

Отдел Физических методов измерений

2020-2021

Штаты отдела

Зав.отд.	1 ст.	Орлов В.Н.
М.н.с.	1 ст.	Махотенко А.В. (до 06.2021)
Инж.	1/6 ст.	Мичурина В.Н.
Программист	1 ст.	Магретова Н.Н.
Мех. ПСП	1 ст.	Калмыков П.В.

Приборы отдела

- Аналитическая ультрацентрифуга Beckman E
- Зетасайзер Nano-ZS (Malvern, UK)
- Титрующий калориметр (ITC MicroCal)
- Сканирующий калориметр ДАСМ-4

Аналитическая ультрацентрифуга Beckman E

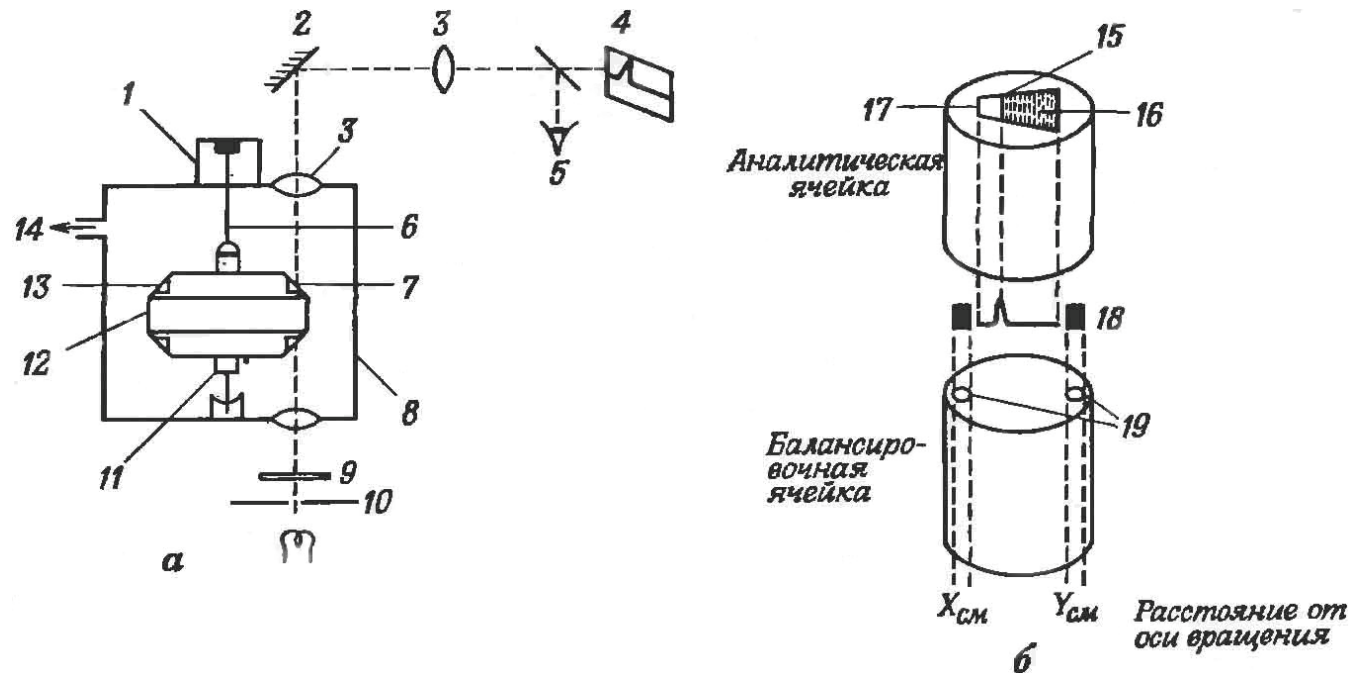


Скорость (об/мин)	от 1000 до 60000
Диапазон длин волн (нм)	от 200 до 800
Количество образцов	от 3 до 11

Аналитические ультрацентрифуги и их применение

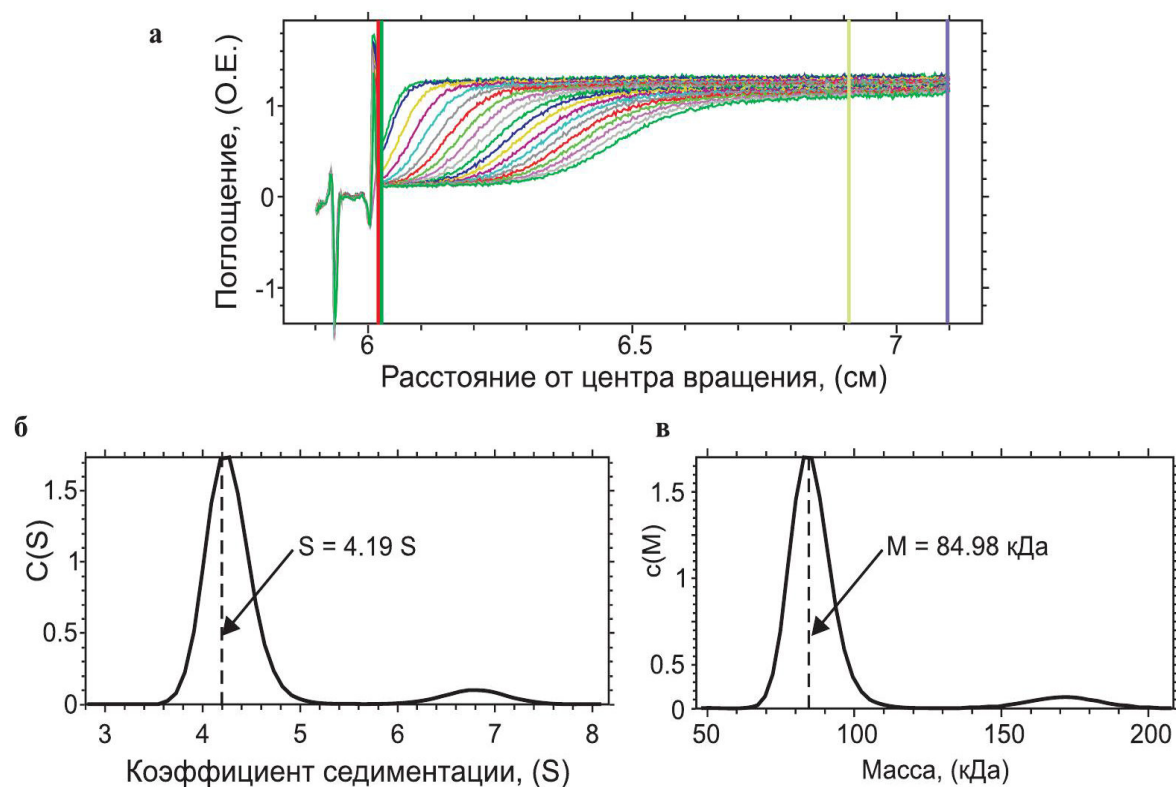
В отличие от препаративного центрифугирования, целью которого является разделение веществ и их очистка, *аналитическое ультрацентрифугирование* применяется в основном для изучения седиментационных свойств биологических макромолекул и других структур. Поэтому в аналитическом центрифугировании применяют роторы и регистрирующие системы особой конструкции: они позволяют непрерывно наблюдать за седиментацией материала в центробежном поле.

Аналитические ультрацентрифуги могут развивать скорость до 100 000 об./мин, создавая при этом центробежное ускорение до 800 000 g



1 - мотор; 2 - зеркало; 3 - линза; 4 - фотопластинка; 5 - окуляр; 6 - гибкий вал; 7 - положение аналитической ячейки; 8 - камера ротора; 9 - светофильтр; 10 - источник света; 11 - термистор; 12 - ротор; 13 - положение балансировочной ячейки; 14 - к насосу; 15 - граница; 16 - раствор; 17 - растворитель; 18 - ширен-диаграмма; 19 - индексные отверстия.

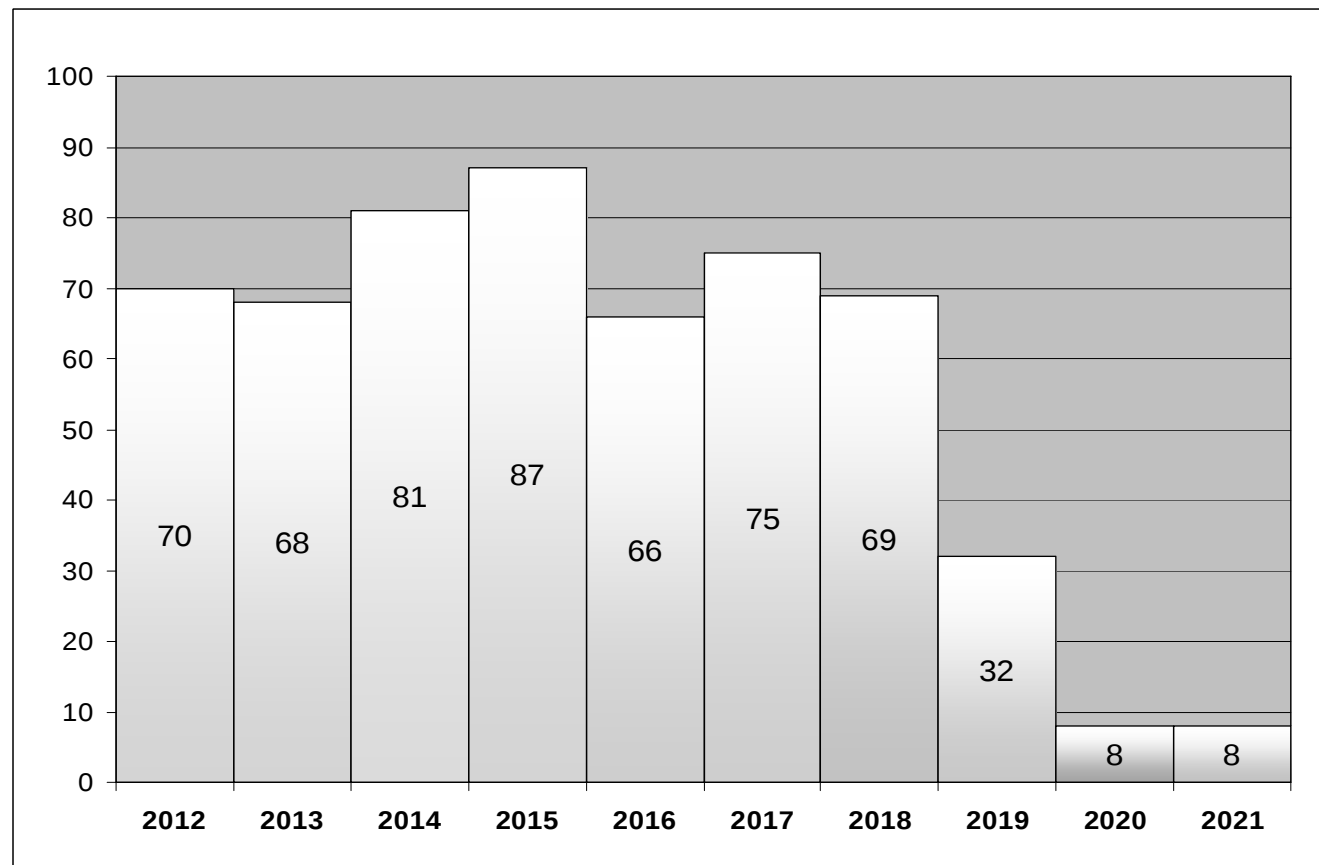
В биологии аналитическое ультрацентрифугирование применяется для определения молекулярных масс макромолекул по скорости седиментации, а также для исследования конформационных изменений в макромолекулах. А также для оценки чистоты препаратов ДНК, вирусов и белков.



а) Седиментограмма фактора транскрипции NFκB. б) и в) Восстановленные распределения в координатах $c(s)$ от s и $c(M)$ от M , соответственно.

[Сердюк И.Н., Евсеева О.Н. Новые возможности аналитического ультрацентрифугирования для анализа гидродинамических свойств белков // *Успехи биологической химии*, 2006, т.46, стр.349-372.]

Загрузка ультрацентрифуги



2020	
БЖК	5
ХБ	2
Энзимология	1
Всего	8

2021	
ВМС	3
ИНБИ	5
Всего	8

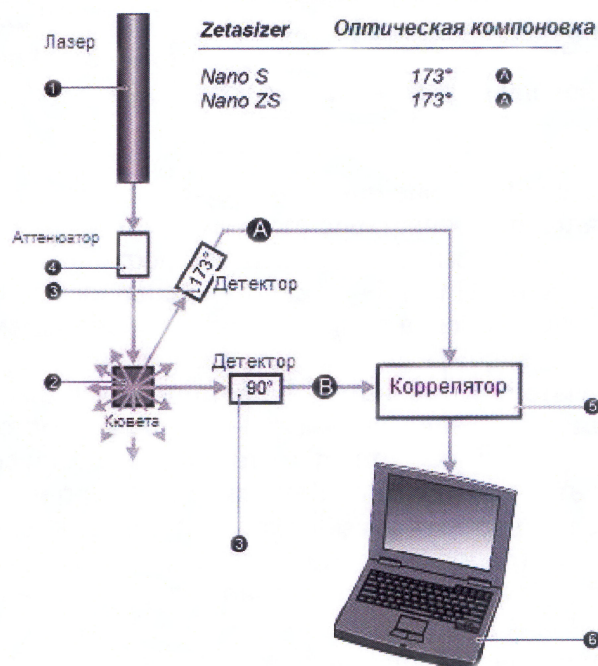
Зетасайзер Nano-ZS (Malvern, UK)



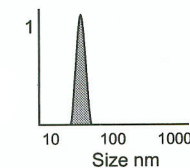
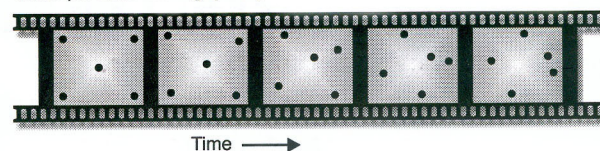
длина волны	633 нм (He-Ne)
температура	2 - 90 °C
объем образца (min)	12 мкл

размер частиц (гидродинамич. диаметр)	0.6 нм - 6.0 мкм
размер частиц для дзета-потенциала	5.0 нм - 10.0 мкм

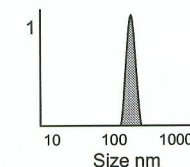
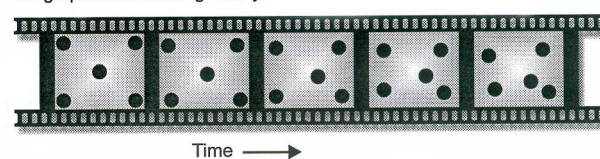
Система характеристики частиц Malvern Zetasizer Nano (фотонная корреляционная спектроскопия)



Small particles moving quickly



Large particles moving slowly



Гидродинамический радиус R_H определяется как радиус твердой сферы, которая диффундирует с такой же скоростью как реальная частица при тестировании. Для этого используется уравнение Стокса-Эйнштейна:

$$R_H = \frac{kT}{6\pi\eta D}$$

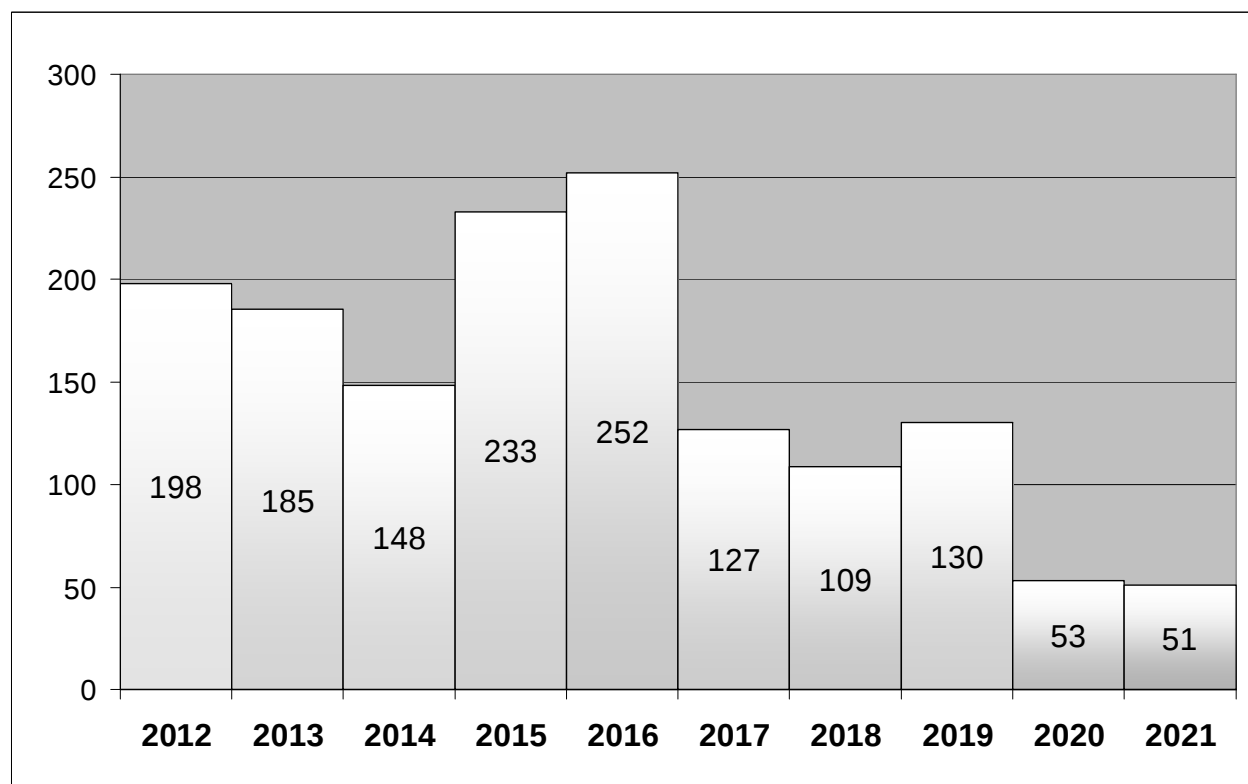
где k – постоянная Больцмана, T – температура, η – вязкость дисперсанта, D – коэффициент диффузии

Допущения

- 1) Частицы представляются твердыми сферами;
- 2) Все частицы имеют эквивалентную и гомогенную плотность.



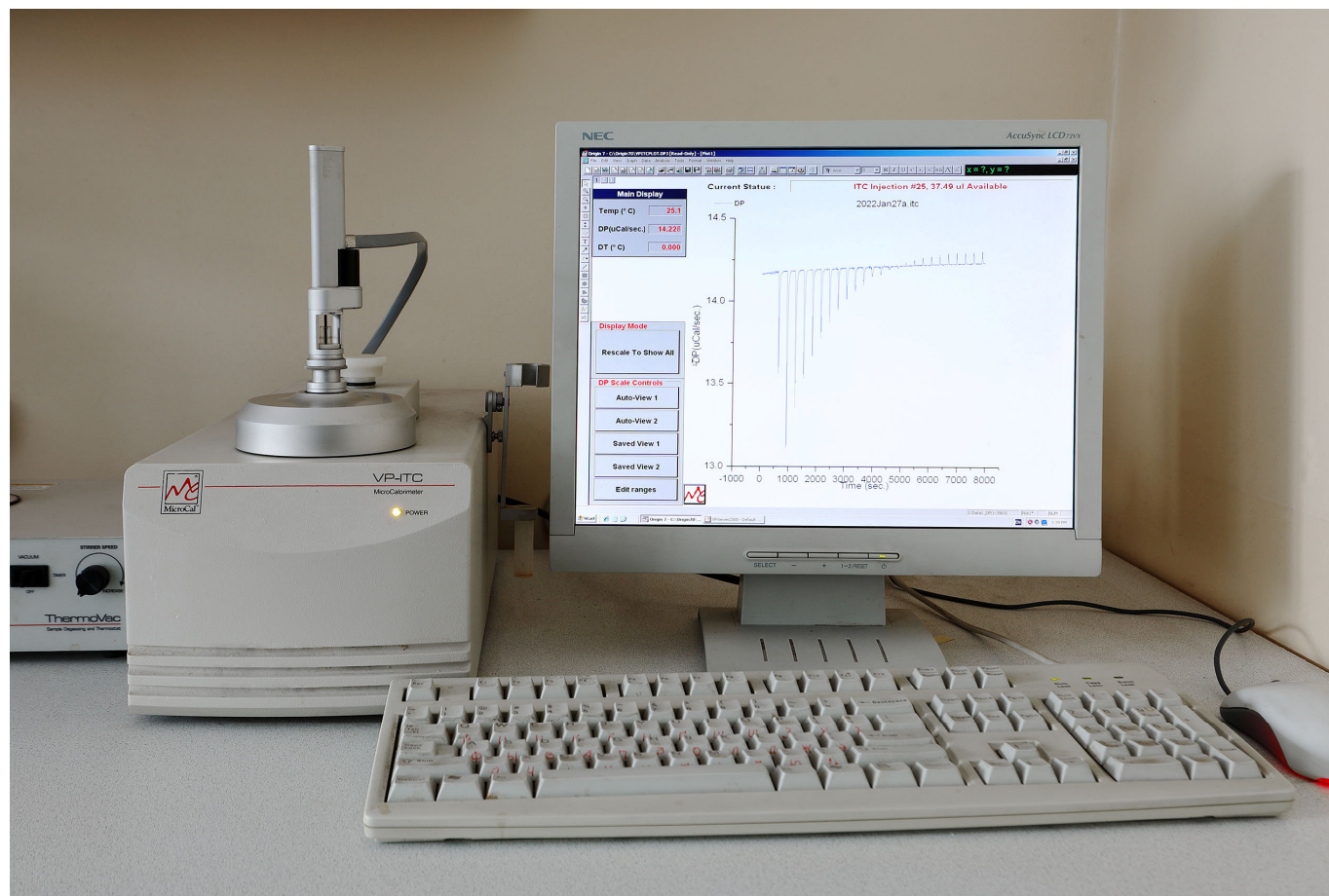
Загрузка Nano-ZS



2020	
БЖК	7
Отд.Хроматогр	1
ВМС	5
БВР	31
Разное	7
Тесты	2
Всего	53

2021	
БЖК	26
Отд.Хроматогр	2
ХПС	13
ХБ	4
Разное	6
Всего	51

Титрующий калориметр (ITC MicroCal)



Полный объем ячейки	1.8 мл
Рабочий объем ячейки	1.4 мл
Материал ячейки	Hastelloy

Средний шум	2 nW
Инерционность	15 сек
Рабочий интервал	2-80 °C

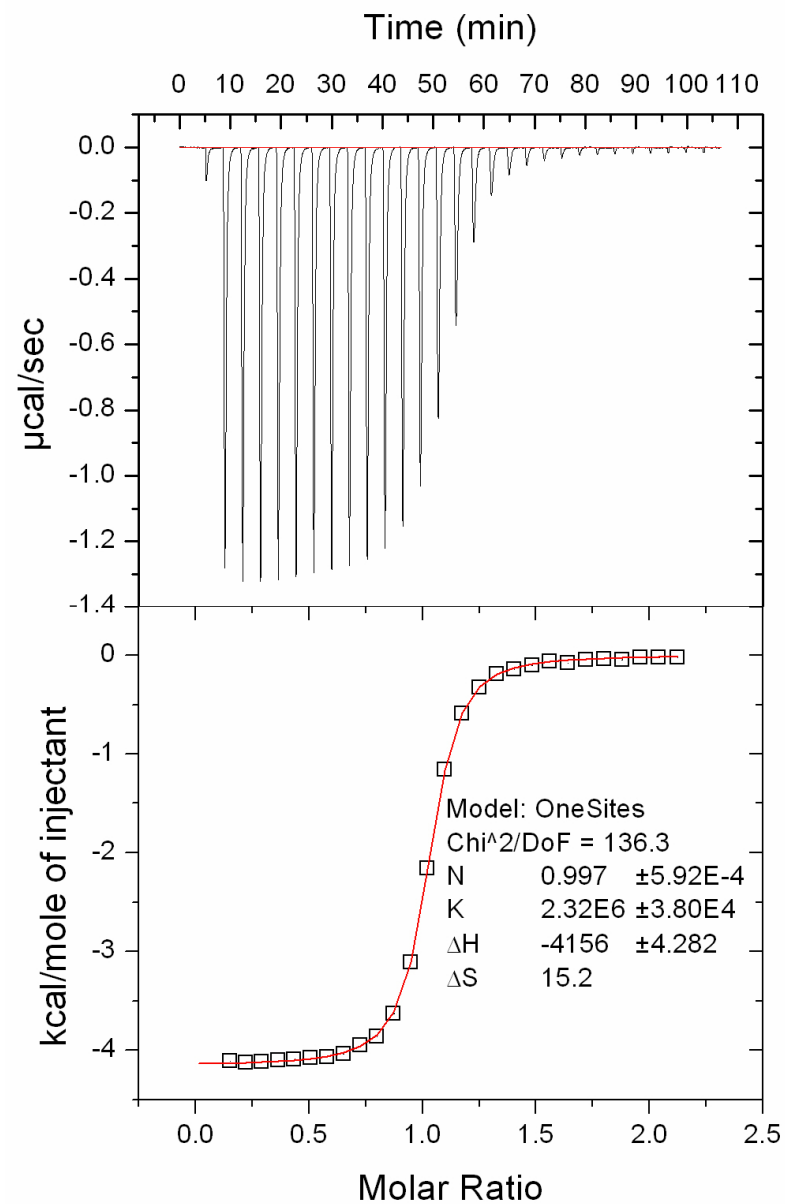
Изотермическая
Калориметрия
Титрования



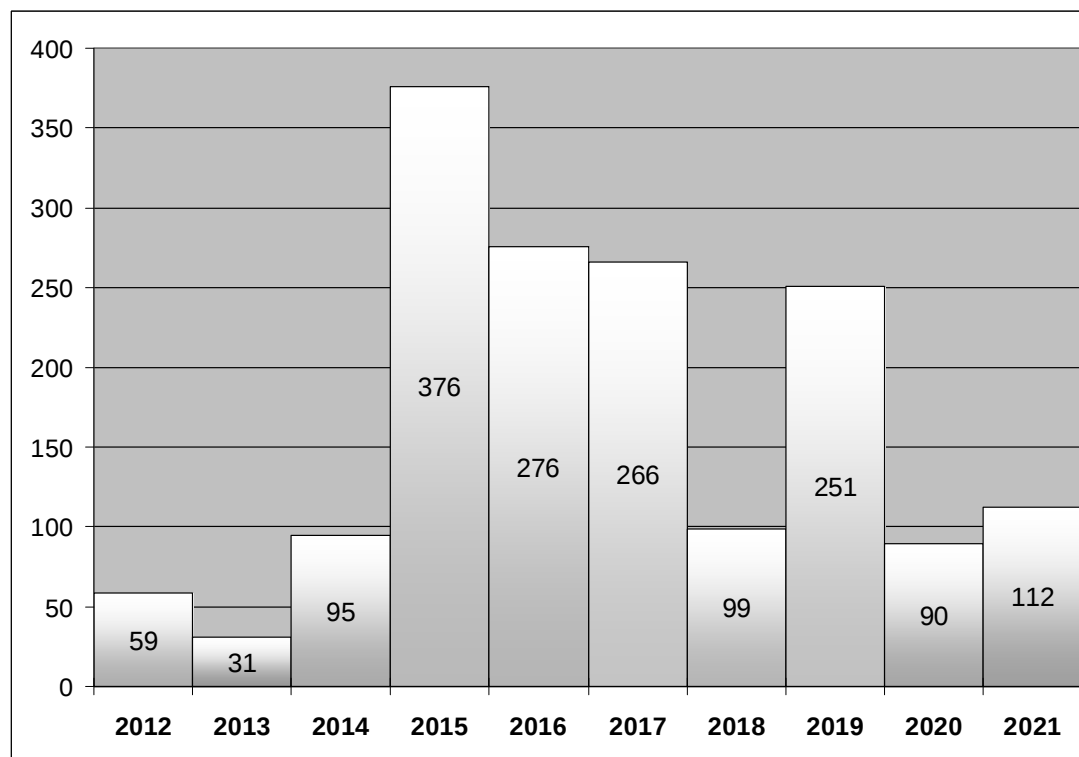
Изотерма связывания



Стехиометрия, N
Константа связывания, K_b
Энтальпия связывания, ΔH_b



Загрузка Microcal-ИТС



2020	
ХПС	24
ВМС	18
МОО	14
ИНЭОС	31
ТехОбсл	3
Итого	90

2021	
БЖК	5
ХБ	53
ИНЭОС	44
Биофак	8
ТехОбсл	2
Итого	112

Сканирующий калориметр ДАСМ-4



Объем ячейки	0.87 мл (рабочий 0.472 мл)
Ячейка	Капилляр, платина
Интервал температур	– 10 .. 130 °C
Скорость нагрева	0.125 .. 2 °C/мин

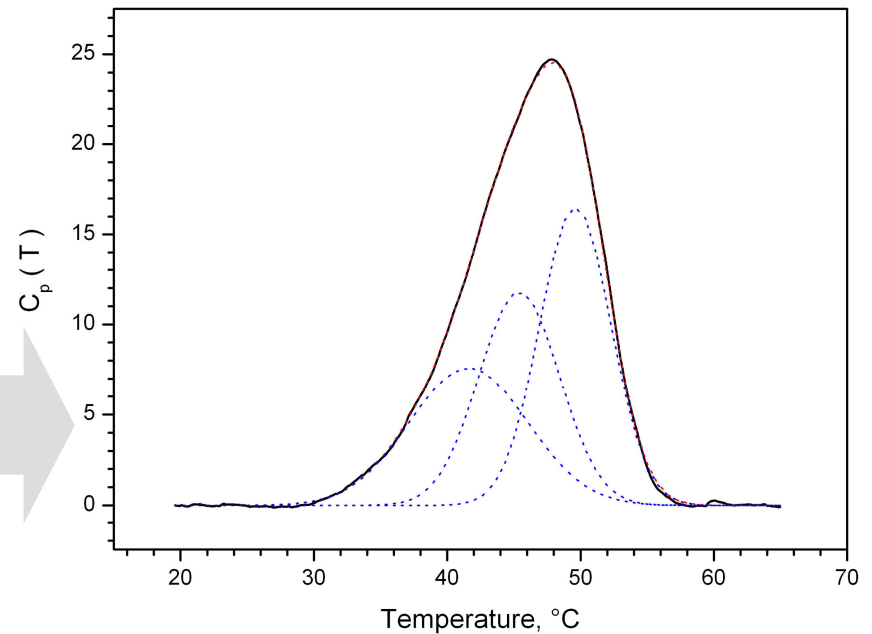
В настоящее время прибор не работает.

Цена нового прибора (DSC MicroCal) ~17 млн.руб.

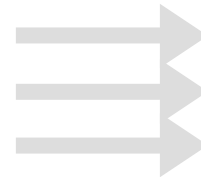
Дифференциальная
Сканирующая
Калориметрия



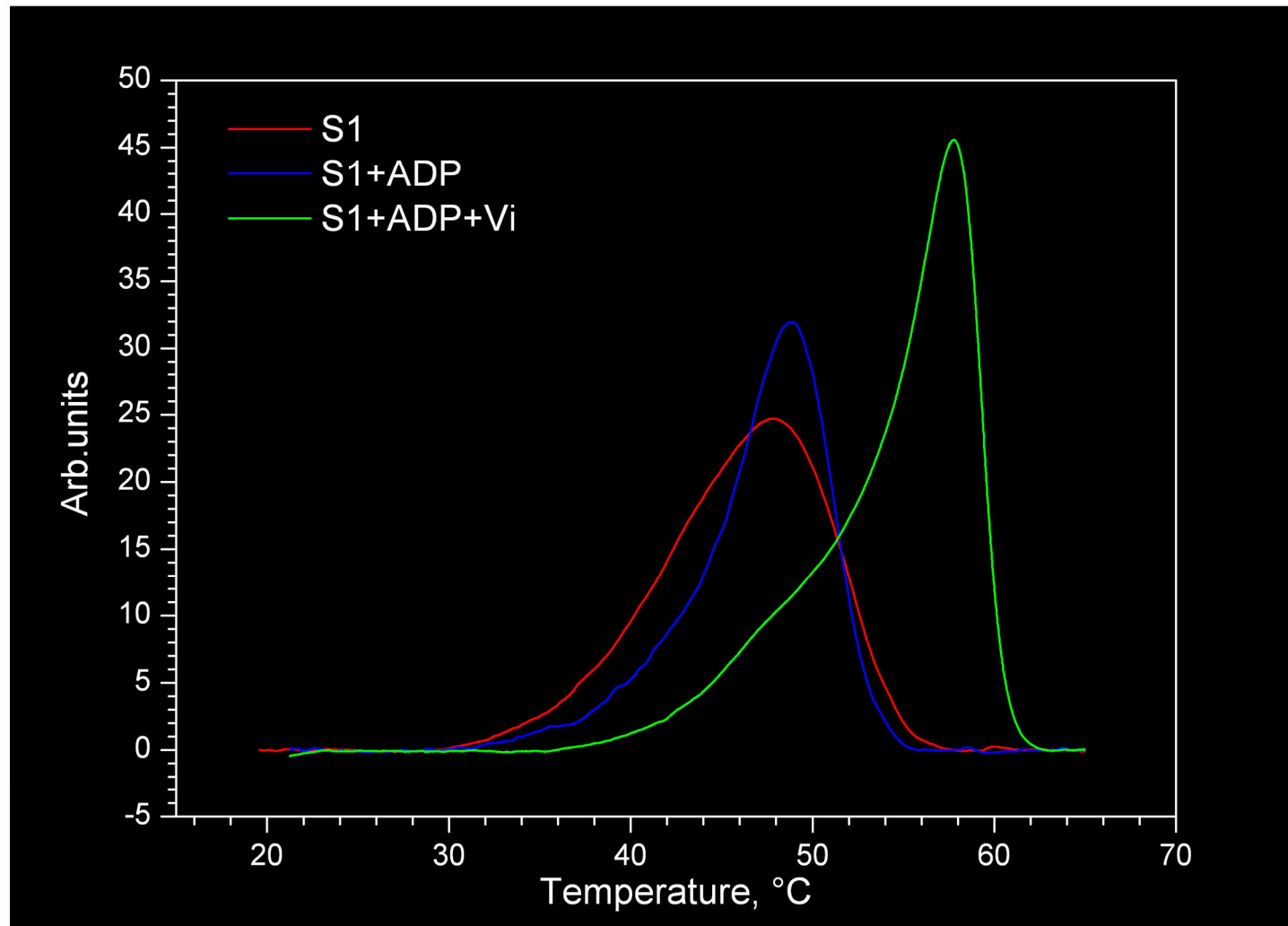
Зависимость парциальной
теплоёмкости от температуры,
 $C_p(T)$



Число доменов, N
Температура денатурации, T_d
Энтальпия денатурации, ΔH_d

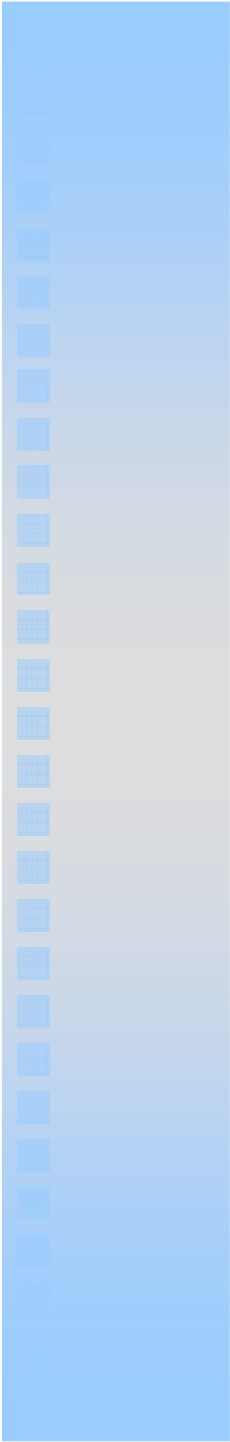


Число пиков
Температура максимума
Площадь под пиком



Публикации отдела 2020-2021 г.

- Le-Deygen I.M., Musatova O.E., Orlov V.N., Melik-Nubarov N.S., Grozdova I.D. Poly(Ethylene Glycol) Interacts with Hyaluronan in Aqueous Media // *Biomacromolecules*, (2021), v.22, №2, pp.681-689 (издательство *American Chemical Society, United States*), DOI (<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.biomac.0c01504>)
- Burova T.V., Grinberg V.Y., Grinberg N.V., Dubovik A.S., Tikhonov V.E., Orlov V.N., Plashchina I.G., Alvarez-Lorenzo C., Khokhlov A.R. Biodegradable thermoresponsive oligochitosan nanoparticles: Mechanisms of phase transition and drug binding-release // *International Journal of Biological Macromolecules*, (2020), v.164, pp.1451-1460 (издательство *Elsevier BV, Netherlands*), DOI (<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.203>)
- Fesenko I., Spechenkova N., Mamaeva A., Makhotenko A.V., Love A.J., Kalinina N.O., Taliansky M. Role of the methionine cycle in the temperature-sensitive responses of potato plants to potato virus Y // *Molecular Plant Pathology*, (2020), v.22, № 1, pp.77-91 (издательство *Blackwell Publishing Inc., United Kingdom*) DOI (<http://dx.doi.org/10.1111/mpp.13009>)
- Akatyev N.V., Yl'in M.M., Peregudova S.M., Peregudov A.S., Buyanovskaya A.G., Kudryavtsev K.R., Dubovik A.S., Grinberg V.Ya., Orlov V.N., Volkov I., Pavlov A.A., Novikov V.V., Belokon Y.N. Chan-Evans-Lam C-N Coupling Promoted by a Dinuclear Cu(II) Complex. Catalytic Performance and Some Evidence for the Mechanism of CEL Reaction Obviating Cu(III)/Cu(I) Cycle // *ChemCatChem*, (2020), v.12, №11, pp.3010-3021 (издательство *WILEY-VCH*), DOI (<http://dx.doi.org/10.1002/cctc.202000212>)
- Anashkin V.A., Salminen A., Orlov V.N., Lahti R., Baykov A.A. The tetrameric structure of nucleotide-regulated pyrophosphatase and its modulation by deletion mutagenesis and ligand binding // *Archives of Biochemistry and Biophysics*, (2020), v.692 (издательство *Academic Press, United States*), DOI (<https://doi.org/10.1016/j.abb.2020.108537>)
- Khromov A.V., Makhotenko A.V., Makarova S.S., Suprunova T.P., Kalinina N.O., Taliansky M.E. Delivery of CRISPR/Cas9 Ribonucleoprotein Complex into Plant Apical Meristem Cells Leads to Large Deletions in an Editing Gene // *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, (2020), v.46, № 6, pp.1242-1249 (издательство *Maik Nauka/Interperiodica Publishing, Russian Federation*), DOI (<http://dx.doi.org/10.1134/S1068162020060138>)



Благодарю за внимание