδίων κατά την κίνηση της στη στήλη και θα εκλουσθεί πολύ αργά σε όγκο ίσο σχεδόν με τον συνολικό όγκο  $V_t$ .



# Χρωματογραφία μοριακής διήθησης

Διαχωρισμός με μοριακή διήθηση (μ.δ.)

Ο διαχωρισμός με μοριακή διήθηση εξαρτάται και από το σχήμα των μορίων.



# Χρωματογραφία μοριακής διήθησης

Εκτίμηση μοριακού βάρους από τον όγκο έκλουσης με χρωματογραφία μοριακής διήθησης.

Μια ομάδα σφαιρικών πρωτεϊνών γνωστού μοριακού βάρους χρησιμοποιείται ως ομάδα αναφοράς.

Οι πρωτεΐνες αυτές προστίθενται στη στήλη μοριακής διήθησης και μετράται ο όγκος έκλουσης της καθεμιάς. Έτσι φιάχνεται η γραφική παράσταση του όγκου έκλουσης ως συνάρτηση του μοριακού βάρους (στην πραγματικότητα του δεκαδικού λογαρίθμου του μοριακού βάρους) που αποτελεί την πρότυπη καμπύλη αναφοράς.

# Χρωματογραφία μοριακής διήθησης

Εκτίμηση μοριακού βάρους από τον όγκο έκλουσης σε χρωματογραφία μοριακής διήθησης.

Στην ίδια στήλη προστίθεται στη συνέχεια η πρωτεΐνη-δείγμα της οποίας το μοριακό βάρος θέλουμε να προσδιορίσουμε (στην πραγματικότητα έχοντας υπολογίσει το θεωρητικό βάρος του μονομερούς της πρωτεΐνης από την αλληλουχία της θέλουμε να μάθουμε ποιά είναι η ολιγομερική της κατάσταση στο διάλυμα δηλαδή αν είναι μονομερής, διμερής, τριμερής κ.τ.λ.).



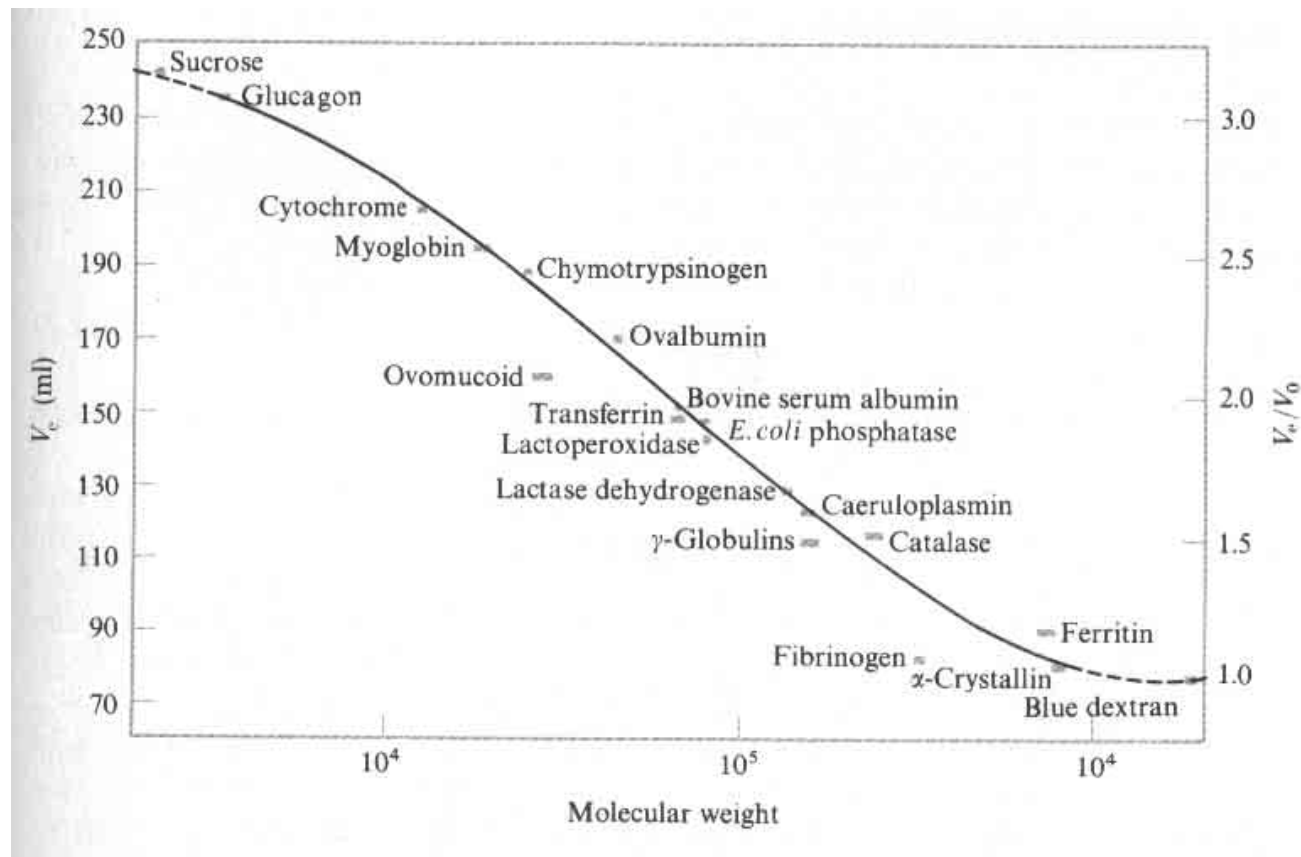
# Χρωματογραφία μοριακής διήθησης

Εκτίμηση μοριακού βάρους από τον όγκο έκλουσης σε χρωματογραφία μοριακής διήθησης.

Από τον όγκο έκλουσης του δείγματος και την πρότυπη καμπύλη αναφοράς εκτιμούμε το μοριακό βάρος της πρωτεΐνης στο διάλυμα. Στη συνέχεια συγκρίνουμε αυτό το εκτιμώμενο μοριακό βάρος με το θεωρητικό βάρος του μονομερούς. Η μεταξύ τους σχέση είναι ένδειξη της ολιγομερικής κατάστασης του δείγματος στο διάλυμα.

# Χρωματογραφία μοριακής διήθησης

Εκτίμηση μοριακού βάρους από τον όγκο έκλουσης σε χρωματογραφία μοριακής διήθησης.



# Χρωματογραφία μοριακής διήθησης

Χρησιμοποιείται για :

- Το διαχωρισμό ενός πρωτεϊνικού μίγματος στα συστατικά του με βάση το μέγεθος τους.
- Την εκτίμηση του μοριακού βάρους μιας πρωτεΐνης σε διάλυμα δηλαδή την εκτίμηση της ολιγομερικής της κατάστασης συγκρίνοντας το θεωρητικό μοριακό βάρος του μονομερούς με το μοριακό βάρος που αντιστοιχεί στον όγκο έκλυσης της πρωτεΐνης.

# Αναλυτική Υπερφυγοκέντρωση

# Εφαρμογές Αναλυτικής Υπερφυγοκέντρωσης

- Εκτίμηση καθαρότητας και ομοιογένειας δείγματος.
- Εκτίμηση μοριακού βάρους.
- Μελέτη της αλληλεπίδρασης μεταξύ βιομορίων του ίδιου ή διαφορετικών ειδών ή μεταξύ ενός βιομορίου και ενός προσδέματος ή υποστρώματος.
- Ανίχνευση της αλλαγής διαμόρφωσης ενός βιομορίου.

# Πείραμα

## Αναλυτικής Υπερφυγοκέντρωσης

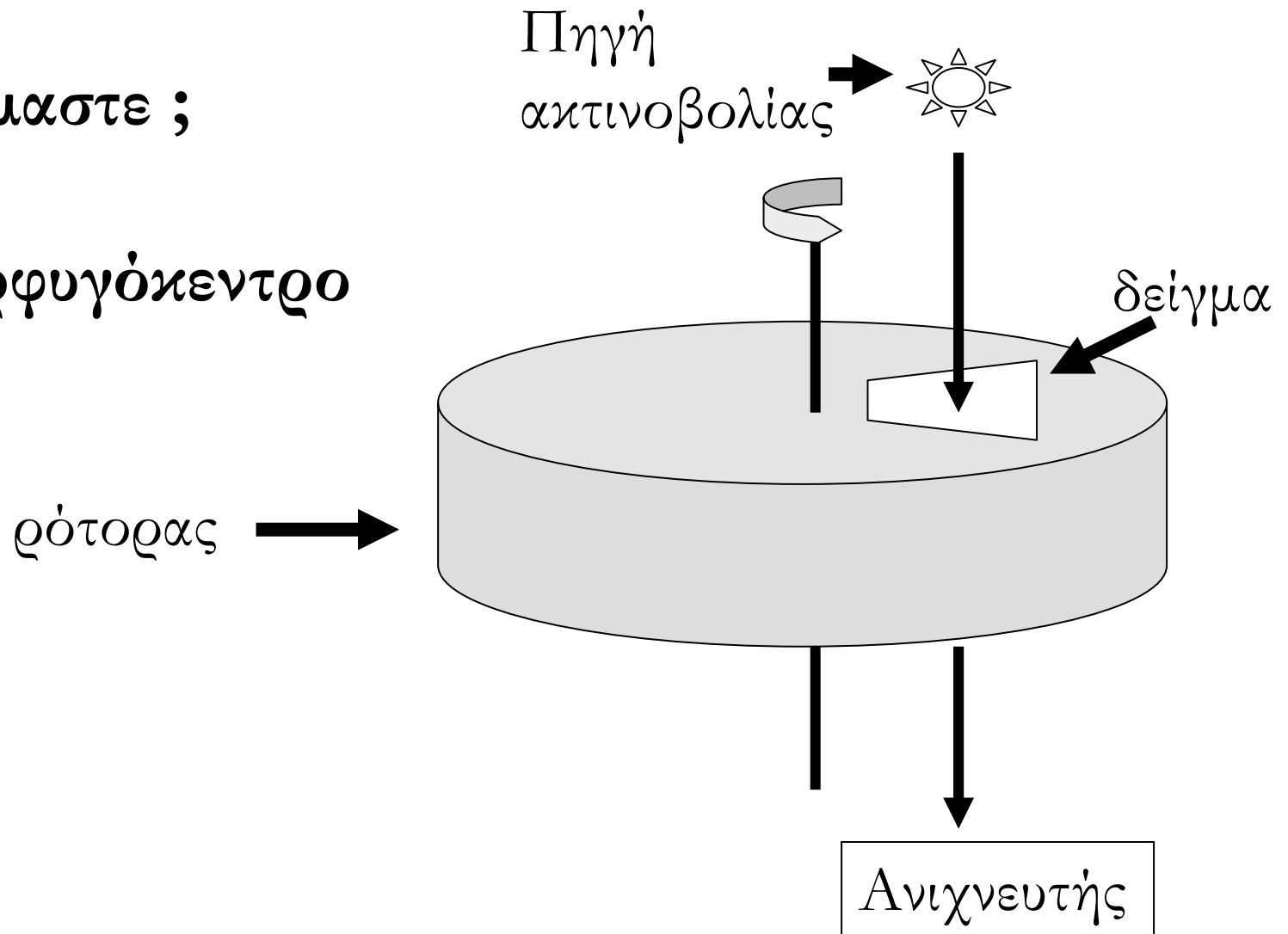
Τι χρειαζόμαστε ;

- ✓ Μια υπερφυγόκεντρο
- ✓ Κυψελίδες για την υποδοχή του δείγματος
- ✓ Οπτικό σύστημα για τη μέτρηση της κατανομής του δείγματος (π.χ. Φασματοφωτόμετρο).

# Πείραμα Αναλυτικής Υπερφυγοκέντρωσης

Τι χρειαζόμαστε ;

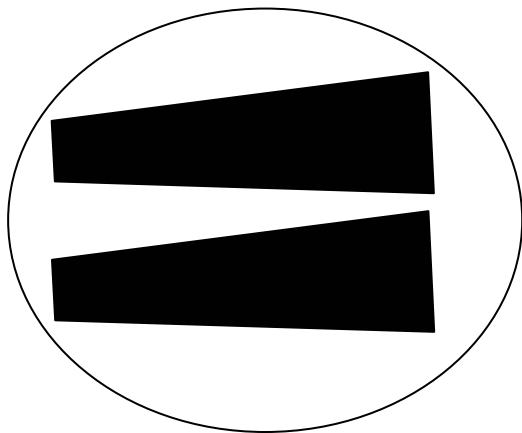
✓ Μια υπερφυγόκεντρο



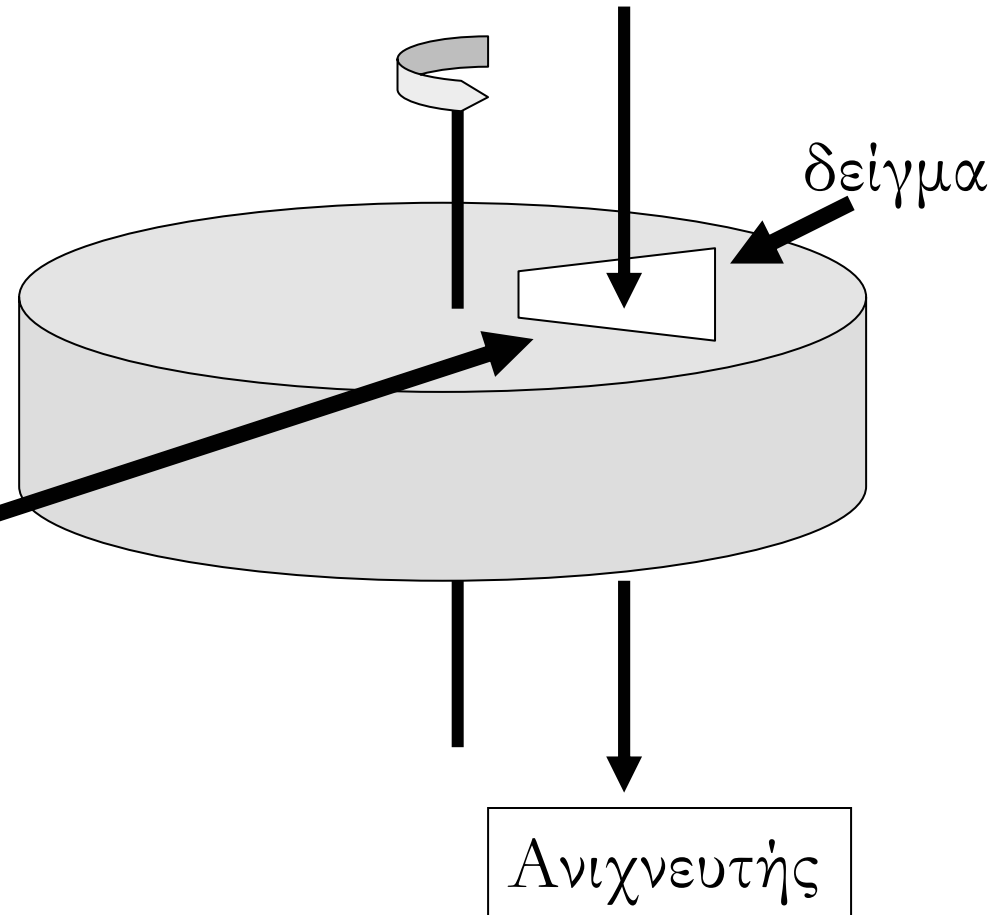
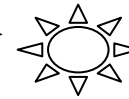
# Πείραμα Αναλυτικής Υπερφυγοκέντρωσης

Τι χρειαζόμαστε ;

✓ Κυψελίδες για την υποδοχή του δείγματος



Πηγή  
ακτινοβολίας →



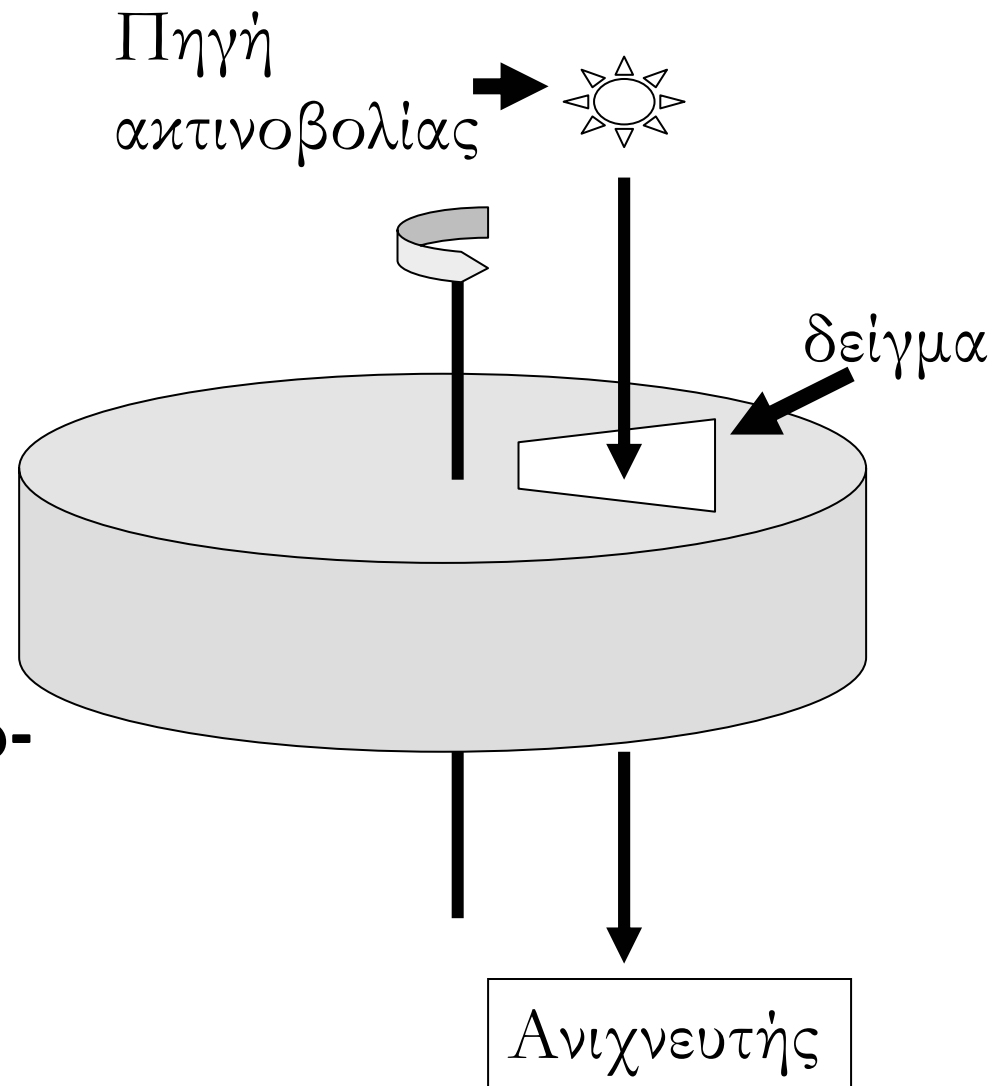


# Πείραμα

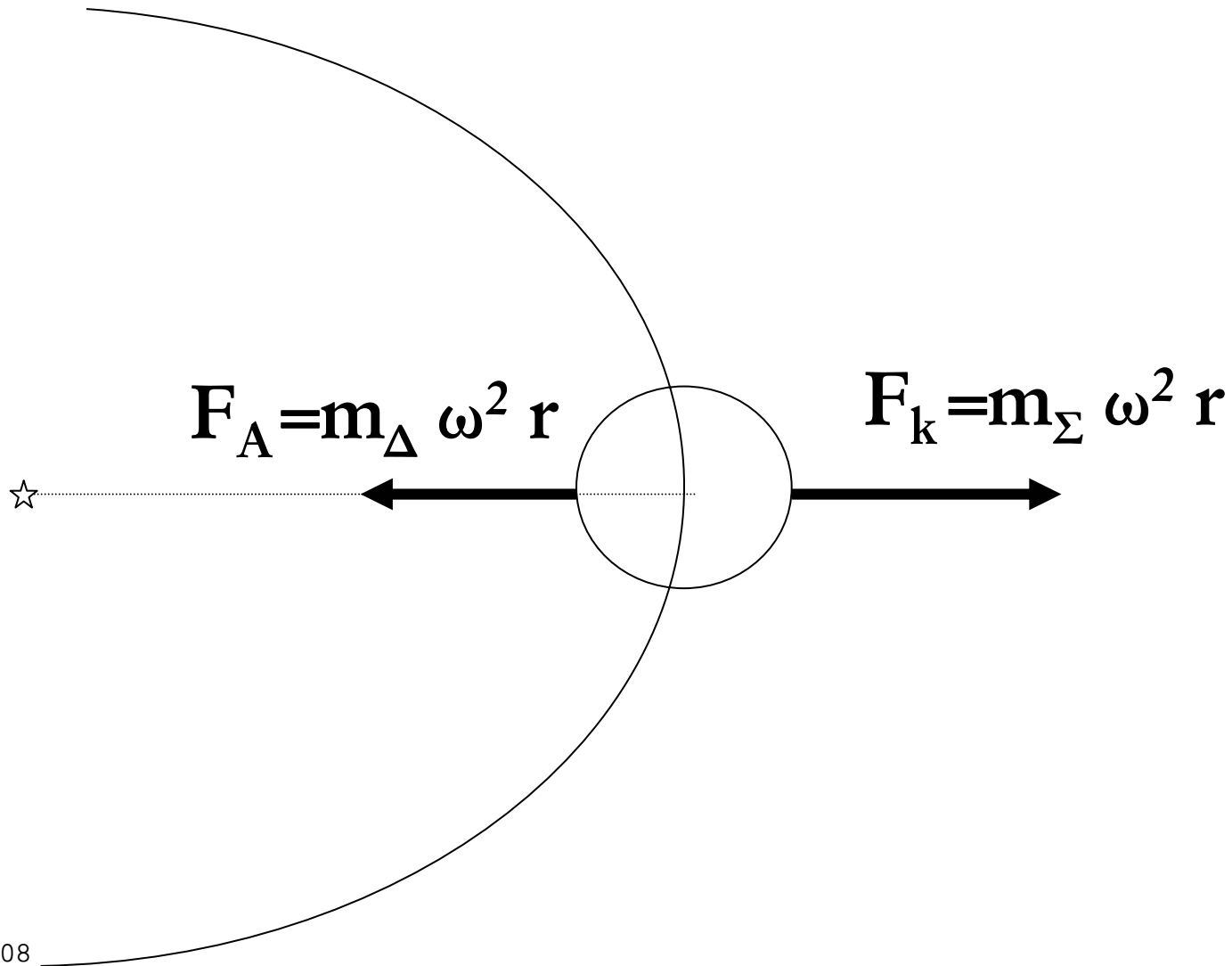
## Αναλυτικής Υπερφυγοκέντρωσης

Τι χρειαζόμαστε ;

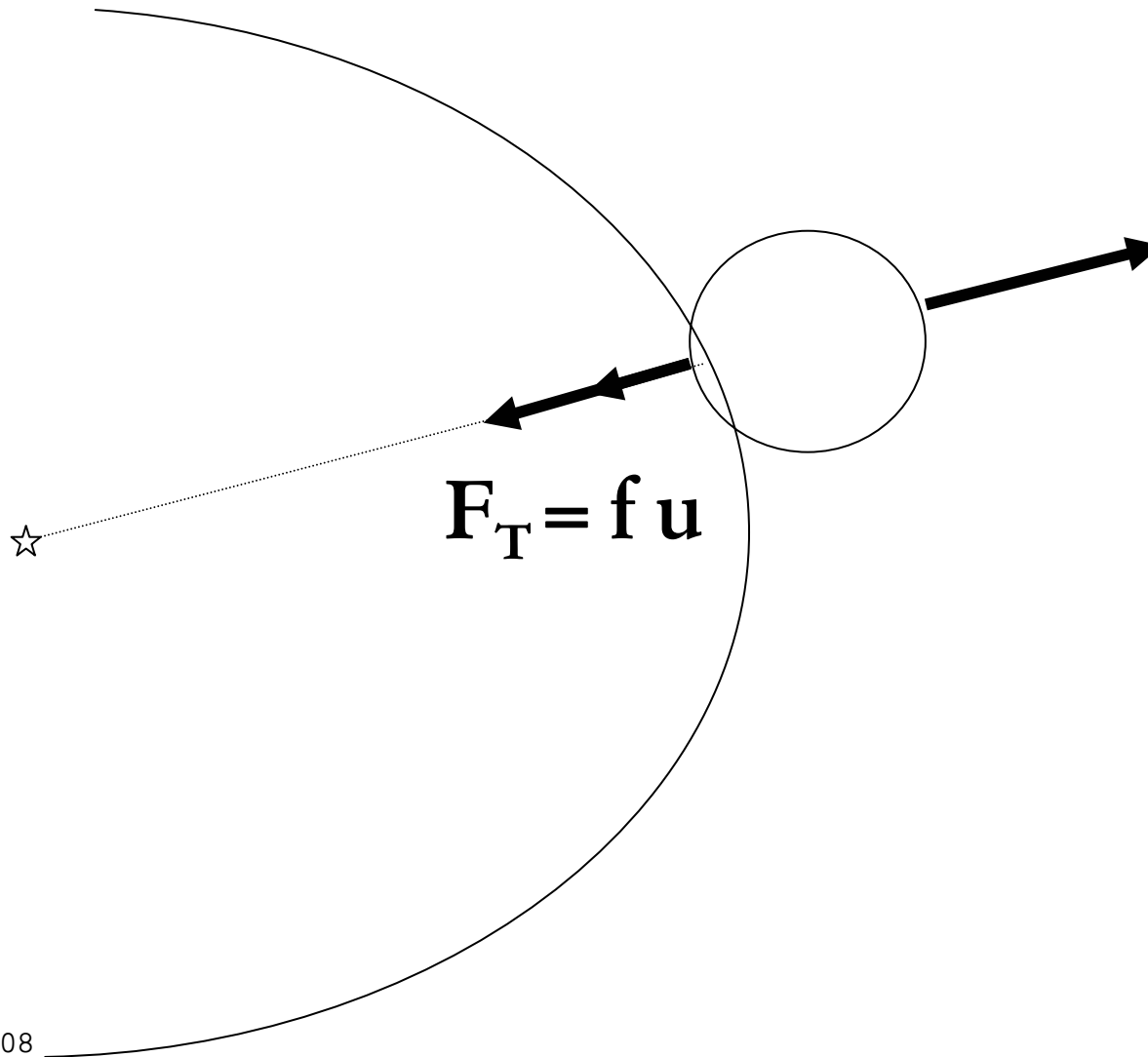
✓ Οπτικό σύστημα για την παρακολούθηση της κατανομής του δείγματος π.χ. μέτρηση της απορρόφησης με φασματοφωτόμετρο.



# Αναλυτική Υπερφυγοκέντρωση : η αρχή της μεθόδου

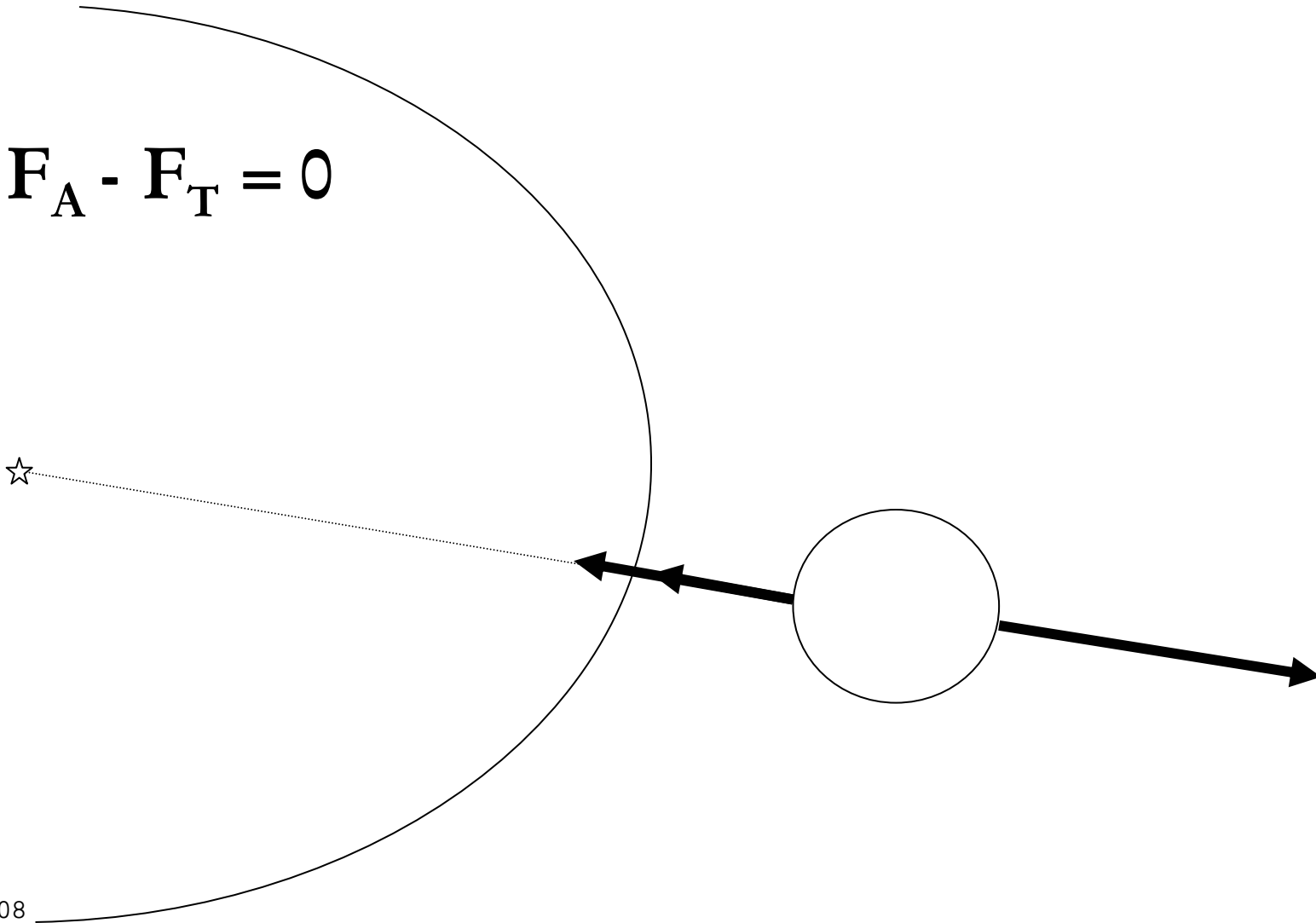


# Αναλυτική Υπερφυγοκέντρωση : η αρχή της μεθόδου



# Αναλυτική Υπερφυγοκέντρωση : η αρχή της μεθόδου

$$F_K - F_A - F_T = 0$$



# Αναλυτική Υπερφυγοκέντρωση : η αρχή της μεθόδου

$$F_K - F_A - F_T = 0 \Leftrightarrow$$

$$m_\Sigma \omega^2 r - m_\Delta \omega^2 r - f u = 0 \Leftrightarrow$$

# Αναλυτική Υπερφυγοκέντρωση : η αρχή της μεθόδου

$$F_K - F_A - F_T = 0 \Leftrightarrow$$

$$m_\Sigma \omega^2 r - m_\Delta \omega^2 r - f u = 0 \Leftrightarrow$$

$$(MW/N) \omega^2 r$$

# Αναλυτική Υπερφυγοκέντρωση : η αρχή της μεθόδου

$$F_K - F_A - F_T = 0 \Leftrightarrow$$

$$m_\Sigma \omega^2 r - m_\Delta \omega^2 r - f u = 0 \Leftrightarrow$$

$$(MW/N) \omega^2 r - \rho_\Delta V_\Delta \omega^2 r$$

# Αναλυτική Υπερφυγοκέντρωση : η αρχή της μεθόδου

$$F_K - F_A - F_T = 0 \Leftrightarrow$$

$$m_\Sigma \omega^2 r - m_\Delta \omega^2 r - f u = 0 \Leftrightarrow$$

$$(MW/N) \omega^2 r - \rho_\Delta V_\Delta \omega^2 r - f u = 0 \Leftrightarrow$$



# Αναλυτική Υπερφυγοκέντρωση : η αρχή της μεθόδου

Ειδικός μερικός όγκος,  $v_M$ , είναι όγκος που καταλαμβάνει 1gr μιας ουσίας.

# Αναλυτική Υπερφυγοκέντρηση : η αρχή της μεθόδου

Ειδικός μερικός όγκος,  $v_M$ , είναι όγκος που καταλαμβάνει 1gr μιας ουσίας.

| <u>Βιομόριο</u> | <u><math>v_M</math> (ml/g)</u> |
|-----------------|--------------------------------|
| Πρωτεΐνες       | 0.73 (0.70-0.75)               |

# Αναλυτική Υπερφυγοκέντρηση : η αρχή της μεθόδου

Ειδικός μερικός όγκος,  $v_M$ , είναι όγκος που καταλαμβάνει 1gr μιας ουσίας.

| <u>Βιομόριο</u> | <u><math>v_M</math> (ml/g)</u> |
|-----------------|--------------------------------|
| Πρωτεΐνες       | 0.73 (0.70-0.75)               |
| Πολυσακχαρίτες  | 0.61 (0.59-0.65)               |
| RNA             | 0.53 (0.47-0.55)               |
| DNA             | 0.58 (0.55-0.59)               |

# Αναλυτική Υπερφυγοκέντρωση : η αρχή της μεθόδου

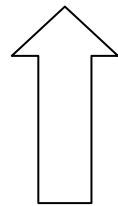
$$F_K - F_A - F_T = 0 \Leftrightarrow$$

$$m_\Sigma \omega^2 r - m_\Delta \omega^2 r - f u = 0 \Leftrightarrow$$

$$(MW/N) \omega^2 r - \rho_\Delta V_\Delta \omega^2 r - f u = 0 \Leftrightarrow$$

$$V_\Delta = V_\Sigma$$

$$\left. \begin{array}{l} m_\Sigma V_\Sigma \\ 1g \quad v_M \end{array} \right\}$$



$$V_\Sigma = v_M m_\Sigma$$

# Αναλυτική Υπερφυγοκέντρωση : η αρχή της μεθόδου

$$F_K - F_A - F_T = 0 \Leftrightarrow$$

$$m_\Sigma \omega^2 r - m_\Delta \omega^2 r - f u = 0 \Leftrightarrow$$

$$(MW/N) \omega^2 r - \rho_\Delta V_\Delta \omega^2 r - f u = 0 \Leftrightarrow$$

$$(MW/N) \omega^2 r - \rho_\Delta m_\Sigma v_M \omega^2 r - f u = 0 \Leftrightarrow$$

# Αναλυτική Υπερφυγοκέντρωση : η αρχή της μεθόδου

$$F_K - F_A - F_T = 0 \Leftrightarrow$$

$$m_\Sigma \omega^2 r - m_\Delta \omega^2 r - f u = 0 \Leftrightarrow$$

$$(MW/N) \omega^2 r - \rho_\Delta V_\Delta \omega^2 r - f u = 0 \Leftrightarrow$$

$$(MW/N) \omega^2 r - \rho_\Delta m_\Sigma v_M \omega^2 r - f u = 0 \Leftrightarrow$$

$$(MW/N) \omega^2 r - (MW/N) \rho_\Delta v_M \omega^2 r - f u = 0 \Leftrightarrow$$

# Αναλυτική Υπερφυγοκέντρωση : η αρχή της μεθόδου

$$F_K - F_A - F_T = 0 \Leftrightarrow$$

$$m_\Sigma \omega^2 r - m_\Delta \omega^2 r - f u = 0 \Leftrightarrow$$

$$(MW/N) \omega^2 r - \rho_\Delta V_\Delta \omega^2 r - f u = 0 \Leftrightarrow$$

$$(MW/N) \omega^2 r - \rho_\Delta m_\Sigma v_M \omega^2 r - f u = 0 \Leftrightarrow$$

$$\underline{(MW/N) \omega^2 r} - \underline{(MW/N) \rho_\Delta v_M \omega^2 r} - f u = 0 \Leftrightarrow$$

$$(MW/N) \omega^2 r (1 - \rho_\Delta v_M) - f u = 0 \Leftrightarrow$$

# Αναλυτική Υπερφυγοκέντρωση : η αρχή της μεθόδου

$$(MW/N) (1 - \rho_{\Delta} v_M) = f (u / \omega^2 r) \Leftrightarrow$$

$$[(MW/N) (1 - \rho_{\Delta} v_M)] / f = u / \omega^2 r$$



# Αναλυτική Υπερφυγοκέντρωση : η αρχή της μεθόδου

$$(MW/N) (1 - \rho_{\Delta} v_M) = f (u / \omega^2 r) \Leftrightarrow$$

$$[(MW/N) (1 - \rho_{\Delta} v_M)] / f = u / \omega^2 r$$

$$[MW (1 - \rho_{\Delta} v_M)] / N f = u / \omega^2 r \equiv s$$

Συντελεστής κατακροήμνισης

# Αναλυτική Υπερφυγοκέντρωση : η αρχή της μεθόδου

$$(MW/N) (1 - \rho_{\Delta} v_M) = f (u / \omega^2 r) \Leftrightarrow$$

$$[(MW/N) (1 - \rho_{\Delta} v_M)] / f = u / \omega^2 r$$

$$[MW (1 - \rho_{\Delta} v_M)] / N f = u / \omega^2 r \equiv s$$

Συντελεστής κατακροήμνισης

Εξαρτάται από τις ιδιότητες του σωματιδίου και είναι ανεξάρτητος από τις συνθήκες του πειράματος

# Συντελεστής κατακρήμνισης

$$[MW (1 - \rho_{\Delta} \nu_M)] / N f = s \quad (1)$$

Ο συντελεστής κατακρήμνισης μετράται σε μονάδες Svedberg (S), όπου  $1 S = 10^{-13} \text{ sec}$ .

## Συντελεστής διάχυσης

$$D = R T / N f \Leftrightarrow$$

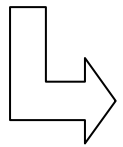
$$f = R T / N D \quad (2)$$

$$(1), (2) \Leftrightarrow [M W ( 1 - \varrho_{\Delta} \nu_M)] / N f = s \Leftrightarrow$$

$$s / D = [M W ( 1 - \varrho_{\Delta} \nu_M )] / R T$$

# Υπολογισμός Μοριακού Βάρους

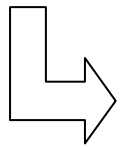
$$s/D = [MW ( 1 - \rho_{\Delta} v_M )] / R T$$



Μπορούμε να τα μετρήσουμε με πειράματα αναλυτικής υπερφυγοκέντρωσης και έτσι να υπολογίσουμε το μοριακό βάρος του βιομορίου που μας ενδιαφέρει.

# Υπολογισμός Μοριακού Βάρους

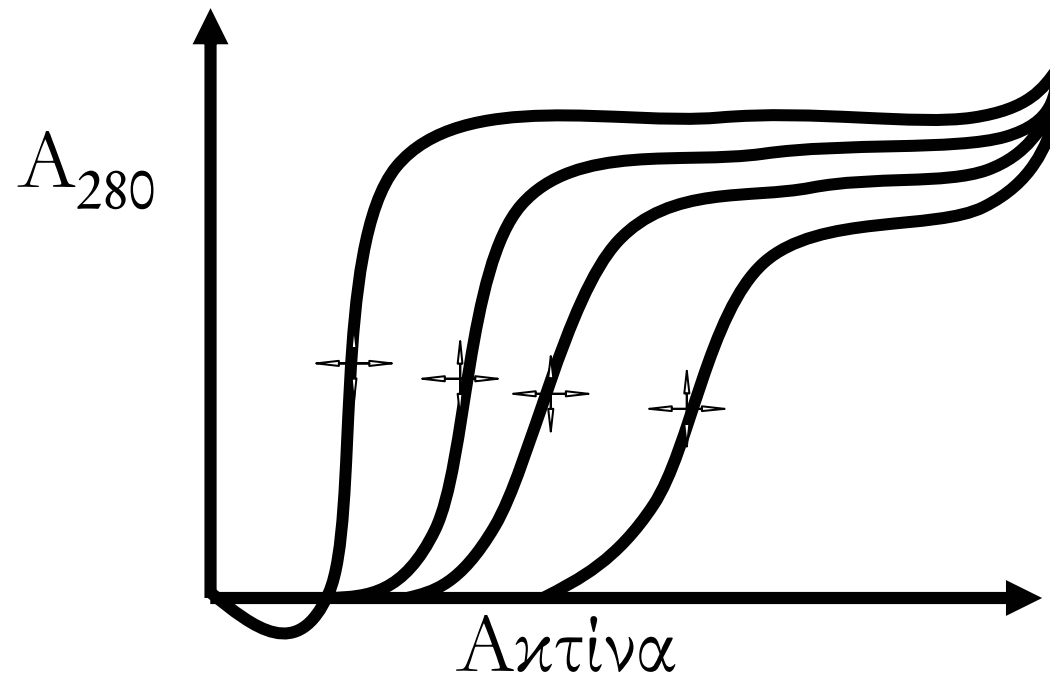
$$s/D = [MW ( 1 - \rho_{\Delta} v_M )] / R T$$



Μέτρηση των  $s$  και  $D$  με πειράματα  
«κατακρήμνισης με ταχύτητα»  
(sedimentation velocity)

# Κατακρήμνιση με ταχύτητα

Το πείραμα πραγματοποιείται σε υψηλές γωνιακές ταχύτητες με αποτέλεσμα την γρήγορη κατακρήμνιση της διαλυμένης ουσίας.



# Διάλυμα μίας ουσίας : μέτρηση συντελεστή κατακρήμνισης

Η ταχύτητα κατακρήμνισης  $u$  της διαλυμένης ουσίας στη διεύθυνση της ακτίνας αντιπροσωπεύεται με καλή προσέγγιση από την ταχύτητα μετατόπισης του μέσου του μετώπου που είναι  $dr_{\text{μετ}}/dt$ .

$$s = u / \omega^2 r \Leftrightarrow$$

$$s = (dr_{\text{μετ}} / dt) / \omega^2 r \Leftrightarrow$$



# Διάλυμα μίας ουσίας : μέτρηση συντελεστή κατακρήμνισης

Η ταχύτητα κατακρήμνισης  $u$  της διαλυμένης ουσίας στη διεύθυνση της ακτίνας αντιπροσωπεύεται με καλή προσέγγιση από την ταχύτητα μετατόπισης του μέσου του μετώπου που είναι  $dr_{\text{μετ}}/dt$ .

$$s = u / \omega^2 r \Leftrightarrow$$

$$s = (dr_{\text{μετ}} / dt) / \omega^2 r \Leftrightarrow$$

$$s = dr_{\text{μετ}} / dt \omega^2 r \Leftrightarrow$$

$$s \omega^2 dt = dr_{\text{μετ}} / r \Leftrightarrow$$

Διάλυμα μίας ουσίας :  
μέτρηση συντελεστή κατακρήμνισης

$$s \omega^2 \int_0^t dt = \int_{r_{μηγ}}^{r_{μετ}} dr_{μετ} / r \Leftrightarrow$$

# Διάλυμα μίας ουσίας : μέτρηση συντελεστή κατακρήμνισης

$$s \omega^2 \int_0^t dt = \int_{r_{\mu\eta\nu}}^{r_{\mu\epsilon\tau}} dr_{\mu\epsilon\tau} / r \Leftrightarrow$$
$$s \omega^2 t = \ln r_{\mu\epsilon\tau} - \ln r_{\mu\eta\nu} \Leftrightarrow$$

# Διάλυμα μίας ουσίας : μέτρηση συντελεστή κατακρήμνισης

$$s \omega^2 \int_0^t dt = \int_{r_{\mu\eta\nu}}^{r_{\mu\epsilon\tau}} dr_{\mu\epsilon\tau} / r \Leftrightarrow$$

$$s \omega^2 t = \ln r_{\mu\epsilon\tau} - \ln r_{\mu\eta\nu} \Leftrightarrow$$

$$\ln r_{\mu\epsilon\tau} = s \omega^2 t + \ln r_{\mu\eta\nu}$$

# Διάλυμα μίας ουσίας : μέτρηση συντελεστή κατακρήμνισης

$$s \omega^2 \int_0^t dt = \int_{r_{\mu\eta\nu}}^{r_{\mu\epsilon\tau}} dr_{\mu\epsilon\tau} / r \Leftrightarrow$$

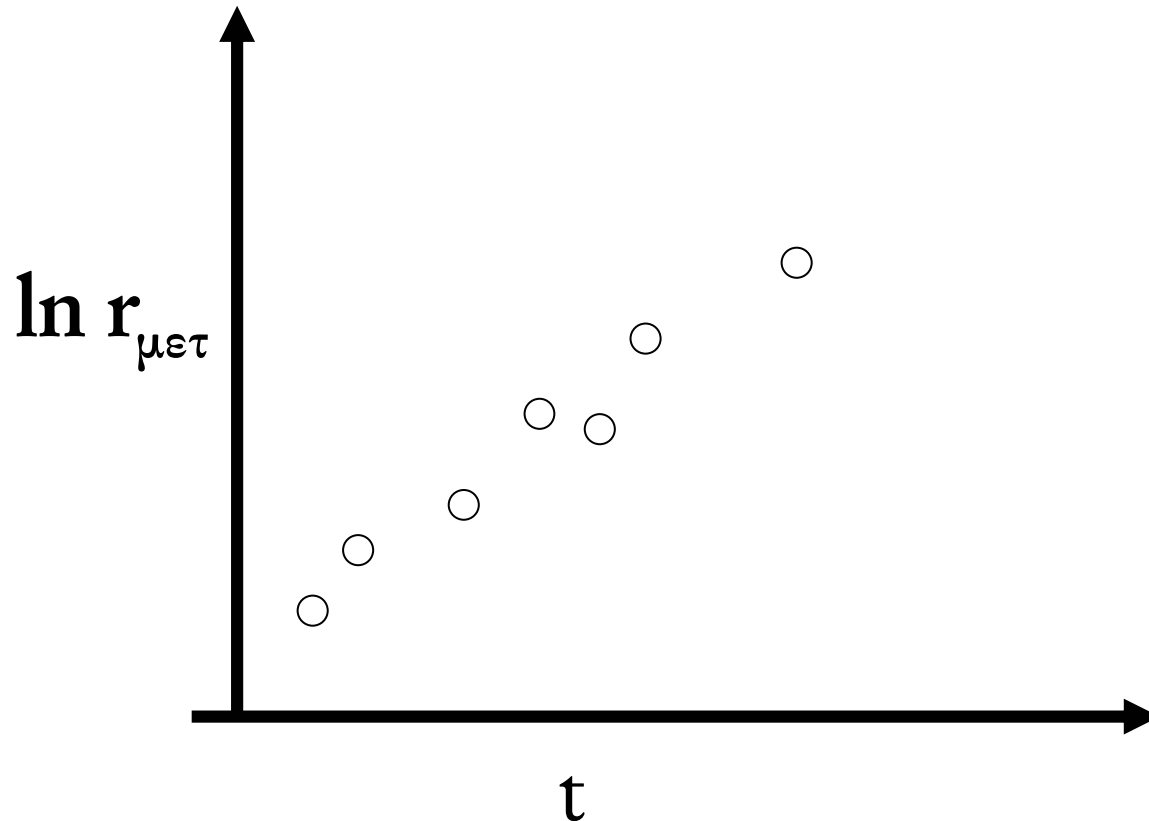
$$s \omega^2 t = \ln r_{\mu\epsilon\tau} - \ln r_{\mu\eta\nu} \Leftrightarrow$$

$$\ln r_{\mu\epsilon\tau} = s \omega^2 t + \ln r_{\mu\eta\nu}$$

$$y = a x + b$$

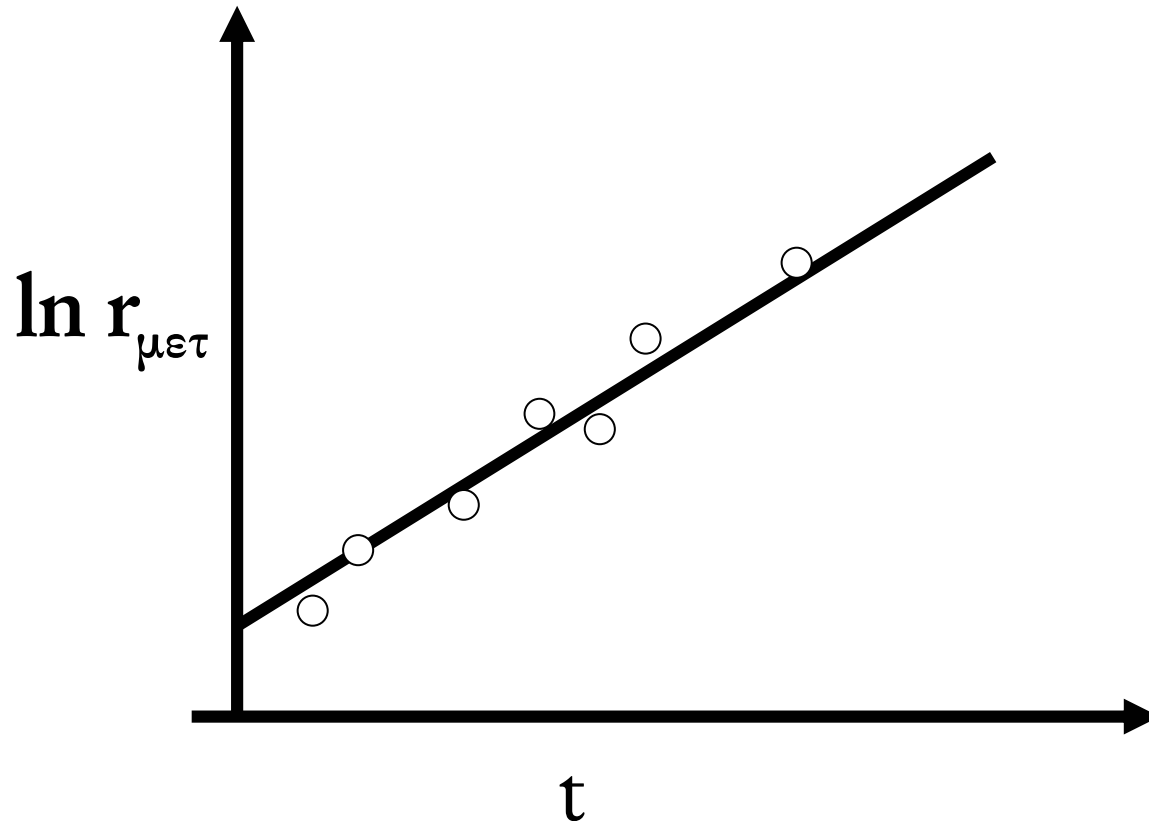
Διάλυμα μίας ουσίας :  
μέτρηση συντελεστή κατακρήμνισης

$$\ln r_{\mu\epsilon\tau} = \underline{s \omega^2} t + \ln r_{\mu\eta\nu}$$



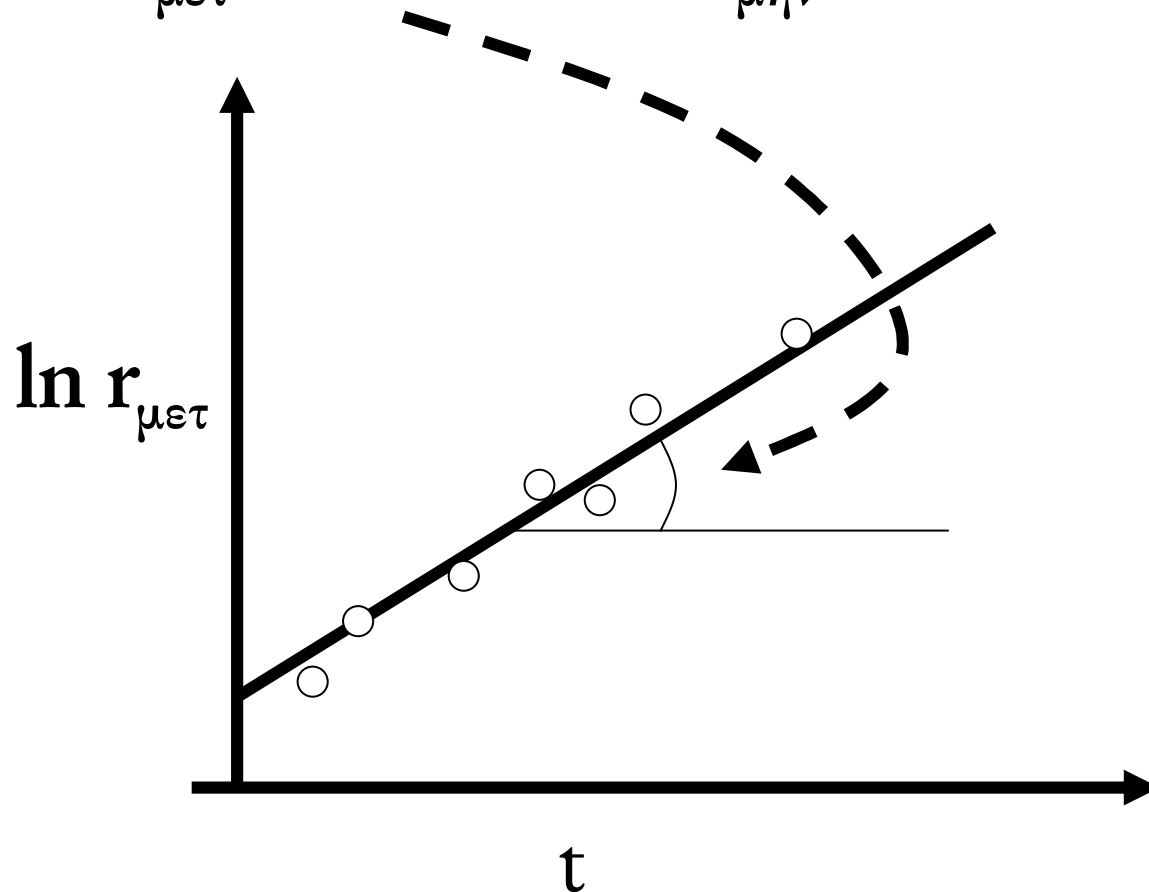
Διάλυμα μίας ουσίας :  
μέτρηση συντελεστή κατακρήμνισης

$$\ln r_{\mu\epsilon\tau} = \underline{s \omega^2} t + \ln r_{\mu\eta\nu}$$



# Διάλυμα μίας ουσίας : μέτρηση συντελεστή κατακρήμνισης

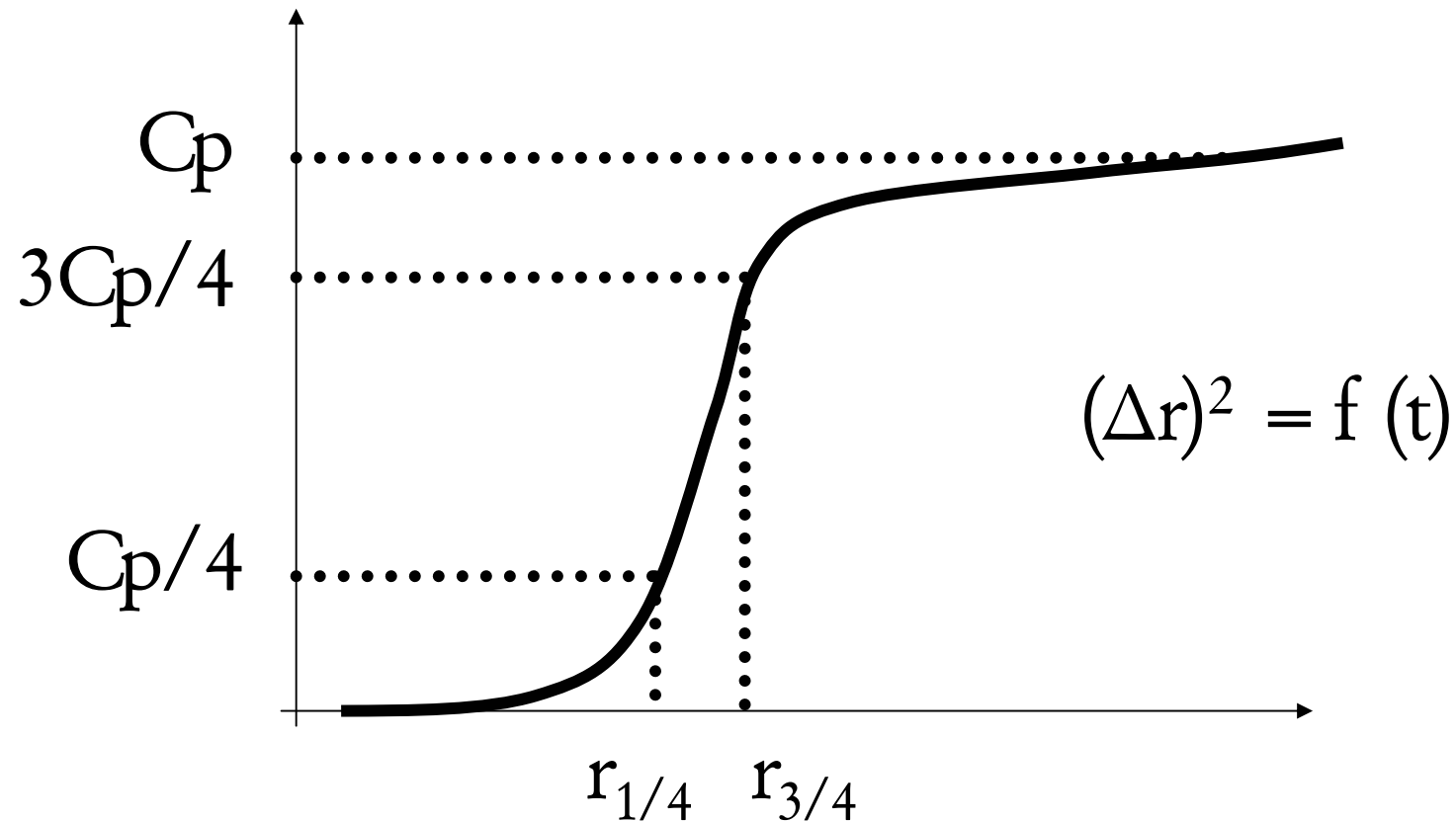
$$\ln r_{\mu\epsilon\tau} = \frac{s \omega^2 t}{2} + \ln r_{\mu\eta\eta}$$





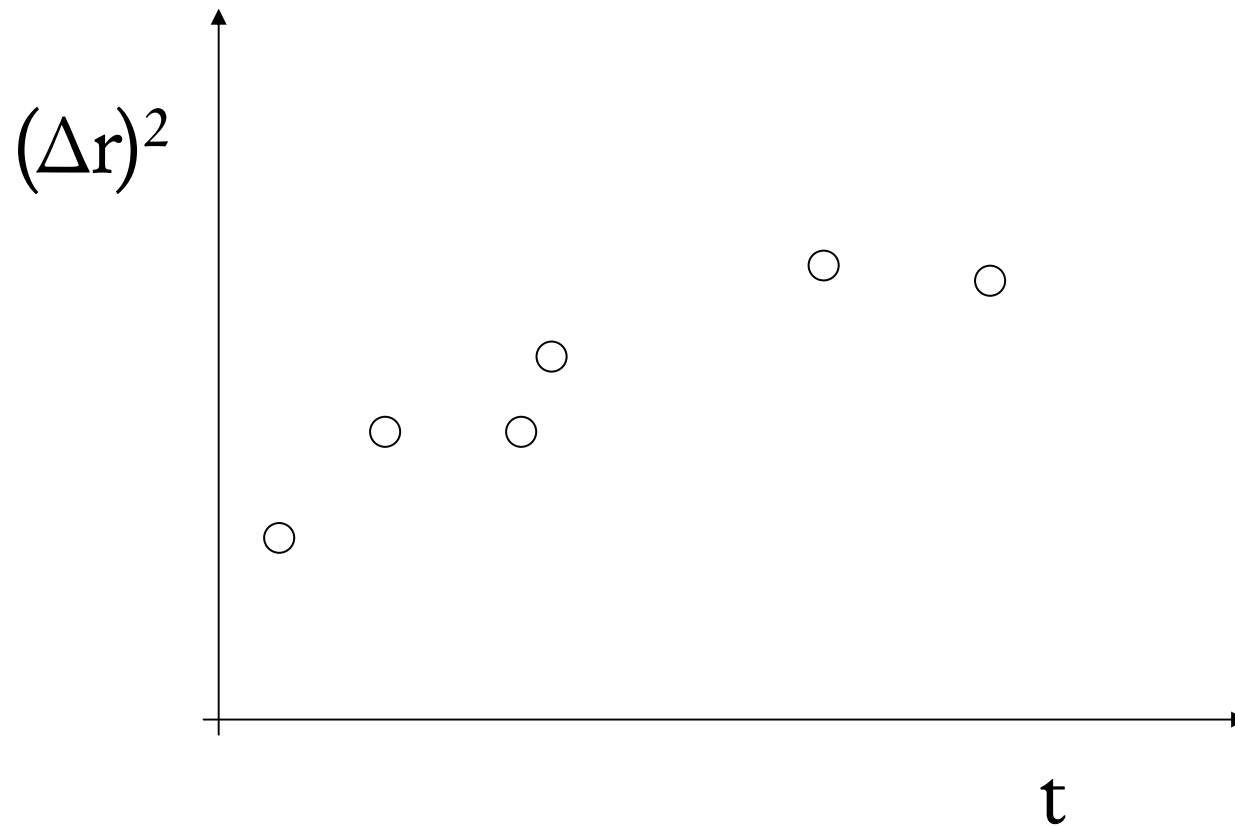
# Μέτρηση του συντελεστή διάχυσης

$$D = R T / N f$$



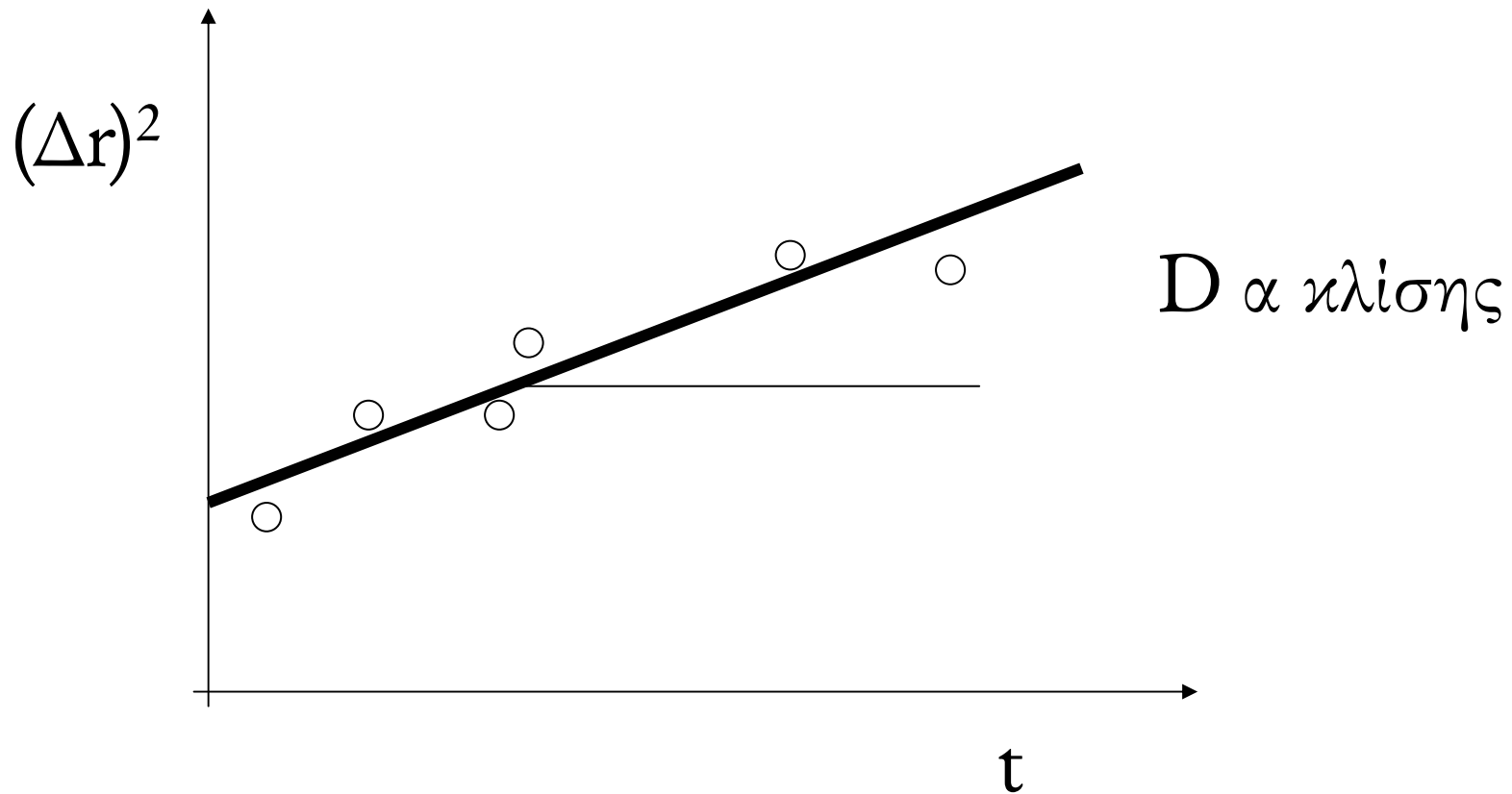
# Μέτρηση του συντελεστή διάχυσης

$$D = R T / N f$$



# Μέτρηση του συντελεστή διάχυσης

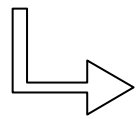
$$D = R T / N f$$



# Συντελεστής διάχυσης

$$D = R T / N f \Leftrightarrow$$

$$f = R T / N D$$



εξαρτάται από το σχήμα και το μέγεθος του μορίου

Για σφαιρικό σωματίδιο ακτίνας  $R$  :  $f = 6 \pi \eta R$

Χρησιμοποιώντας στην προηγούμενη σχέση την υδροδυναμική ακτίνα του βιομορίου μπορούμε να υπολογίσουμε μια θεωρητική τιμή  $f_0$ .

# Σχήμα βιομορίου

Η σχέση της θεωρητικής τιμής  $f_0$  ως προς την πειραματικά προσδιοριζόμενη τιμή  $f$  μας δίνει πληροφορία για το σχήμα του βιομορίου :

$f/f_0 \sim 1$   $\longrightarrow$  Σφαιρικό σχήμα

# Σχήμα βιομορίου

Η σχέση της θεωρητικής τιμής  $f_0$  ως προς την πειραματικά προσδιοριζόμενη τιμή  $f$  μας δίνει πληροφορία για το σχήμα του βιομορίου :

$f/f_0 \sim 1$  ( $f/f_0 \sim 1.2$ )  $\longrightarrow$  Σφαιρικό σχήμα

# Σχήμα βιομορίου

Η σχέση της θεωρητικής τιμής  $f_0$  ως προς την πειραματικά προσδιοριζόμενη τιμή  $f$  μας δίνει πληροφορία για το σχήμα του βιομορίου :

$f/f_0 \sim 1$  ( $f/f_0 \sim 1.2$ )  $\longrightarrow$  Σφαιρικό σχήμα

$f/f_0 \gg 1$   $\longrightarrow$  Αποκλίσεις από τη σφαιρικότητα

# Ετερογενές διάλυμα : εύρεση της κατανομής των συντελεστών κατακροήμνισης

Όταν σε ένα δείγμα περιέχονται περισσότερα από ένα χημικά μόρια με διαφορετικές ιδιότητες (π.χ. μοριακά βάρη και υδροδυναμικές ακτίνες) τότε από ένα πείραμα υπερφυγοκέντρωσης ζητάμε να βρούμε όχι έναν αριθμό αλλά την κατανομή των συντελεστών καθίζησης.



# Ετερογενές διάλυμα : εύρεση της κατανομής των συντελεστών κατακροήμνισης

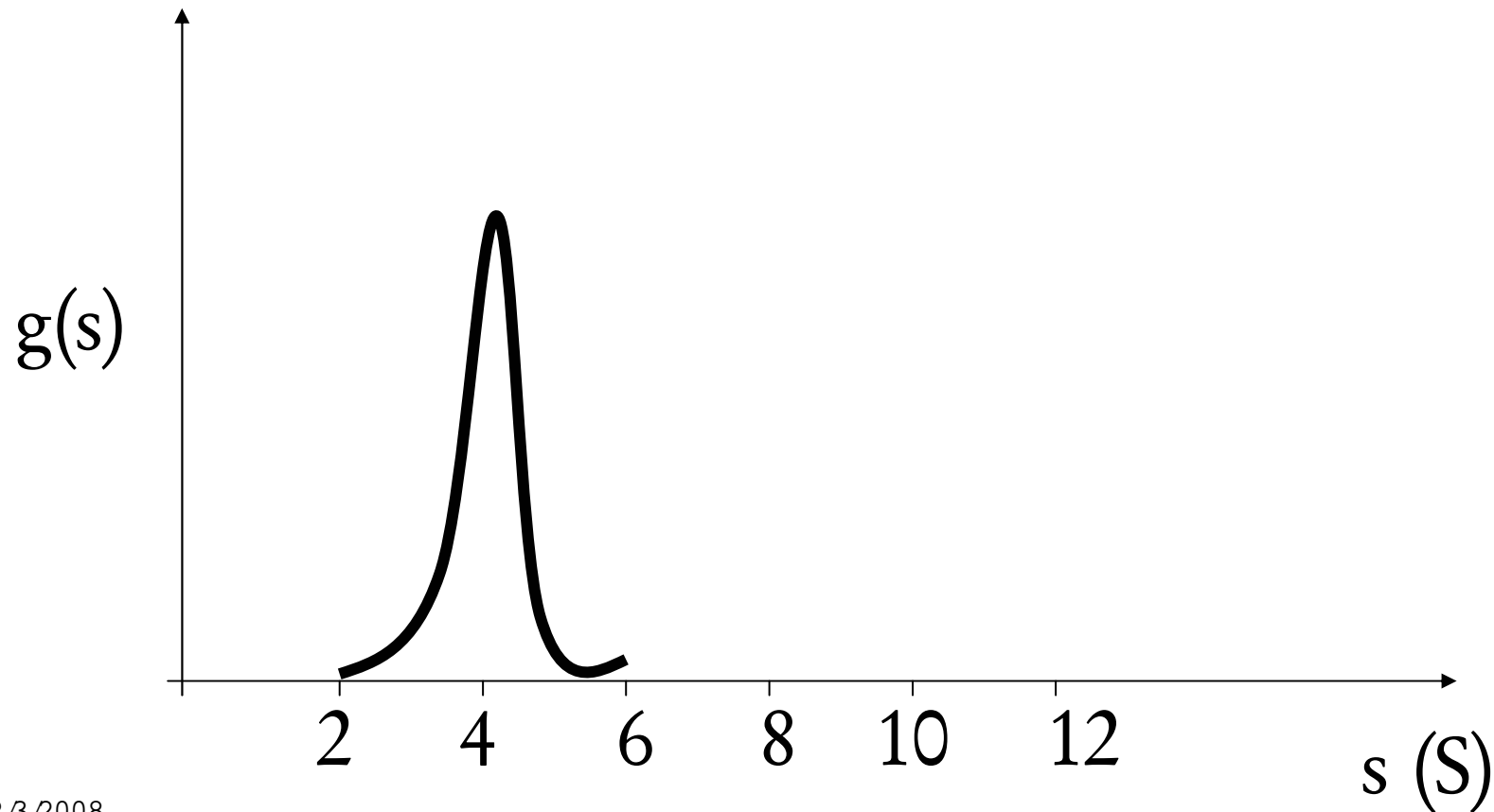
Σε ένα πείραμα καθίζησης με ταχύτητα το σχήμα του μετώπου και ο τρόπος που το σχήμα αυτό αλλάζει με την πάροδο του χρόνου εξαρτάται μεταξύ άλλων και από τον αριθμό και τους συντελεστές καθίζησης των διαφορετικών χημικών μορίων που περιέχονται στο δείγμα.

# Ετερογενές διάλυμα : εύρεση της κατανομής των συντελεστών κατακροήμνισης

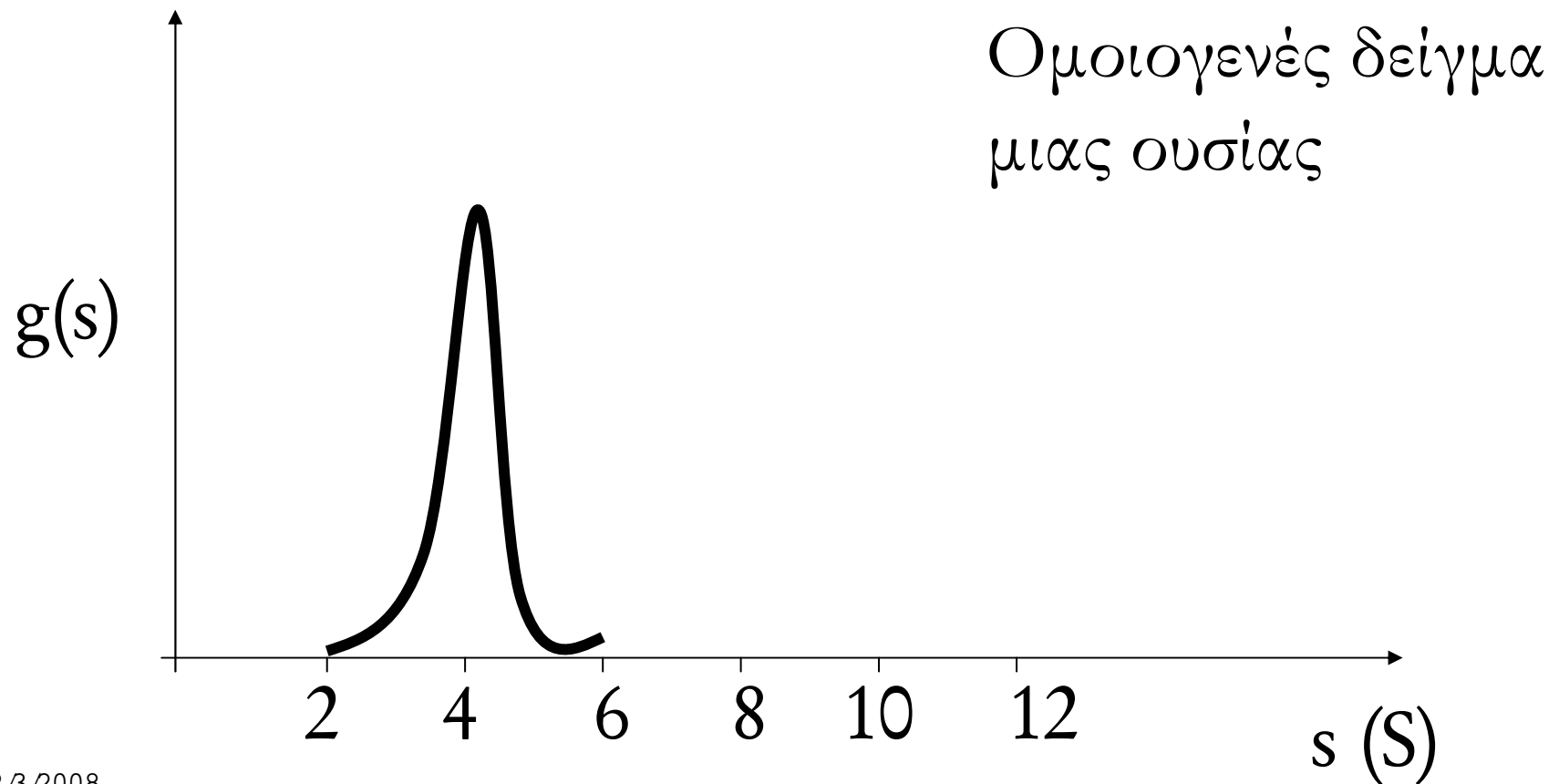
Σε ένα πείραμα καθίζησης με ταχύτητα το σχήμα του μετώπου και ο τρόπος που το σχήμα αυτό αλλάζει με την πάροδο του χρόνου εξαρτάται μεταξύ άλλων και από τον αριθμό και τους συντελεστές καθίζησης των διαφορετικών χημικών μορίων που περιέχονται στο δείγμα.

$$g(s) \propto dc/dr$$

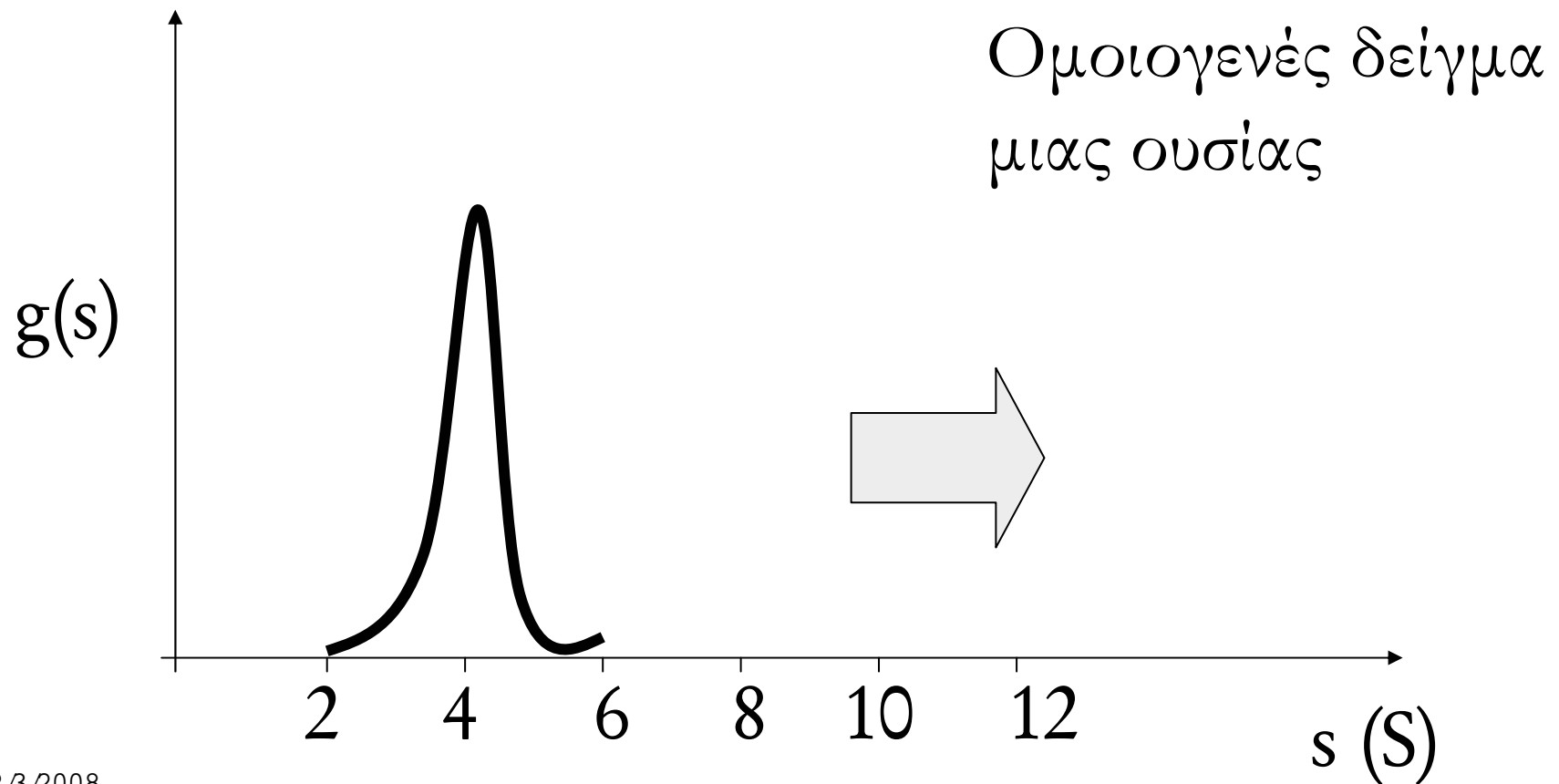
Η κατανομή των συντελεστών  
κατακρήμνισης αποτελεί ένδειξη της  
ετερογένειας-ομοιογένειας του διαλύματος



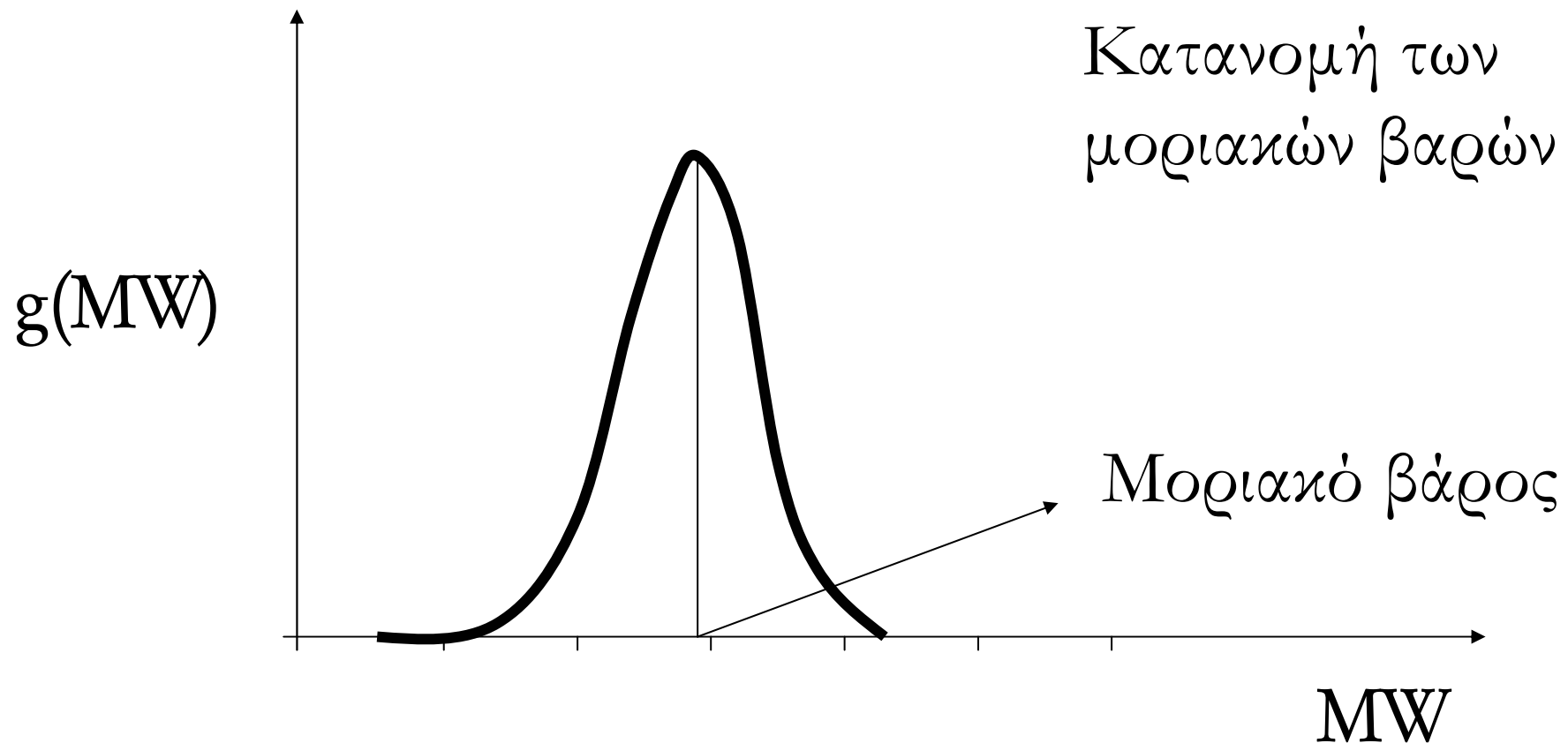
Η κατανομή των συντελεστών  
κατακρήμνισης αποτελεί ένδειξη της  
ετερογένειας-ομοιογένειας του διαλύματος



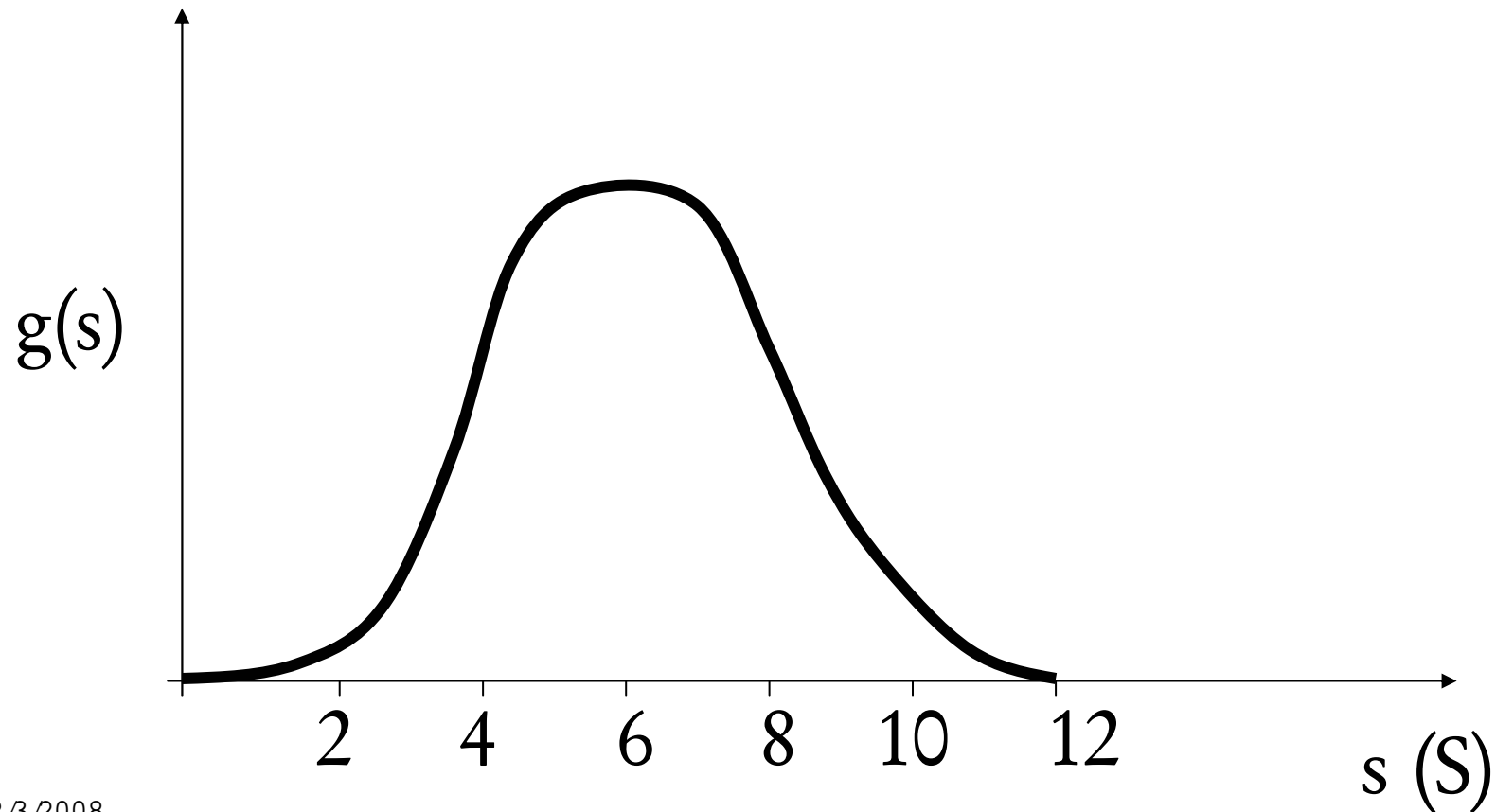
Η κατανομή των συντελεστών  
κατακρήμνισης αποτελεί ένδειξη της  
ετερογένειας-ομοιογένειας του διαλύματος



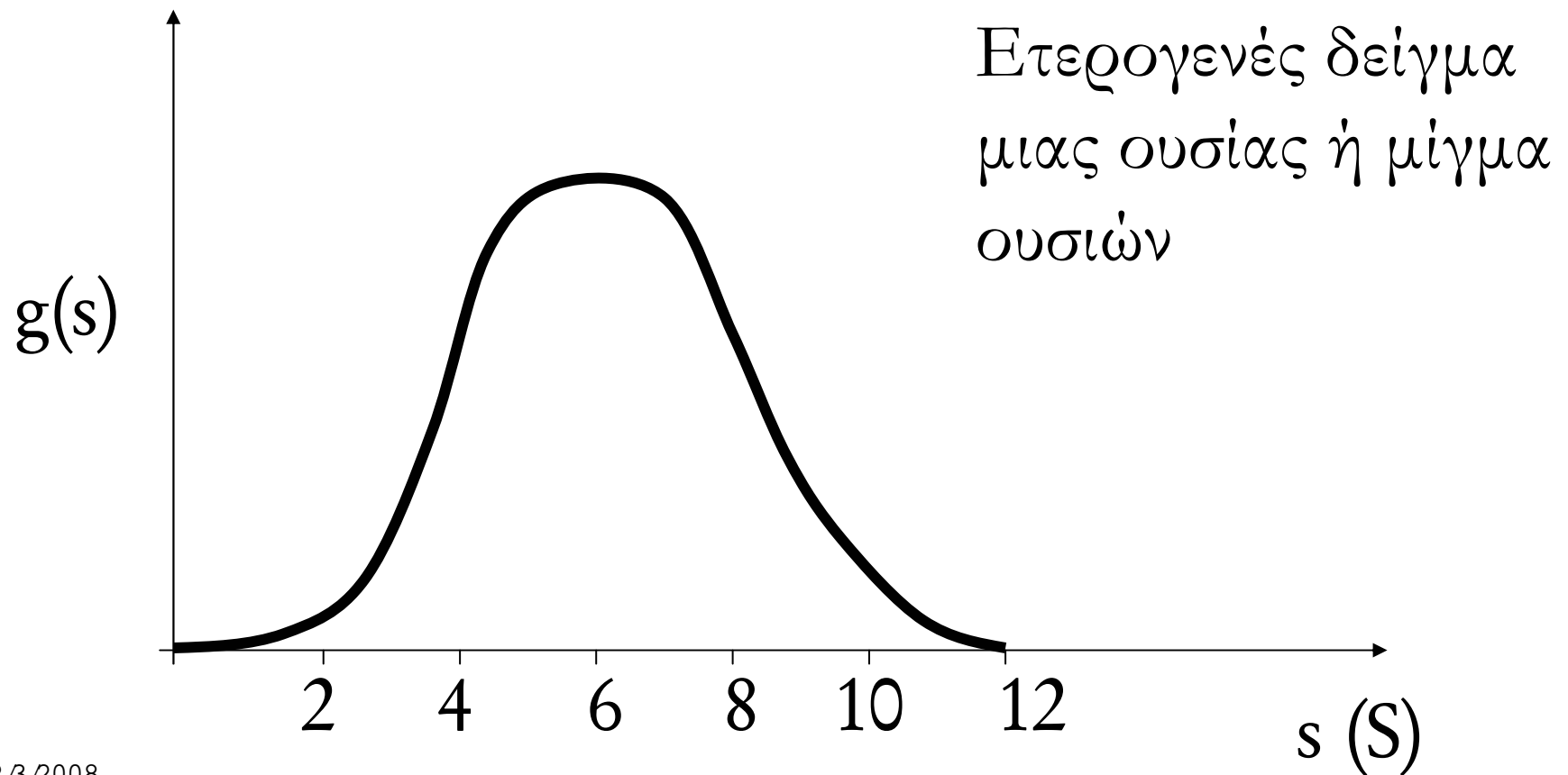
Η κατανομή των συντελεστών  
κατακρήμνισης αποτελεί ένδειξη της  
ετερογένειας-ομοιογένειας του διαλύματος



Η κατανομή των συντελεστών  
κατακρήμνισης αποτελεί ένδειξη της  
ετερογένειας-ομοιογένειας του διαλύματος

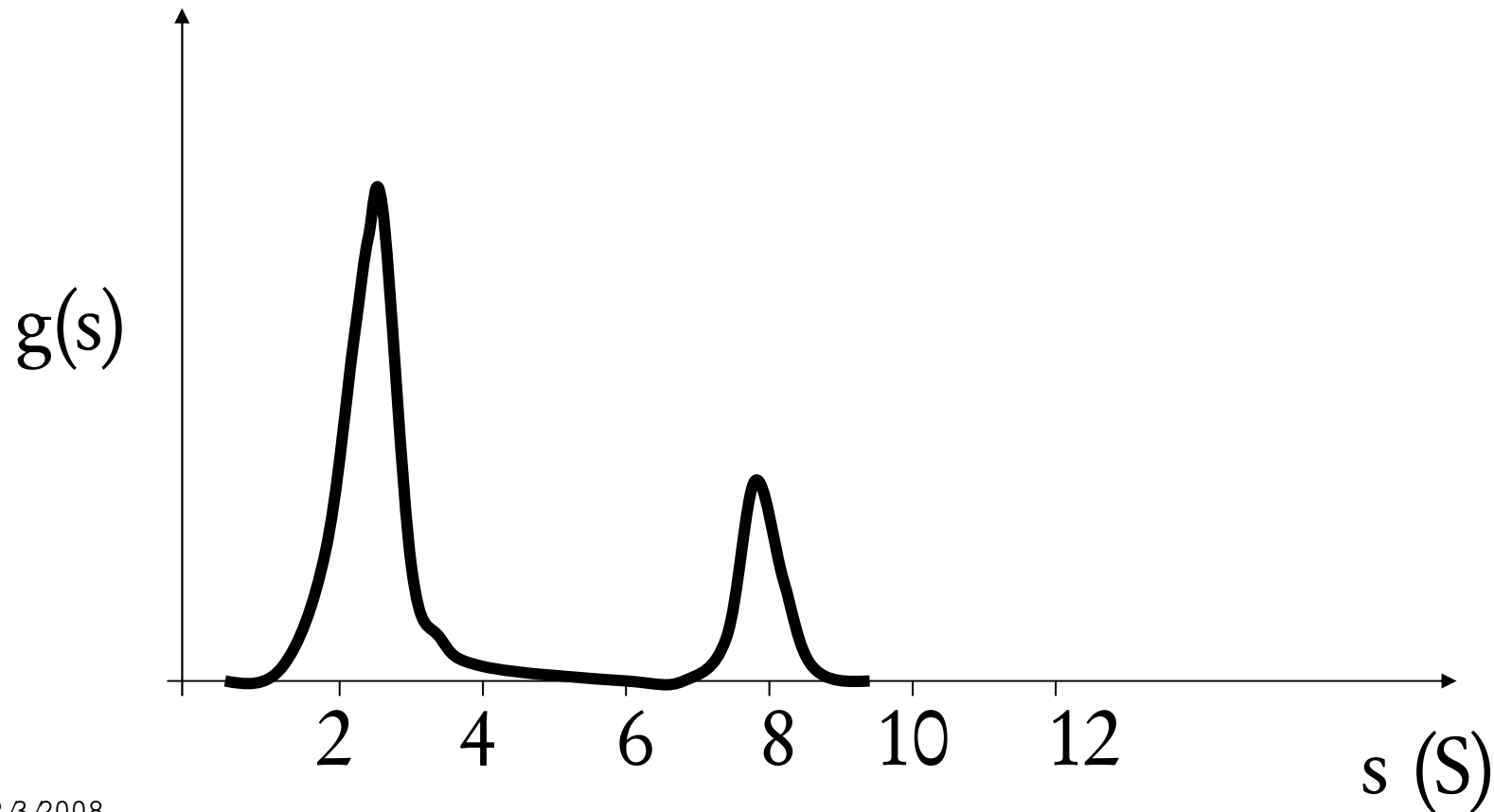


Η κατανομή των συντελεστών  
κατακρήμνισης αποτελεί ένδειξη της  
ετερογένειας-ομοιογένειας του διαλύματος

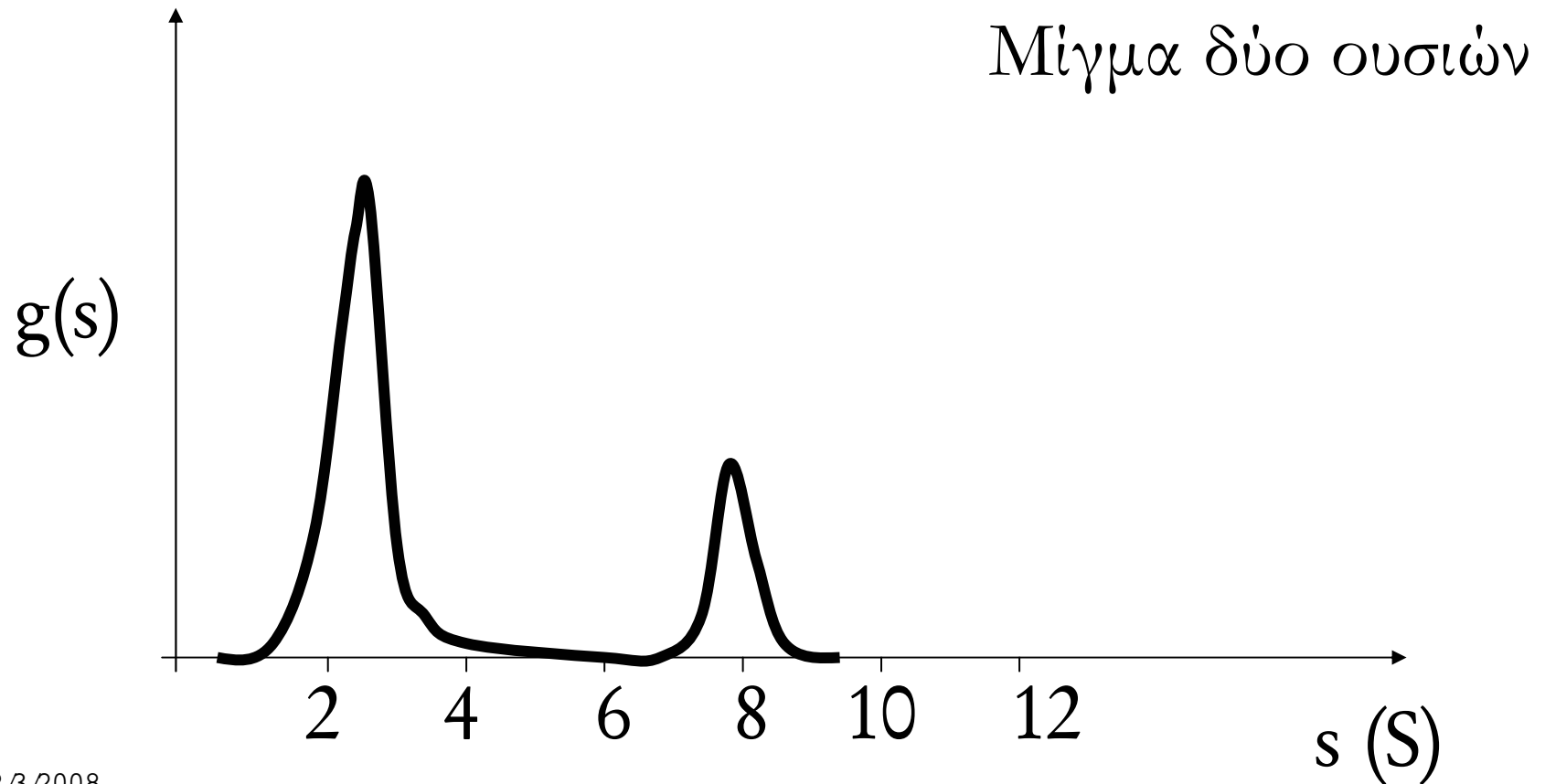




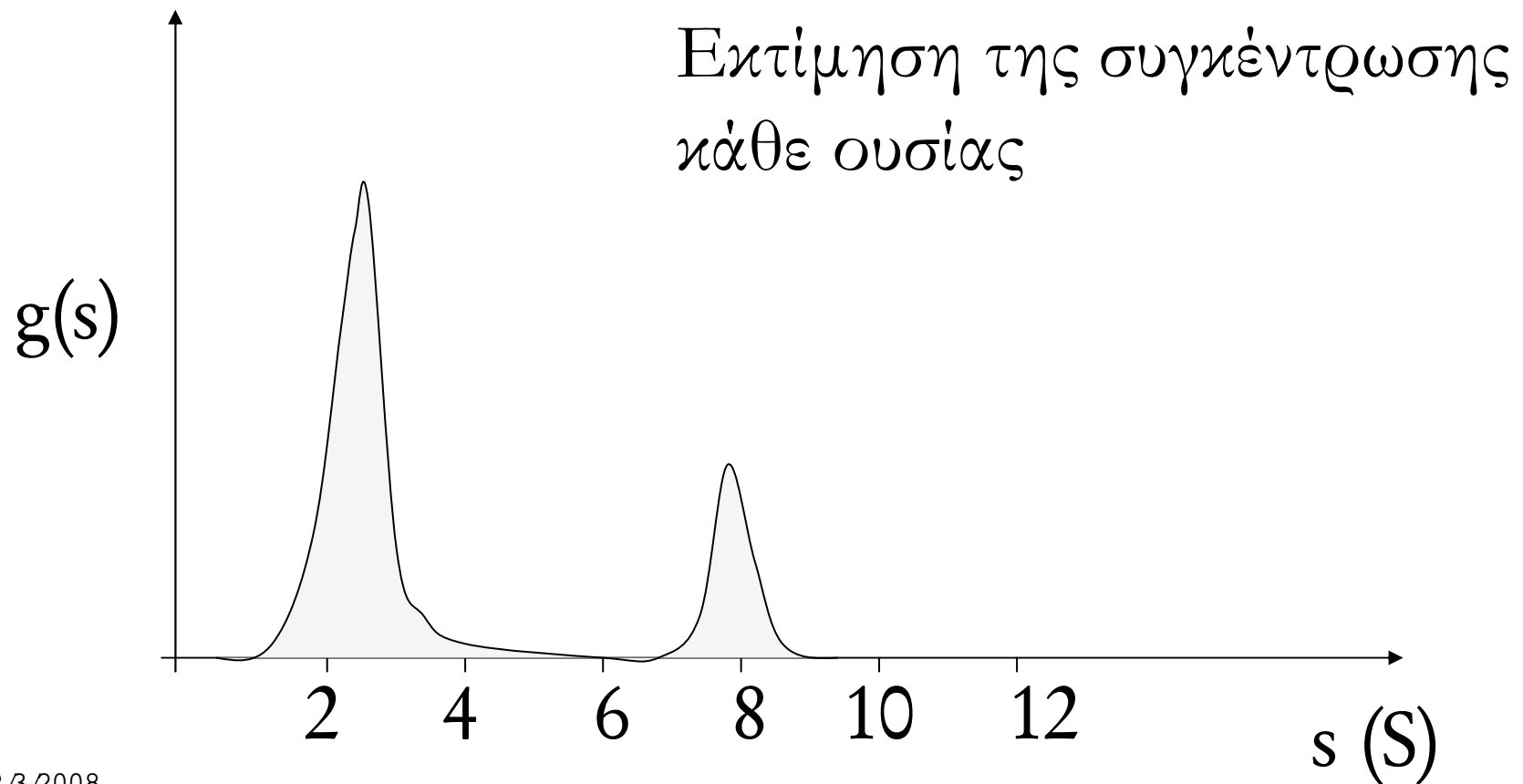
Η κατανομή των συντελεστών  
κατακρήμνισης αποτελεί ένδειξη της  
ετερογένειας-ομοιογένειας του διαλύματος



Η κατανομή των συντελεστών  
κατακρήμνισης αποτελεί ένδειξη της  
ετερογένειας-ομοιογένειας του διαλύματος



Η κατανομή των συντελεστών  
κατακρήμνισης αποτελεί ένδειξη της  
ετερογένειας-ομοιογένειας του διαλύματος

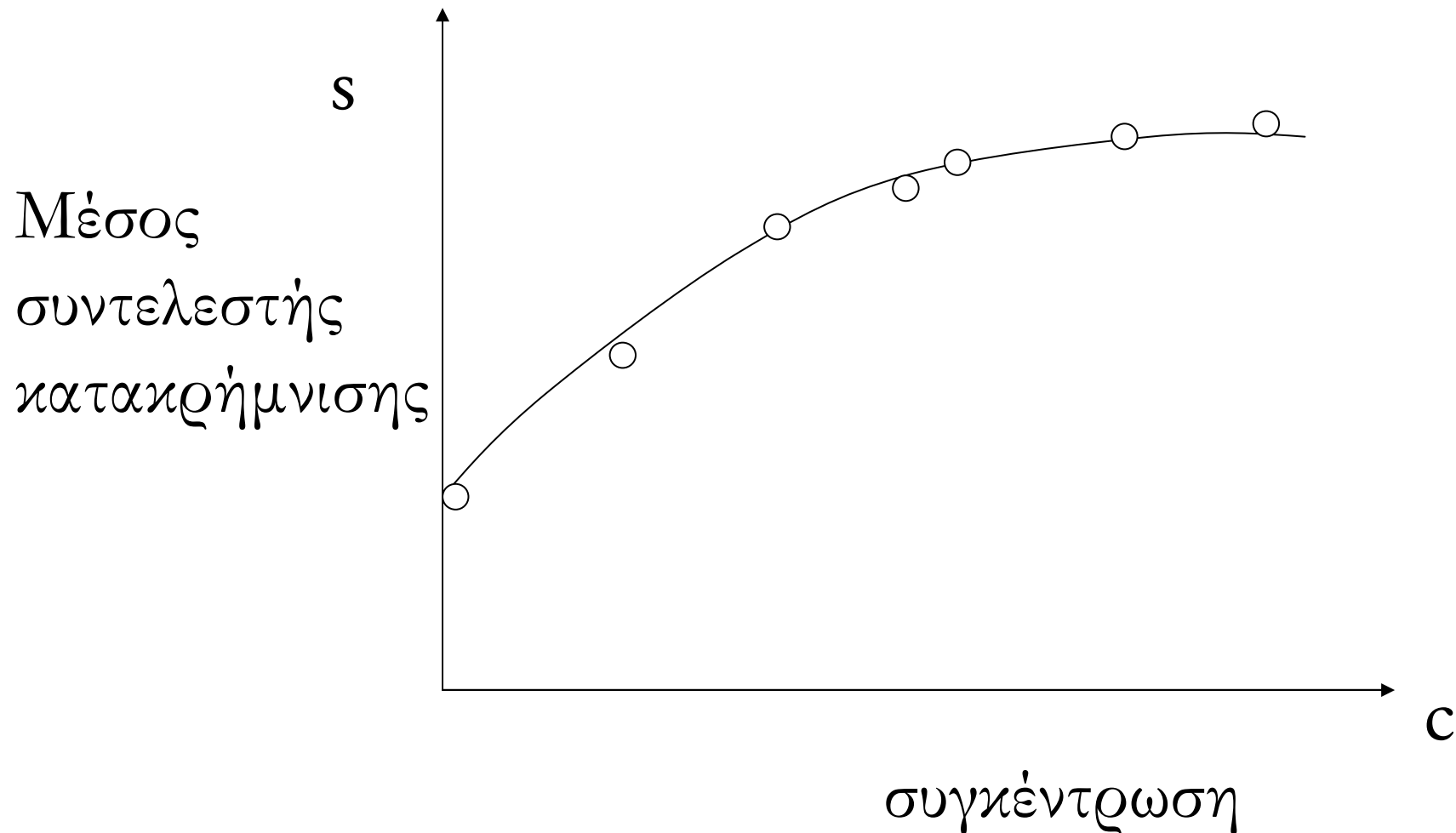


# Μελέτη της αλληλεπίδρασης δύο πρωτεϊνών με κατακρήμνιση ταχύτητας

Πραγματοποιείται σειρά πειραμάτων με διαφορετικές αρχικές συγκεντρώσεις της κάθε πρωτεΐνης και με διαφορετικές αναλογίες συγκεντρώσεων.

Η μορφή της κατανομής των συντελεστών καθίζησης και οι αλλαγές στη μορφή αυτής της κατανομής από πείραμα σε πείραμα δίνουν πληροφορίες για πιθανές αλληλεπιδράσεις π.χ. Εμφάνιση νέων μεγίστων, μετατόπιση στη θέση που εμφανίζονται τα μέγιστα.

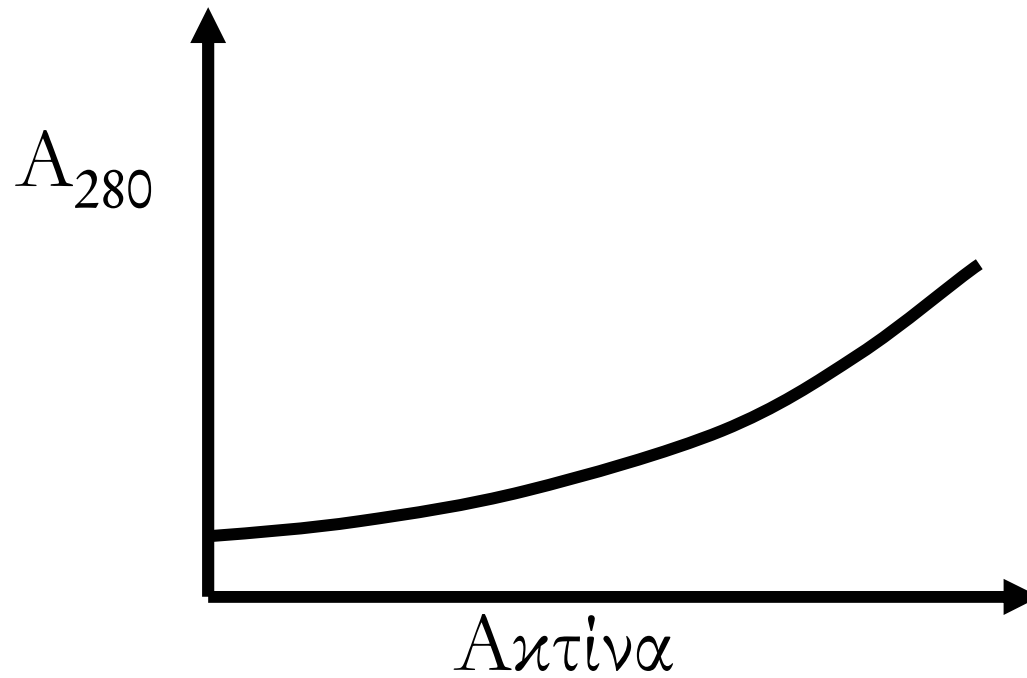
# Μελέτη της αλληλεπίδρασης δύο πρωτεϊνών με κατακρήμνιση ταχύτητας



# Κατακρήμνιση ισορροπίας (sedimentation equilibrium)

Το πείραμα πραγματοποιείται σε σχετικά (με τα πειράματα κατακρήμνισης με ταχύτητα) χαμηλές γωνιακές ταχύτητες. Όταν αποκατασταθεί ισορροπία η κατανομή της διαλυμένης ουσίας σταματά να μεταβάλλεται με τον χρόνο.

# Κατακρήμνιση ισορροπίας



# Κατακρήμνιση ισορροπίας

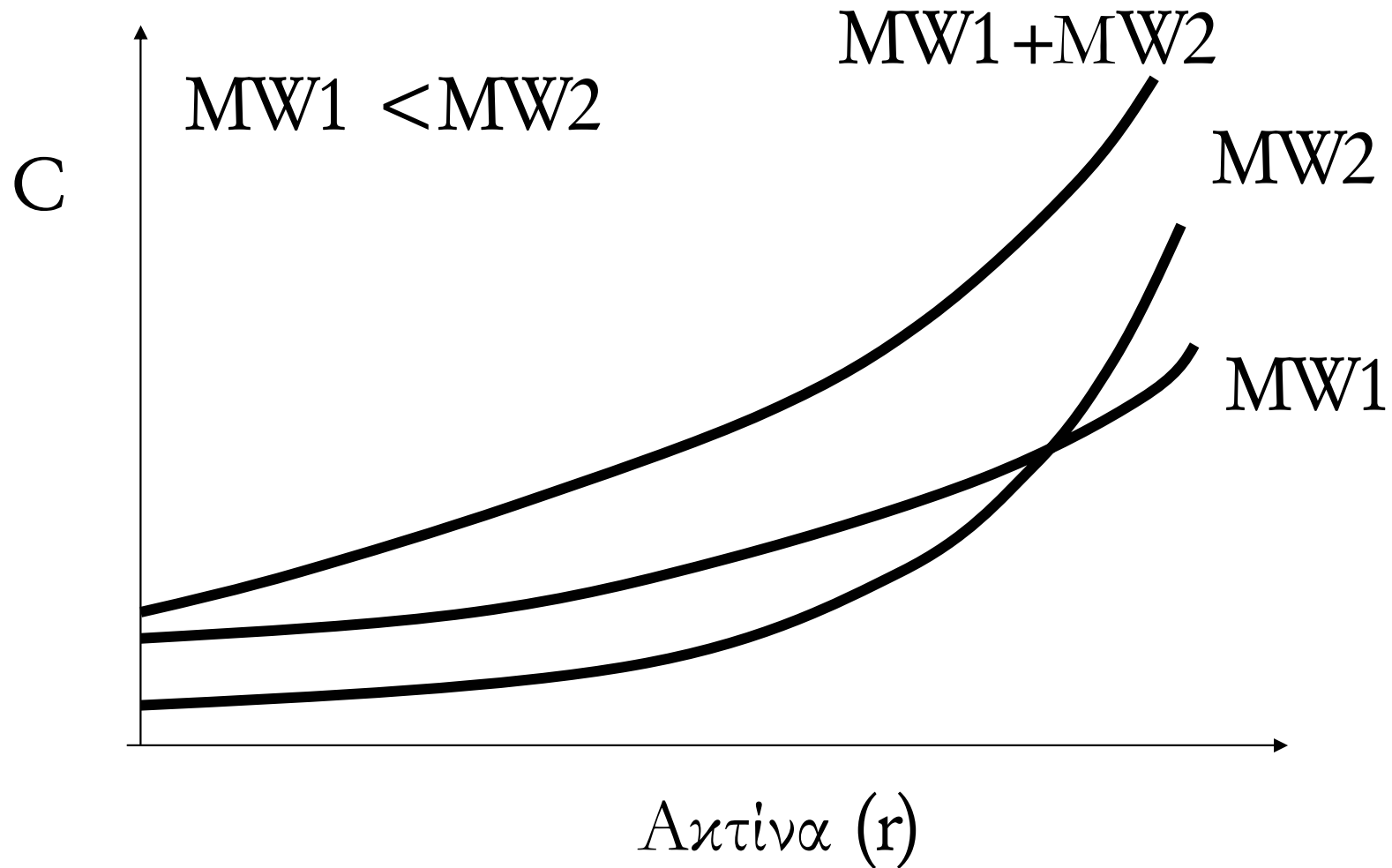
Μετρήσεις της συγκέντρωσης σε διάφορες ακτινικές αποστάσεις οδηγούν στον προσδιορισμό του μοριακού βάρους σύμφωνα με τον τύπο :

$$MW = (2RT / (1 - \nu_M \rho) \omega^2) d(\ln c) / dr^2 \Leftrightarrow$$

$$d(\ln c) / dr^2 = ((1 - \nu_M \rho) \omega^2 / 2RT) MW$$

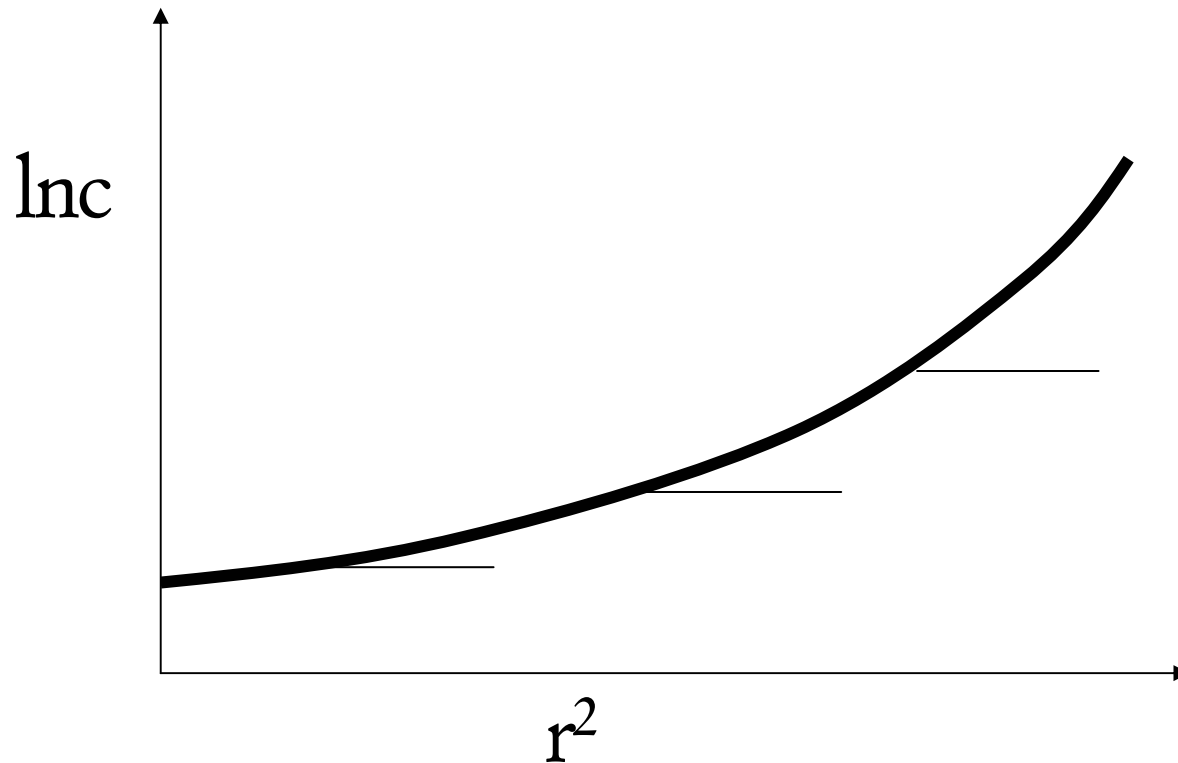


# Διάκριση ομογενών-ετερογενών διαλυμάτων με κατακρήμνιση ισορροπίας



# Διάκριση ομογενών-ετερογενών διαλυμάτων με κατακρήμνιση ισορροπίας

1. Υπολογισμός του μέσου μοριακού βάρους  
(weight-average) ως συνάρτηση της ακτίνας,  $MW_w$ .



# Διάκριση ομογενών-ετερογενών διαλυμάτων με κατακρήμνιση ισορροπίας

2. Σε σχετικά υψηλές γωνιακές ταχύτητες κοντά στο μηνίσκο υπάρχει μόνο η μικρομορακή ουσία, της οποίας το μοριακό βάρος μπορούμε να υπολογίσουμε από τη συνάρτηση του  $I_{nc}$  ως προς το  $r^2$  σε μικρές ακτίνες.

# Αλληλεπιδράσεις μεταξύ μορίων του ίδιου είδους

Πραγματοποίηση πειραμάτων καθίζησης ισορροπίας σε διαφορετικές συγκεντρώσεις.

Σε χαμηλές συγκεντρώσεις το μέσο μοριακό βάρος προσεγγίζει την τιμή του μοριακού βάρους του μονομερούς.

Σε υψηλότερες συγκεντρώσεις αυξάνει αντικατροπίζοντας το σχηματισμό ολιγομερών.