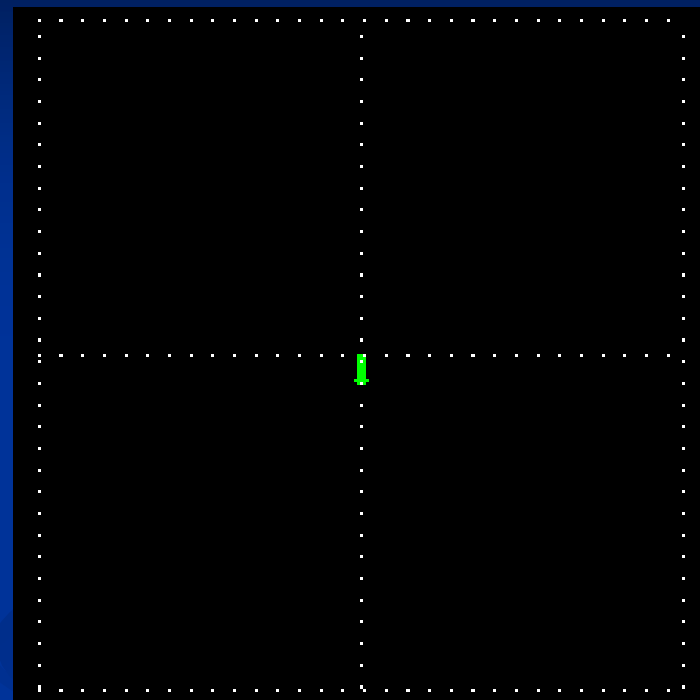
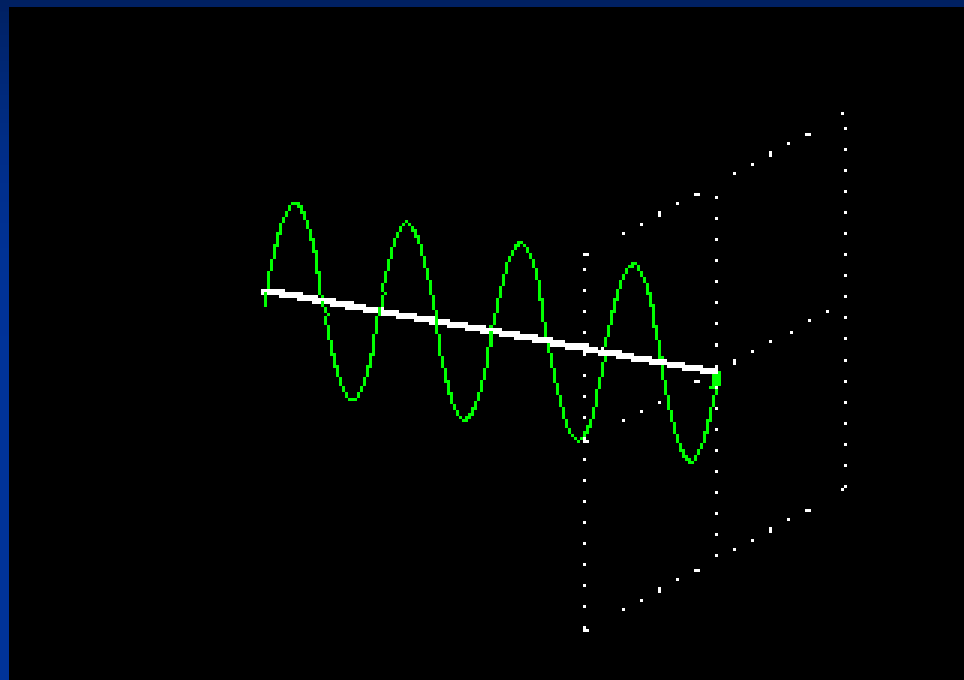
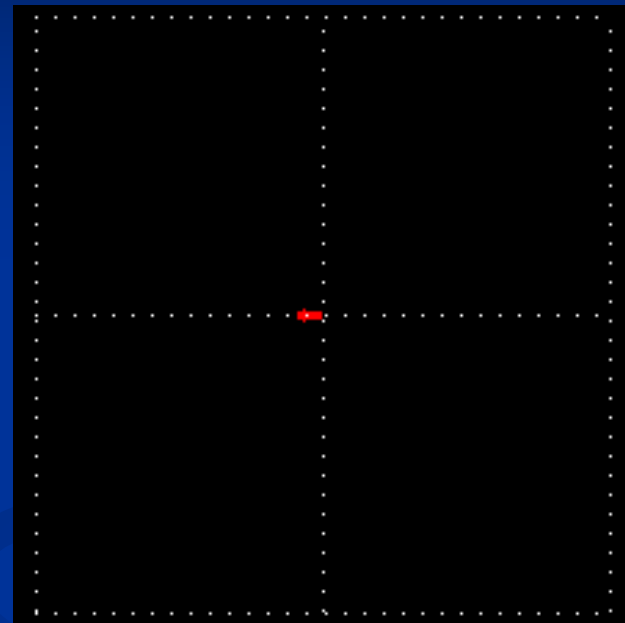
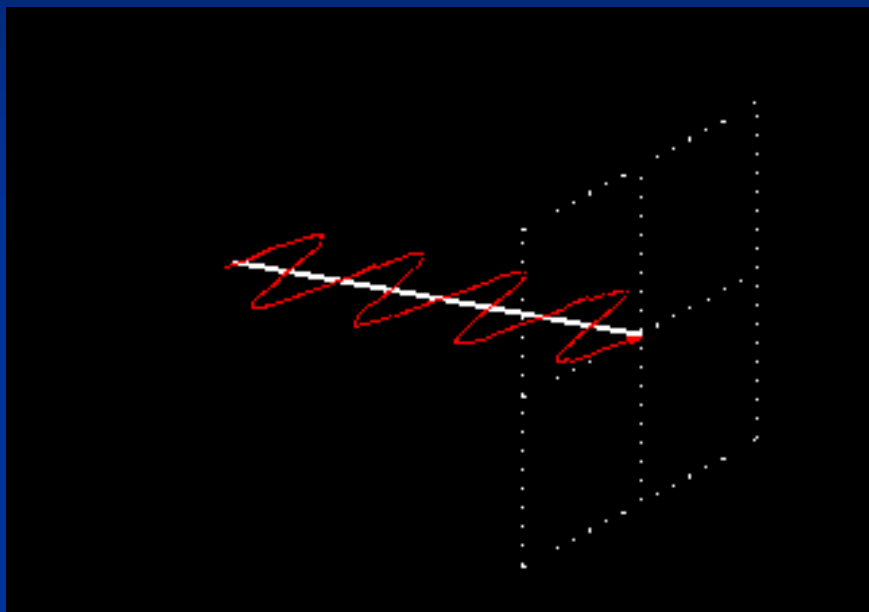


ΚΥΚΛΙΚΟΣ ΔΙΧΡΩΙΣΜΟΣ

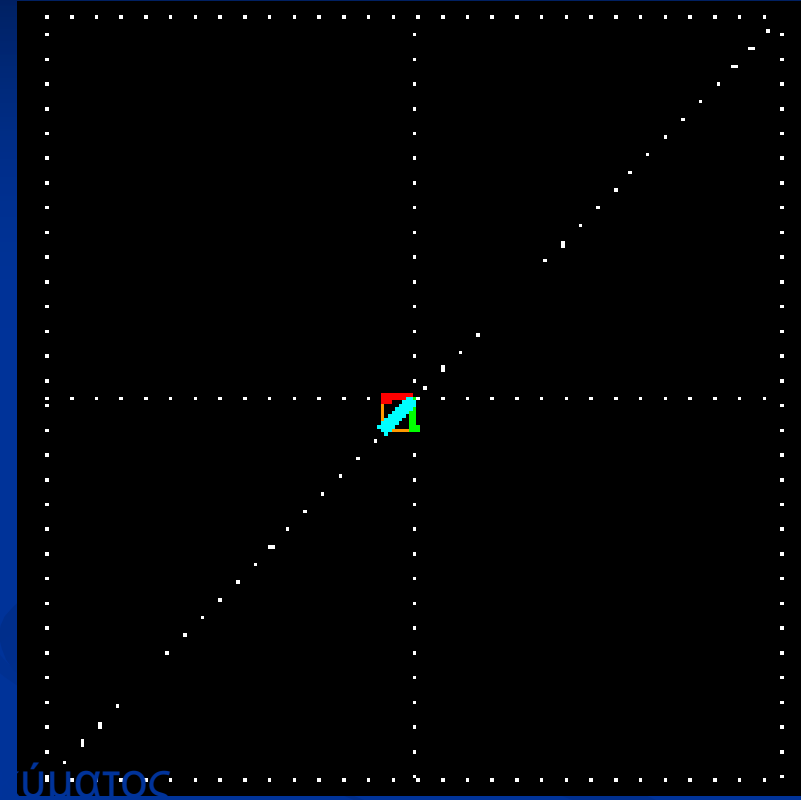
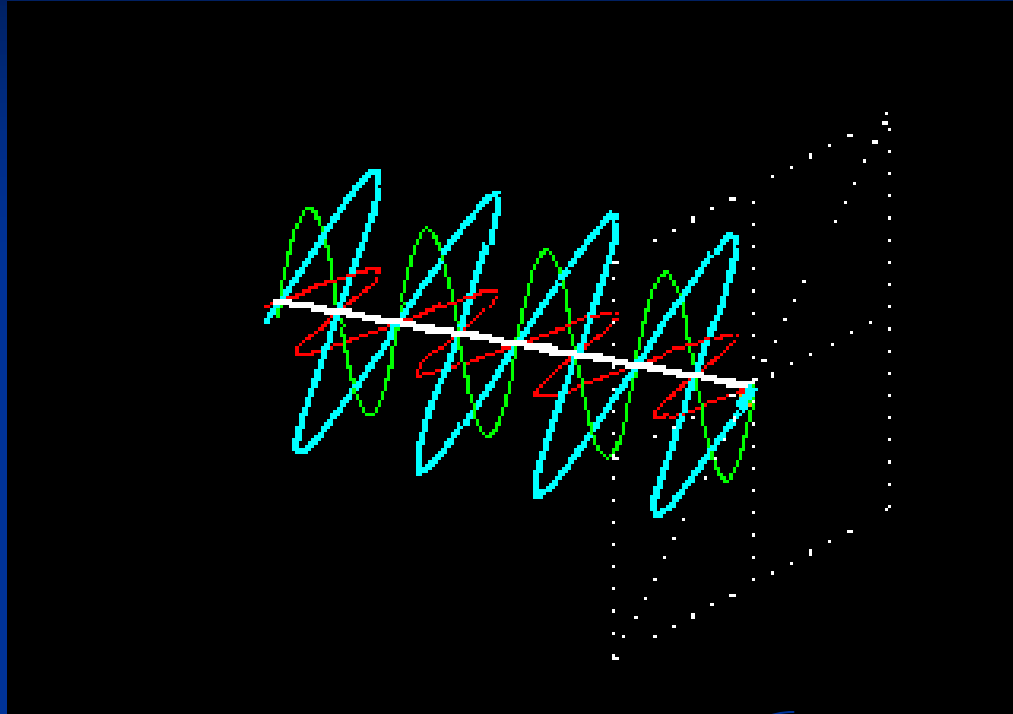
Γραμμικώς πολωμένα κύματα σε κάθετο επίπεδο



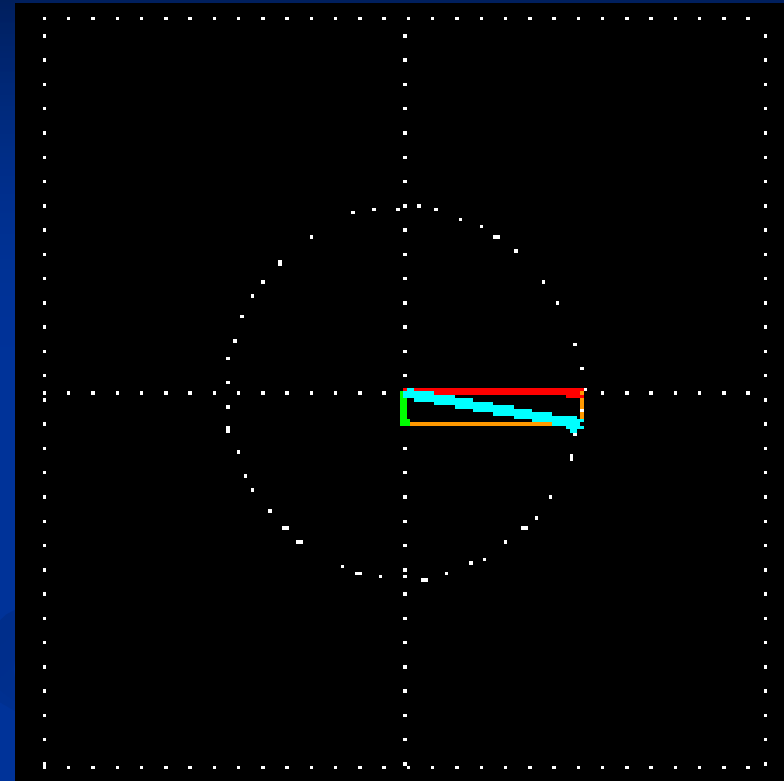
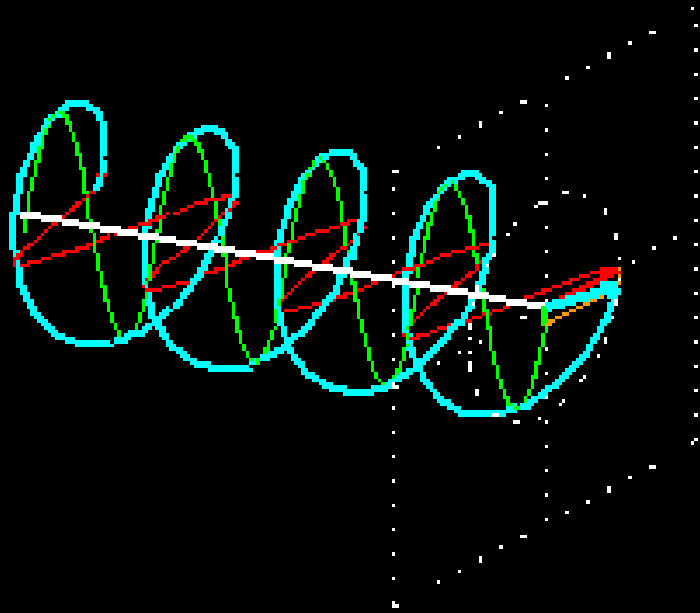
Γραμμικώς πολωμένα κύματα σε οριζόντιο επίπεδο



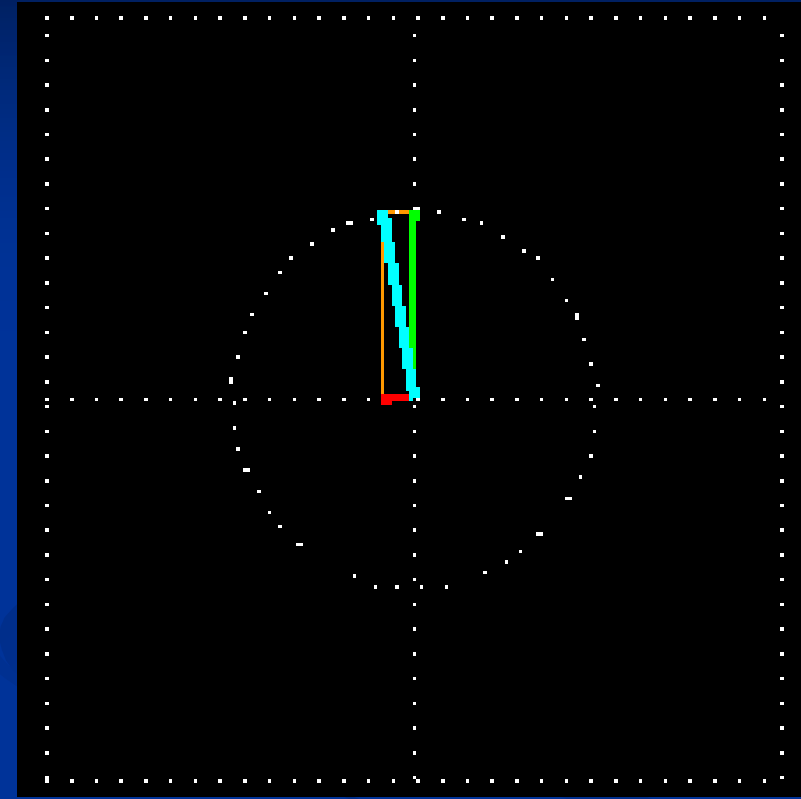
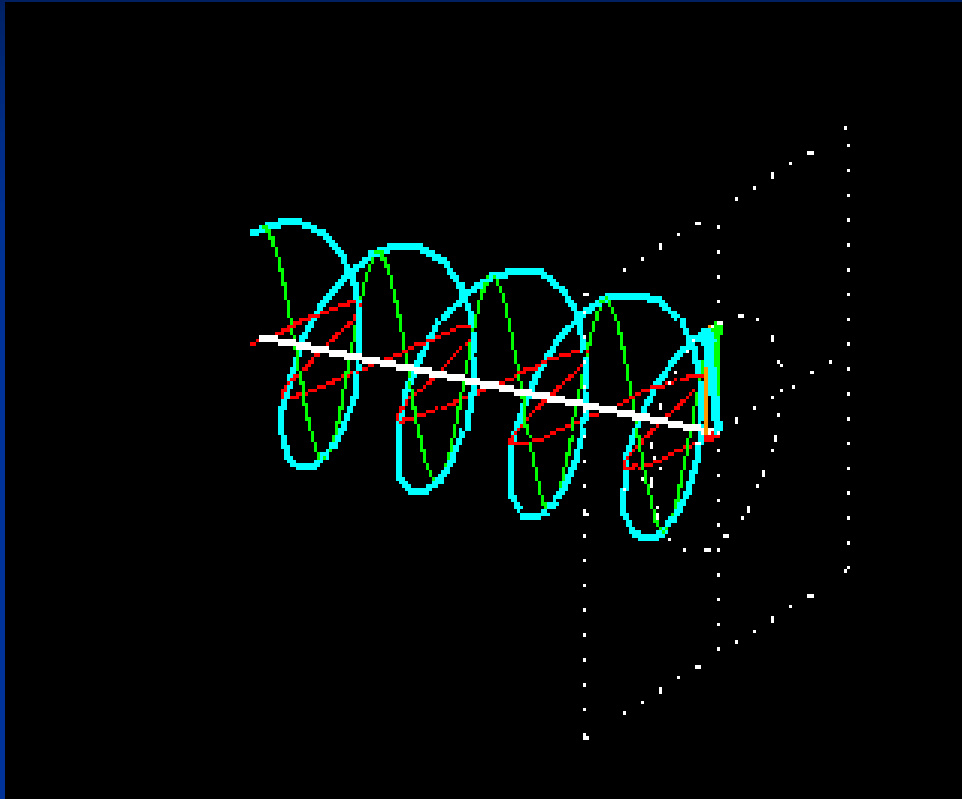
Συνδυασμός δύο γραμμικώς πολωμένων κυμάτων κάθετων
μεταξύ τους που βρίσκονται στην ίδια φάση



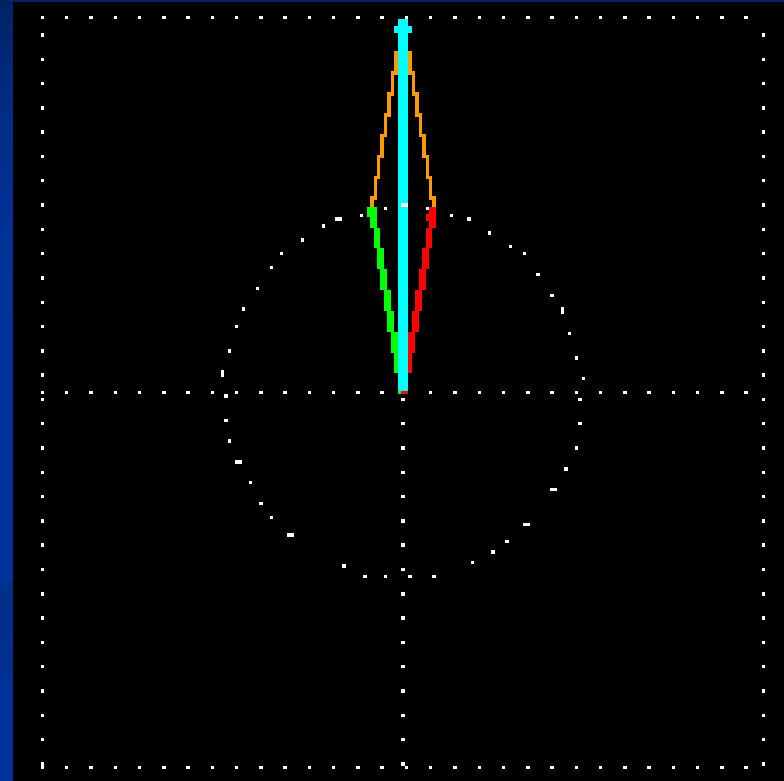
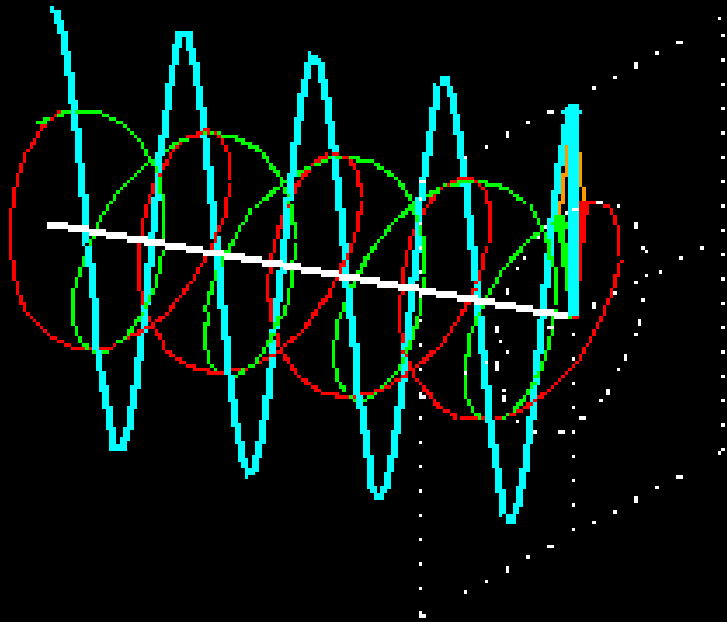
Συνδυασμός δύο γραμμικώς πολωμένων κυμάτων κάθετων μεταξύ τους που βρίσκονται σε διαφορετική φάση



Συνδυασμός δύο γραμμικά πολωμένων κυμάτων
κάθετα μεταξύ τους με διαφορά φάσης -90 μοίρες



Συνδυασμός ενός δεξιόστροφου και ενός
αριστερόστροφου κυκλικά πολωμένου κύματος

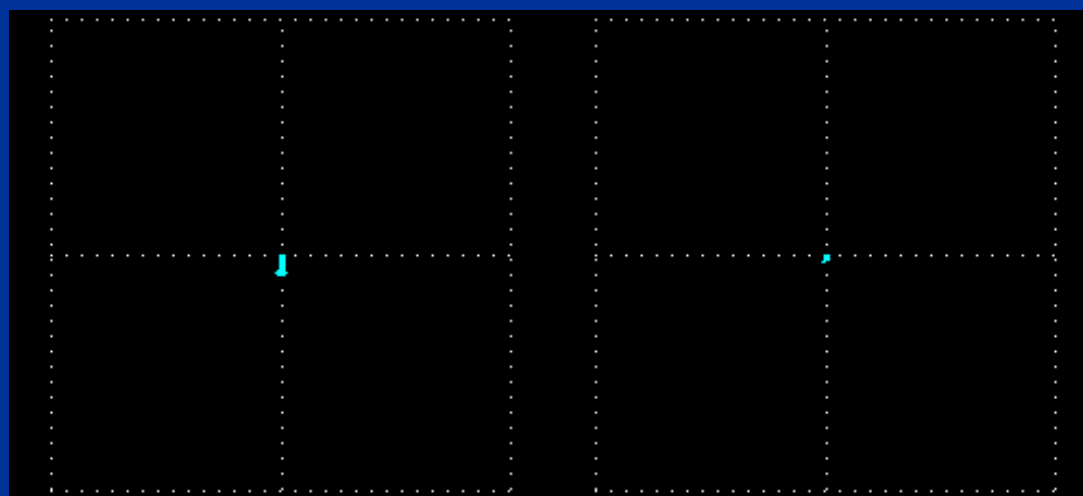
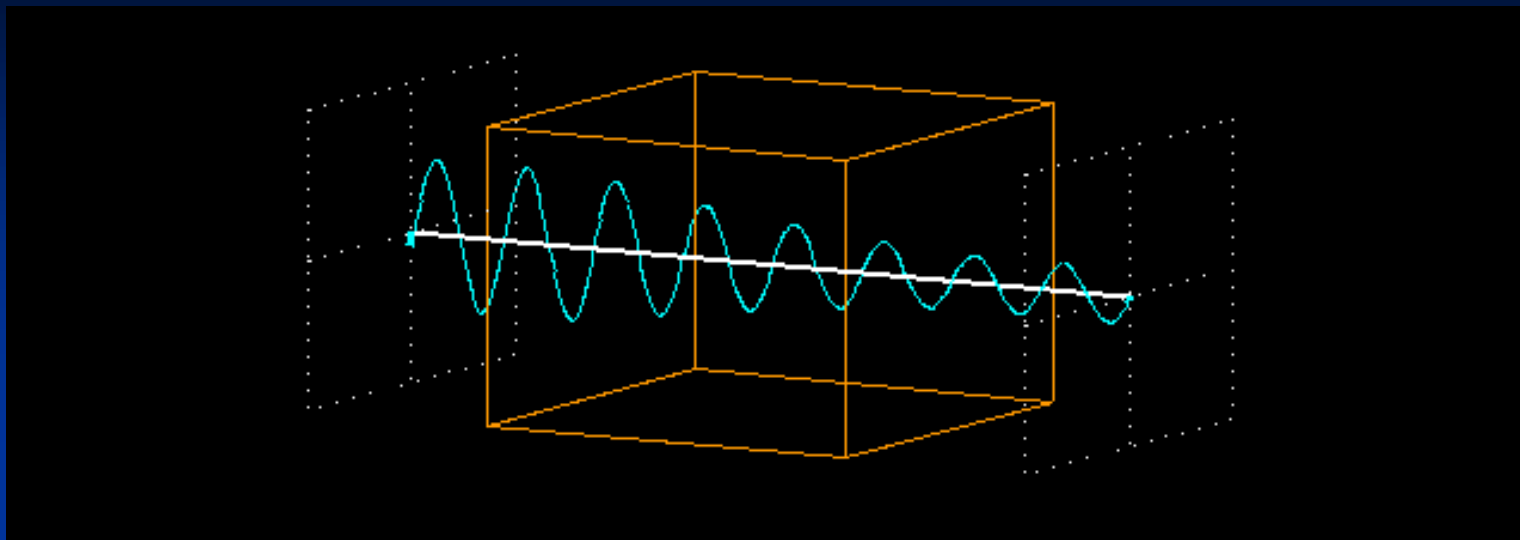


ΥΛΙΚΑ



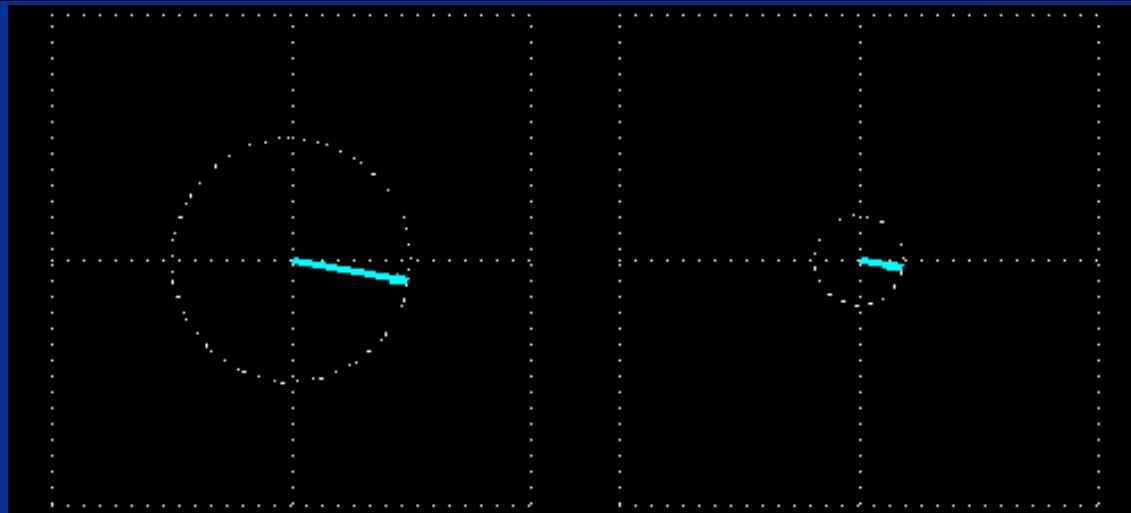
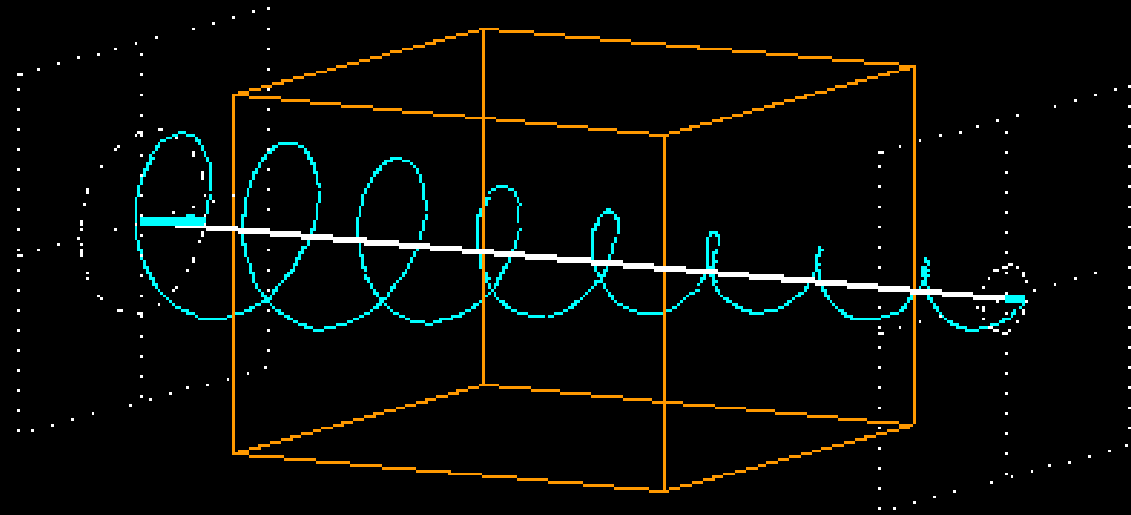
Φως: γραμμικά πολωμένο

Υλικό που απορροφά αλλά $n=1$



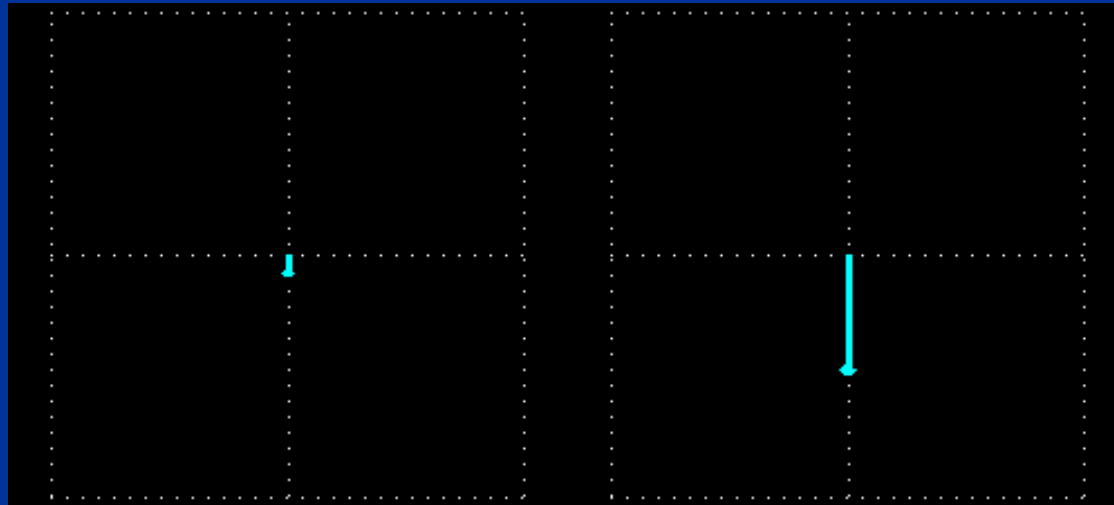
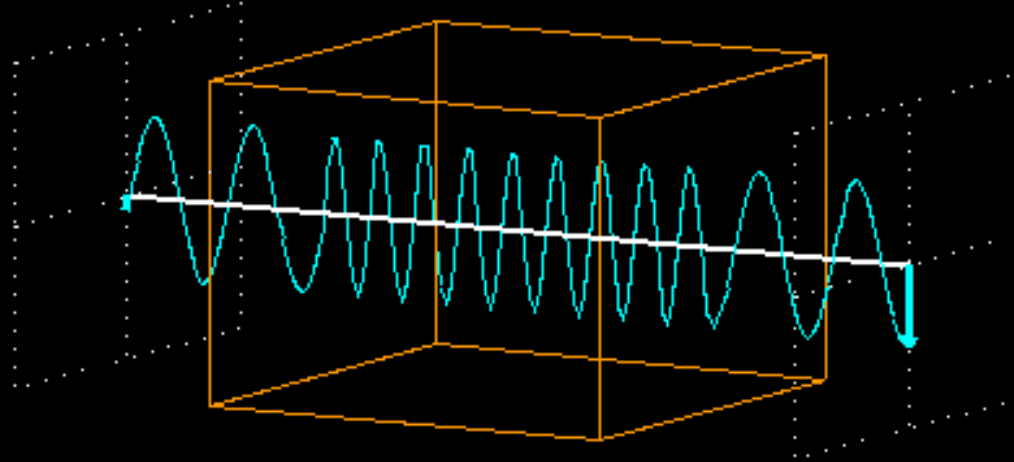
Φως: κυκλικά πολωμένο

Υλικό που απορροφά αλλά $n=1$



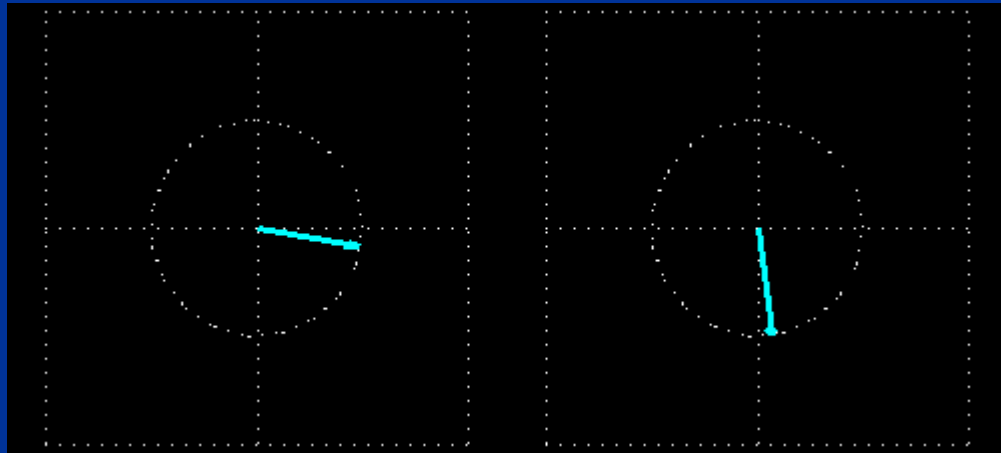
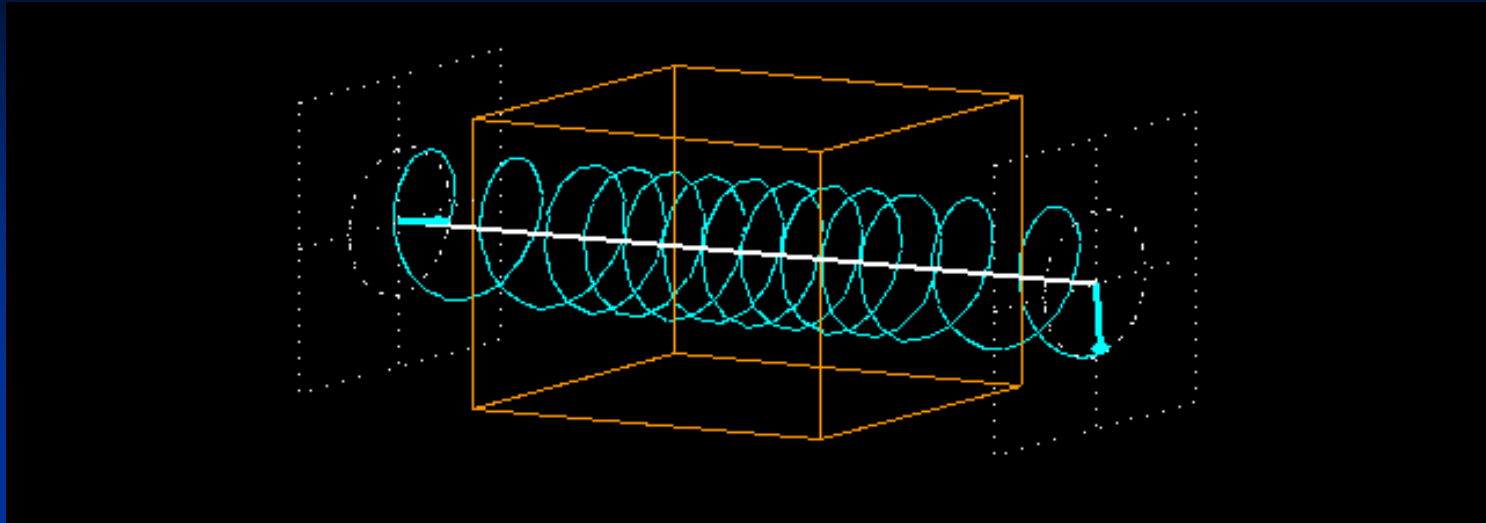
Φως: γραμμικώς πολωμένο

Υλικό που δεν απορροφά αλλά $n = 2,2$



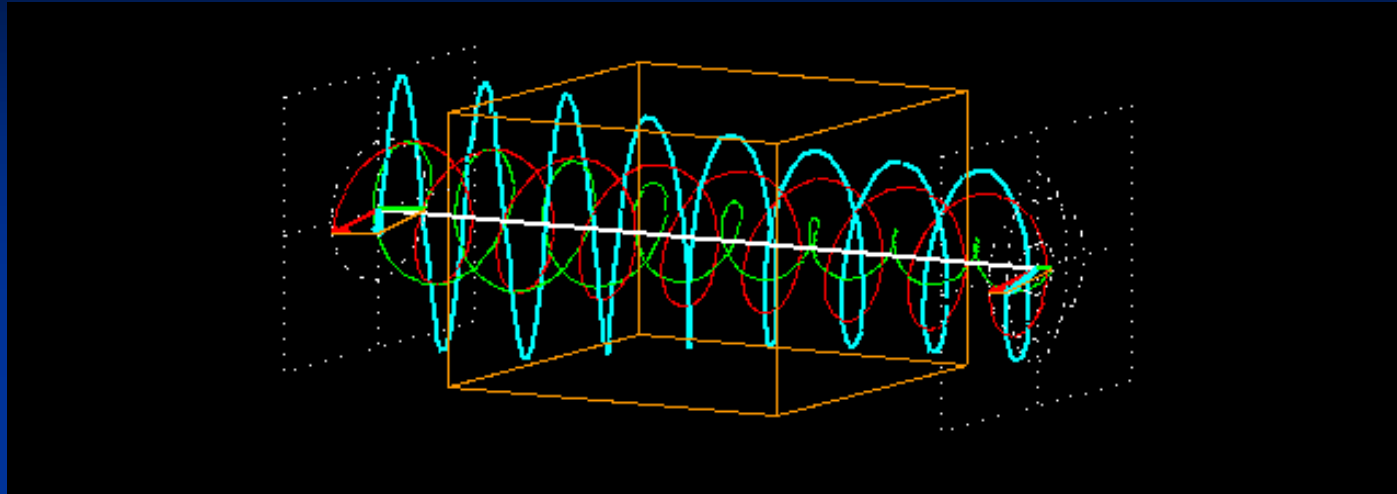
$\Phi\omega\varsigma$: κυκλικά πολωμένο

Υλικό που δεν απορροφά αλλά $n = 2,2$



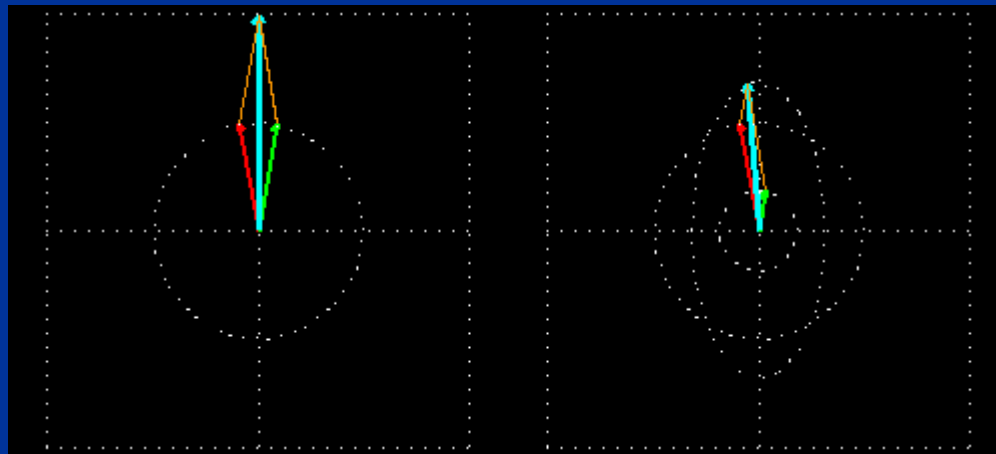
ΚΥΚΛΙΚΟΣ ΔΙΧΡΩΙΣΜΟΣ

Φως: γραμμικώς πολωμένο Υλικό που απορροφά σε διαφορετικό ποσοστό το δεξιόστροφο και το αριστερόστροφο κύμα



δεξιόστροφο

αριστερόστροφο



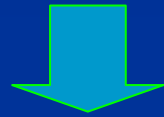
Συνοψίζοντας...

ΚΥΚΛΙΚΟ ΔΙΧΡΩΙΣΜΟ παρουσιάζει μία ουσία :

διαφορετική απορρόφηση του αριστερόστροφου και δεξιόστροφου φωτός

Συμπεράσματα

**Μεταβολή έντασης (πλάτους) των
δύο συνιστάμενων κυμάτων**



Το μέγεθος της ολικής απορρόφησης μετρείται από την ελλειπτικότητα της ελλείψεως " Θ ". $\epsilon \varphi \Theta =$ μικρός άξονας / μεγάλο άξονα

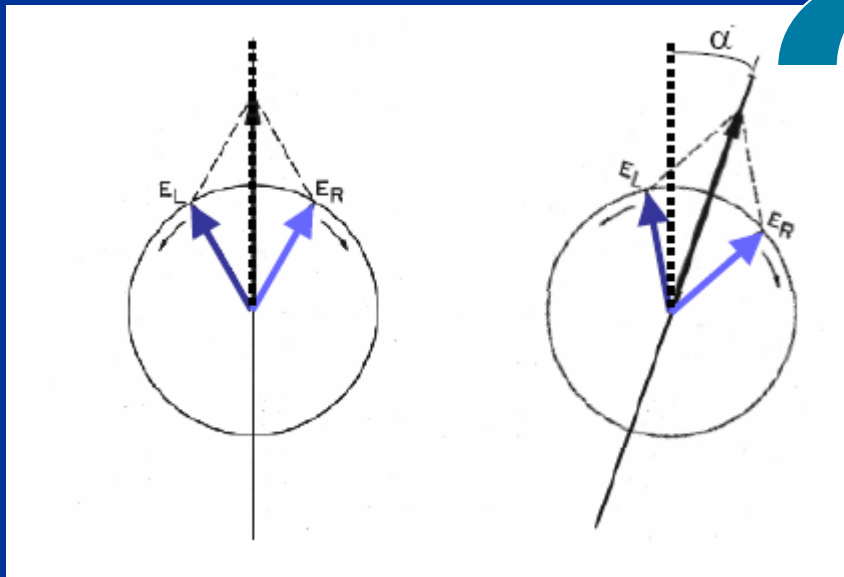
Η ελλειπτικότητα ανά μονάδα μήκους: $\Theta = \pi (k_L - k_R) / \lambda$

Όπου k_L, k_R : οι συντελεστές απορροφήσεως

Μέγιστη οπτική διχρωική πυκνότητα = $\Delta \epsilon_{\max} c l$

Όπου $\Delta \epsilon_{\max} = \epsilon_L - \epsilon_R$ (οι μοριακοί συντελεστές απορροφήσεως)

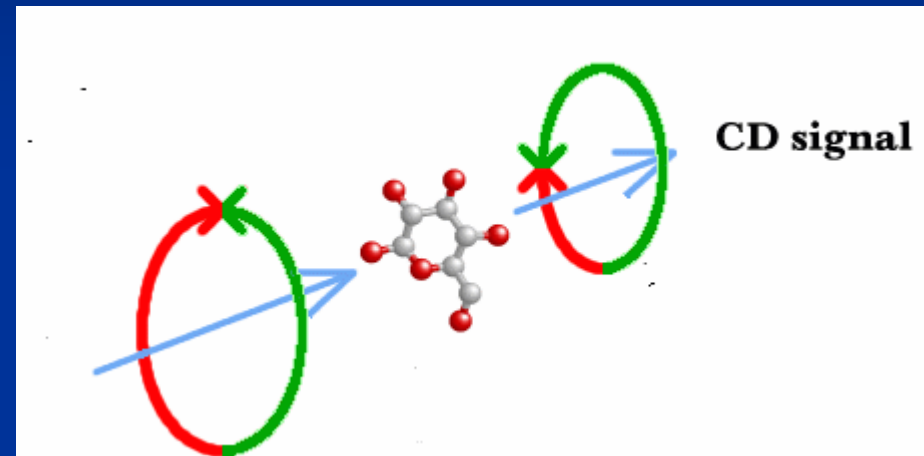
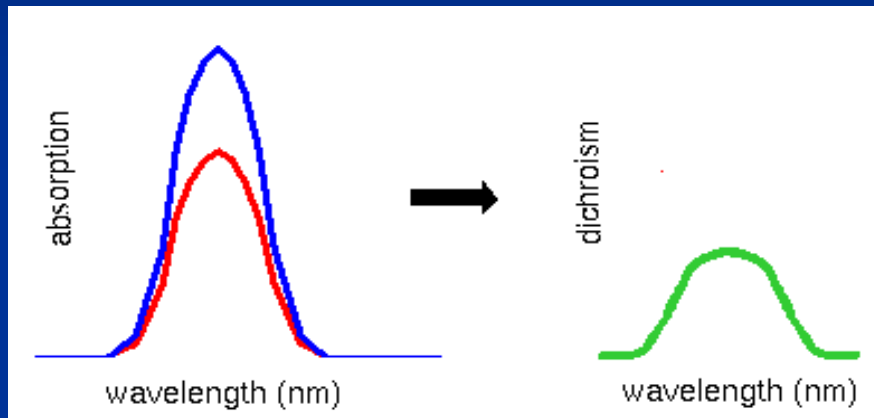
- Ο κυκλικός διχρωϊσμός (C.D.) παρατηρείται μόνο σε λ που η ουσία απορροφά.
- Για όλα τα άλλα μήκη κύματος παρατηρείται οπτική περιστροφή σαν αποτέλεσμα των διαφορετικών δεικτών διάθλασης n για το δεξιά και αριστερά κυκλικά πολωμένο φως (ORD)



α = γωνία περιστροφής

Circular Dichroism

- CD μετράει τη **διαφορά** μεταξύ της απορρόφησης του **δεξιά** και **αριστερά** κυκλικά πολωμένου φωτός.



- Η διαφορά αυτή είναι πού μικρή ($\ll 1/10000$ του συνόλου). Μετά το πέρασμα της L και R δέσμης από το δείγμα, συνδυάζονται για να δώσουν το ελλειπτικά πολωμένο φως. Η φασματοσκοπία CD μετράει την ελλειπτικότητα ως προς τη διαπερατότητα του προσπίπτοντος φωτός.

Optical Rotary Dispersion

Γωνία στροφής α

$$\alpha = [\alpha] dC$$

$[\alpha]$ ειδική στροφή

Η καταγραφή της οπτικής στροφής ως προς το λ είναι το φάσμα O.R.D.

Πιο συνηθισμένο είναι η καταγραφή της μοριακής στροφής $[m']$

$$[m'] = [\alpha] \frac{3}{n^2 + 2} \frac{M}{100}$$

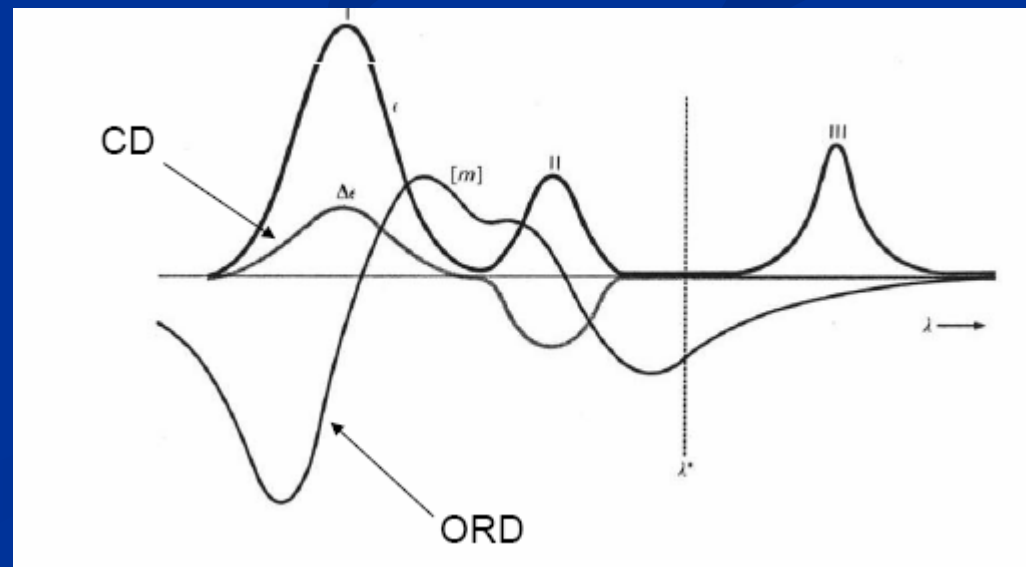
n = δείκτης διάθλασης

M = μοριακό βάρος

$$[m'] = \frac{96\pi N_A}{hc} \frac{R \lambda_0^2}{\lambda^2 - \lambda_0^2}$$

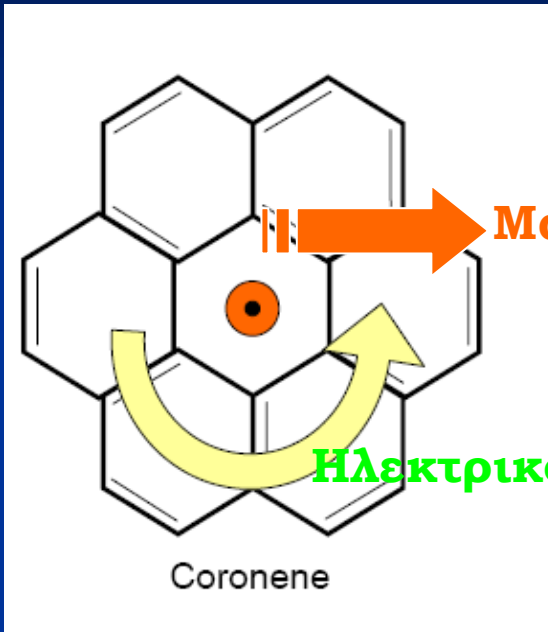
R = ισχύς στροφής

λ_0 = ταινία απορρόφησης



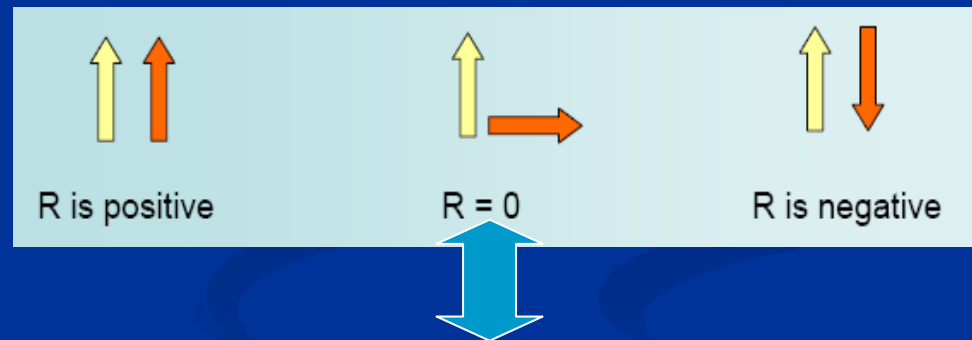
R= ισχύς στροφής

$$R = \mu m \cos \theta$$



Μαγνητικό πεδίο (m)

Ηλεκτρικό πεδίο (μ)



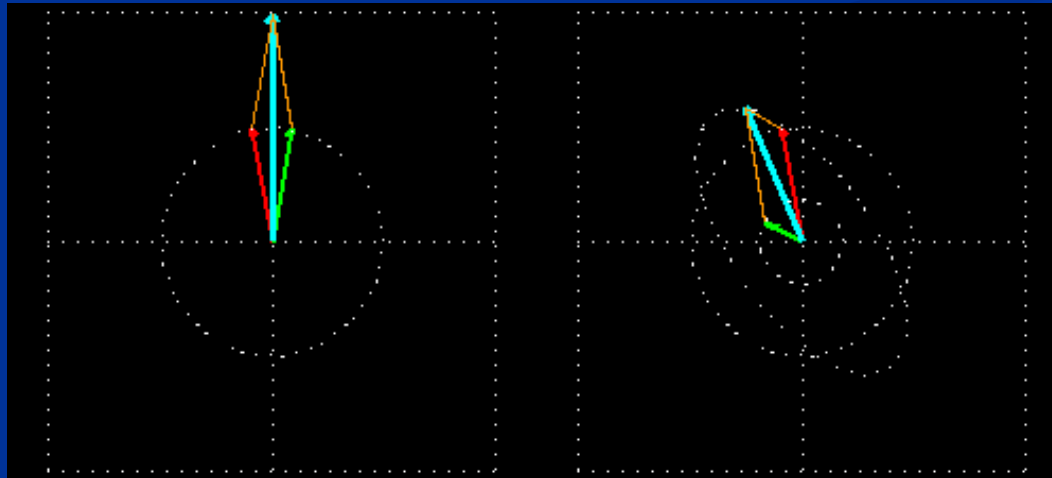
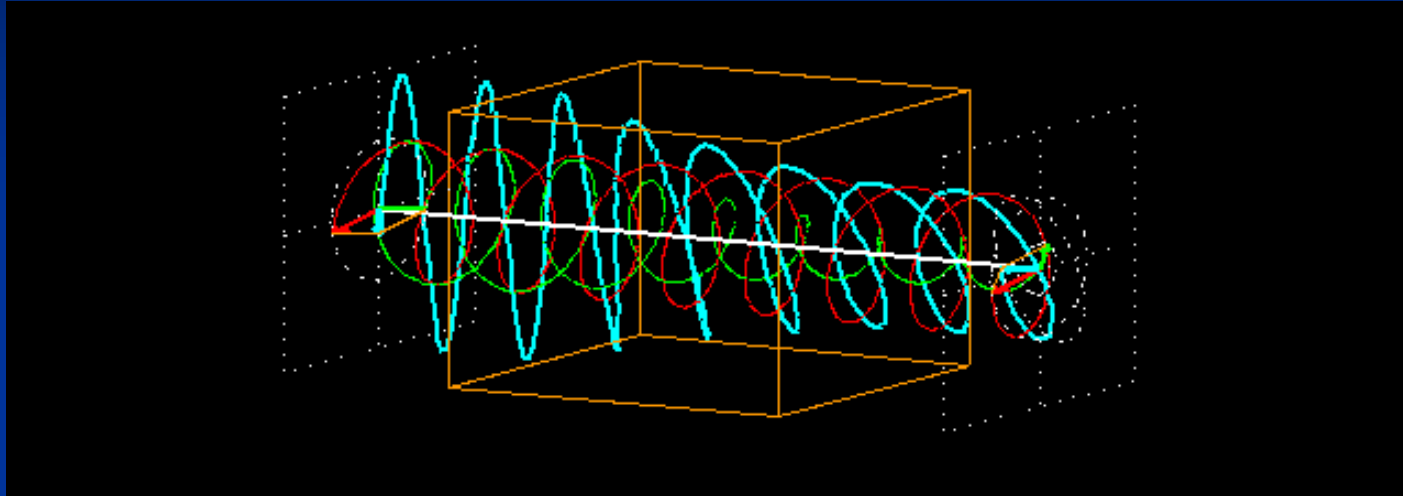
Όταν υπάρχει επίπεδο συμμετρίας

Σε πρωτοταγή δομή η ασυμετρία που επιφέρει οπτική ενεργότητα είναι η ύπαρξη C^* ($R \neq 0$)

Σε δευτεροταγή δομή, στα βιοπολυμερή οφείλεται στην ύπαρξη έλικας

ΚΥΚΛΙΚΟΣ ΔΙΧΡΩΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΟΠΤΙΚΗ ΣΤΡΟΦΙΚΗ ΣΚΕΔΑΣΗ ΜΑΖΙ

ΦΑΙΝΟΜΕΝΟ COTTON



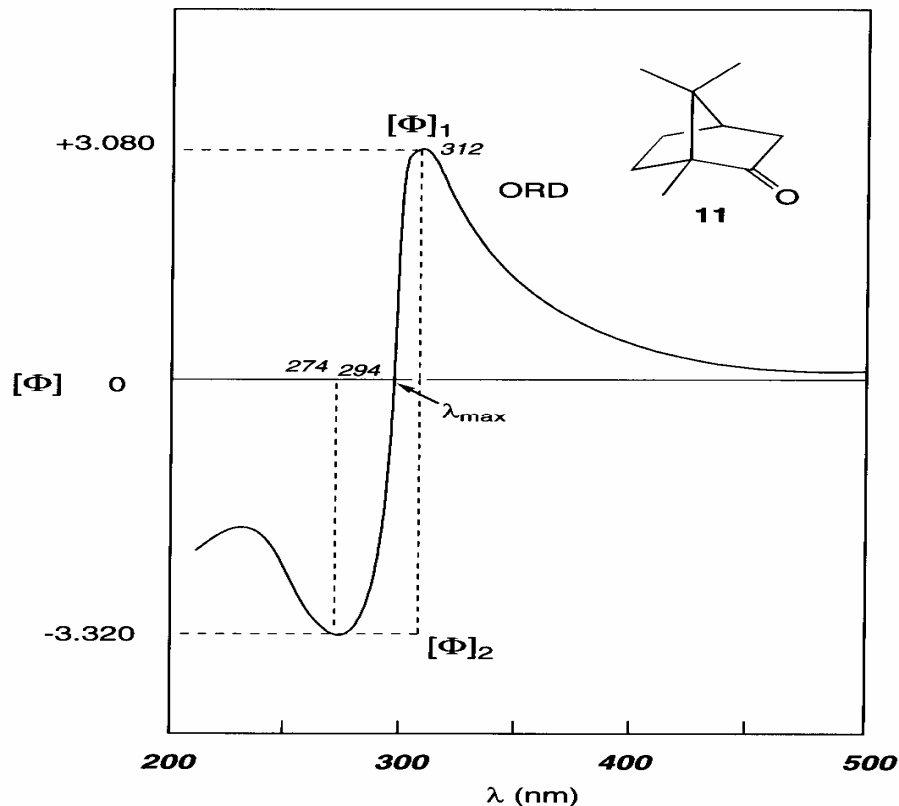
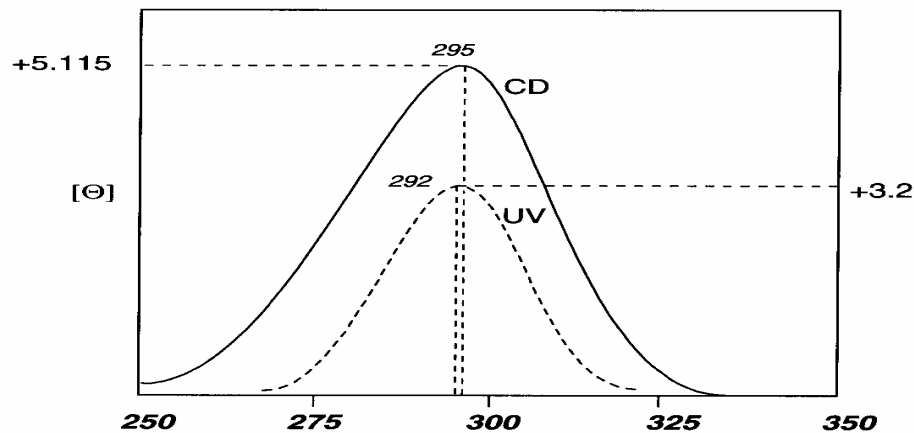


FIGURE 9.6 ORD, CD, and UV of camphor.

Εύρος $[A]$: διαφορά μοριακής απορρόφησης από την κορυφή στην κοιλάδα . Καθορίζει αν έχουμε ασθενές ή ισχυρό φαινόμενο Cotton.

$$\lambda_{max} \dots \Phi = 0$$

Θετικό φαινόμενο Cotton :
Από δεξιά προς αριστερά συναντούμε σημείο καμπής θετικότερης στροφής

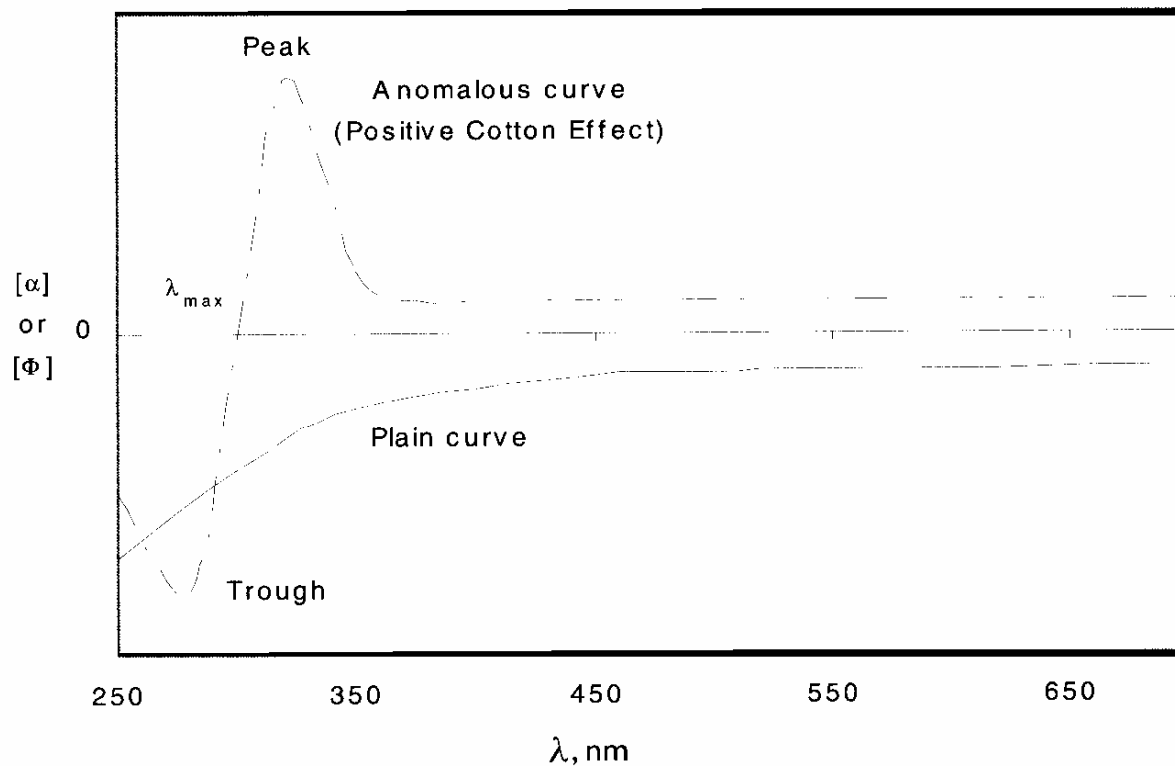
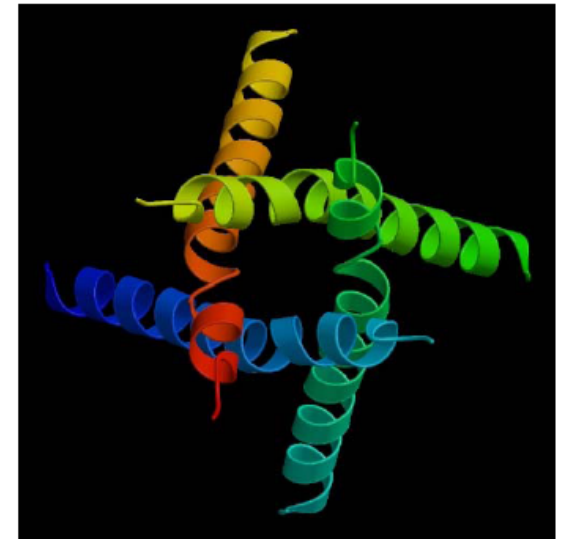


FIGURE 9.5 ORD curves.

Ερμηνείες φαινομένου Cotton :

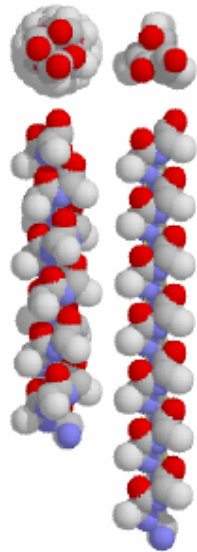
1. Εξέταση ηλεκτρονιακών μεταπτώσεων
2. Προσδιορισμός χωροδιάταξης ενώσεων

ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΚΥΚΛΙΚΟΥ ΔΙΧΡΩΙΣΜΟΥ

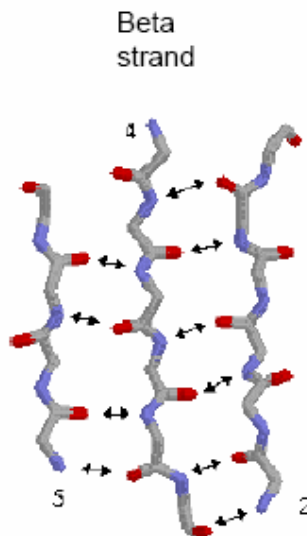


Proteins
(KCsa)

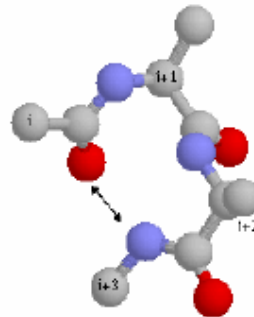
Alpha
helix



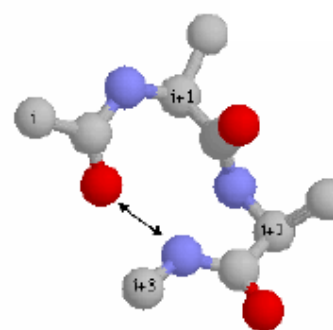
310
helix



Type I
Beta turn

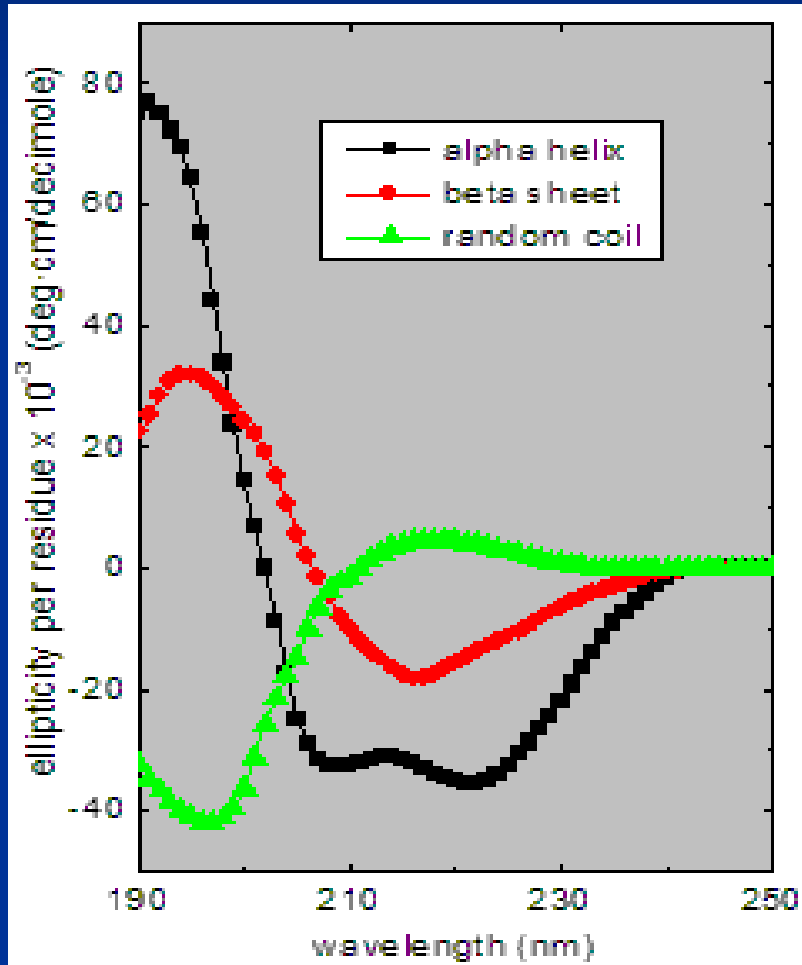


Type II
Beta turn



ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΚΥΚΛΙΚΟΥ ΔΙΧΡΩΙΣΜΟΥ

1. Προσδιορισμός δευτεροταγούς δομής πρωτεϊνών:



Γνωστές μεταπτώσεις:

ά-έλικα: θετικό στα 192 nm ($\pi \rightarrow \pi^*$)
 αρνητικό στα 209 nm ($\pi \rightarrow \pi^*$)

β' πτυχωτό : θετικό στα 196 nm ($n \rightarrow \pi^*$)
 αρνητικό στα 218 nm ($\pi \rightarrow \pi^*$)

Random coil : θετικό στα 212 nm ($\pi \rightarrow \pi^*$)
 αρνητικό στα 195 nm ($n \rightarrow \pi^*$)

2. Προσδιορισμός τριτοταγούς δομής πρωτεϊνών

Στο εγγύς υπεριώδες (250 – 300 nm) : σ'αυτή την περιοχή τα χρωμοφόρα είναι τα αρωματικά αμινοξέα και οι δισουλφιδικοί δεσμοί.

250-270 nm : φαινυλαλανίνη

270-290 nm : τυροσίνη

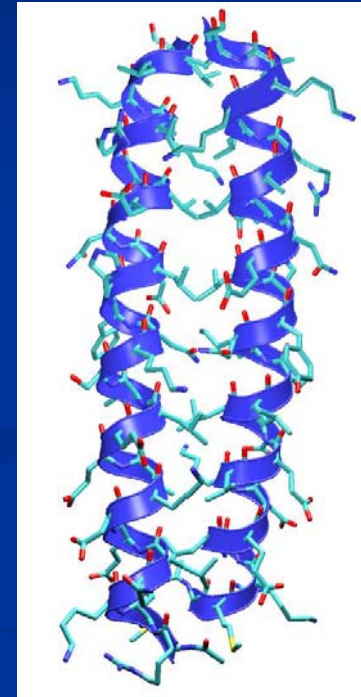
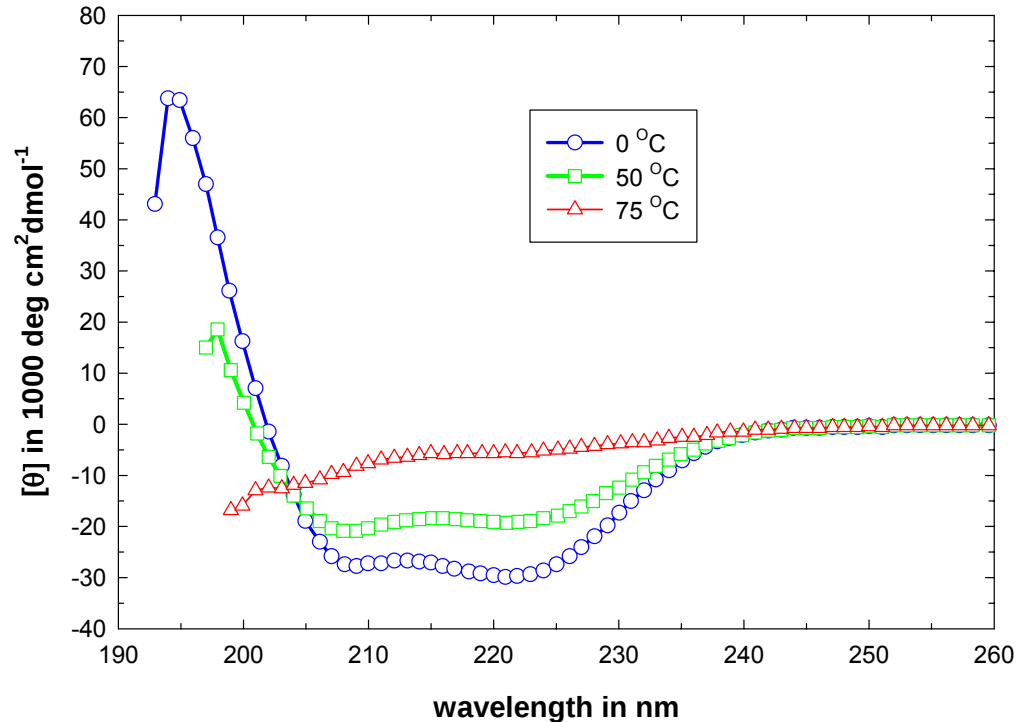
280-300 nm : τρυπτοφάνη

Όταν μία πρωτεΐνη διατηρεί τη δευτεροταγή διαμόρφωση αλλά δεν προσδιορίζεται η δομή της σε 3D διάσταση (π.χ. κακή αναδίπλωση) δεν υπάρχει κανένα σήμα στο εγγύς υπεριώδες

CD signals for GCN4-p1

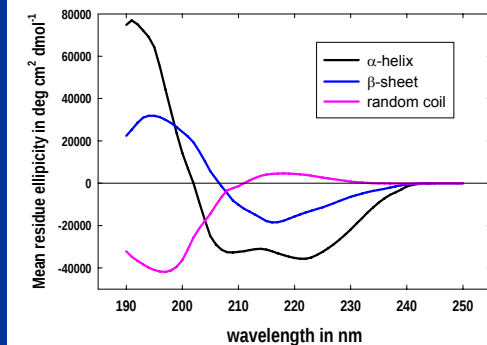
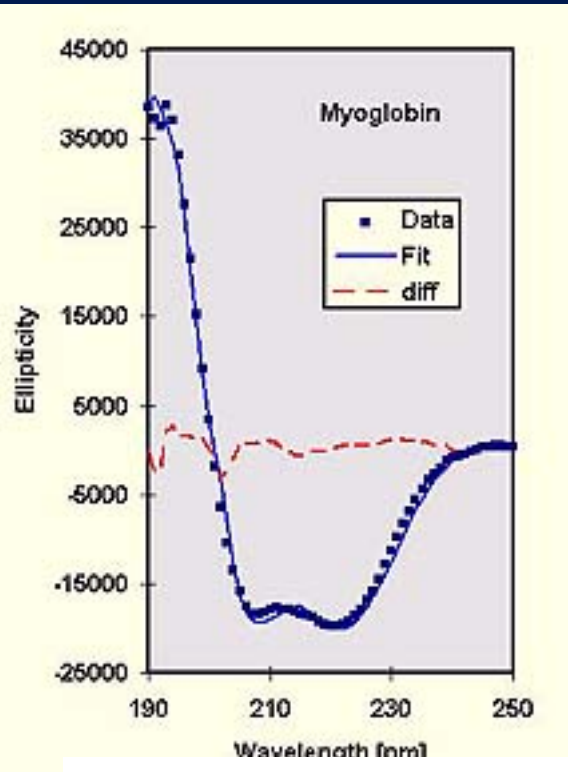
O'Shea *et al.* Science (1989) **243**:538

figure 3: 34 μ M GCN4-p1 in 0.15M NaCl,
10mM phosphate pH 7.0



- 100% έλικά στους 0°C
- Σε υψηλή θερμοκρασία μετατρέπεται σε τυχαίο σπείραμα

myoglobin



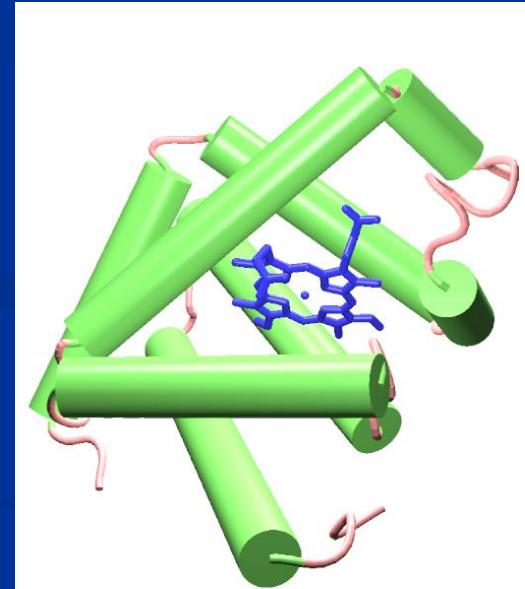
$$\theta_t = x_\alpha \theta_\alpha + x_\beta \theta_\beta + x_c \theta_c$$

Βρέθηκε

$$x_\alpha = 80\%$$

$$x_\beta = 0\%$$

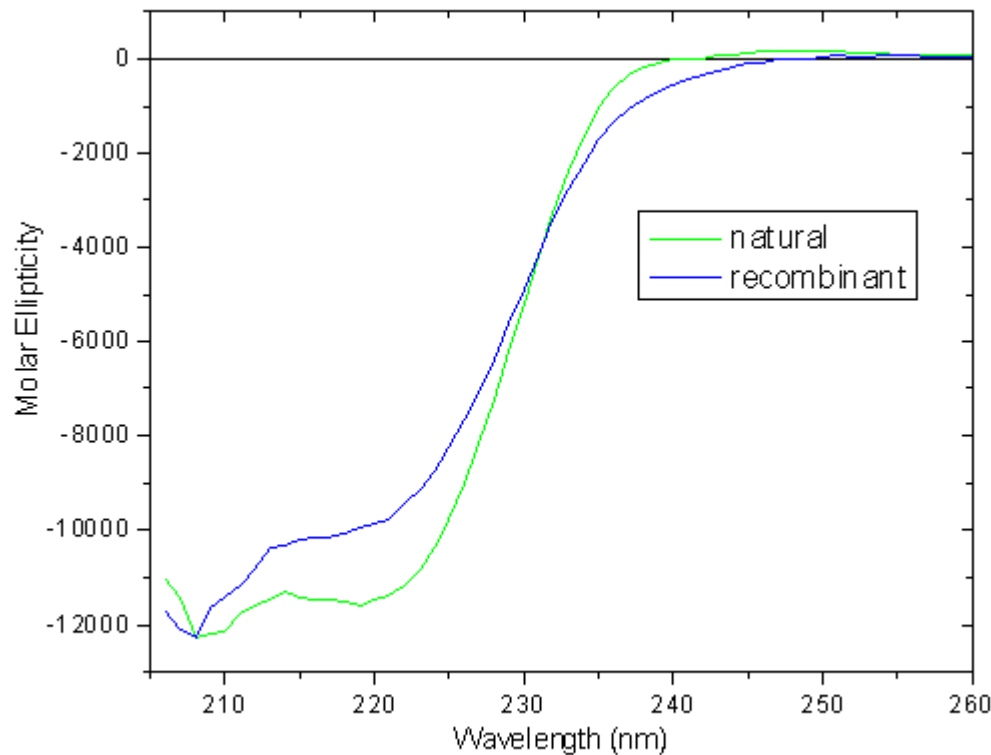
$$x_c = 20\%$$



- Συμφωνεί με τη δομή που δίνει
78% έλικα, 22% σπείραμα

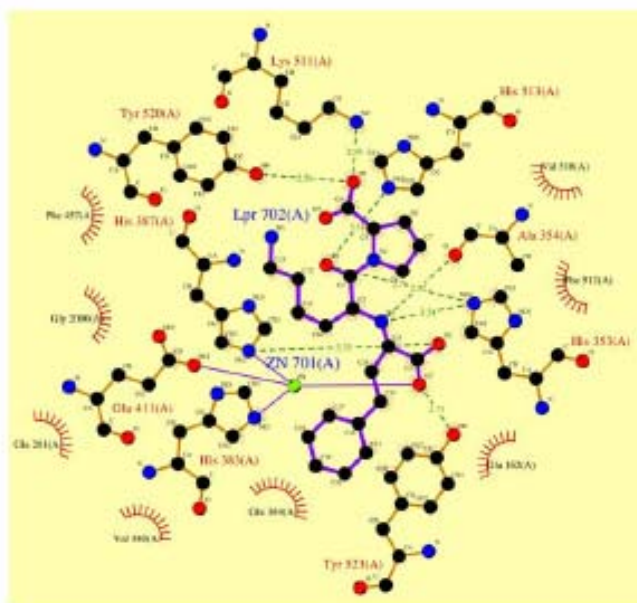
3. Σύγκριση διαμόρφωσης πρωτεϊνικών μορίων

Συχνά είναι απαραίτητο να αποδείξουμε ότι δύο διαφορετικά είδη πρωτεϊνών έχουν ίδια διαμόρφωση ή να κρίνουμε μία νέα μέθοδο παρασκευής



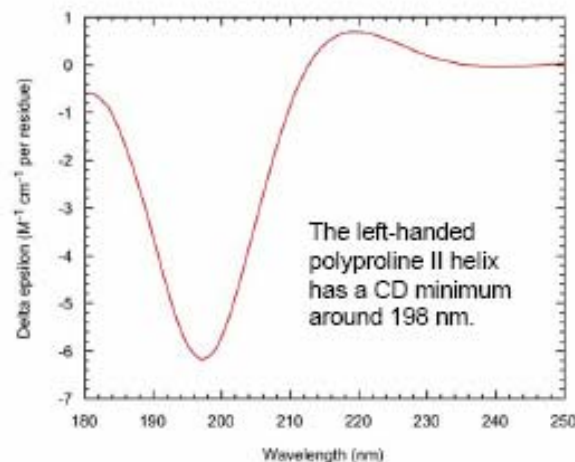
Το ένζυμο από γενετικό ανασυνδυασμό δεν είναι σωστά αναδιπλωμένο σε σύγκριση με το φυσικό (διαφορά 2^{ταγούς} δομής)

SRCD for drug discovery



Lisinopril forms an extended left-handed helix when complexed with ACE.

R. Natesh *et al.*, Nature **421**, 551 (2003).



The most likely explanation for changes in the CD spectrum of ACE with drugs is the adoption of a left-handed helix by the drug molecule.

The effect is more pronounced with the 3-residue analogue lisinopril.

G.R. Jones and D.T. Clarke, Faraday Discuss., 2003, in press.

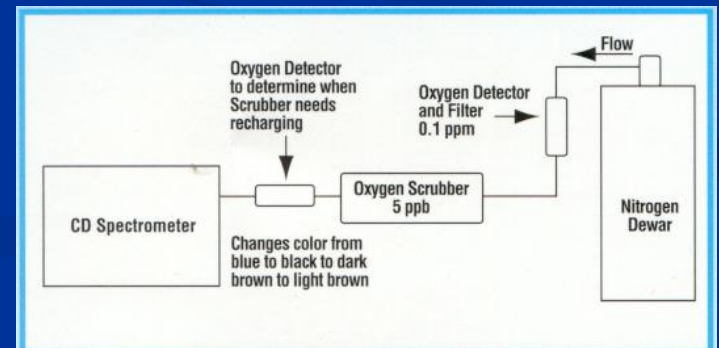
Εφαρμογές CD

- Καθορισμός της δευτεροταγούς δομής πρωτεϊνών
- Έρευνα του αποτελέσματος π.χ. σύνδεση ενός φαρμάκου στη δευτεροταγή δομή
- Μελέτη της επίδρασης του περιβάλλοντος στη δομή των πρωτεϊνών
- Επίδραση υποκαταστάτη

Instrumentation - lab-based spectropolarimeter



- £80k+
- automatic vs λ , time, temperature, stopped flow...
- down to 190nm (if you are lucky)
- 450W Xe bulb - produces ozones
- ozone kills (a) you (b) silver coated optics (as important)
- So flush large amounts of N_2 use boil off from liquid N_2



- www.avivinst.com