

Les échantillons :

- Les macromolécules analysées doivent être solubles et stables (surtout pour les expériences d'équilibre de sédimentation)
- La concentration dépend de ce que vous voulez voir et de ce que vous avez de disponible :
 - En Absorbance (vitesse de sédimentation), le confort est $DO=1$ (on peut moduler: trajet optique = 1.2, 0.3 ou 0.15 cm, λ entre 230 et 600 nm).
 - En interférence, il n'y a pas de limite par les fortes concentrations, mais il faut un nombre de frange raisonnable pour avoir de l'information (la série 1.2/0.8/0.3 mg/ml pour les protéines se voit en absorbance et en interférence). Le minimum dépend de l'homogénéité de l'échantillon.
 - En standard, on fait deux dilutions -2/3 et 1/3- à partir d'un échantillon de $DO=1.2$. Quand on attend (ou l'on voit) des effets de concentration, on est souvent amené à utiliser différents systèmes de détection et/ou trajets optiques.
 - Pour les polysaccharides: dans notre étude sur l'héparine (homogène et non absorbante), nous avons testé typiquement nos échantillons à 3, 6 et 10 mg/ml (quelquefois 1.5, 3 et 5 mg/ml).
- Le volume confort dans la cellule de vitesse de sédimentation est de 450 μ l pour des cellules de 12mm (il peut être de 150 ou 80 μ l pour des cellules de 3 ou 1.5 mm). Si vous disposez de suffisamment d'échantillon, prévoir 1 mL (on ne peut exclure des risques de fuite, donc un échantillon à refaire...).
 - Pour les expériences d'équilibre de sédimentation, les volumes sont plus faibles, typiquement 180 μ L en 12 mm, les concentrations aussi (typiquement $DO=0.6$), mais on duplique souvent les échantillons et on fait des séries de dilution.

Le tampon :

- Il faut connaître sa composition exacte, surtout pour les expériences d'équilibre de sédimentation (dialyse souhaitée)
- Il doit contenir du sel (par exemple 100 mM), pour que le transport ne soit pas perturbé par des interactions électrostatiques (la macromolécule migrant plus vite que les contre ions).
- Pour les acquisitions en absorbance : le tampon ne doit pas absorber (ou très peu) à la longueur d'onde considérée.
- Pour les acquisitions en interférence : la composition du solvant doit être rigoureusement contrôlée et identique à celle de la référence (sauf pour les protéines membranaires : la référence ne doit pas contenir de détergent)
- Le volume de tampon : Le volume confort est de 1ml de tampon de référence par échantillon. Si le volume de tampon ne pose pas de problème, prévoir 5 ml en plus, pour d'éventuelles mesures de densité et de viscosité.
- Dans le cas des protéines membranaires, il est nécessaire d'avoir 2 tampons : un tampon avec détergent (pour d'éventuelles dilutions et mesure de densité et viscosité) et l'autre sans détergent (pour la référence).