ЛЕЦИЯ №1

- Природа сил взаимодействия
- Методы исследования комплексообразования:

2) равновесный диализ

5) вискозиметрия – ДЛП

4) седиментация

3) гель-электрофорез

6) масс-спектрометрия

7) плазмонный резонанс

8) атомная силовая микроскопия

9) рентгено-структурный анализ

Природа сил взаимодействия

- Вандерваальсовы взаимодействия

  а) Кезом - ориентационный эффект - диполь-дипольное взаимодействие

$$U_{ор.} = -2p_1^2p_2^2/3kTr^6$$

  б) Дебай - индукционный эффект - диполь-индуцированный диполь

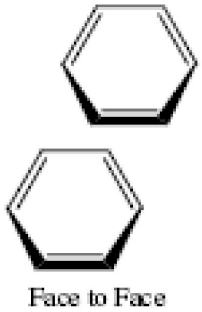
$$U_{индукц.} = -1/2\ (aE^2) = -2ap^2/r^6$$

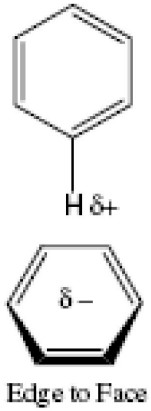
  в) Лондон -дисперсионный эффект - взаимодействие мгновенных диполей

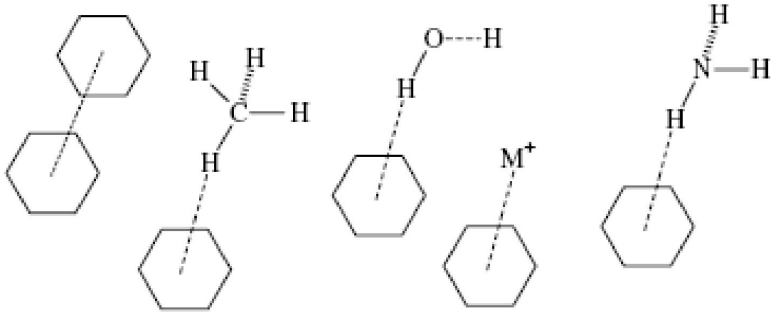
$$U_{дисп.} = -s(h/2\pi)\omega_0(e^4/k^2r^6) = -s(h/2\pi)\omega_0(a^2/r^6)$$

- Водородные связи
- Ионные взаимодействия
- Гидрофобные взаимодействия

Типы взаимодействий с участием ароматических систем







Parallel aromatic interaction

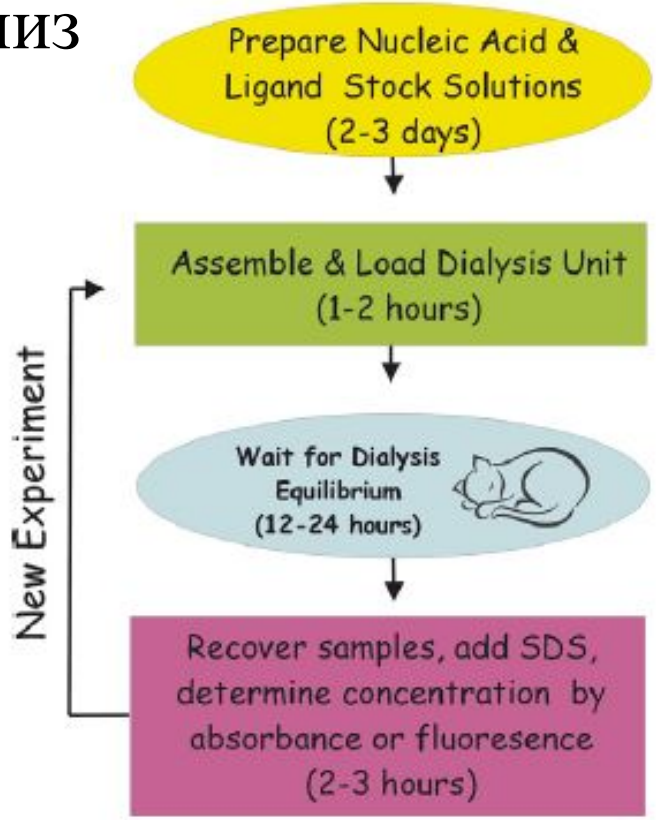
Perpendicular aromatic interaction

CH–π

Cation– π

Ультрафильтрация

Конкурентный равновесный диализ



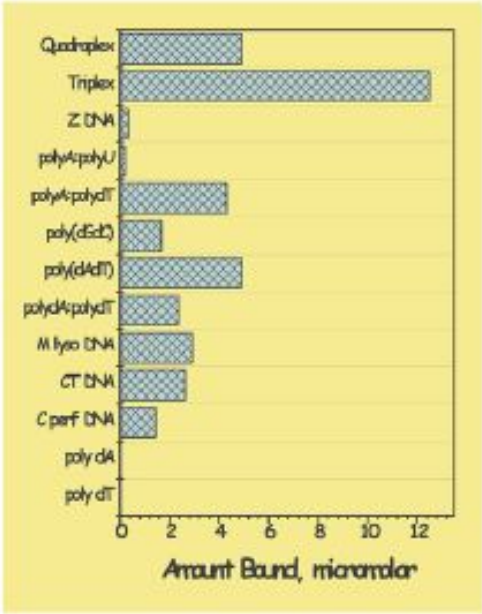


Fig. 2. Overview of the competition dialysis experiment.

Fig. 1. Microdialyzer for 96 samples.

Гидродинамические методы

- Вискозиметрия

  а) Связь характеристической вязкости с макромолекулярными параметрами для разных моделей

  б) Изменение этих параметров в зависимости от способа связывания макромолекулы (ДНК) с лигандом

- Динамическое двойное лучепреломление

  а) Определение термодинамической жесткости макромолекулы

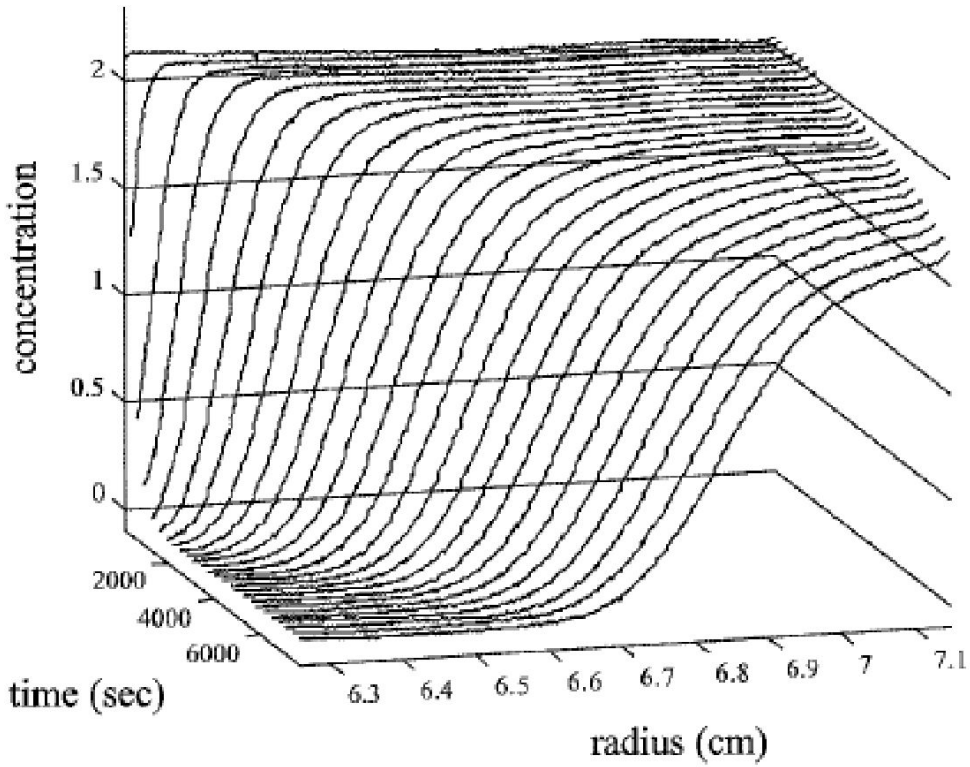
  б) Изменение термодинамической жесткости и оптической анизотропии макромолекулы (ДНК) при связывании с лигандами

Аналитическое центрифугирование

Соотношение Сведберга

$$s = \frac{u}{\omega^2 r} = \frac{M(1-\bar{v}\rho)}{N_A f} = \frac{MD(1-\bar{v}\rho)}{RT}$$

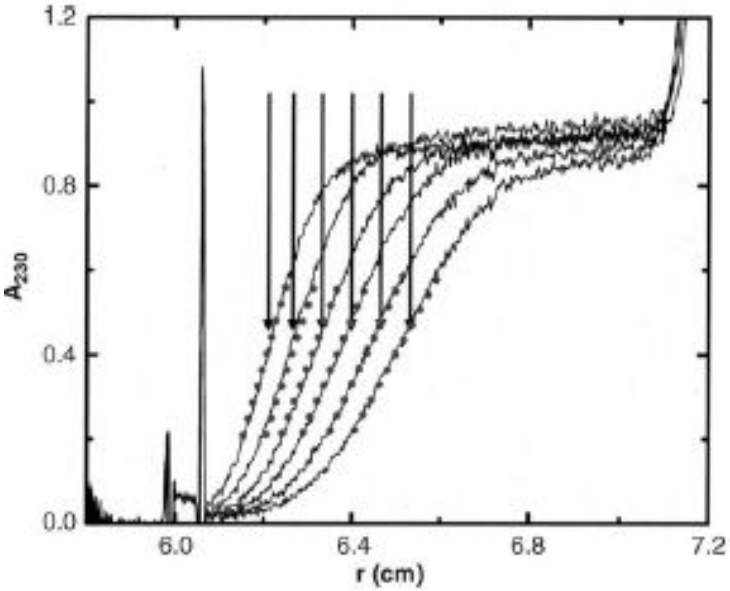
Эксперимент: определение скорости, с которой концентрационная граница движется в гравитационном поле

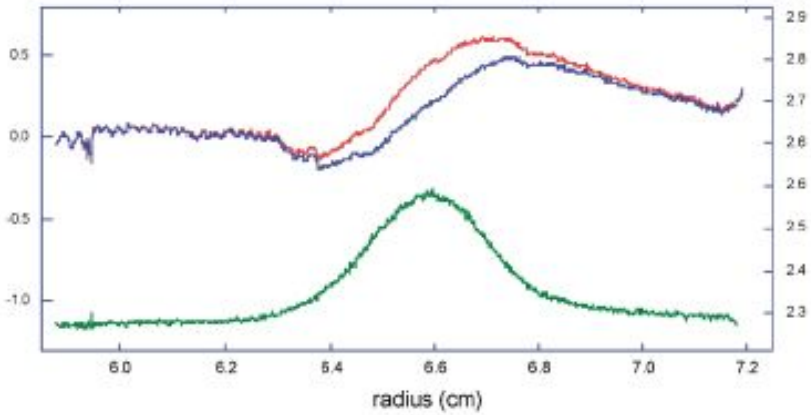


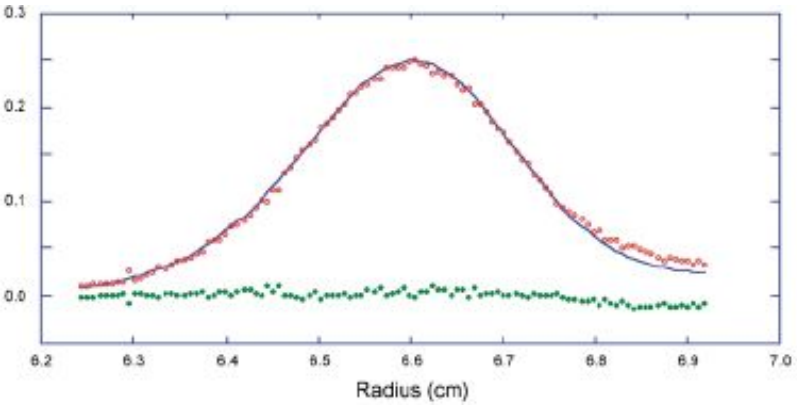
Обработка результатов аналитического центрифугирования

$$\frac{\partial \chi(r,t)}{\partial t} = \frac{1}{r}\frac{\partial}{\partial r}\left[rD\frac{\partial \chi(r,t)}{\partial r} - s\omega^2 r^2 \chi(r,t) \right]$$

Соотношение Ламма –
диф. уравнение второго порядка,
решение которого дает коэф.
диффузии и гидродинамический
радиус молекулы

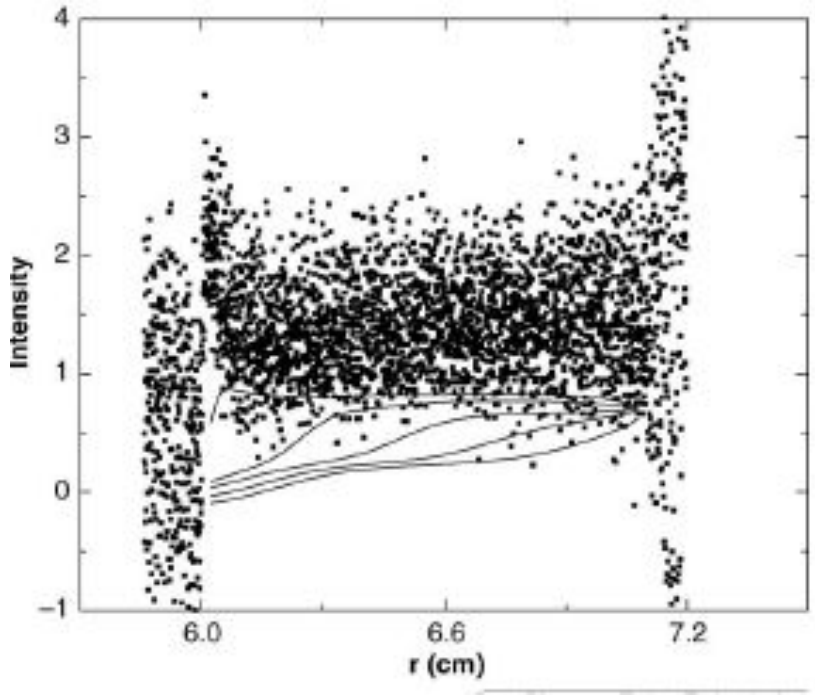


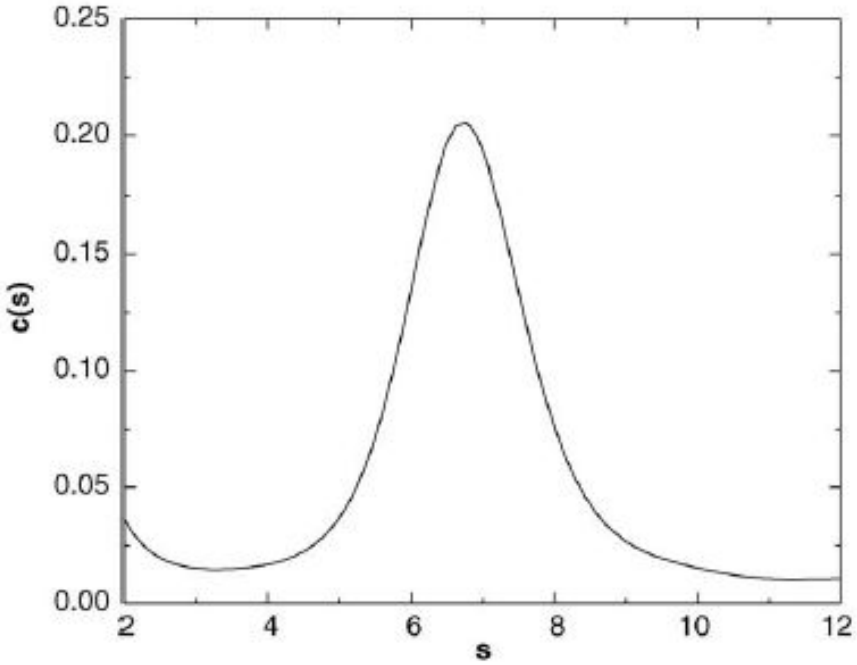




Результат обработки данных с помощью соотношения Ламма

Получение седиментационного профиля трансформацией сканирующих профилей





Седиментация (продолжение)

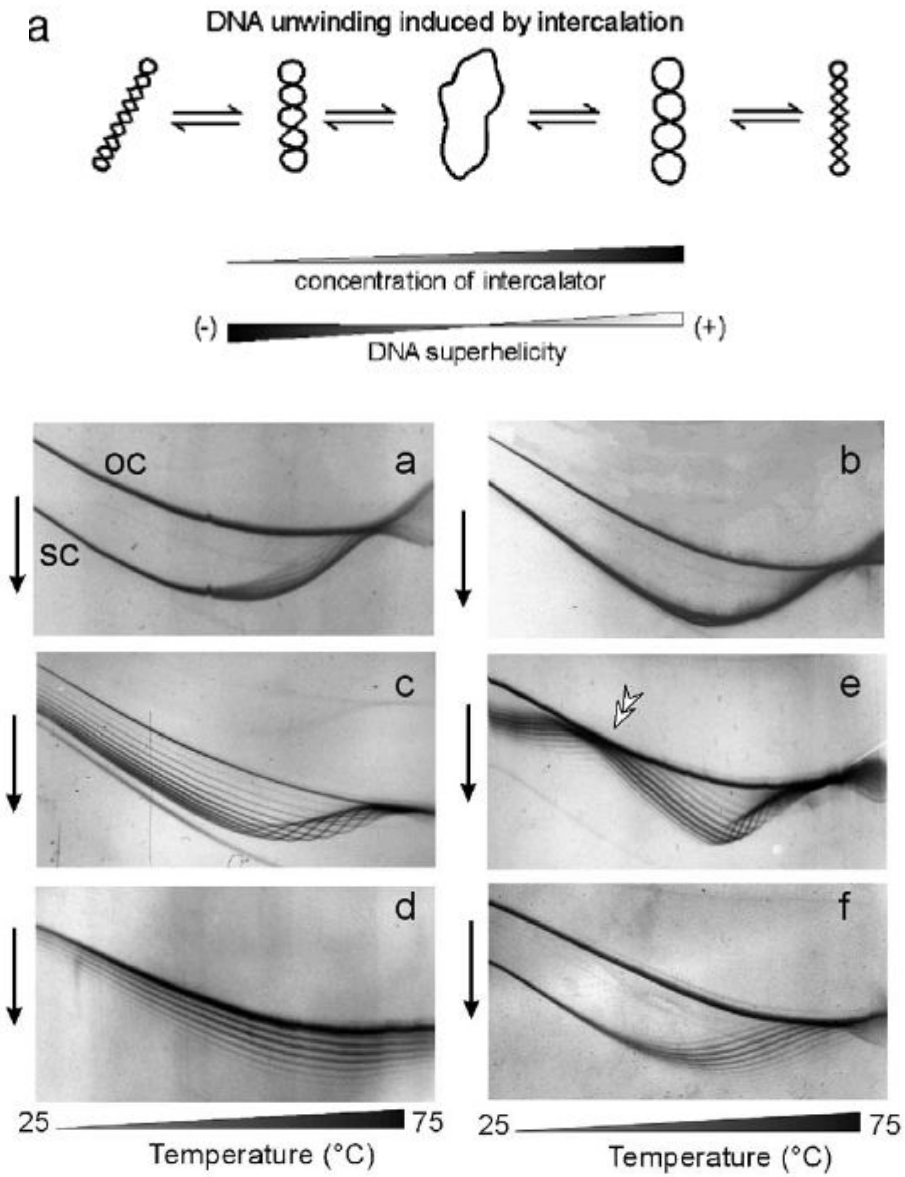
- Достижения, позволившие расширить возможности метода

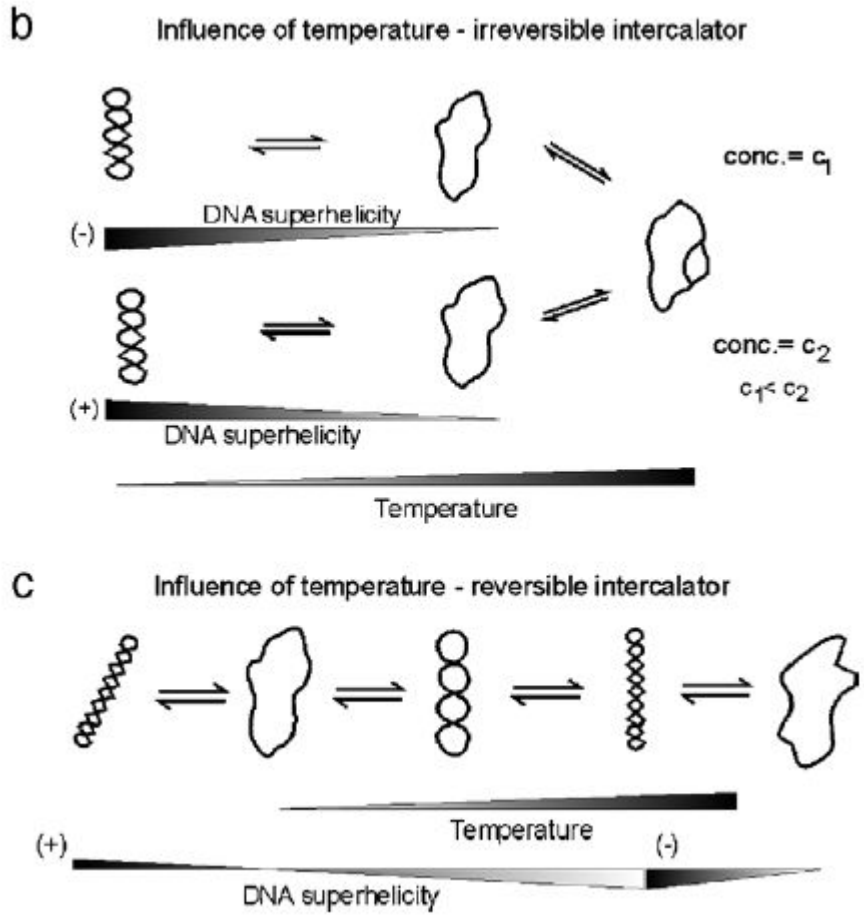
а) создание программ по численному решению соотношения Ламма с получением в одном эксперименте всех параметров

б) отфильтровывание всех стохастических и систематических ошибок в процессе решения

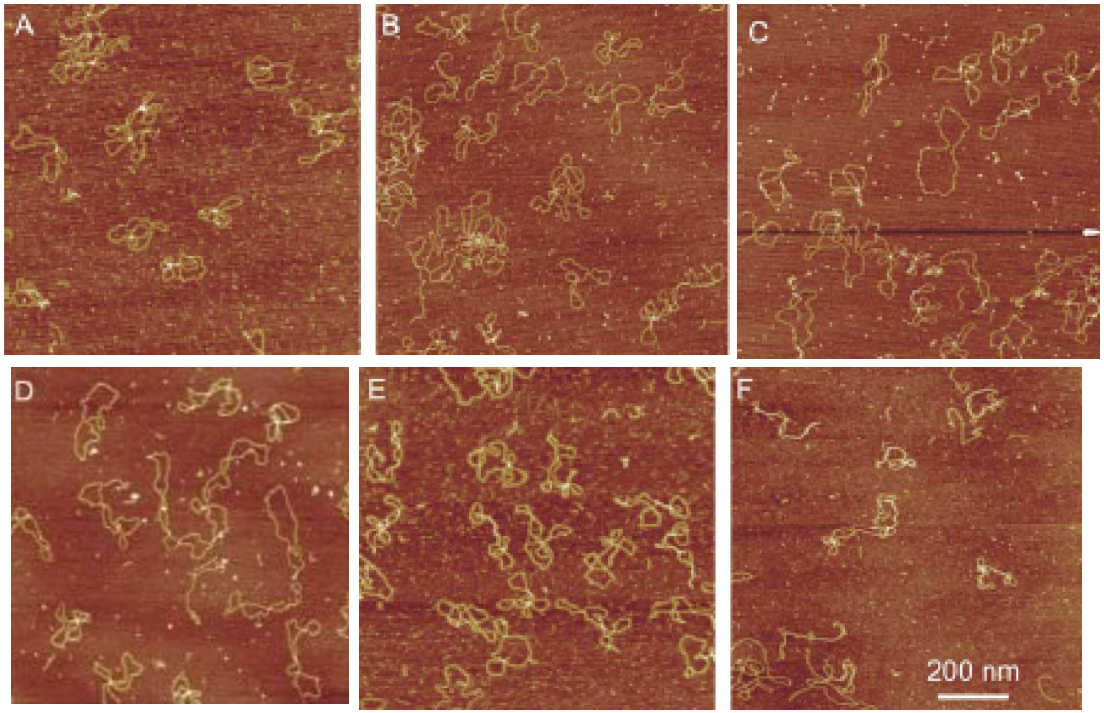
в) введение флюоресцентной детекции

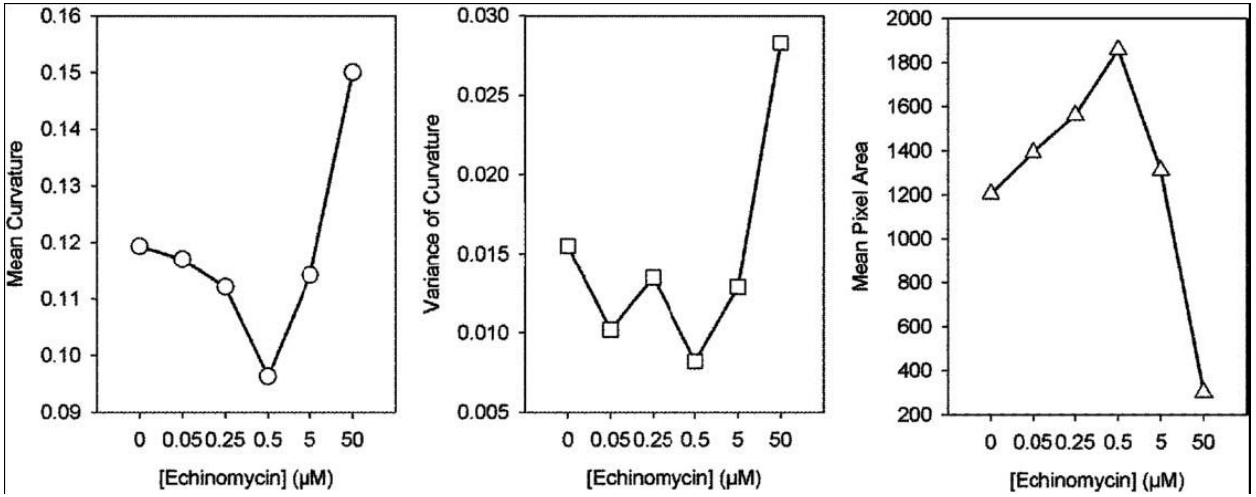
Гель-электрофорез с градиентом температуры

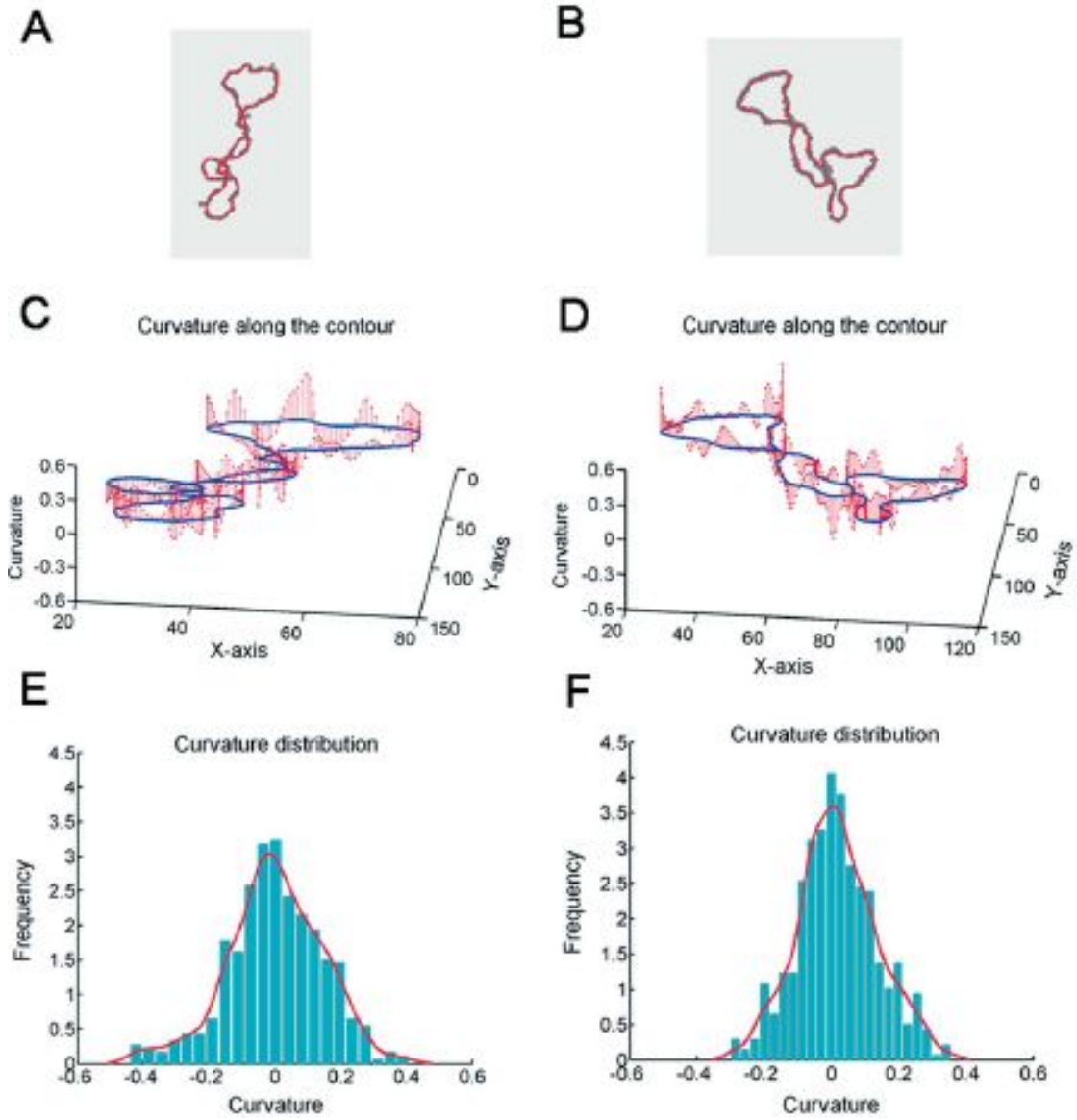




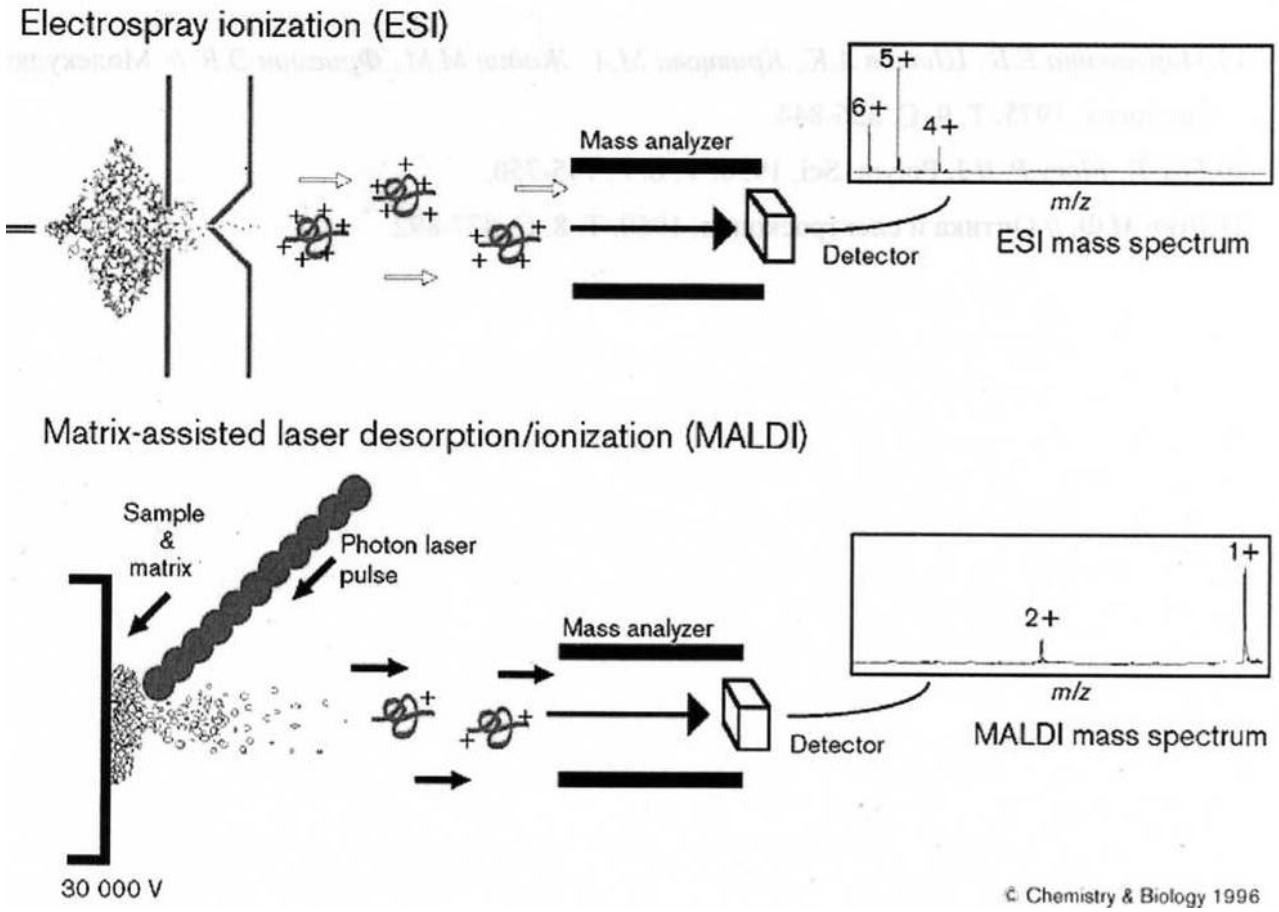
Плазмидная ДНК в атомном силовом микроскопе



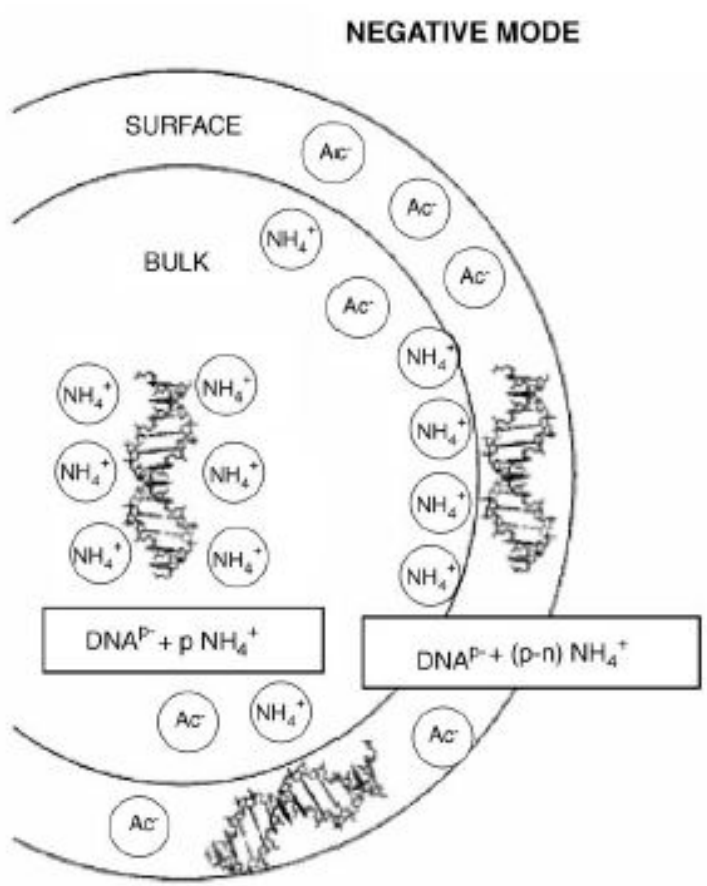


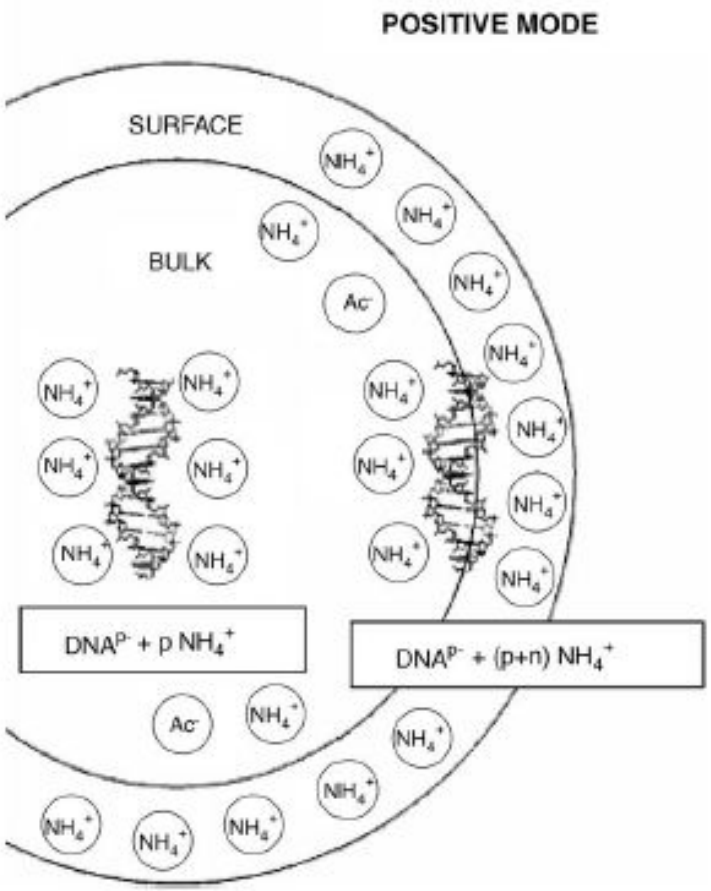

A
B
C
Curvature along the contour
Curvature
X-axis
Y-axis
D
Curvature along the contour
Curvature
X-axis
Y-axis
E
Curvature distribution
Frequency
Curvature
F
Curvature distribution
Frequency
Curvature

Способы создания многозарядных ионов

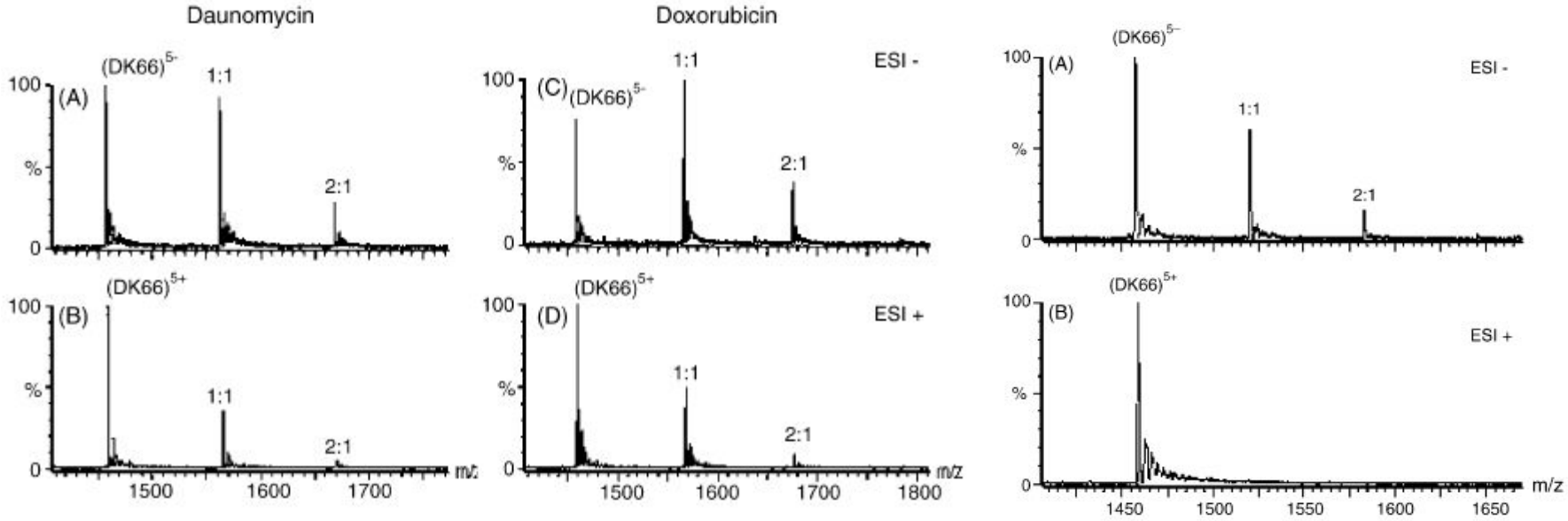


Схематическое представление процесса образования заряженных каплей раствора ДНК в ацетате аммония (отрицательная и положительная моды)

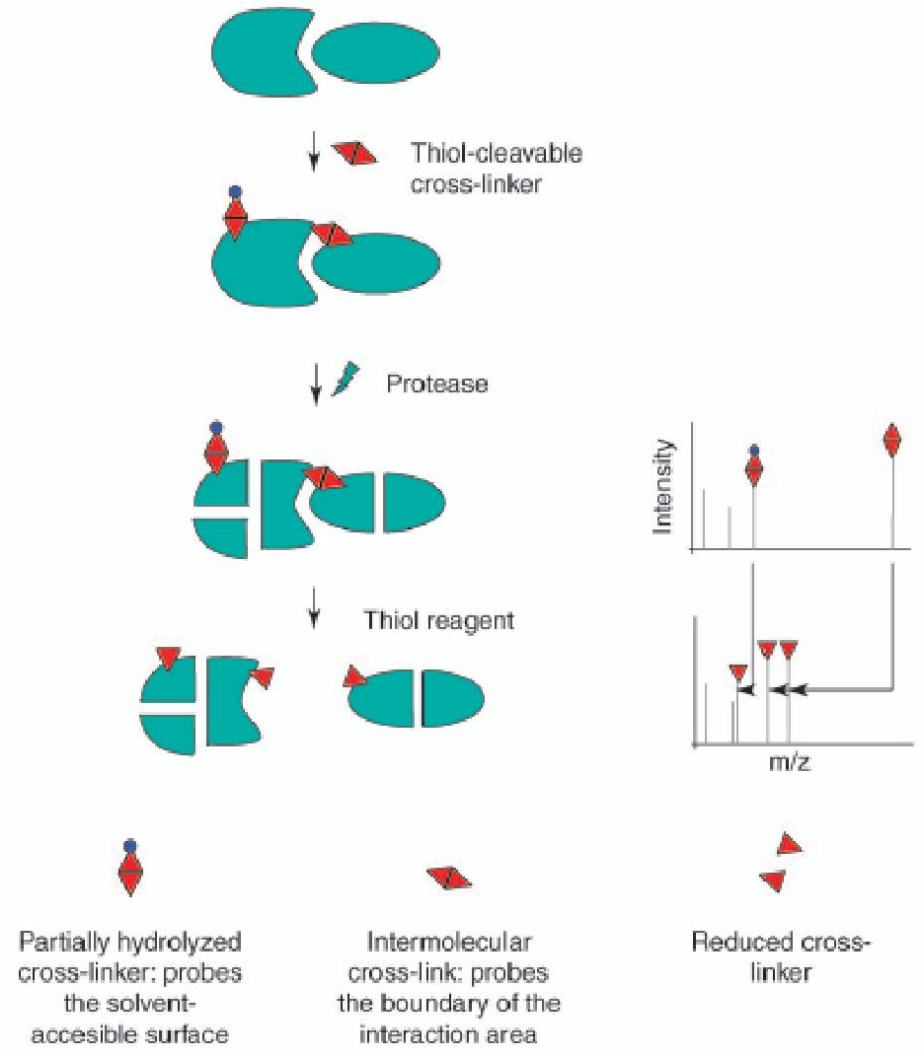


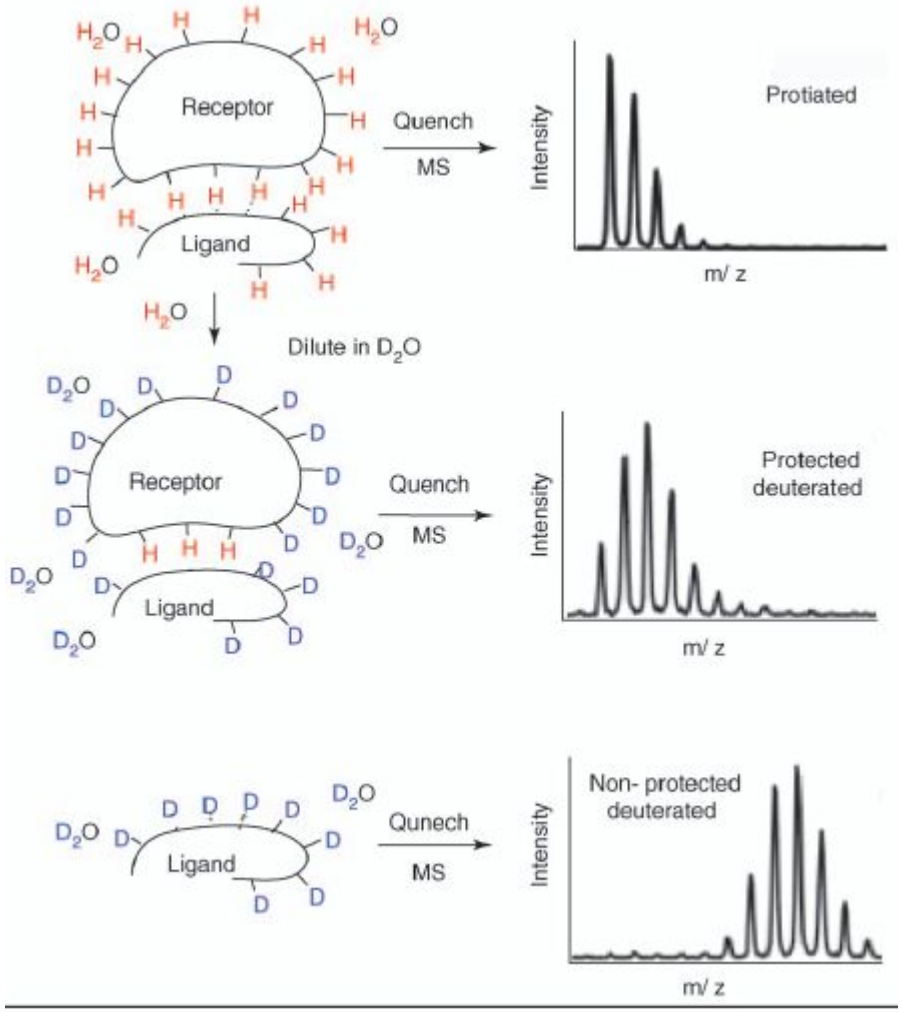


Полные спектры ESI-MS дуплекса d(CGCGAATTCGCG)2 с дауномицином, доксорубицином и бромистым этидием в отрицательной (верх) и положительной (низ) моде

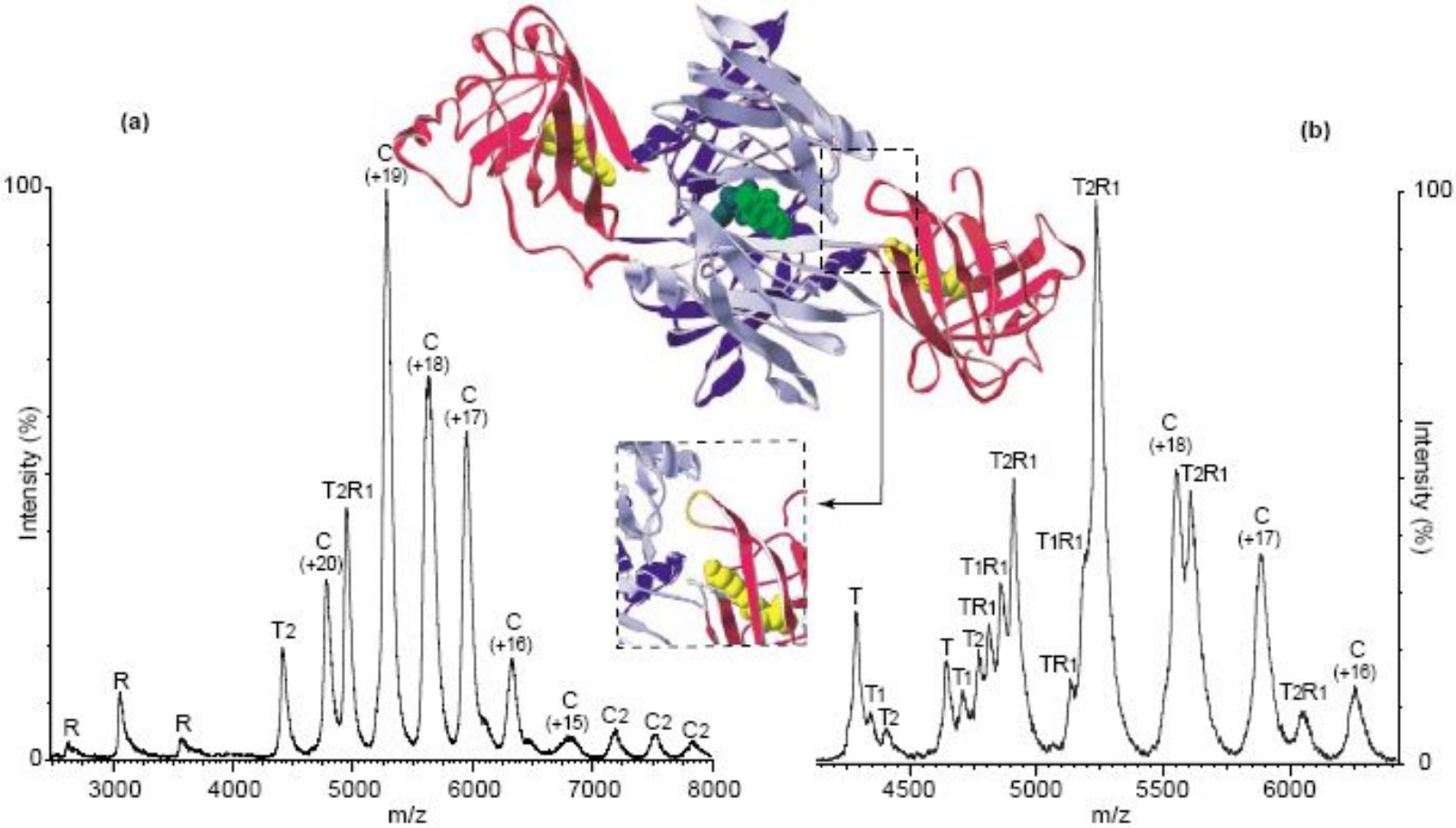


Масс-спектрометрический анализ



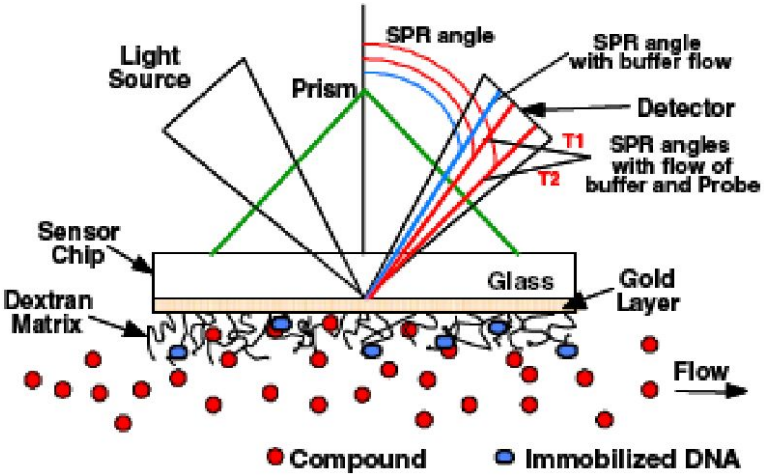


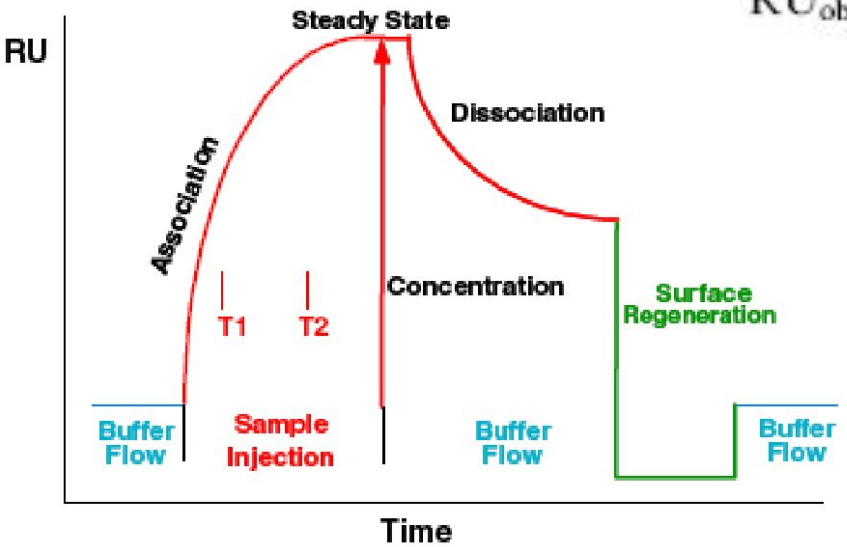
Образование 10-компонентного белкового комплекса с кофакторами и лигандами (a)



Диссоциация мультипротеинового комплекса (b)

Плазмонный резонанс





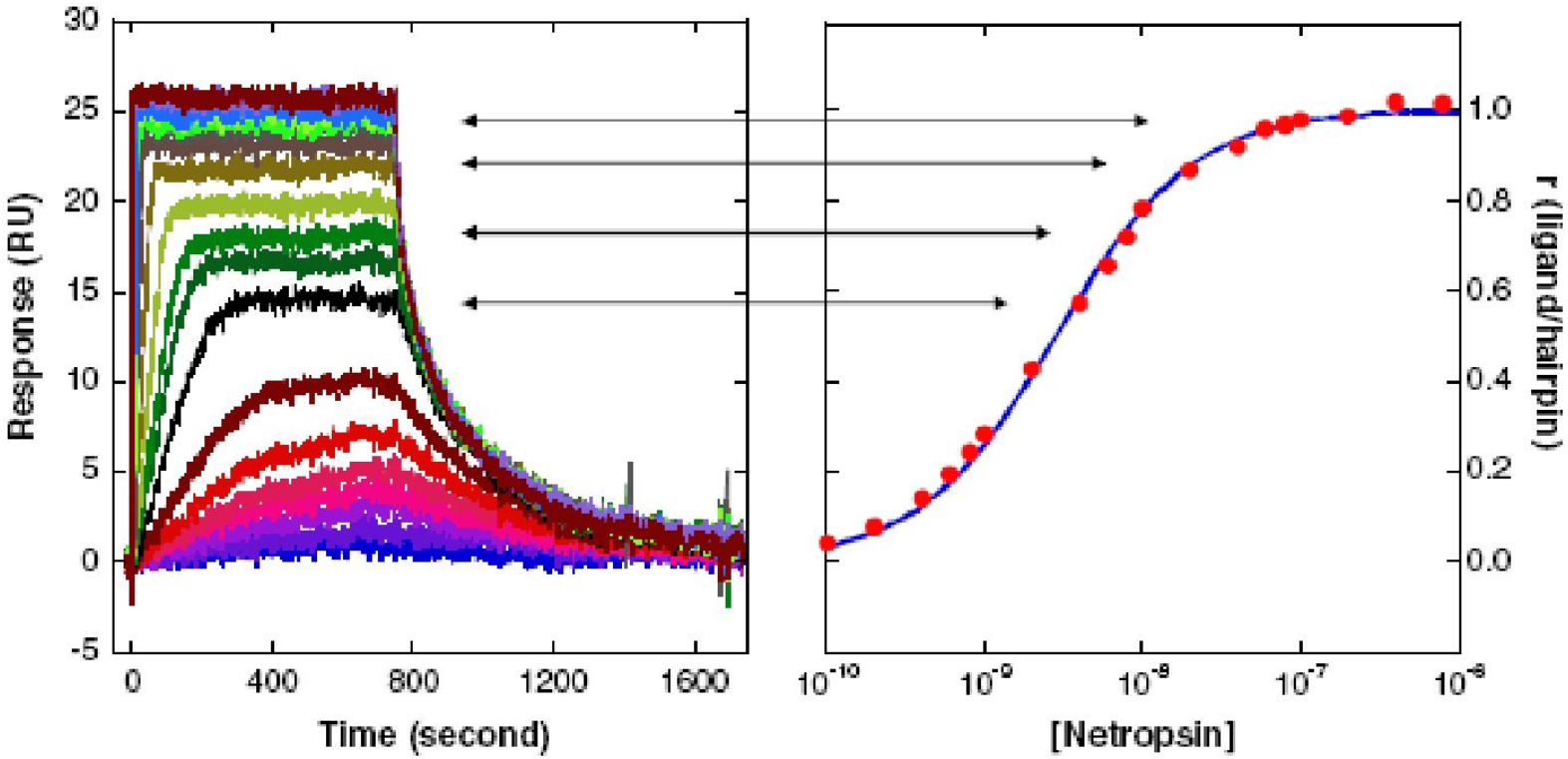
$$RU_{obs} = r \times RU_D \times (M_L/M_D) \times [(dn/dc)_L/(dn/dc)_D],$$

RU_D: amount of immobilized DNA
M_L: molecular weight of ligand
M_D: molecular weight of DNA
$(dn/dc)_L/(dn/dc)_D$: refractive index increment ratio

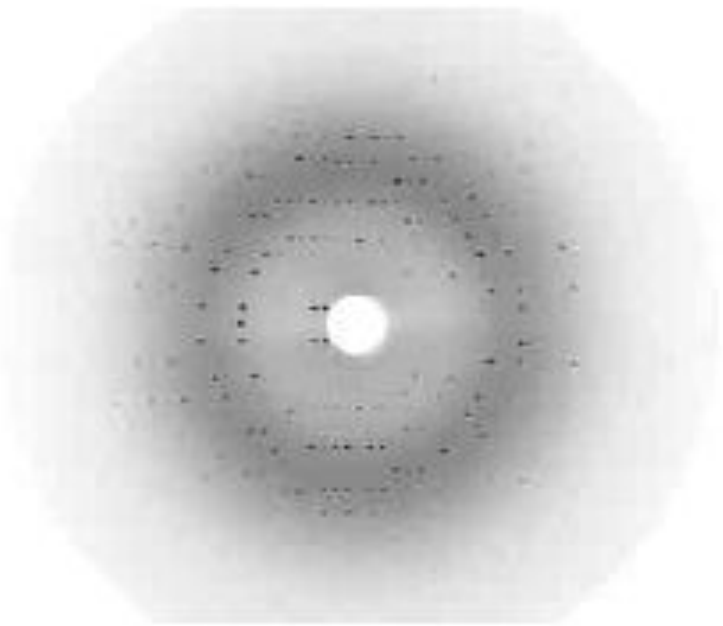
r = moles bound ligand/moles DNA or
$r = RU_{obs}/RU_{pred\text{-}max}$.

$$RU_{obs}/RU_{pred\text{-}max} = r = (K \times L_{free})/(1 + K \times L_{free}).$$

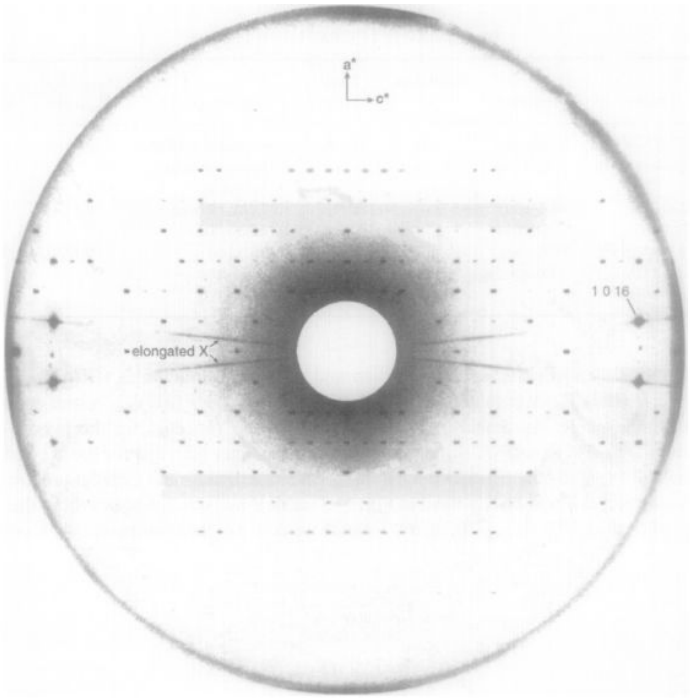
Сенсограмма



Примеры рентгенограмм (дифракционных картин)

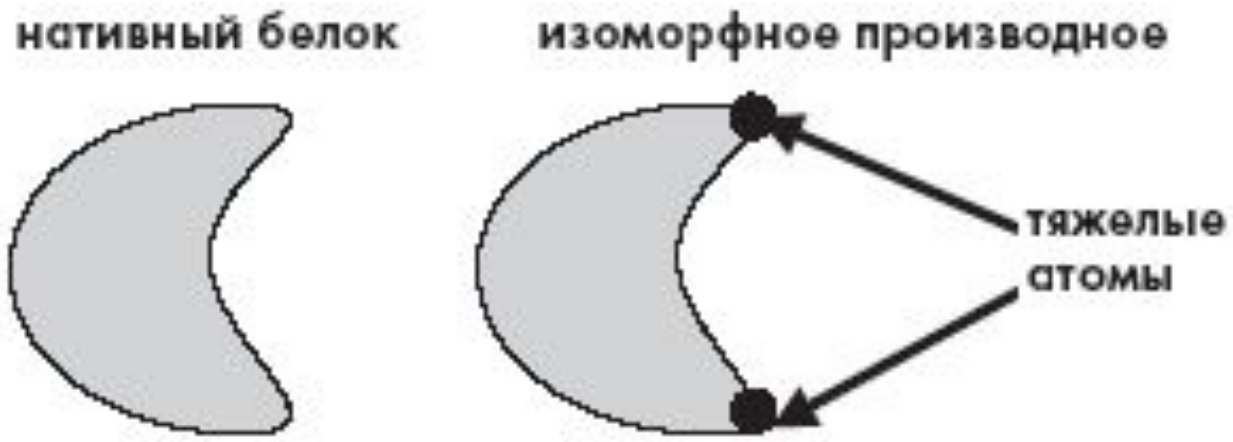


Белок

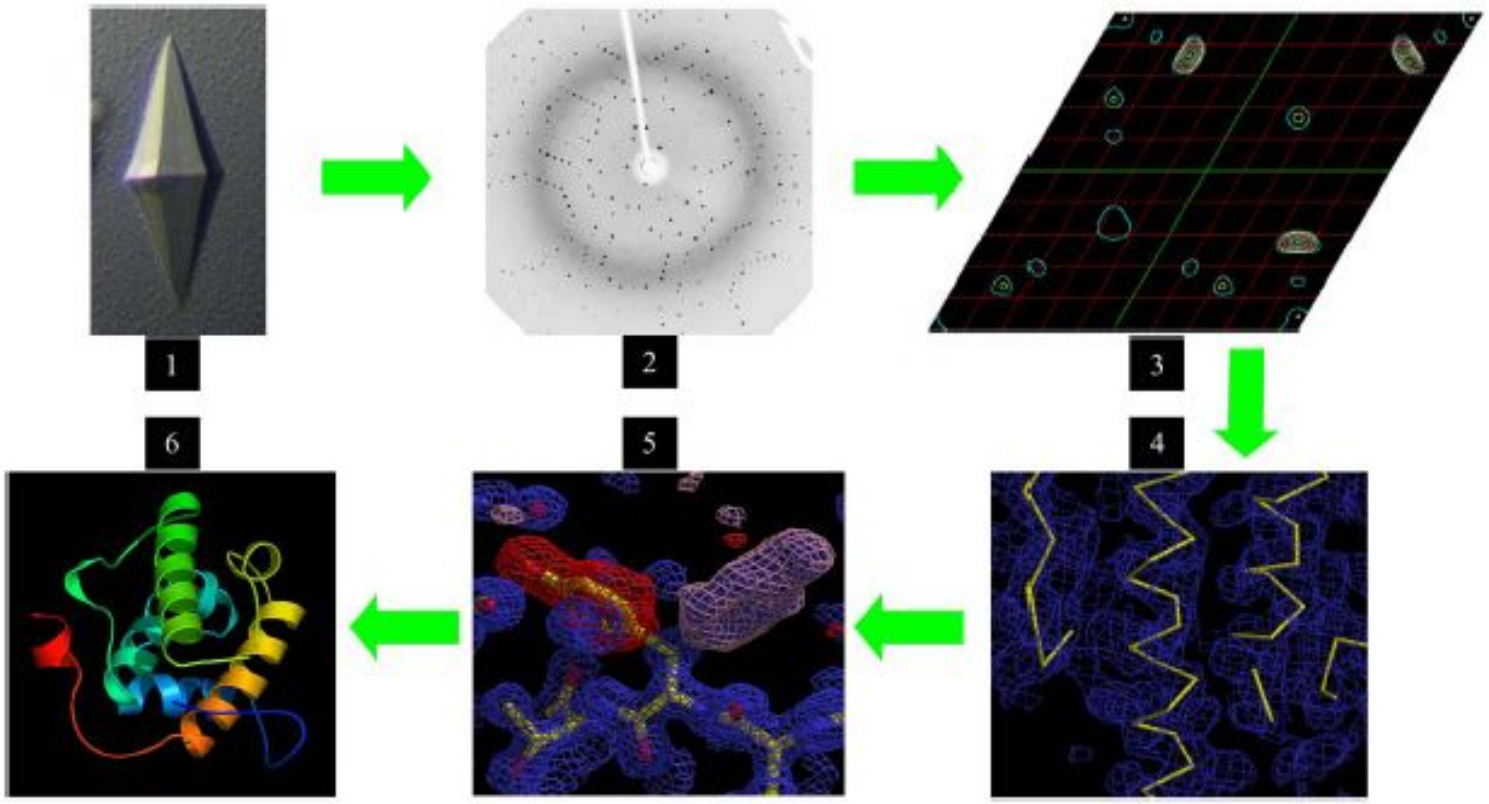


ДНК-порфирин

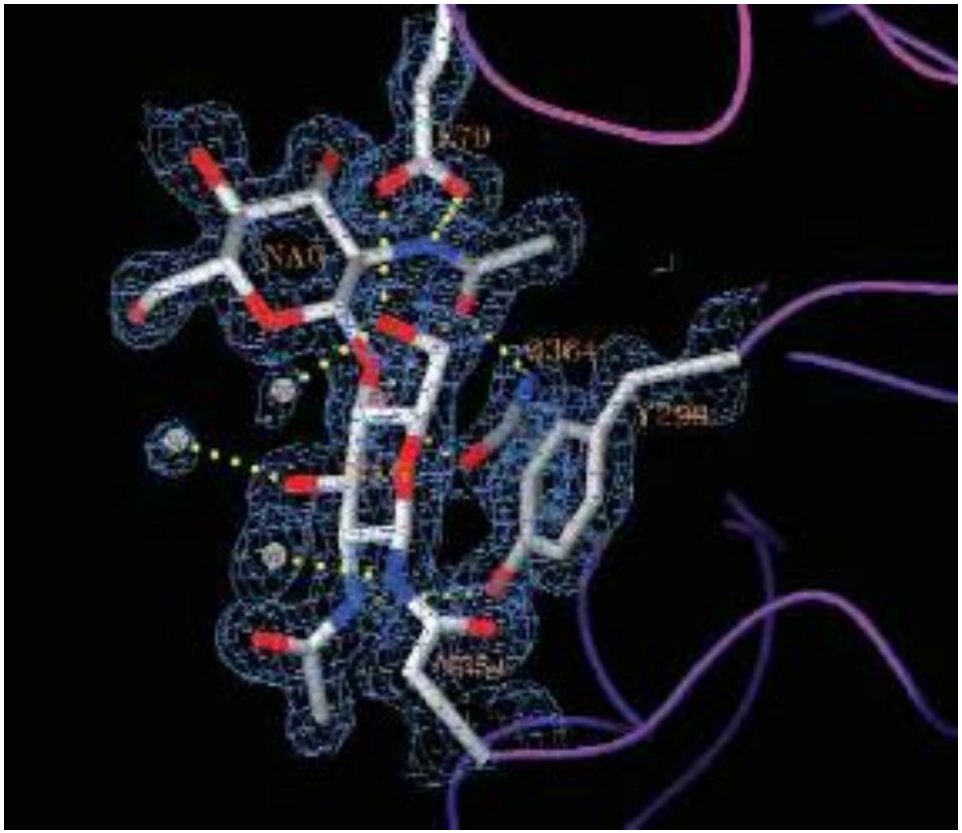
Изоморфное замещение



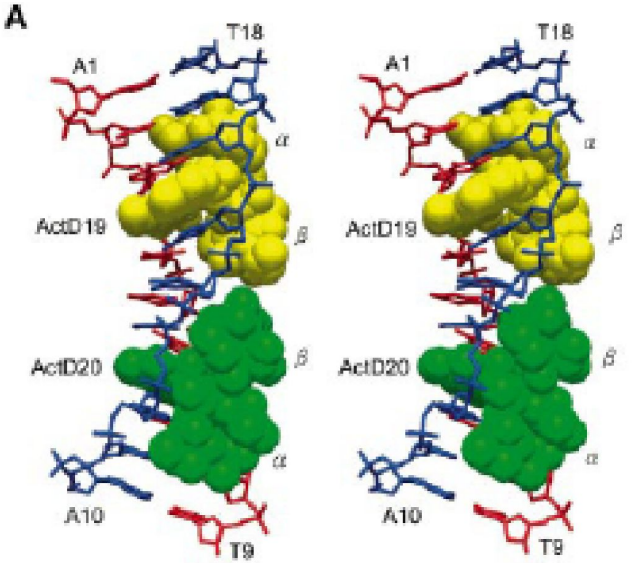
Процесс определения структуры белка по дифракции на одиночном кристалле и использованию явления аномального рассеяния

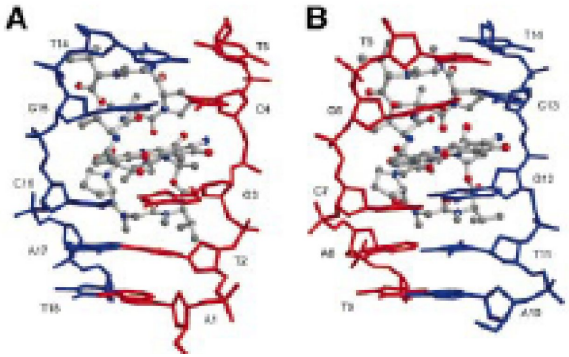


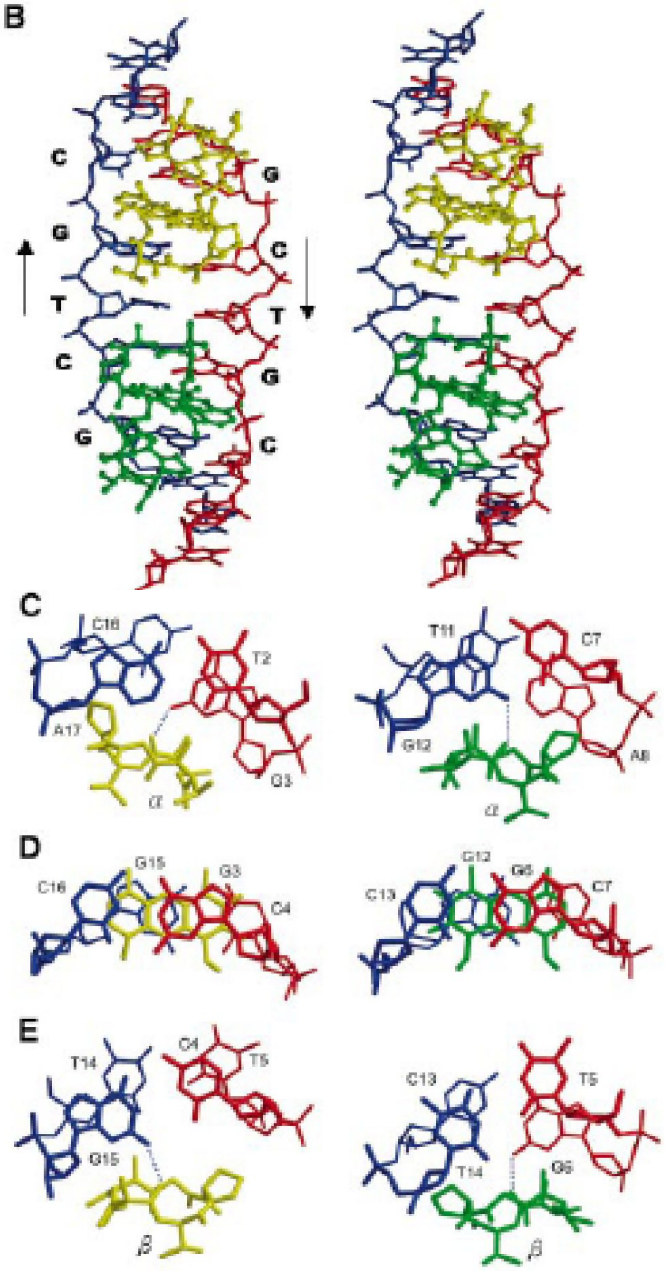
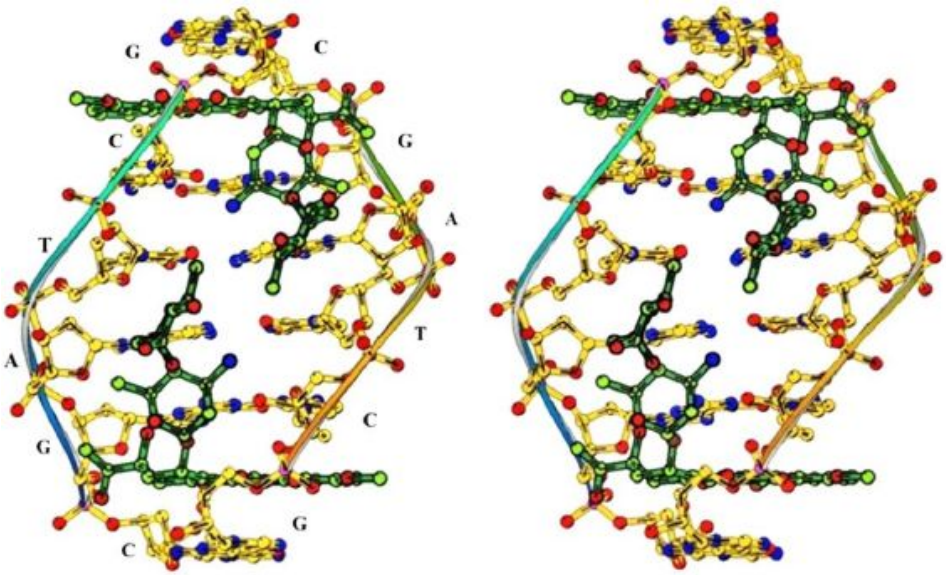
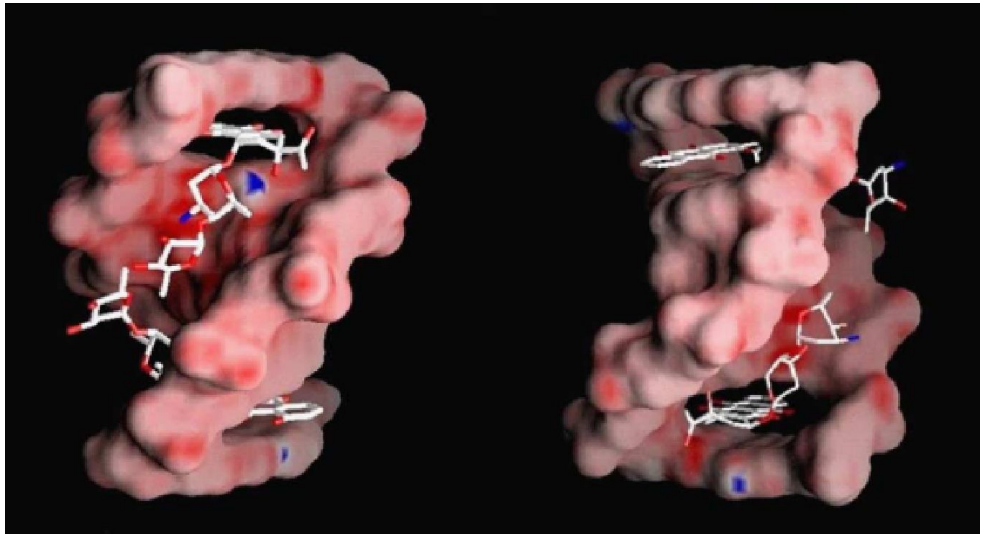
Пример модели, вписанной в карту электронной плотности



Кристаллическая структура комплекса ДНК-актиномицинD







Кристаллическая структуракомплекса ДНК с дисахаридными антрациклинами