

# ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΗΣΗ- ΥΠΕΡΦΥΓΟΚΕΝΤΡΗΣΗ

**ANNA-MARIA ΨΑΡΡΑ**

**Τμήμα Βιοχημείας κ Βιοτεχνολογίας**



# ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΗΣΗ

---

Μέθοδος διαχωρισμού σωματιδίων ακόμα και μακρομορίων όπως:

Κυττάρων  
Υποκυτταρικών οργανιδίων  
Πρωτεϊνών  
Νουκλεϊκών οξέων

Ο διαχωρισμός γίνεται βάση διαφορών

Μεγέθους  
Σχήματος  
Πυκνότητας

# ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΗΣΗ

---

**Χαρακτηρισμός παραμέτρων όπως:**

Μάζα

Πυκνότητα

**Πληροφορίες σχετικά με το**

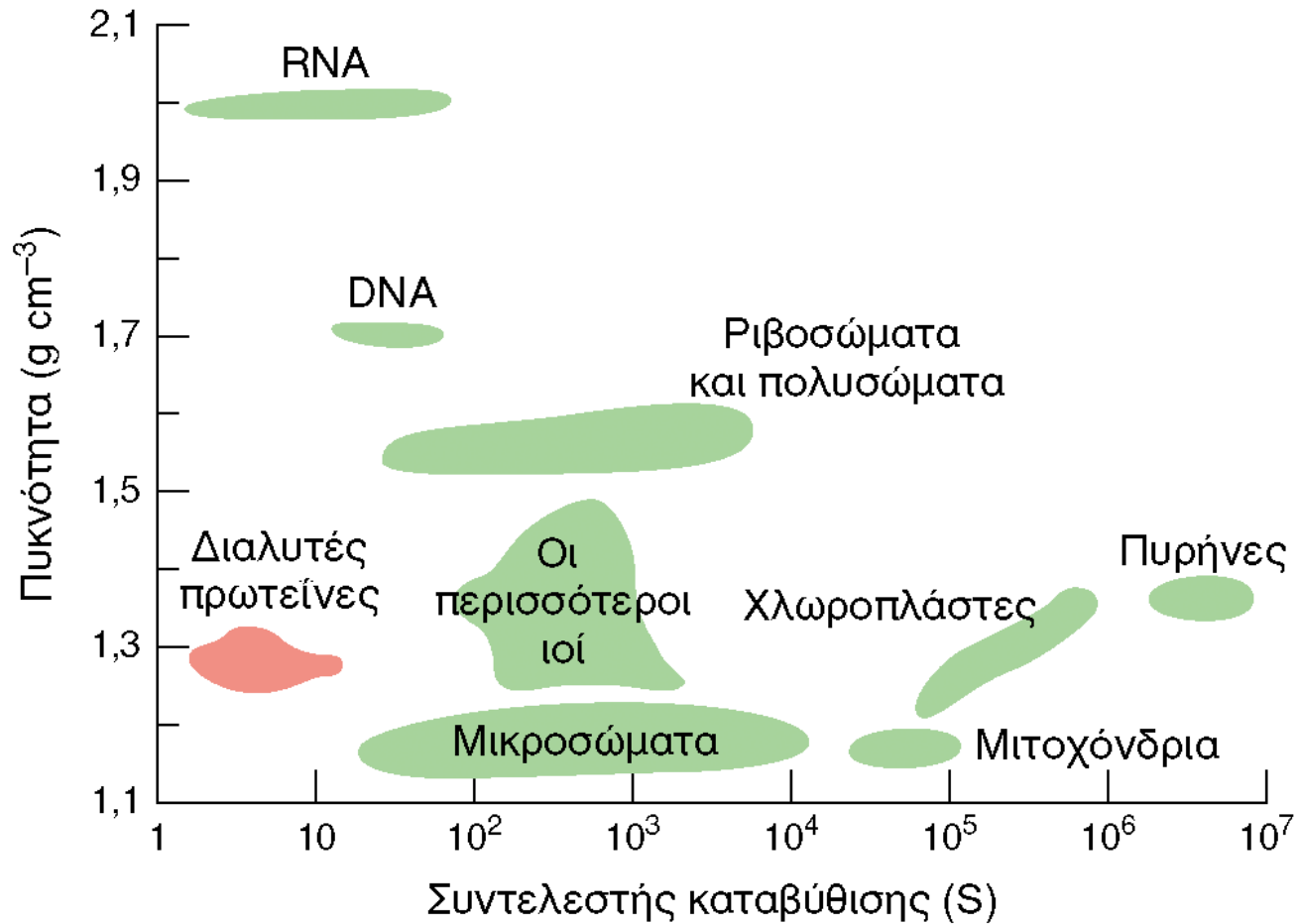
Σχήμα μορίων και  
τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ τους

# Πυκνότητα Κυττάρων Βιολογικών Μορίων

---

<b>Βιολογικό υλικό</b>	<b>Πυκνότητα (g/cm<sup>3</sup>)</b>
<b>Μικρόβια</b>	<b>1.05 - 1.15</b>
<b>Ευκαρυωτικά κύτταρα</b>	<b>1.04 - 1.10</b>
<b>Οργανίδια</b>	<b>1.10 - 1.60</b>
<b>Πρωτεΐνες</b>	<b>1.30</b>
<b>DNA</b>	<b>1.70</b>
<b>RNA</b>	<b>2.00</b>

# ΠΥΚΝΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ ΚΑΤΑΒΥΘΙΣΗΣ



# ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗΣ ΚΑΤΑΒΥΘΙΣΗΣ

$$s = m (1 - \tilde{\nu}\rho) / f$$

$m$  = μάζα του σωματιδίου

$\tilde{\nu}$  = μερικός ειδικός όγκος του σωματιδίου =  $1/\rho_{\text{σωματιδίου}}$

$\rho$  = πυκνότητα του διαλύματος

$f$  = συντελεστής τριβής (παράγοντας που εξαρτάται από το σχήμα του σωματιδίου)

$((1 - \tilde{\nu}\rho))$  = δύναμη άνωσης που ασκείται από το διάλυμα στο οποίο βρίσκεται το σωματίδιο

$s$  = Συντελεστής καταβύθισης, εκφράζεται σε μονάδες Svedberg (S)

1 μονάδα Svedberg (S)

Όσο πιο μικρή είναι η τιμή  $S$ , τόσο πιο αργά μετακινείται ένα σωματίδιο μέσα σε ένα φυγοκεντρικό πεδίο

# ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗΣ ΚΑΤΑΒΥΘΙΣΗΣ

$$s = m (1 - \tilde{\nu}\rho) / f$$

**Η ταχύτητα καταβύθισης ενός σωματιδίου είναι ανάλογη της μάζας του**

Ένα σωματίδιο με μεγαλύτερη μάζα καταβυθίζεται ταχύτερα από ένα σωματίδιο ίδιου σχήματος και πυκνότητας αλλά μικρότερης μάζας

**Το σχήμα επηρεάζει την ταχύτητα καταβύθισης**

Ο συντελεστής τριβής  $f$  ενός συμπαγούς σωματιδίου είναι μικρότερος από εκείνον ενός λιγότερου συμπαγούς σωματιδίου της ίδιας μάζας.  
Τα επιμήκη σωματίδια καθιζάνουν πιο αργά από ότι τα σφαιρικά σωματίδια της ίδιας μάζας

**Ένα πυκνό σωματίδιο μετακινείται πιο γρήγορα από ότι ένα λιγότερα πυκνό**

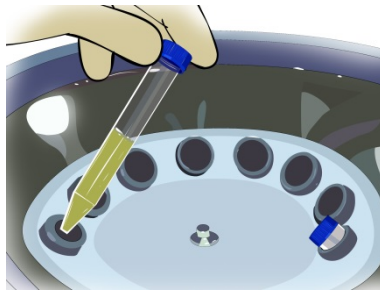
Η αντίθετη δύναμη της άνωσης  $(1 - \tilde{\nu}\rho)$  είναι μικρότερη για το πυκνό σωματίδιο

**Η ταχύτητα καταβύθισης εξαρτάται από την πυκνότητα του διαλύματος ( $\rho$ )**

$\tilde{\nu}\rho < 1$  : τα σωματίδια καταβυθίζονται  
 $\tilde{\nu}\rho > 1$  : τα σωματίδια επιπλέουν  
 $\tilde{\nu}\rho = 1$  : τα σωματίδια δεν μετακινούνται



## ΚΕΦΑΛΕΣ ΦΥΓΟΓΚΕΝΤΡΟΥ – ΡΟΤΟΡΕΣ



### ΣΤΑΘΕΡΗΣ ΓΩΝΙΑΣ

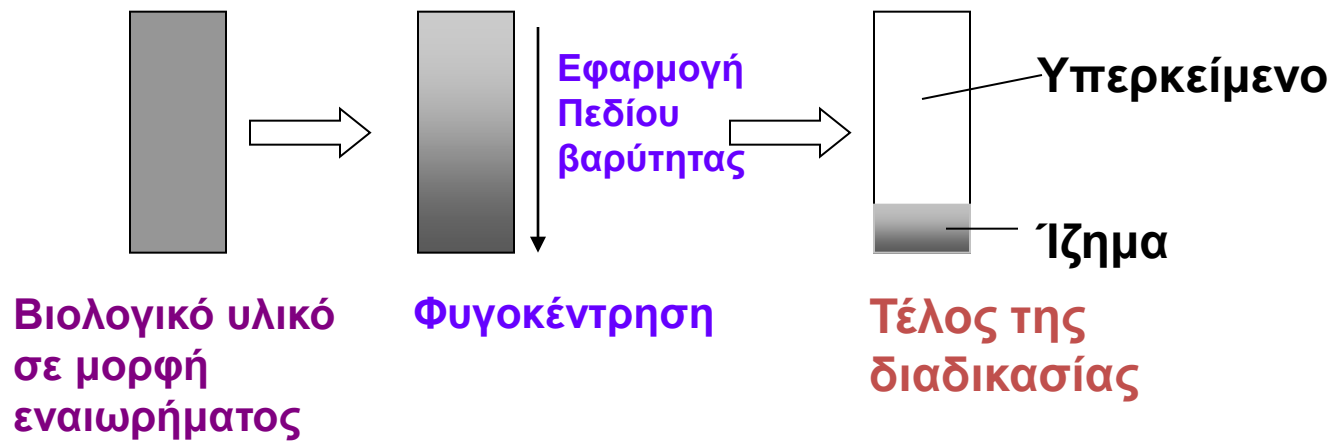


### ΥΠΟ ΤΑΛΑΝΤΕΥΣΗ - SWING OUT



# Αρχή Μεθόδου Φυγοκέντρησης

Το δείγμα προς ανάλυση υποβάλλεται σε συνθήκες άσκησης φυγόκεντρου δύναμης

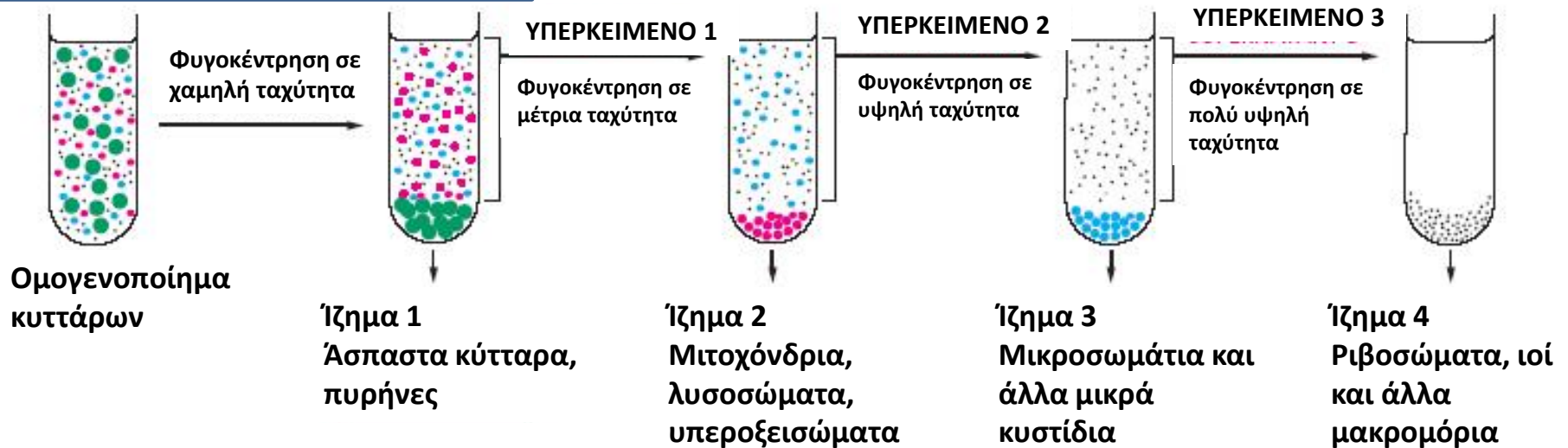


# ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΗΣΗ – ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ ΥΠΟΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΚΛΑΣΜΑΤΩΝ

## Διαφορική Φυγοκέντρηση

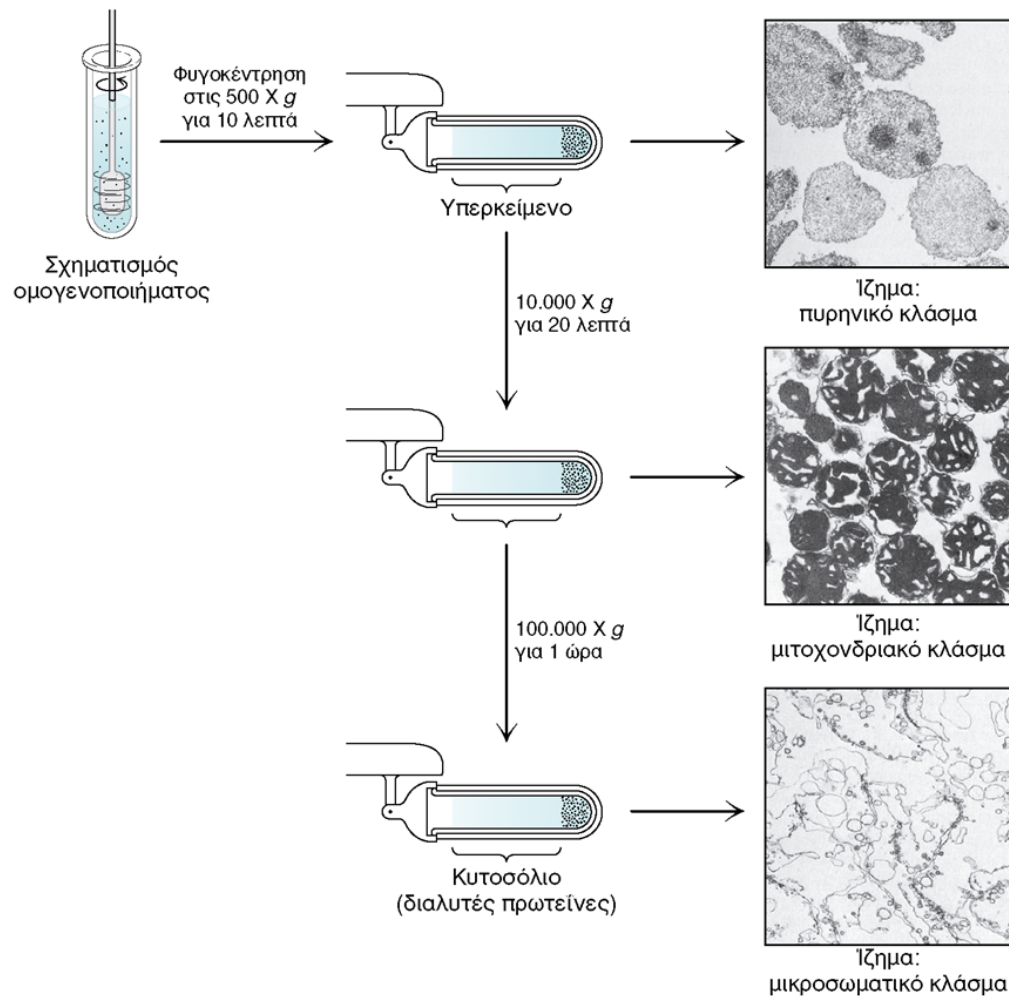
Διαδοχικές φυγοκεντρήσεις με συνεχώς αυξανόμενη ταχύτητα

Διαχωρισμός των κυτταρικών συστατικών με βάση το μέγεθος και την πυκνότητα. Τα μεγαλύτερα και μεγαλύτερης πυκνότητας συστατικά κατακρημνίζονται πρώτα. Η πρώτη φυγοκέντρηση οδηγεί στο σχηματισμό ενός ίζηματος και ενός υπερκειμένου. Τα μικρότερα σωματίδια μενουν στο υπερκείμενο το οποίο στη συνέχεια φυγοκεντρείται σε μεγαλύτερες ταχύτητες και η διαδικασία επαναλαμβάνεται.



# ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΗΣΗ – ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΥΠΟΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΚΛΑΣΜΑΤΩΝ

## ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΑ



# ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΗΣΗ – ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΚΑΘΑΡΟΤΗΤΑΣ ΥΠΟΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΚΛΑΣΜΑΤΩΝ

## ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΥΠΟΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΚΛΑΣΜΑΤΩΝ

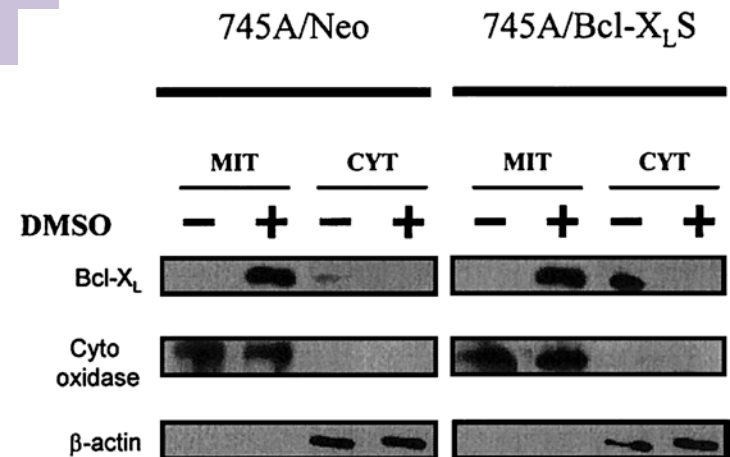
Μέτρηση ενζυμικής δραστηριότητας  
Διερεύνηση εντόπισης βιολογικών μορίων που εντοπίζονται αποκλειστικά σε συγκεκριμένα υποκυτταρικά οργανίδια

Π.χ

Κυτταρόπλασμα: β-ακτίνη, γαλακτική αφυδρογονάση

Μιτοχόνδρια: κυτοχρωμική οξειδάση, κιτρική συνθάση

Πυρήνας: νουκλεοπορίνη, λαμινίνη



# ΒΑΘΜΙΔΩΣΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΗΣΗ ΣΕ ΔΙΑΒΑΘΜΙΣΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ

## ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ ΥΠΟΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΟΡΓΑΝΙΔΙΩΝ ΚΑΙ ΒΙΟΜΟΡΙΩΝ ΒΑΣΕΙ ΜΙΚΡΩΝ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΣΤΟΝ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗ ΚΑΤΑΒΥΘΙΣΗΣ ΤΟΥΣ

Υλικά που χρησιμοποιούνται  
για τη δημιουργία  
βαθμίδωσης συγκέντρωσης

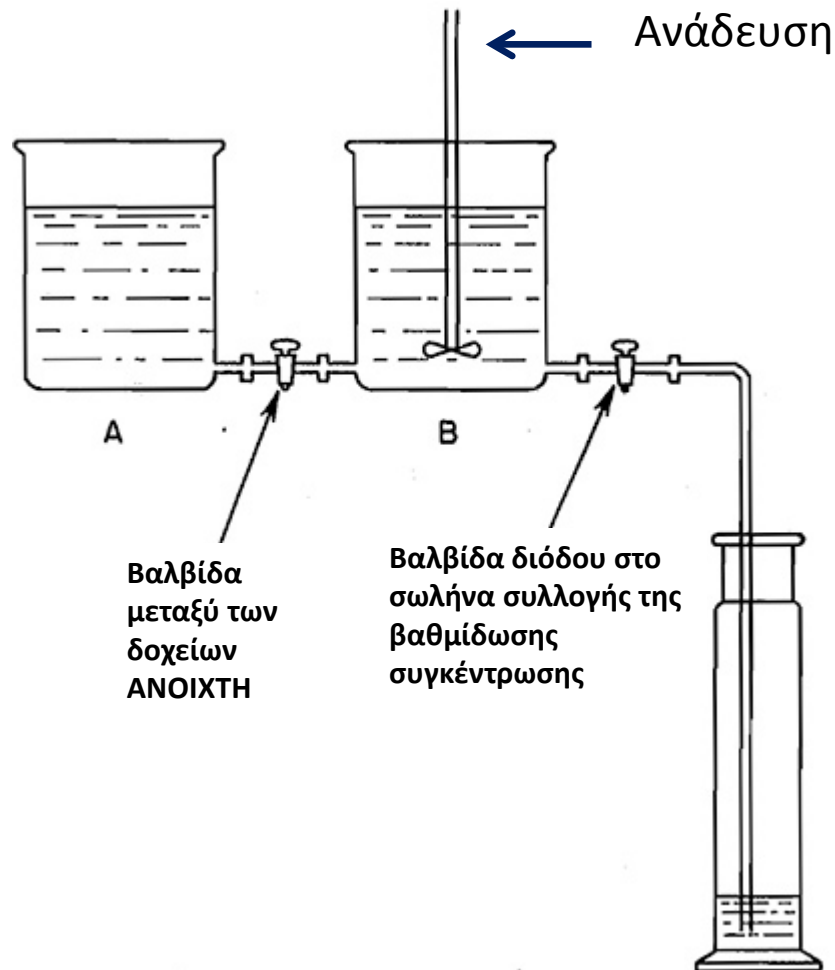
### Σουκρόζη

### Ficoll

Ουδέτερος πολυσακχαρίτης, μεγάλου  
μοριακού βάρους, με πολλές  
διακλαδώσεις, υδρόφιλος,  
υδατοδιαλυτός

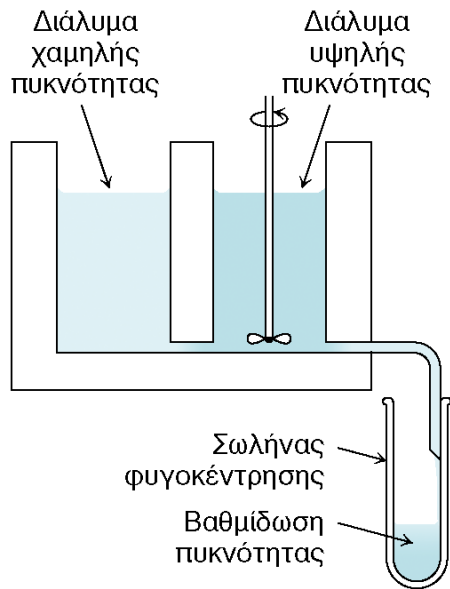
### Percoll

αποτελείται από σωματίδια  
κolloειδούς πυρίτη από 15-30 nm σε  
διάμετρο (23% W/V σε νερό), τα οποία  
έχουν επικαλυφθεί με  
πολυβινυλοπυρρολιδόνη (PVP)

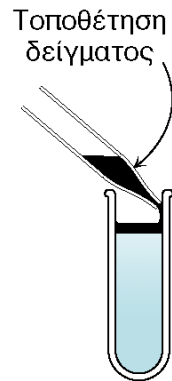


# ΒΑΘΜΙΔΩΣΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΗΣΗ ΣΕ ΔΙΑΒΑΘΜΙΣΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΥΠΕΡΦΥΓΟΚΕΝΤΡΗΣΗ

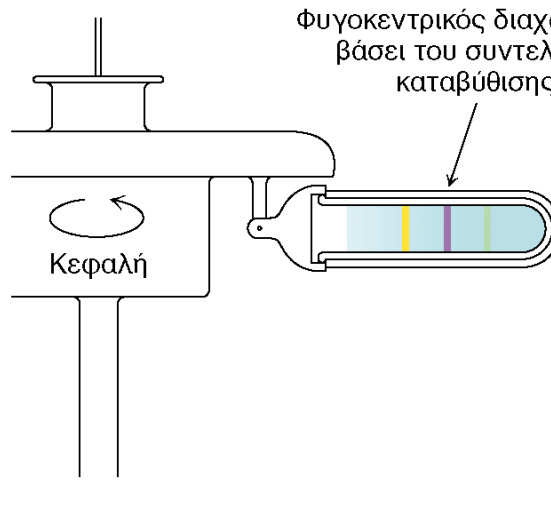
## ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΗΣΗ ΣΕ ΠΟΛΥ ΥΨΗΛΕΣ ΤΑΧΥΤΗΤΕΣ ΥΠΕΡΦΥΓΟΚΕΝΤΡΗΣΗ



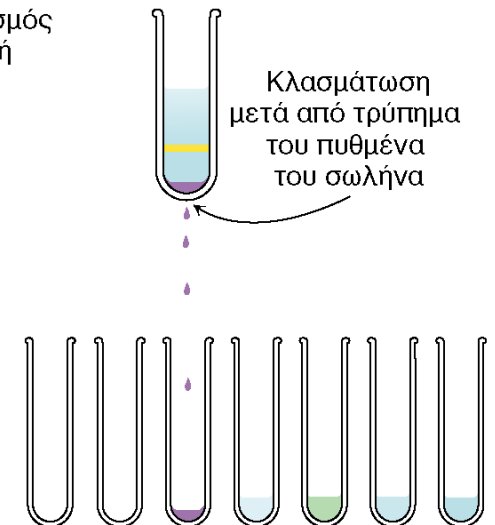
(Α)



(Β)



(Γ)



(Δ)

# ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ ΜΕΜΒΡΑΝΙΚΩΝ ΥΠΟΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΜΕ ΥΠΕΡΦΥΓΟΚΕΝΤΡΗΣΗ ΚΑΙ ΒΑΘΜΙΔΩΣΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ

## ΓΡΑΜΜΙΚΗ ΒΑΘΜΙΔΩΣΗ

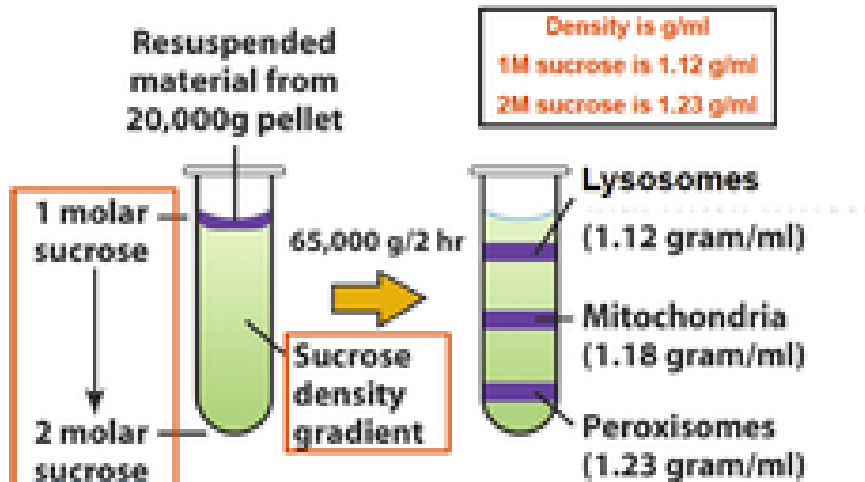
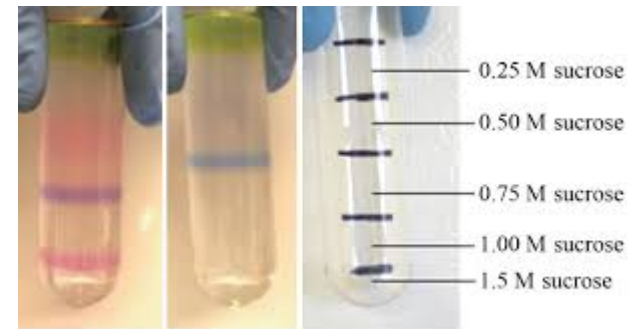


Figure 14-23 Cell and Molecular Biology, 4th ed. © 2005 W. H. Freeman & Co.

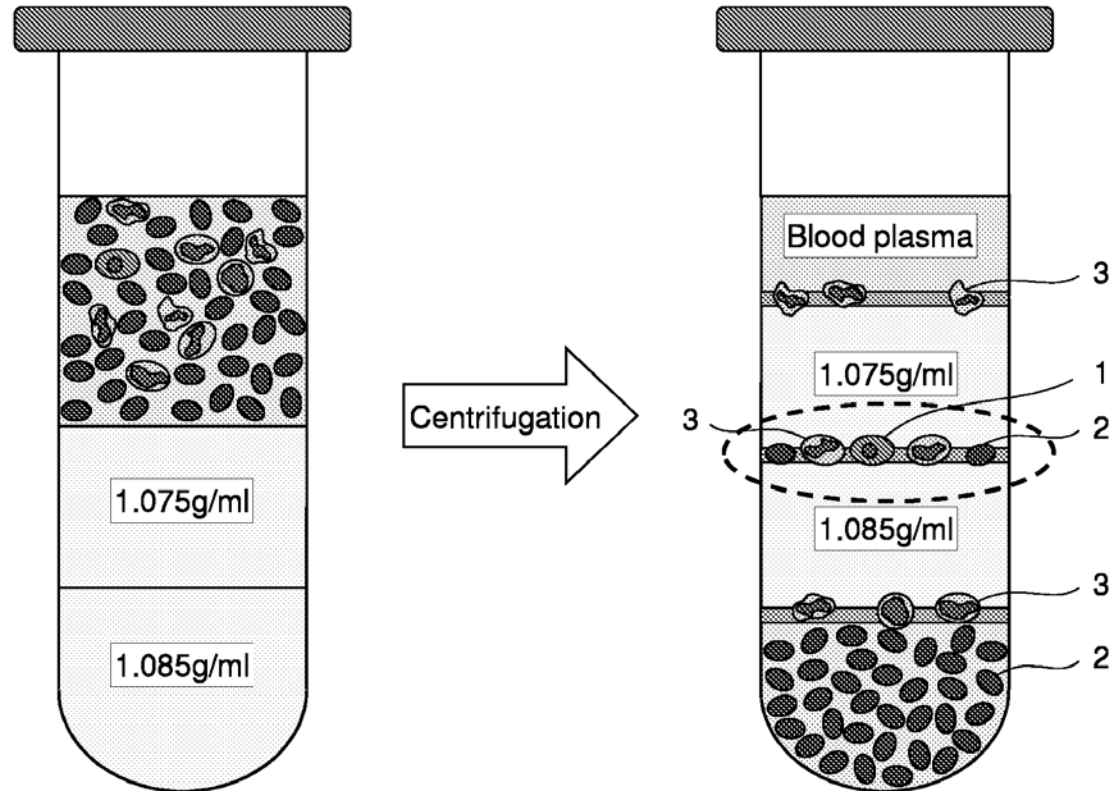
[http://o.quizlet.com/LYnlneqYKo4AtbS3ugZcyA\\_m.png](http://o.quizlet.com/LYnlneqYKo4AtbS3ugZcyA_m.png)

## ΜΗ ΓΡΑΜΜΙΚΗ ΒΑΘΜΙΔΩΣΗ



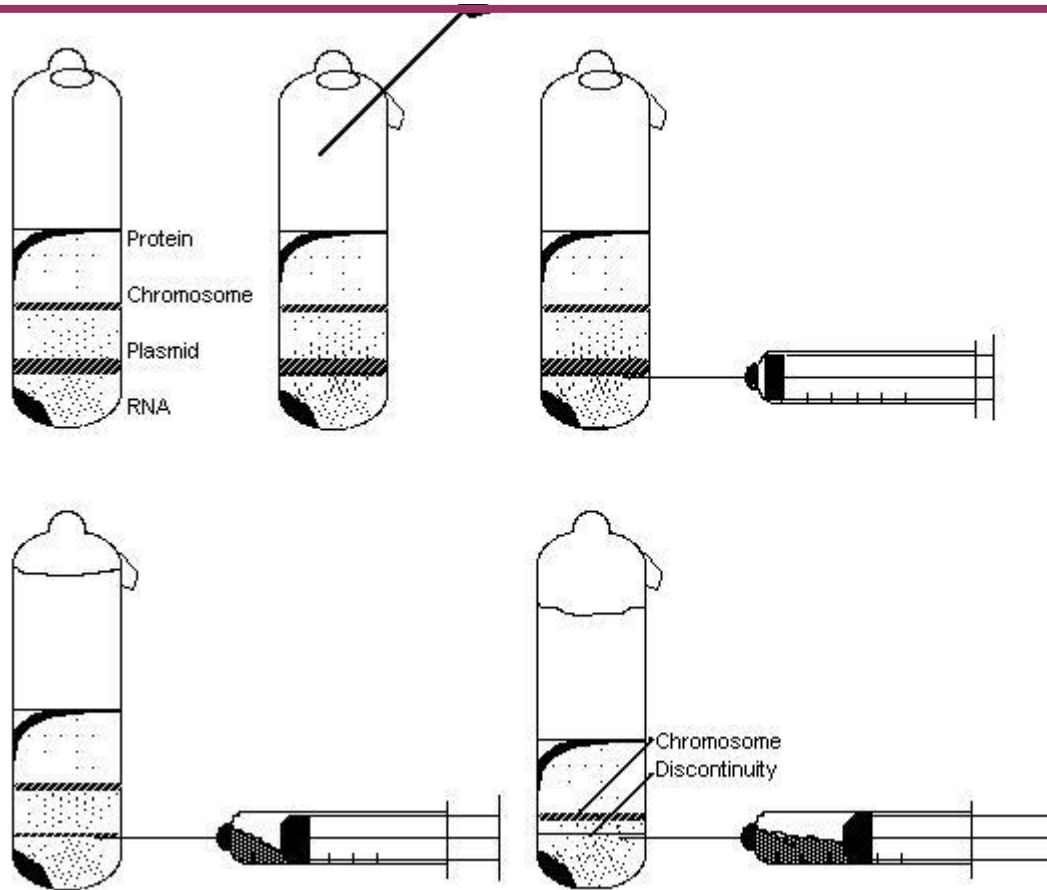
<https://encrypted-tbn3.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcSSDdgSAems3UzauV3XU7mQ58f0TJB2jWsVa4cRMPLPuOYZTJUzQQ>

# ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΑΙΜΑΤΟΣ ΜΕ ΒΑΘΜΙΔΩΣΗ PERCOLL





# ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ ΒΙΟΜΟΡΙΩΝ ΜΕ ΥΠΕΡΦΥΓΟΚΕΝΤΡΗΣΗ ΚΑΙ ΒΑΘΜΙΔΩΣΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ



[http://upload.wikimedia.org/wikibooks/en/2/24/Density\\_gradient.JPG](http://upload.wikimedia.org/wikibooks/en/2/24/Density_gradient.JPG)