

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«КЕМЕРОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

«Метод фракционирования (ультрацентрифугирования)»

реферат по дисциплине цитология

Выполнил студент гр. Б-171

Бернт К.В.

Нагулина О. А.

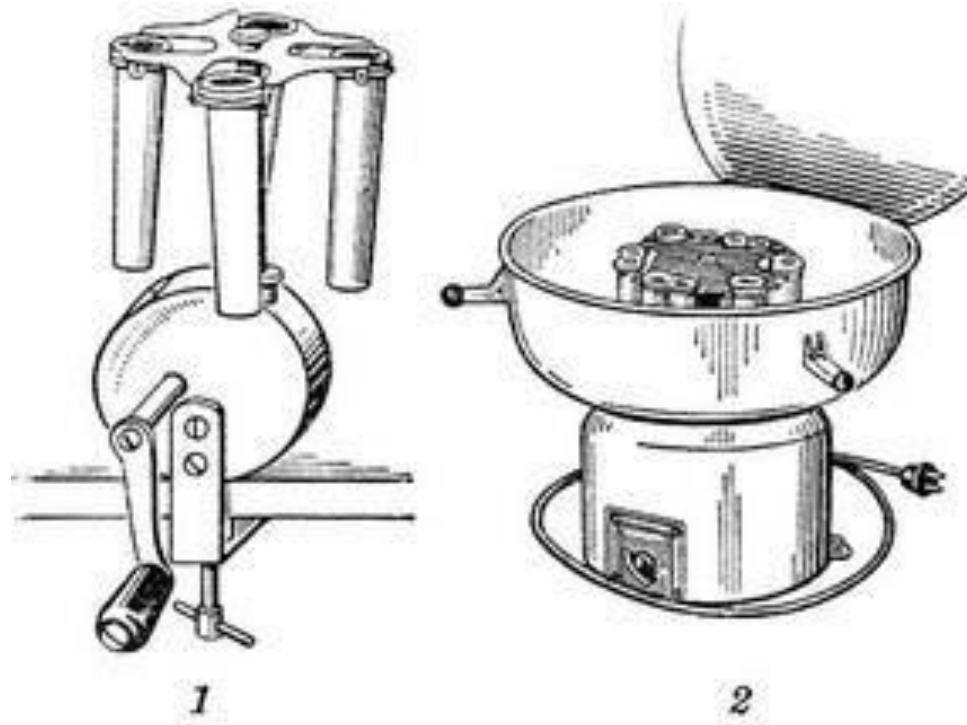
- ▶ Ультрацентрифугирование (ultracentrifugation, лат. *ultra-* – приставка, обозначающая «больше», «сверх», «за пределами», *centrum* – средоточие, центр и *fuga* – бегство, бег) - метод разделения и исследования частиц размером менее 100 нм (макромолекул, органелл животных и растительных клеток, вирусов и др.) в поле центробежных сил с помощью ультрацентрифуги.

Ультрацентрифуги



В клинических лабораториях центрифугирование используют для отделения эритроцитов от плазмы крови, с густков крови и т. д. Для этой цели применяют или ручные центрифуги, или центрифуги с электроприводом, скорость вращения которых можно регулировать.

- ▶ 1 - ручная
- ▶ 2- с электроприводом



Лабораторные центрифуги

1 — клиническая; 2 — настольная; 3 —
— угловая малогабаритная; 4 —
— стационарная; 5 —
— рефрижераторная.



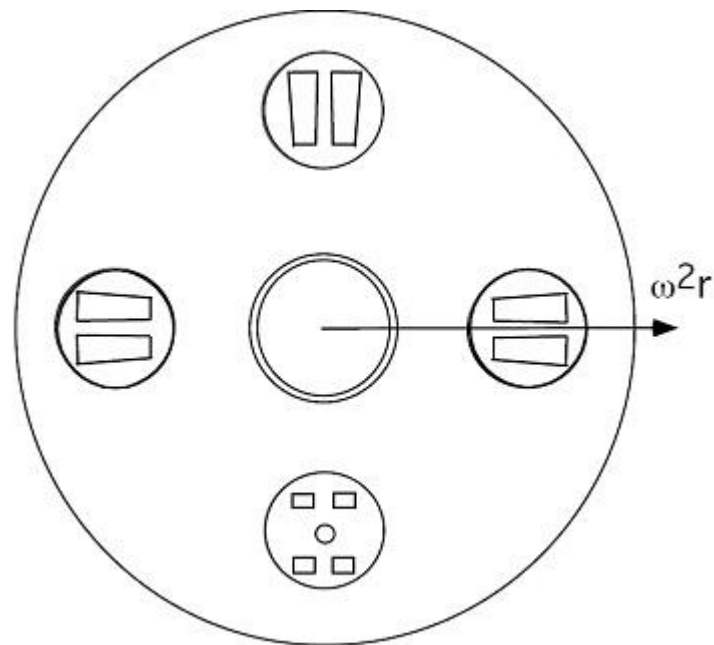
Типы ультрацентрифугирования

- ▶ Различают:
 - 1) препаративное
 - 2) аналитическое

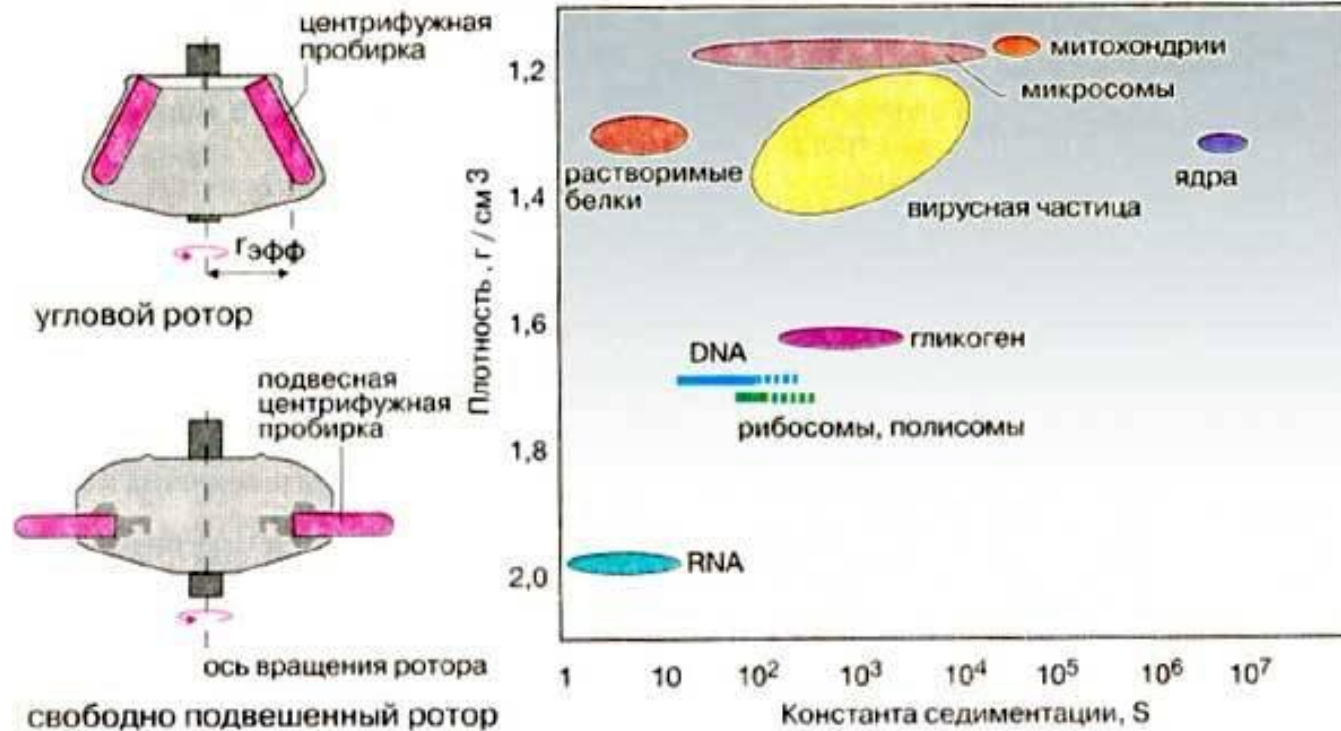
Препаративные центрифугирование используется в случае, когда необходимо выделить часть образца для дальнейших исследований.



Аналитическое центрифугирование применяется для изучения поведения биологических макромолекул в центробежном поле.



Основы метода центрифугирования



g : ускорение свободного падения
 v : скорость седиментации, см/с
 ω : угловая скорость, рад/с
 $r_{эфф}$: эффективный радиус, см

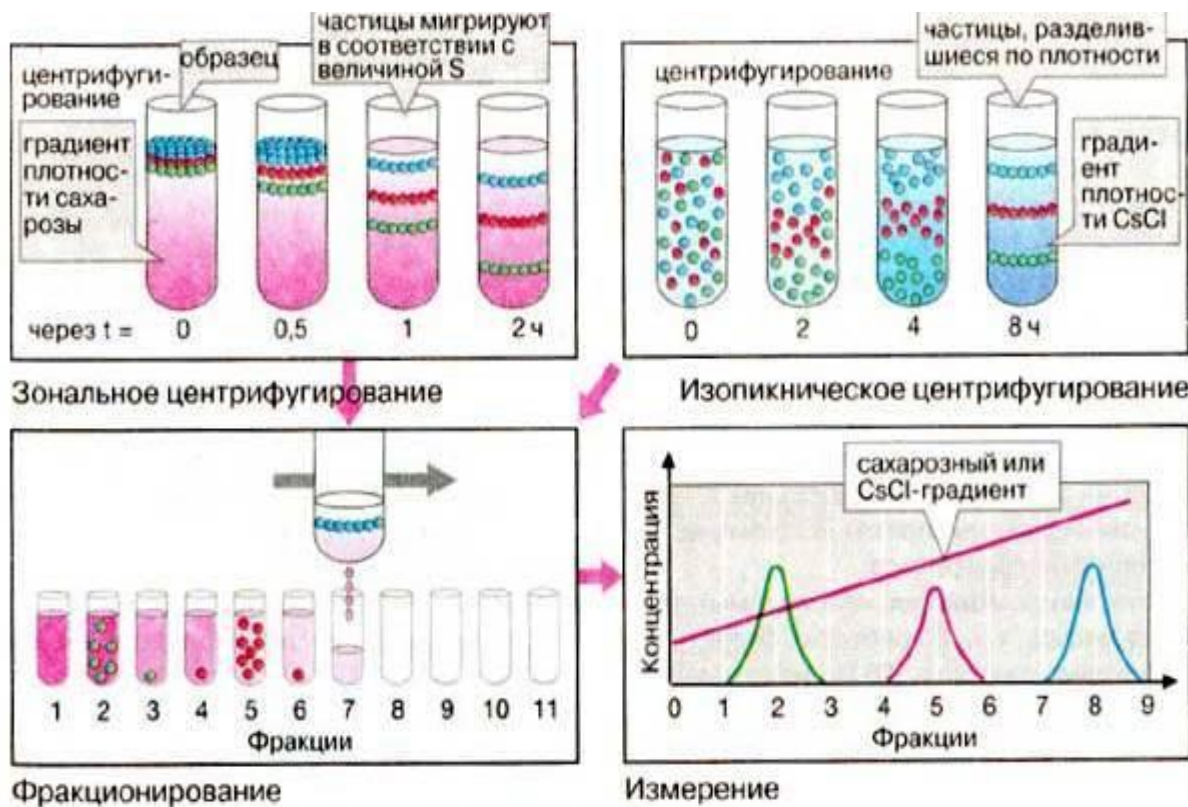
$$g = \omega^2 r_{эфф}$$

$$v = \omega^2 r_{эфф} S$$

$$s = \frac{M \cdot (1 - \bar{v} \rho)}{f}$$

s : коэффициент седиментации ($S = 10^{-13}$ с)
 M : молекулярная масса
 \bar{v} : парциальный объем частицы, см³/г
 ρ : плотность раствора, г/см³
 f : коэффициент трения

Центрифугирование в градиентной плоскости



Типы роторов



▶ Рис. 1. Угловой ротор



Рис. 2. Бакетный ротор



Рис. 3. Ротор с вертикальным расположением пробирок

Типы роторов



- ▶ Рис. 4. Ротор с практически вертикальным расположением пробирок

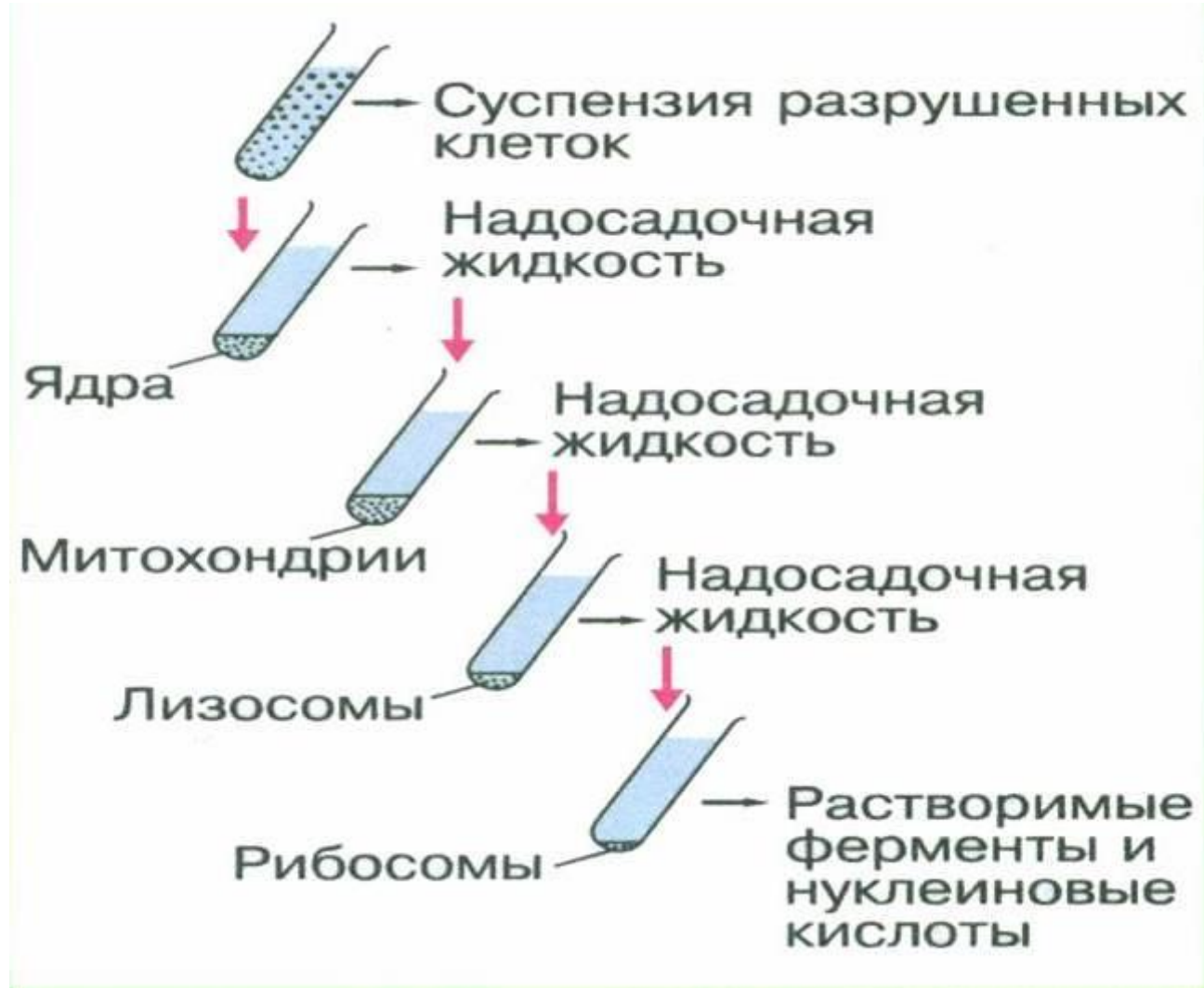


- ▶ Рис . 5. Проточный ротор

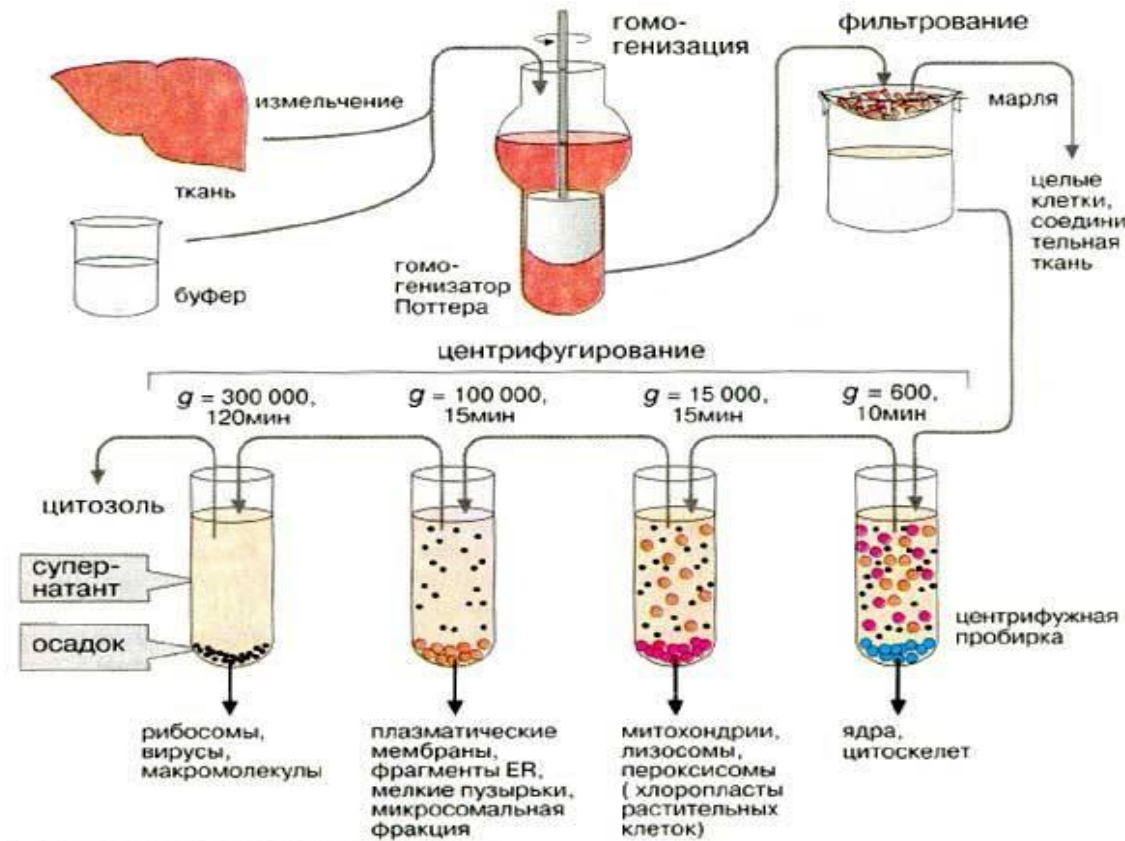


- ▶ Рис. 6. Зональный ротор

Метод дифференциального центрифугирования

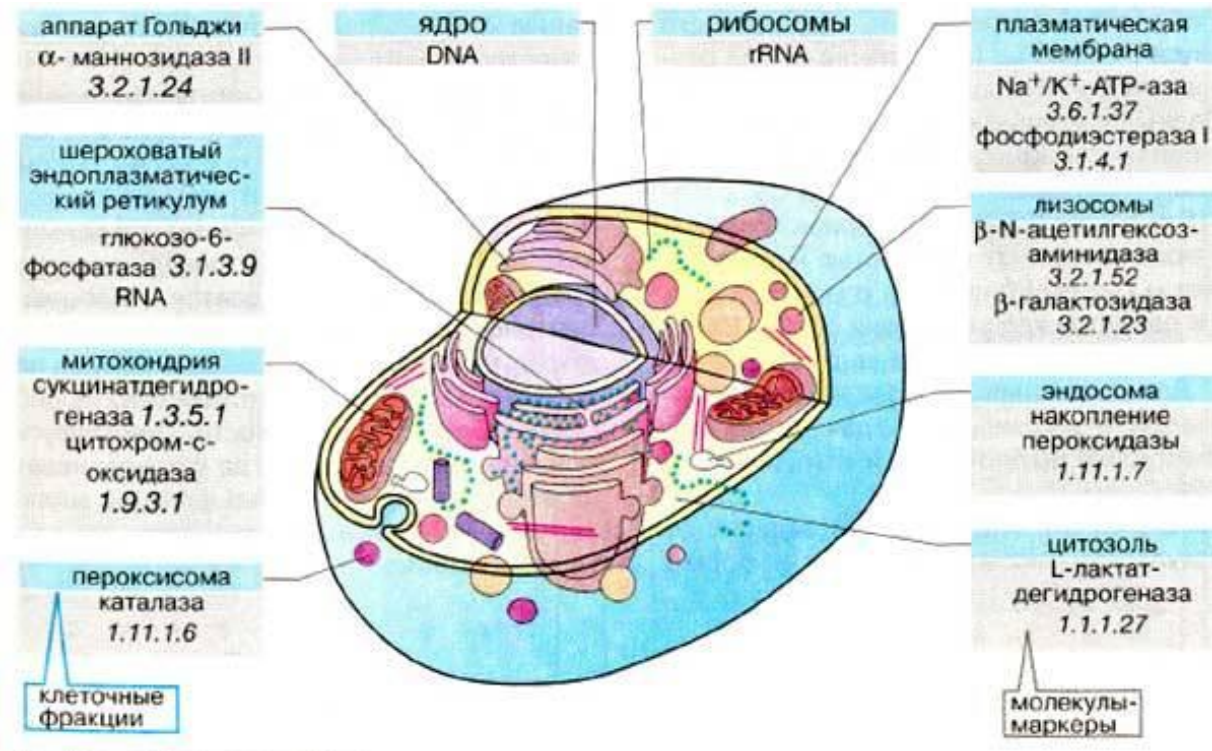


Фракционирование клеточных структур



► Рис. 7. Выделение клеточных органелл

Фракционирование клеточных структур



► Рис. 8. Молекулы-маркеры

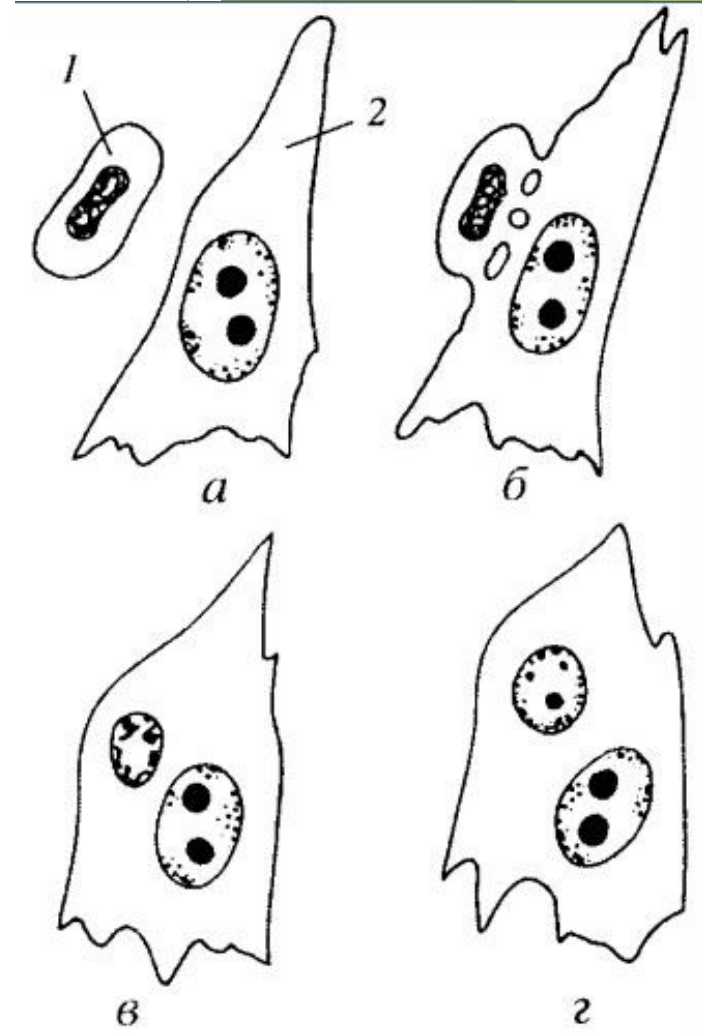
Клеточная инженерия

Образование гетерокариона из ядерного эритроцита курицы и фибробласта человека.

а) две отдельные клетки;

б) слияние их плазматических мембран и объединение клеточного содержимого;

в,г) этапы активации ядра эритроцита.



Клеточная инженерия

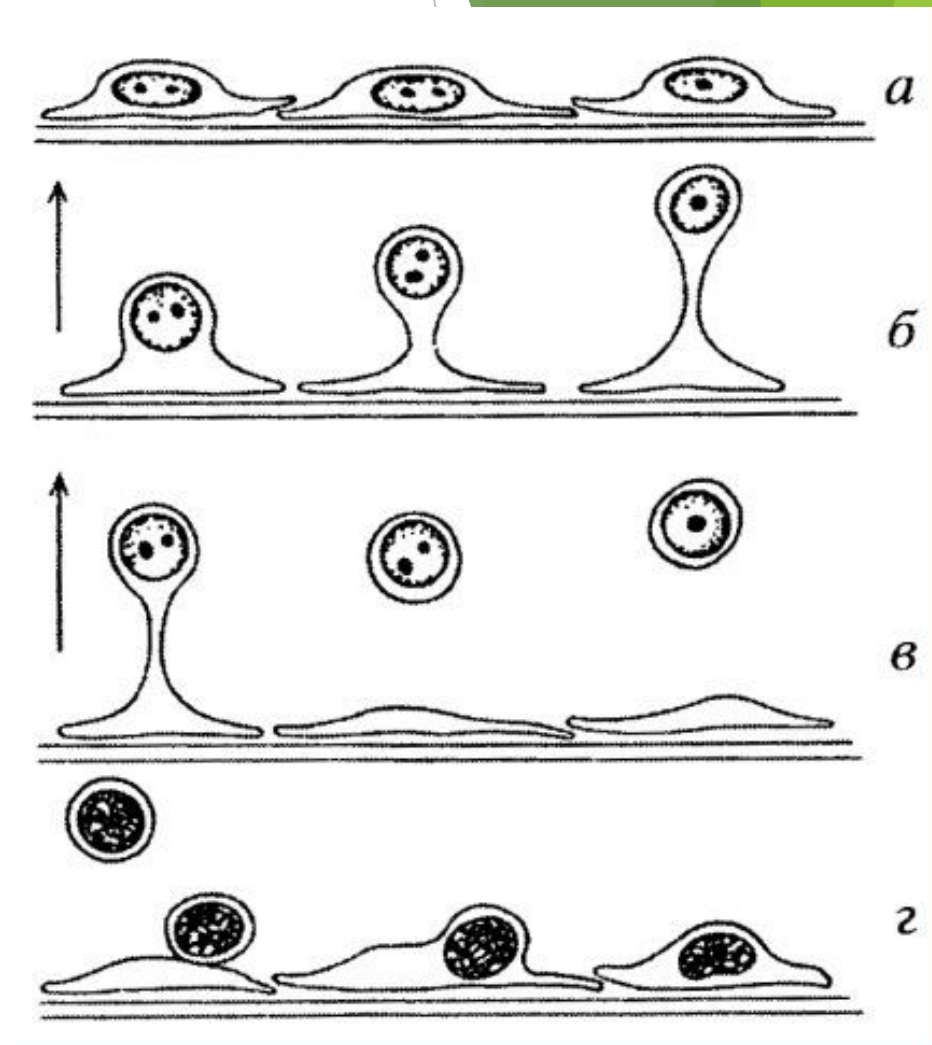
Получение кариопластов и цитопластов.

а) клетки культуры, обработанные цитохалазином;

б) центрифугирование клеток;

в) отделение участка цитоплазмы с ядром (кариопласт), оставшийся участок - цитопласт;

г) реконструкция клеток из разнородных кариопластов и цитопластов.



Заключение

- ▶ В настоящее время метод ультрацентрифугирования является наиболее точным и теоретически обоснованным;
- ▶ В ультрацентрифуге при больших частотах вращения создается сильное центробежное поле, под воздействием которого происходит седиментация (осаждение) макромолекул в растворе;
- ▶ Метод дает возможность определять молекулярные массы в очень широком интервале от 50 до 50-10.

Спасибо за внимание!

