

LE PRINCIPE :

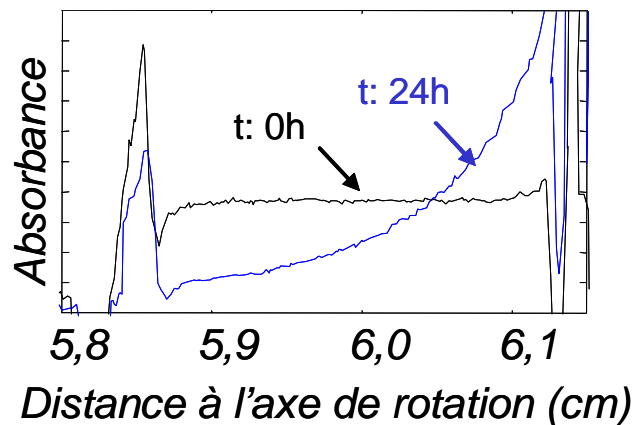
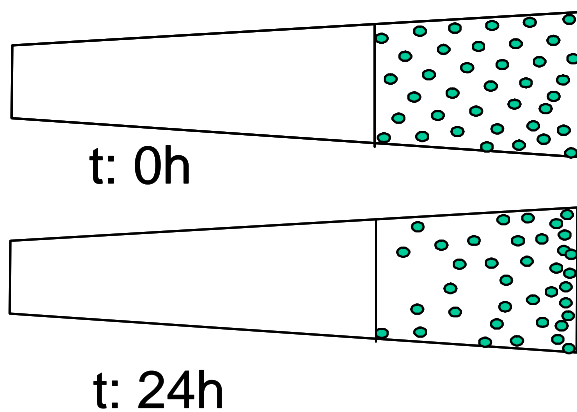
La centrifugation à l'équilibre permet d'observer les concentrations de macromolécules en solution soumises à un champ de force centrifuge, en conditions d'équilibre. On utilise en général une détection en absorbance.

Cette expérience nous renseigne sur la **masse moléculaire apparente** des macromolécules, ainsi que sur les **constantes d'association-dissociation** des complexes.

Les macromolécules sont centrifugées à plusieurs vitesses, et pendant quelques jours. On obtient, à l'équilibre (environ 24h après), un gradient régulier de la concentration. C'est une expérience qui s'effectue à **faible vitesse** et avec des **petits volumes** (< 200 µl). Pour un trajet optique de 12mm :

Si l'échantillon est hyper stable :	180µl Ech + 10µl FC43 / 200µl solvant
Si l'échantillon est stable :	110µl Ech + 10µl FC43 / 130µl solvant
Si l'échantillon est instable :	80µl Ech + 10µl FC43 / 100µl solvant
Si l'échantillon est très instable :	40µl Ech + 10µl FC43 / 60µl solvant

On choisit une pièce centrale de 2 ou 6 canaux, en fonction du volume.



L'EXPERIENCE :

- 1- Déterminer les paramètres de l'échantillon et du tampon : poids moléculaire, s , densité et viscosité : **SEDNTERP**, S-RHouMnew.xls et/ou mesure de la densité (densimètre DMA5000)
- 2- Choisir les vitesses angulaires (typiquement 3) : **SEDFIT**
- 3- Lancer l'expérience : **XLI**
- 4- Analyser les données : **SEDFIT**, **WIN MATCH** et **SEDPHAT**

PRINCIPE DE L'ANALYSE :

Dans les conditions d'équilibre, l'équation de Lamm (voir fichier : vitesse de sédimentation) se réduit à:

$$c(r) = \sum c_{0i} \cdot \exp [\omega^2 M_{bi} / 2RT] \cdot (r^2 - r_0^2) + \delta$$

avec :

- $c(r)$ la concentration à la distance radiale r
- c_{0i} la concentration de l'espèce i à la distance radiale r_0 (usuellement au premier point considéré pour le fit)
- ω la vitesse angulaire (s^{-1}) - M_{bi} la masse flottante de l'espèce i : $M_{bi} = M_i \cdot (1 - \bar{v}_i \rho^0)$
- R : constante des gaz - T : température ($^{\circ}K$) - δ : bruit (le signal du solvant considéré constant)

Dans le cas d'un équilibre d'association, les concentrations c_{0i} des espèces sont liées par la constante d'association, et les **masses moléculaires** par les stœchiométries.

En général, on analyse globalement les profils d'équilibre de sédimentation obtenus à plusieurs concentrations et plusieurs vitesses angulaires.