۱۳۸۰ /۶۱ ۶

مرکز اطلاعات و مدارک علمی ایران
تهیه مدارک

دانشگاه تهران
مرکز تحقیقات بیوشیمی - بیوفیزیک

رساله

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد

(M.S)
در رشته بیوفیزیک

سنجش ابعاد ماکرو ملکولها در حال باز شدن به کمک ژل الکتروفورز

نگارش:
کریم مهنام

12633
۳۵۹۳۰

استاد راهنما:
دکتر محمد نبی سربلوکی

۱۳۷۹

تقدیم‌به:

پدر و مادرم

تقدیم به همه کسانی که حقی بر من دارند

۳۵۹۳۰

فهرست مطالب

عنوان — صفحه

فصل اول: مقدمه

۱- مقدمه ۱

۲- الگوهای شکل ماکرو ملکولها: ۱

۲-۱- کره صلب ۲

۲-۲- کلاف بختانه ۲

۲-۳- بیضوی ۳

۲-۴- میله‌ای ۳

۳- وزن مولکولی ماکرو ملکولها و رابطه آن با ابعاد ۳

۴- راه‌های نمایش ابعاد ماکرو ملکول های کلافی شکل ۵

۴-۱- فاصله سروته ۶

۴-۲- شعاع چرخش ۷

۵- روشهای سنجش ابعاد ماکرو ملکولها ۹

۵-۱- گرانروی ۹

۵-۲- گریز از مرکز با دور بالا ۱۱

۵-۳- پراکندگی نور ۱۳

۵-۴- ژل کروماتوگرافی ۱۳

۵-۵- سایر روشهای سنجش ابعاد ماکروملکولها ۱۵

۶- الکتروفورز ۱۶

۶-۱- مقدمه ۱۶

۶-۱-۱- ژل پلی اکریل آمید ۱۷

۶-۱-۲- ژل اگارز ۲۲

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

۶-۲- تحرک ماکرو ملکولها در ژل پلی اکریل آمید ۲۳

۶-۲-۱- مقدمه ۲۳

۶-۲-۲- الگوی سرند ۲۵

۶-۲-۳- الگوی خزندگی ۲۹

۶-۲-۴- الگوی سدهای آنتروپی ۳۱

بخش عملی

فصل دوم: مواد و روشها

۱- مقدمه ۳۳

۲- مواد و دستگاههای مورد استفاده ۳۳

۳- طرز تهیه ژل با شیب ناپیوسته اکریل آمید ۳۵

۴- طرز تهیه ژل با شیب پیوسته اوره ۳۹

۵- تخمین شعاع روزنه‌های ژل ۴۱

۵-۱- مقدمه ۴۱

۵-۲- طرز تهیه دستگاه سنجش تراوایی هیدرولیکی ژل ۴۱

۵-۳- طرزاستفاده‌از دستگاه سنجش تراوایی و محاسبه شعاع روزنه ها ۴۲

فصل سوم: نتایج

۱- ژلهای شیب ناپیوسته اکریل آمید ۴۶

۱-۱- ژلهای طبیعی ۴۶

۱-۲- ژلهای حاوی *SDS* ۴۷

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

۲- ژل با شیب پیوسته اوره مربوط به آلبومین ۵۰

۳- شعاع روزنه های ژل بر اساس سنجش تراوایی هیدرولیکی ۵۱

فصل چهارم: بحث و تفسیر نتایج

۱- محاسبه شعاع روزنه ژلهای پلی‌اکریل آمید بر اساس تراوایی‌هیدرولیکی ۵۶

۲- محاسبه طول تارهای ژل و شعاع روزنه های ژل به کمک تحرک الکتروفورتیکی سیتوکروم C گلبولی (طبیعی) ۵۷

۲-۱- محاسبه طول تارهای ژل در واحد حجم ۵۷

۲-۲- محاسبه شعاع روزنه ژل ها به کمک الگوی سرند دایره‌ای ۵۸

۲-۳- محاسبه شعاع روزنه ژل ها به کمک الگوی سرند شکافی شکل ۵۸

۳- محاسبه شعاع چرخش *(radius of gyration)* ملکول طبیعی لیزوزیم با استفاده از تحرک الکتروفورتیکی ۵۹

۳-۱- محاسبه شعاع چرخش به کمک الگوی سرند دایره‌ای ۶۰

۳-۲- محاسبه شعاع چرخش به کمک طول تارهای ژل ۶۰

۳-۳- محاسبه شعاع ملکولهای کروی لیزوزیم و سیتوکروم C به کمک اصول *Ogston*..... ۶۱

۴- محاسبه شعاع هیدرودینامیکی معادل یا شعاع چرخش ملکول باز شده لیزوزیم از روی تحرک الکتروفورتیکی..... ۶۲

۵- محاسبه شعاع ملکول آلبومین در حین باز شدن در ژل حاوی شیب اوره ۶۵

۶- بحث و تفسیر نتایج ۶۸

۶-۱- شعاع روزنه های ژل به کمک سنجش تراوایی هیدرولیکی ۶۸
۶-۲- محاسبه شعاع روزنه‌های ژل به کمک یک ملکول گلبولی و مقایسه آن با حالت باز شده ۶۸
۶-۳- مقایسه شعاع چرخش یا هیدرودینامیکی بدست آمده از روشهای مختلف . ۷۱
۶-۳-۱- شعاع ملکول گلبولی (طبیعی) ۷۱
۶-۳-۲- شعاع هیدرودینامیکی ملکول کاملاً باز شده لیزوزیم ۷۲
۶-۳-۳- شعاع ملکول در حال باز شدن ۷۲
نتیجه گیری ۷۴
فهرست منابع ۷۵

ABSTRACT:

In this work we have tried to use electrophoresis for two purposes:

a) determination of structure (avraege pore size) of gels through measurment of hydraulic permeability as well as electphoretic mobility of globular proteins of known sizes in combination with mathematical equations of sieve models .b) determination of protein size in the native and denatured states as well, estimation of the progress of denaturation in this process in predifined gels.

For this purpose first we determined pore size of gels by two methods:

a) calculation of average pore size of gels via the measuring hydraulic permeabilites and the use of Poisseuille flow in identical cylinderical pores.

b) measurment of electrophoretic mobilities of globular proteins with known sizes assuming different sieve models (round and slit). Results obtained for the radius of pores are in good agreement with those reported by others, namely:

1- Presencc of two distinct classes of pores in the gel (small pores, obtained via electrophoresis method, and large pores obtained via hydraulic permeability).

2- The pores sizes in both of classes match the reported values.

3- The values of pore sizes are dependment on the kind of probe (In this case protein or water molecules) used for pore size determination .

After the gel structures are known, hydrodinamic radii of proteins were determined via measurment of electrophoretic mobilitiese of the native or fully denatured molecules and the use of mathematical equations for two sieve models (circle and slit). In this caese, too the results are in agreement with those obtaines by otheres via intrinsic viscosity, gel chromatography and light scattering.

By knowing the radius of native and denatured proteins one can, with the help a gel containg a gradient of urea visualize the progress of denaturation and thereby calculate the variations in the hydrodinamic radius at any desired point during denaturation. This unique achievement besides its ease and simplicity, is very hard, if not impassible reach with other methods.

چکیده

در این پایان نامه با استفاده از الکتروکوچ (electrophore sis)دو هدف اصلی دنبال شده است : ۱ - تعیین ساختار (میانگین شعاع روزنه) ژل از طریق سنجش تحرک الکتروفورتیکی پروتئین‌های گلبولی و بهره‌گیری از روابط ریاضی الگوهای سرند. ۲ - تعیین ابعاد پروتئین‌ها در حالتهای طبیعی و واسرشته (denatured)و همچنین تخمین میزان پیشرفت واسرشته شدن آنها در حین انجام این فرایند در ژل‌هایی که ساختارشان از پیش شناخته شده است.

برای این منظور ابتدا اندازه منافذ ژل با دو روش تعیین شد. الف ـ محاسبه شعاع میانگین روزنه‌ها با استفاده از سنجش تراوایی هیدرولیکی ژل و الگوی روزنه‌های استوانه‌ای شکل یکسان و معادله پوآسوی. ب - سنجش الکتروفورتیکی پروتئین‌های گلبولی با اندازه مشخص در ژل‌های اکریل‌آمید با غلظت (تراکم) های گوناگون و بهره‌گیری از فرمولهای مربوط به الگوهای گوناگون سرند. نتایج مربوط به شعاع روزنه‌ها از سه جنبه تطابق خوبی با نتایج دیگران دارد:

اول از لحاظ وجود دو دسته منافذ در ژل (یک دسته منافذ کوچک که از روش الکتروفورز به دست می‌آید و یک دسته منافذ بزرگ که از روش تراوایی به دست می‌آید). دوم از لحاظ تطبیق اندازه منافذ در هر دو دسته با ارقام گزارش شده و سوم از لحاظ اندازه منافذ به نوع ملکول کاوشگر (probe) (در اینجا ملکول آب یا ملکول پروتئین).

پس از تعیین شعاع روزنه‌های انواع ژل‌ها (اندازه منافذ دسته کوچک آنها) شعاع هیدرودینامیکی ملکولهای طبیعی یا کاملاً باز شده (به وسیله SDS) از سنجش تحرک الکتروفورتیکی‌شان و با استفاده از روابط ریاضی مربوط به دو الگوی سرند (دایره‌ای وشکافی) به دست آورده شد. در اینجا نیز نتایج به دست آمده با شعاع هیدرودینامیکی حاصل از روشهایی چون کروماتوگرافی،گرانروی ذاتی و پراکندگی نور توسط دیگران مطابقت بسیار نزدیک دارد.همچنین با اطلاع از شعاع پروتئین گلبولی و پروتئین واسرشته و با استفاده از روش الکتروفورز در شیب اوره میزان پیشرفت واسرشته شدن به دست آوره شد که این کار علاوه بر سادگی و آسانی تقریباً به هیچ روش دیگر ممکن نیست.

۱- مقدمه

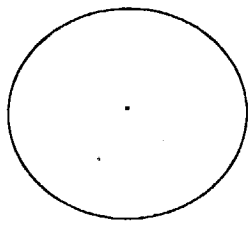
ماکرو ملکولها گونه‌های شیمیایی هستند که وزن ملکولی زیاد بین 10^3 تا 10^{10} گرم برمول دارند. نام دیگر ماکرو ملکولها پلیمر یا بسپار است. شیمی ماکرو ملکولها از شیمی ملکولهای کوچک تا حدی متفاوت است و روشهای خاصی برای مطالعه خواصی این ملکولهای غول پیکر مورد نیاز است. ماکرو ملکولها به دو دسته طبیعی و سنتزی تقسیم می‌شوند. اهمیت دانستن شکل و ابعاد ماکرو ملکولها در پیش بینی ساختمان فضایی آنها نمایان می‌شود.

از آنجاکه این پایان‌نامه اختصاص به بررسی ابعاد ماکرو ملکولها در حالت محلول دارد، در اینجا به بررسی شکل و ابعاد ماکرو ملکولهای پروتئینی تنها در حالت محلول (محلولهای آبی) می‌پردازیم. منظور از محلول پروتئین‌ها آمیزه‌ای همگن از مولکولهای پروتئینی است که در جمع بی‌شماری از ملکولهای حلال (آب) پراکنده شده‌اند، از آنجا که این آمیزه شاره‌ای را به وجود می‌آورد علی‌الاصول می‌توان از هر خاصیتی از شاره که ممکن باشد اطلاعاتی در مورد شکل ملکولها بدست آورد.

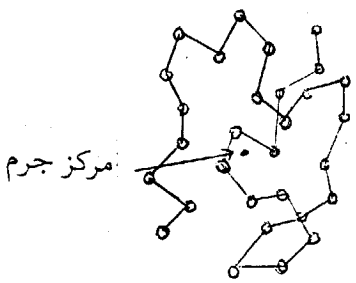
محلولهای ماکرو ملکولها، رفتاری غیرآرمانی ***(nonideal)*** دارند واصلاً در سنجش خواص این محلولها ضروری است که اندازه گیری ها را تا حد غلظت صفر برون یابی ***(extrapolation)*** کنیم تا نتایج غیرآرمانی بودن حذف گردد *[۱]*.

۲- الگوهای شکل ماکرو ملکولها:

شکل واقعی ماکرو ملکولها در محلول معمولاً یک شکل ساده هندسی نیست، لذا بسته به شرایط مختلف و شکلهای گوناگون آن‌ها الگوهای خاصی را در هر مورد برای آنها بکار می برند که خلاصه آن بدین شرح است. (شکل ۱-۱)

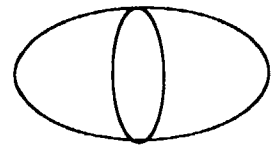


الف - کره صلب ***(rigid sphere)***

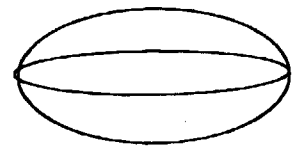


ب - کلاف بختانه ***(random coil)***

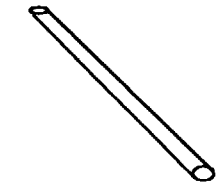
ج- بیضوی قرصی شکل ***(oblalte ellipsoid)***



د- بیضوی تخم مرغی شکل ***(prolate ellipsoid)***



هـ - میله ای ***(rod)***



شکل (۱-۱)- الگوهایی از شکل ماکرو ملکولها *[۱]* .

۲-۱-کره صلب ***(rigid sphere)***

در این حالت ماکرو ملکول به شکل یک کره سخت و تو پر و انعطاف ناپذیر تصور می‌شود. این نوع الگو برای پروتئین هایی که در محلول حالت گلبولی دارند مصداق دارد. (شکل ۱-۱-الف) .

۲-۲-کلاف بختانه ***(random coil)***:

هنگامی که یک پلیمر آزادی زیادی برای چرخش حول پیوندهایش داشته باشد بطوری که یک صورتبندی ***(conformation)*** تصادفی پیدا کند، الگوی شکلی آن کلاف بختانه خواهد بود. دراین حالت ساختمان سه بعدی منحصر به فردی وجود ندارد و ماکرو ملکول انواع شکلها و ابعاد را در محلول خواهد داشت و تنها می توان از ابعاد میانگین صحبت نمود.

تحلیل آماری ابعاد کلافهای بختانه نشان می دهد که در ساده ترین وضعیت توزیع احتمال گوسی ***(Gaussian)*** می باشد. این الگو معمولاً برای یک ملکول پروتئین که تحت تأثیر ماده فعال سطحی ***SDS (surfactant) (sodium dodecyl sulfate)*** از هم واسرشته ***(denature)*** شده و ملکول آن در محلول از هم باز شده بکار می رود (شکل ۱-۱- ب) *[۲]* .

۲-۳- بیضوی *(ellipsiod)*:

الگوی شکلی بیضوی خود به دو دسته تقسیم می شود:

الف - بیضوی قرصی شکل ***(oblate ellipsoid)***: این الگو از چرخش بیضی حول محور کوچکش در فضا ایجاد می شود *[۱]*(شکل ۱-۱- ج).

ب - بیضوی تخم مرغی شکل ***(prolate ellipsoid)***: این الگو از چرخش یک بیضی حول محور بزرگش در فضا ایجاد می شود *[۱]* شکل (۱-۱- د).

بطور مثال ملکول آلبومین سرم گاوی ***(bovine serum albumin) (BSA)*** این الگوی شکلی را دارد. (با طول ۱۳/۸ نانومتر و قطر ۳نانومتر) *[۳]*

۲-۴- میله‌ای یا استوانه‌ای شکل *(rod)*:

پلیمرها گاهی یک صورتبندی شبیه استوانه در محلول پیدا می کنند. این گونه ملکولها دارای ساختمان دوم مارپیچی می باشند و خواص آنها بیشتر متأثر از طول آنهاست تا قطر استوانه‌ای آنها *[۱]*.بطور مثال ملکولهای دی.ان.آ ***(DNA)*** و برخی پروتئین‌ها مانند فیبرینوژن این الگوی شکلی را دارند (شکل ۱-۱- هـ).

۳- وزن ملکولی ماکرو ملکولها و رابطه آن با ابعاد ماکرو ملکولها:

در بررسی خصوصیات فیزیکی یک ماکرو ملکول دو عامل نقش اساسی دارند، یکی وزن ملکولی و دیگری ابعاد آن *[۲]*. وزن مولکولی ماکرو ملکولهای مصنوعی یک عدد ثابت و معینی نیست و یک توزیعی از وزن ملکولی وجود دارد.

در این موارد وزن ملکولی پلیمرها به چندین طریق محاسبه می شود که در اینجا تنها به دو تعریف عمده آن اشاره می نماییم:

الف - میانگین عددیِ وزن ملکولی: که به این صورت تعریف می شود:

$$M_n = \frac{\sum n_i m_i}{N} \qquad (۱-۱)$$

در این معادله n_i ملکول، وزن ملکولی m_i دارند و N تعداد کل ماکرو ملکولها است.

ب - میانگین وزنیِ وزن ملکولی: که به این صورت تعریف می شود:

$$M_w=\frac{\sum n_i m_i^2}{\sum n_i m_i} \qquad (۲-۱)$$

در مورد ماکرو ملکولهای طبیعی معمولاً وزن ملکولی تمام ماکرو ملکولها با هم برابرند در اینحالت $M_w=M_n$ ولی در مورد ماکرو ملکولهای مصنوعی یا سنتزی باشد، $M_w>M_n$ می‌باشد [۲].

وقتی که یک ماکرو ملکول در حلال حل شود چندین لایه از حلال (آب) اطراف آن را فرا می‌گیرند. (آبپوشیده شدن ***hydration***) طوری که ابعاد آن بزرگتر می‌شود. شعاع غیر آب پوشیده شده ماکرو ملکول را می‌توان از وزن ملکولی آن بدست آورد. بدین صورت که اگر فرض کنیم شکل ماکرو ملکول در محلول رویهم رفته کروی است و چگالی آن ۱/۳ گرم بر سانتی متر مکعب است می توان نوشت [۲].

$$V=\frac{4}{3}\pi R_e^3=\frac{M.\bar{V}}{N_A} \qquad (۳-۱)$$

در این معادله V حجم ماکروملکول(برحسب سانتی متر مکعب) R_e شعاع هیدرودینامیکی آن (برحسب انگستروم)، M وزن ملکولی آن (برحسب دالتون) و N_A عدد آووگادرو می‌باشد. بنابراین شعاع هیدرودینامیکی را می توان از معادله فوق بدست آورد [۴].

$$R_e=\left[\frac{3}{4}\frac{M.\bar{V}}{N_A}\right]^{\frac{1}{3}}=\left(\frac{M}{3.28}\right)^{\frac{1}{3}} \qquad (۴-۱)$$

$\bar{V}$ در معادلات فوق حجم ویژه جزئی است وعبارتست از افزایش حجم محلول که در اثر اضافه کردن یک گرم از ماکرو ملکول خشک به آن (حجم حلال زیاد است) ایجاد می شود. حجم ویژه جزئی برای ملکولهای پروتئین نوعاً ۰/۷۴ سانتی متر مکعب بر گرم می‌باشد [۵].

بدین ترتیب بکمک معادله (۱-۴) و با فرض کروی بودن ماکرو ملکولها می توان شعاع غیر آبپوشیده آنها را محاسبه نمود که جدول (۱-۱) این مقادیر را برای چند پروتئین نشان می دهد.

جدول (۱-۱) - وزن ملکولی و شعاع غیرآبپوشیده چند پروتئین *[۵]*.

پروتئین	وزن ملکولی (دالتون)	شعاع هیدرودینامیکی (انگستروم) ($\bar{R}$)
سیتوکروم *C*	۱۲۴۰۰	۱۵/۳
ریبونوکلئاز *A*	۱۲۷۰۰	۱۵/۵
لیزوزیم	۱۴۵۰۰	۱۶/۲
میوگلوبین	۱۷۸۰۰	۱۷/۳
پاپائین	۲۰۷۰۰	۱۸/۲
هورمون رشد انسانی	۲۱۵۰۰	۱۸/۴
مهارکننده تریپسین باقلا	۲۲۷۰۰	۱۸/۸
ترامر انسولین	۲۲۹۳۲	۱۸/۸
کیموتریپسین	۲۵۱۰۰	۱۹/۴
بتا لاکتوگلوبولین	۳۵۰۰۰	۲۱/۷
پپسین	۳۵۵۰۰	۲۱/۸
هورمون تحریک کننده فولیکولی	۳۸۴۰۰	۲۲/۴
پپسینوژن	۴۰۴۰۰	۲۲/۷
اُوآلبومین	۴۳۵۰۰	۲۳/۳
اکتامر انسولین	۴۵۸۶۴	۲۳/۷
هموگلوبین	۶۴۵۰۰	۲۶/۶
مونومر ***BSA***	۶۷۰۰۰	۲۶/۹
کاتالاز	۲۳۲۰۰۰	۴۰/۸
فیبرینوژن	۳۴۰۰۰۰	۴۶/۳
فریتین	۴۵۰۰۰۰	۵۰/۹
بتاگالاکتوز یداز	۵۲۰۰۰۰	۵۳/۴
تیروگلوبولین	۶۷۰۰۰۰	۵۸/۱

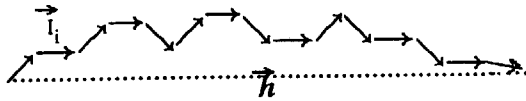
۴- راههای نمایش ابعاد ماکرو ملکولهای کلافی شکل:

بطور کلی دو عامل برای بیان ابعاد ماکرو ملکولهای کلافی شکل بکار می‌روند که یکی فاصله سروته ***(end - to - end distance)*** و دیگری شعاع چرخش ***(radius of gyration)***

می‌باشد، که به شرح آنها می‌پردازیم:

۴-۱- فاصله سروته *(end-to-end distance)*:

فاصله سروته عبارتست از فاصله میانگین بین دو انتهای یک ملکول زنجیری. به عبارت دیگر اگر هر پیوند زنجیره پلیمر را با بردار $\vec{l}_i$ نشان دهیم جمع برداری تمام این بردارها فاصله سروته زنجیره پلیمری خواهد شد *[۶]*(شکل ۱-۲).



شکل (۱-۲) فاصله سروته ($\vec{h}$) در یک زنجیره پلیمری ($\vec{l}_i$ بردار یک پیوند و $\vec{h}$ فاصله سروته است).

فاصله سروته ($\vec{h}$) را می‌توان با معادله زیر نشان داد:

$$\vec{h}=\sum_{1}^{n}\vec{l}_i \qquad (۱-۵)$$

فاصله سروته برای یک ملکول میله‌ای برابر طول آن است ولی برای یک مولکول انعطاف پذیر مقدارش بستگی به وزن مولکولی و انعطاف پذیری زنجیر ملکول دارد. وقتی که ماکرو ملکول انعطاف پذیر باشد فاصله سروته بین دو حالت کاملاً کشیده و کاملاً جمع شده قرار می گیرد. برای محاسبه فاصله سروته می‌توان از الگوی ولگشت ***(random walk)*** استفاده نمود.

الگوی ولگشت: در این الگو فرض می‌کنیم یک فرد ملزم است دریک خط مستقیم حرکت کند اما بطور تصادفی می تواند یک قدم به جلو و یک قدم به عقب بردارد اگر طول هر قدم l باشد فرد پس از N قدم در فاصله $\sqrt{N}l$ از محل شروع حرکت قرار می گیرد، که این مشابه فاصله سروته یک زنجیره پلیمری می باشد. اگر این مسأله را به سه بعد تعمیم بدهیم نتیجه همان است. بنابراین فاصله سروته با این فرض که زوایای پیوند قادرند هر مقداری را داشته باشند از رابطه زیر بدست می آید *[۷]*:

$$\vec{h}=\sqrt{N}\,\vec{l} \qquad (۱-۶)$$

در این معادله l طول هر پیوند (طول تمام پیوندها را مساوی می گیریم) و N تعداد پیوندها است.

البته در یک پلیمر واقعی پیوندهای زنجیره پلیمری کاملاً نسبت به هم آزاد نیستند تا هر جهتی را انتخاب کنند. همچنین برخلاف الگوی ولگشت دو اتم در یک زمان نمی توانند در یک نقطه از فضا قرار بگیرند، این تفاوتها باعث کاهش فشردگی زنجیره می شوند و الگوی ولگشت برای یک زنجیره واقعی پلیمری به این صورت تصحیح می شود [۱]:

$$\vec{h}=C\sqrt{N}\,\vec{l} \qquad (۷-۱)$$

در این معادله C یک عدد ثابت است و مقدارش بین ۲ تا ۱۰ تغییر می کند که بستگی به نوع پلیمر و حلالی دارد که پلیمر در آن حل شده است.

در یک پلیمر l را طول موثر مونومرها و N را درجه پلیمریزاسیون در نظر می‌گیرند.

فاصله سروته $\vec{h}$ را می‌توان از طریق روشهای تجربی مثل روش (پخش نور) ***(light scattering)*** و ته نشینی ***(sedimentation)*** هم بدست آورد. سپس با مقایسه مقدار $\vec{h}$ که از روشهای تجربی بدست آمده با مقدار $\vec{h}$ که از روش نظری محاسبه شده است(معادله ۱-۶) می‌توان به انعطاف پذیری یک زنجیره پلیمری پی برد، به این صورت که اگر مقدار تجربی مشابه مقدار نظری باشد زنجیره پلیمری انعطاف پذیر است (مثل ملکول پلی اتیلن) و هرچه مقدار نظری کوچکتر از مقدار تجربی باشد ملکول سخت‌تر و انعطاف ناپذیرتر خواهد بود. (مثل قطعات کوتاه دی.ان.آ) [۷].

۴-۲- شعاع چرخش *(radius of gyration)*:

شعاع چرخش (R_g)بصورت میانگین مربعات فاصله آرایه ای از اتم ها یا گروهها از مرکز جرم مشترک آنها تعریف می شود، در یک زنجیره که دارای Nاتم است، اگر $R_g i$فاصله این اتم iاز مرکز جرم باشد، برای یک آرایه خاصی معادله زیر برقرار است:

$$\langle R_g^2 \rangle = \frac{1}{N}\sum_{i=0}^{n} R_g^2\, i \qquad (۸-۱)$$

مرکز جرم عبارتست از نقطه ای از ملکول یا نقطه ای از فضا که برایند گشتاور دوران تمام نقاط یااتم های ملکول نسبت به آن نقطه صفر باشد $(\sum_{1}^{n} m_i r_i = 0)$.