## ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ ΑΣΚΗΣΗΣ 2: ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ-ΧΡΩΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ

## Α. ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΔΙΗΘΗΣΗΣ

1. Πλένετε τη στήλη με το υλικό Sephadex G50 με PBS (2-3 όγκους στήλης~15 ml).
2. Ετοιμάζετε μια σειρά από δοκιμαστικούς σωλήνες τους οποίους και αριθμείτε (1🡪5).
3. Αφήνετε το διάλυμα να περάσει μέσα από την στήλη μέχρις ότου μείνει μια ελάχιστη ποσότητα στο πάνω μέρος της στήλης
4. Διακόπτετε τη ροή της στήλης (γυρίζουμε τη στρόφιγγα) και προσθέτετε προσεκτικά το δείγμα σας (**Δ**) που περιέχει τις υπό διαχωρισμό πρωτεΐνες σε PBS, **ώστε να μην αναταραχθεί η επιφάνεια της στήλης**.
5. Ανοίγετε τη στρόφιγγα και αφήνετε αργά-αργά να περάσει το διάλυμά μας μέσα στη στήλη.
6. Συλλέγετε κλάσματα του ίδιου όγκου (1,5 ml) στους σωλήνες.
7. Μετά την έκλουση της στήλης και τη συλλογή των κλασμάτων τοποθετείτε στη στήλη διάλυμα 1Μ ΝaCl σε PBS για να ξεπλυθεί.
8. Aκολουθεί **φωτομέτρηση** (μέρος B) για τον εντοπισμό των κλασμάτων-σωλήνων στους οποίους έχουν εκλουσθεί τα μόρια.

**Β. ΦΩΤΟΜΕΤΡΗΣΗ ΣΥΛΛΕΧΘΕΝΤΩΝ ΚΛΑΣΜΑΤΩΝ**

1. Ανοίξτε το όργανο από τον διακόπτη παροχής τάσης (**ON/OFF**).
2. Επιλέξτε το επιθυμητό μήκος κύματος **280 nm** και μηδενίστε με το **τυφλό (διάλυμα PBS**).
3. Μετρήστε την οπτική πυκνότητα των δειγμάτων
4. Εισάγουμε τα άγνωστα δείγματα και καταγράφουμε τις ενδείξεις του φωτομέτρου.