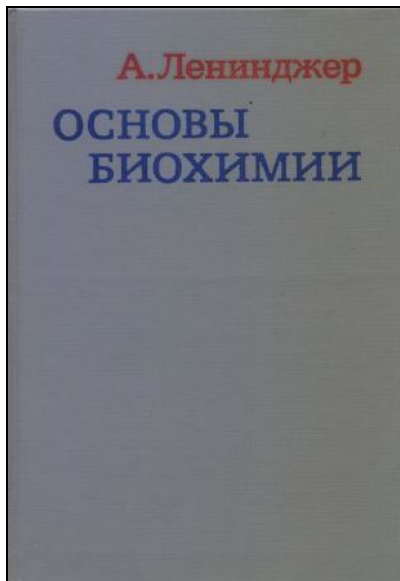




Кантор Ч., Шиммел П. Биофизическая химия: В 3-х т. Пер. с англ. - М.: Мир, 1984. - Т. 1 - 336 с.,ил.

Кантор Ч., Шиммел П. Биофизическая химия: в 3-х т. Пер. с англ. - М.: Мир, 1984. - Т. 2 - 496 с.,ил.

Кантор Ч., Шиммел П. Биофизическая химия: в 3-х т. Пер. с англ. - М.: Мир, 1985. - Т. 3 - 536 с.,ил.



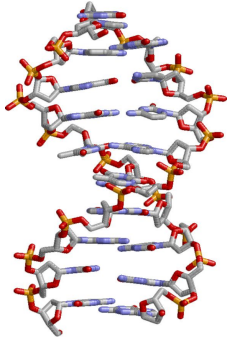
Ленинджер А. Основы биохимии: В 3-х т. Пер. с англ. - М.: Мир, 1985. - Т. 1 - 367 с.,ил.

Ленинджер А. Основы биохимии: В 3-х т. Пер. с англ. - М.: Мир, 1985. - Т. 2 - 368 с.,ил.

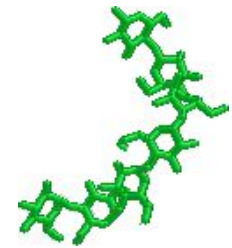
Ленинджер А. Основы биохимии: В 3-х т. Пер. с англ. - М.: Мир, 1985. - Т. 3 - 320 с.,ил.

Биополимеры

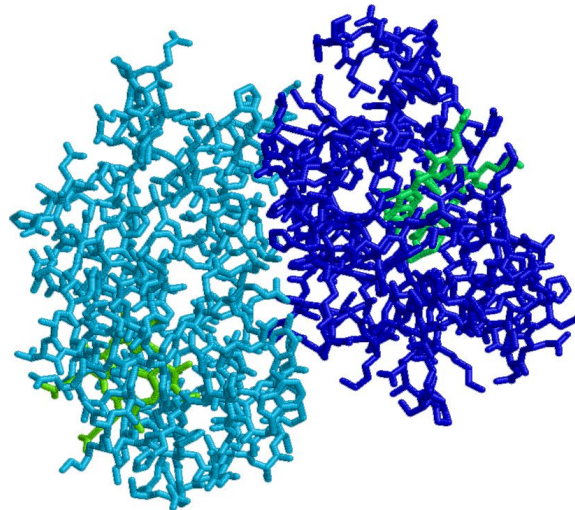
Нуклеиновые кислоты



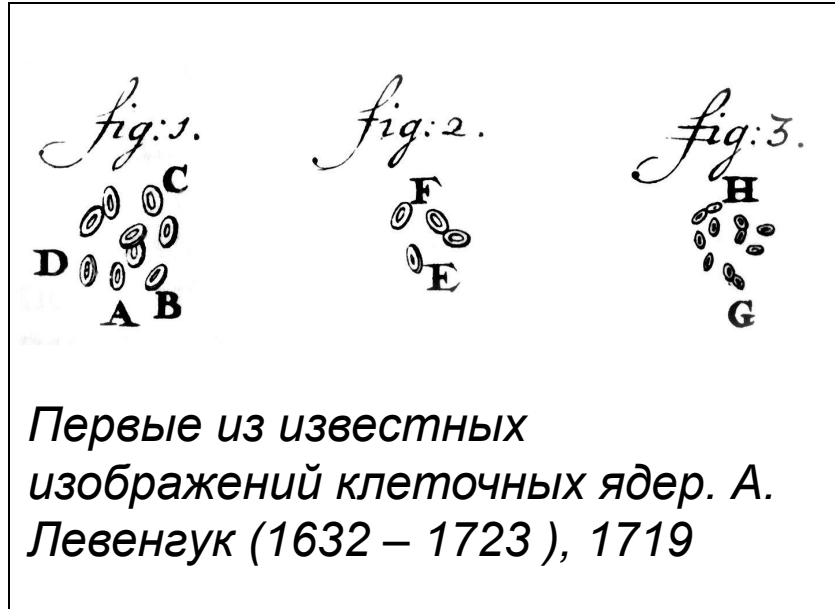
Полисахариды



Белки



Nucleus



Фридрих Мишер
1844—1895



Феликс Хопп-Зейлер
1825—1895



1869 (1871)

Уровни структурной организации биополимеров

Первичная структура –
полная ковалентная структура молекулы

Вторичная структура – совокупность спиральных участков молекулы (не зависящая от состава мономеров).

Белки – *водородные связи*.

Нуклеиновые кислоты – *водородные связи (уотсон-криковские пары),
стэкинг-взаимодействия*.

Третичная структура – полная трехмерная структура молекулы (зависящая от состава мономеров)

Белки – *все виды связей*.

Нуклеиновые кислоты – *водородные связи (не уотсон-криковские пары)*.

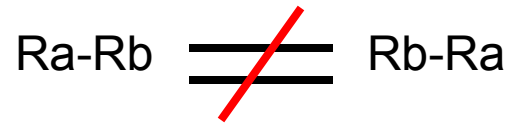
Четвертичная структура – пространственное расположение не связанных ковалентно единиц третичной структуры (*нековалентные связи*).

Первичная структура

Последовательность мономеров...

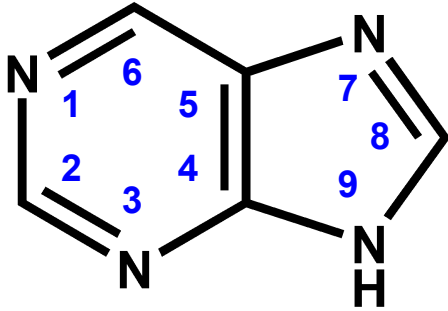
R1-R2-R3-R4-R5-...

соединенных по принципу «голова к хвосту»

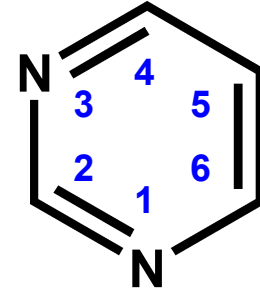


ДНК
Первичная структура

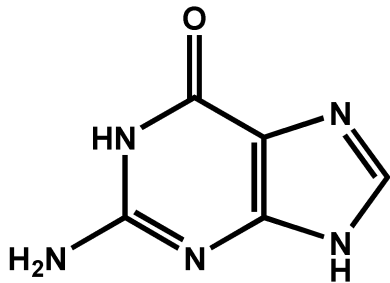
Азотистые основания



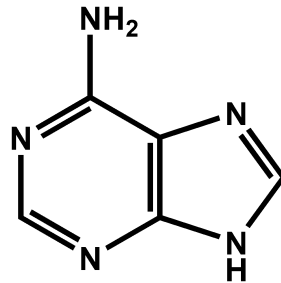
Пурин



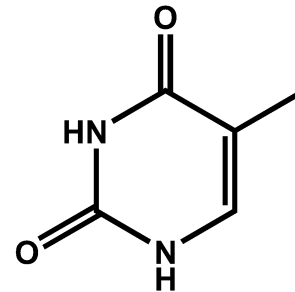
Пиримидин



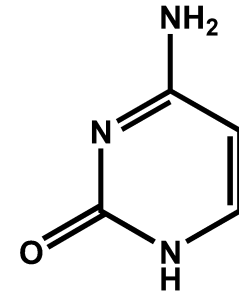
Гуанин



Аденин



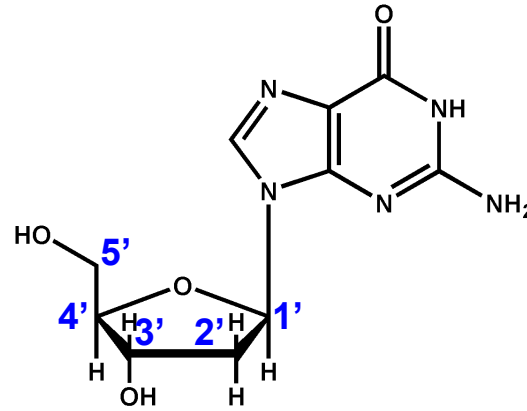
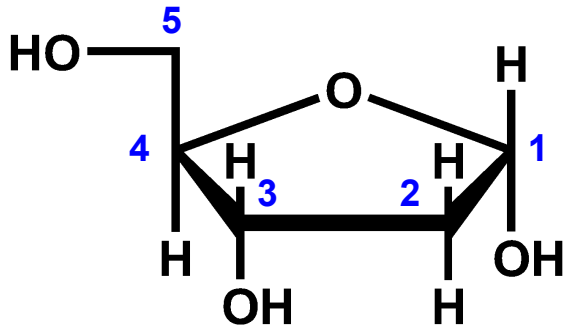
Тимин



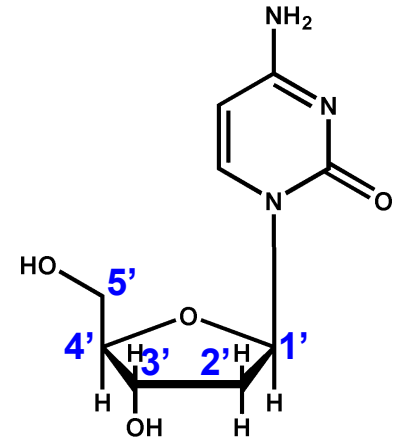
Цитозин

Дезоксирибоза

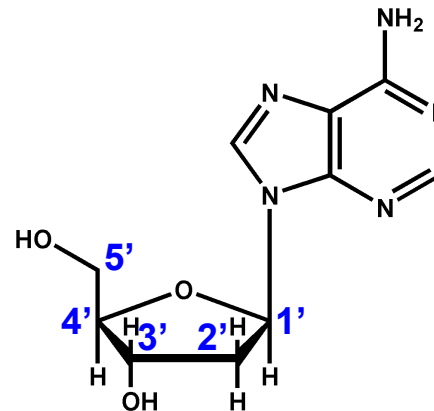
Нуклеозиды
(β -N-гликозиды)



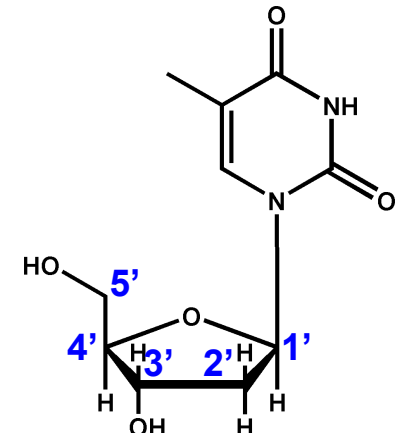
Дезоксигуанозин



Дезоксицитидин



Дезоксиаденозин

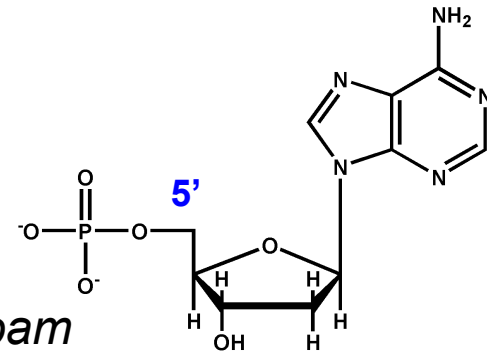


Дезокситимидин

Нуклеотиды - фосфорные эфиры нуклеозидов

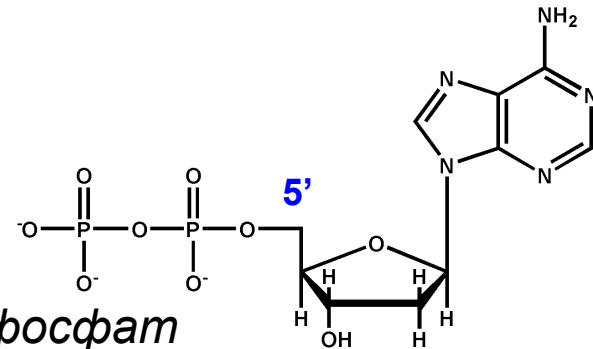
Эфиры ортофосфорной кислоты
нуклеозидмонофосфаты

Дезоксиаденозин-5'-монофосфат



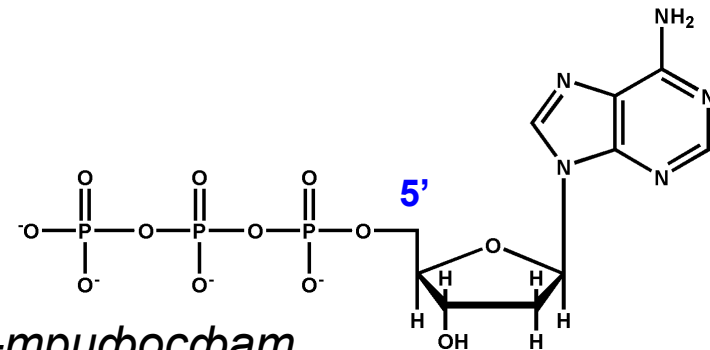
Эфиры пиродфосфорной кислоты
нуклеозиддифосфаты

Дезоксиаденозин-5'-дифосфат



Эфиры триполифосфорной кислоты
нуклеозидтрифосфаты

Дезоксиаденозин-5'-трифосфат



Нуклеотиды - фосфорные эфиры нуклеозидов

Эфиры ортофосфорной кислоты
нуклеозидмонофосфаты

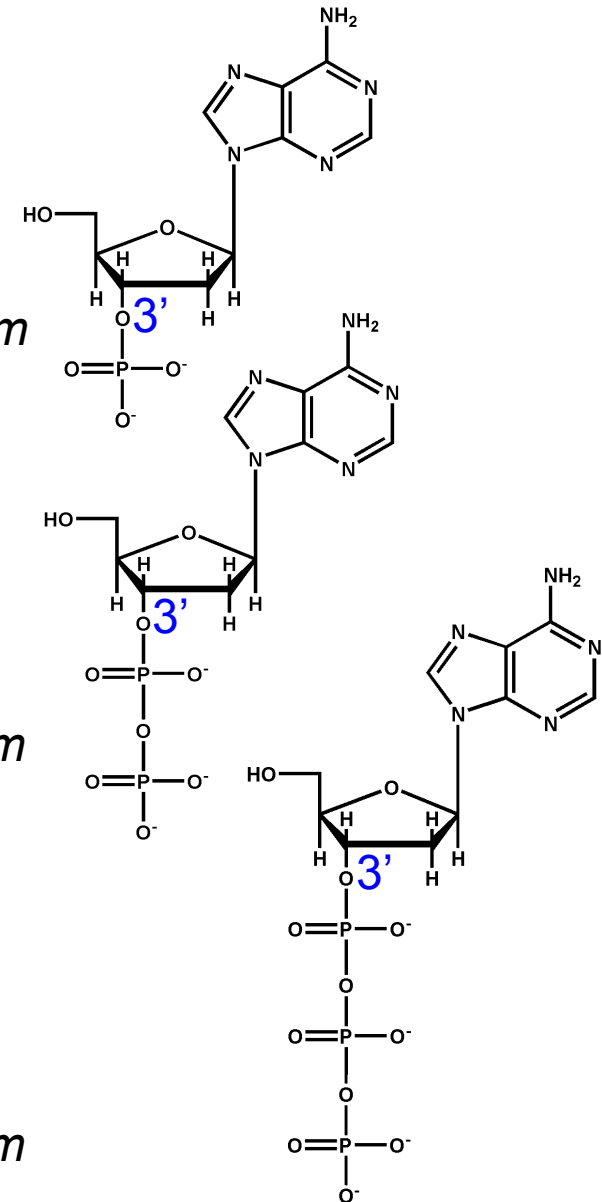
Дезоксиаденозин-3'-монофосфат

Эфиры пиродифосфорной кислоты
нуклеозиддифосфаты

Дезоксиаденозин-3'-дифосфат

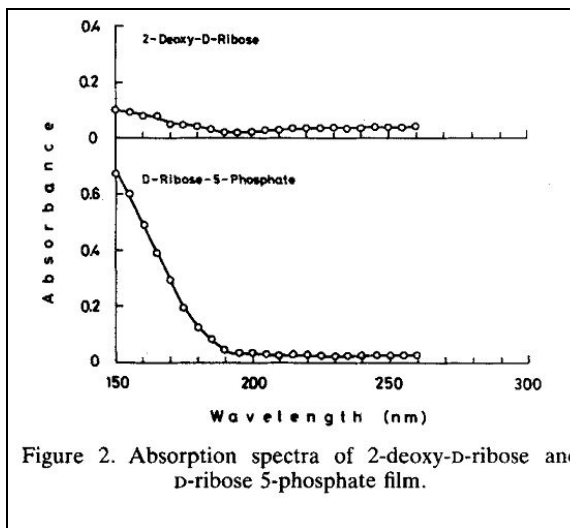
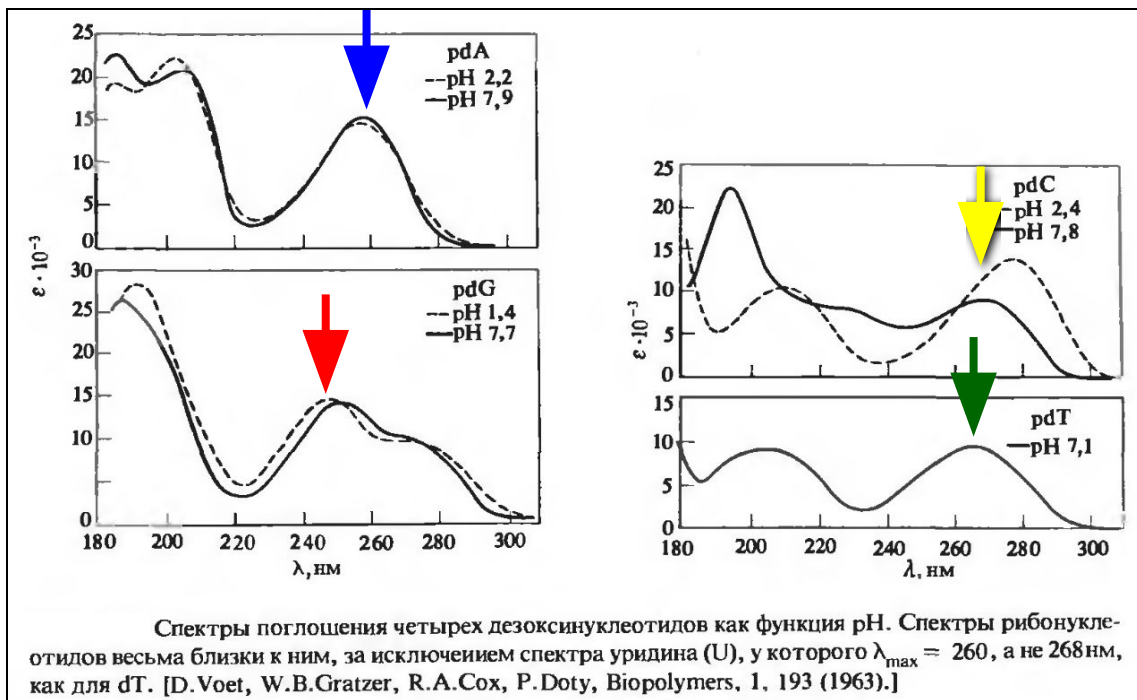
Эфиры триполифосфорной кислоты
нуклеозидтрифосфаты

Дезоксиаденозин-3'-трифосфат



Физические свойства нуклеотидов

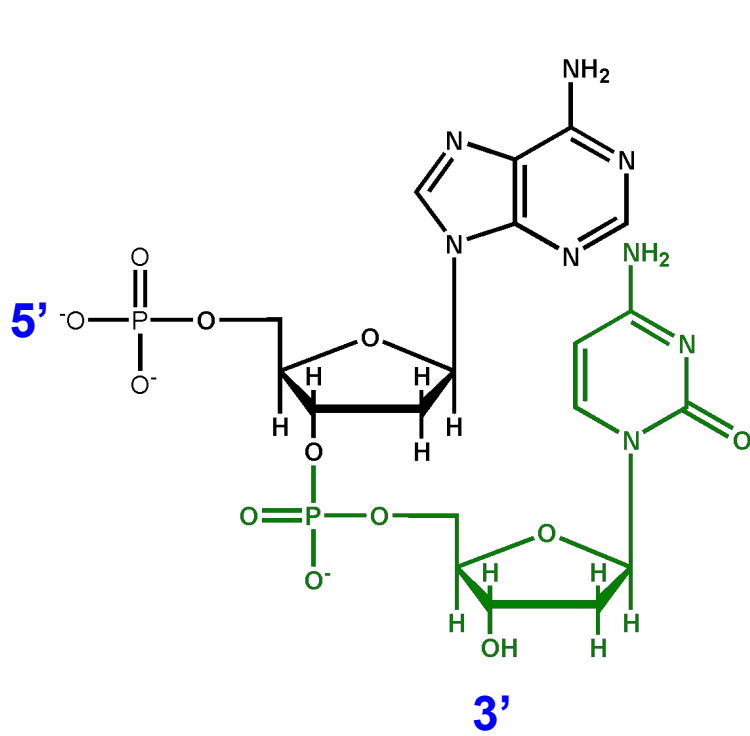
Основание	Максимум УФ-поглощения, нм
Аденин	260
Гуанин	245
Цитозин	268
Тимин	265



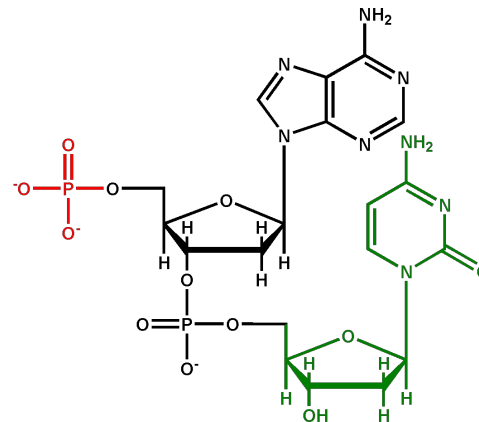
Поглощение в УФ области дезоксирибозы и дезоксирибозо-5-фосфата

Ito A., Ito T. *Photochem Photobiol.* 1986 44(3):355-8.

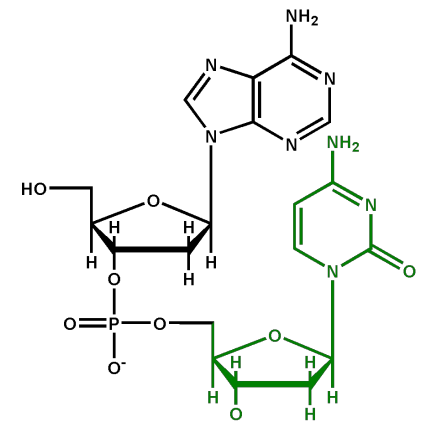
Динуклеотиды NpN



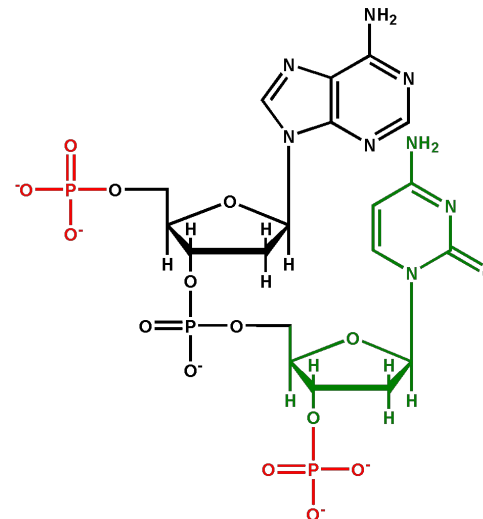
5'-pApC-3'



5'-pApC-3'



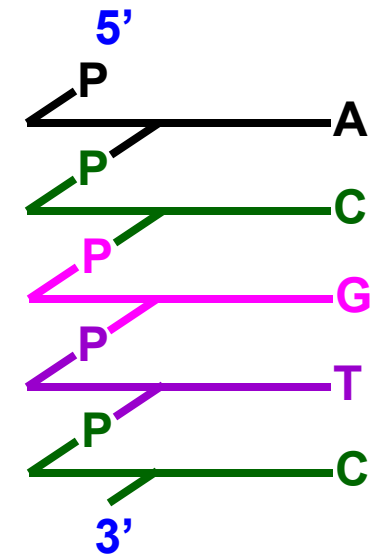
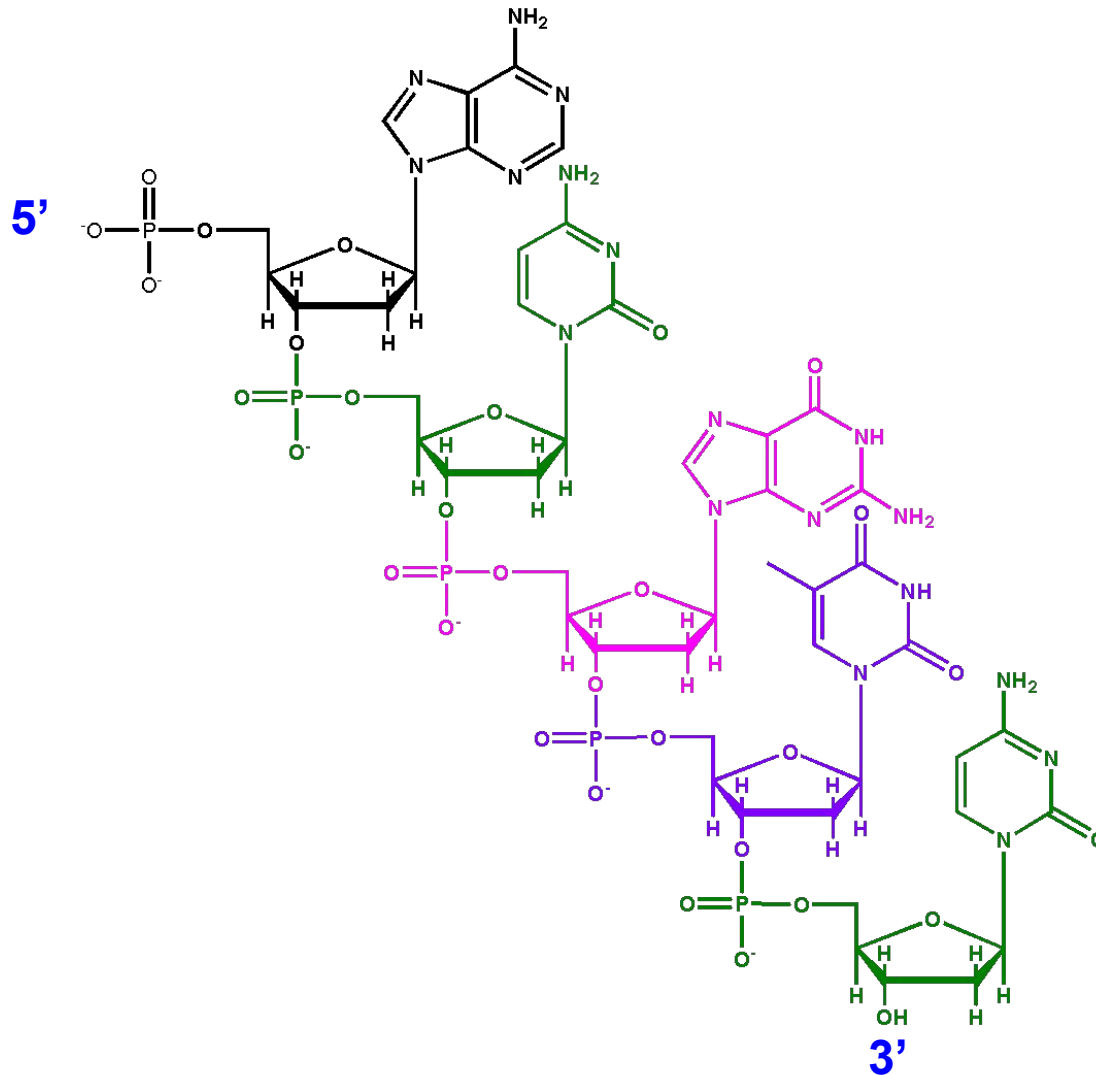
5'-ApCp-3'



5'-pApCp-3'

Олигонуклеотиды и полинуклеотиды

NpNpNpNpN...



5'-pApCpGpTpC-3'

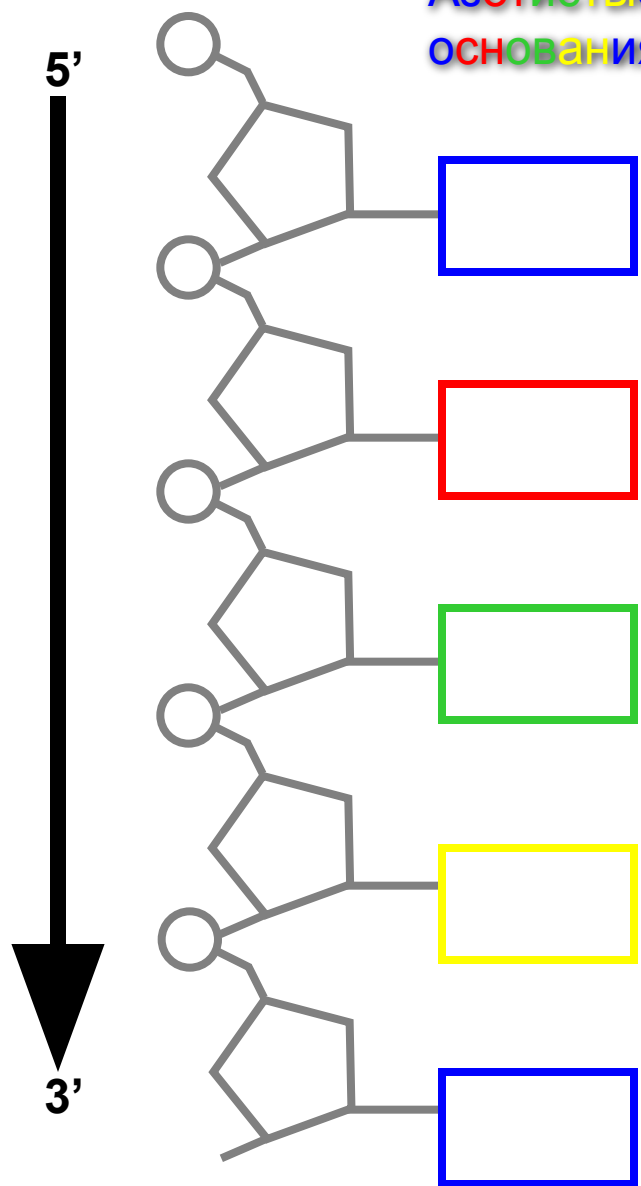
ACGTC

Первичная структура ДНК

Сахарофосфатный

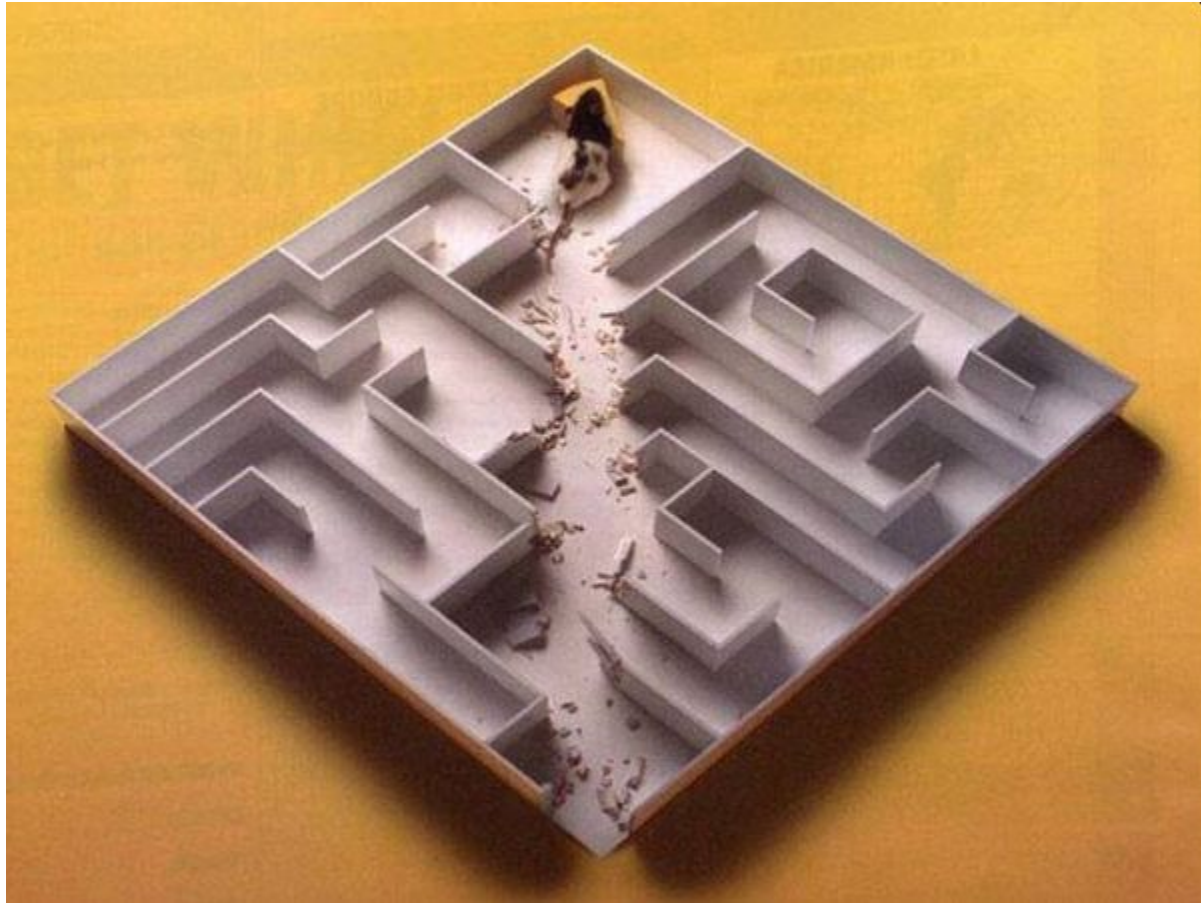
ОСТОВ

Азотистые
основания



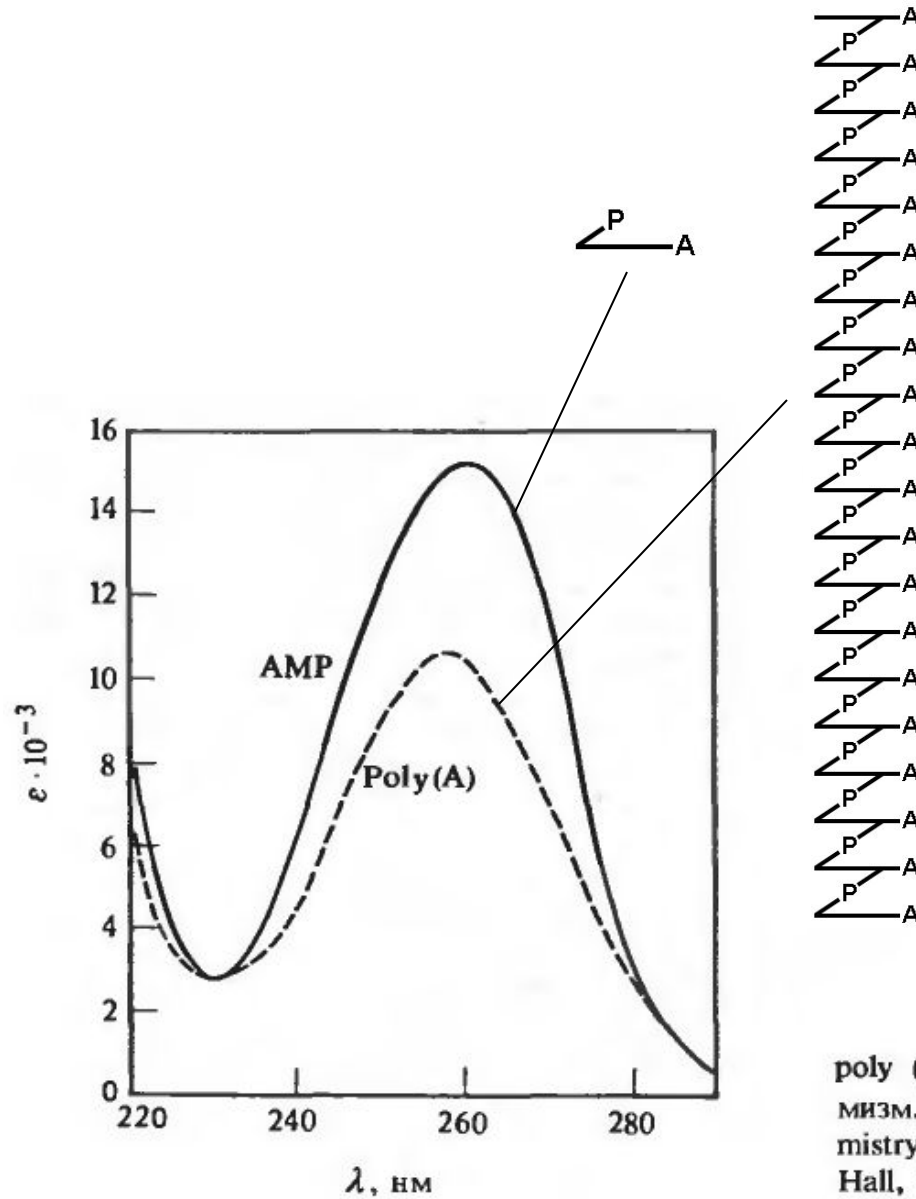
Однобуквенные обозначения

- A - аденин
- T - тимидин
- G - гуанин
- C - цитозин
- R - пурин (A/G)
- Y - пиримидин (T/C)
- M - содержащие аминогруппу (A/C)
- K - содержащие кетогруппу (G/T)
- W - образующие 2 водородные связи (A/T)
- S - образующие 3 водородные связи (G/C)
- N - любой



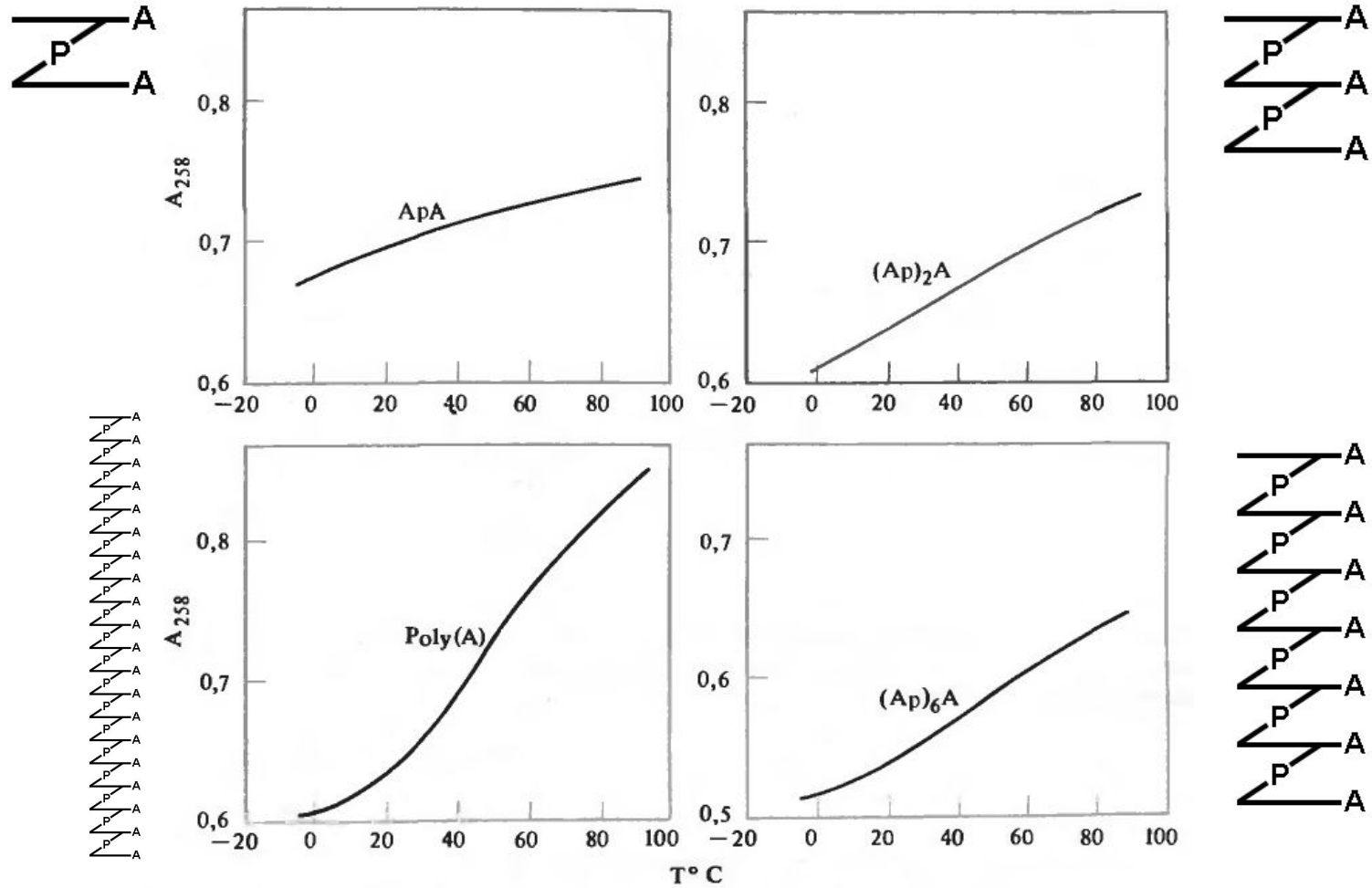
ДНК
Вторичная структура

Стэкинг-взаимодействия



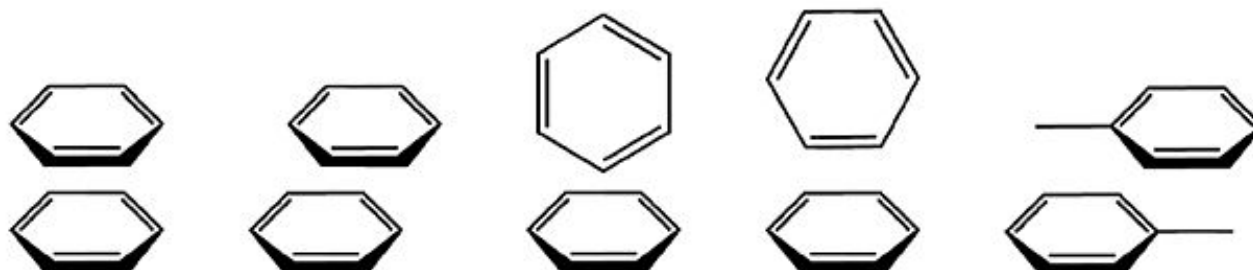
Спектры поглощения AMP и poly (A); отчетливо выражен гипохромизм. [К.Е. Van Holde, Physical Biochemistry (Englewood Cliffs, N.J.: Prentice-Hall, 1971), p. 168.]

Стэкинг-взаимодействия



Зависимость поглощения при 258 нм от температуры для poly (A) и различных олигомеров. [M. Leng, G. Felsenfeld, J.Mol.Biol., 15, 455 1966.]

Стэкинг-взаимодействия



Ориентационное взаимодействие

взаимодействие между
постоянными диполями (сила Кеезома [r^3])

Индукционное взаимодействие

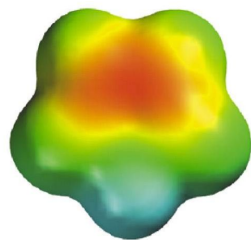
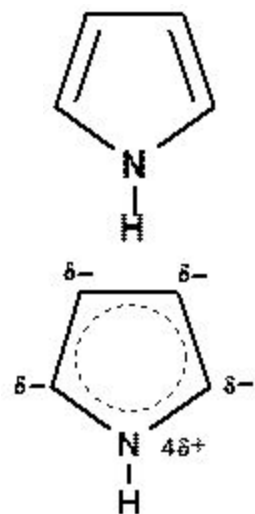
взаимодействие между
постоянным и индуцированным диполем (сила Дебая [r^6])

Дисперсионное взаимодействие

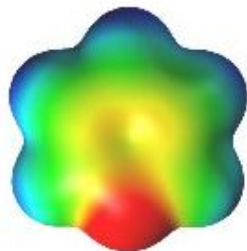
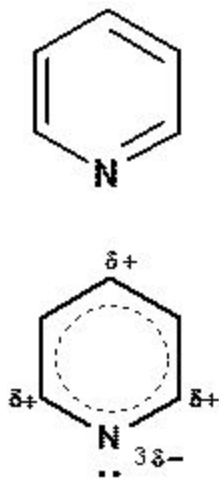
взаимодействие между
мгновенными индуцированными диполями (сила Лондона [r^6])

Межмолекулярное отталкивание ($[r^{12}]$)

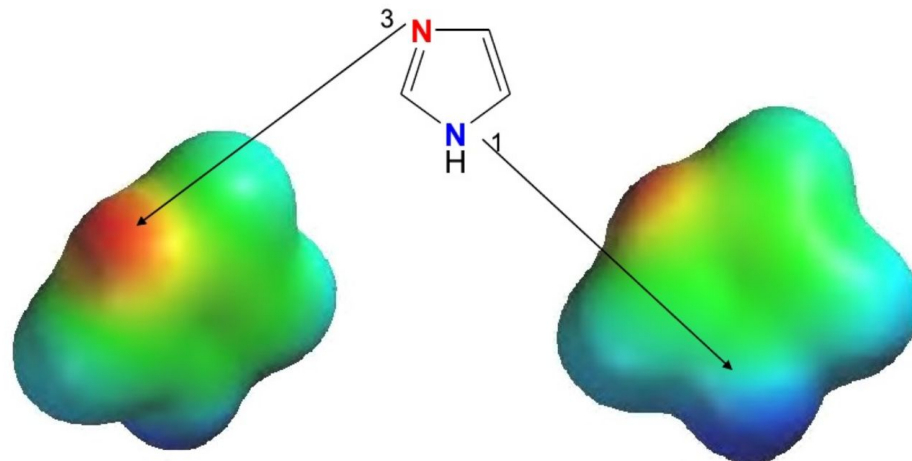
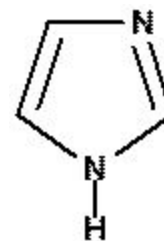
Стэкинг-взаимодействия



Пиррол

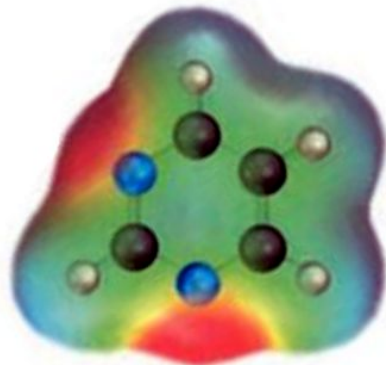
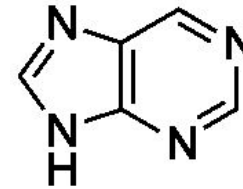
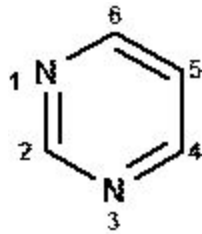


Пиридин



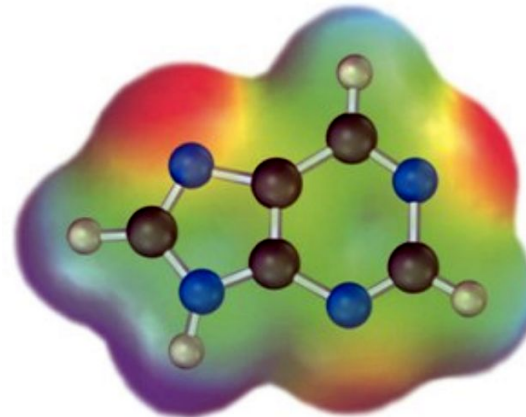
Имидазол

Стэкинг-взаимодействія



<http://slideplayer.com/slide/9396582/>

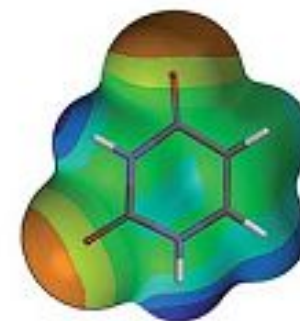
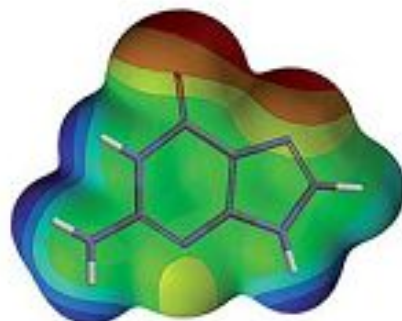
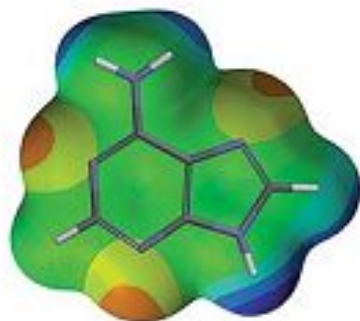
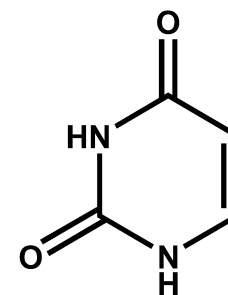
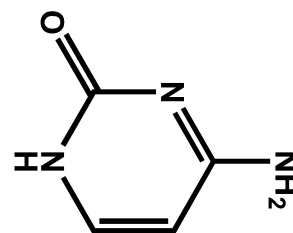
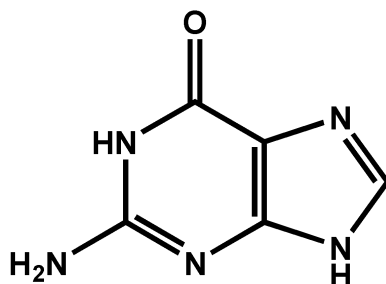
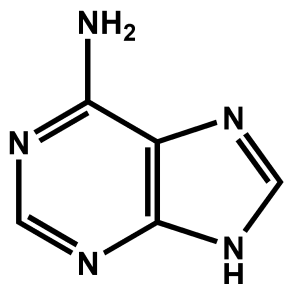
Пиримидин



<http://slideplayer.com/slide/8380330/>

Пурин

Стэкинг-взаимодействия



Lucas X. et al. *Chemical Science* 2015, 7, 1038

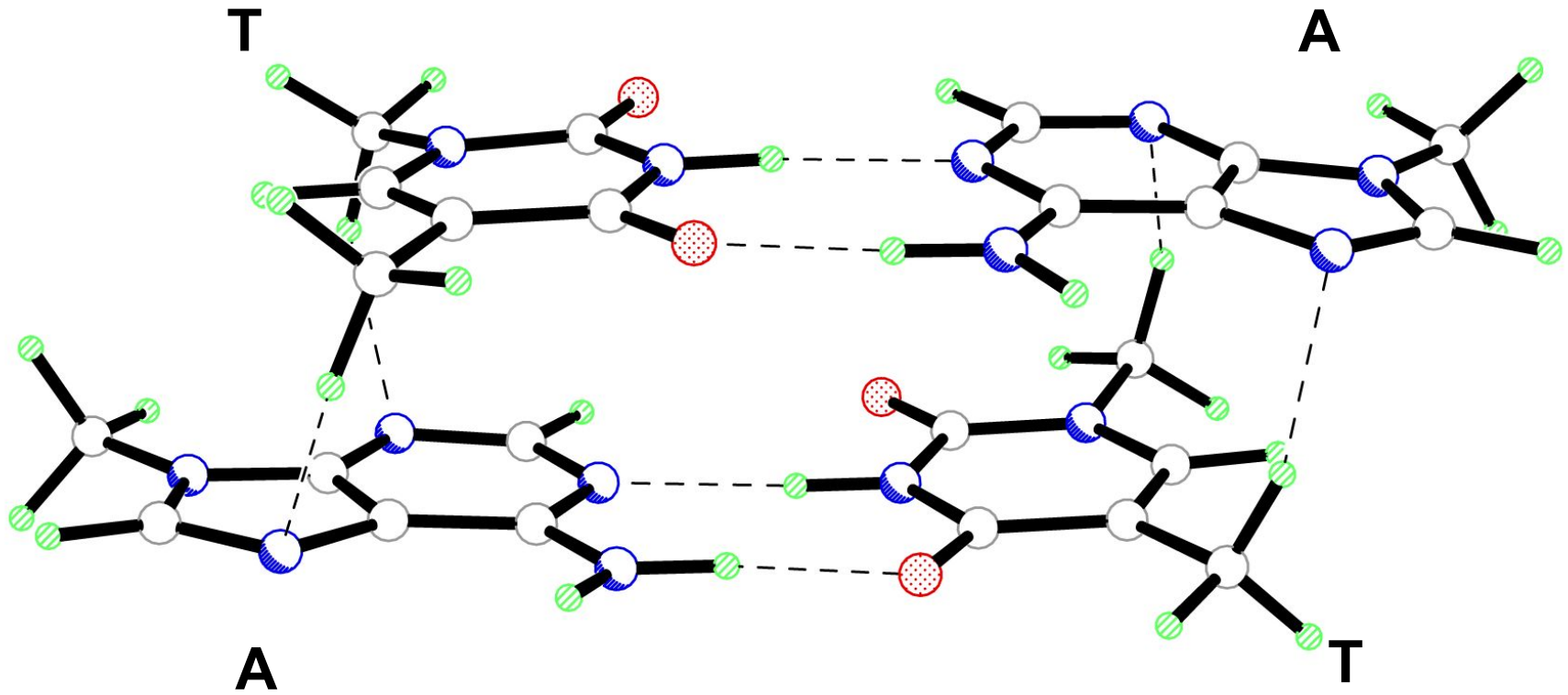
Аденин

Гуанин

Цитозин

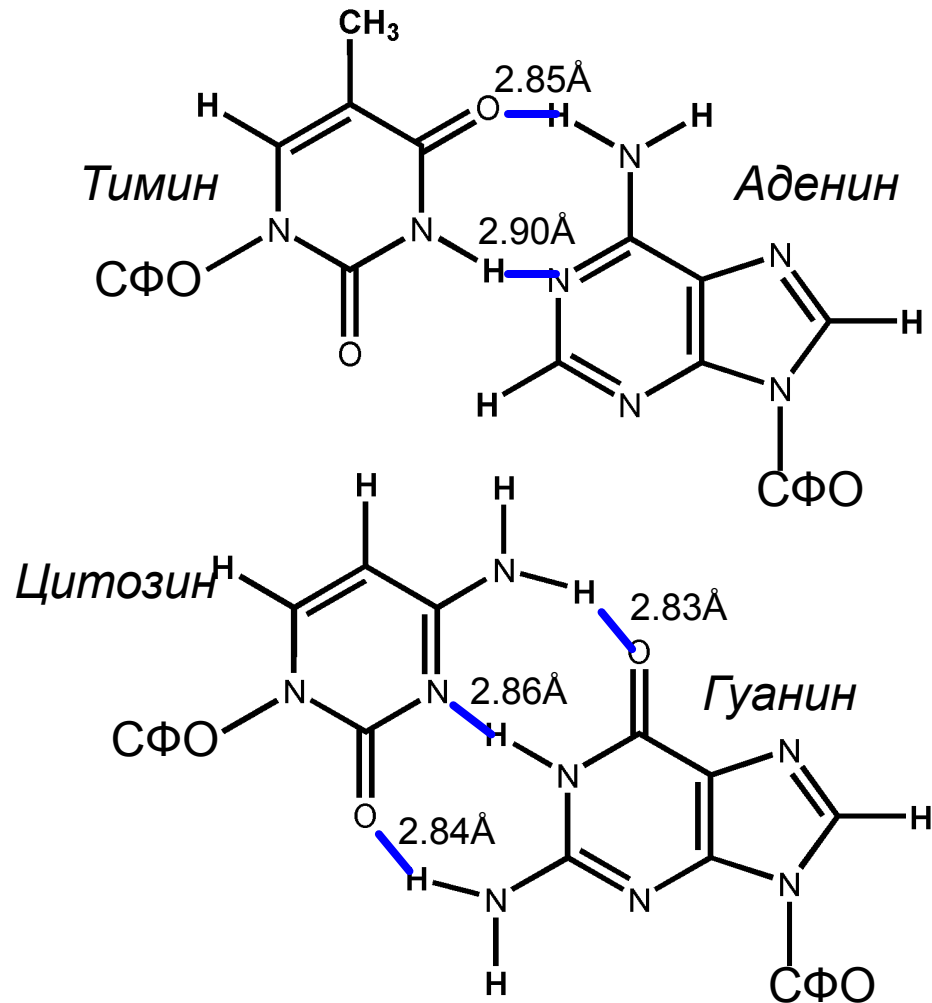
Урацил

Водородные связи

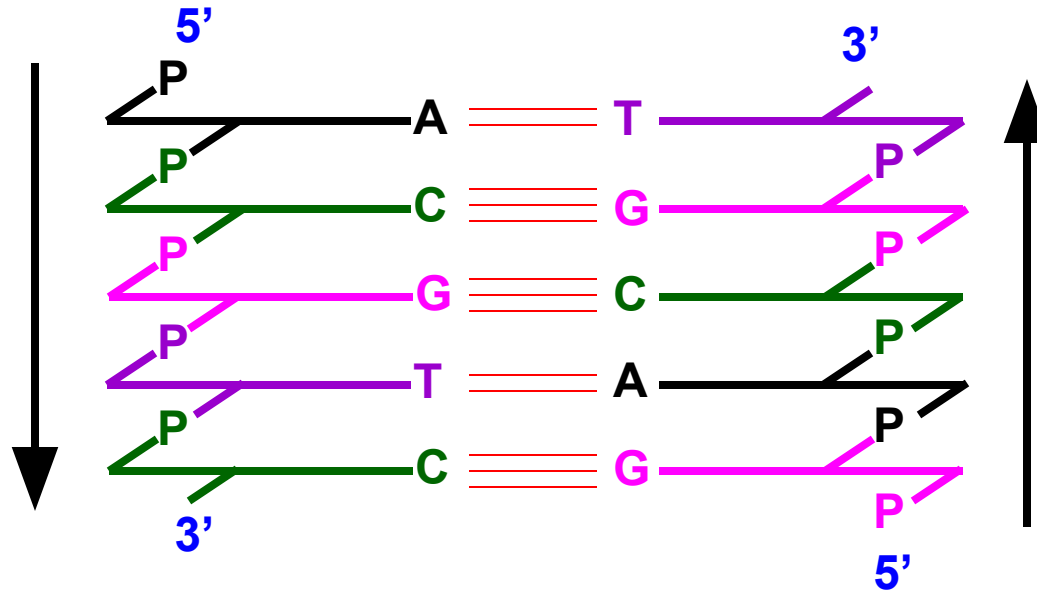


Водородные связи

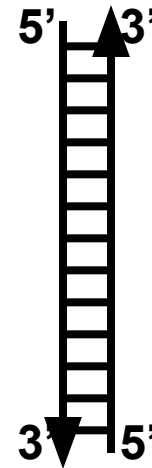
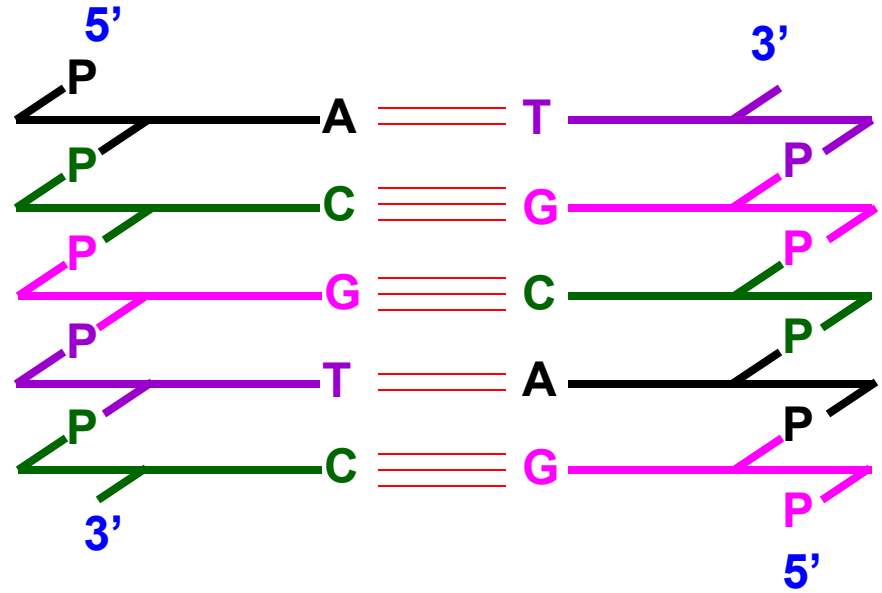
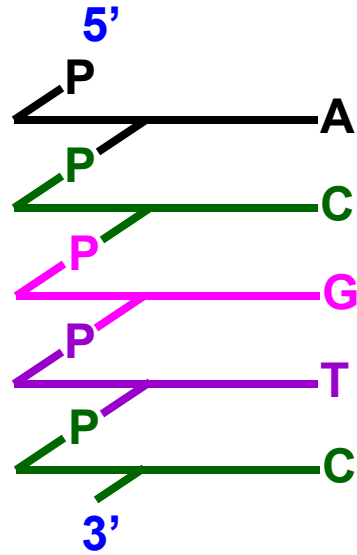
Пары оснований



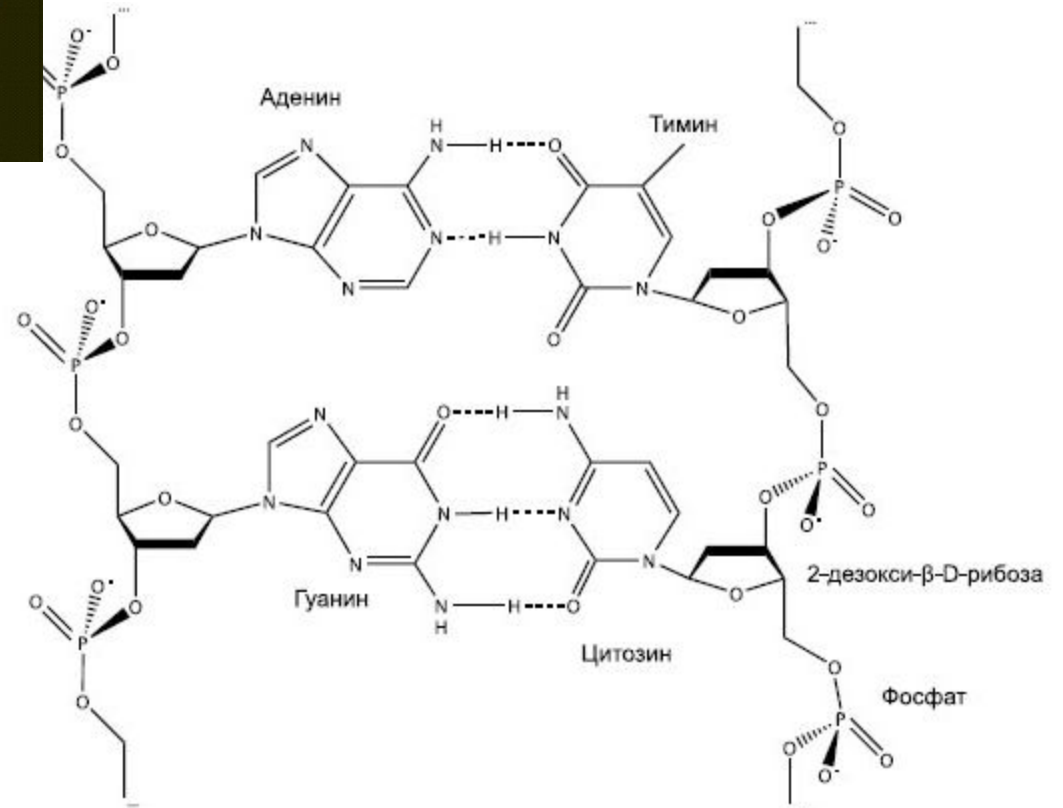
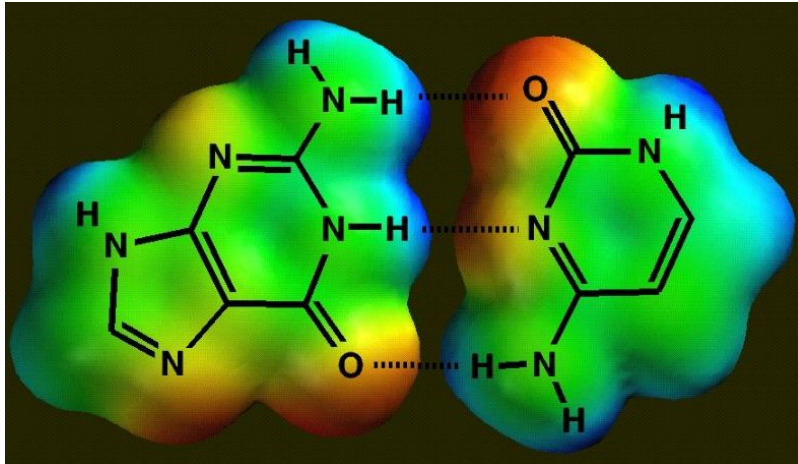
**Две антипараллельные нити,
стабилизированные водородными связями**



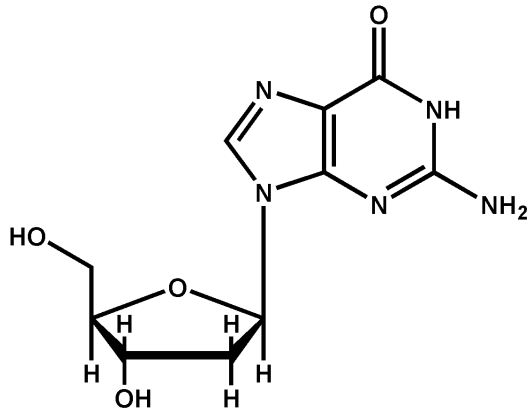
Условные обозначения



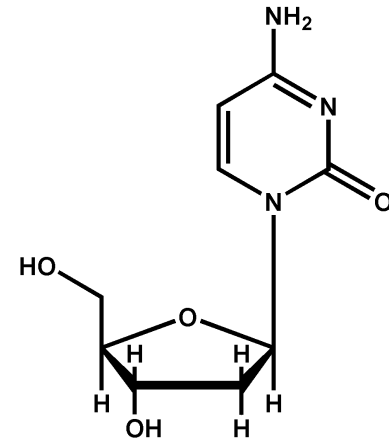
Принцип комплементарности



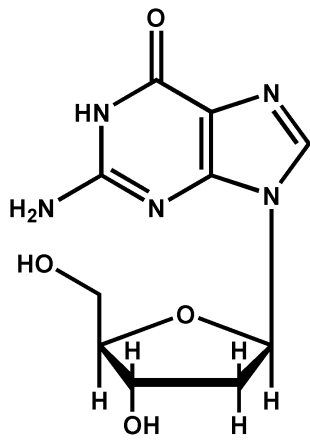
Конформации нуклеозидов



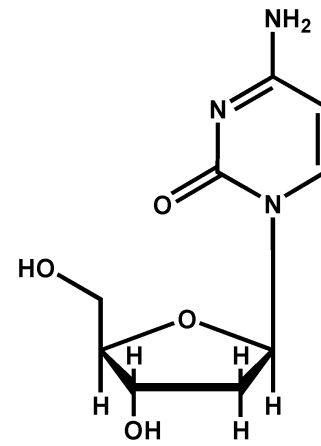
Анти



Анти

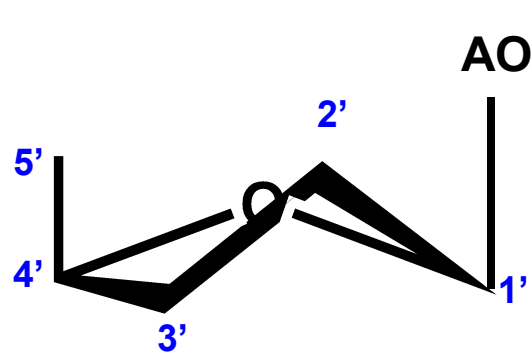
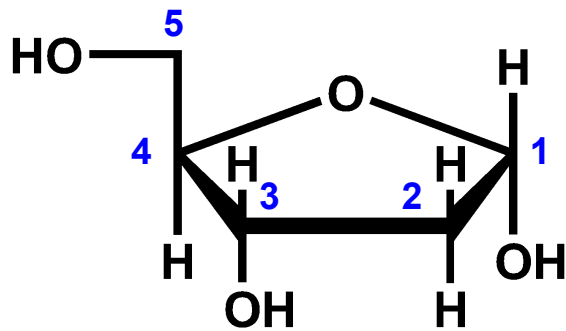
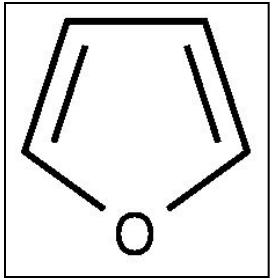


Син

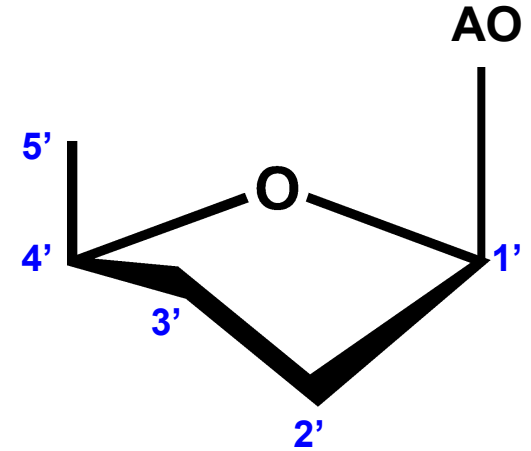


Син

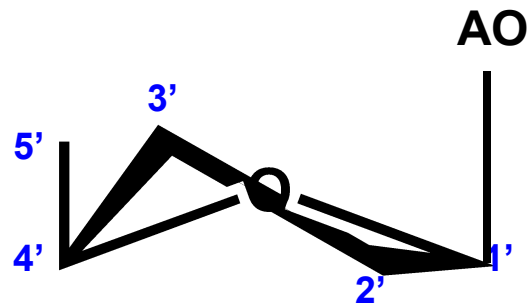
Конформации фуранозного кольца



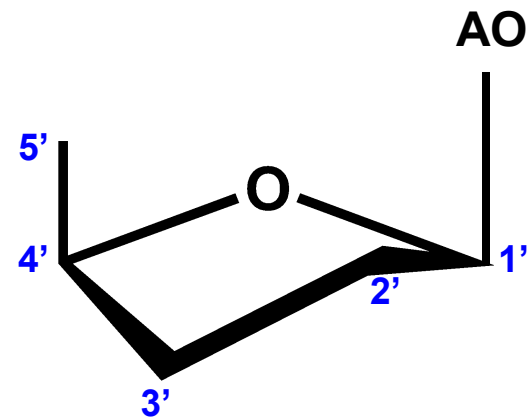
C2'-эндо
(B-ДНК)



C2'-экзо



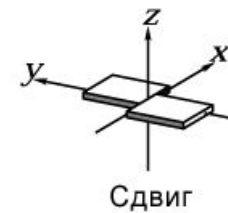
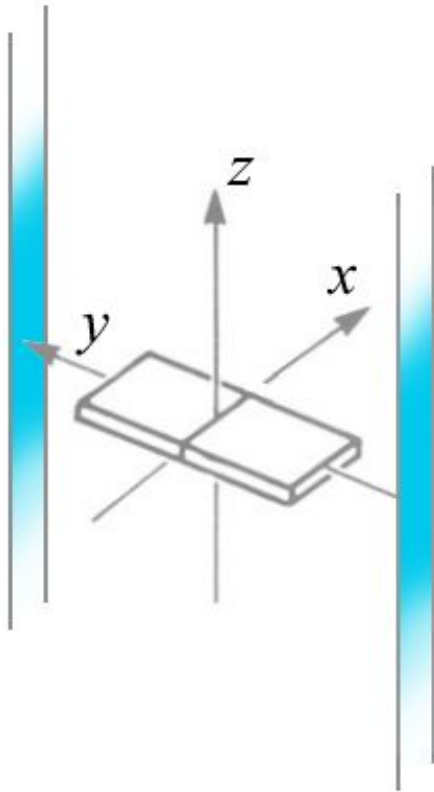
C3'-эндо
(A-ДНК)



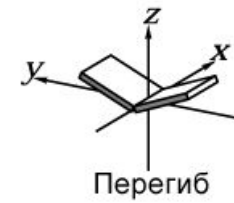
C3'-экзо

Конформации пары оснований

Геометрия пары оснований



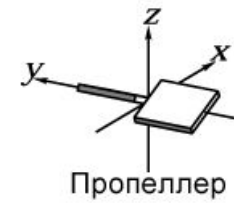
Сдвиг



Перегиб



Растягивание



Пропеллер



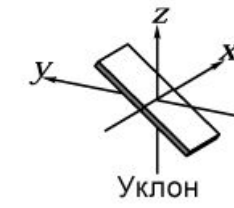
Шатание



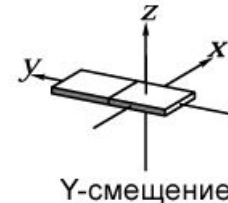
Расщелина



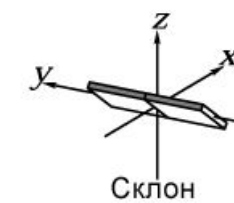
X-смещение



Уклон

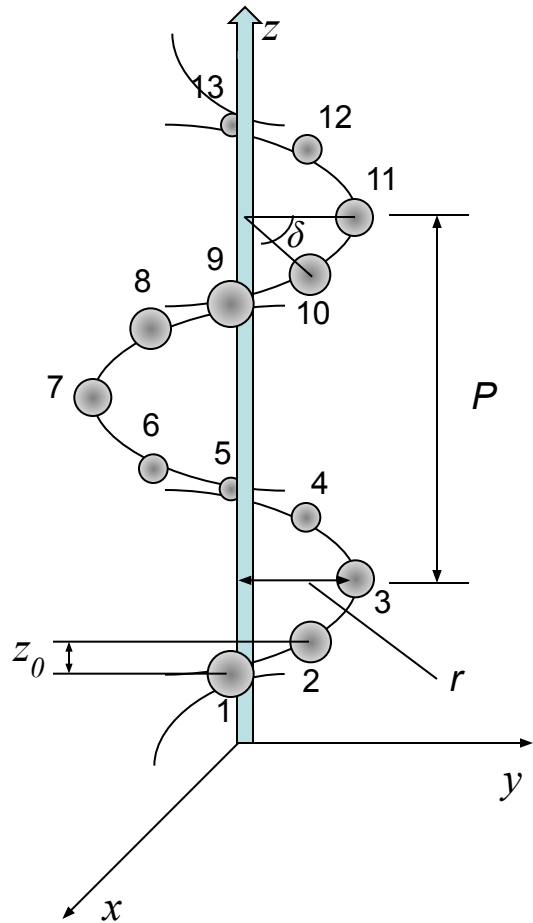


Y-смещение



Склон

Спираль



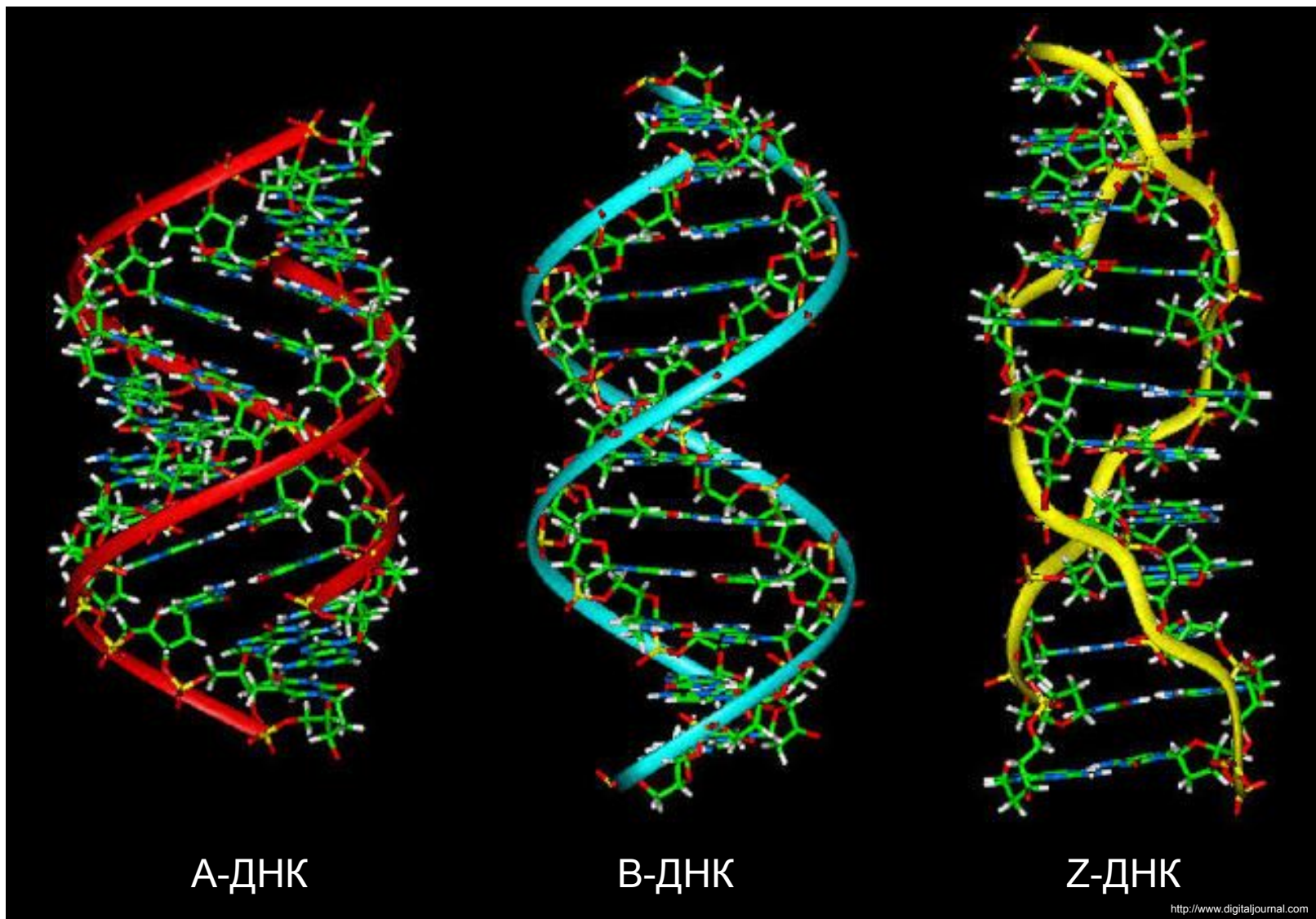
P – шаг спирали

r – радиус спирали (диаметр $d = r \cdot 2$)

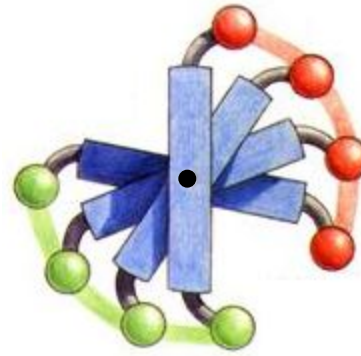
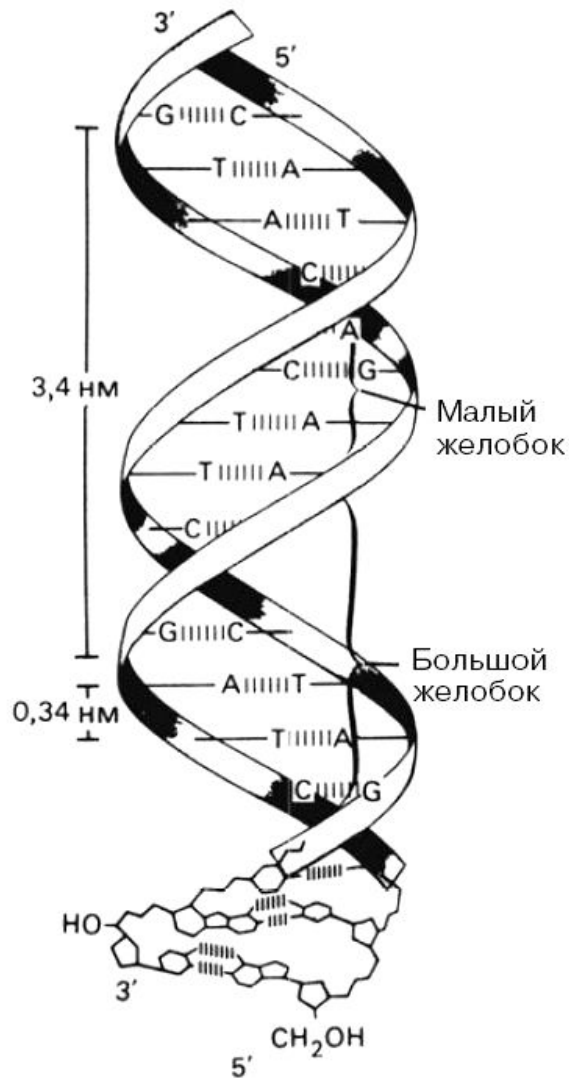
δ – угол спирального вращения

z_0 – расстояние между звеньями
вдоль оси Z

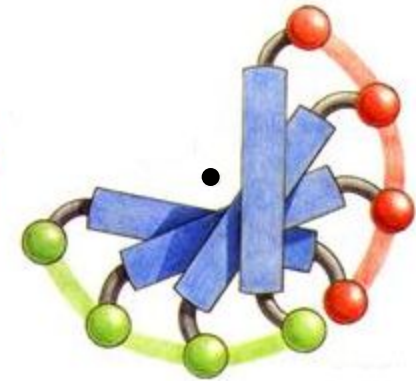
Двойная спираль ДНК



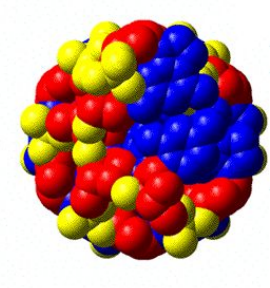
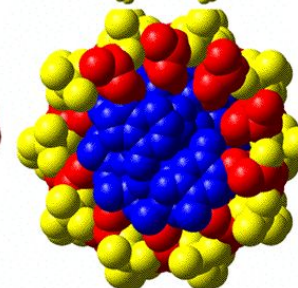
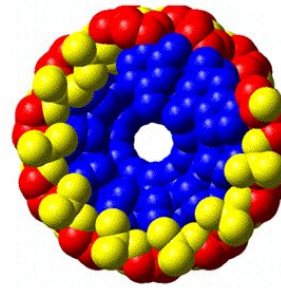
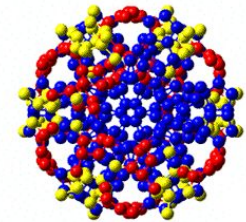
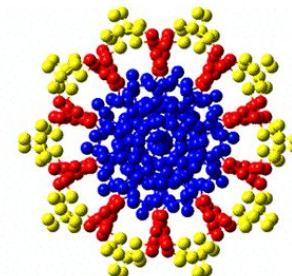
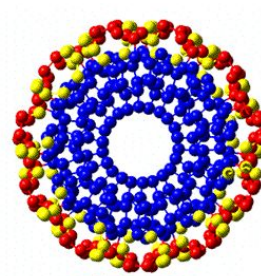
Двойная спираль ДНК



В-ДНК



А-ДНК

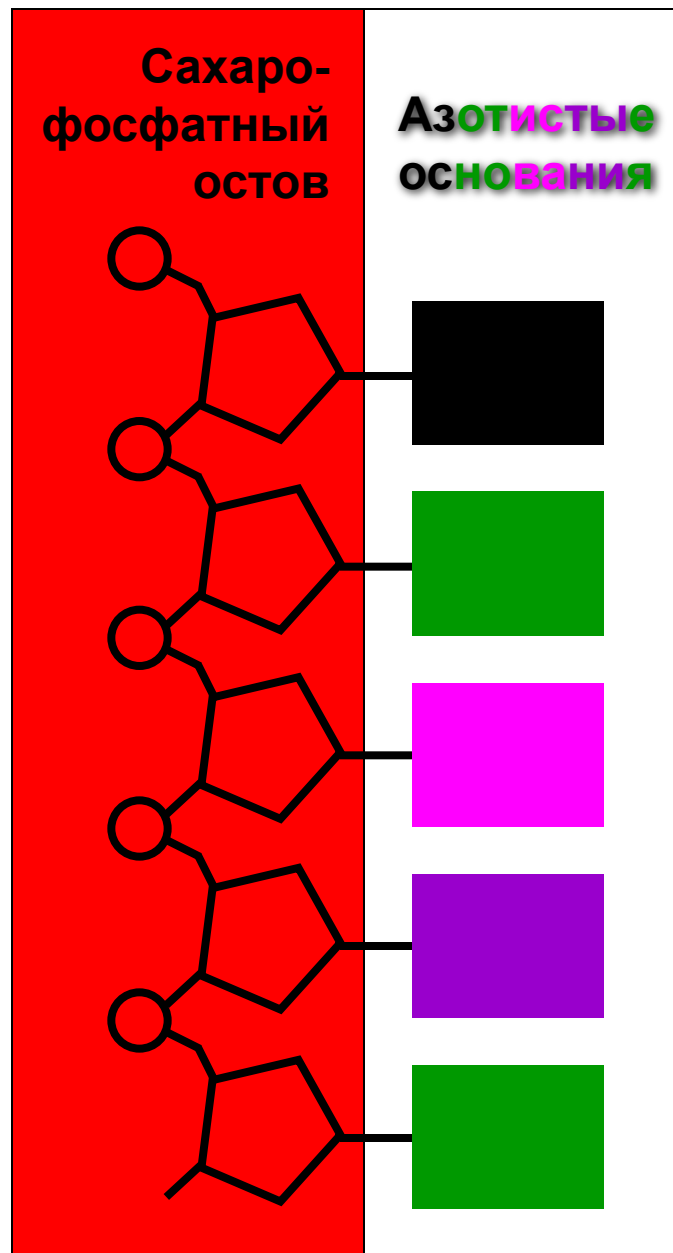
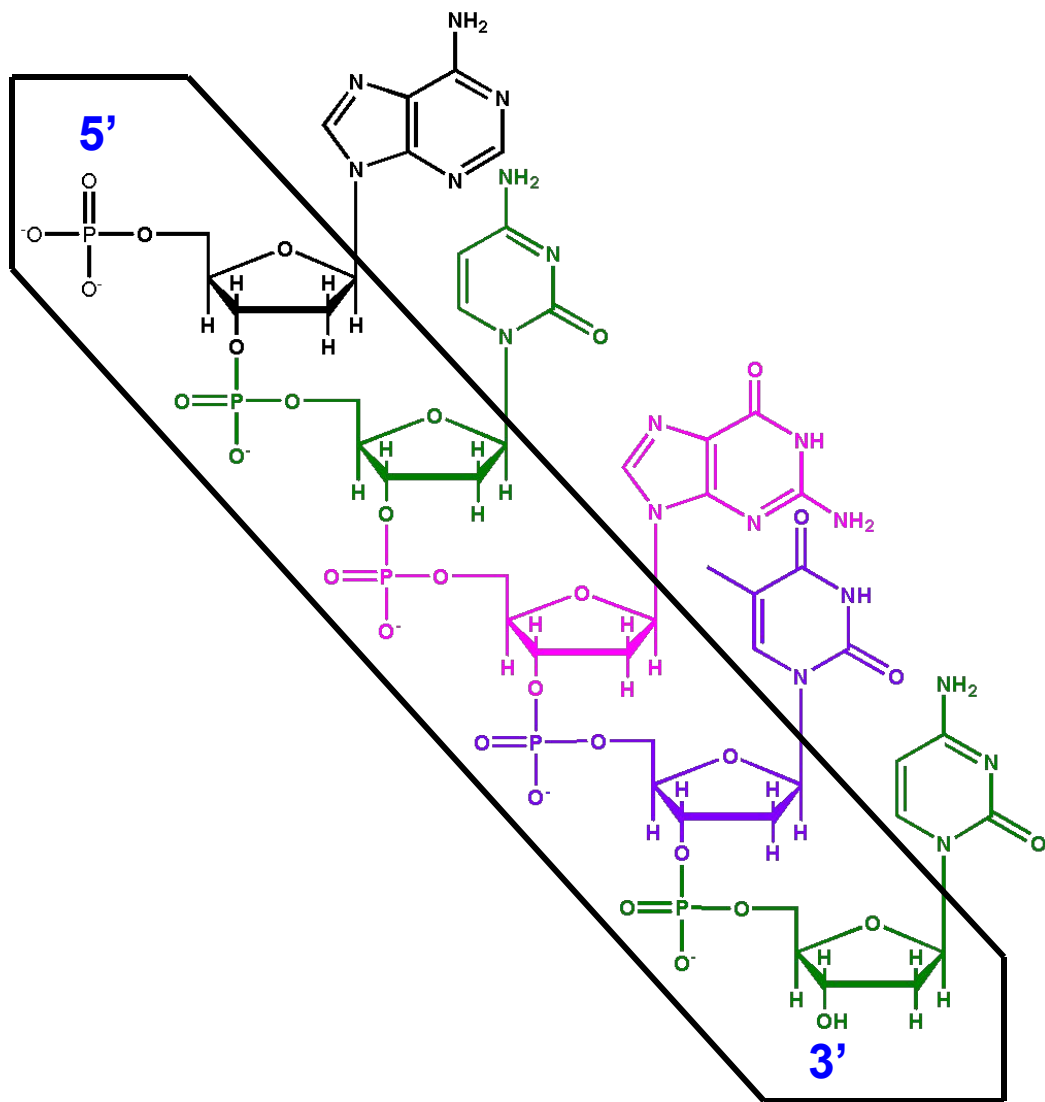


А-ДНК

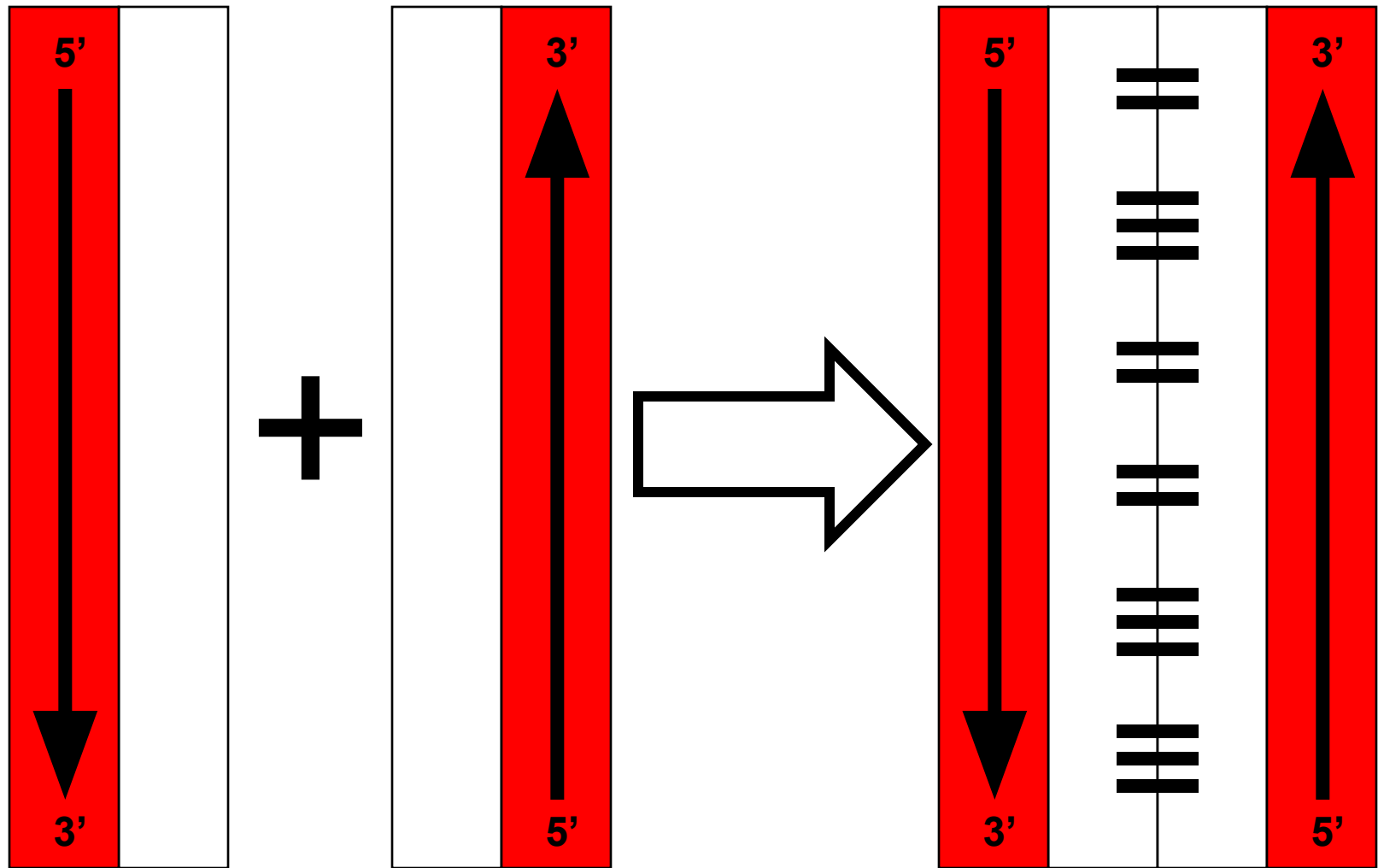
В-ДНК

З-ДНК

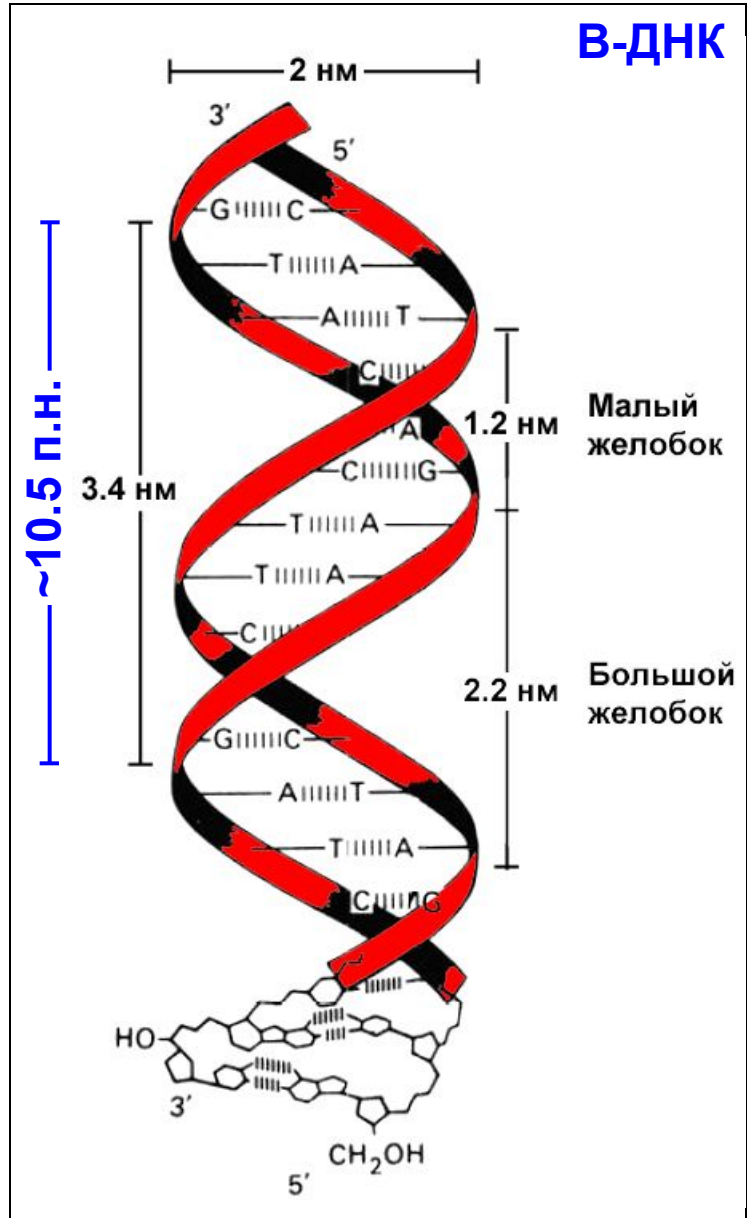
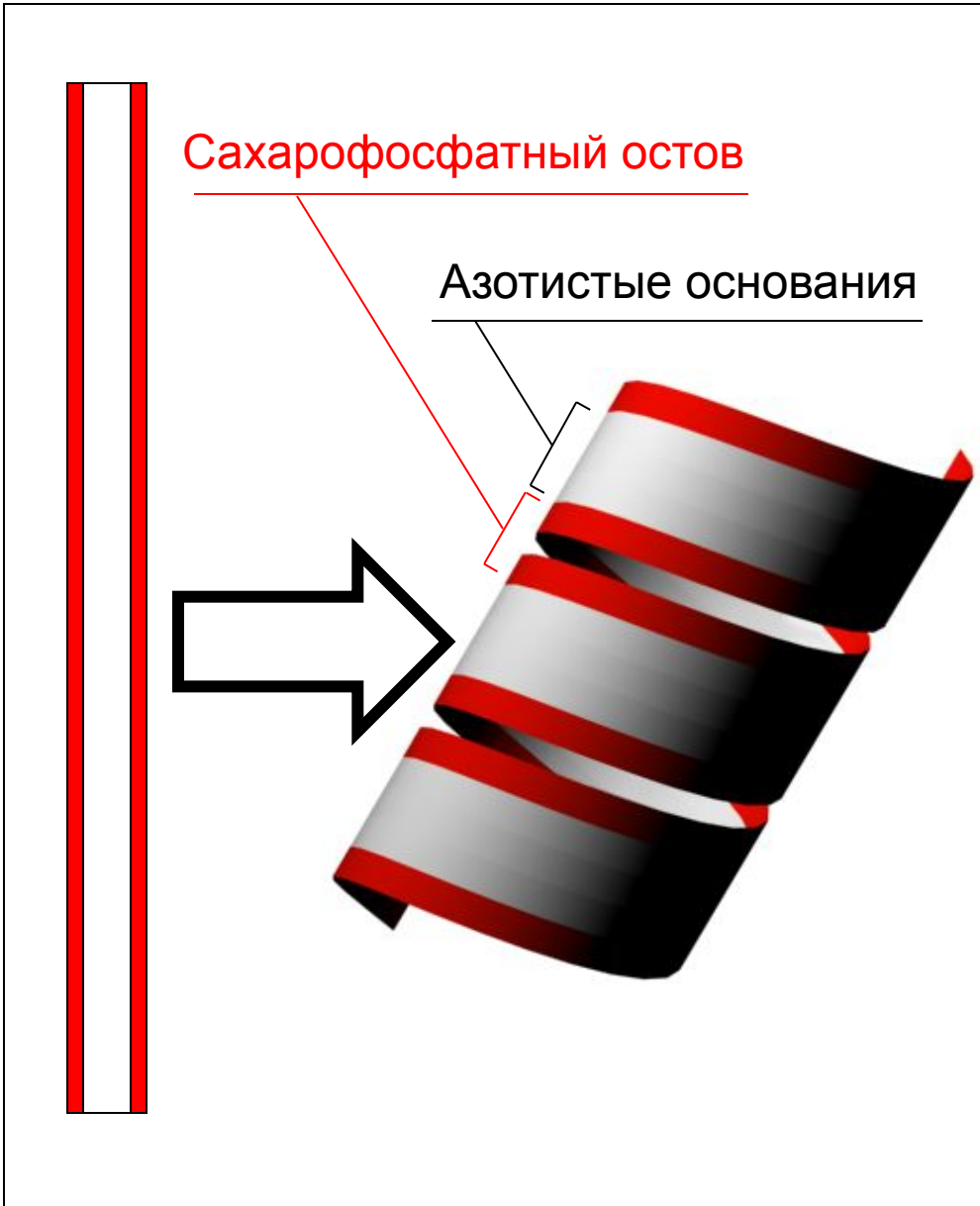
Двойная спираль ДНК



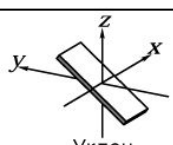
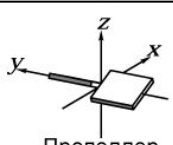
Двойная спираль ДНК



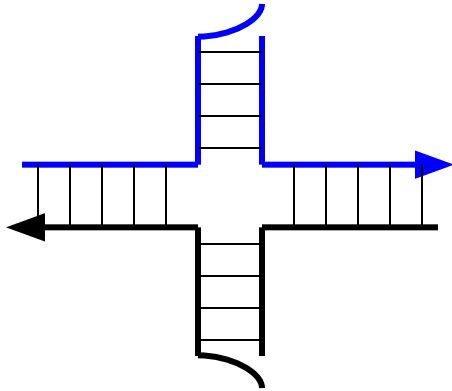
Двойная спираль ДНК



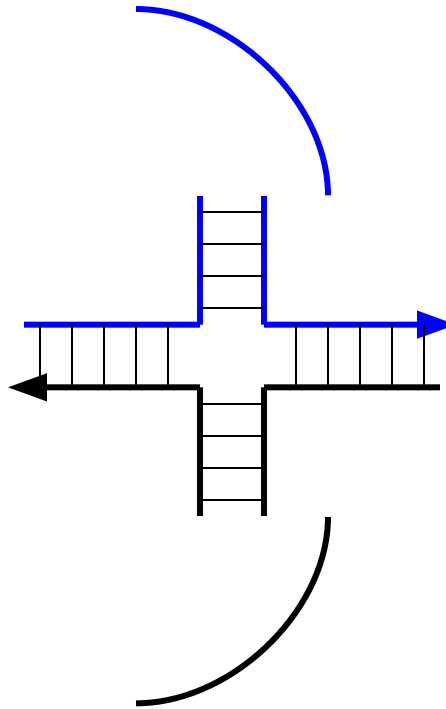
Параметры двойных спиралей ДНК

Параметр	A-ДНК	B-ДНК	Z-ДНК
Спираль	Правая	Правая	Левая
Форма	Широкая, сплюснутая	Релаксированная	Удлиненная, утонченная
Повторяющаяся единица	1 пара нуклеотидов	1 пара нуклеотидов	2 пары нуклеотидов
Количество нуклеотидов на шаг спирали	11	10.4	12
Угол спирального вращения (δ)	+33.6°	+35.9°	-30°
Уклон 	+19°	~ 0°	-9°
Пропеллер 	+18°	+16°	0°
Расстояние между звеньями вдоль оси (z_0)	0.24 нм	0.34 нм	0.37 нм
Шаг спирали (P)	2.5 нм	3.5 нм	4.6 нм
Конформация нуклеозида	Анти	Анти	Ц – анти Г – син
Конформация фуранозного кольца	C3'-эндо	C2'-эндо	Ц - C2'- эндо Г - C3'- эндо
Диаметр спирали (d)	~ 2.6 нм	~ 2.0 нм	~ 1.8 нм
Большой желобок	Узкий глубокий	Широкий глубокий	Плоский неглубокий
Малый желобок	Широкий неглубокий	Узкий глубокий	Очень узкий глубокий
Примеры	Поли-А, шпильки ДНК, гибрид ДНК-РНК, спираль РНК-РНК	Основная форма ДНК	Поли-ГЦ

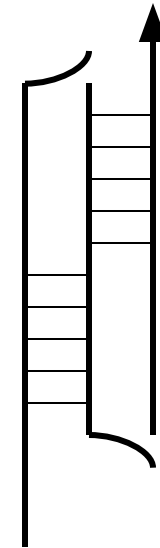
Шпильки, стебельки, узелки



Шпилька

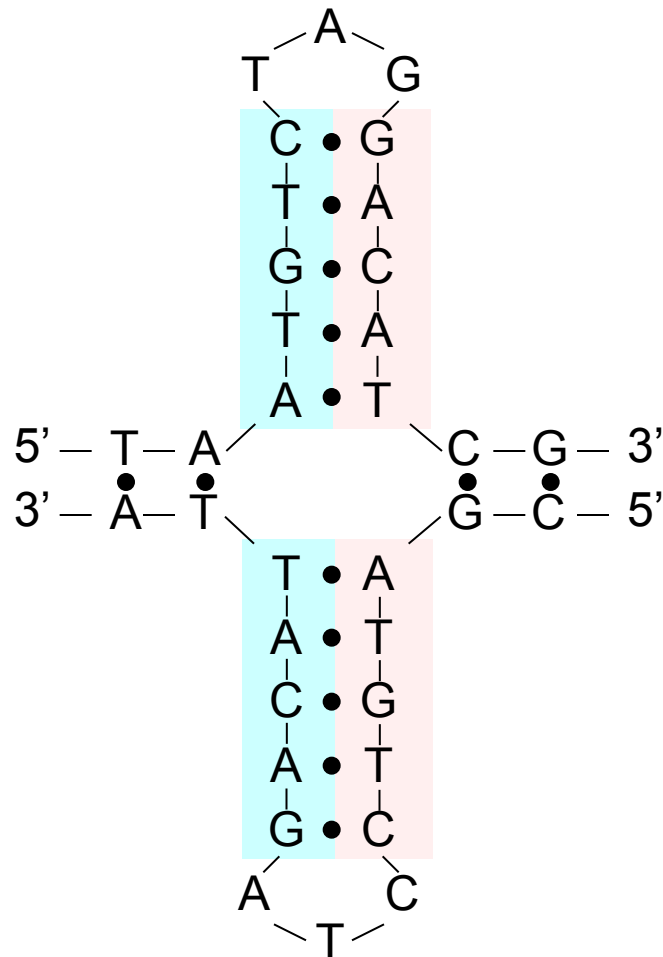
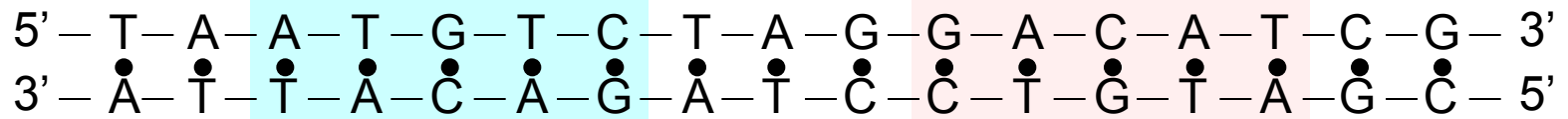


Петля на стебле
(стебель-петля)



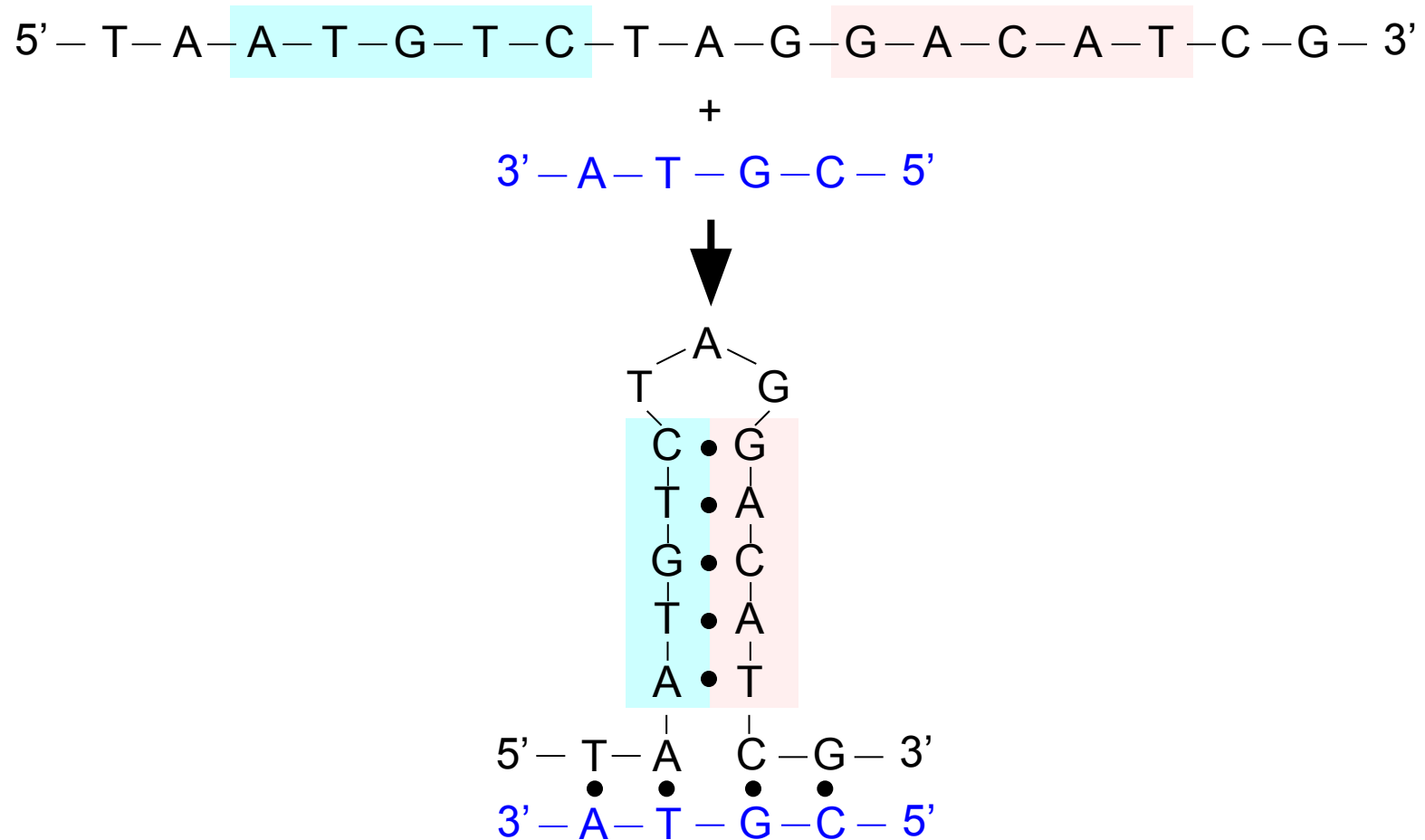
Псевдоузел

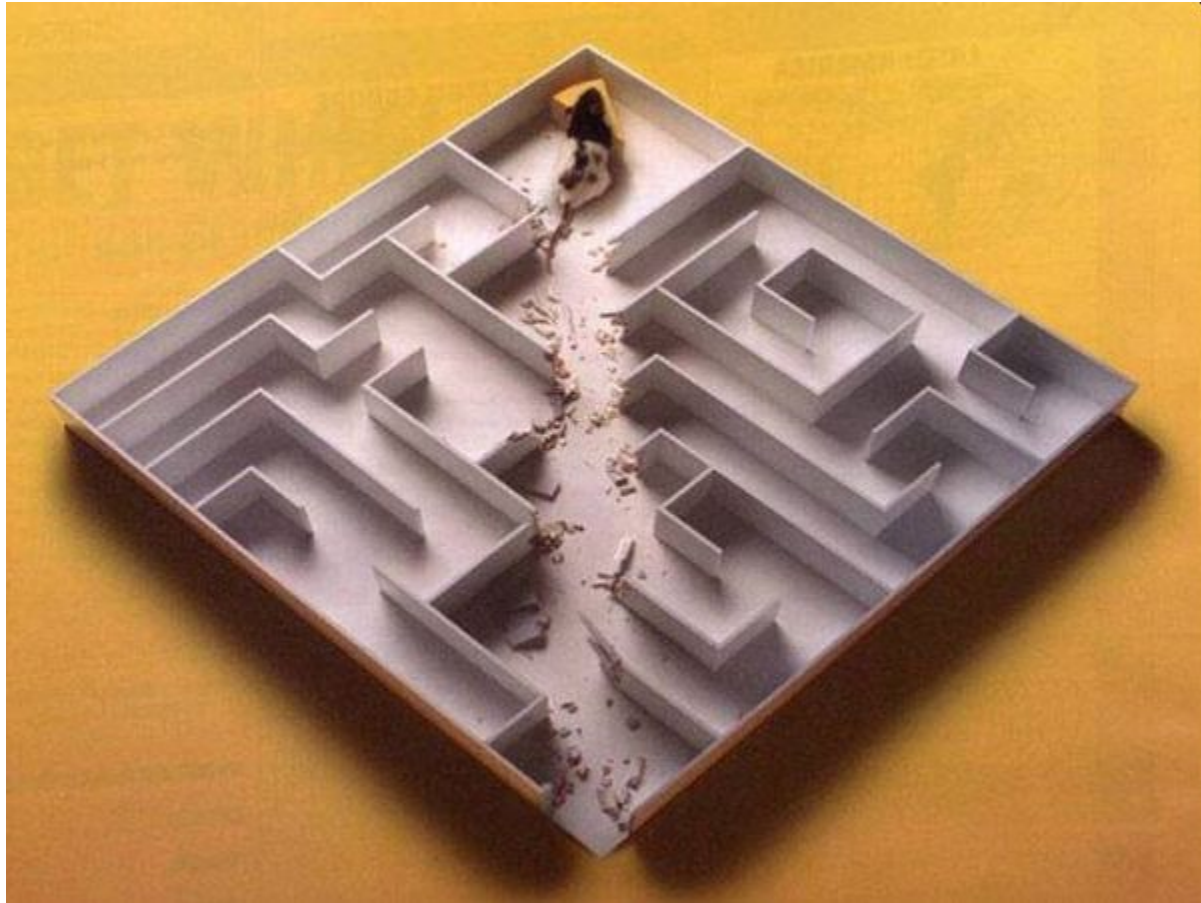
Палиндромы (АРГЕНТИНАМАНИТНЕГРА)



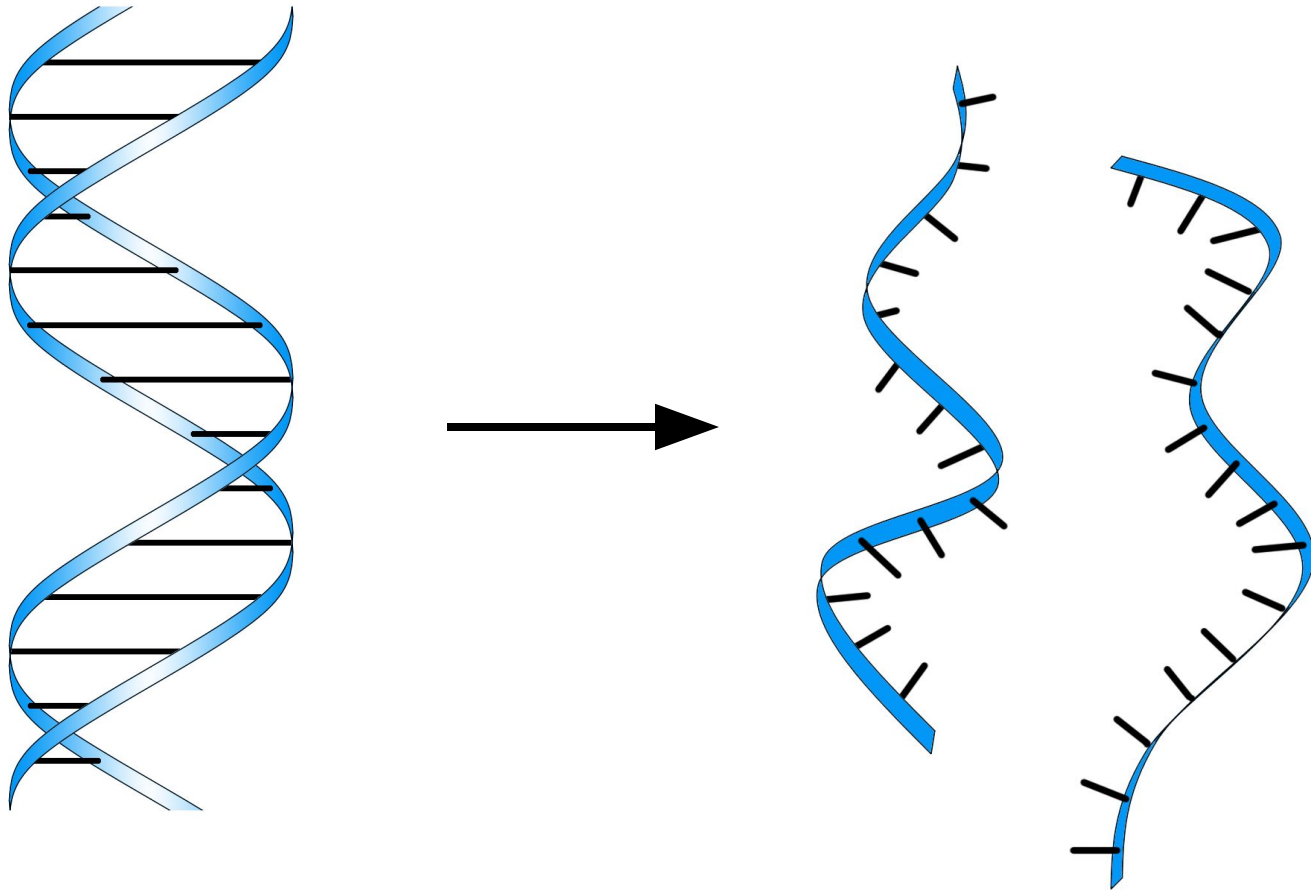
Палиндромы

Неправильное спаривание

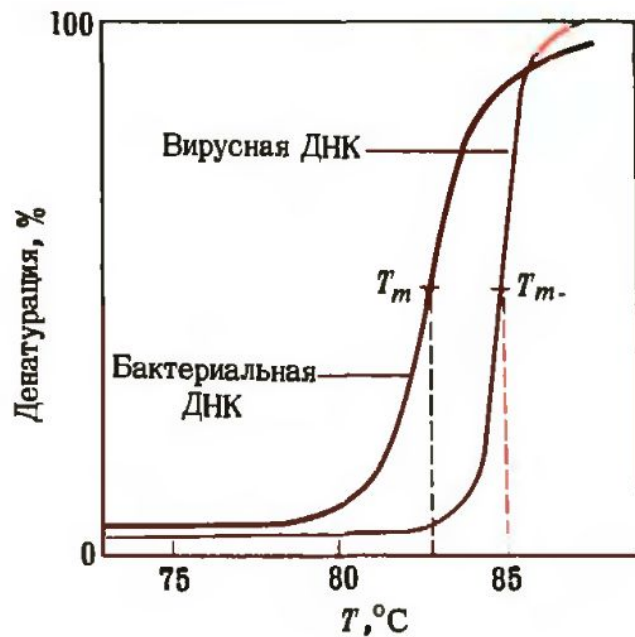




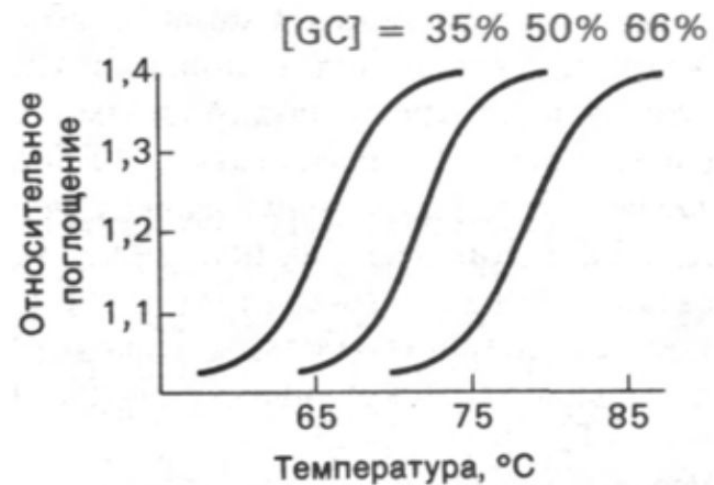
Плавление (денатурация) ДНК



Плавление ДНК



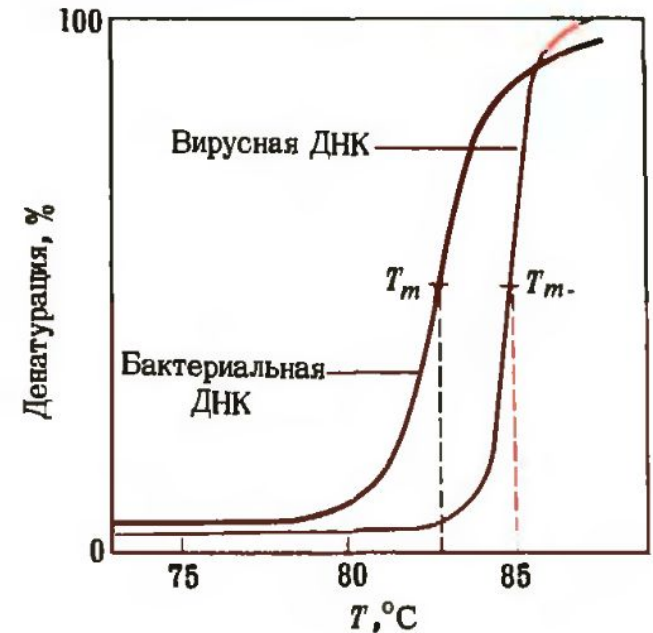
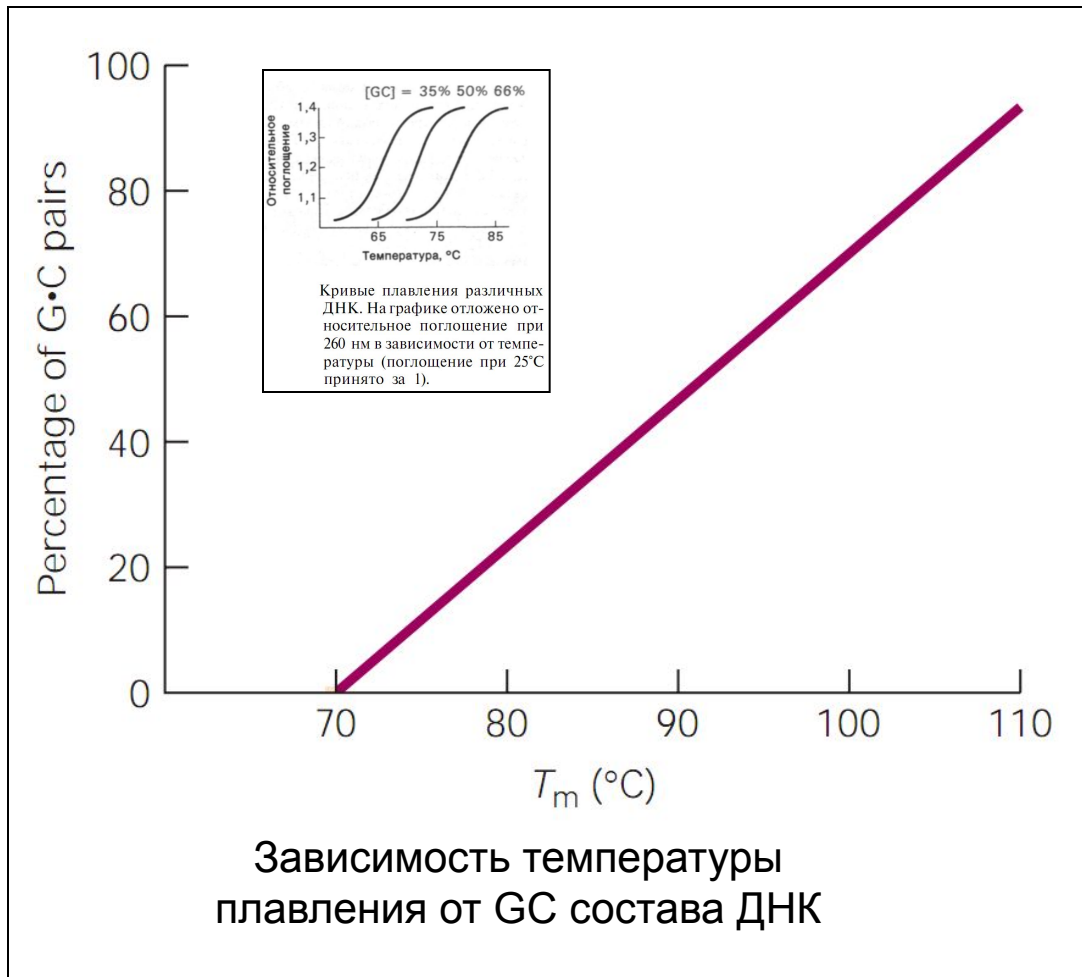
Кривая денатурации (плавления) двух препаратов ДНК. Температура, соответствующая средней точке перехода (T_m), называется точкой плавления.



Кривые плавления различных ДНК. На графике отложено относительное поглощение при 260 нм в зависимости от температуры (поглощение при 25°C принято за 1).

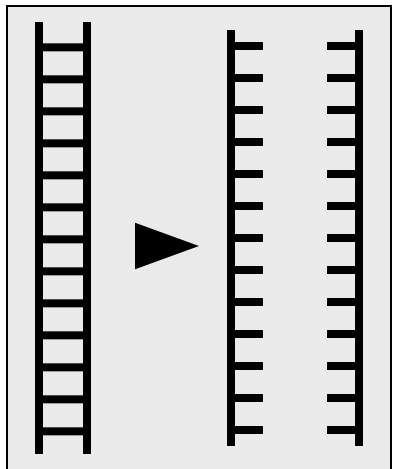
Плавление (денатурация) ДНК

T_m – температура плавления (m = “melting”)

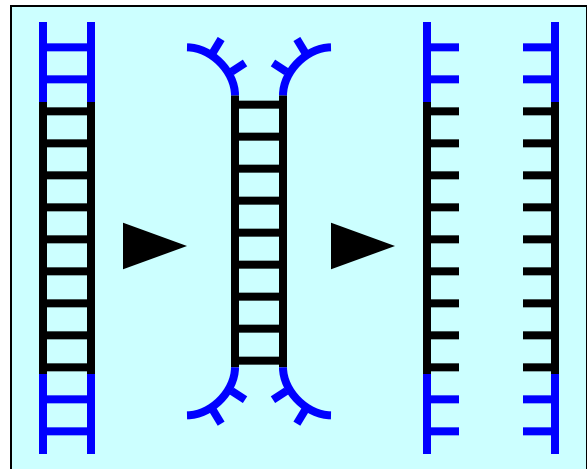


Кривая денатурации (плавления) двух препаратов ДНК. Температура, соответствующая средней точке перехода (T_m), называется точкой плавления.

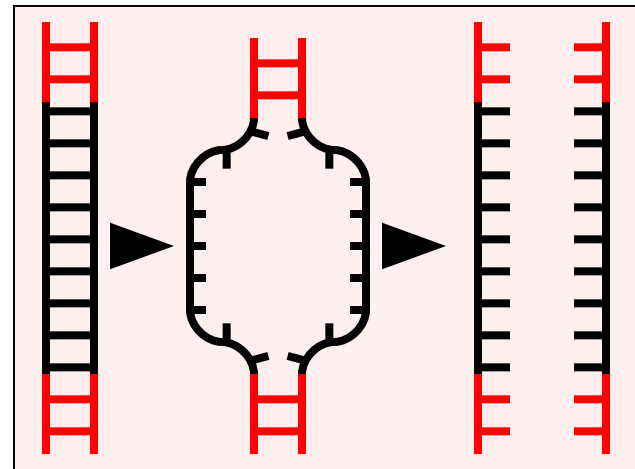
Плавление (денатурация) ДНК



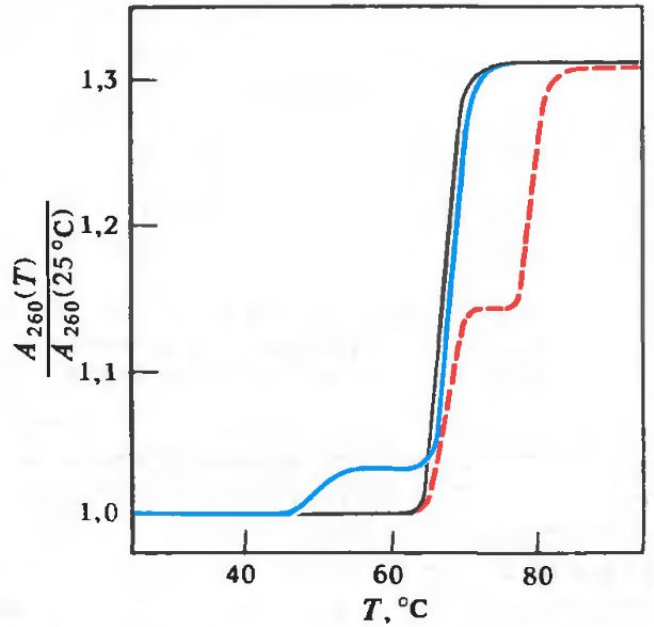
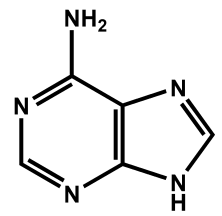
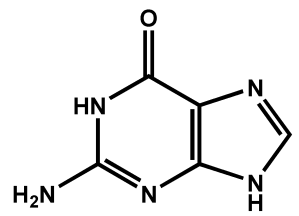
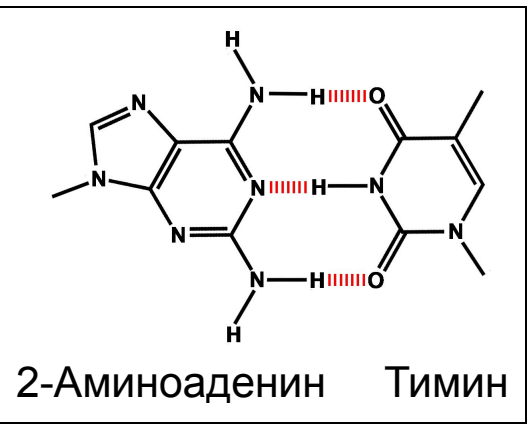
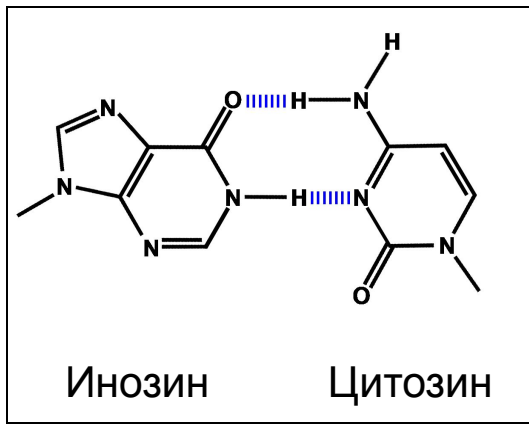
Олигонуклеотид



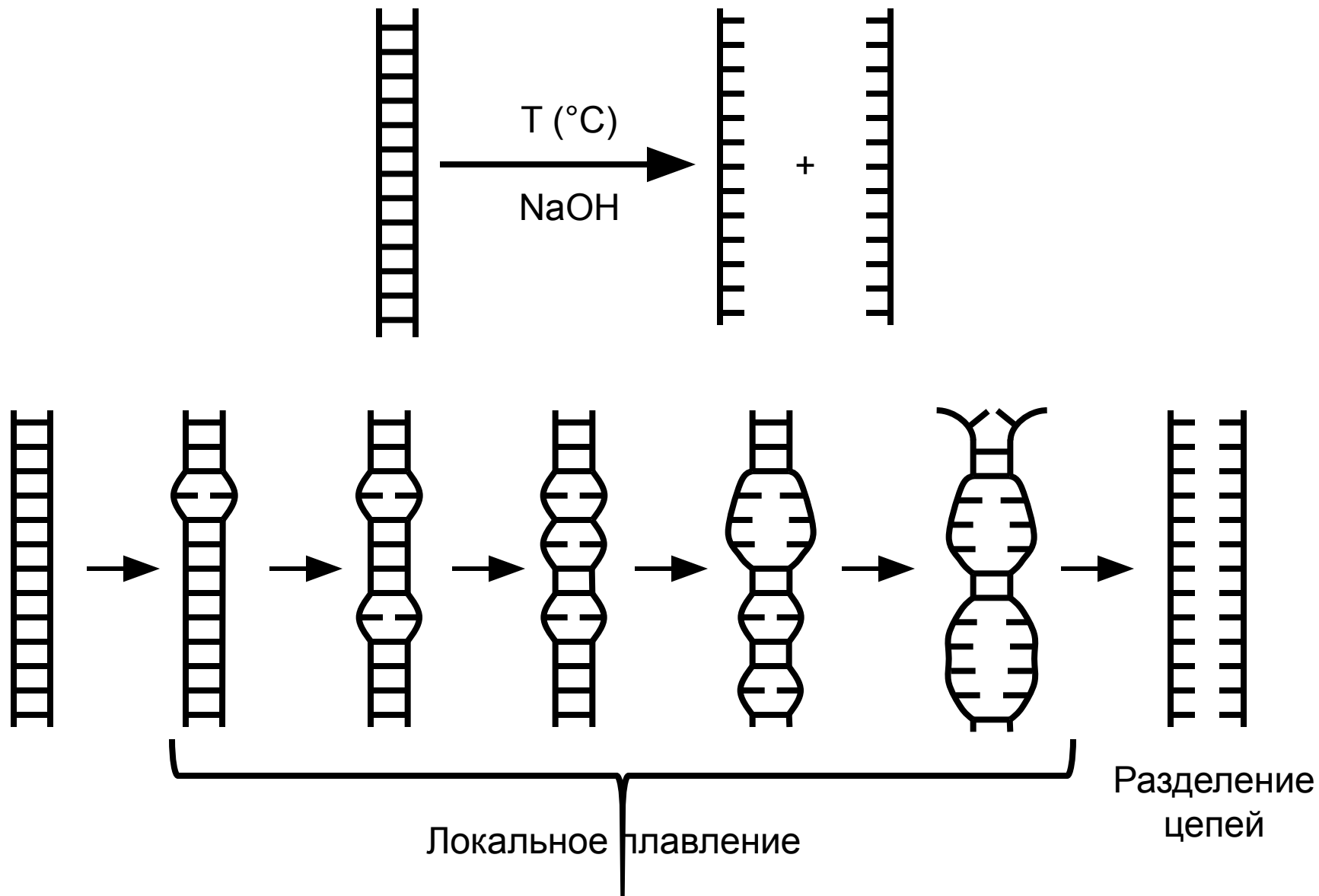
Синтетический олигонуклеотид с нестабильными концами



Синтетический олигонуклеотид со стабильными концами



Плавление (денатурация) ДНК

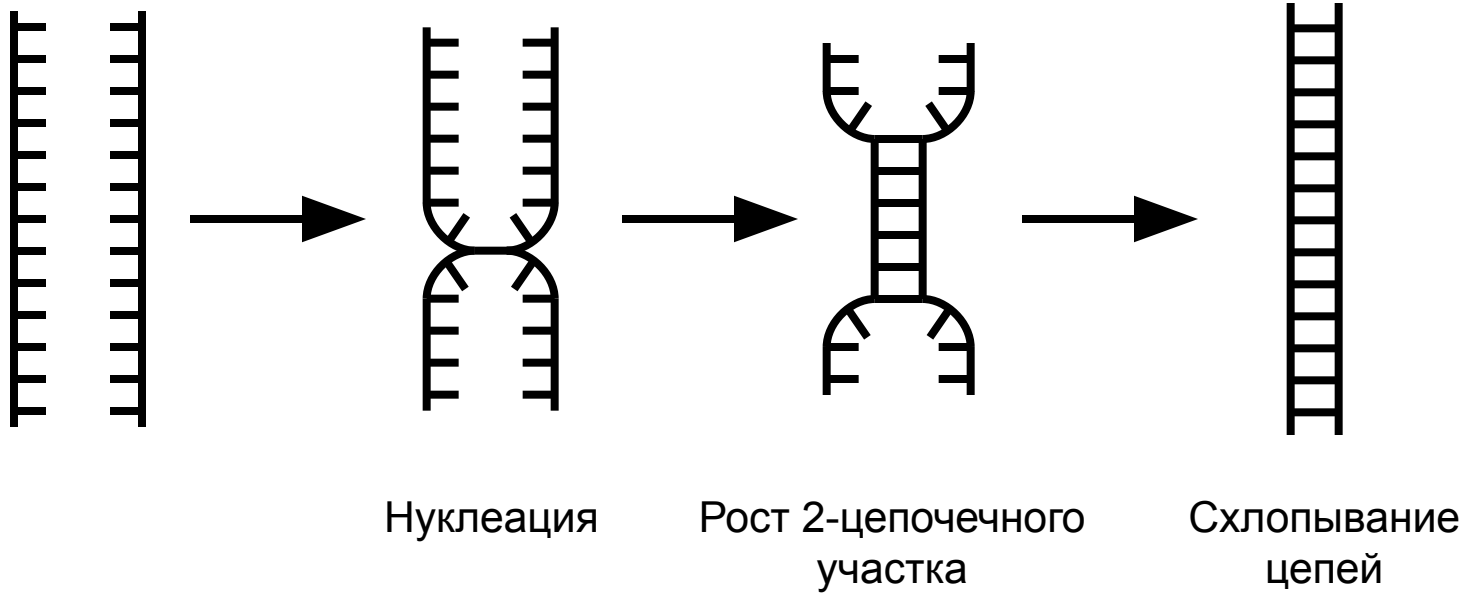


Плавление (денатурация) ДНК



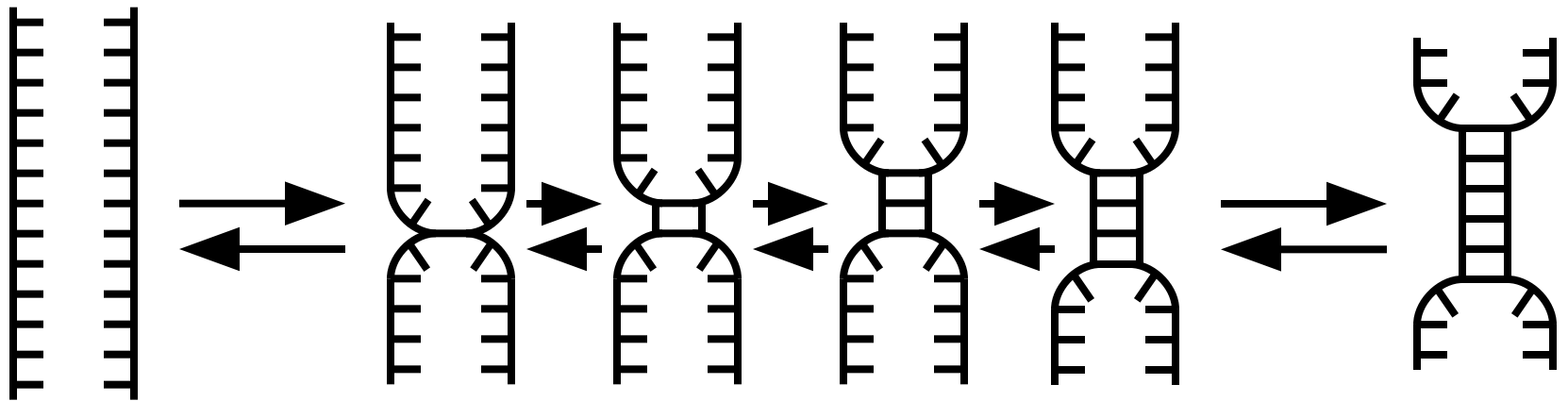
ДНК из локуса рибосомных генов, частично денатурированная щелочью (очищенная электронная микрофотография)

Реассоциация (ренатурация) ДНК



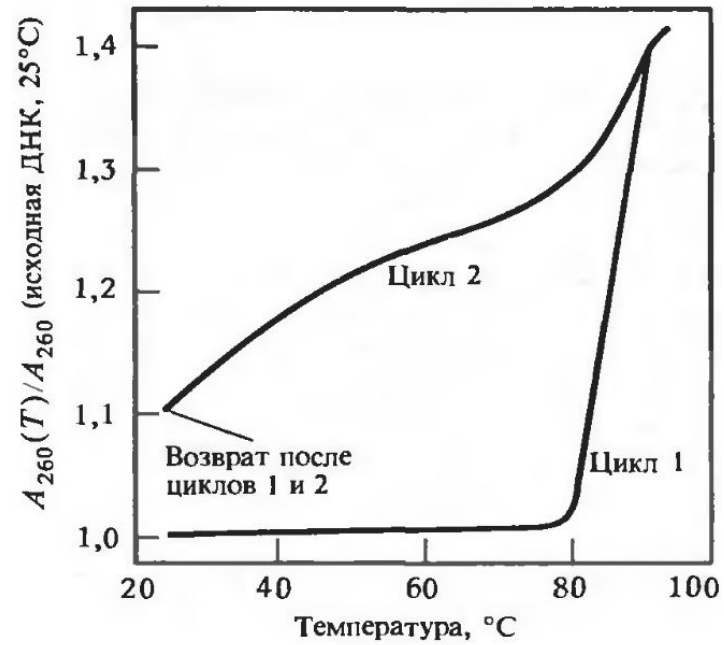
Реассоциация (ренатурация) ДНК

Нуклеация



Рост 2-цепочечного участка

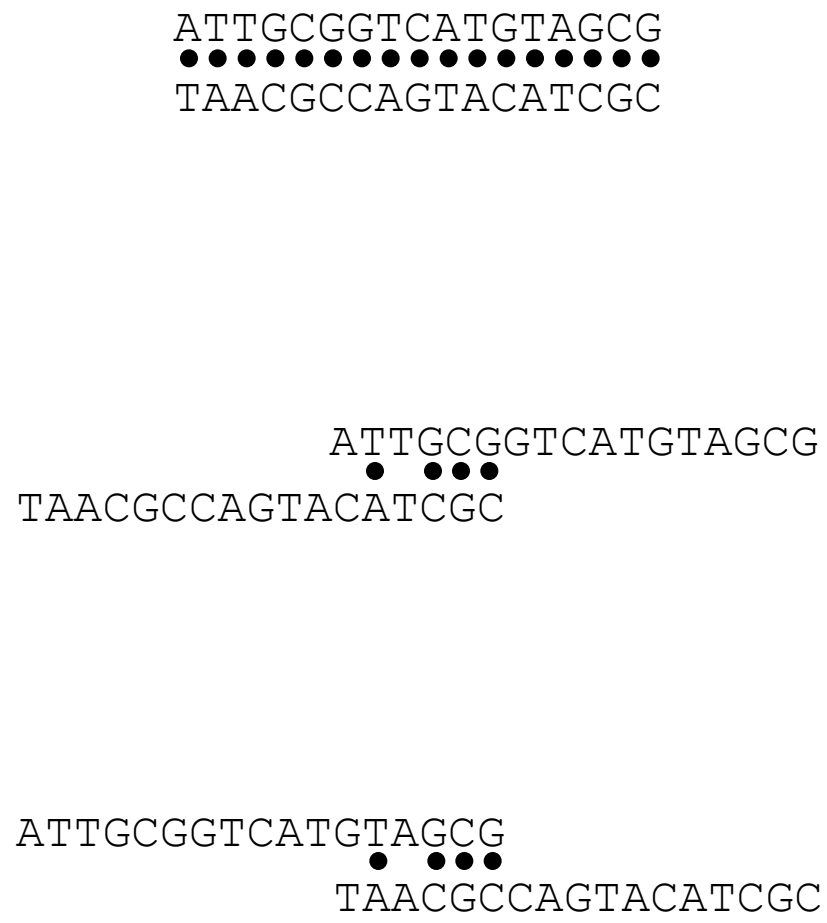
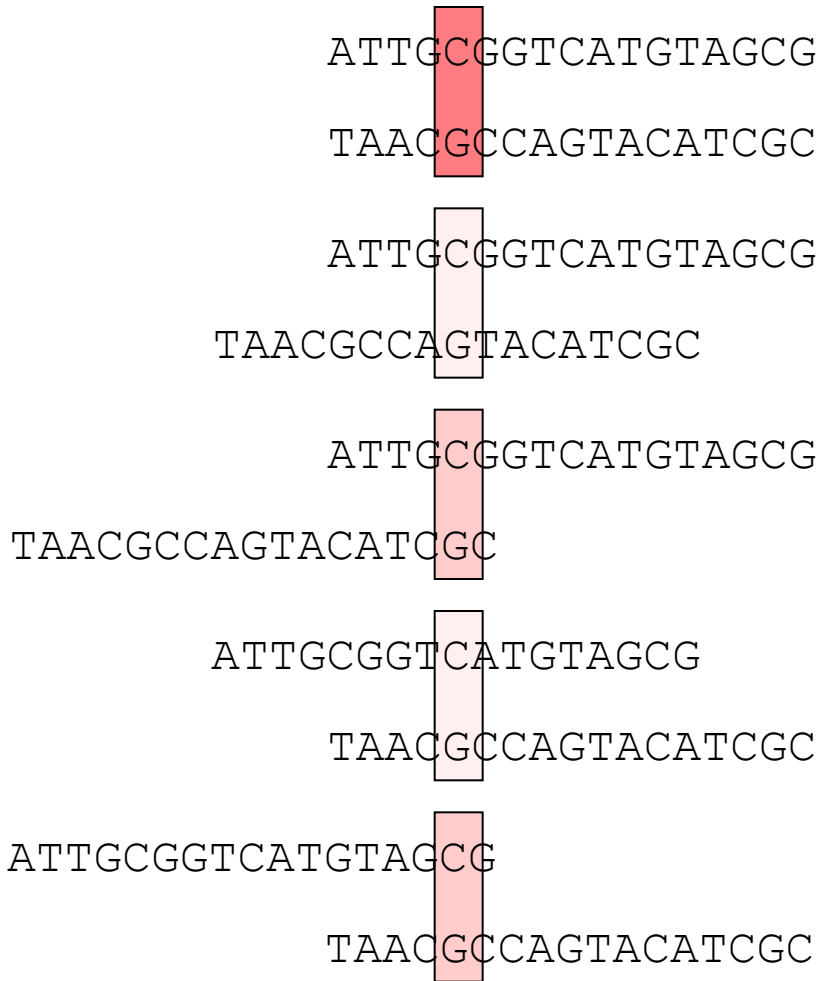
Реассоциация (ренатурация) ДНК



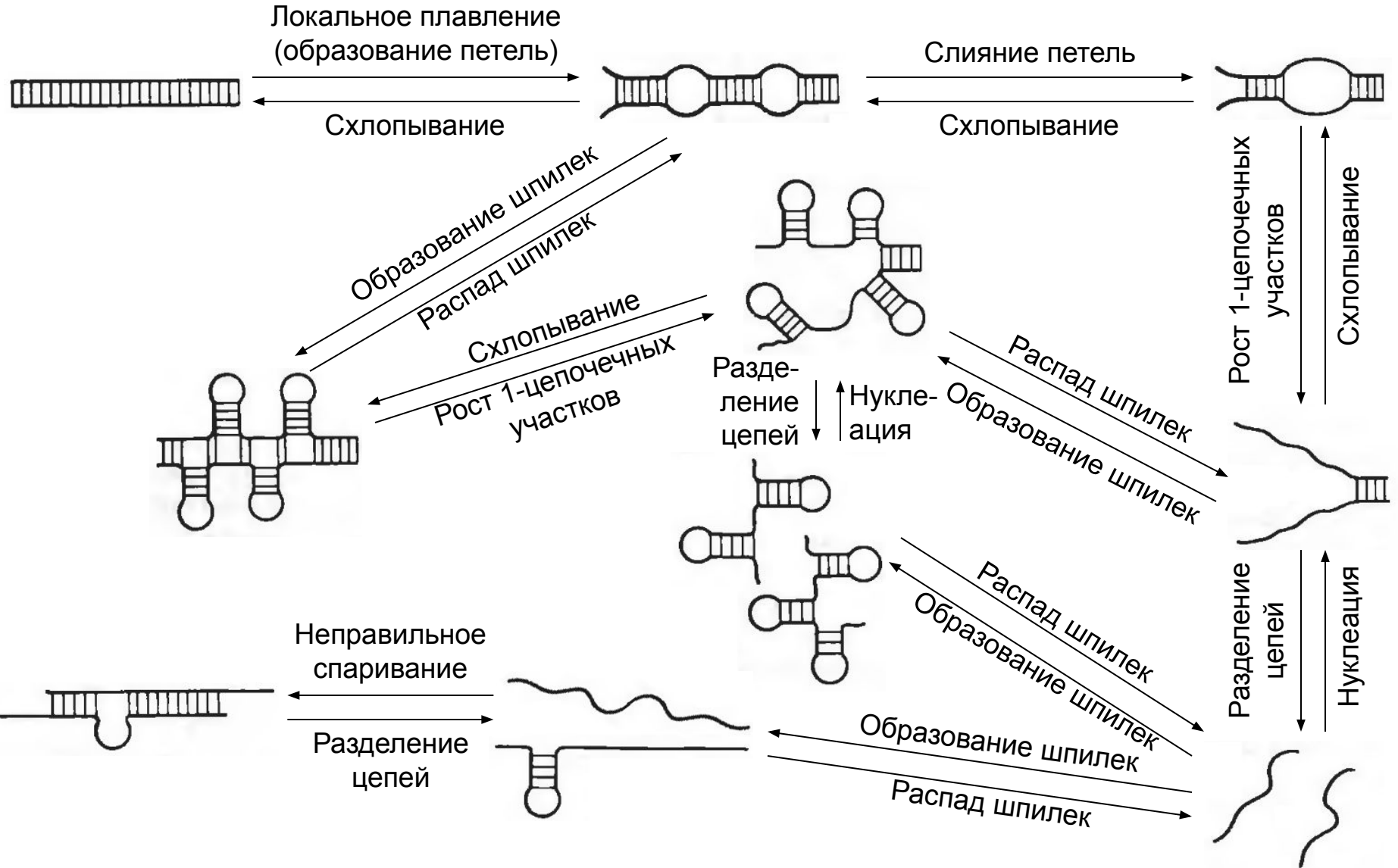
Результат быстрого охлаждения ДНК
после денатурации

Реассоциация (ренатурация) ДНК

АТТГСГГТСАТГТАГСГ
+
ТААСГССАГТАСАТСГС



Реассоциация (ренатурация) ДНК



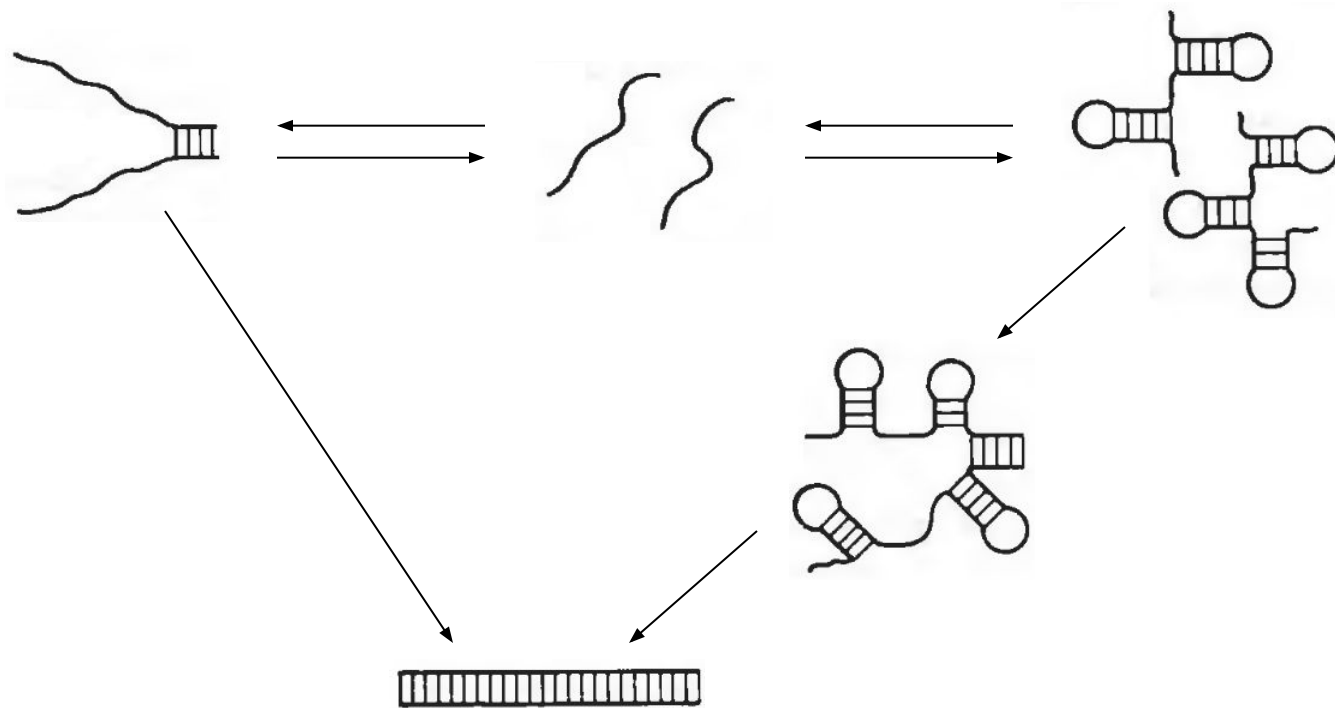
Структуры ДНК при температурах, близких к T_m

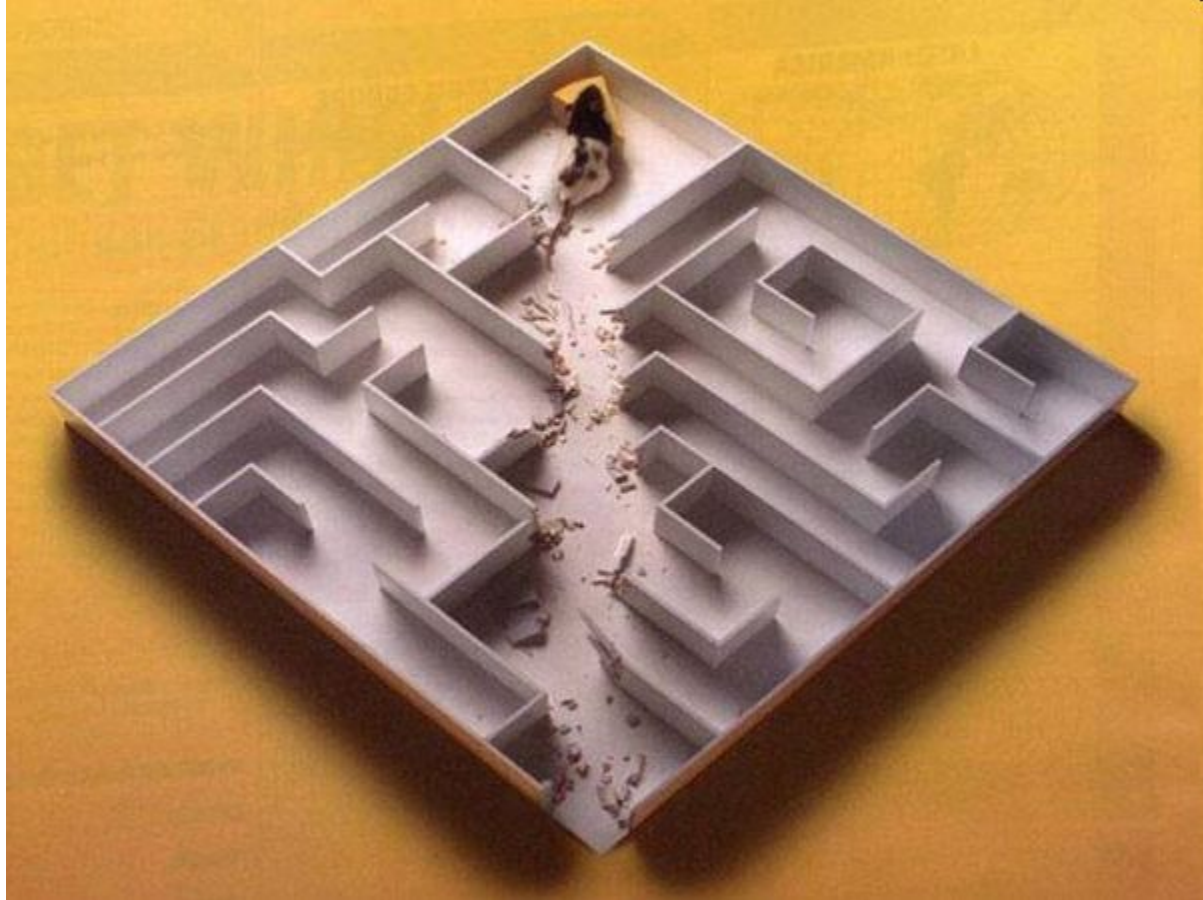
Реассоциация (ренатурация) ДНК

Отжиг– нагрев и медленное охлаждение

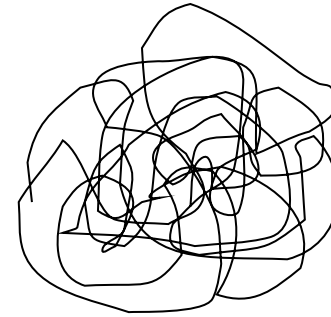
T_a – температура отжига ($a = \text{“annealing”}$)

$T_a \approx T_m - 5 \text{ (}^\circ\text{C)}$



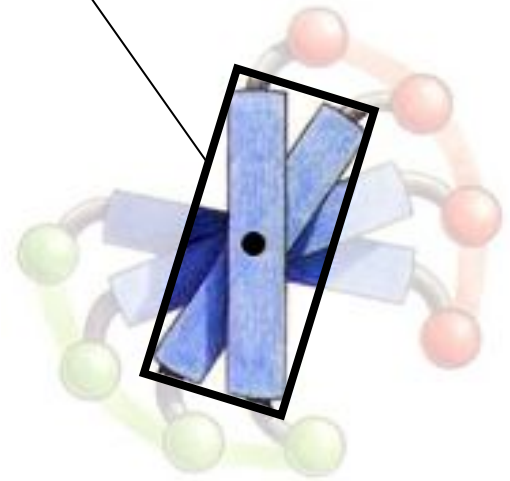
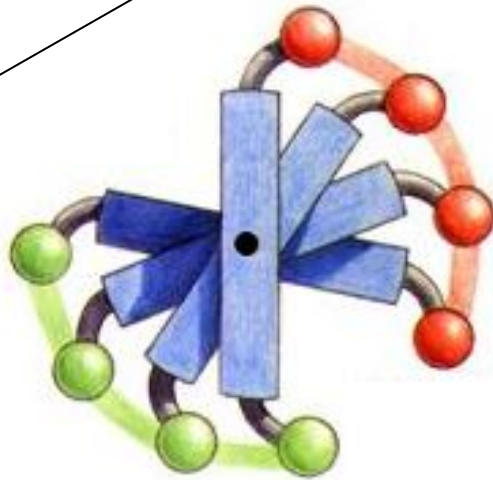
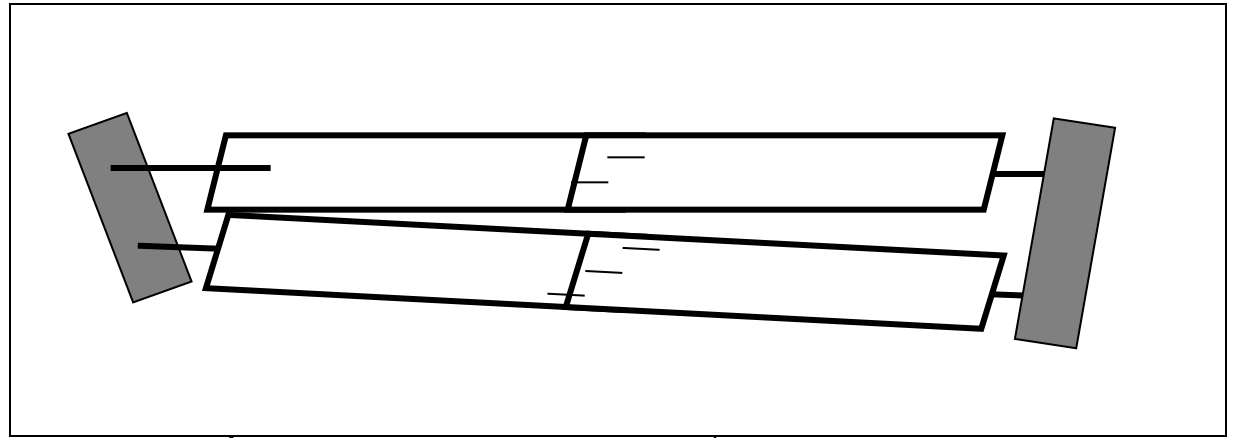
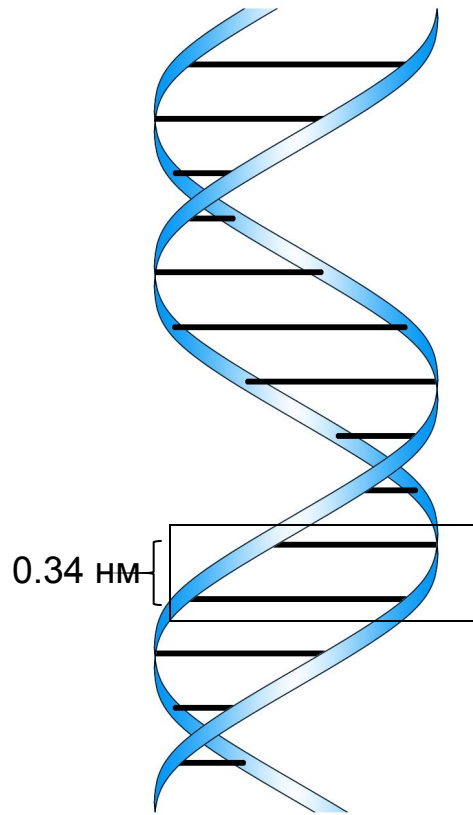


Гибкость ДНК

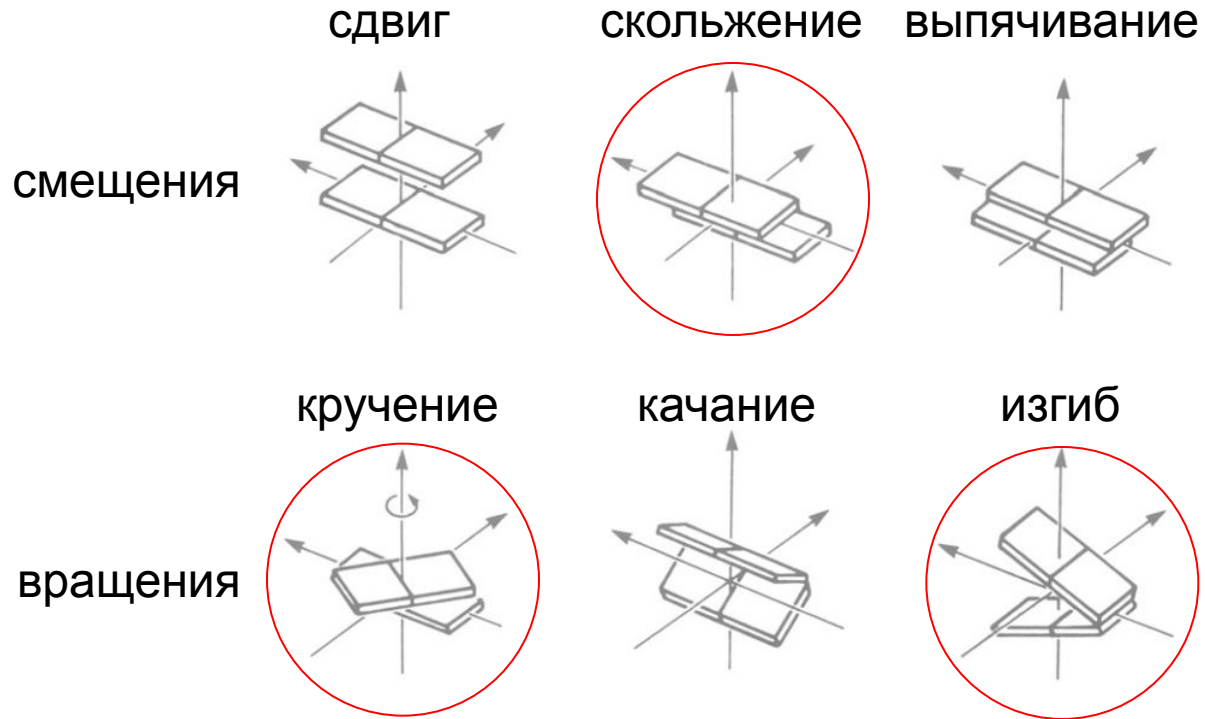


В растворе молекула ДНК представляет собой хаотичный клубок

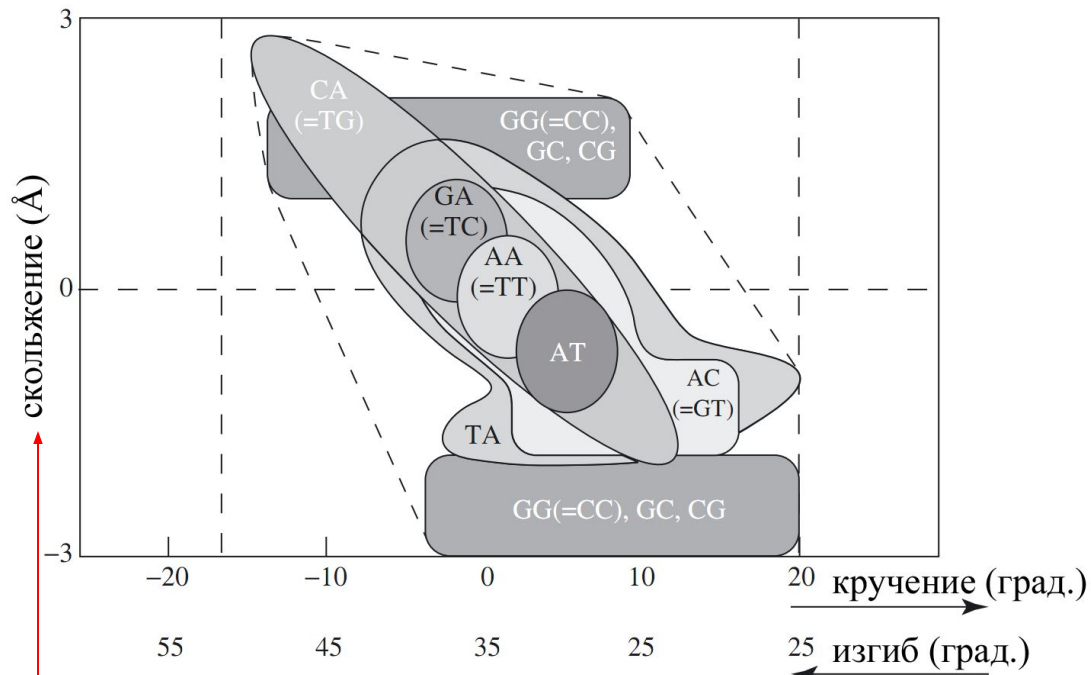
Шаг пары оснований



Конформации шага пары оснований

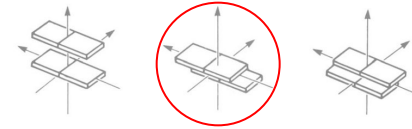


Конформационная подвижность шага пар оснований

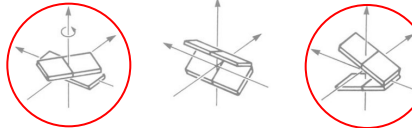


Конформационные диапазоны шагов пар оснований

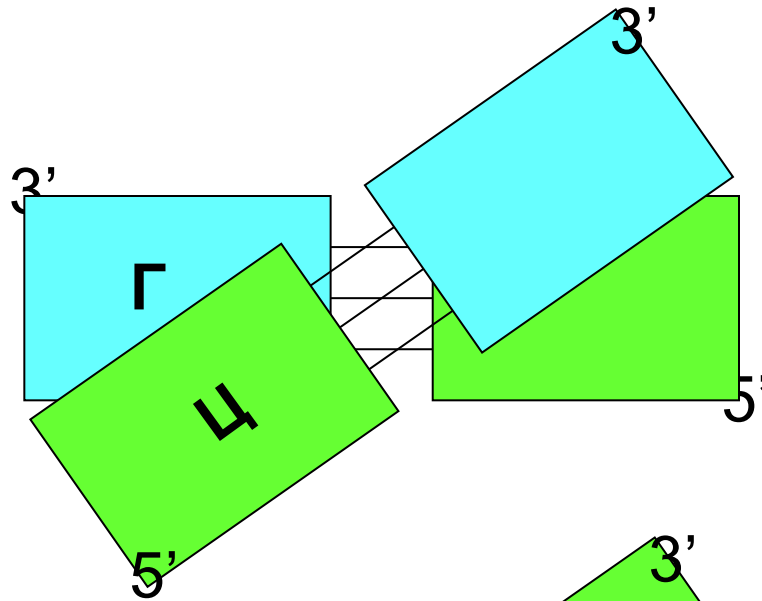
сдвиг скольжение выпячивание



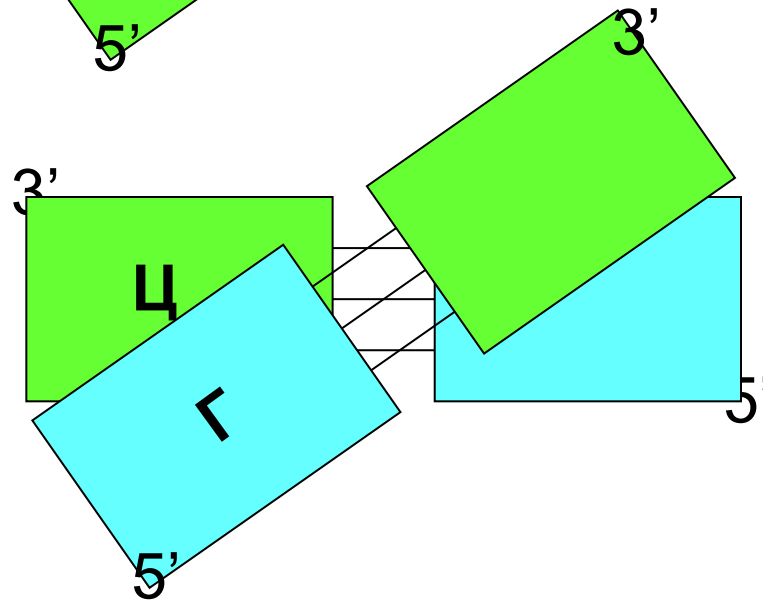
кручение качание изгиб



Подвижность шага пар оснований

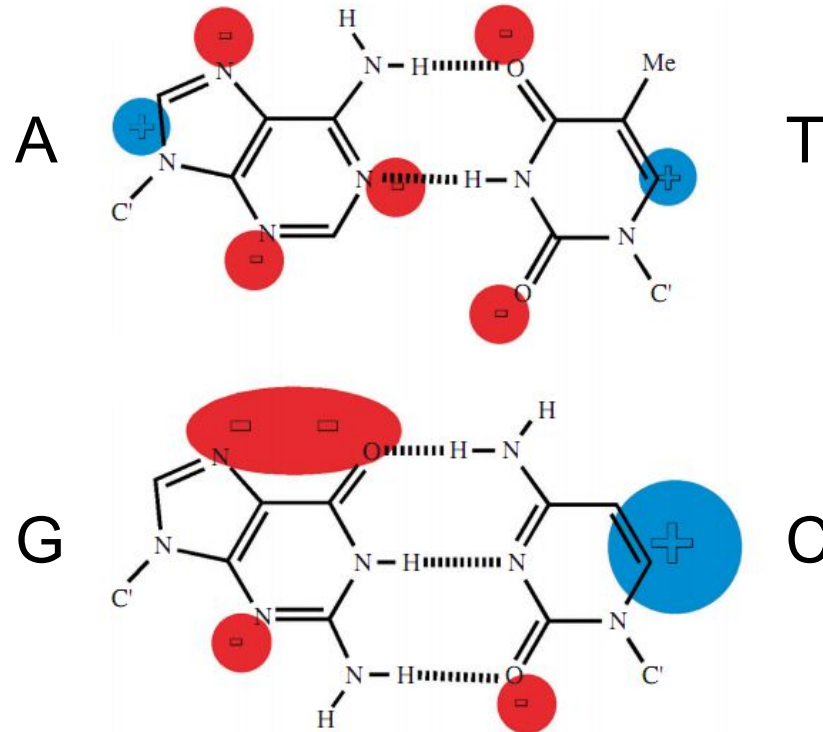


Шаг C-G

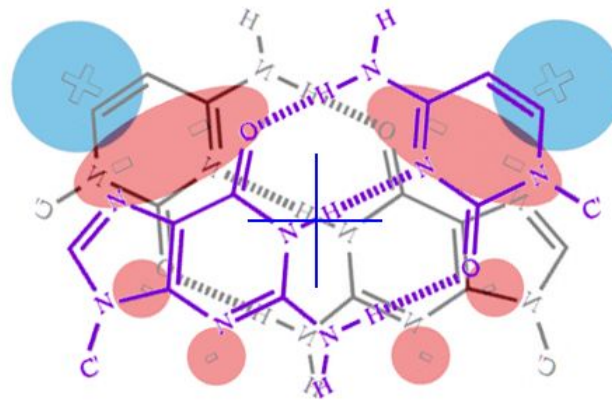
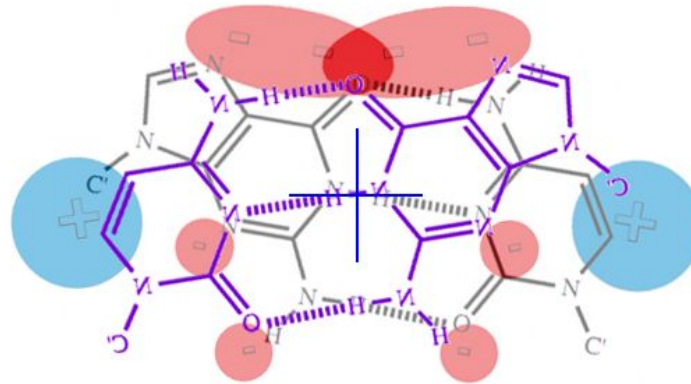


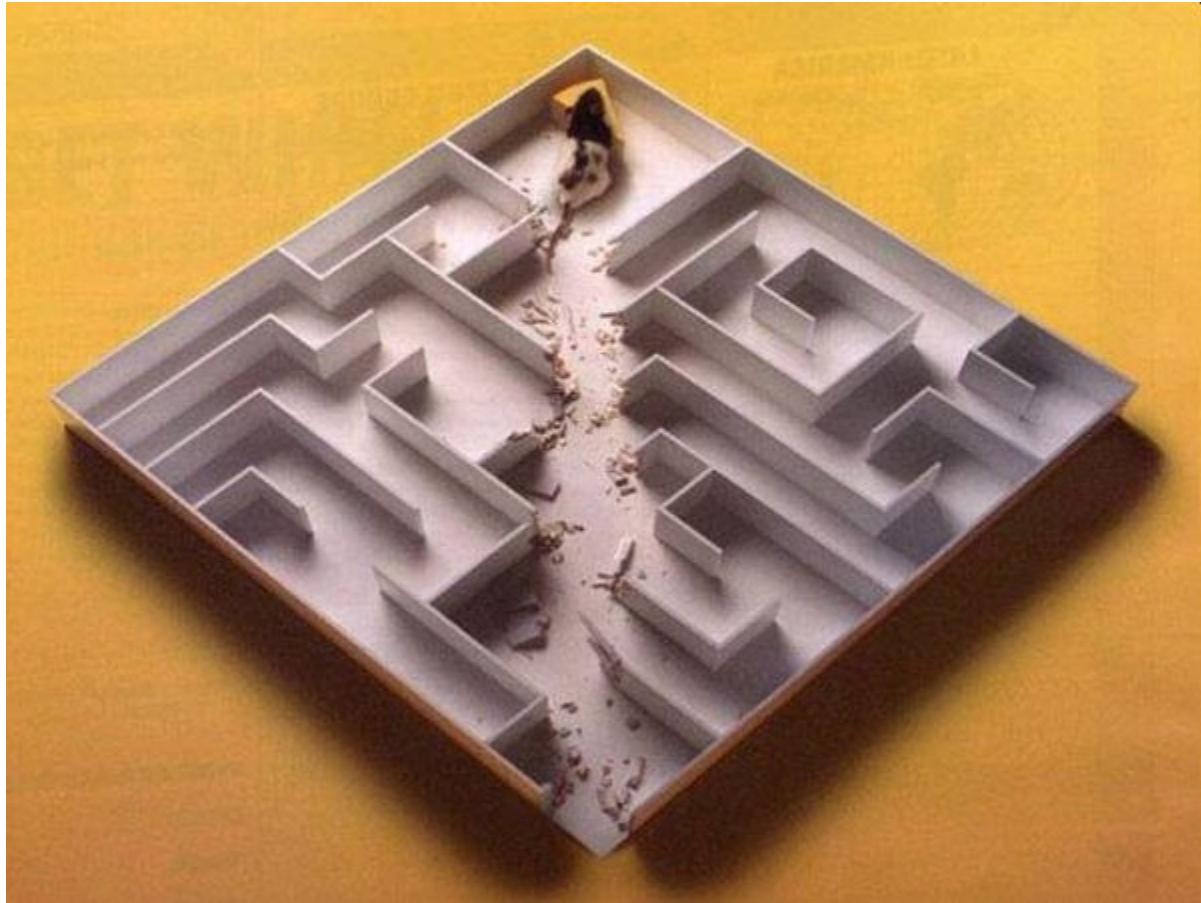
Шаг G-C

Электронная конфигурация пар оснований



Электронные конфигурации шагов пар оснований

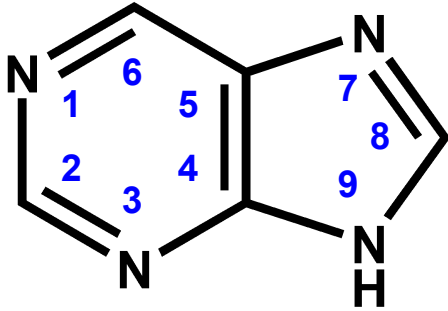




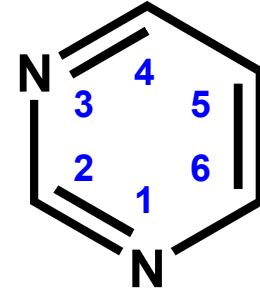
РНК

Первичная структура

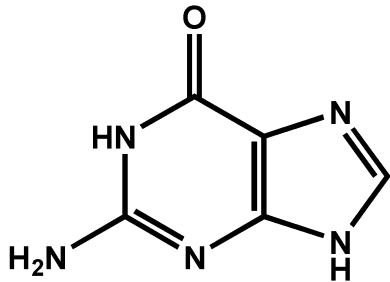
Азотистые основания



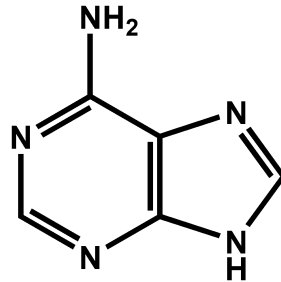
Пурин



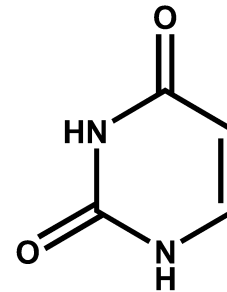
Пиримидин



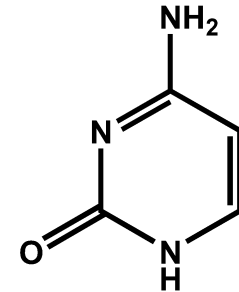
Гуанин



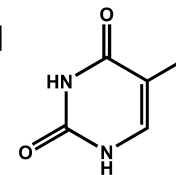
Аденин



Урацил



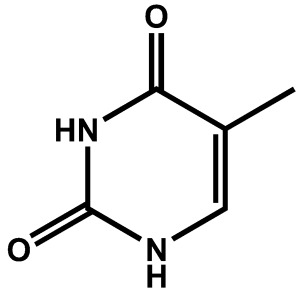
Цитозин



Тимин

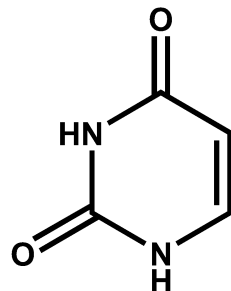
Различия в биологических свойствах урацила и тимина

ДНК

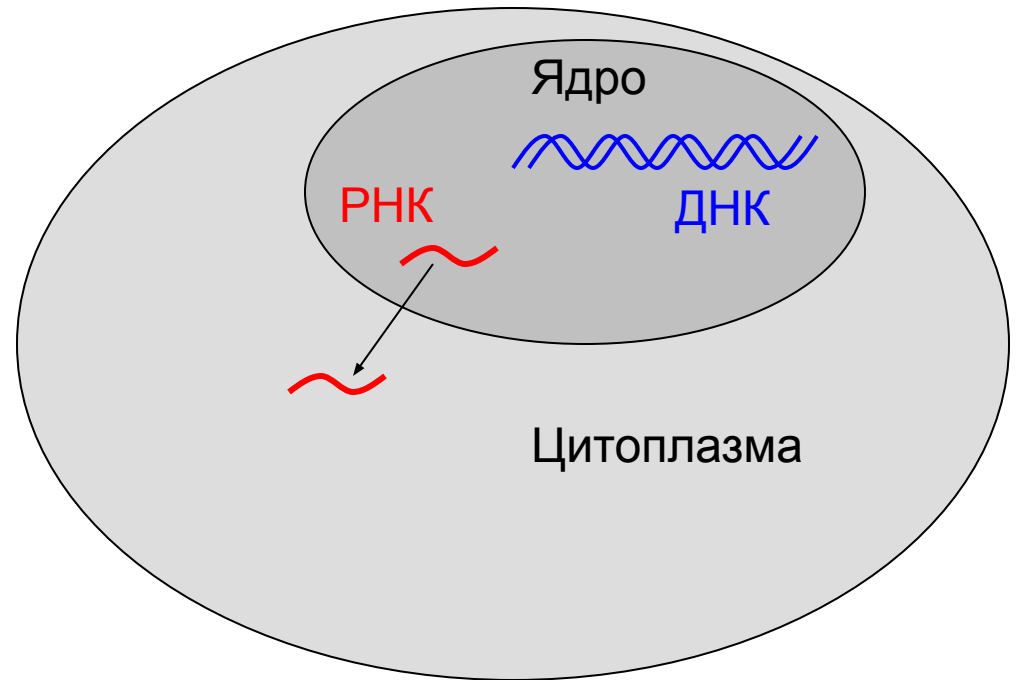


Тимин
(5-метилурацил)

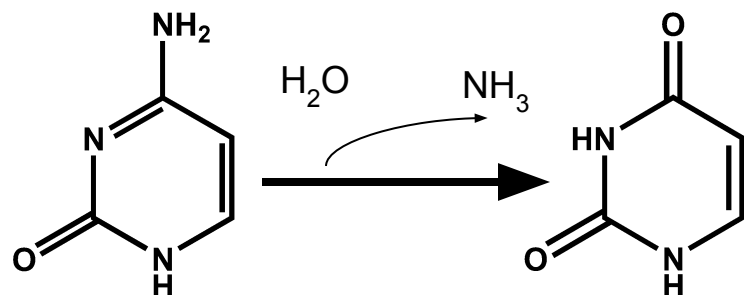
РНК



Урацил



Различия в биологических свойствах урацила и тимина



ЦИТОЗИН

AUUGCUCGAUGCUCGUUAG
•••••
UAACGAGCUACGAAGCAAUC

A
AUUGCUCGAUGCUCUUGUUAG
•••••
UAACGAGCUACGAAGCAAUC

AUUGCUCGAUGCUCUUGUUAG
•••••
UAACGAGCUACGAAACAUC
A

AUUGCUCGAUGCUCGUUAG
•••••
UAACGAGCUACGAAGCAAUC
A

ATTGCTCGATGCTTCGTTAG
•••••
TAACGAGCTACGAAGCAATC

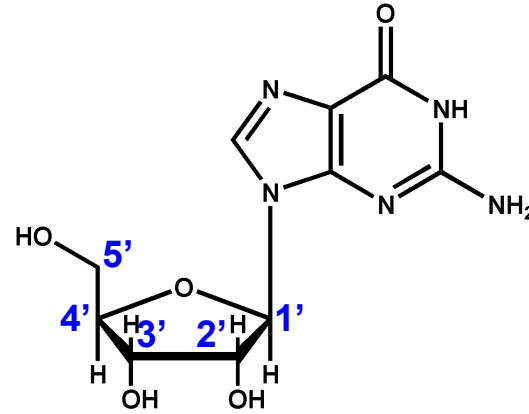
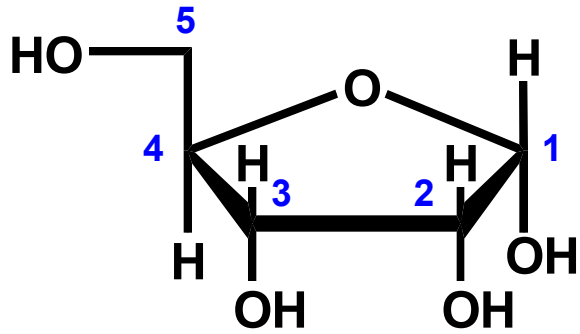
A
ATTGCTCGATGCTTUGTTAG
•••••
TAACGAGCTACGAAGCAATC

A
ATTGCTCGATGCTTCGTTAG
•••••
TAACGAGCTACGAAGCAATC

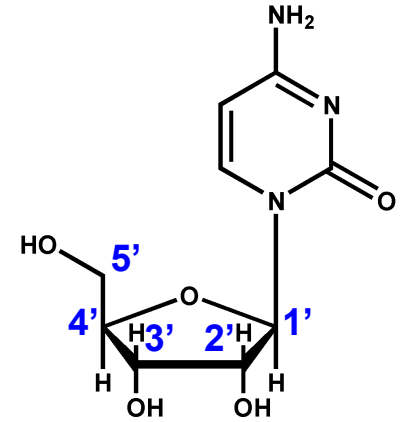
A

Рибоза

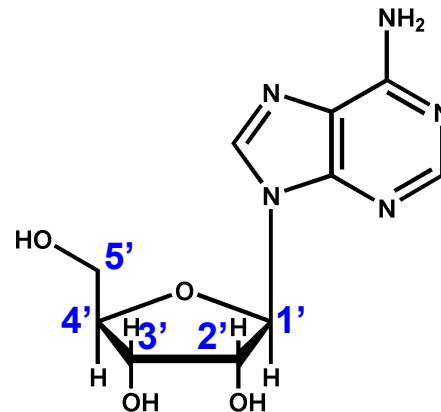
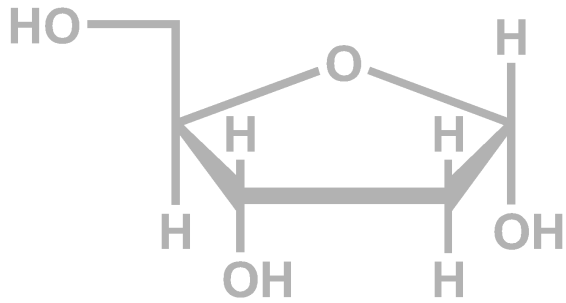
Нуклеозиды
(β -N-гликозиды)



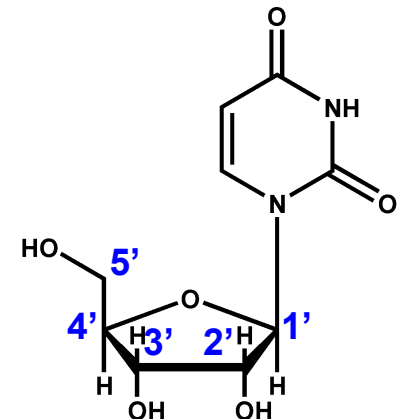
Гуанозин



Цитидин



Аденозин

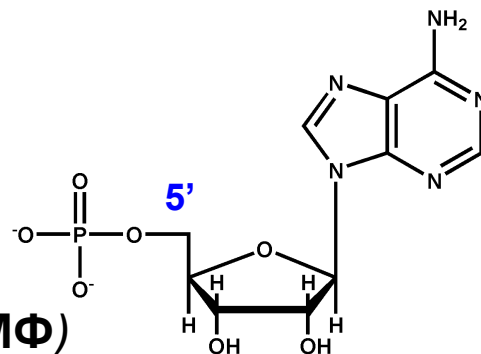


Уридин

Нуклеотиды - фосфорные эфиры нуклеозидов

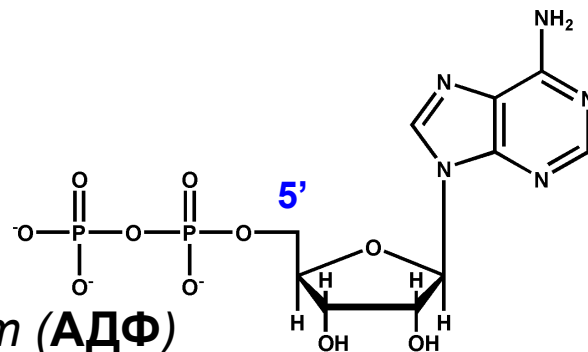
Эфиры ортофосфорной кислоты
нуклеозидмонофосфаты

Аденозин-5'-монофосфат (АМФ)



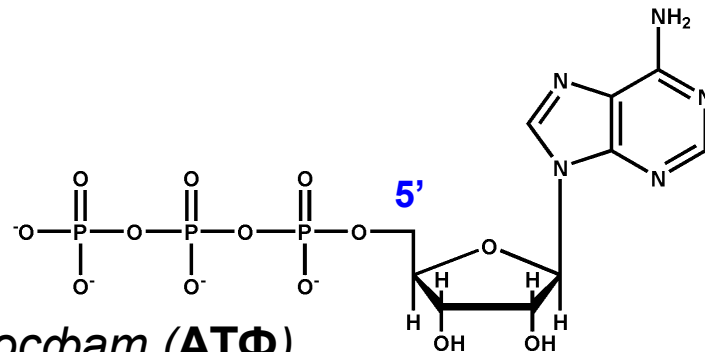
Эфиры пиродифосфорной кислоты
нуклеозиддифосфаты

Аденозин-5'-дифосфат (АДФ)



Эфиры триполифосфорной кислоты
нуклеозидтрифосфаты

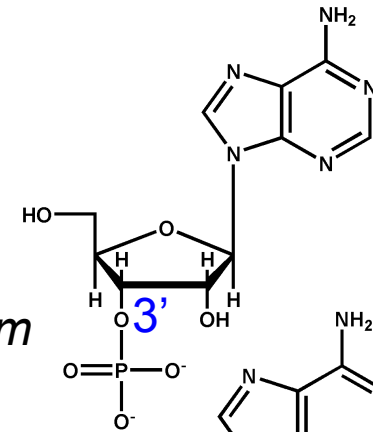
Аденозин-5'-трифосфат (АТФ)



Нуклеотиды - фосфорные эфиры нуклеозидов

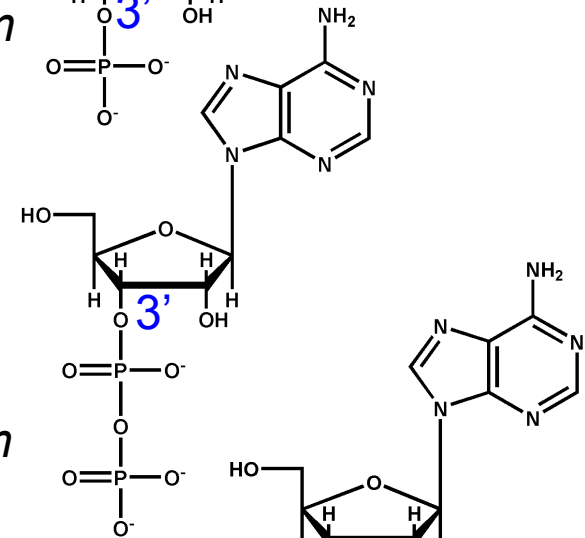
Эфиры ортофосфорной кислоты
нуклеозидмонофосфаты

Аденозин-3'-монофосфат



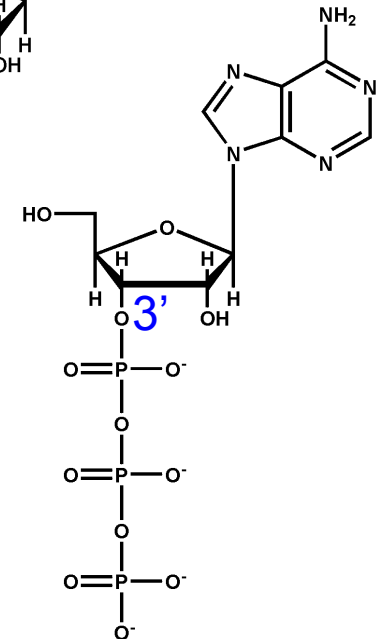
Эфиры пиродифосфорной кислоты
нуклеозиддифосфаты

Аденозин-3'-дифосфат



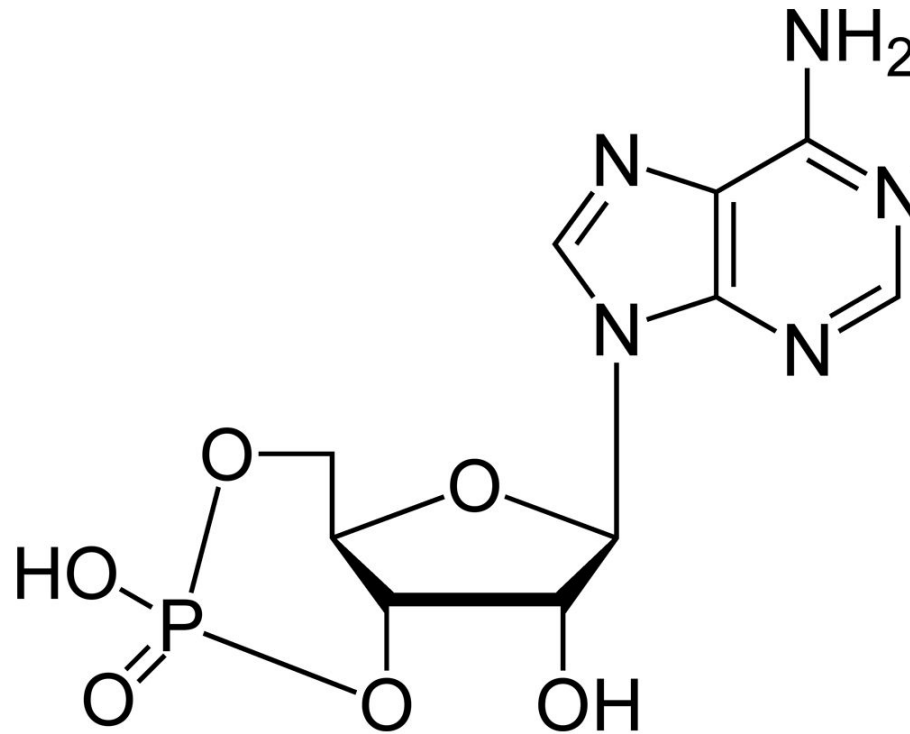
Эфиры триполифосфорной кислоты
нуклеозидтрифосфаты

Аденозин-3'-трифосфат

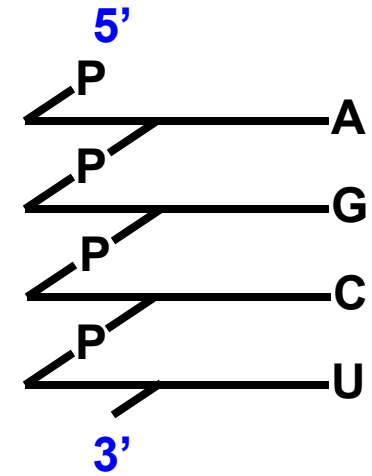
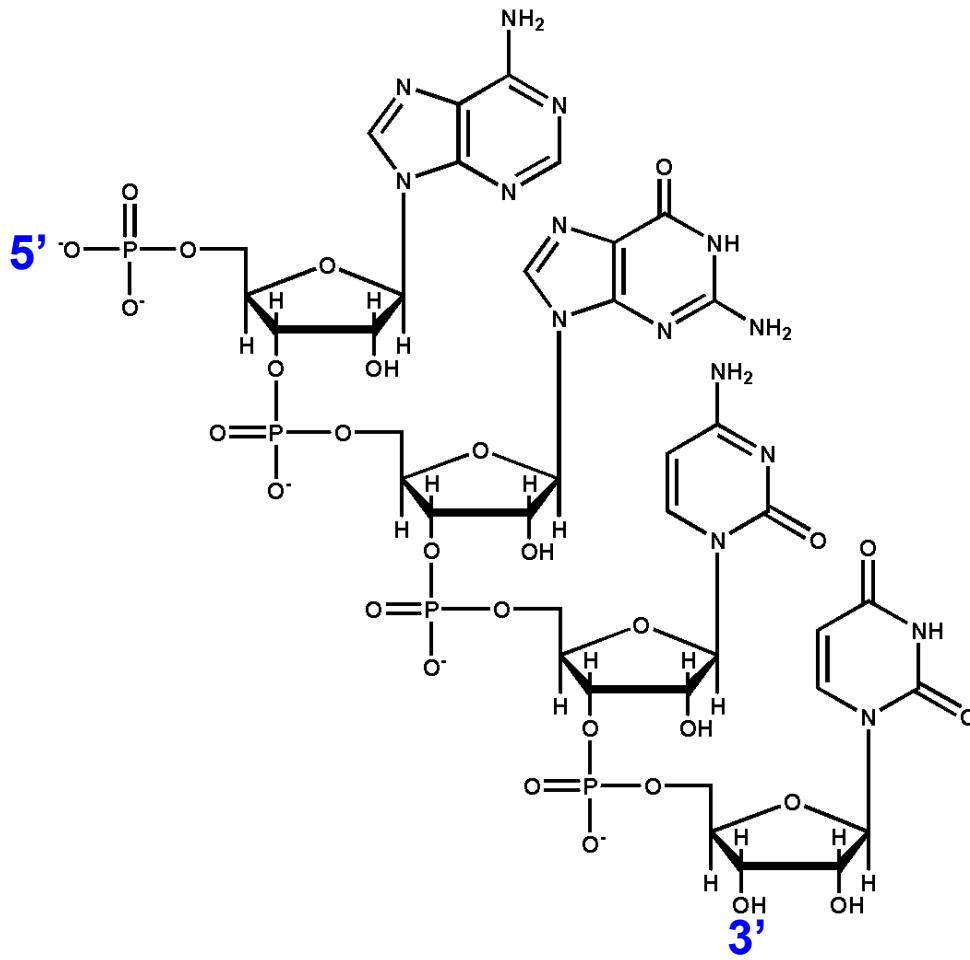


цАМФ

аденозин-3',5'-цикломонофосфат
3',5'-цикло-АМФ



Олигонуклеотиды и полинуклеотиды NpNpNpNpN...



5'-pApGpCpU-3'

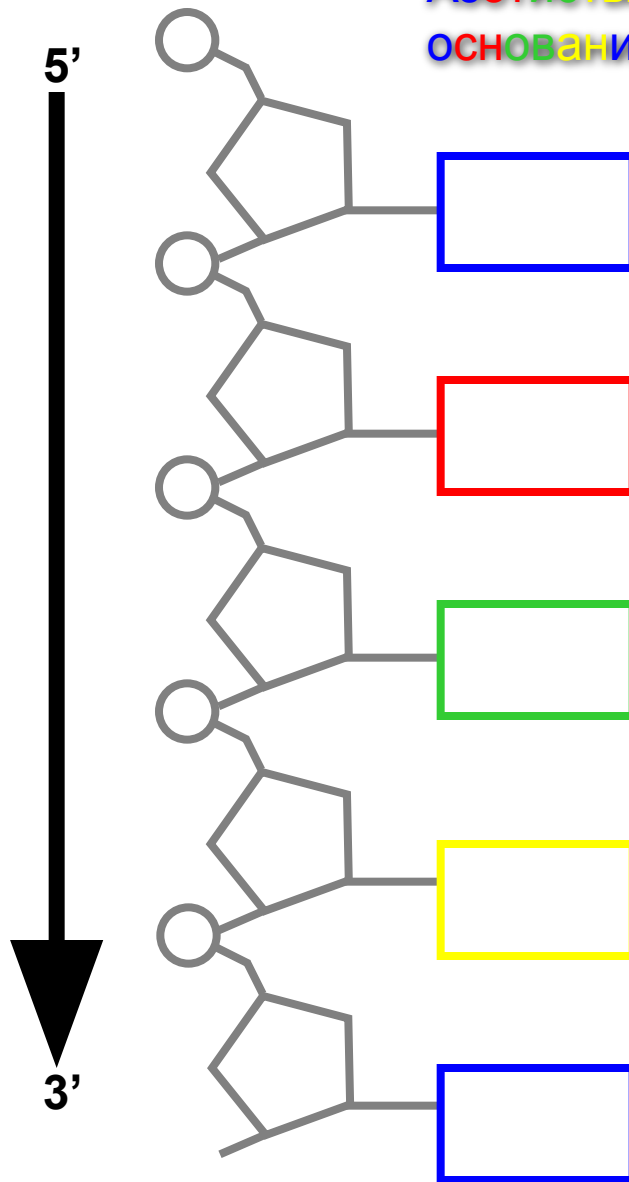
AGCU

Первичная структура РНК

Сахарофосфатный

ОСТОВ

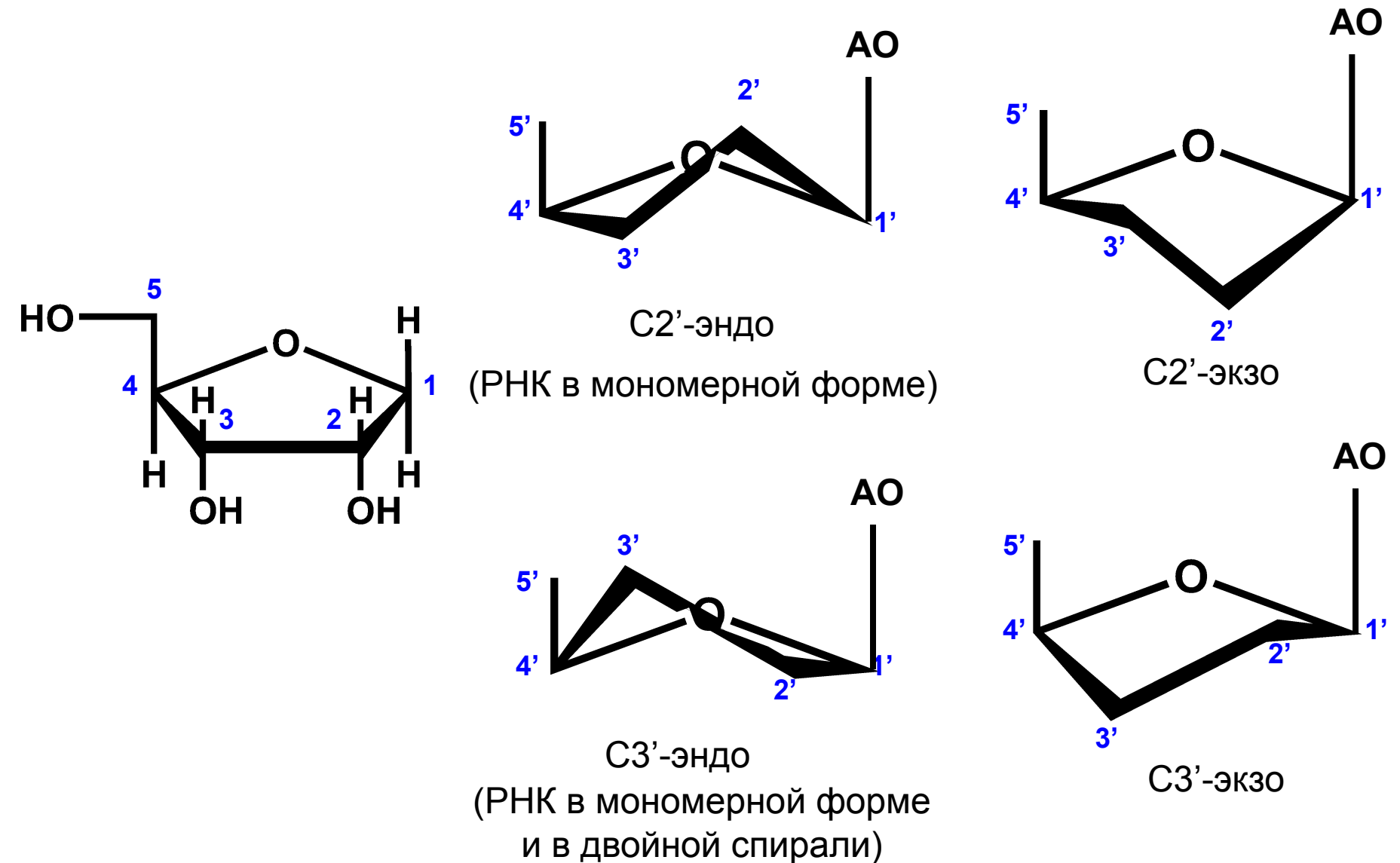
Азотистые
основания



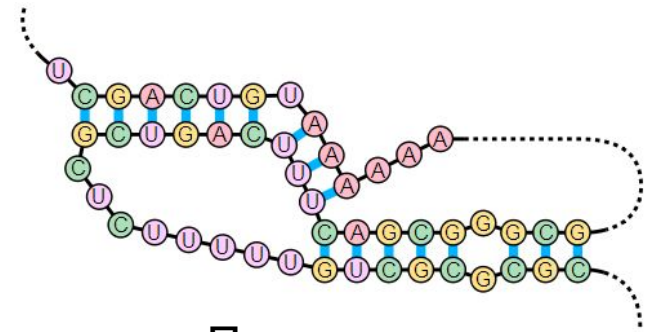
РНК

Вторичная структура

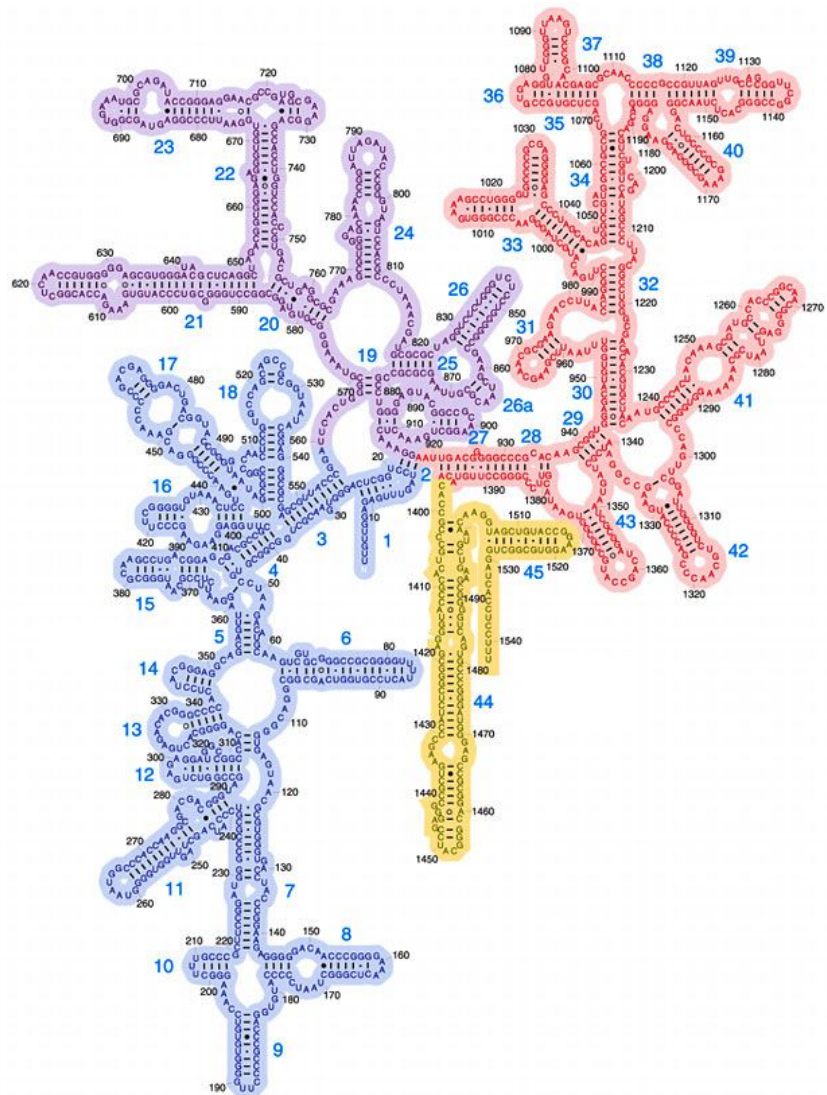
Конформации фуранозного кольца



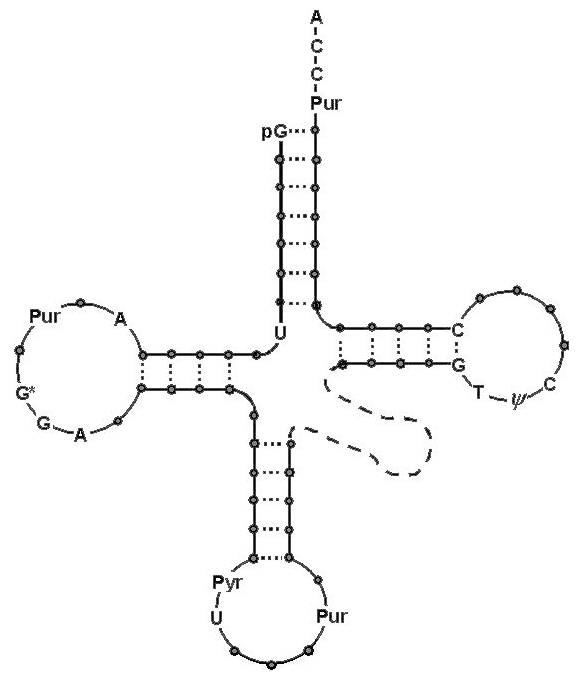
Внутрицепочечные шпильки



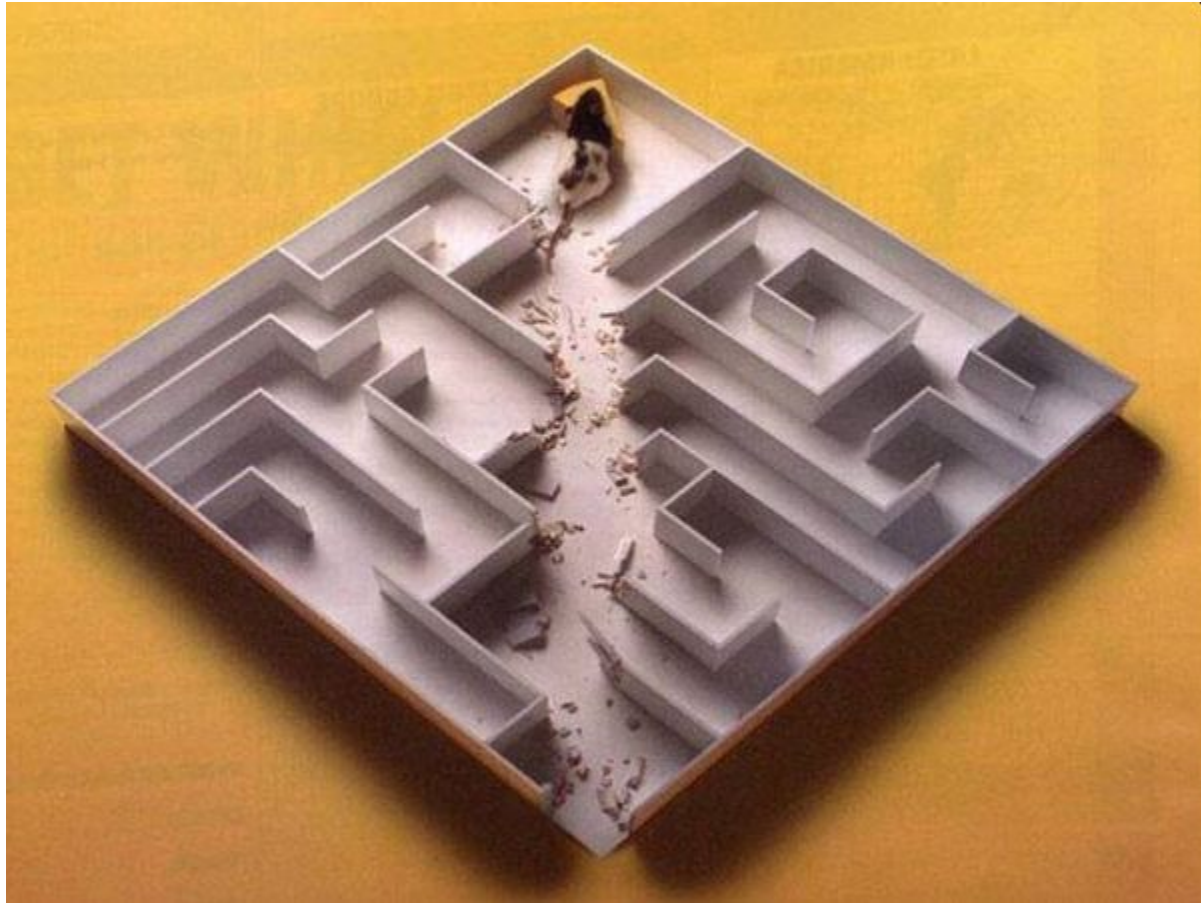
Псевдоузел



16S рРНК

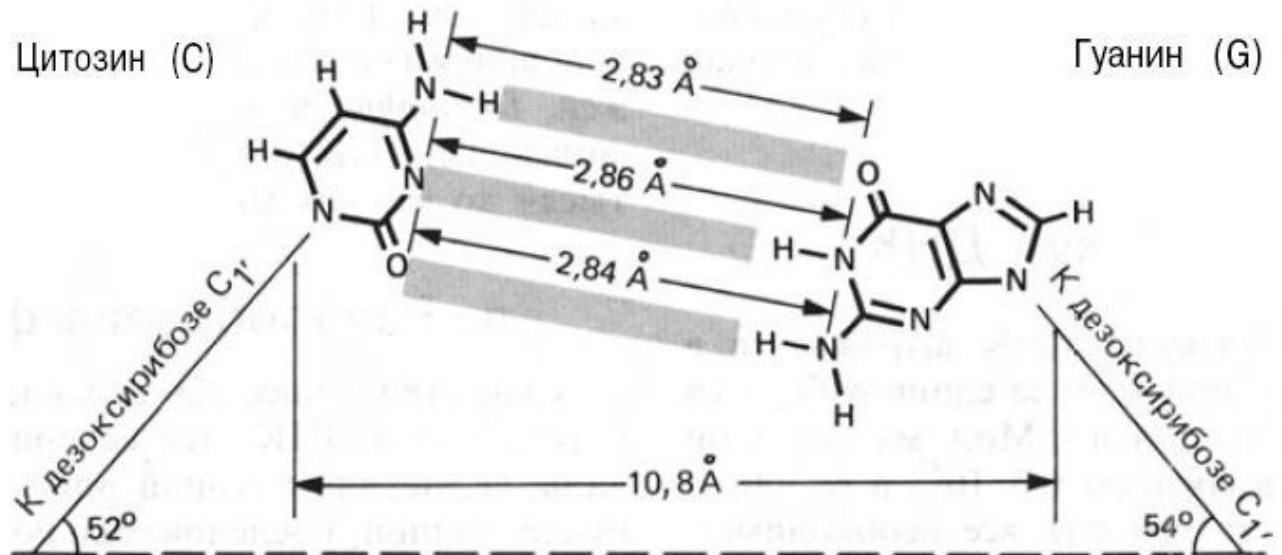
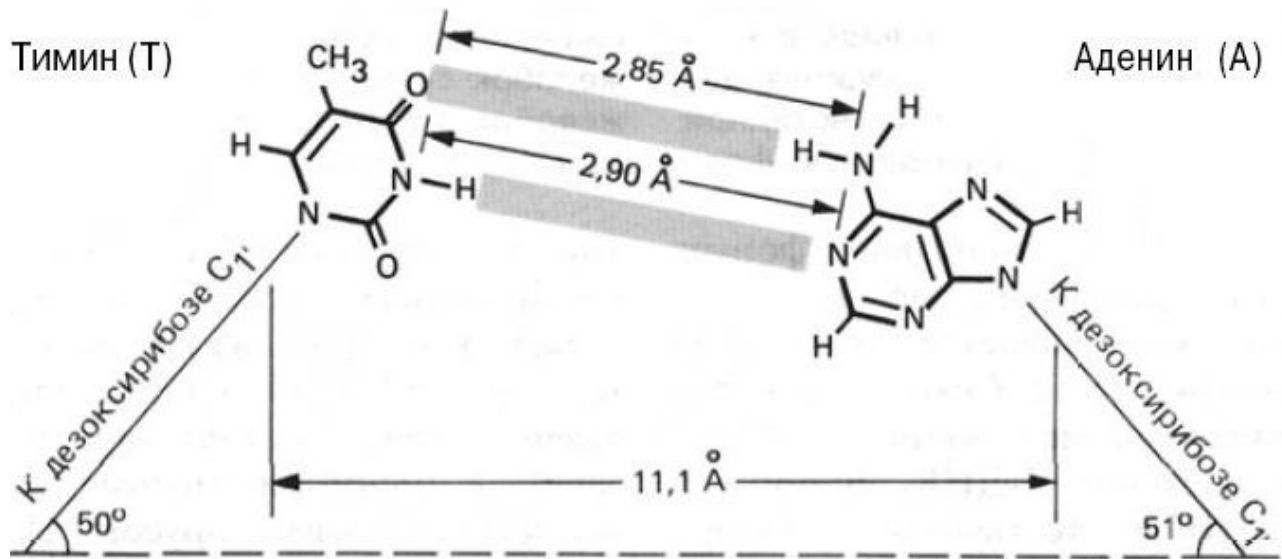


тРНК



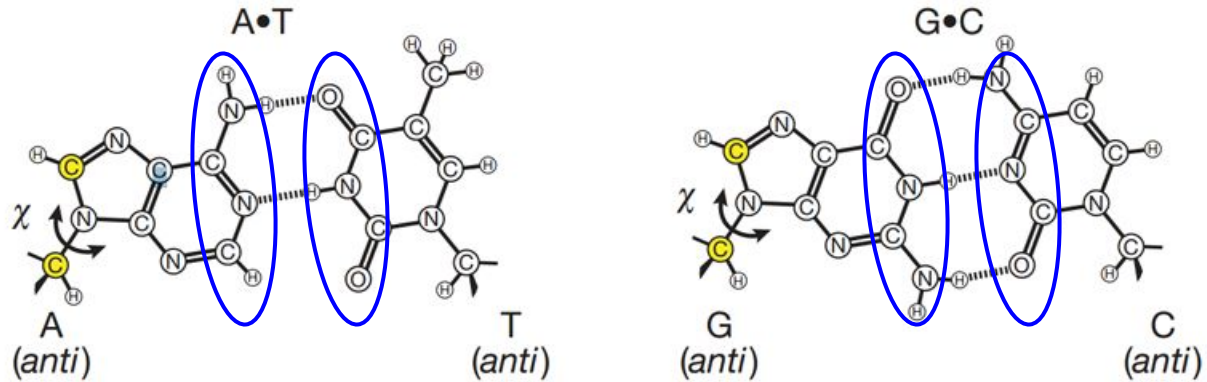
**Нестандартные вторичные
и третичная структура
нуклеиновых кислот**

Уотсон-криковские пары

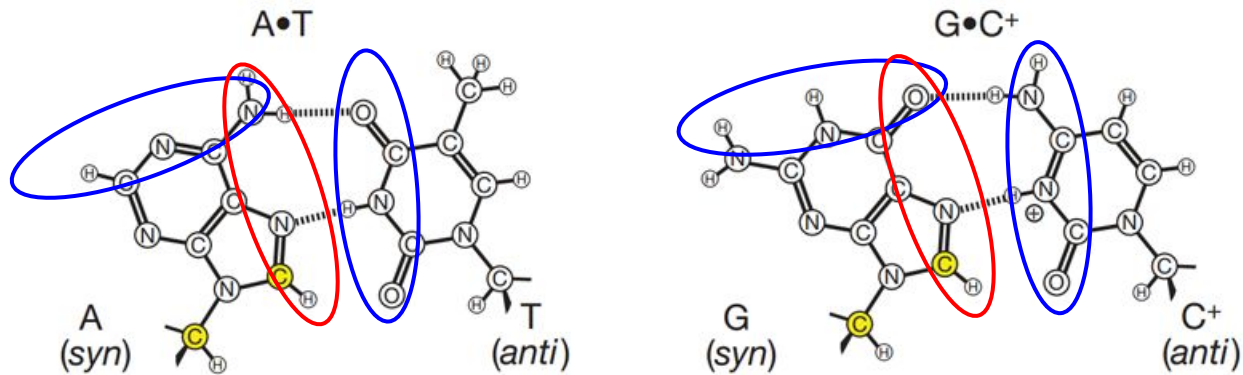


Хугстиновские пары

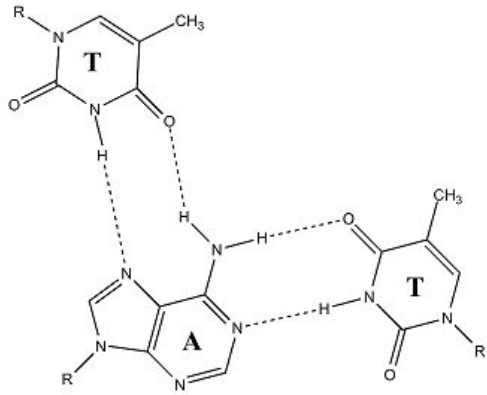
Уотсон-криковские пары



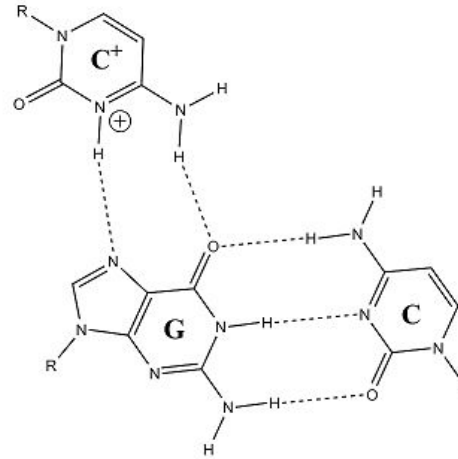
Хугстиновские пары



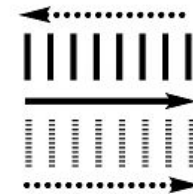
Триплекс в большом желобке



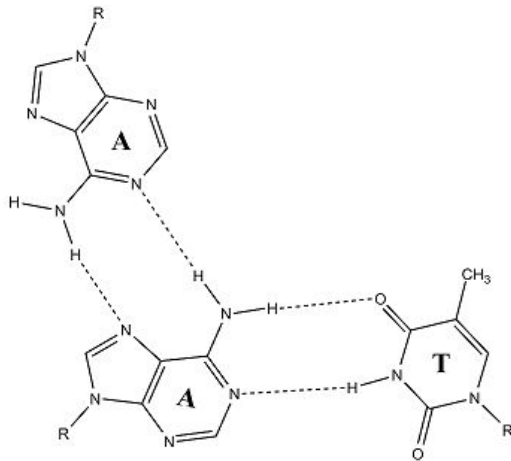
TA*T



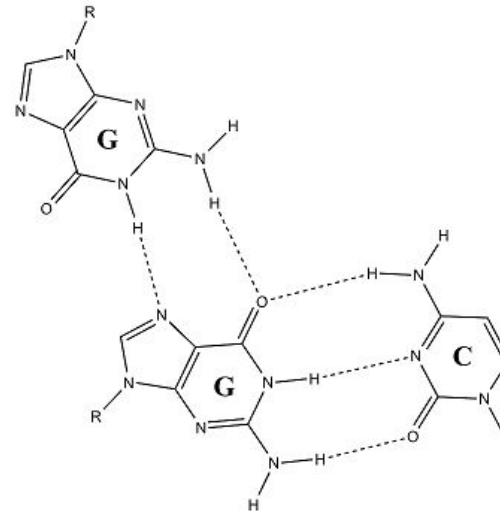
CG*C⁺



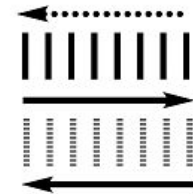
YR*Y



TA*A

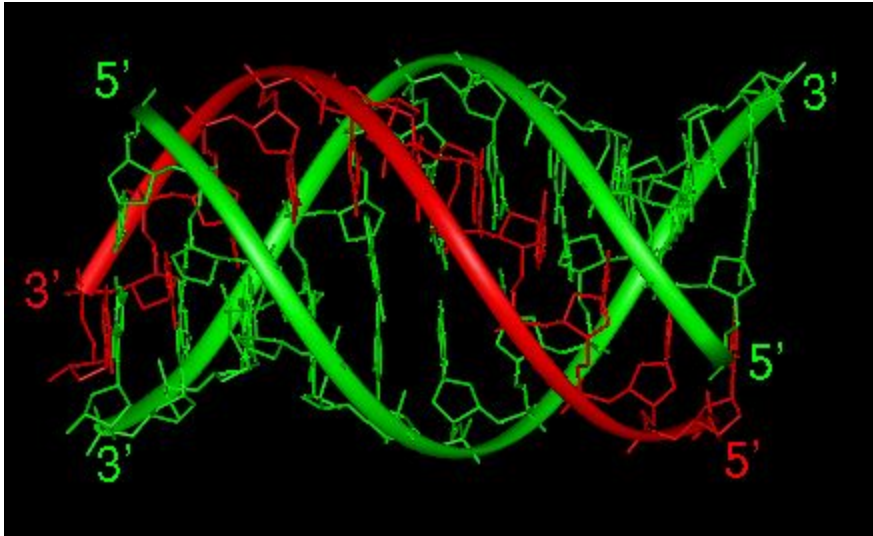


CG*G

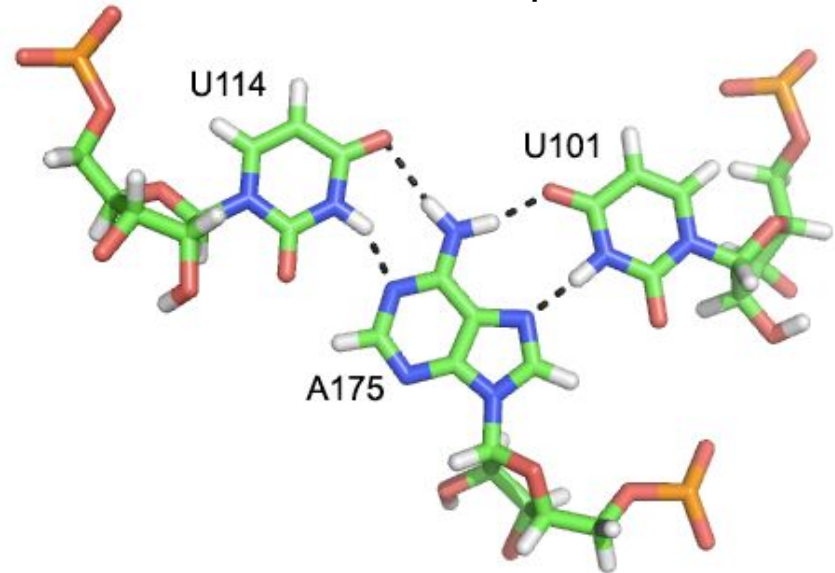


YR*R

Триплекс в большом желобке

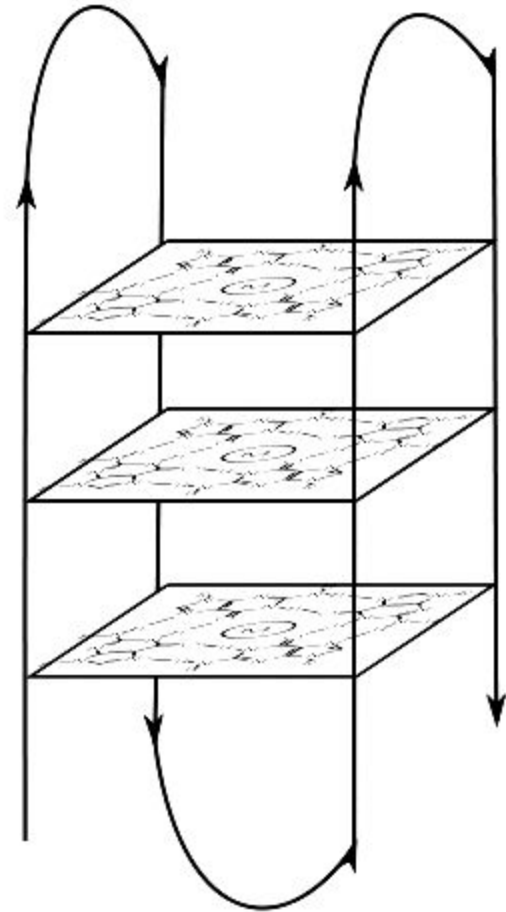
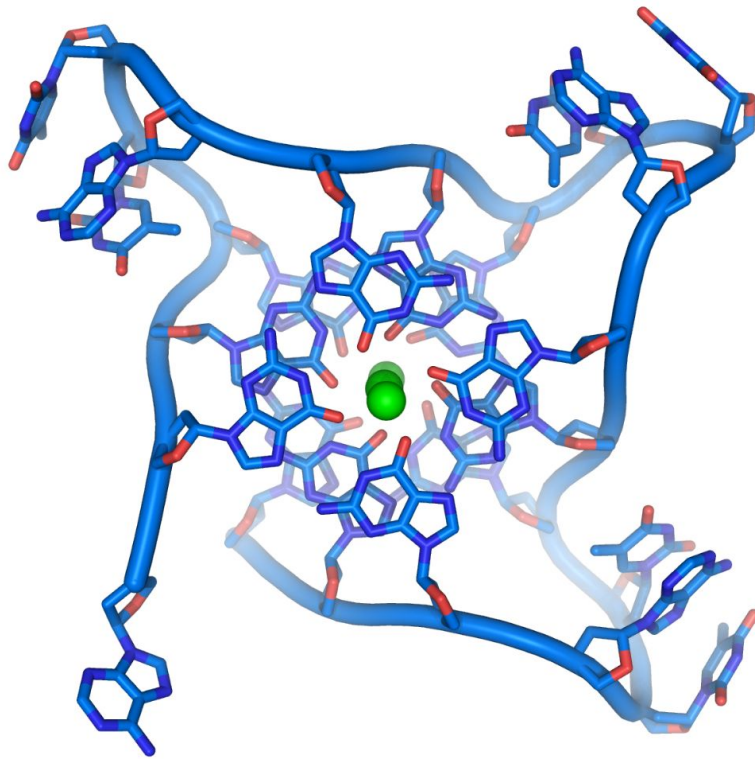


РНК Теломеразы



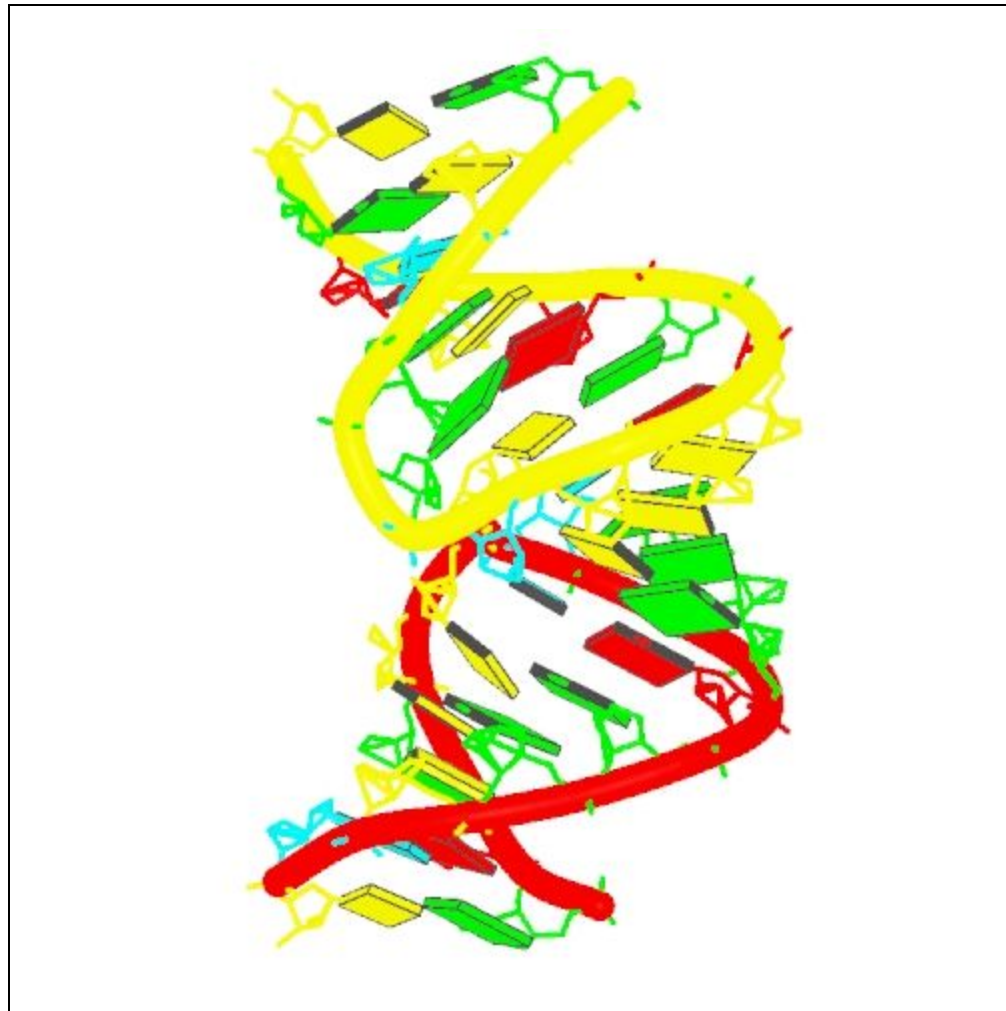
Квадруплекс

Теломерная ДНК



Целующиеся петли

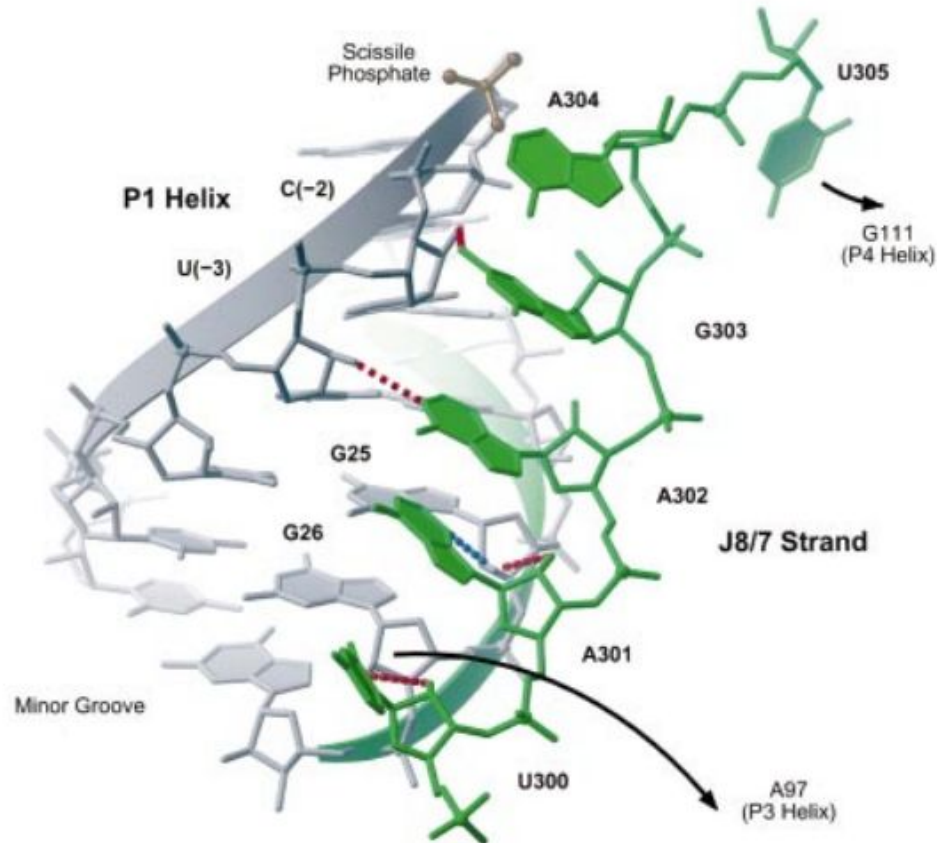
Транспортная РНК



Триплекс в малом желобке

(водородные связи между азотистым основанием и малой бороздкой)

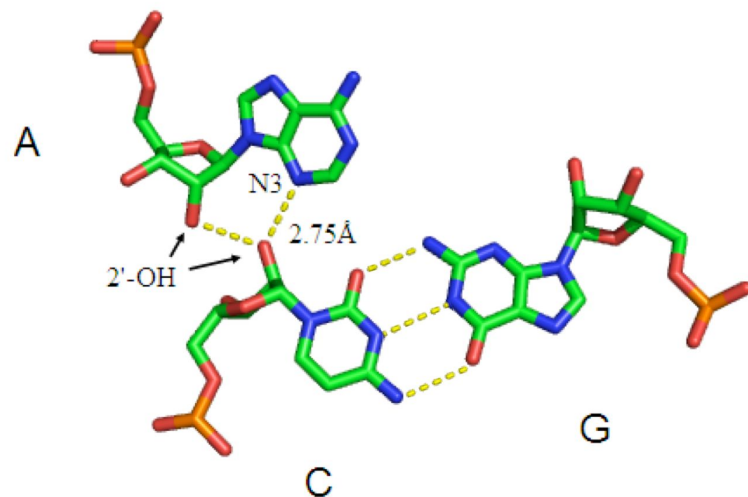
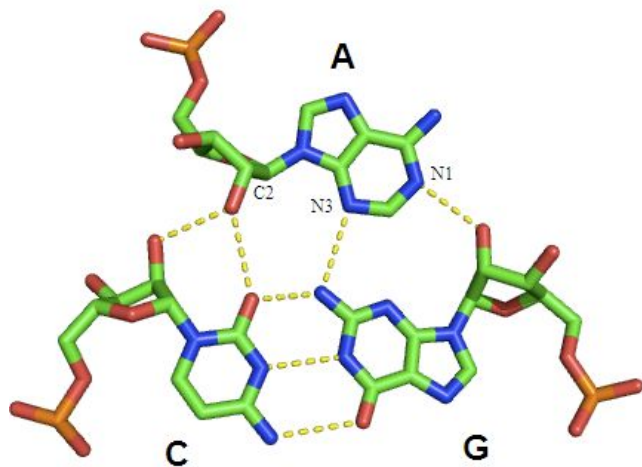
Самосплайсирующиеся рибозимы



Триплекс в малом желобке Мотив «ля-минор» (A-minor motif)

(водородные связи между аденином и малой бороздкой)

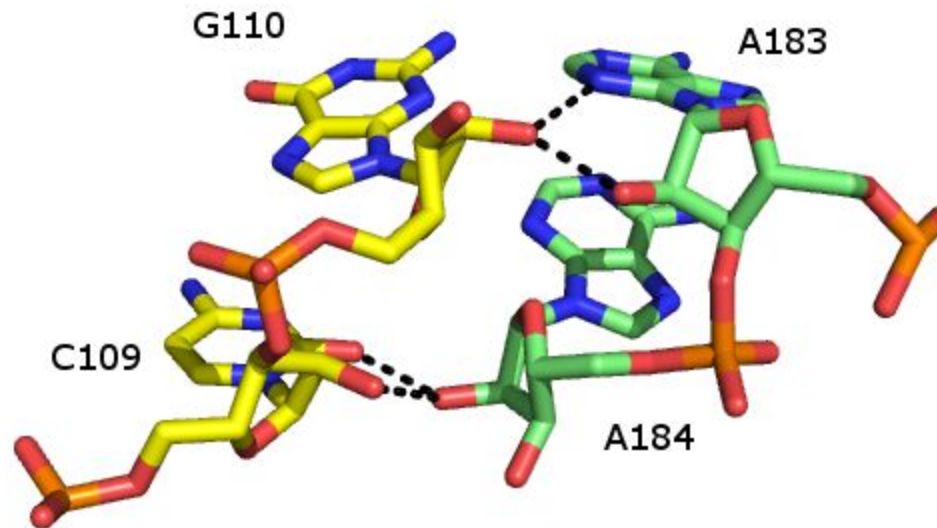
Транспортная РНК



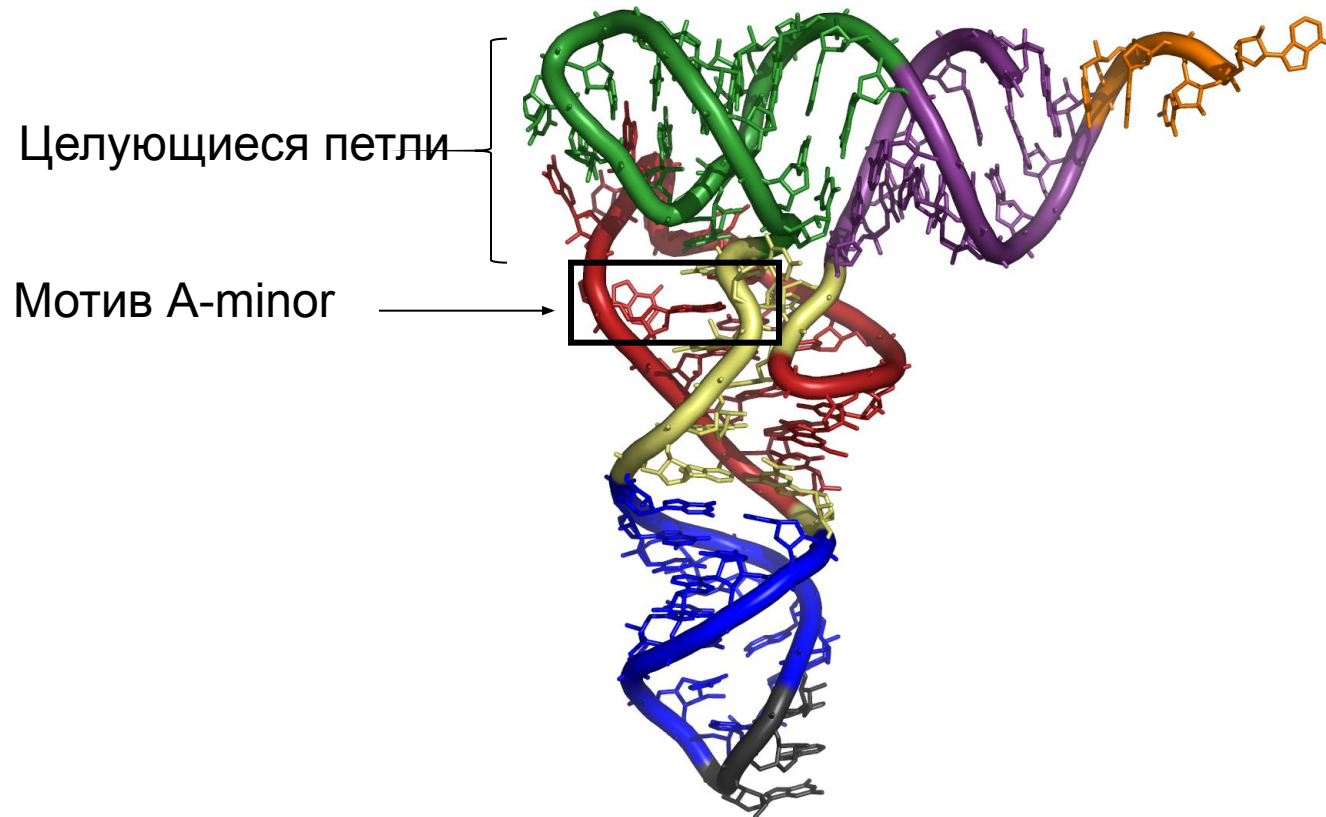
Рибозная «застежка-молния»

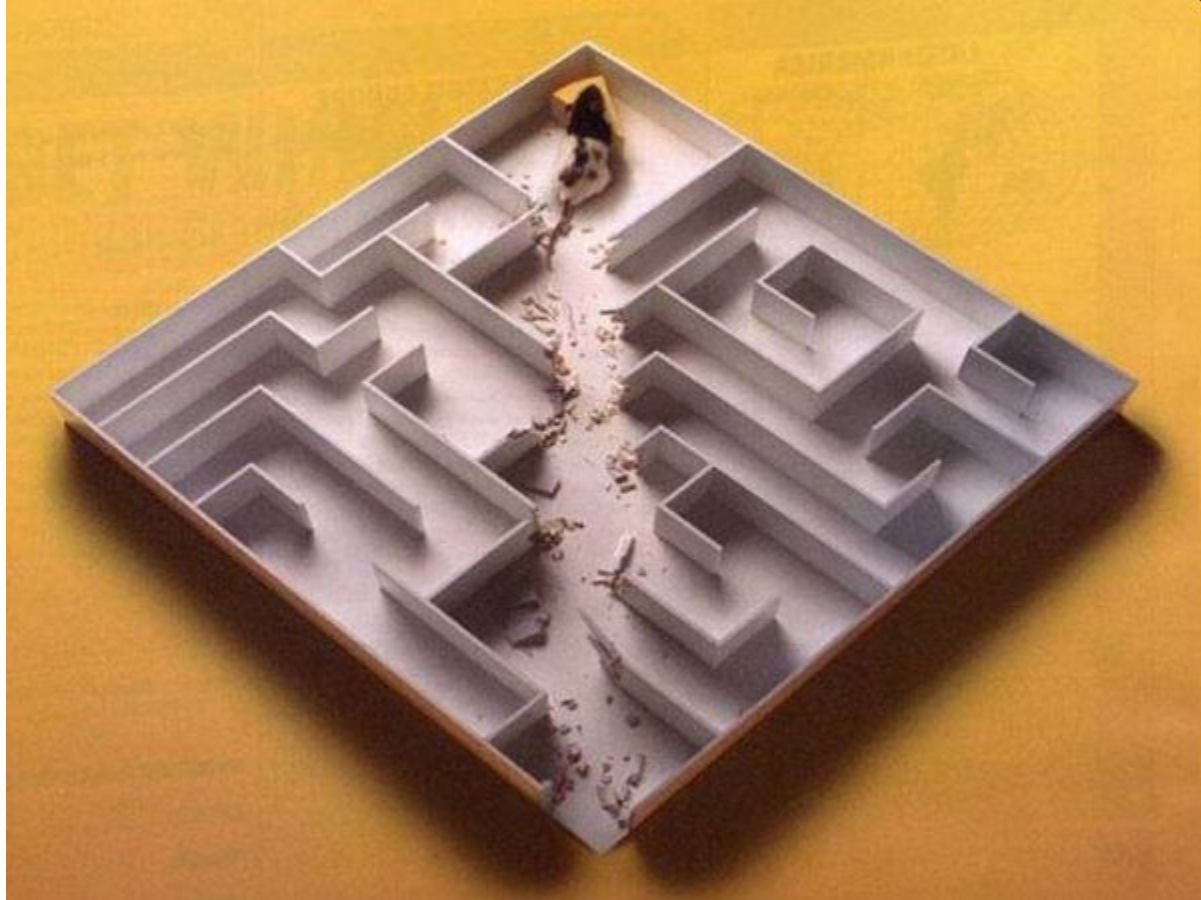
(водородные связи между ОН группами у С2' атома рибозы)

Рибосомальная РНК



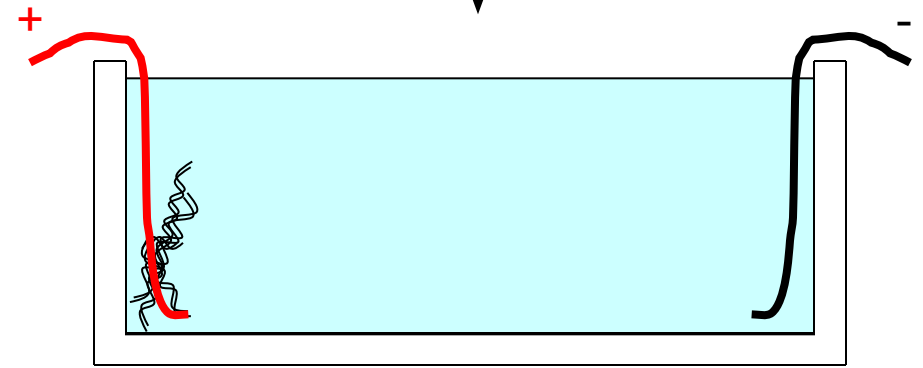
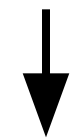
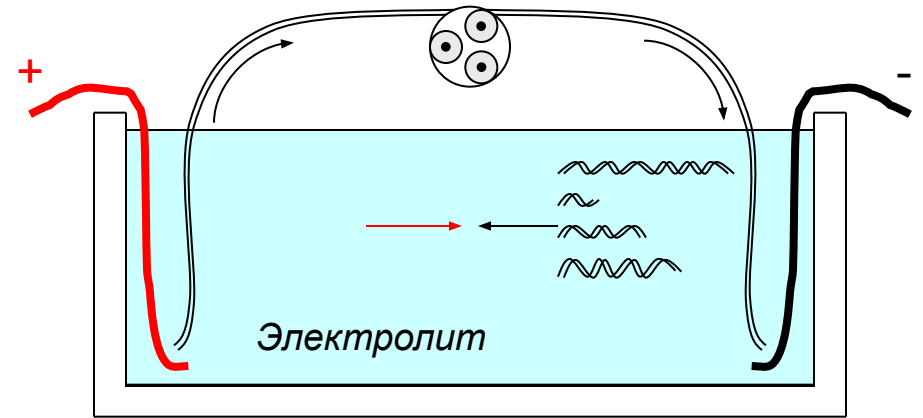
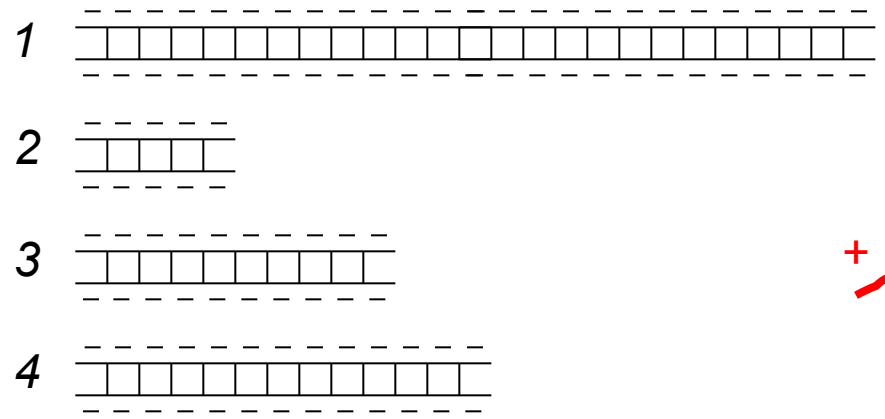
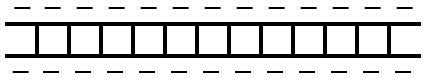
Третичная структура тРНК



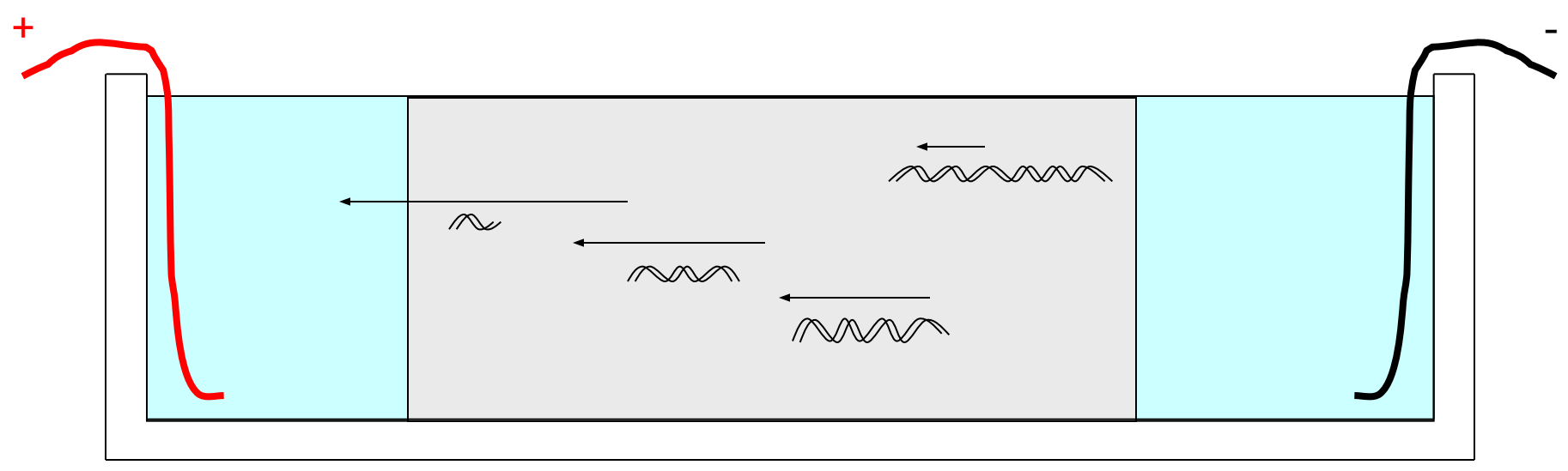
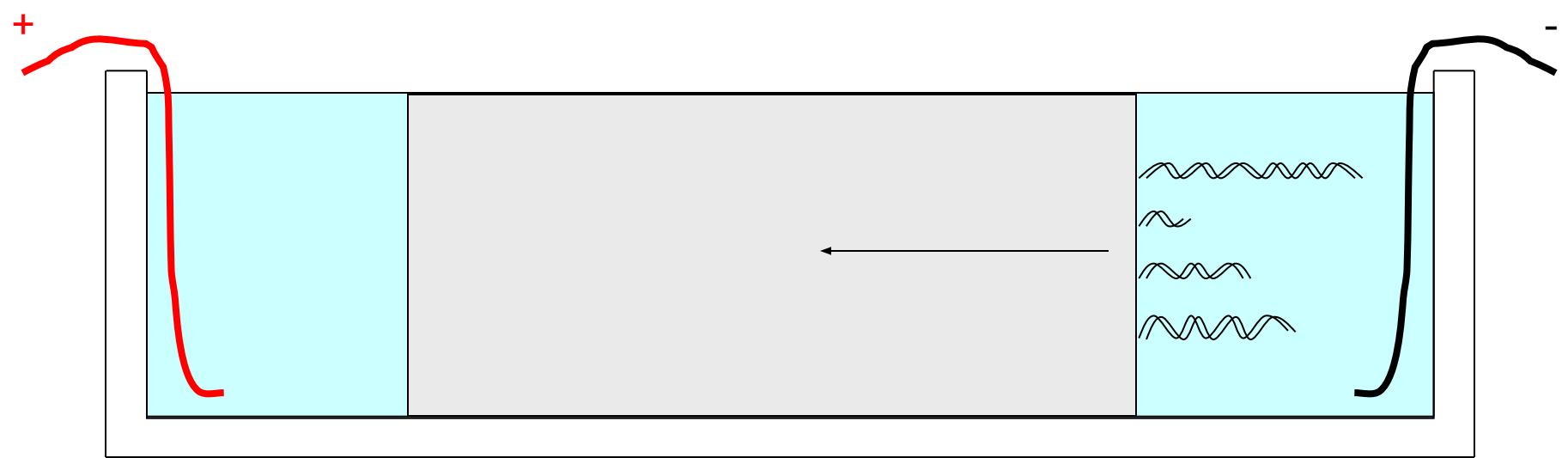


Методы исследования нуклеиновых кислот

Электрофорез



Гель-электрофорез



Гель-электрофорез

$$\lg \mu = \lg \mu_0 - Kr \cdot \tau$$

μ – электрофоретическая подвижность в геле

μ_0 – электрофоретическая подвижность в электролите

Kr – коэффициент замедления

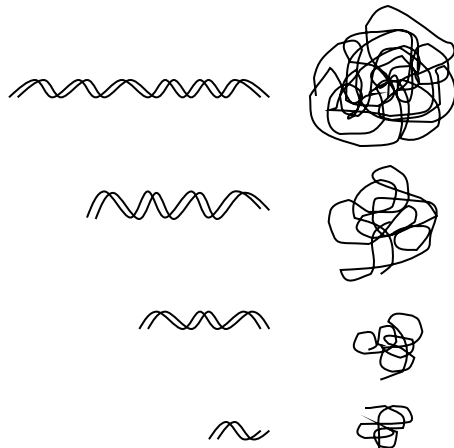
τ – концентрация геля

$$\mu = \frac{z}{6\pi\eta r}$$

z – заряд молекулы

η – вязкость среды

r – радиус молекулы

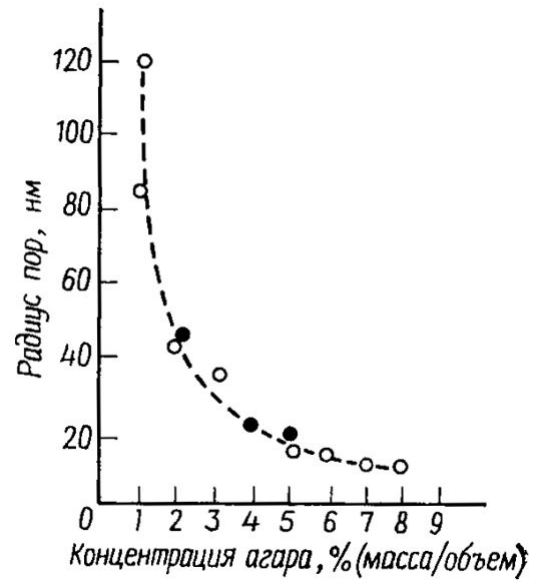
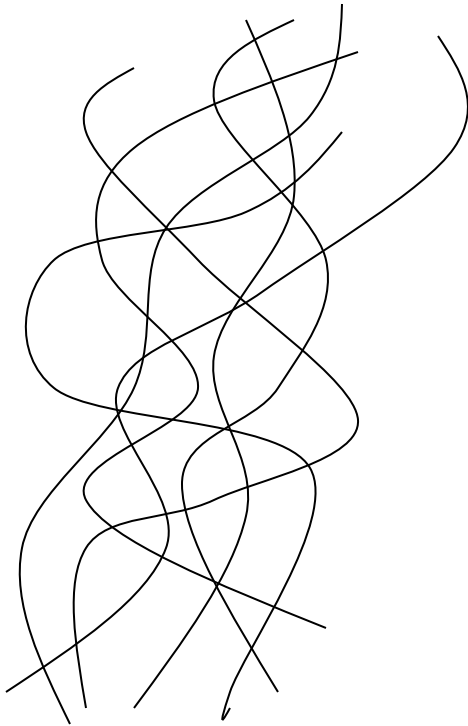


Kr – коэффициент замедления

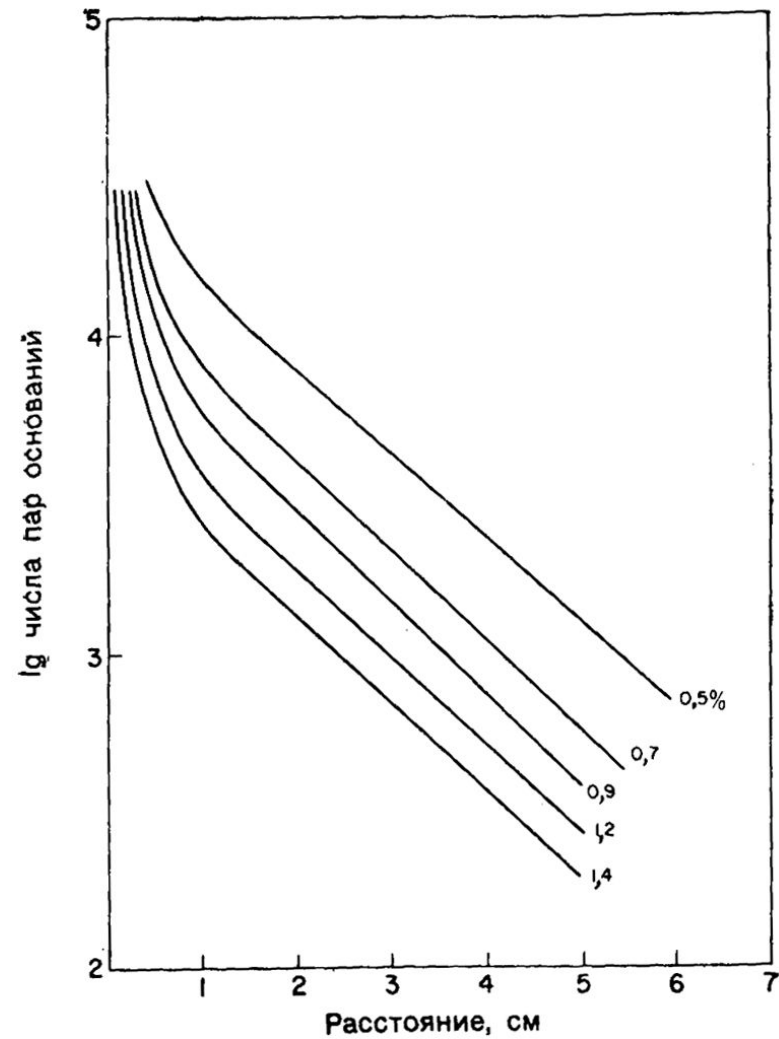
z – заряд молекулы

r – радиус молекулы

Гель-электрофорез



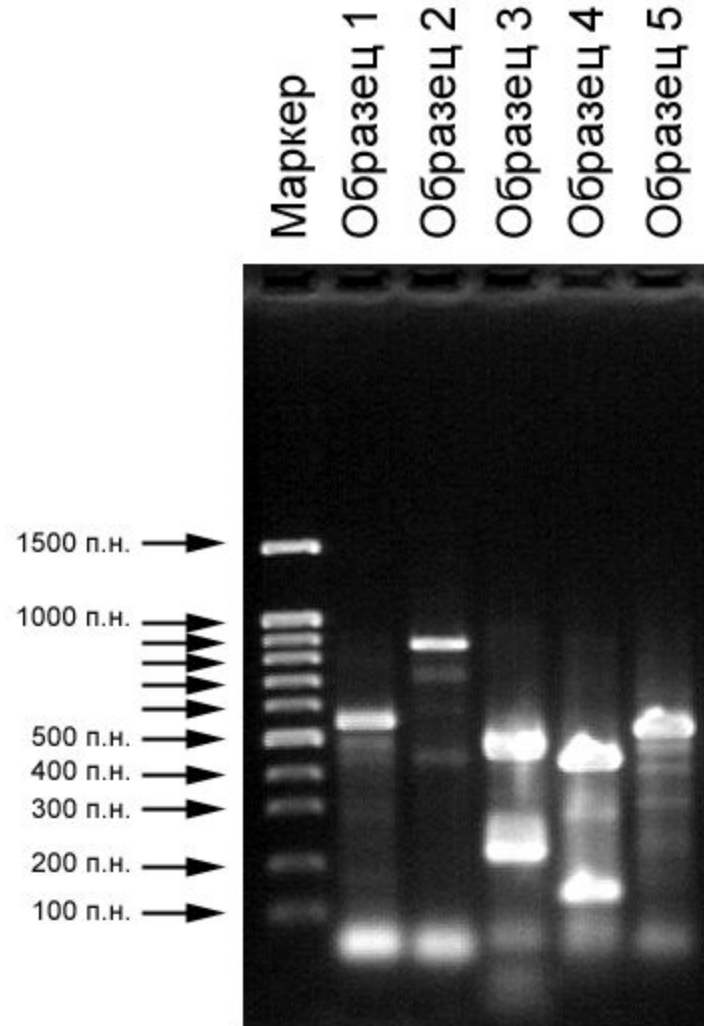
Гель-электрофорез



Зависимость электрофоретической подвижности от длины ДНК в гелях разной плотности

Гель-электрофорез

Определение длины фрагмента ДНК



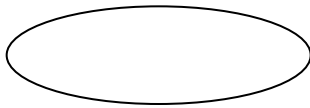
Гель-электрофорез

Определение состояния ДНК

Линейная ДНК



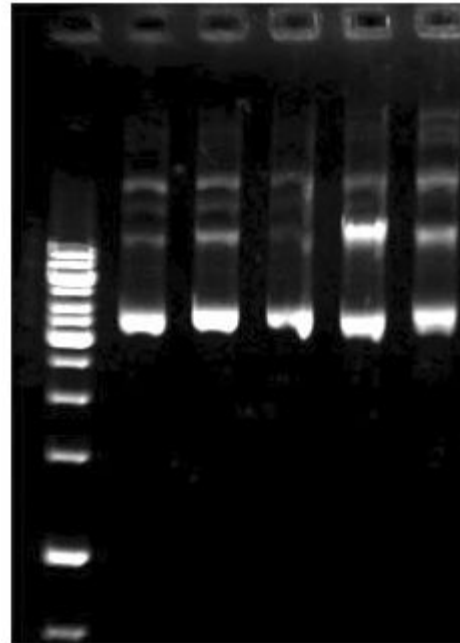
Кольцевая ДНК



Кольцевая суперскрученная ДНК



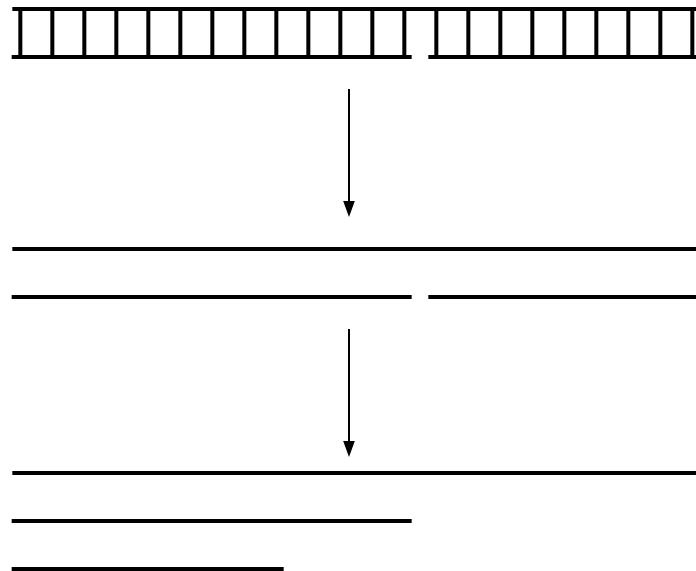
Маркер
Образец 1
Образец 2
Образец 3
Образец 4
Образец 5



← Кольцевая ДНК
← Линейная ДНК
← Кольцевая суперскрученная ДНК

Гель-электрофорез

Определение однонитевых разрывов в ДНК



Маркер (тыс. п.н.)

23.1 —

9.4 —

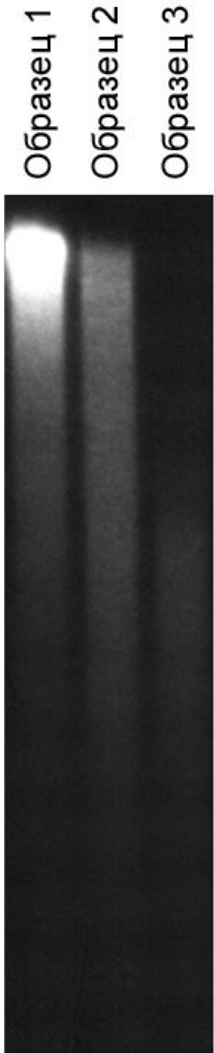
6.6 —

4.4 —

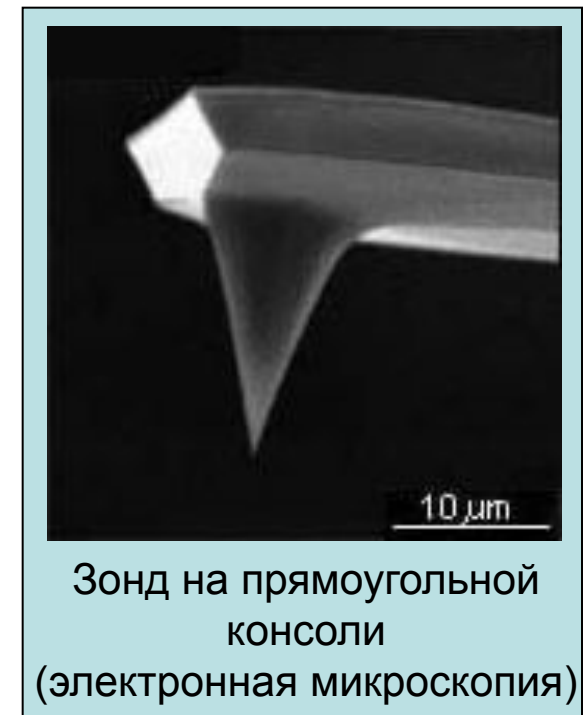
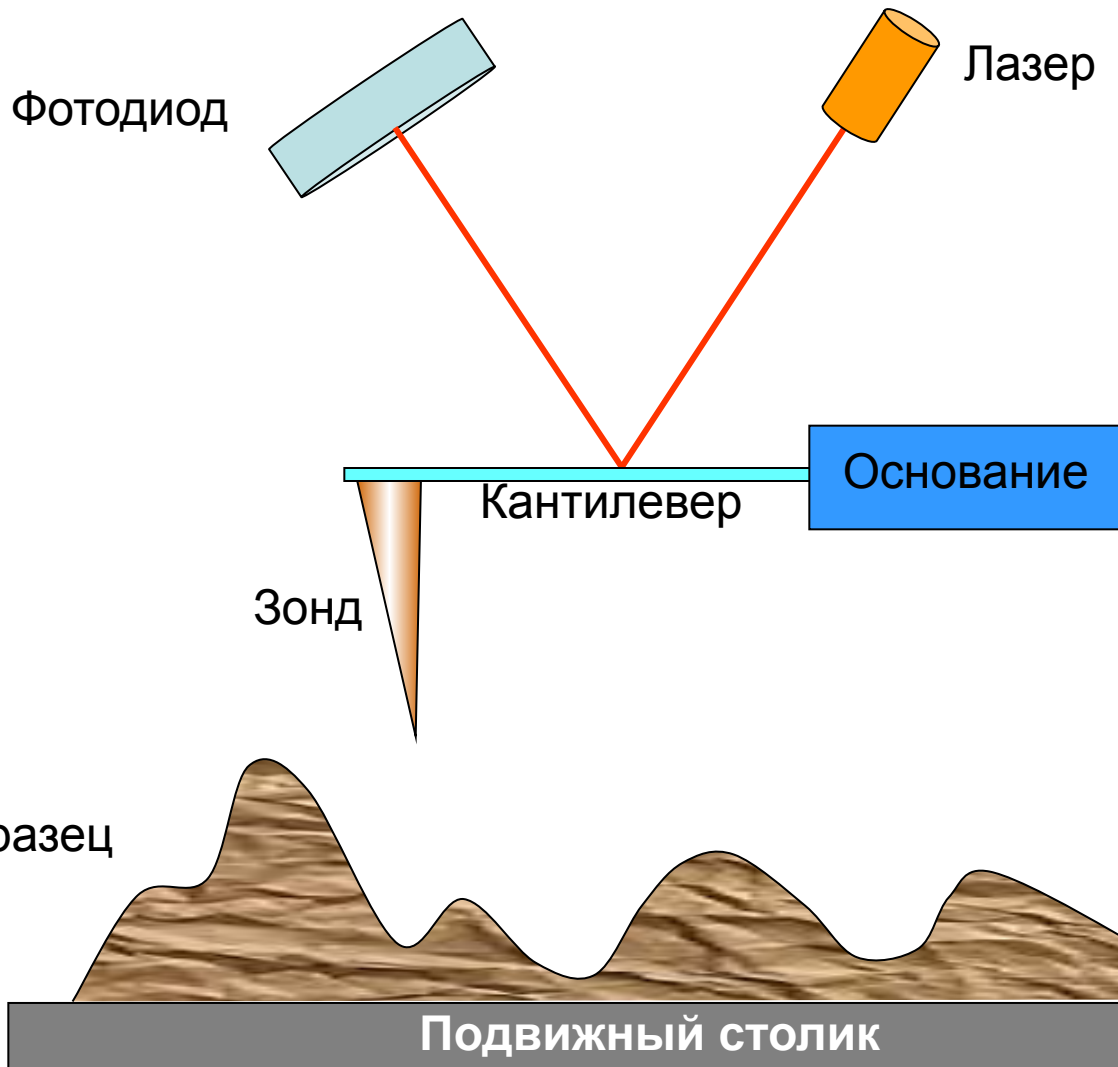
2.3 —

2.0 —

0.6 —

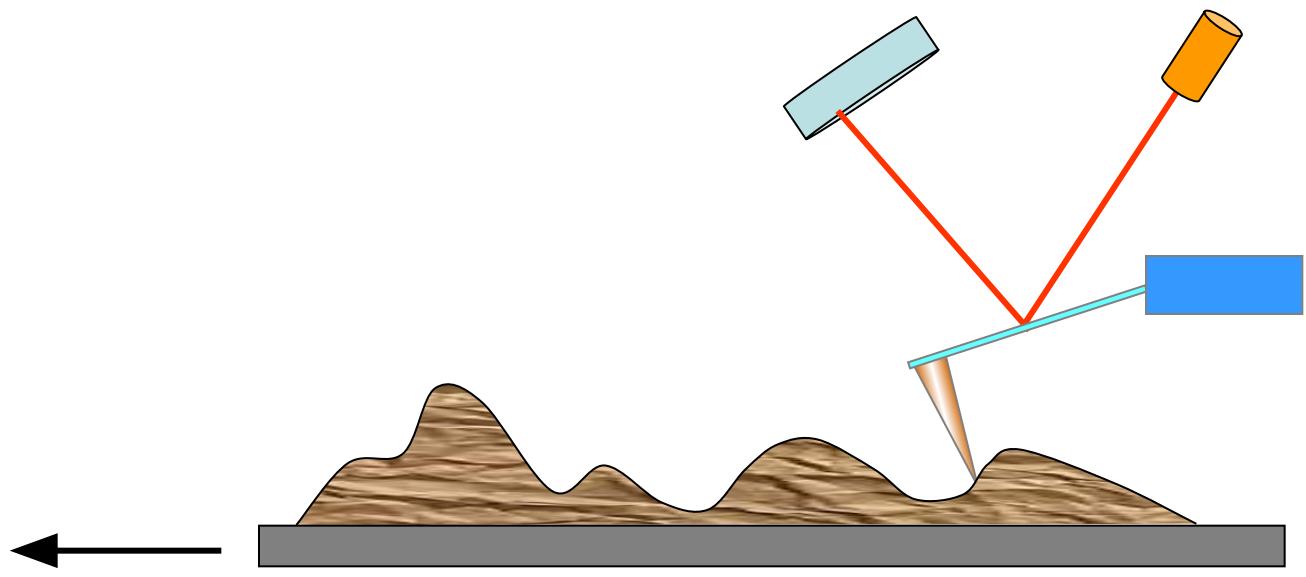
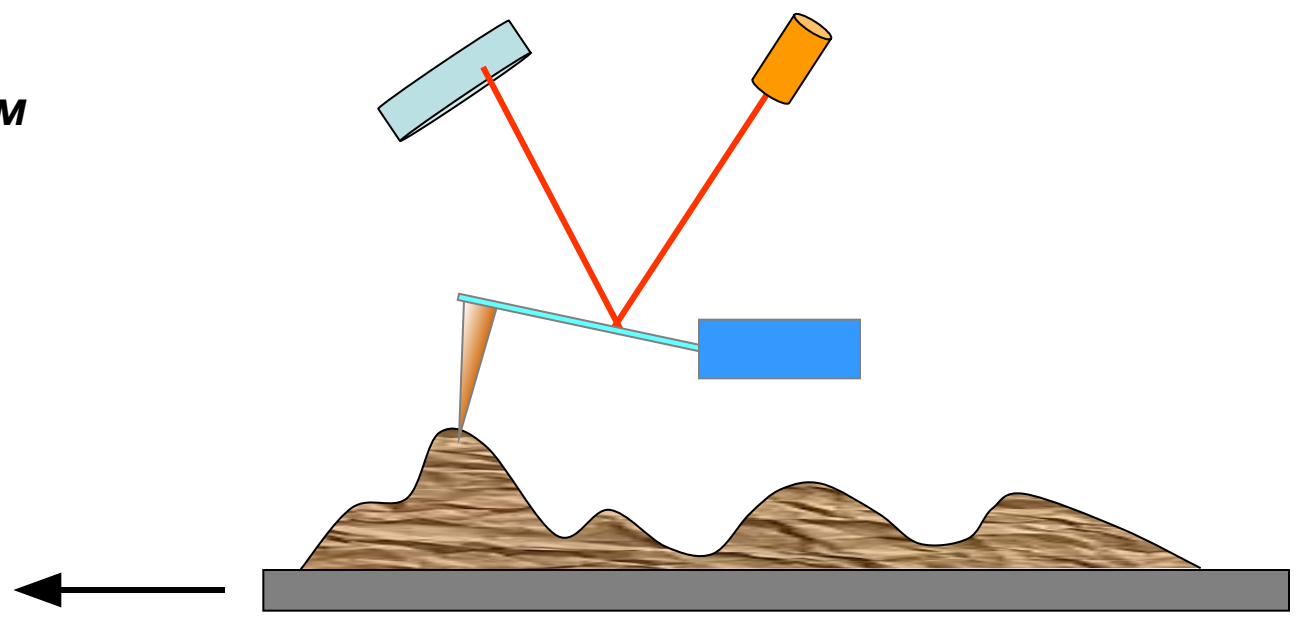


Атомно-силовая микроскопия (АСМ) Atomic force microscopy (AFM)



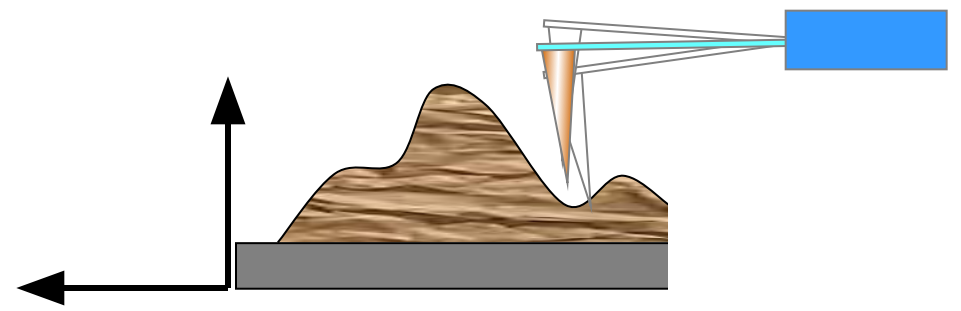
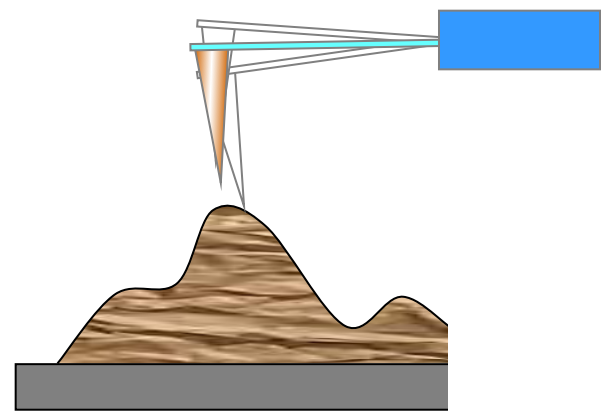
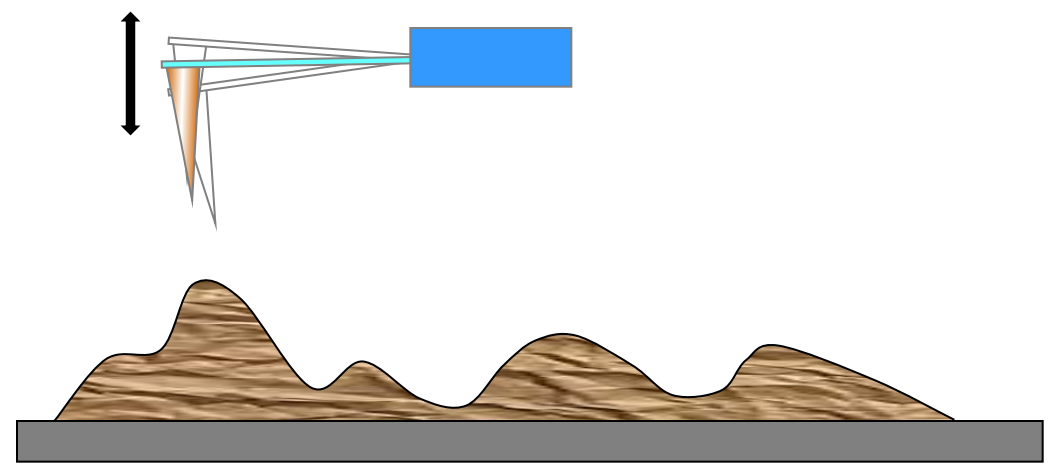
АСМ

Контактный режим



АСМ

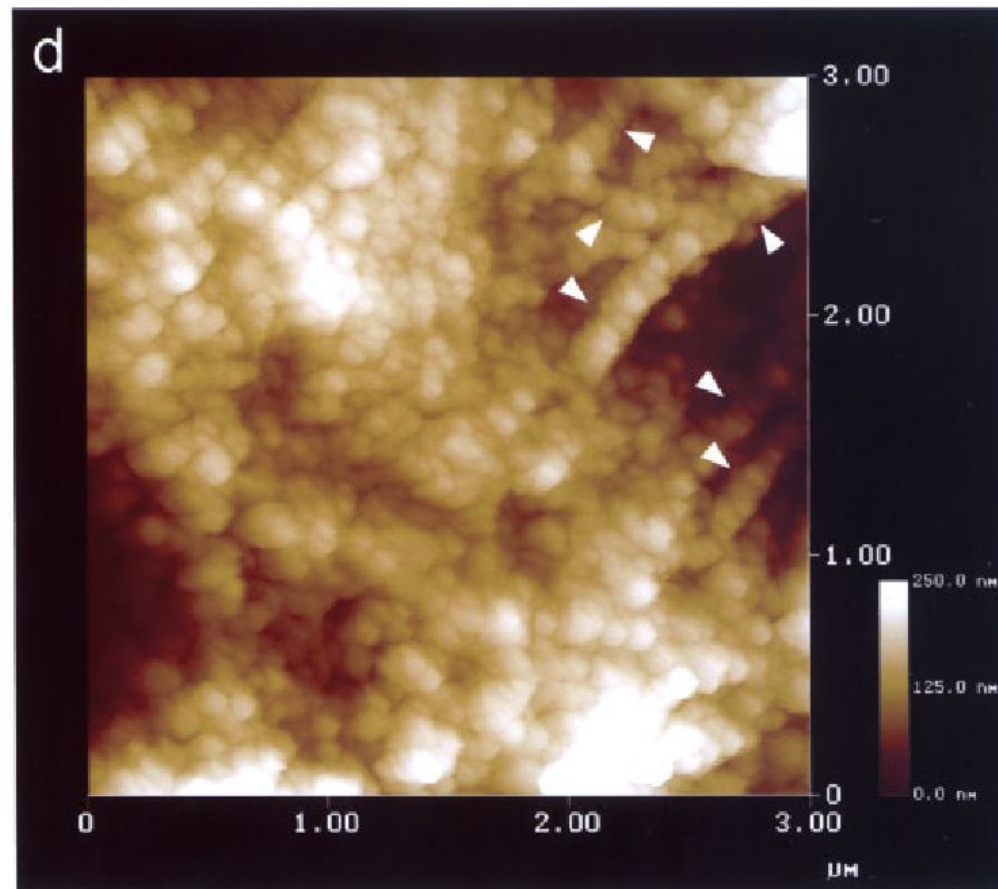
«Полуконтактный» режим
Tapping mode



АСМ

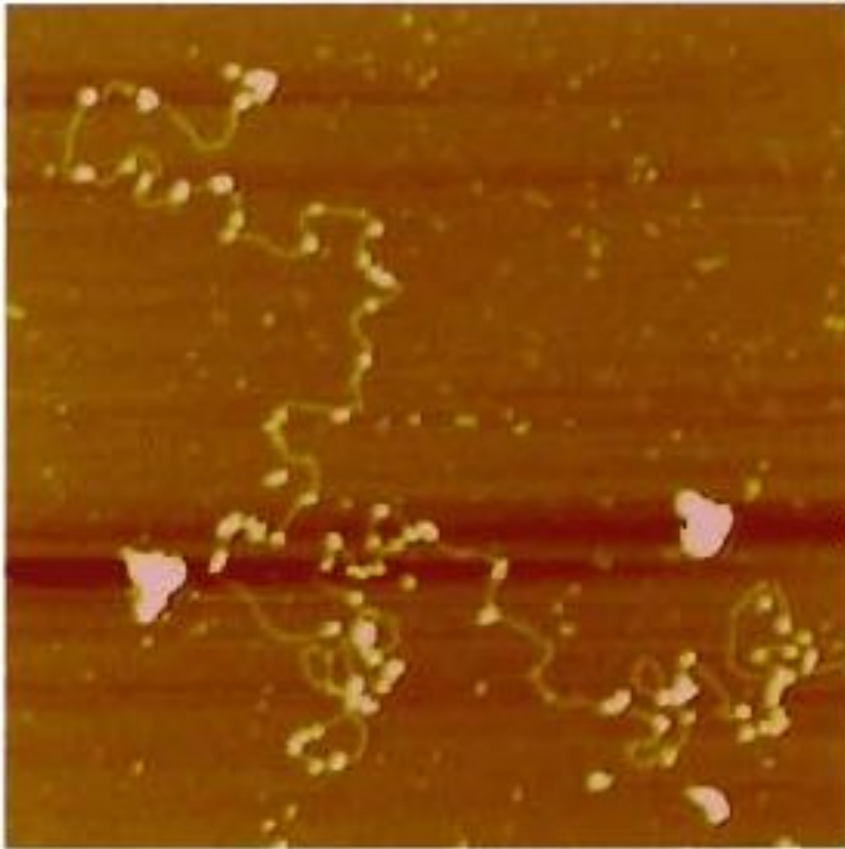
Глобулярная структура хромосомы

Глобулы диаметром 80 нм

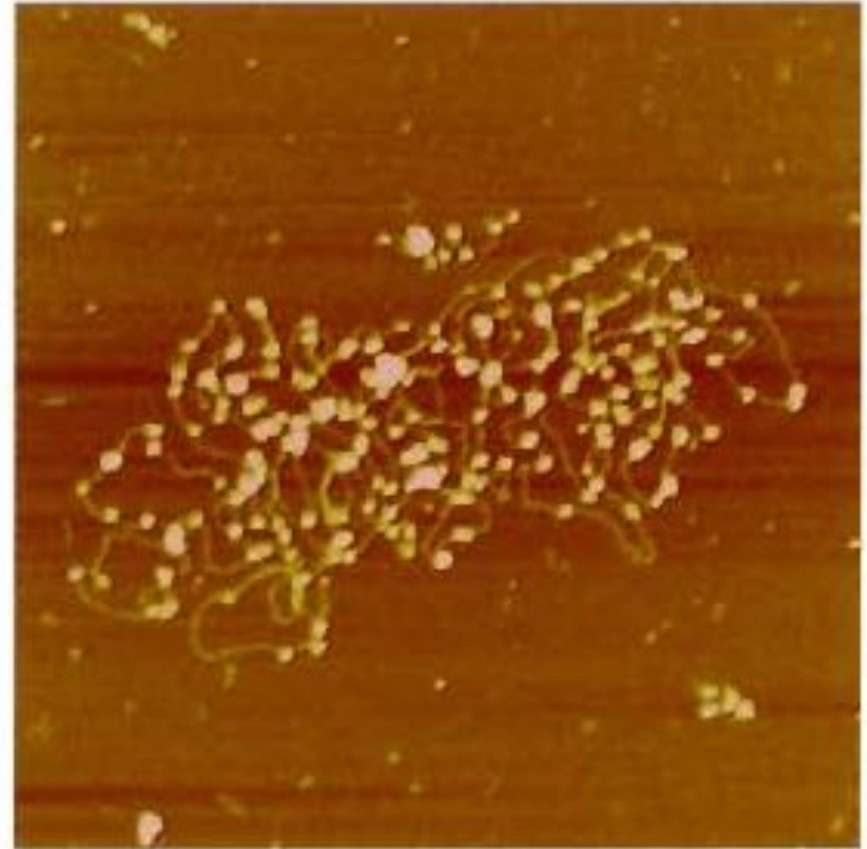


АСМ

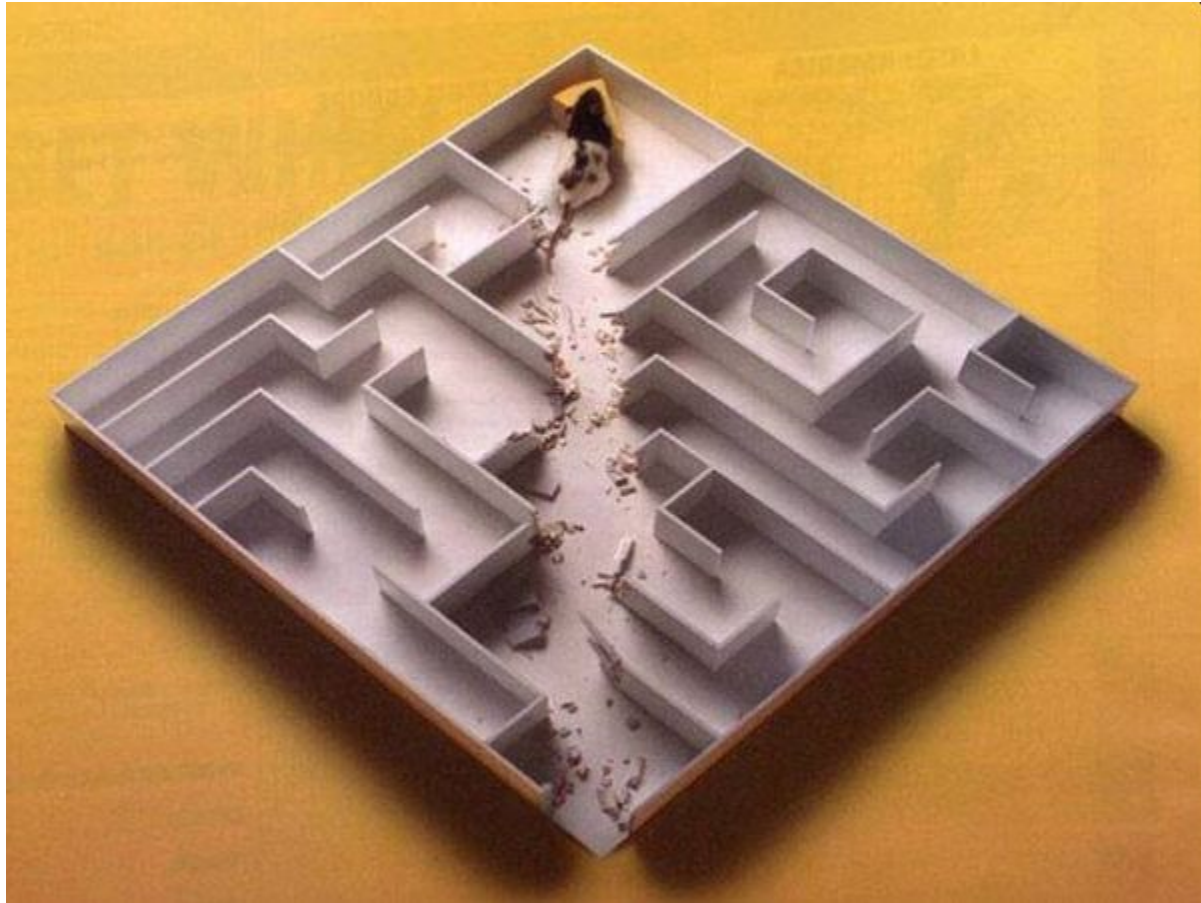
**Взаимодействие ДНК с белками
(для эффективного связывания требуется суперскрученность)**



Линейная ДНК

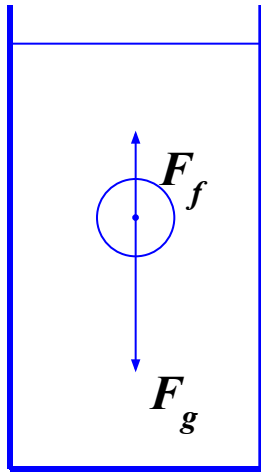


Суперскрученная ДНК



Ультрацентрифугирование

Седиментация



$$V_s = \frac{1}{18} \cdot \frac{D^2 \cdot (\rho_q - \rho_c) \cdot a}{\eta_c}$$

D – диаметр частицы
 ρ_q – плотность частицы
 ρ_c – плотность среды
 η_c – вязкость среды

V_s – скорость движения без ускорения

$$a = \omega^2 r$$

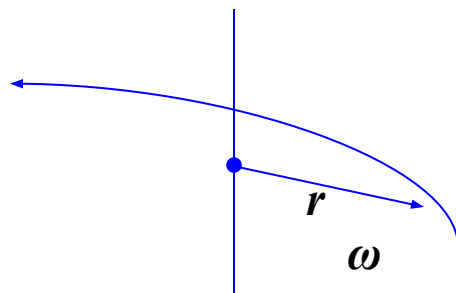
Седиментация – движение с постоянной скоростью

При одинаковых плотностях частицы большего диаметра седиментируют намного быстрее частиц меньшего диаметра (D^2)

Скорость седиментации пропорциональна плотности частицы. Мелкие частицы с большей плотностью могут седиментировать быстрее, чем крупные частицы с меньшей плотностью.

Скорость седиментации пропорциональна ускорению.

Скорость седиментации обратно пропорциональна вязкости среды.



$$a = \omega^2 r$$

ω – угловая
скорость (рад/с)
 r – радиус (м)

Ультрацентрифугирование

Коэффициент и константа седиментации



Теодор Сведберг
(Theodor H. E. ("The") Svedberg)
1884-1971

$$s = \frac{1}{18} \frac{D^2 \cdot (\rho_u - \rho_c)}{\eta_c}$$

s – коэффициент седиментации
при известных ρ_c и η_c **s** зависит только
от параметров частицы – **D** и ρ_u

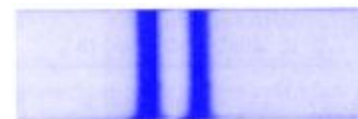
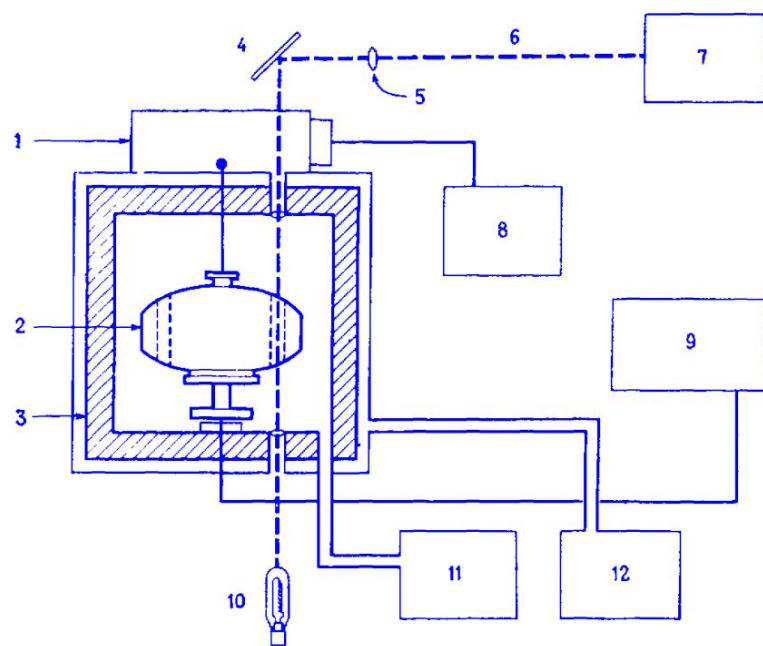
Если седиментация происходит в воде при 20°C ($\rho_{20,W}$ и $\eta_{20,W}$ известны),
то **s** в воде при 20°C – это **константа седиментации** $s_{20,W}$

$$s_{20,W} = \frac{1}{18} \frac{D^2 \cdot (\rho_u - \rho_{20,W})}{\eta_{20,W}}$$

$$1 S (\text{сведберг}) = 10^{-13} \text{ сек}$$

Ультрацентрифугирование

Ультрацентрифуга



Молекулы с разными V_s

1923 г. – 5000 g
1926 г. – 100000 g
1931 г. – 200000 g
1933 г. – 400000 g
1934 г. – 900000 g

- 1 – Мотор
- 2 – Ротор
- 3 – Бронированная камера
- 4 – Зеркало
- 5 – Оптическая система
- 6 – Путь света
- 7 – Регистрирующее устройство
- 8 – Элементы управления
- 9 – Контроль температуры
- 10 – Источник света
- 11 – Вакуумный насос
- 12 – Система охлаждения

Ультрацентрифугирование

Плавучая плотность

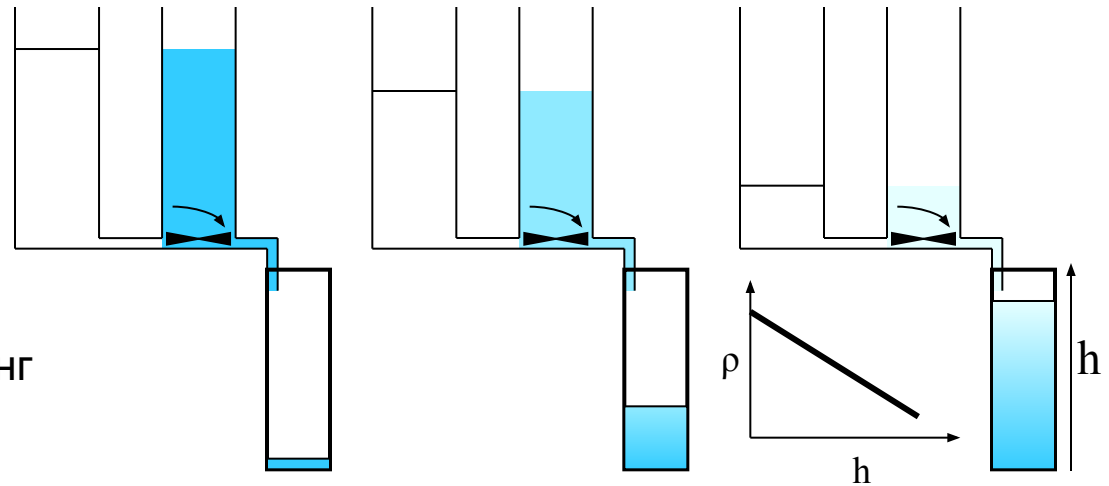
$$s_{20,W} = \frac{V_s}{a} = \frac{(\rho_u - \rho_{20,W}) \cdot \eta_c}{(\rho_u - \rho_c) \cdot \eta_{20,W}}$$

Создание градиента плотности в колонке Линдерстрема-Ланга



Annu.Rev.Biochem. - 2005. - 74. - 1-28

Кай Ульрик Линдерстрем-Ланг
(Kaj Ulrik Linderstrøm-Lang)
1896-1959

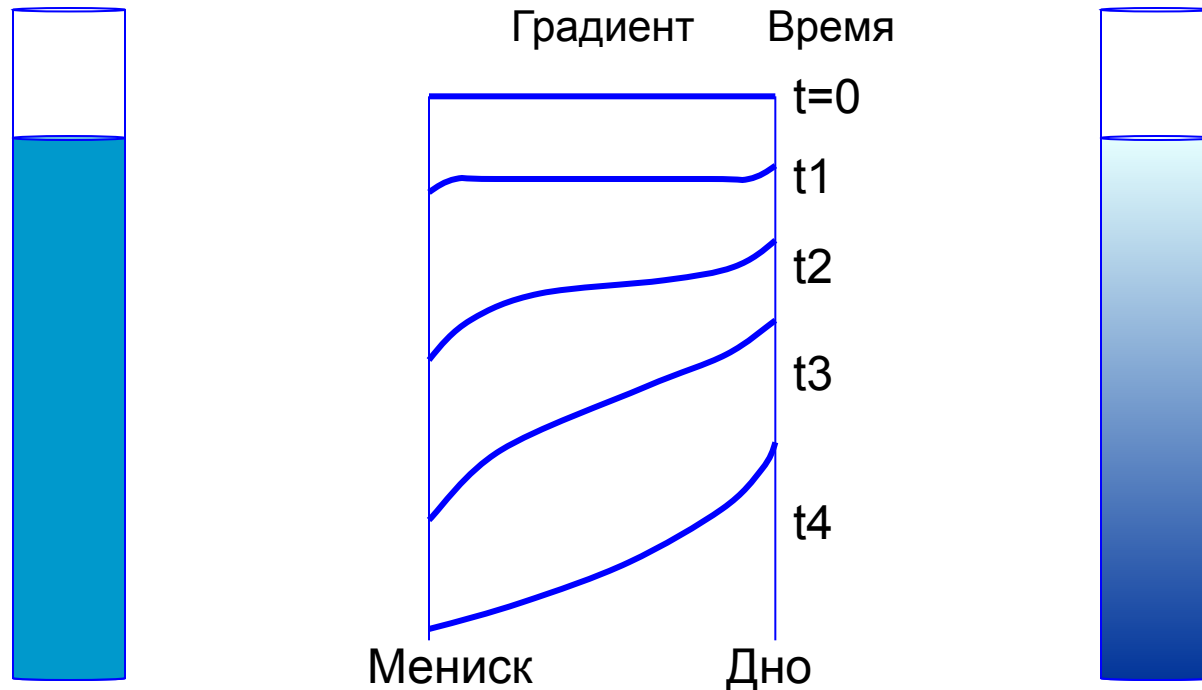


Ультрацентрифугирование

Плавучая плотность

$$s_{20,W} = \frac{V_s}{a} \cdot \frac{(\rho_u - \rho_{20,W}) \cdot \eta_c}{(\rho_u - \rho_c) \cdot \eta_{20,W}}$$

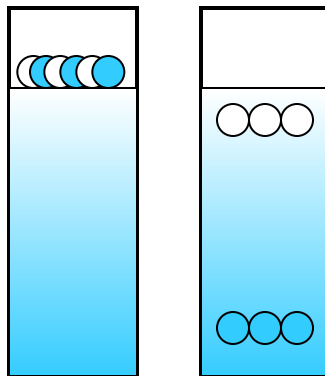
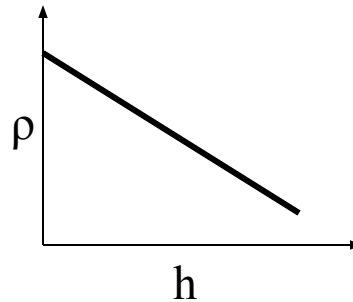
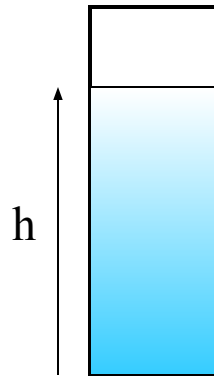
Формирование градиента плотности при ультрацентрифугировании растворов солей



Ультрацентрифугирование

Плавучая плотность

$$s_{20,W} = \frac{V_s}{a} = \frac{(\rho_{\text{ч}} - \rho_{20,W}) \cdot \eta_c}{(\rho_{\text{ч}} - \rho_c) \cdot \eta_{20,W}}$$



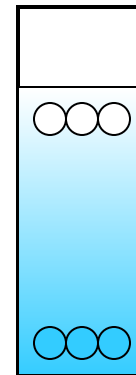
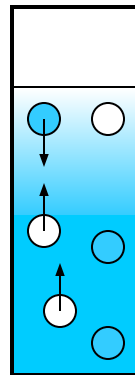
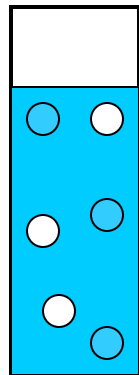
Плавучая плотность $\rho_{\text{ч}}$
плотность частицы в растворе

плотность среды, при которой
движение частицы прекращается,
т.е. разность $\rho_{\text{ч}} - \rho_c = 0$

Ультрацентрифугирование

Плавучая плотность

$$s_{20,W} = \frac{V_s}{a} = \frac{(\rho_u - \rho_{20,W}) \cdot \eta_c}{(\rho_u - \rho_c) \cdot \eta_{20,W}}$$



$$\rho_u - \rho_c = 0$$

$$\rho_u - \rho_c = 0$$

Ультрацентрифугирование

Седиментация

$$M_q = s \cdot \frac{f}{(1 - \rho_c / \rho_q)}$$

f – фактор трения

зависит от:

формы частицы

размера частицы

вязкости жидкости

Определение M_q с применением седиментационного анализа требует определенных допущений

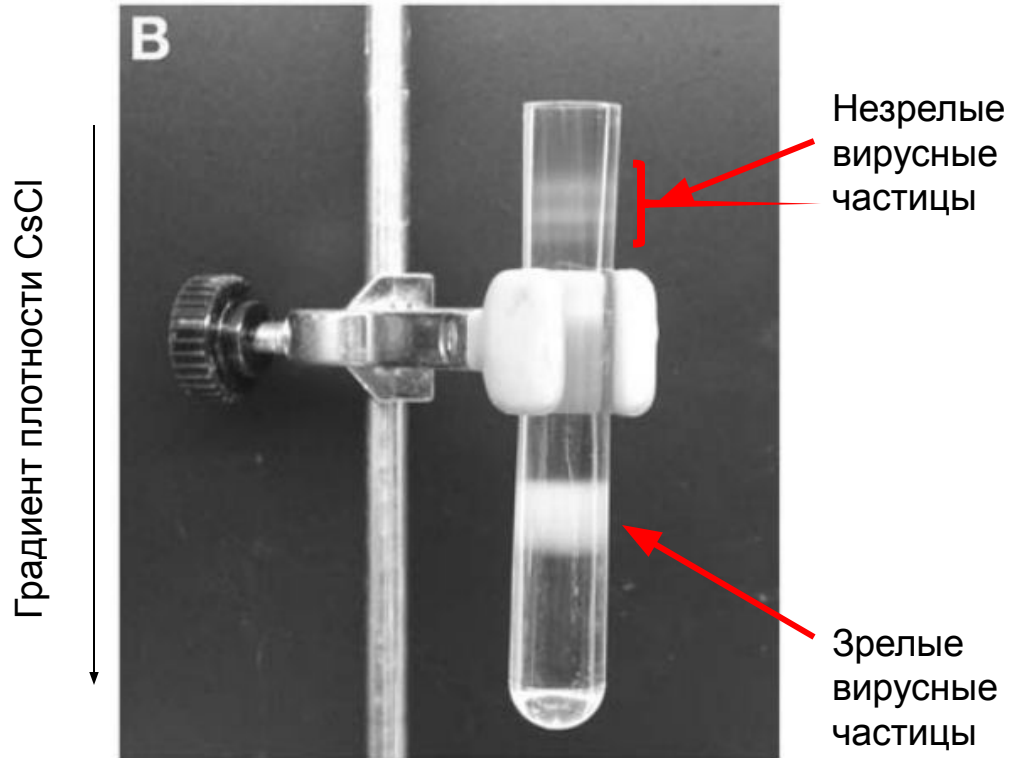
Видимая M_q зависит от **формы** и **размера** частицы

По результатам седиментационного анализа видимую M_q выражают в сведбергах:

5S рРНК, 16S рРНК, 23S рРНК, 30S субъединица рибосомы, и т.д.

Небольшое отступление

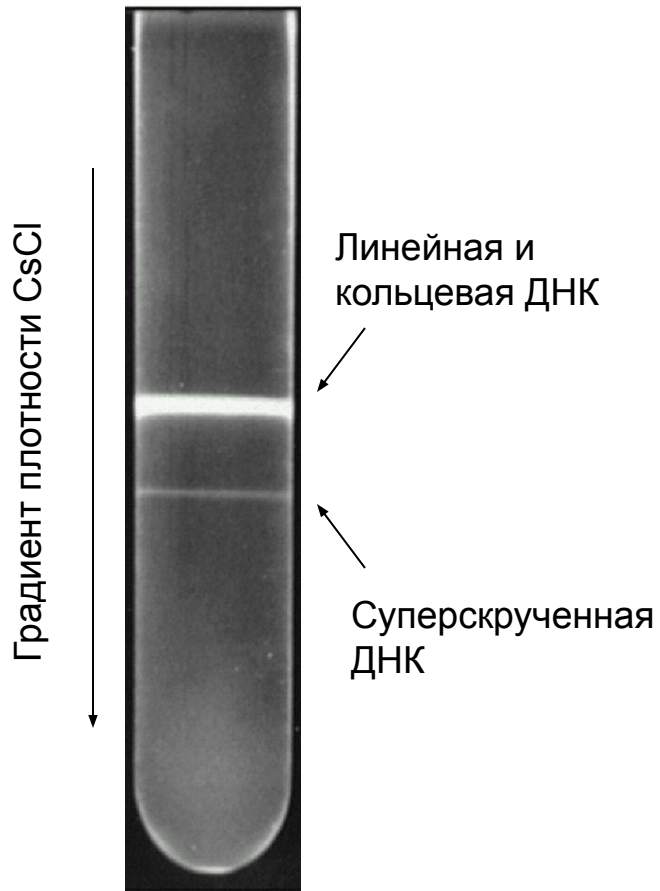
Разделение частиц по плавучей плотности



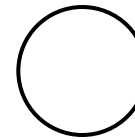
Methods in Biotechnology, Vol. 24: Animal Cell Biotechnology

Ультрацентрифугирование

Разделение частиц по плавучей плотности



Для ДНК митохондрий человека



$$s_{20,W} = 26$$



$$s_{20,W} = 37$$

