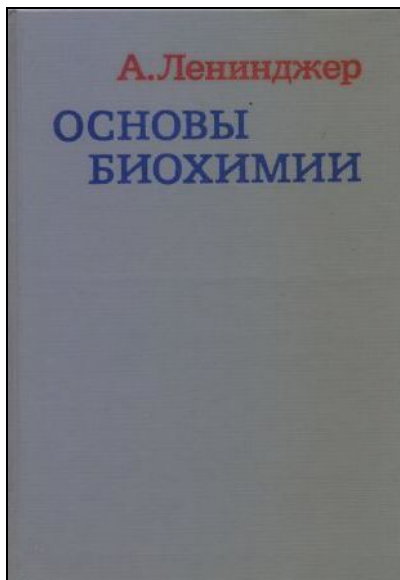




Кантор Ч., Шиммел П. Биофизическая химия: В 3-х т. Пер. с англ. - М.: Мир, 1984. - Т. 1 - 336 с.,ил.

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.



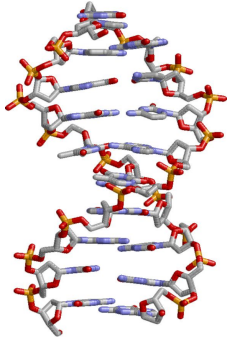
Ленинджер А. Основы биохимии: В 3-х т. Пер. с англ. - М.: Мир, 1985. - Т. 1 - 367 с.,ил.

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

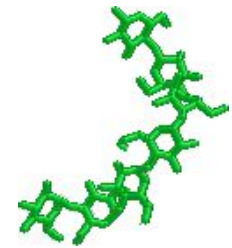
Ленинджер А. Основы биохимии: В 3-х т. Пер. с англ. - М.: Мир, 1985. - Т. 3 - 320 с.,ил.

# Биополимеры

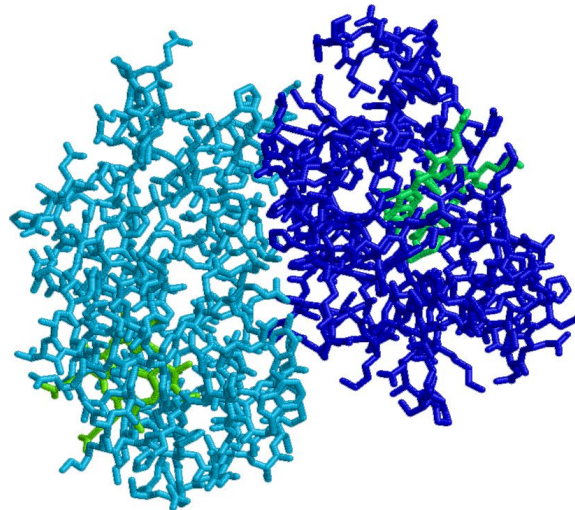
Нуклеиновые кислоты



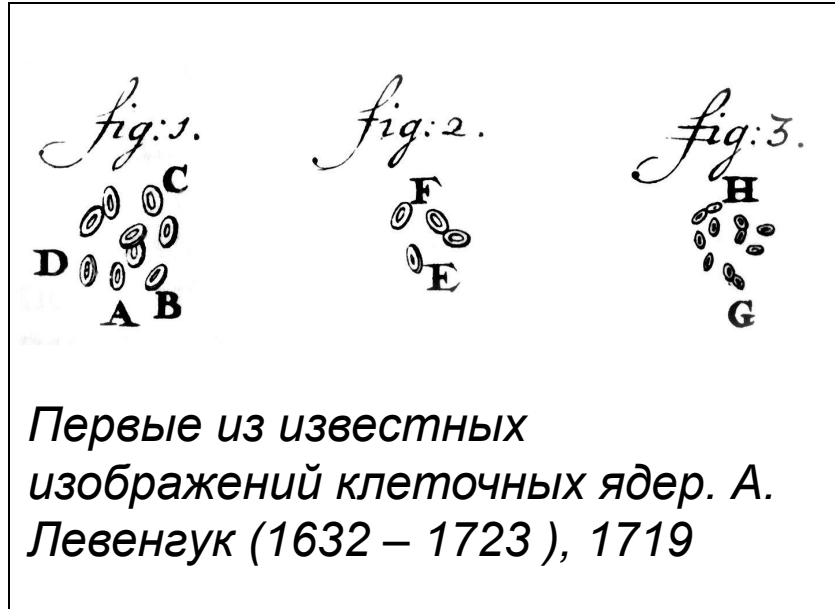
Полисахариды



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)*.

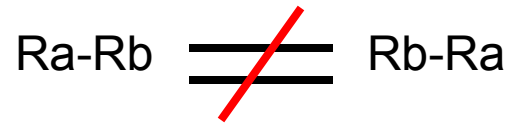
**Четвертичная структура** – пространственное расположение не связанных ковалентно единиц третичной структуры (*нековалентные связи*).

# Первичная структура

Последовательность мономеров...

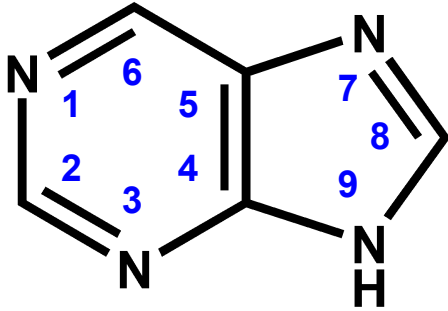
R1-R2-R3-R4-R5-...

соединенных по принципу «голова к хвосту»

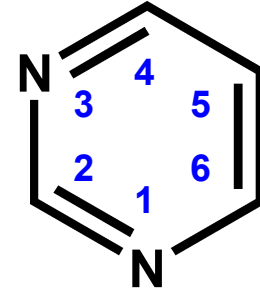


**ДНК**  
**Первичная структура**

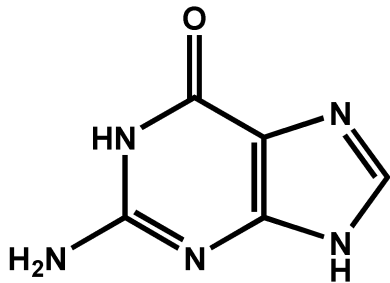
## Азотистые основания



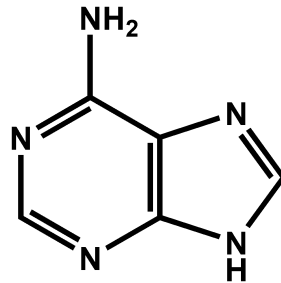
Пурин



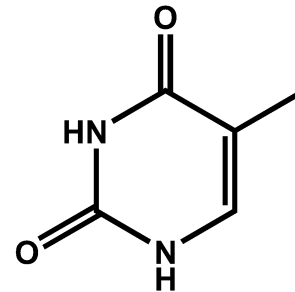
Пиримидин



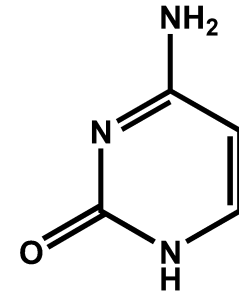
Гуанин



Аденин



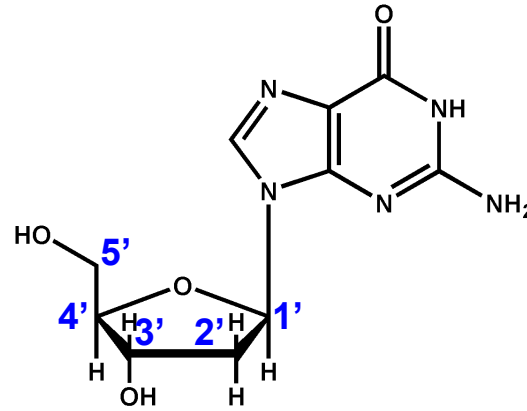
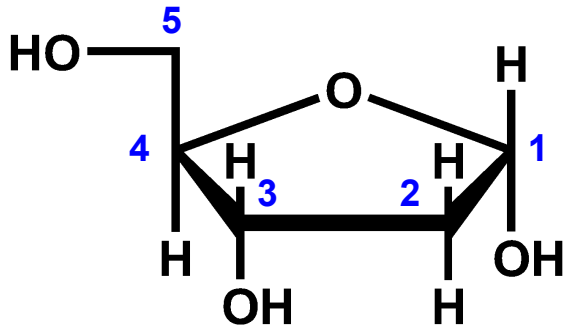
Тимин



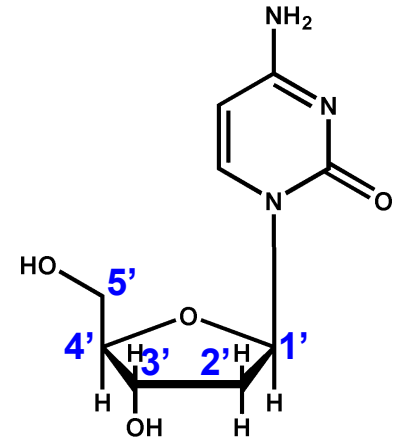
Цитозин

## Дезоксирибоза

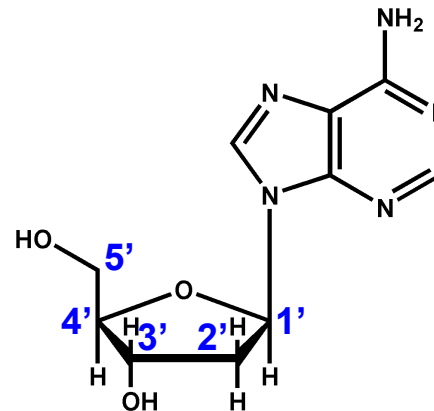
Нуклеозиды  
( $\beta$ -N-гликозиды)



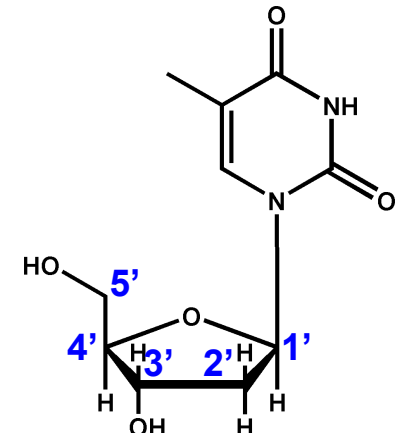
Дезоксигуанозин



Дезоксицитидин



Дезоксиаденозин



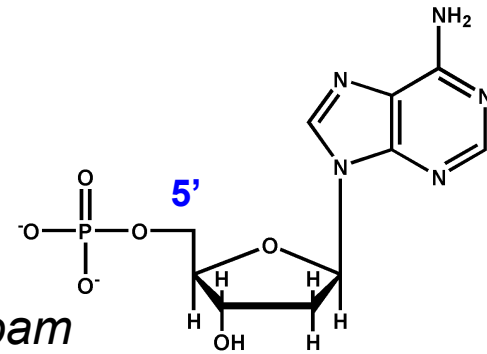
Дезокситимидин



## Нуклеотиды - фосфорные эфиры нуклеозидов

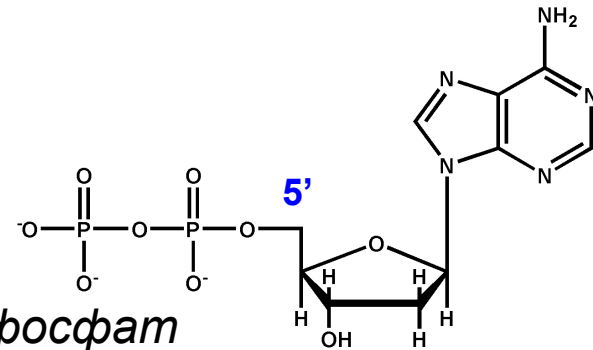
Эфиры ортофосфорной кислоты  
нуклеозидмонофосфаты

*Дезоксиаденозин-5'-монофосфат*



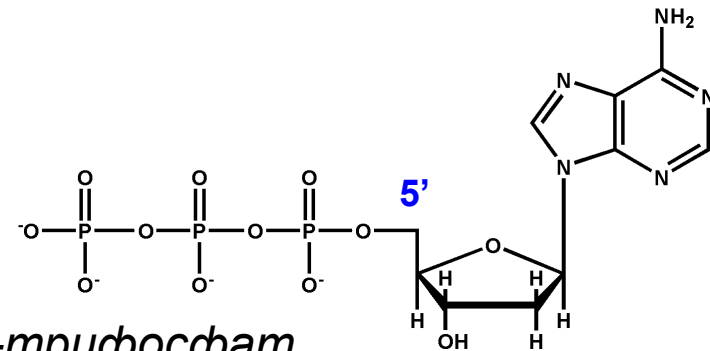
Эфиры пиродифосфорной кислоты  
нуклеозиддифосфаты

*Дезоксиаденозин-5'-дифосфат*



Эфиры триполифосфорной кислоты  
нуклеозидтрифосфаты

*Дезоксиаденозин-5'-трифосфат*



# Нуклеотиды - фосфорные эфиры нуклеозидов

Эфиры ортофосфорной кислоты  
нуклеозидмонофосфаты

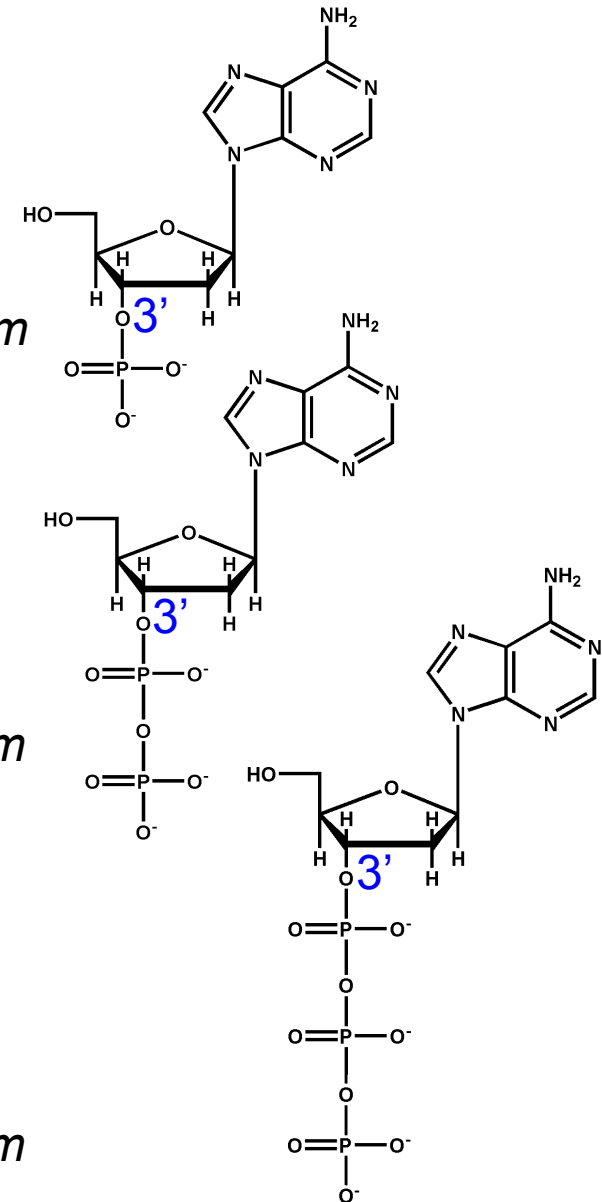
*Дезоксиаденозин-3'-монофосфат*

Эфиры пиродфосфорной кислоты  
нуклеозиддифосфаты

*Дезоксиаденозин-3'-дифосфат*

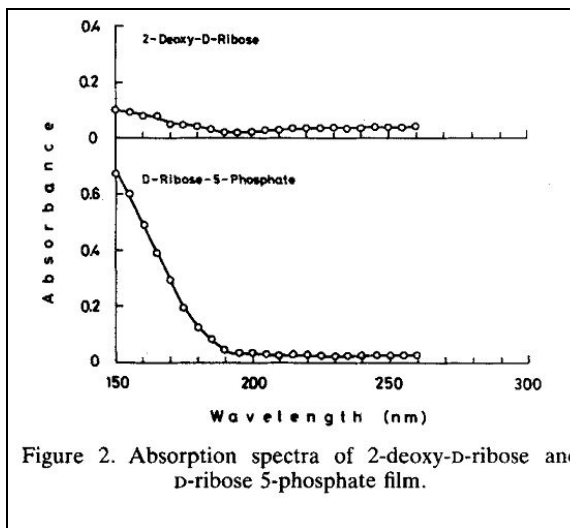
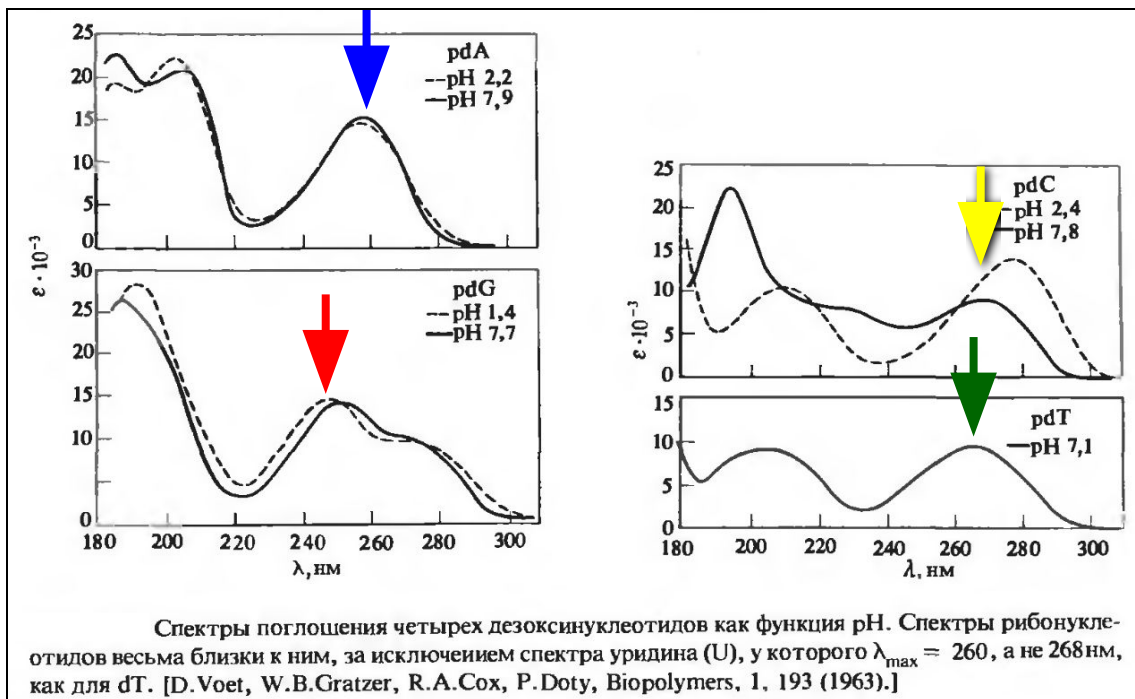
Эфиры триполифосфорной кислоты  
нуклеозидтрифосфаты

*Дезоксиаденозин-3'-трифосфат*



# Физические свойства нуклеотидов

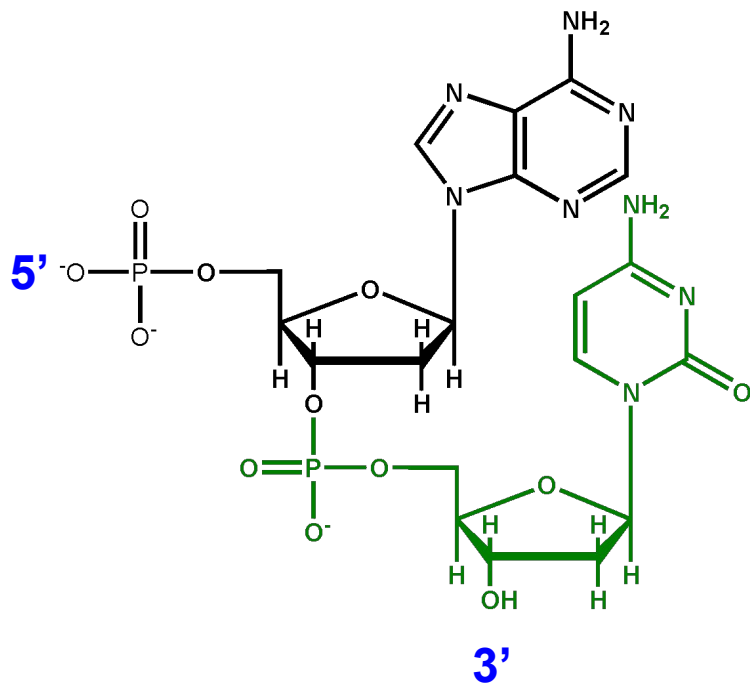
Основание	Максимум УФ-поглощения, нм
Аденин	260
Гуанин	245
Цитозин	268
Тимин	265



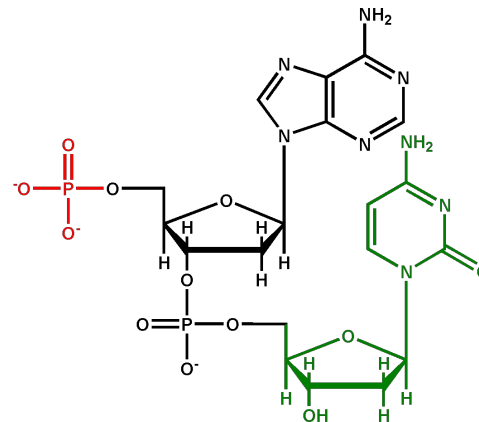
Поглощение в УФ области дезоксирибозы и дезоксирибозо-5-фосфата

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

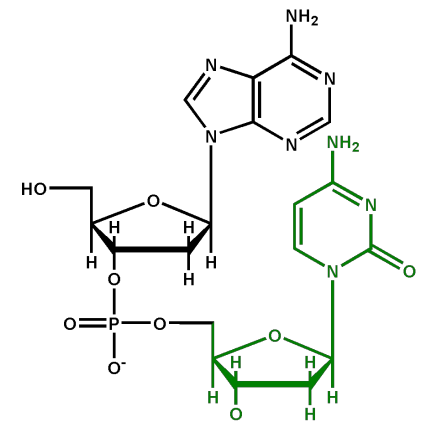
# Динуклеотиды NpN



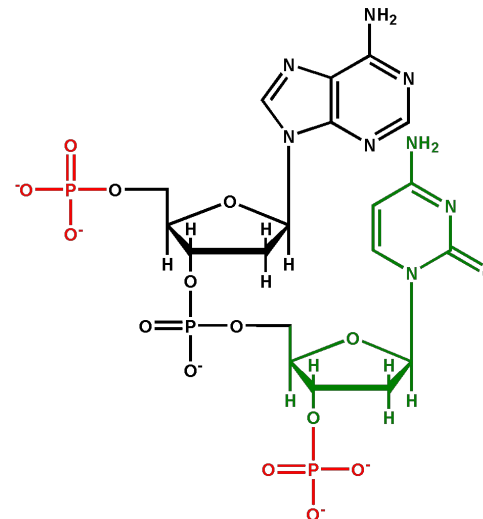
5'-pApC-3'



5'-pApC-3'



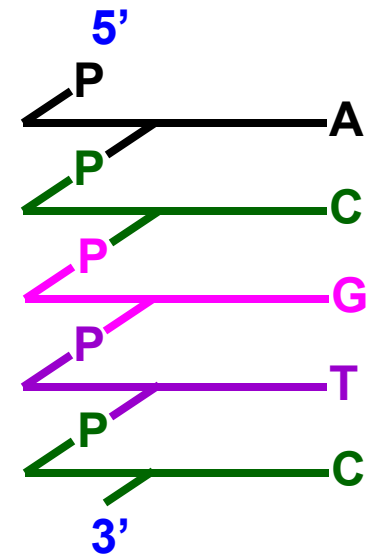
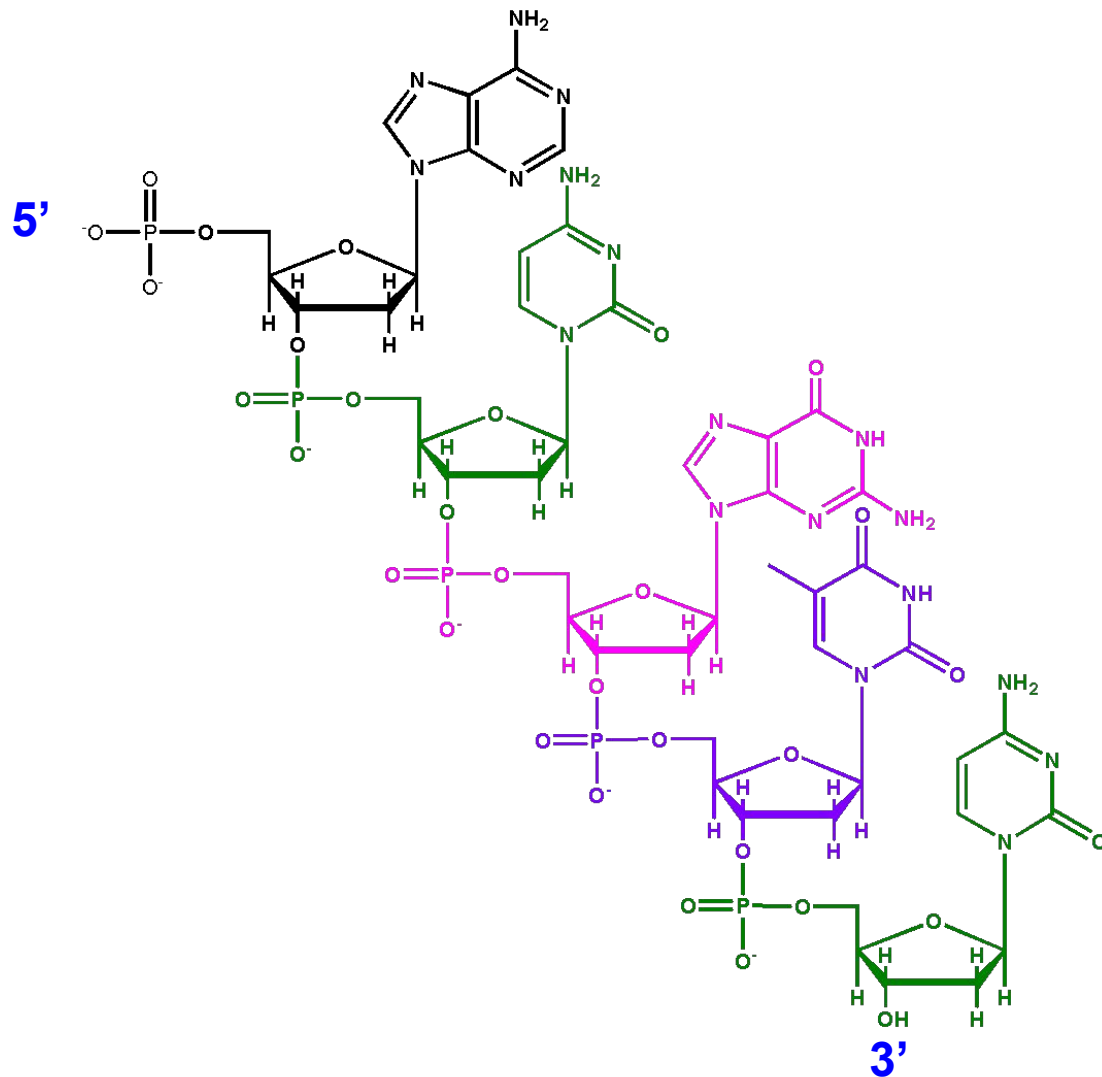
5'-ApCp-3'



5'-pApCp-3'

# Олигонуклеотиды и полинуклеотиды

$N_p N_p N_p N_p N \dots$



5'-pApCpGpTpC-3'

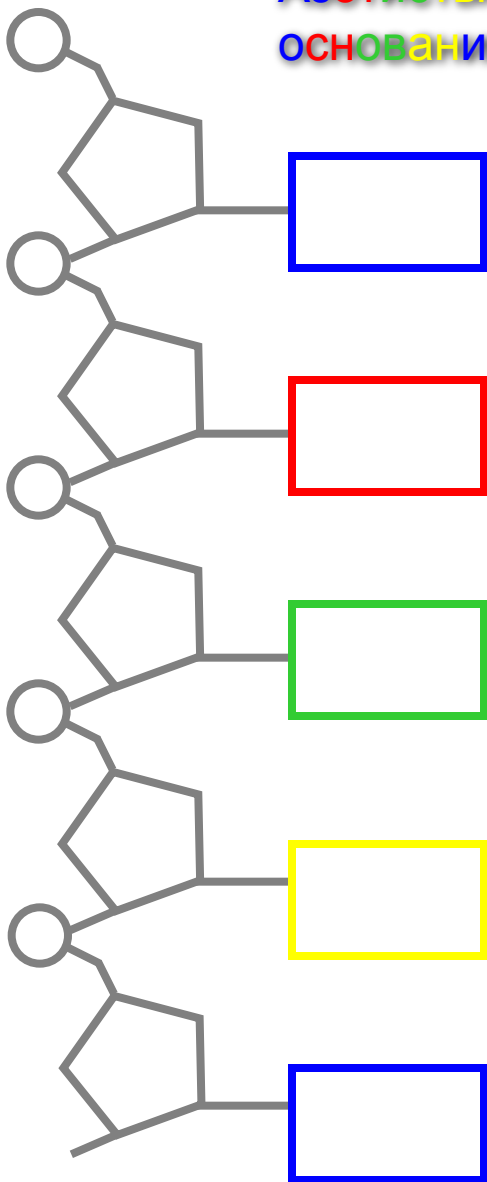
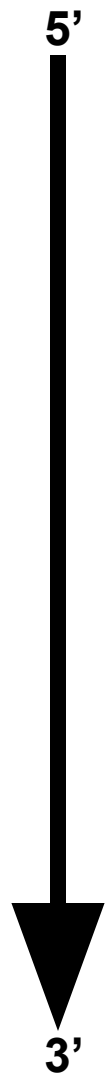
**ACGTC**

# Первичная структура ДНК

Сахарофосфатный

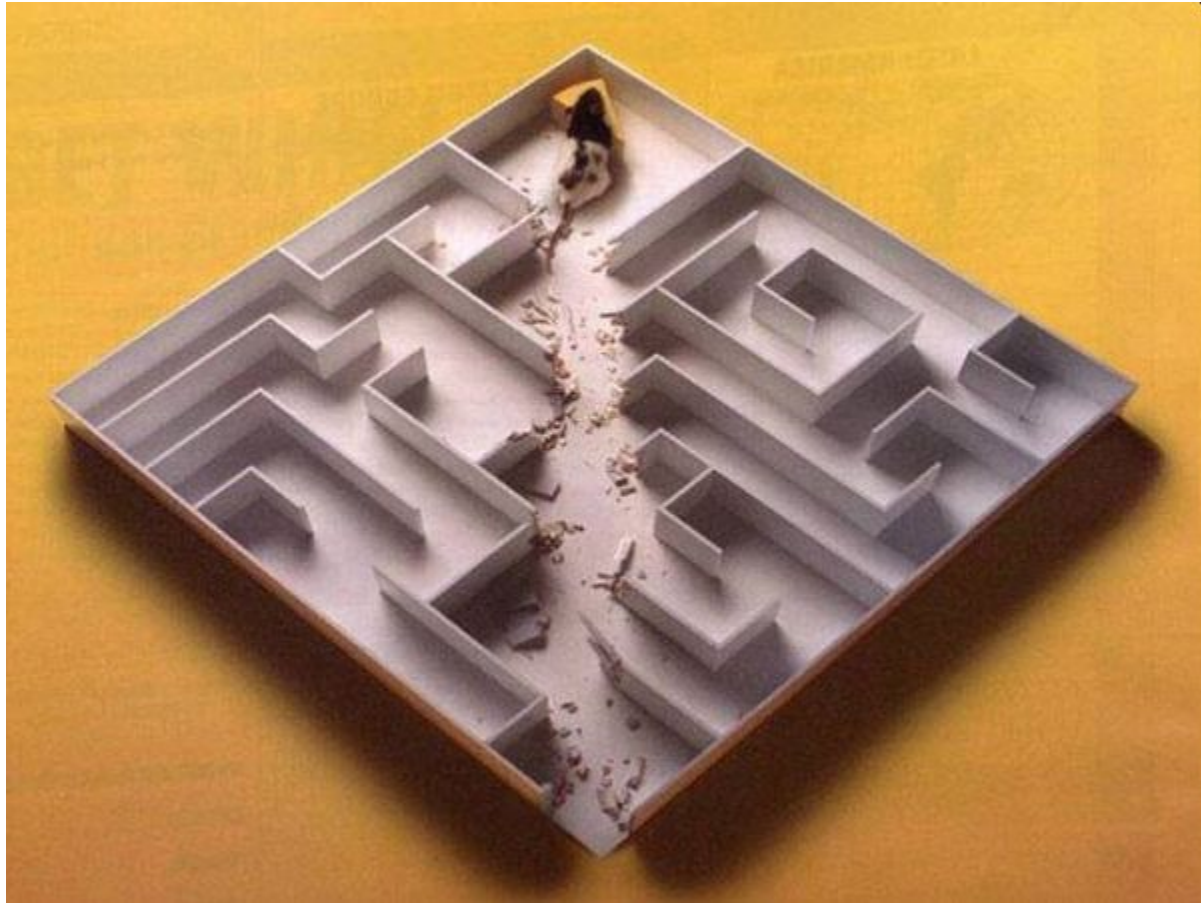
ОСТОВ

Азотистые  
основания



## Однобуквенные обозначения

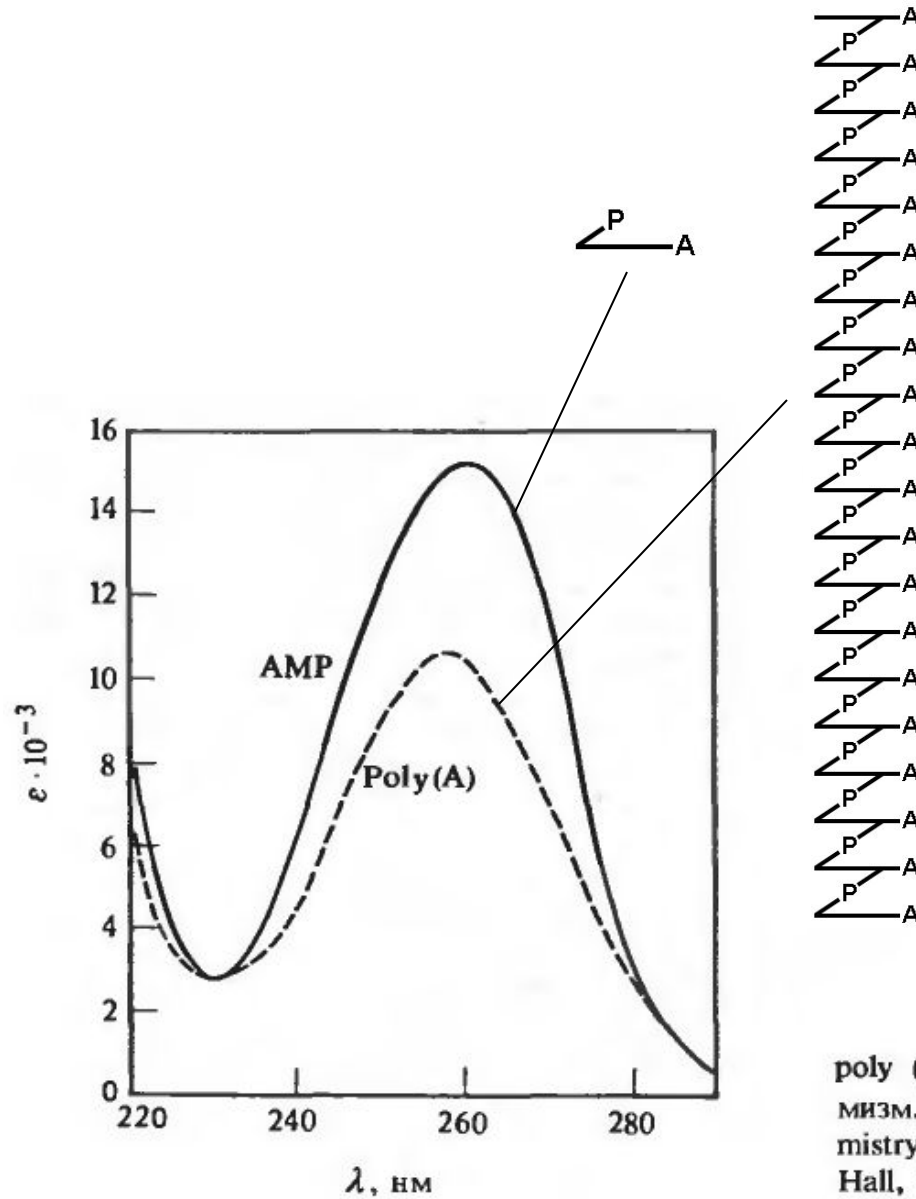
- A - аденин
- T - тимидин
- G - гуанин
- C - цитозин
- R - пурин (A/G)
- Y - пиримидин (T/C)
- M - содержащие аминогруппу (A/C)
- K - содержащие кетогруппу (G/T)
- W - образующие 2 водородные связи (A/T)
- S - образующие 3 водородные связи (G/C)
- N - любой



**ДНК**  
**Вторичная структура**

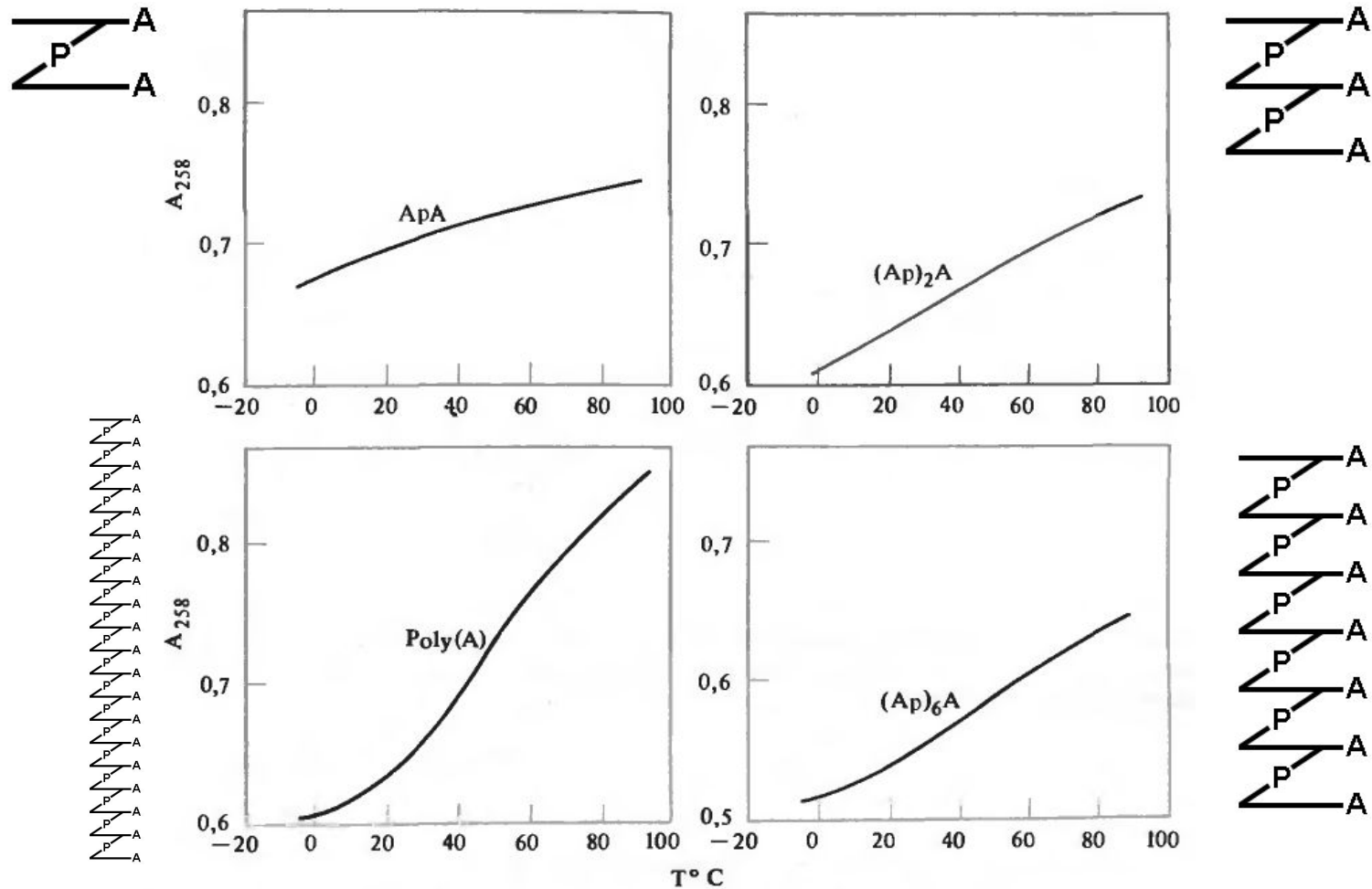


## Стэкинг-взаимодействия



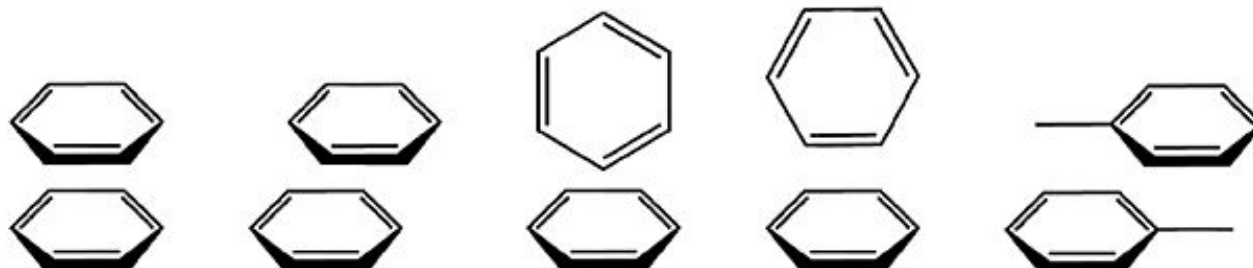
Спектры поглощения AMP и poly (A); отчетливо выражен гипохромизм. [К.Е. Van Holde, Physical Biochemistry (Englewood Cliffs, N.J.: Prentice-Hall, 1971), p. 168.]

## 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

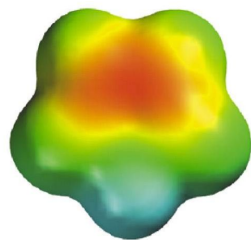
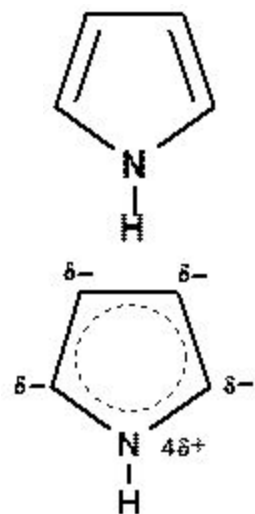
взаимодействие между постоянным и индуцированным диполем (сила Дебая [ $r^6$ ])

### Дисперсионное взаимодействие

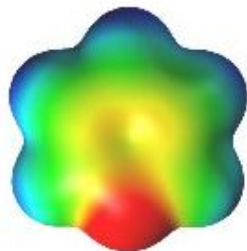
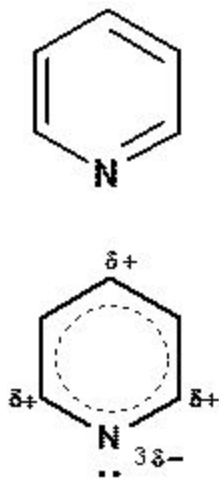
взаимодействие между мгновенными индуцированными диполями (сила Лондона [ $r^6$ ])

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

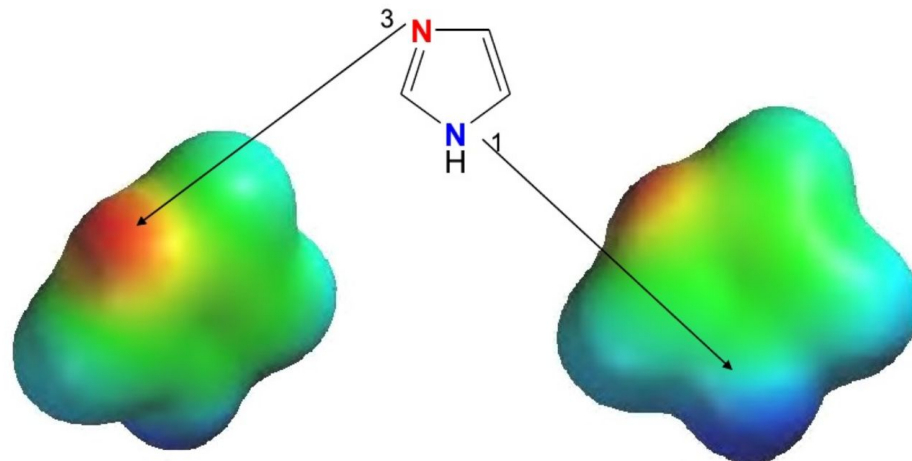
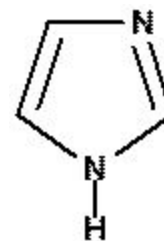
## Стэкинг-взаимодействия



Пиррол

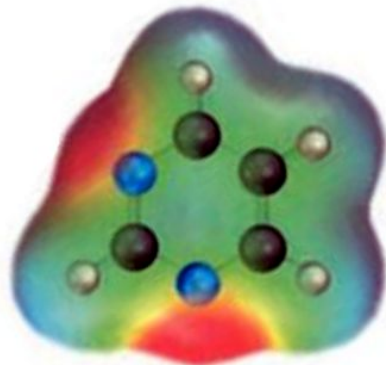
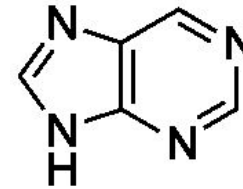
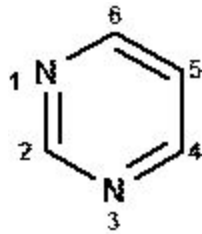


Пиридин



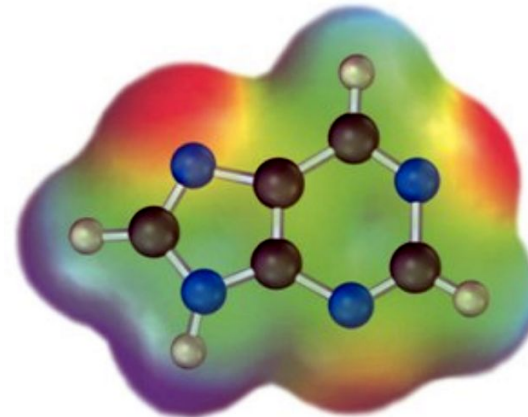
Имидазол

## Стэкинг-взаимодействія



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

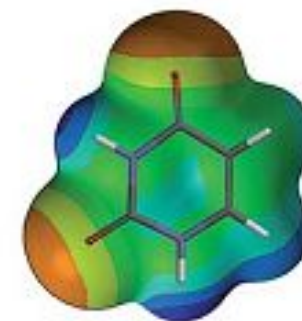
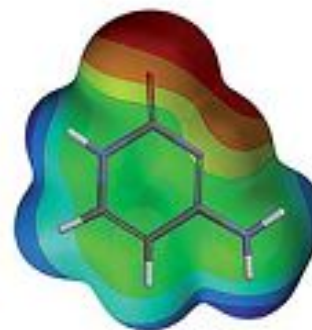
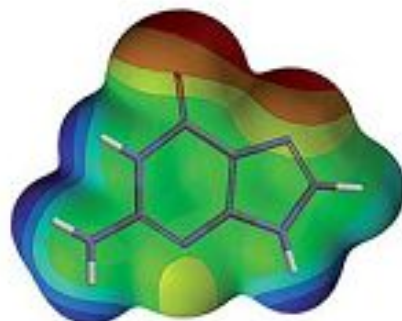
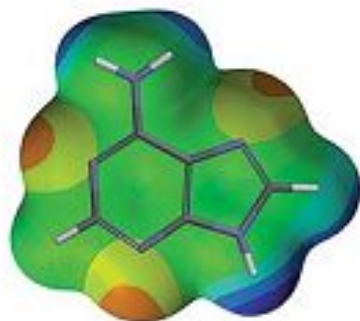
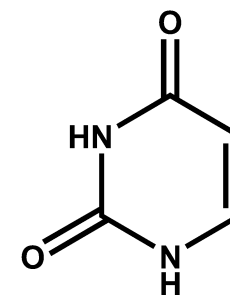
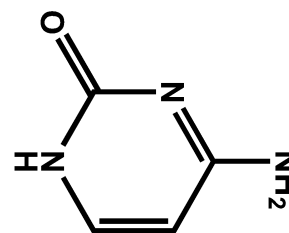
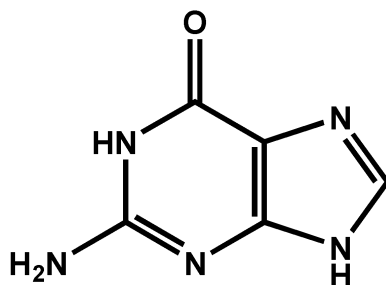
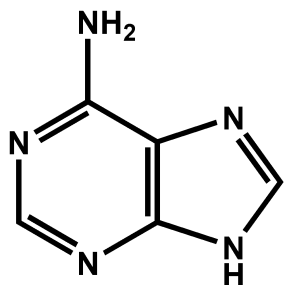
Пиримидин



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

Пурин

## Стэкинг-взаимодействия



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

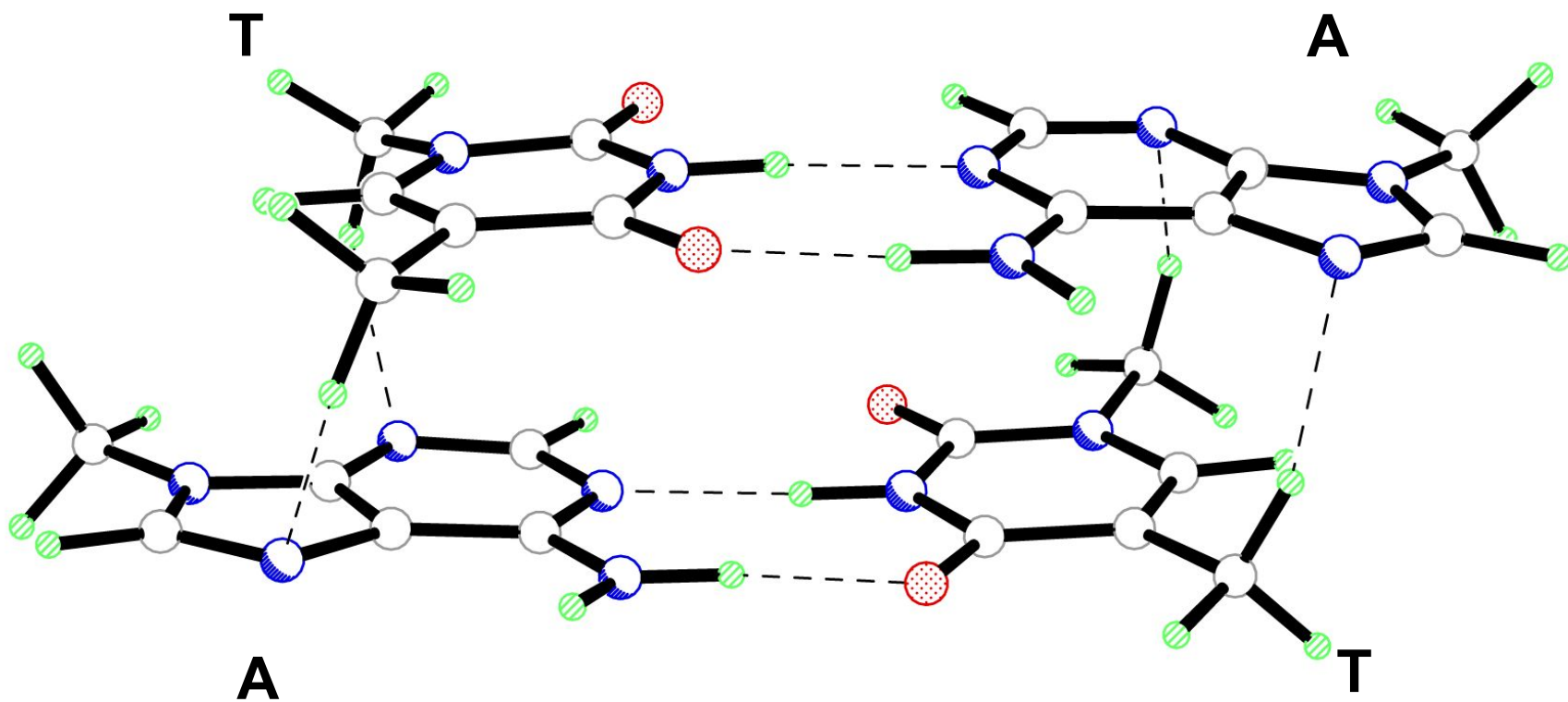
Аденин

Гуанин

Цитозин

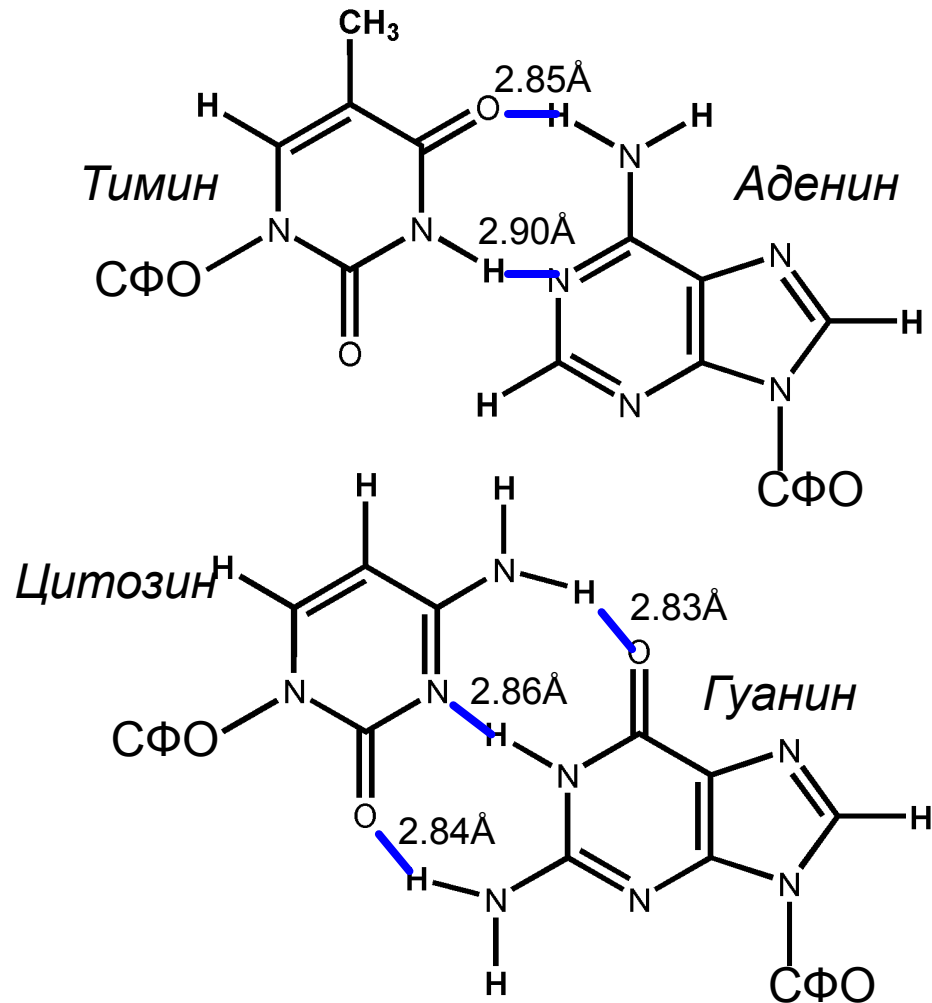
Урацил

# Водородные связи



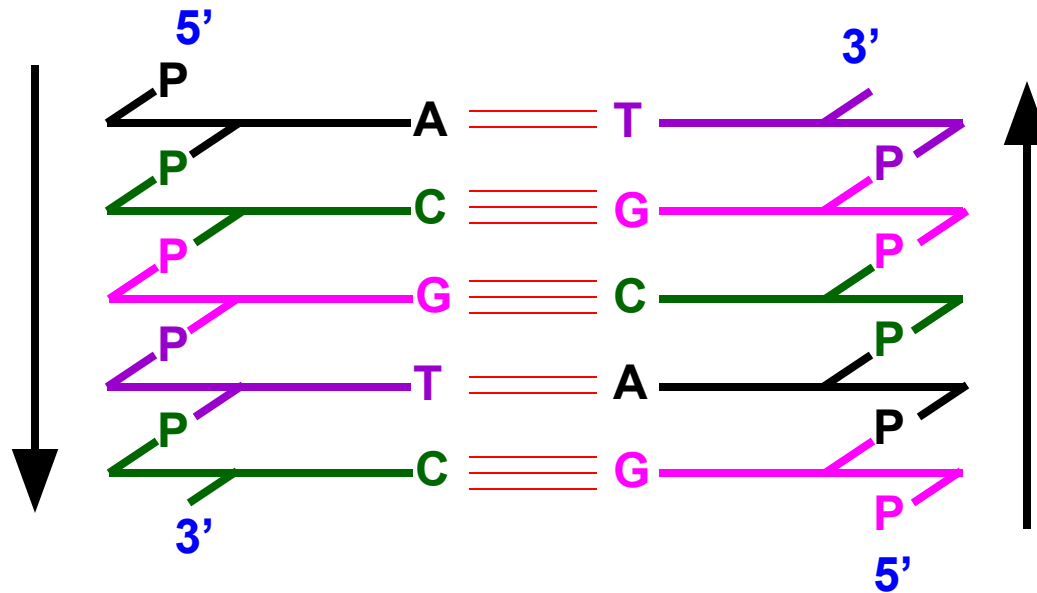
# Водородные связи

## Пары оснований

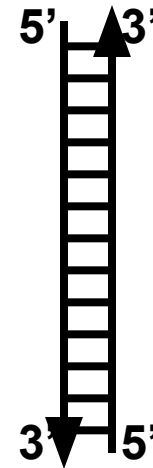
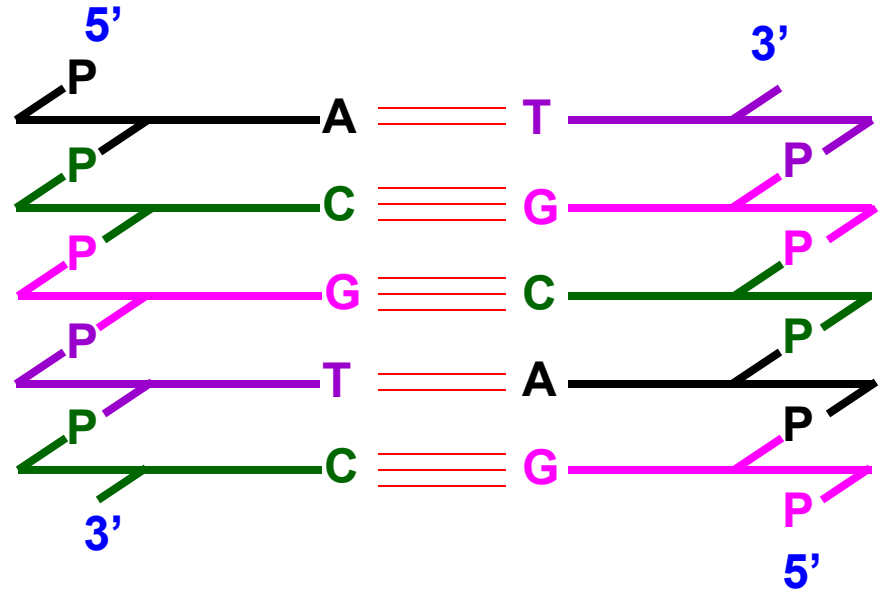
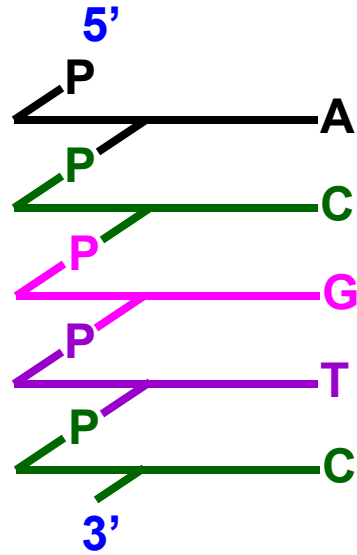




**Две антипараллельные нити,  
стабилизированные водородными связями**



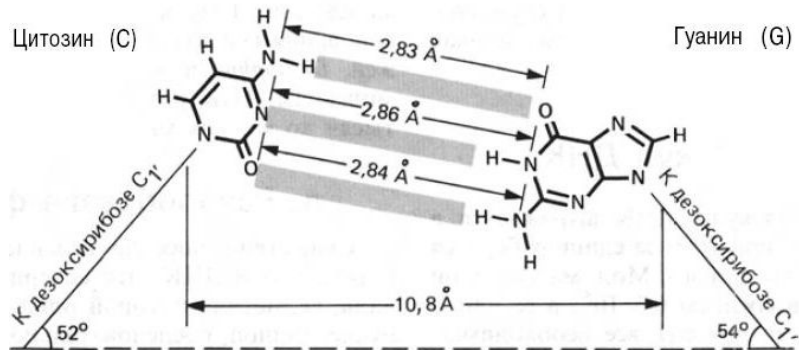
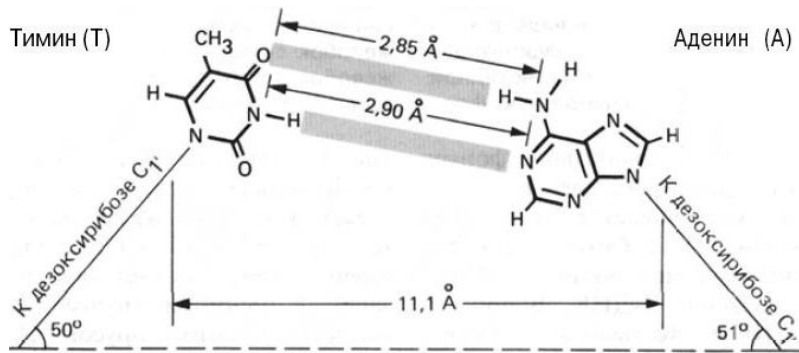
## Условные обозначения



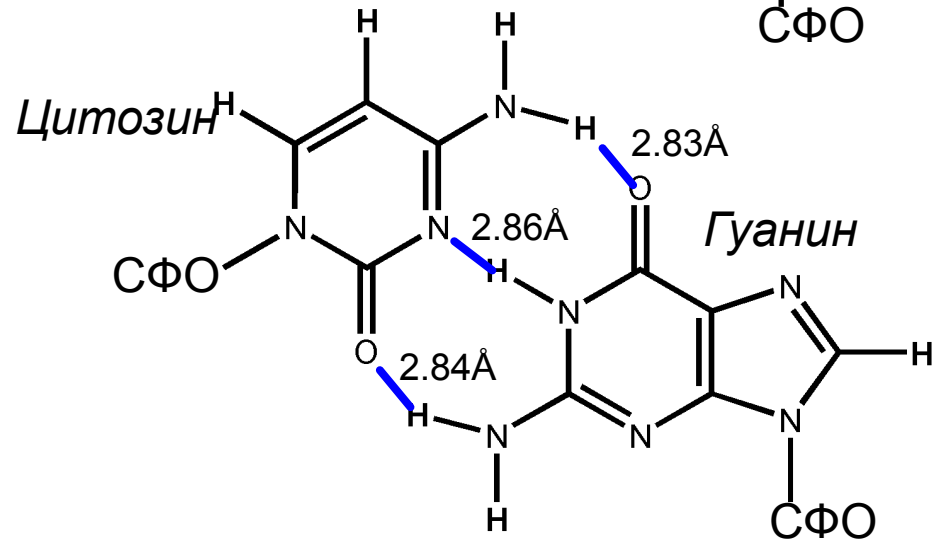
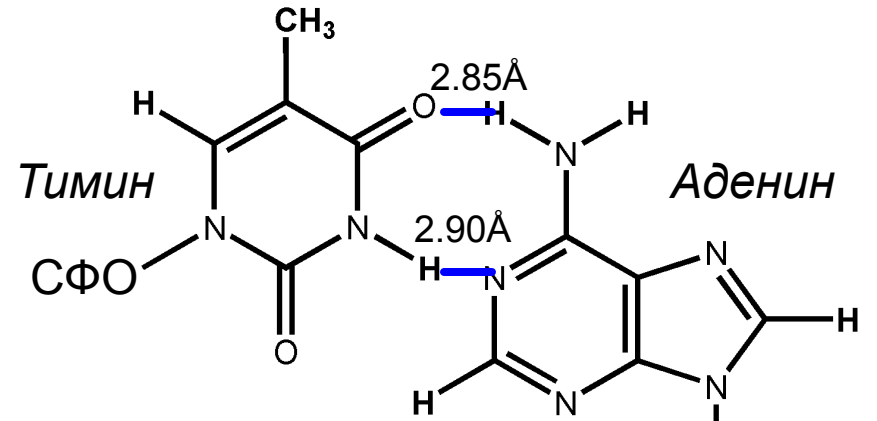
## Принцип комплементарности

### Правила Чаргаффа

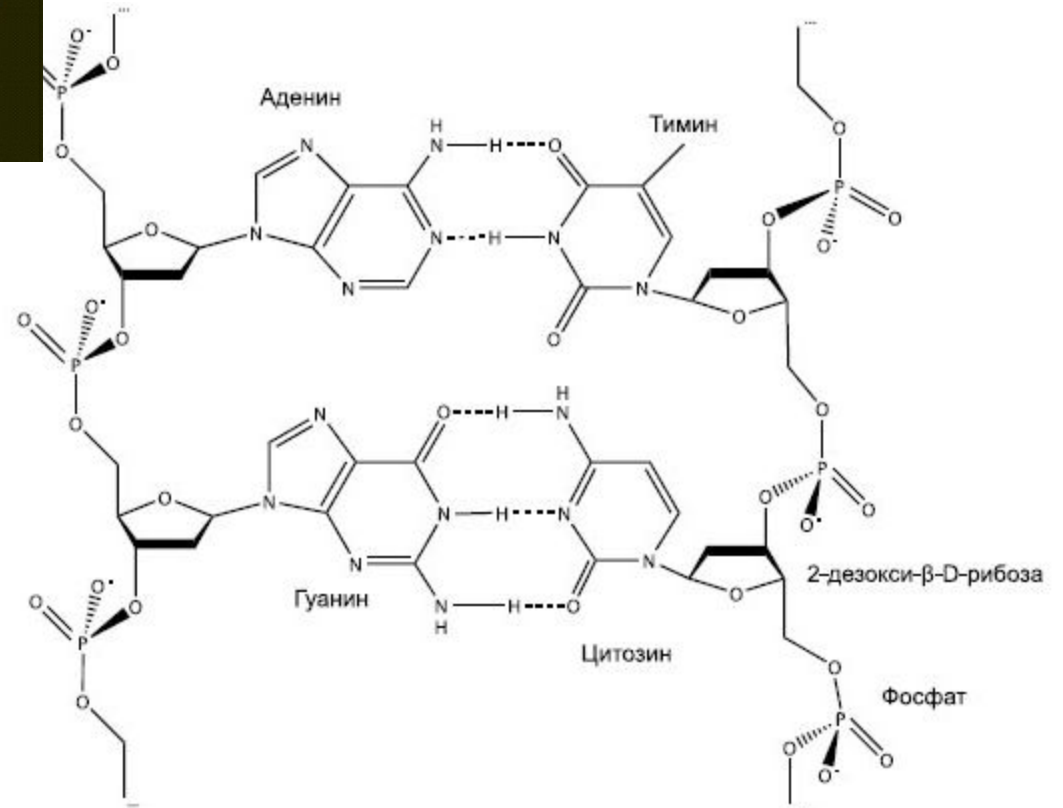
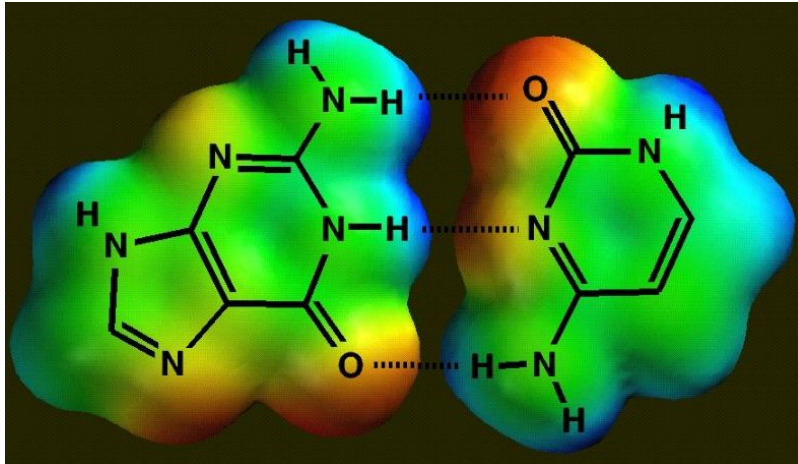
1. A=T, Г=Ц
2. R=Y
3. M=K



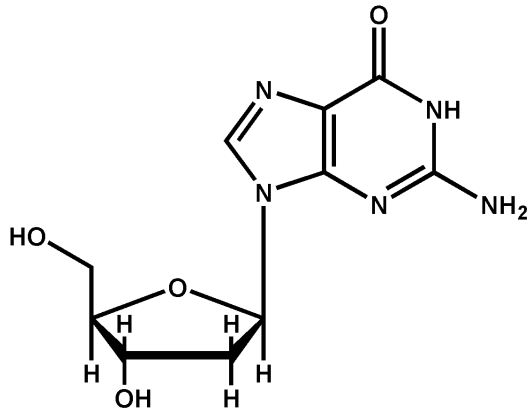
### Пары оснований



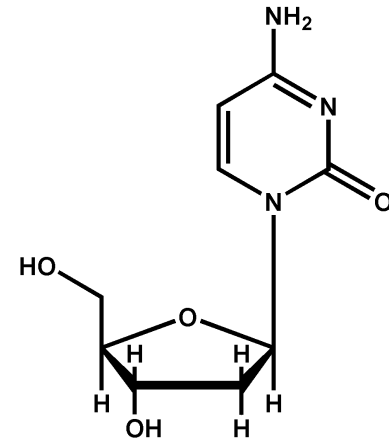
## Принцип комплементарности



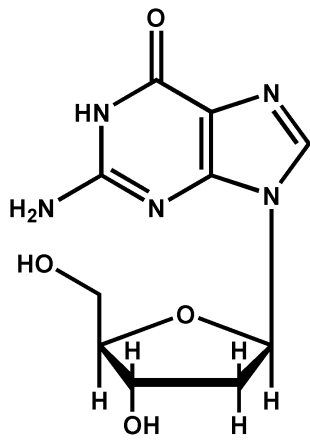
## Конформации нуклеозидов



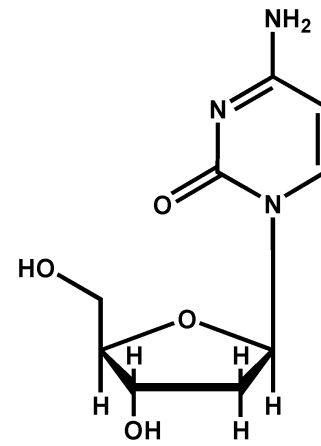
Анти



Анти

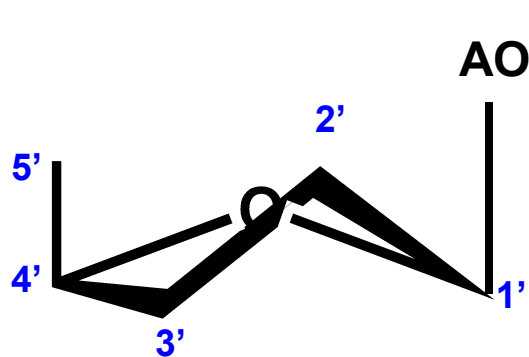
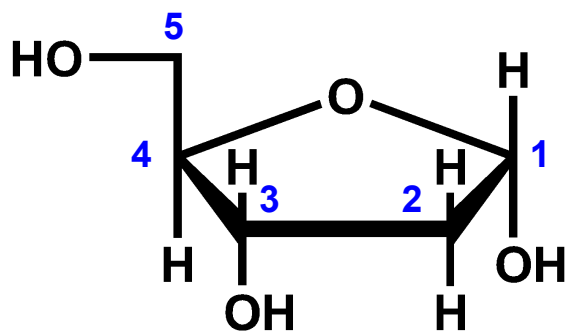
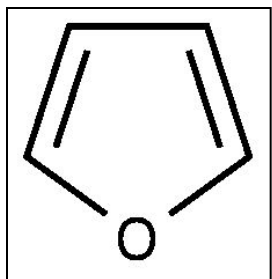


Син

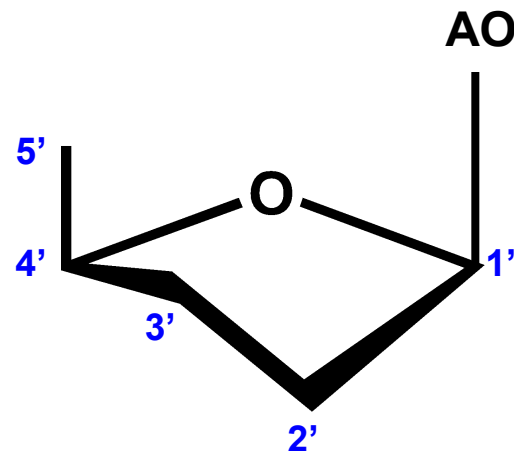


Син

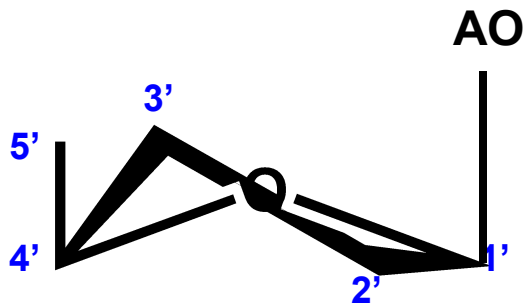
## Конформации фуранозного кольца



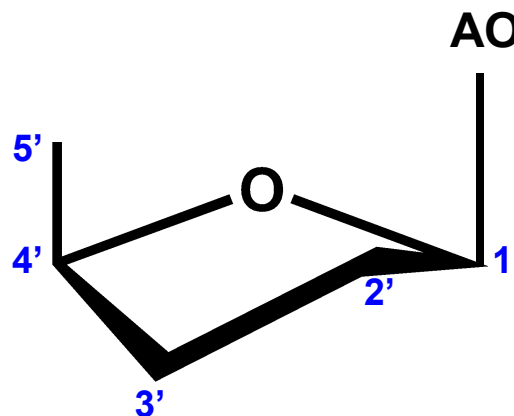
C2'-эндо  
(B-ДНК)



C2'-экзо



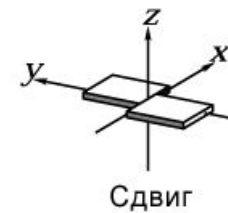
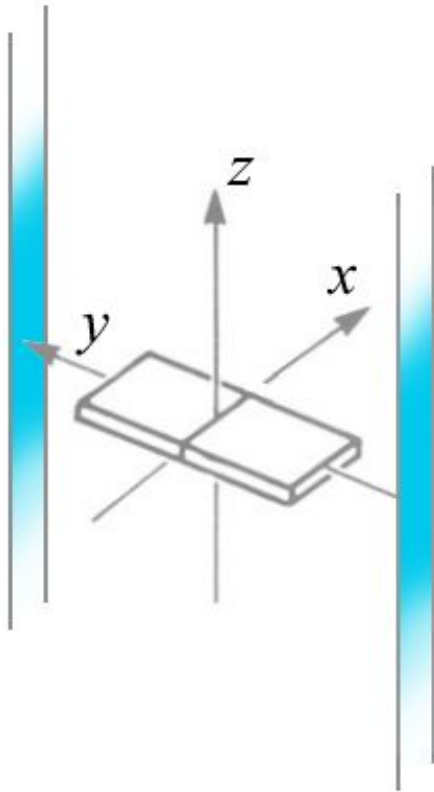
C3'-эндо  
(A-ДНК)



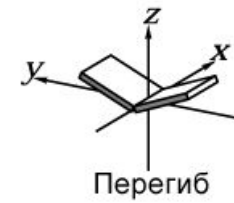
C3'-экзо

# Конформации пары оснований

## Геометрия пары оснований



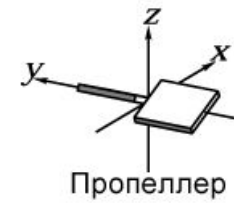
Сдвиг



Перегиб



Растягивание



Пропеллер



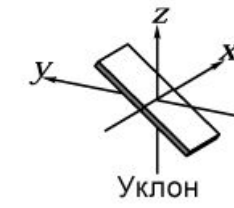
Шатание



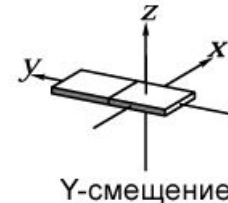
Расщелина



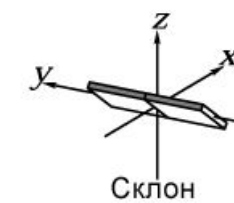
X-смещение



Уклон

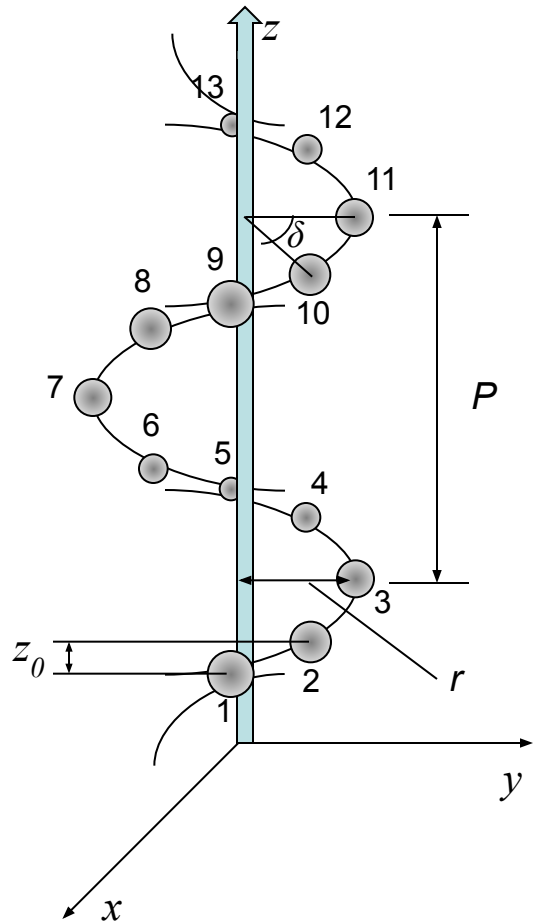


Y-смещение



Склон

## Спираль



$P$  – шаг спирали

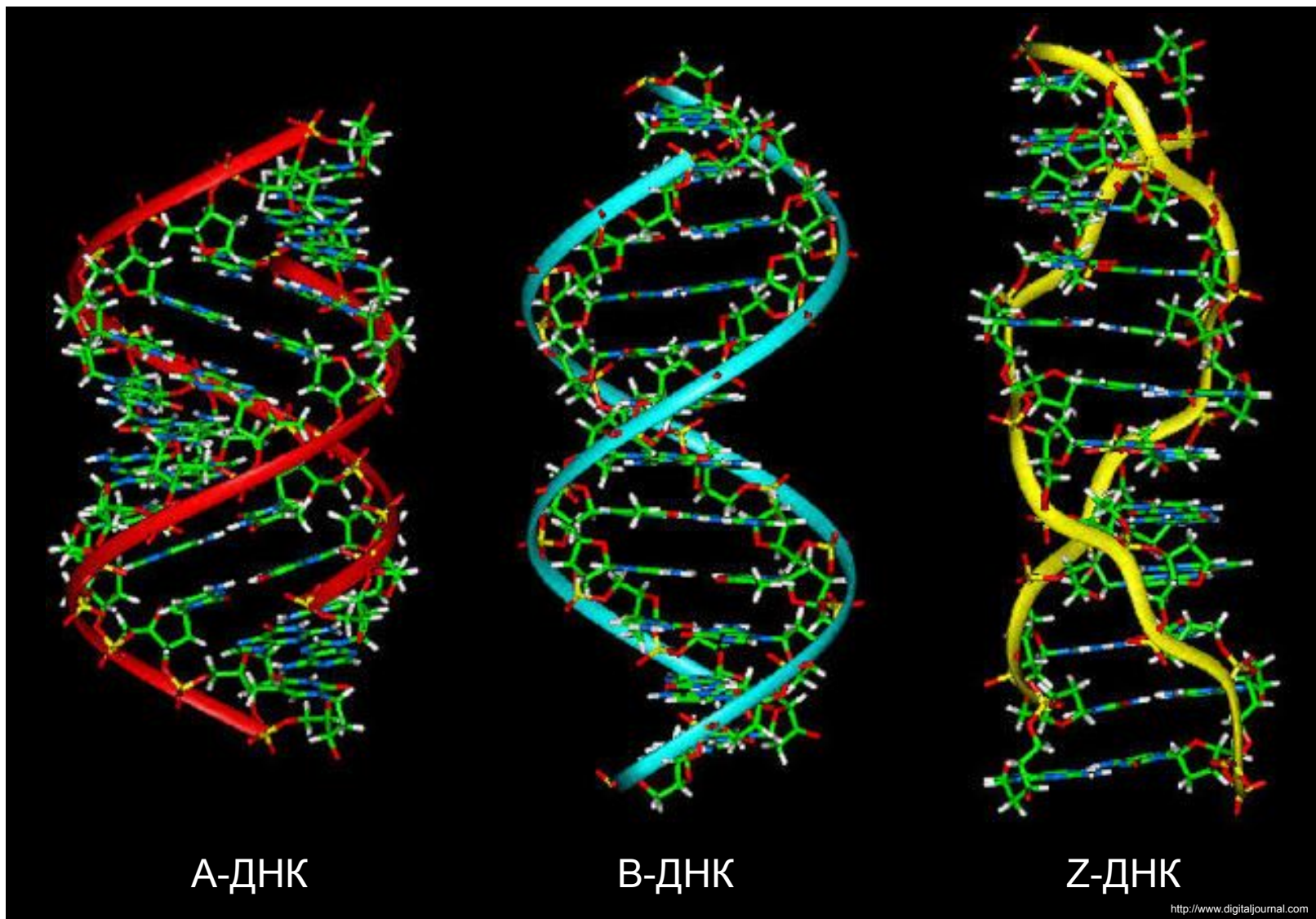
$r$  – радиус спирали (диаметр  $d = r \cdot 2$ )

$\delta$  – угол спирального вращения

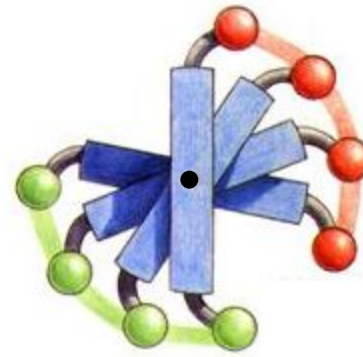
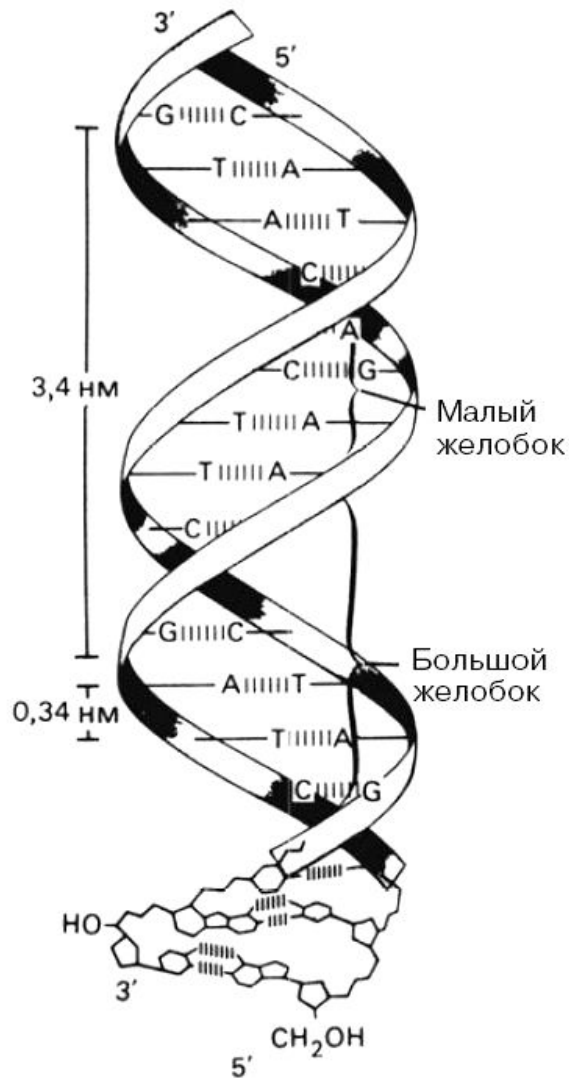
$z_0$  – расстояние между звеньями  
вдоль оси  $Z$



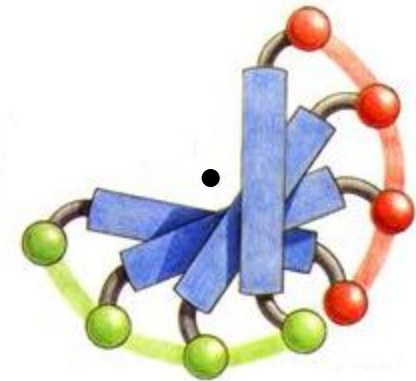
## Двойная спираль ДНК



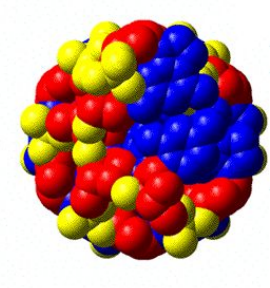
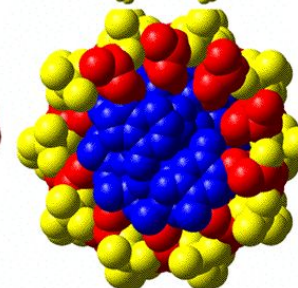
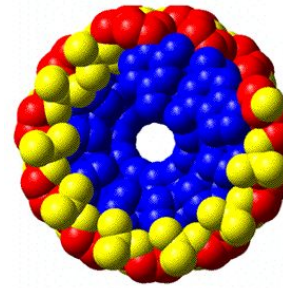
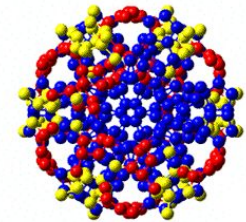
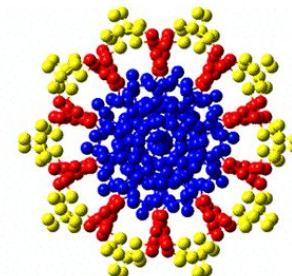
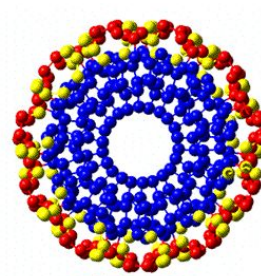
## Двойная спираль ДНК



В-ДНК



А-ДНК

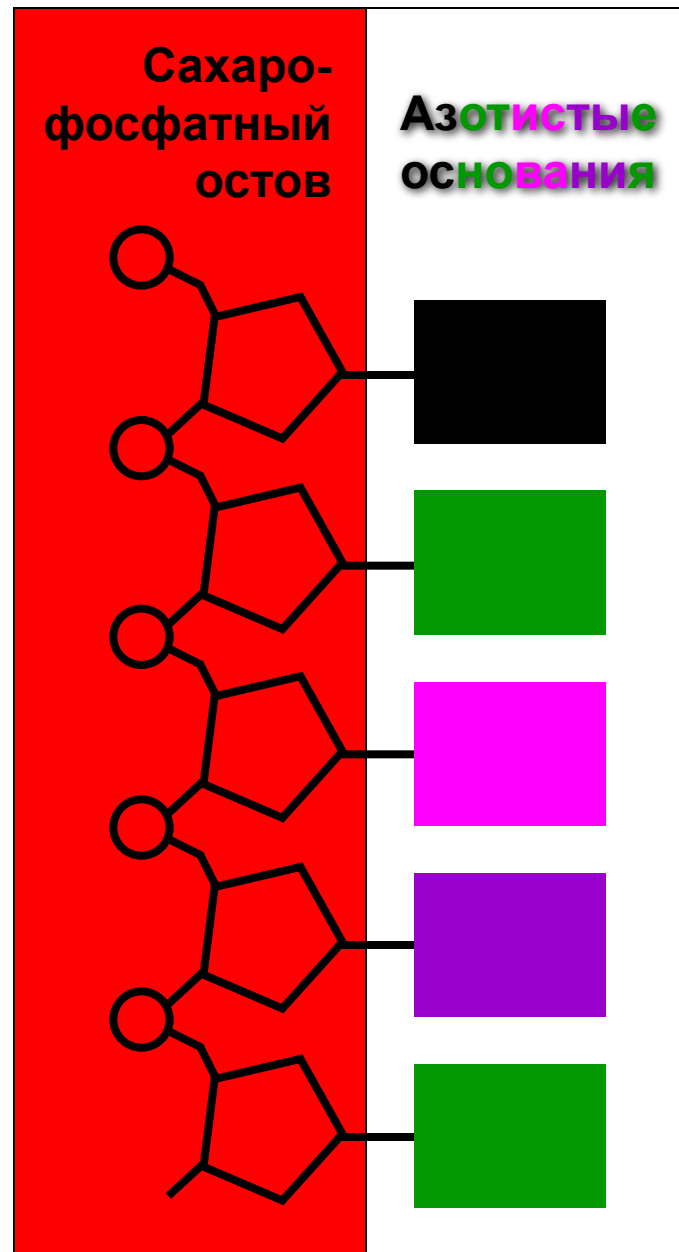
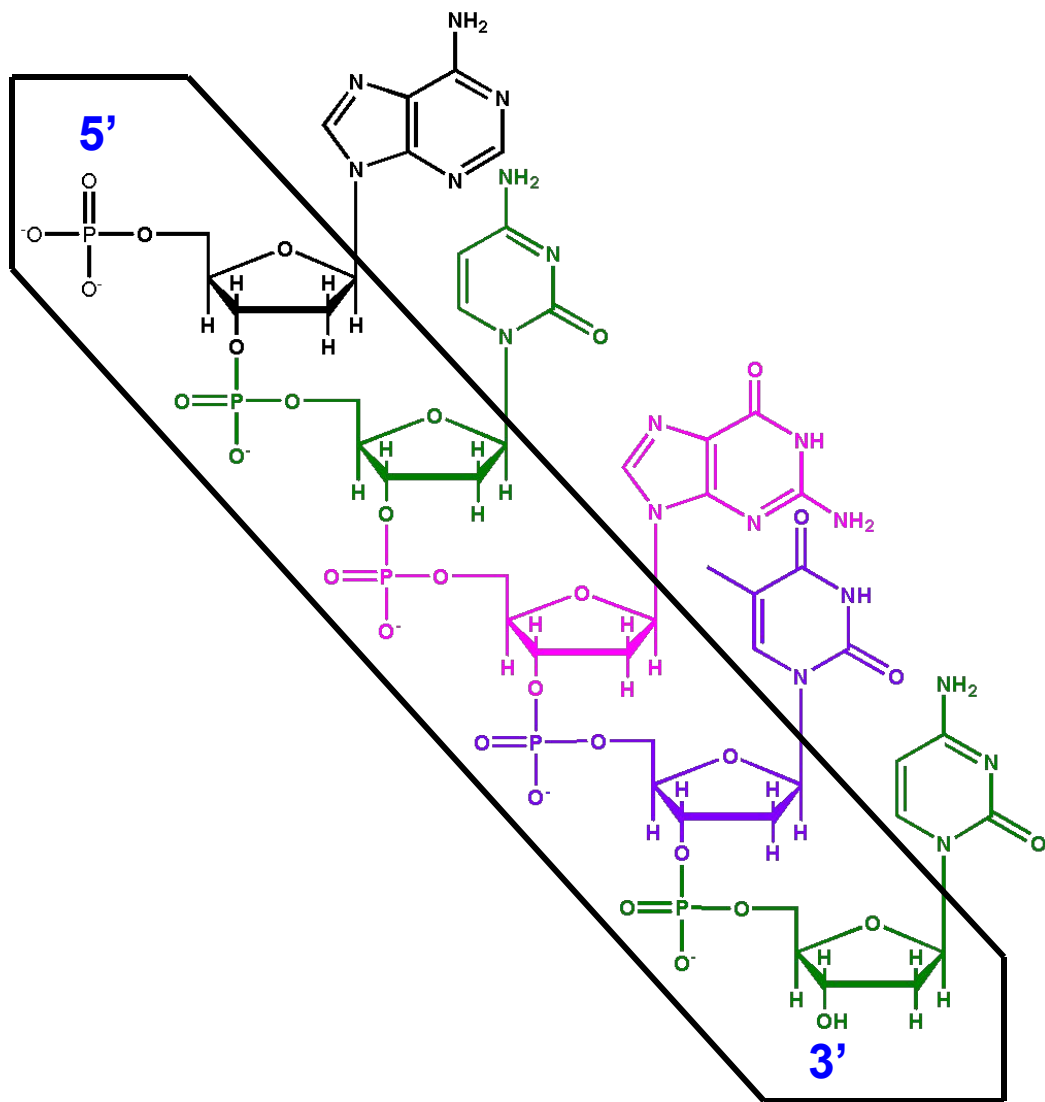


А-ДНК

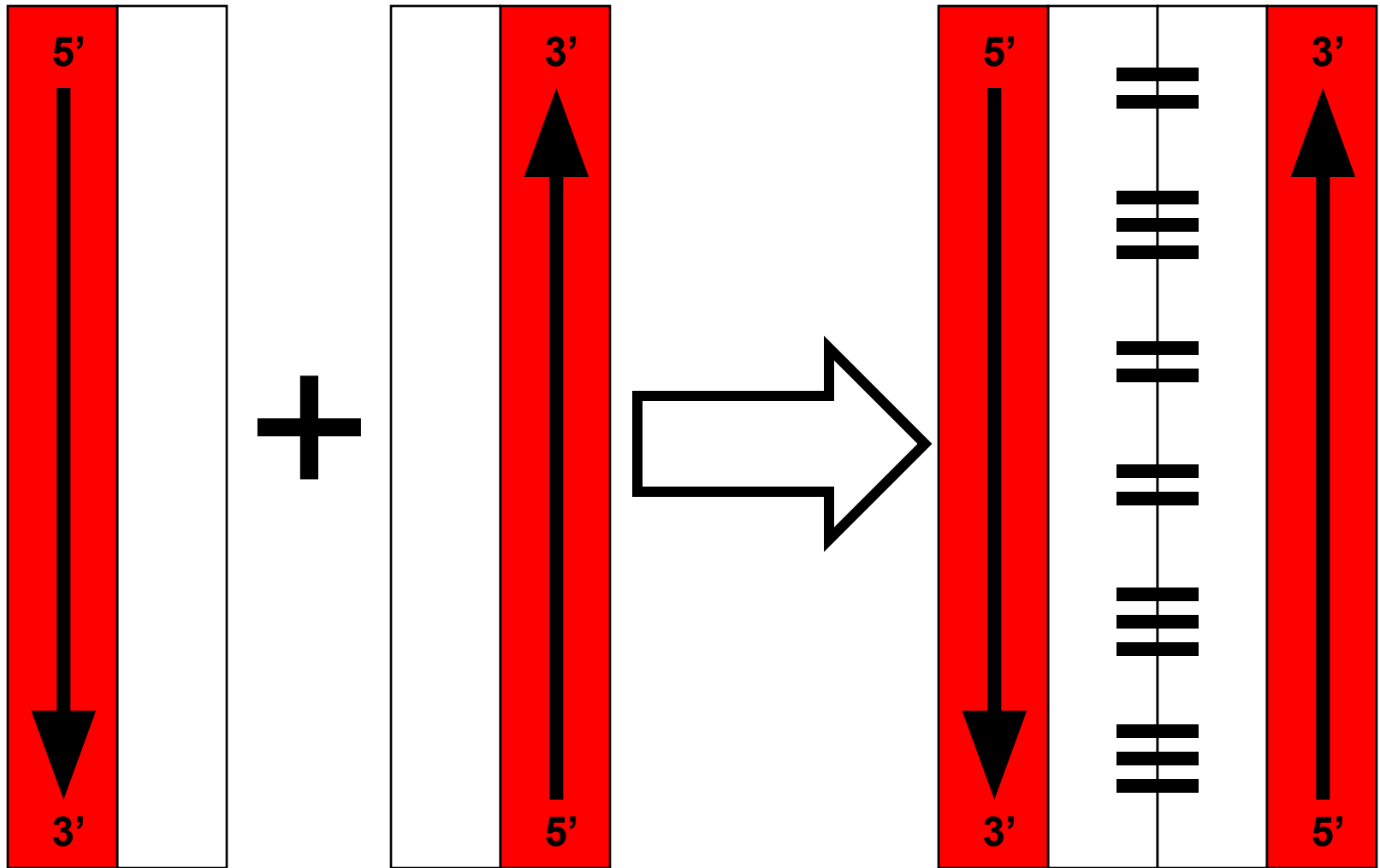
В-ДНК

З-ДНК

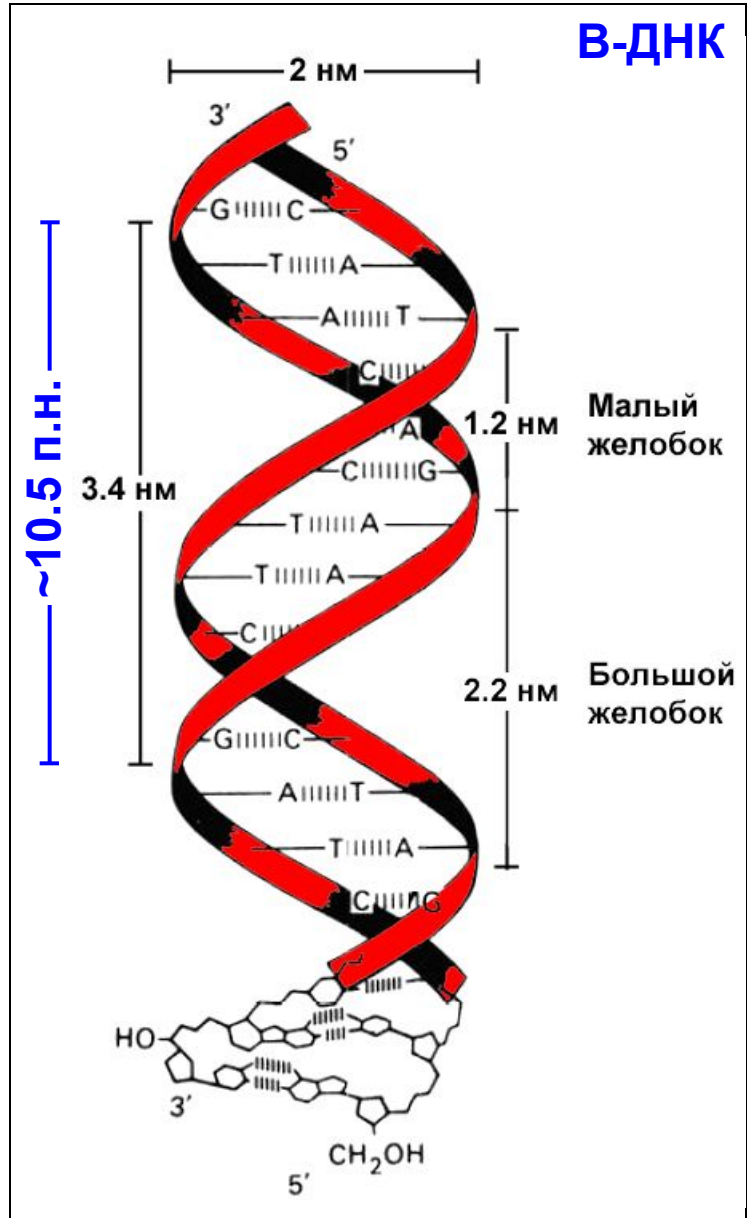
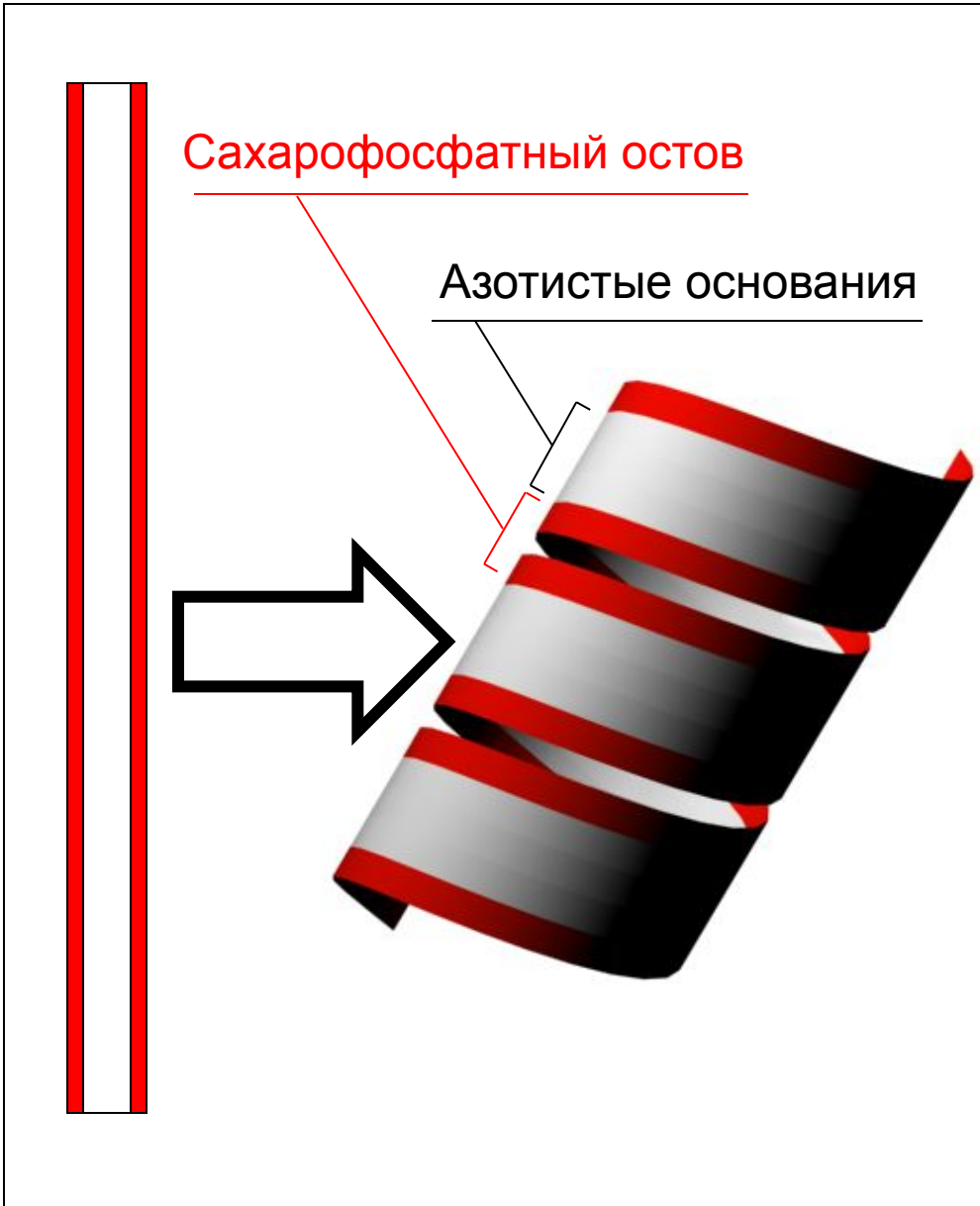
# Двойная спираль ДНК



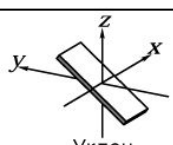
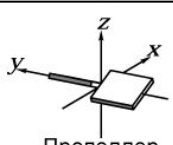
# Двойная спираль ДНК



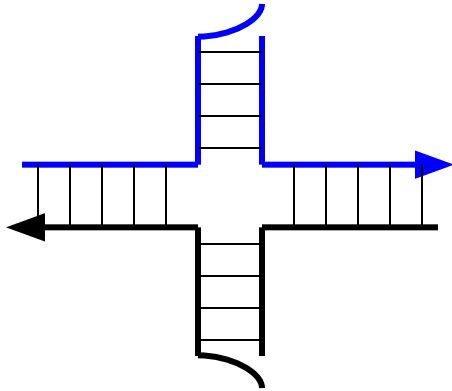
# Двойная спираль ДНК



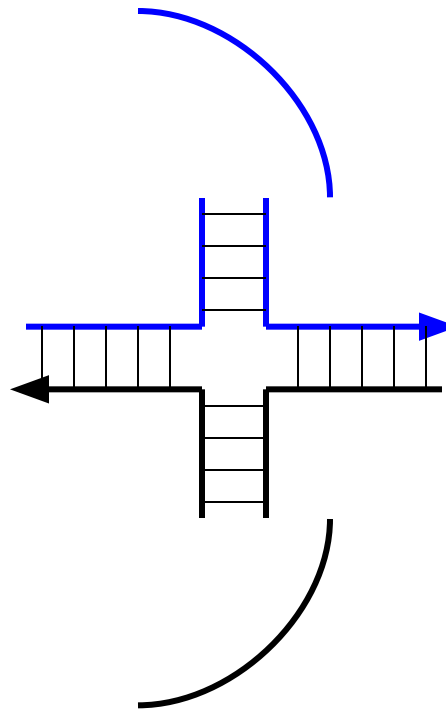
## Параметры двойных спиралей ДНК

Параметр	А-ДНК	В-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 ( $\delta$ )	+33.6°	+35.9°	-30°
Уклон <div style="text-align: center;">  <p>Уклон</p> </div>	+19°	~ 0°	-9°
Пропеллер <div style="text-align: center;">  <p>Пропеллер</p> </div>	+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

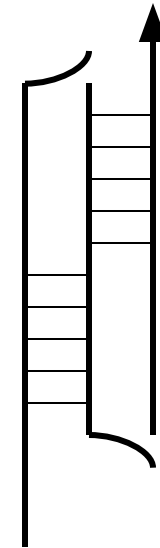
## Шпильки, стебельки, узелки



Шпилька

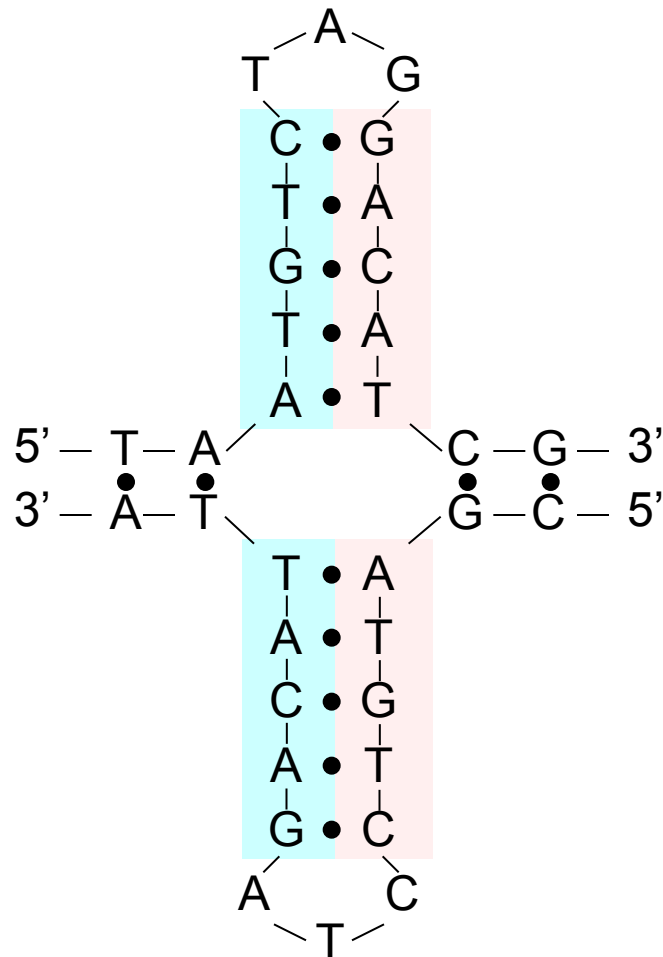
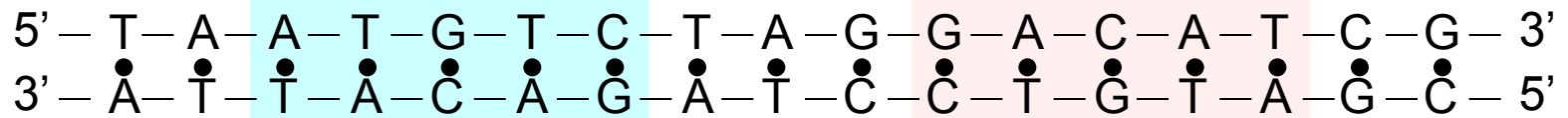


Петля на стебле  
(стебель-петля)



Псевдоузел

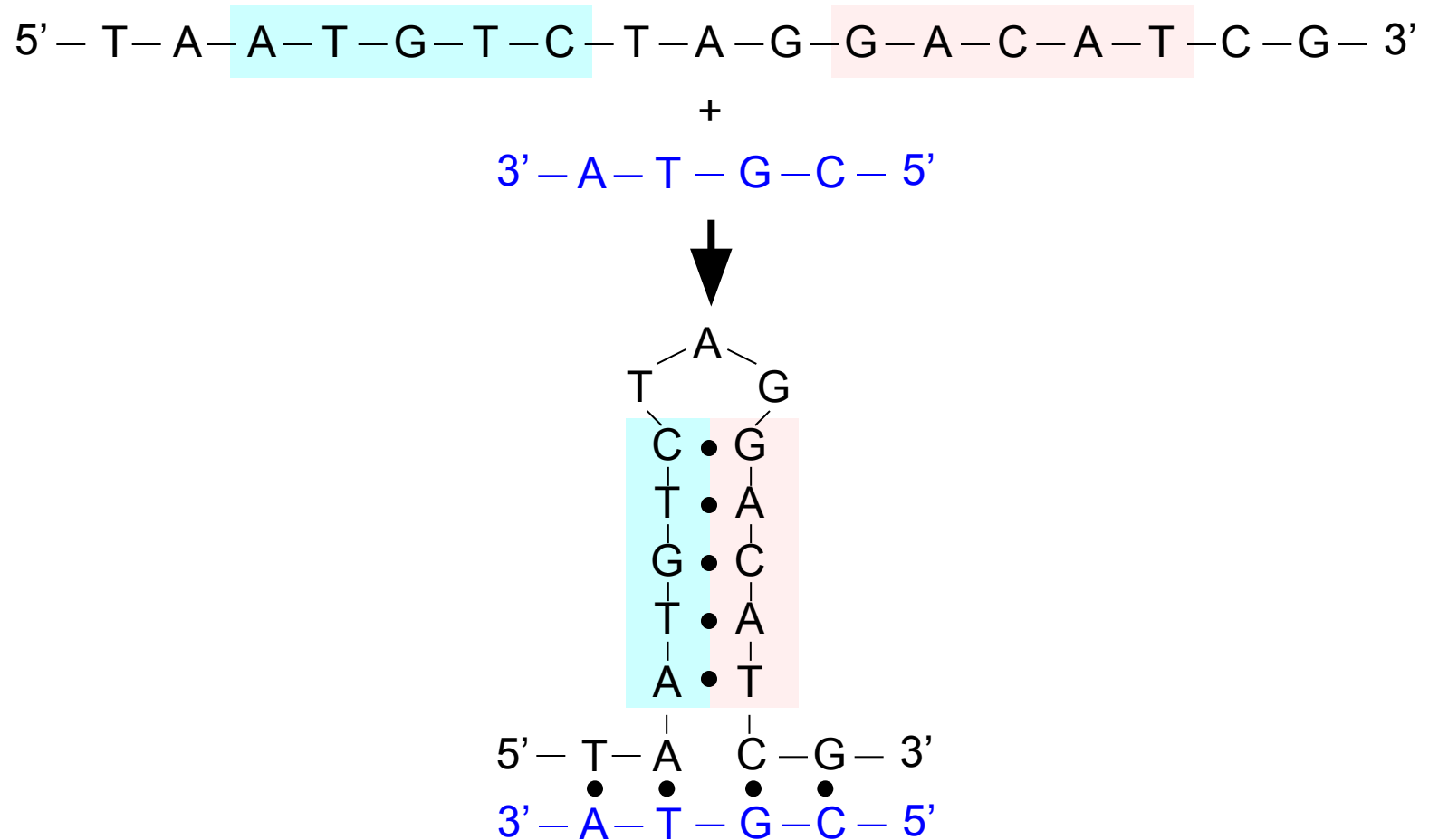
## Палиндромы (АРГЕНТИНАМАНИТНЕГРА)

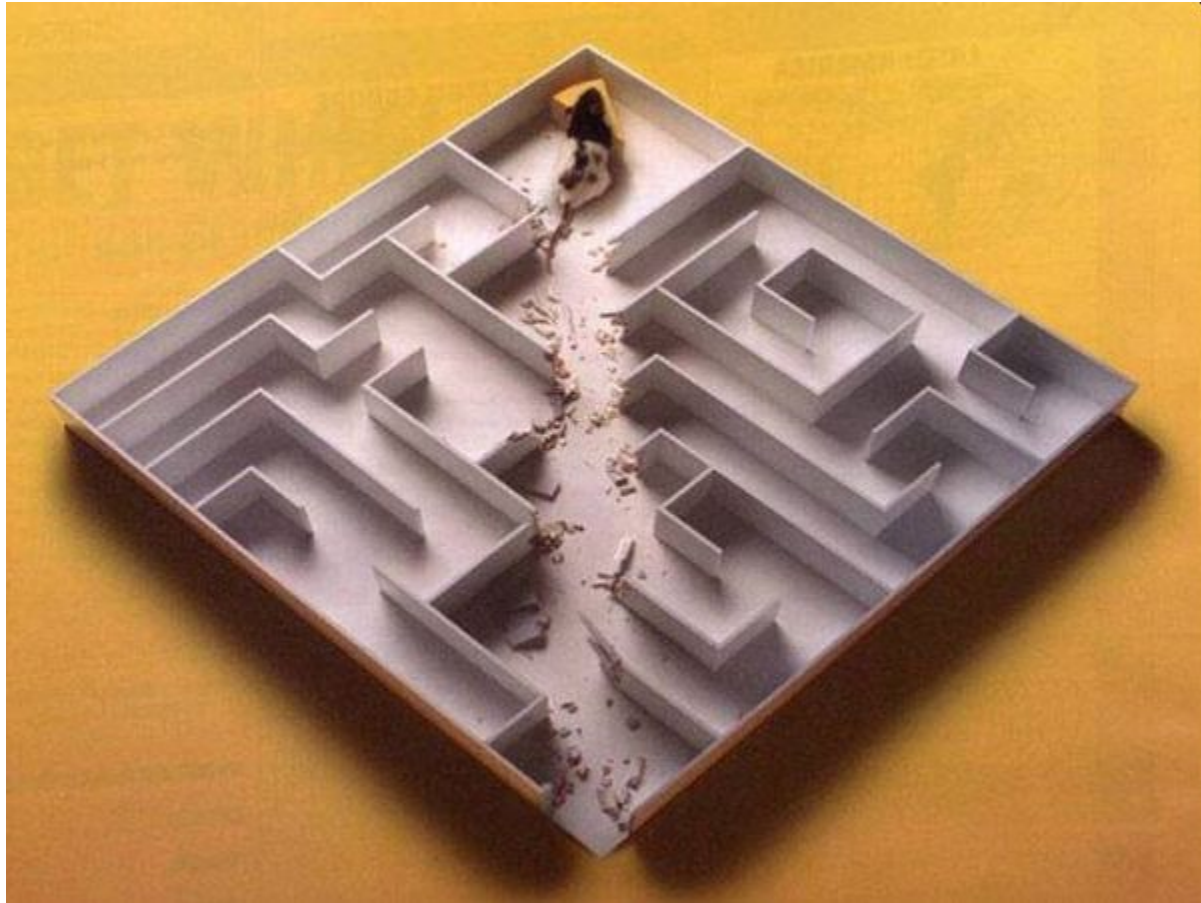




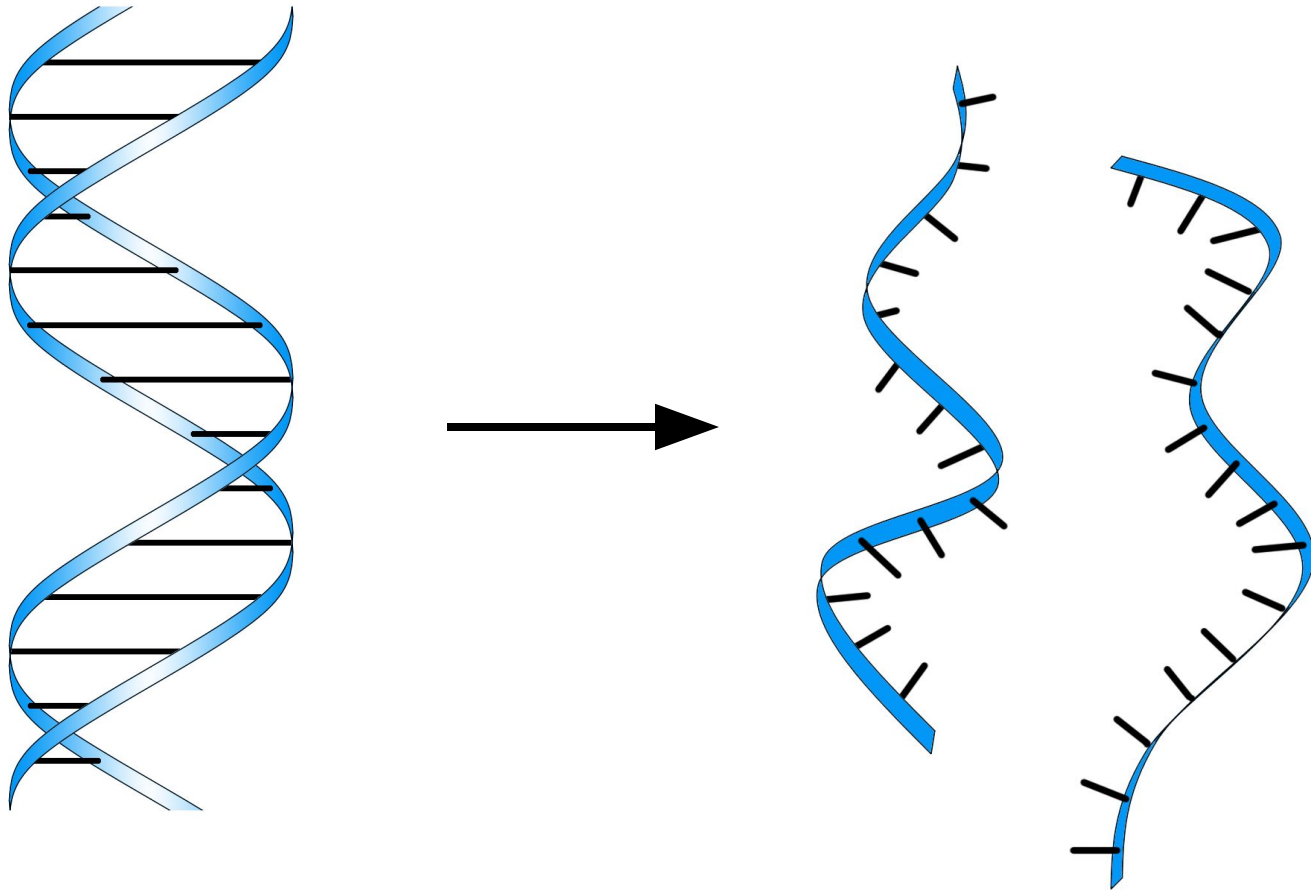
# Палиндромы

Неправильное спаривание

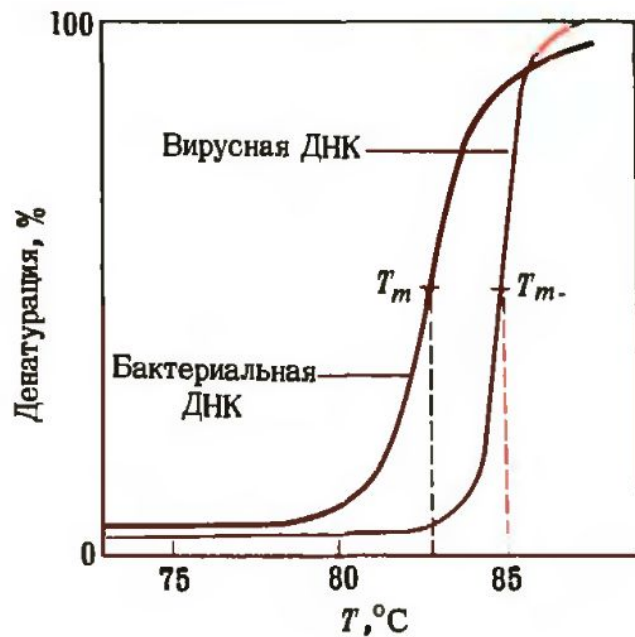




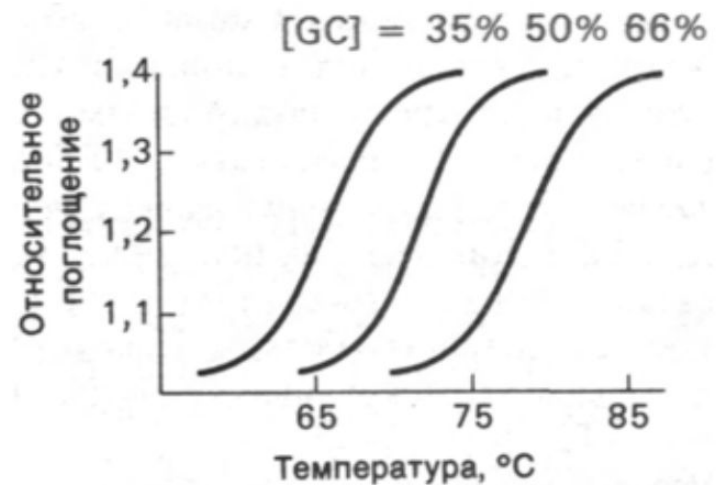
## Плавление (денатурация) ДНК



## Плавление ДНК



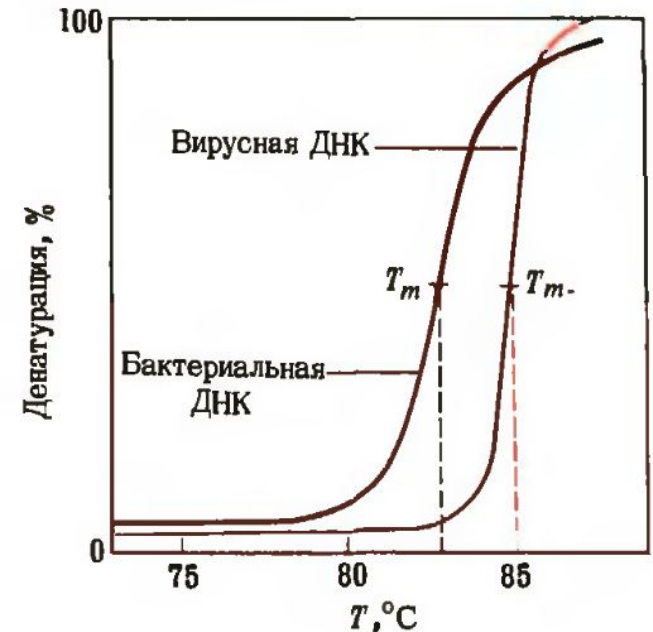
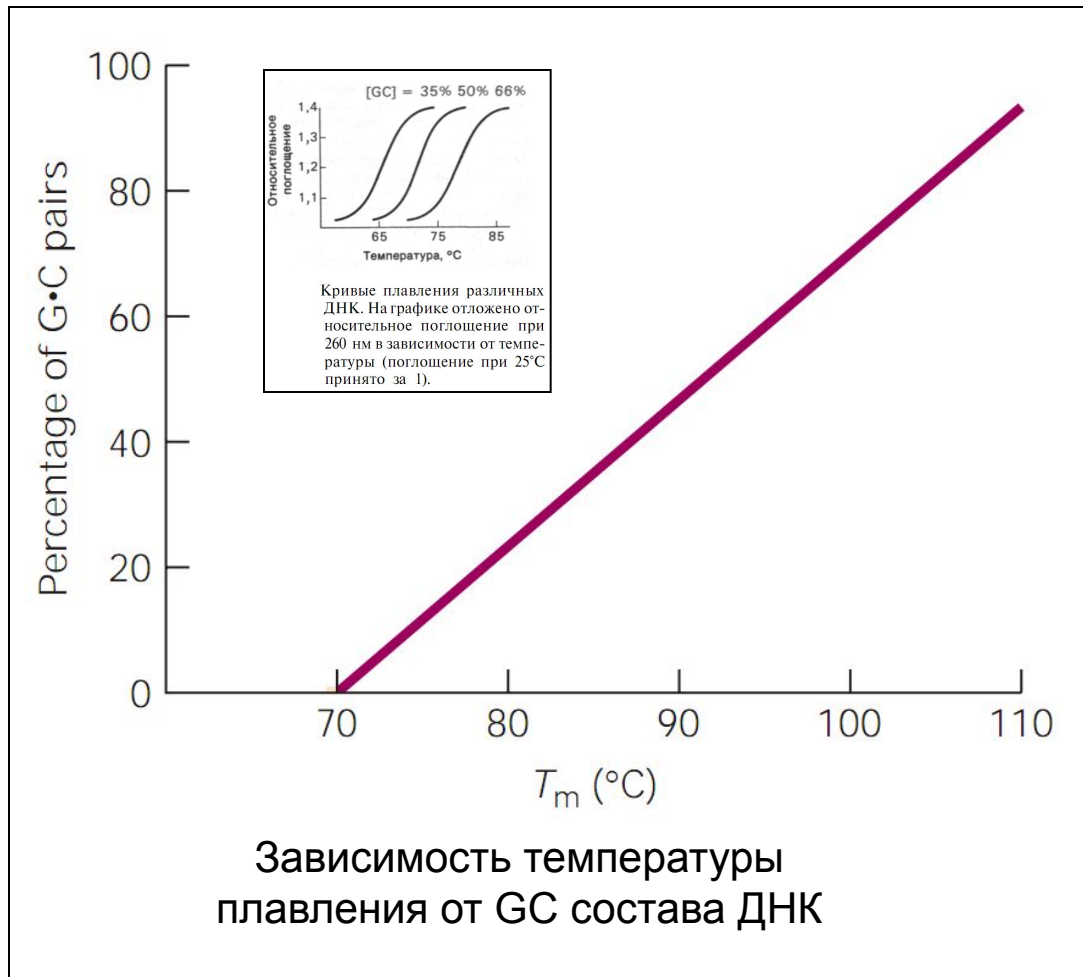
Кривая денатурации (плавления) двух препаратов ДНК. Температура, соответствующая средней точке перехода ( $T_m$ ), называется точкой плавления.



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

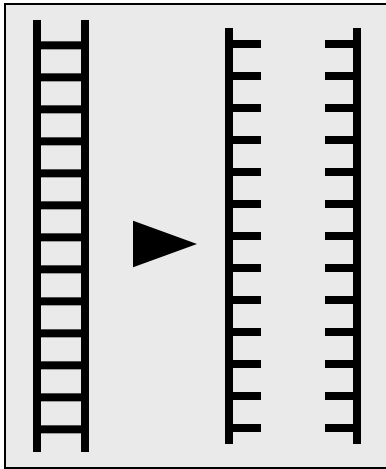
## Плавление (денатурация) ДНК

$T_m$  – температура плавления ( $m$  = “melting”)

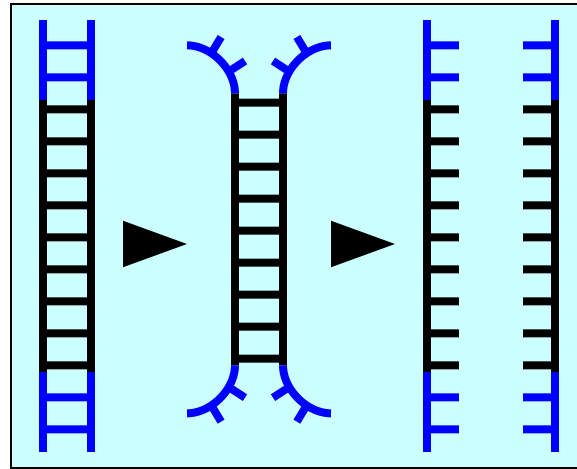


Кривая денатурации (плавления) двух препаратов ДНК. Температура, соответствующая средней точке перехода ( $T_m$ ), называется точкой плавления.

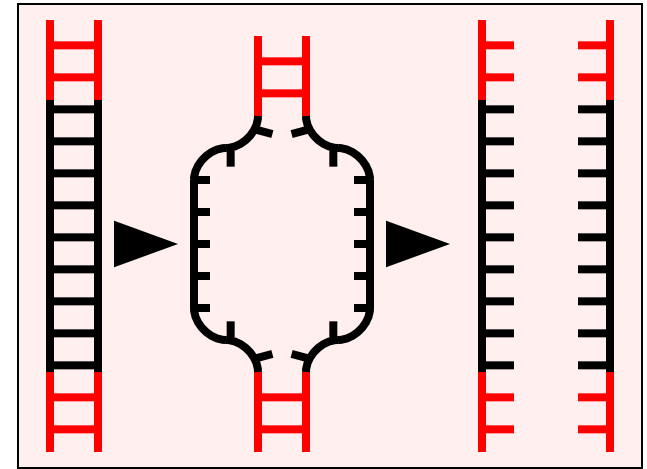
## Плавление (денатурация) ДНК



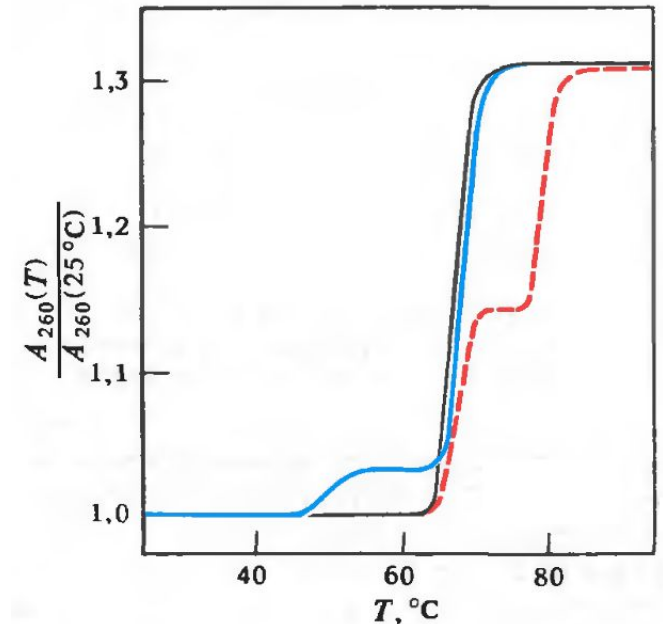
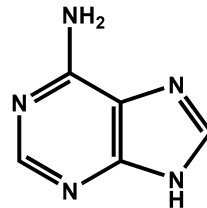
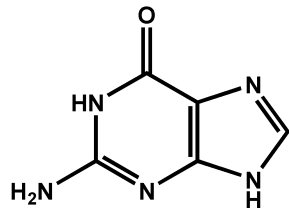
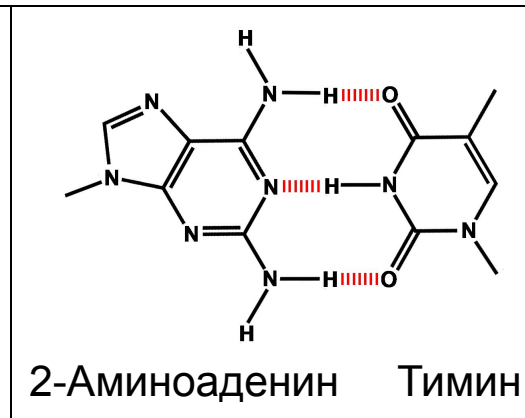
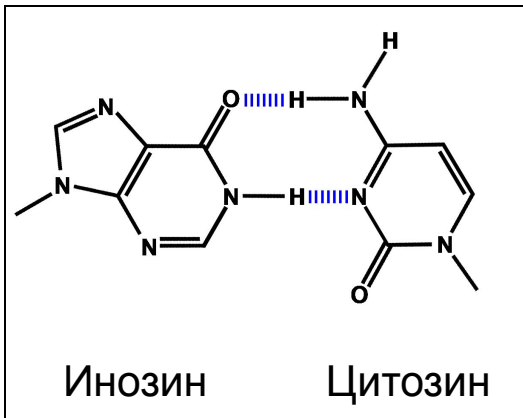
Олигонуклеотид



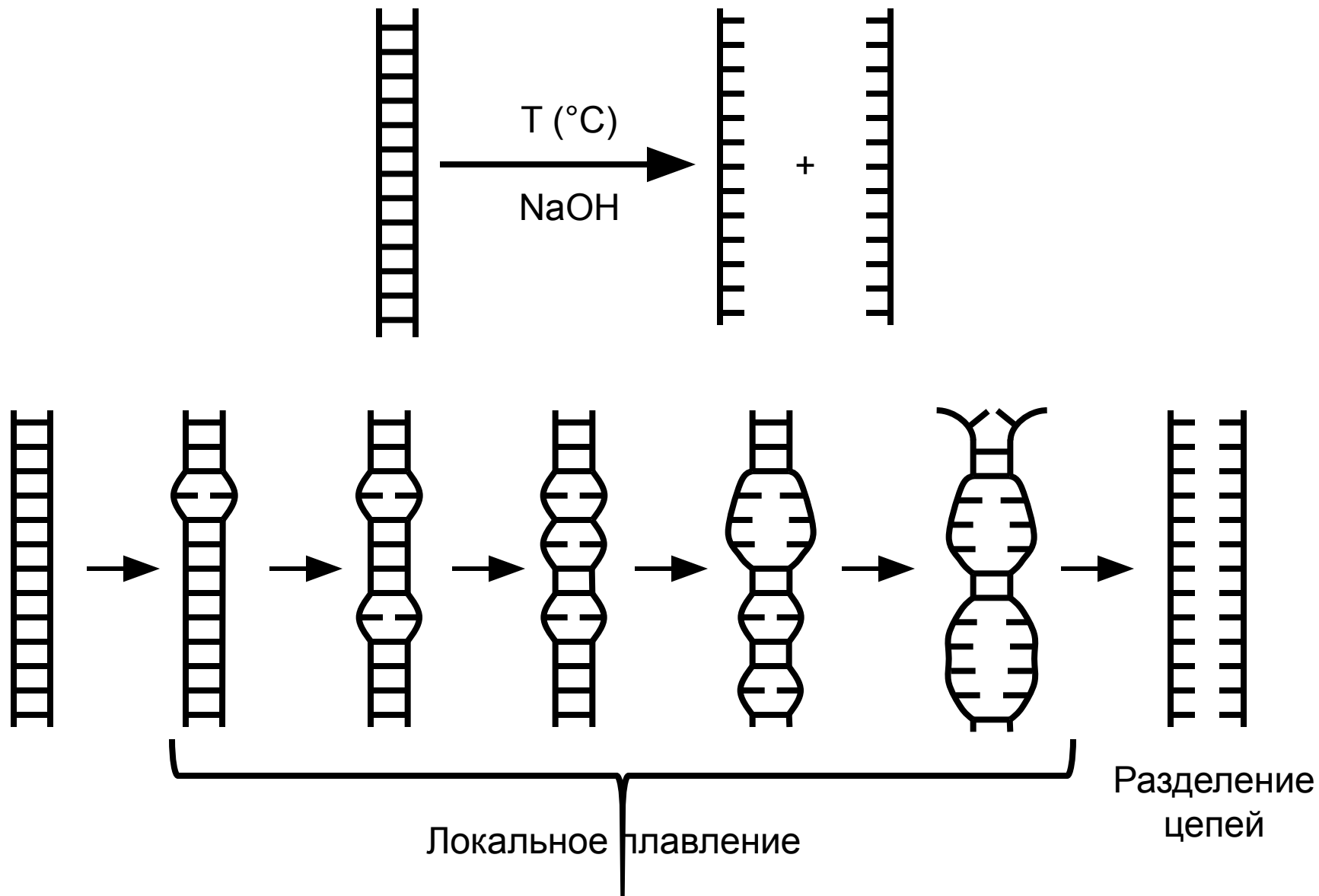
Синтетический олигонуклеотид с нестабильными концами



Синтетический олигонуклеотид со стабильными концами



## Плавление (денатурация) ДНК



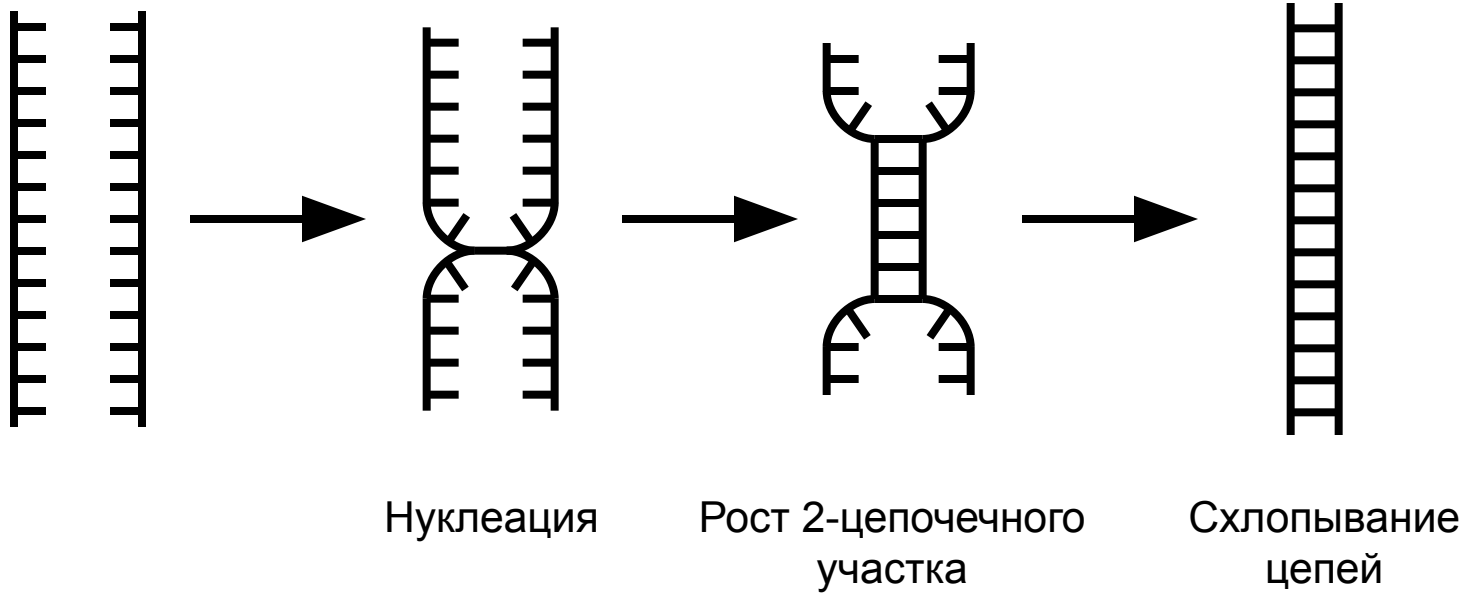
## Плавление (денатурация) ДНК



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

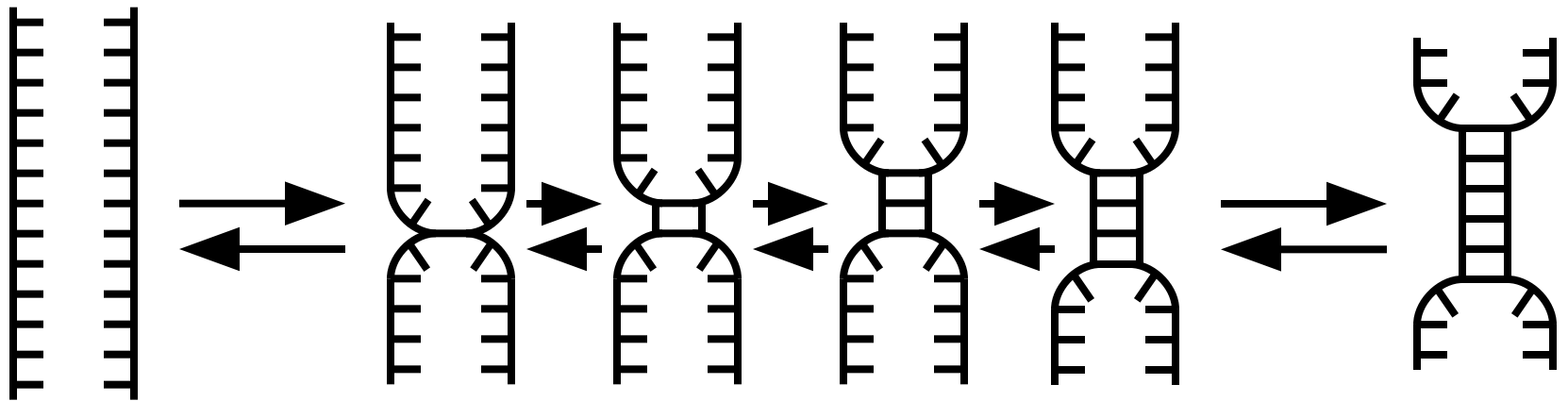


## Реассоциация (ренатурация) ДНК



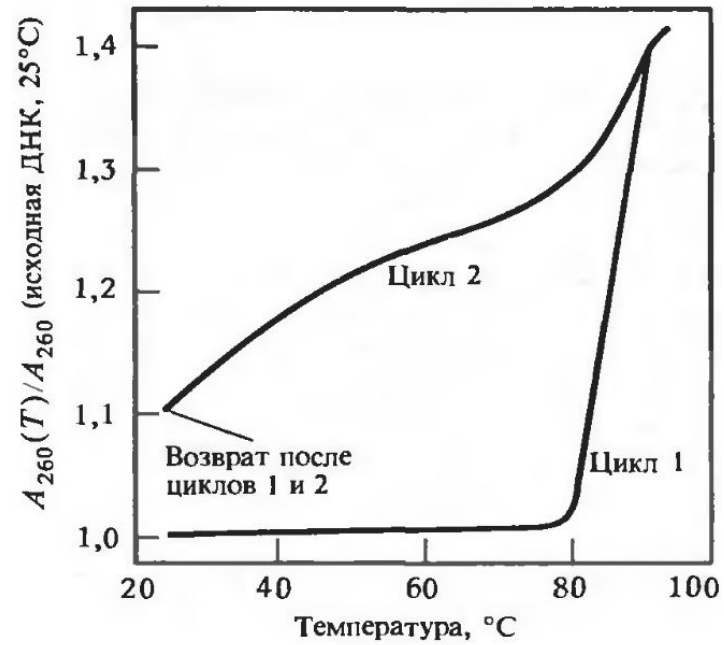
## Реассоциация (ренатурация) ДНК

Нуклеация



Рост 2-цепочечного участка

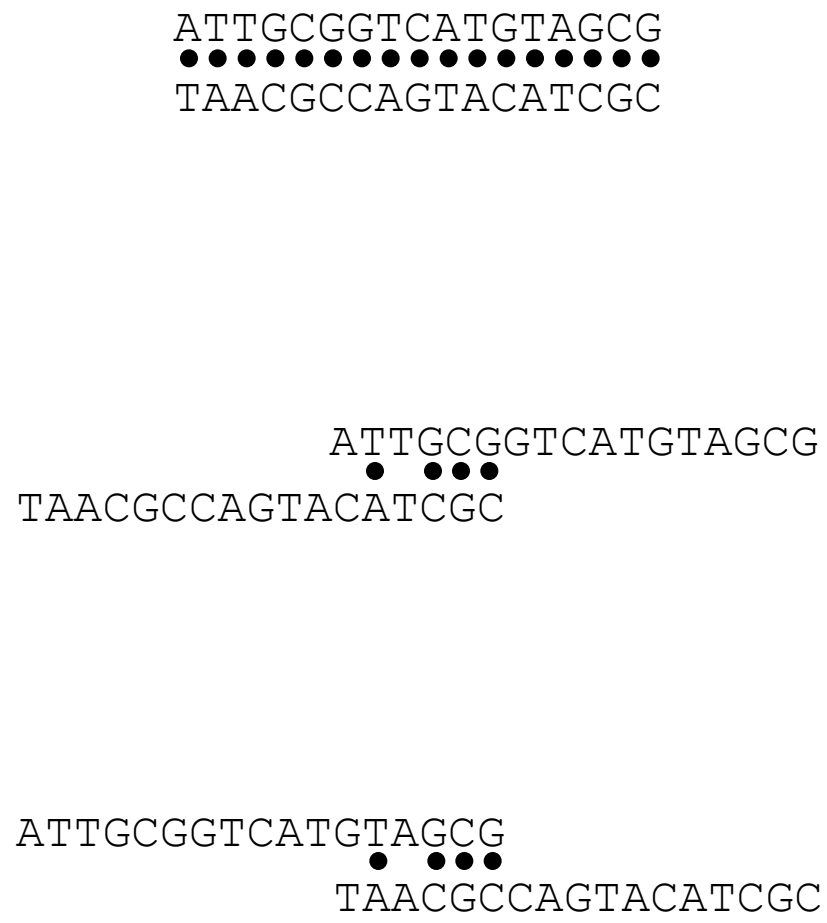
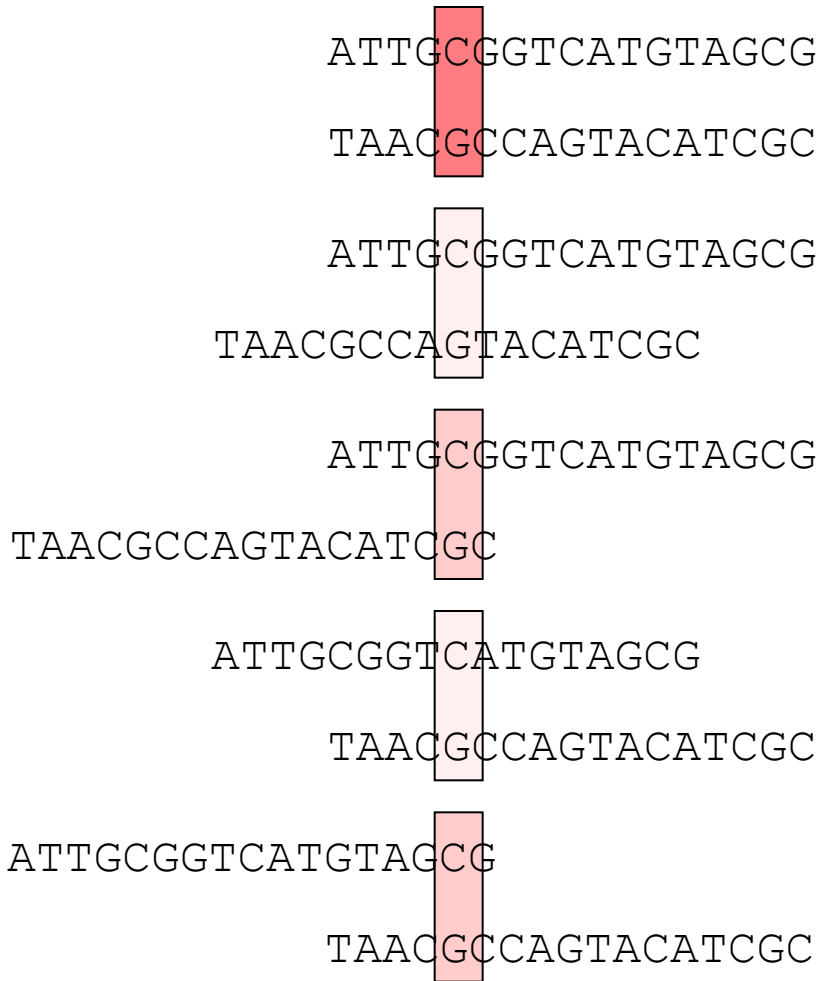
## Реассоциация (ренатурация) ДНК



Результат быстрого охлаждения ДНК  
после денатурации

# Реассоциация (ренатурация) ДНК

**АТТГСГГТСАТГТАГСГ**  
+  
**ТААСГССАГТАСАТСГС**



# Реассоциация (ренатурация) ДНК

**AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA**

+

**TTTTTTTTTTTTTTTTTTTT**

AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA  
●●●●●●●●●●●●●●●●●●  
TTTTTTTTTTTTTTTTTTTT

AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA  
●●●●●●●●●●●●●●●●●●  
TTTTTTTTTTTTTTTTTTTT

AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA  
●●●●●●●●●●●●●●●●●●  
TTTTTTTTTTTTTTTTTTTT

AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA  
●●●●●●●●●●●●●●●●●●  
TTTTTTTTTTTTTTTTTTTT

2L + 1  
вариантов ...

AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA  
●●●●●●●●●●●●●●●●●●  
TTTTTTTTTTTTTTTTTTTT

AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA  
●●●●●●●●●●●●●●●●●●  
TTTTTTTTTTTTTTTTTTTT

AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA  
●●●●●●●●●●●●●●●●●●  
TTTTTTTTTTTTTTTTTTTT

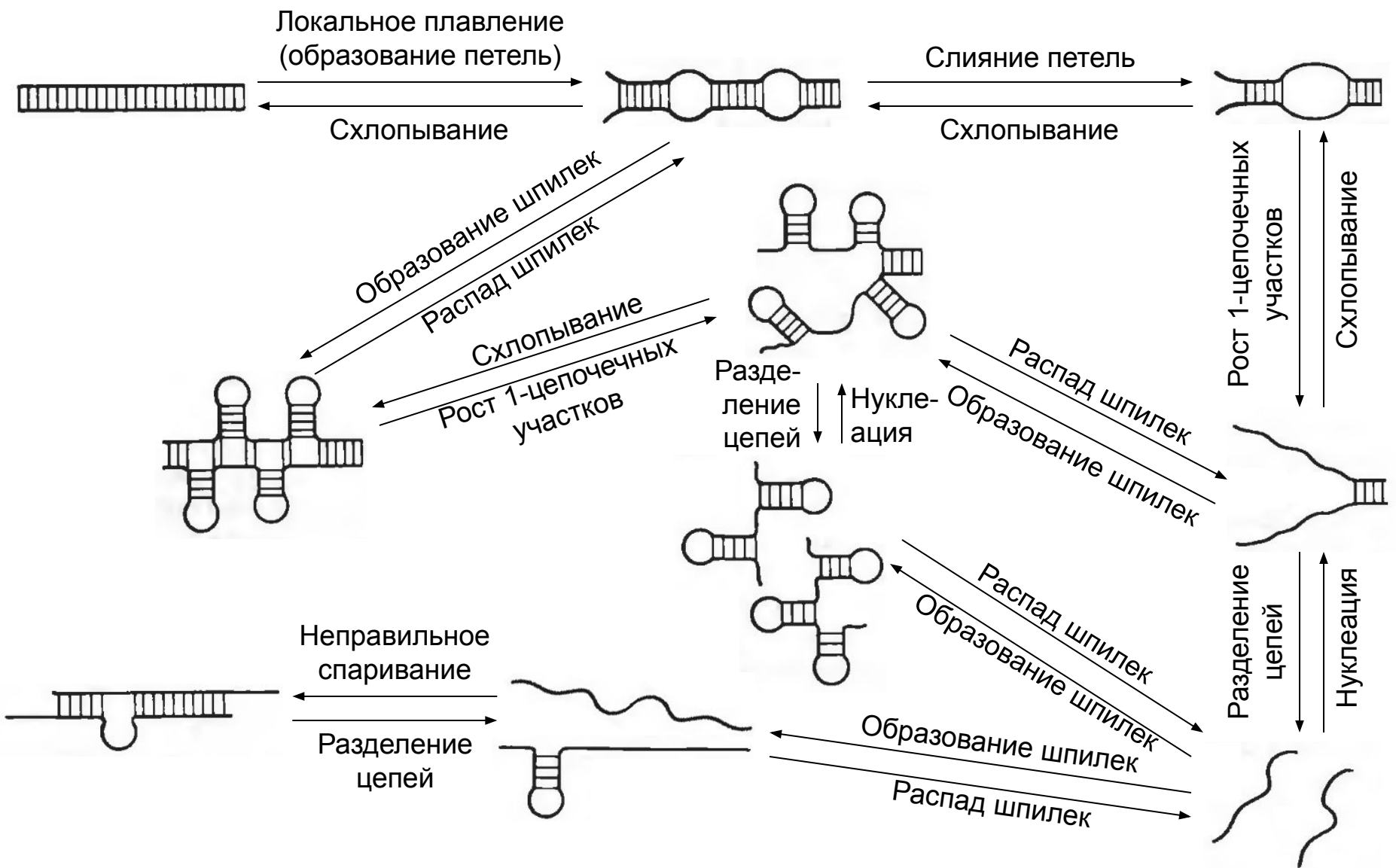
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA  
●●●●●●●●●●●●●●●●●●  
TTTTTTTTTTTTTTTTTTTT

AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA  
●●●●●●●●●●●●●●●●●●  
TTTTTTTTTTTTTTTTTTTT

... + липкие концы

AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA    AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA  
●●●●●●●●●●●●●●●●●●    ●●●●●●●●●●●●●●●●●●  
TTTTTTTTTTTTTTTTTTTT    TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTT

# **Реассоциация (ренатурация) ДНК**



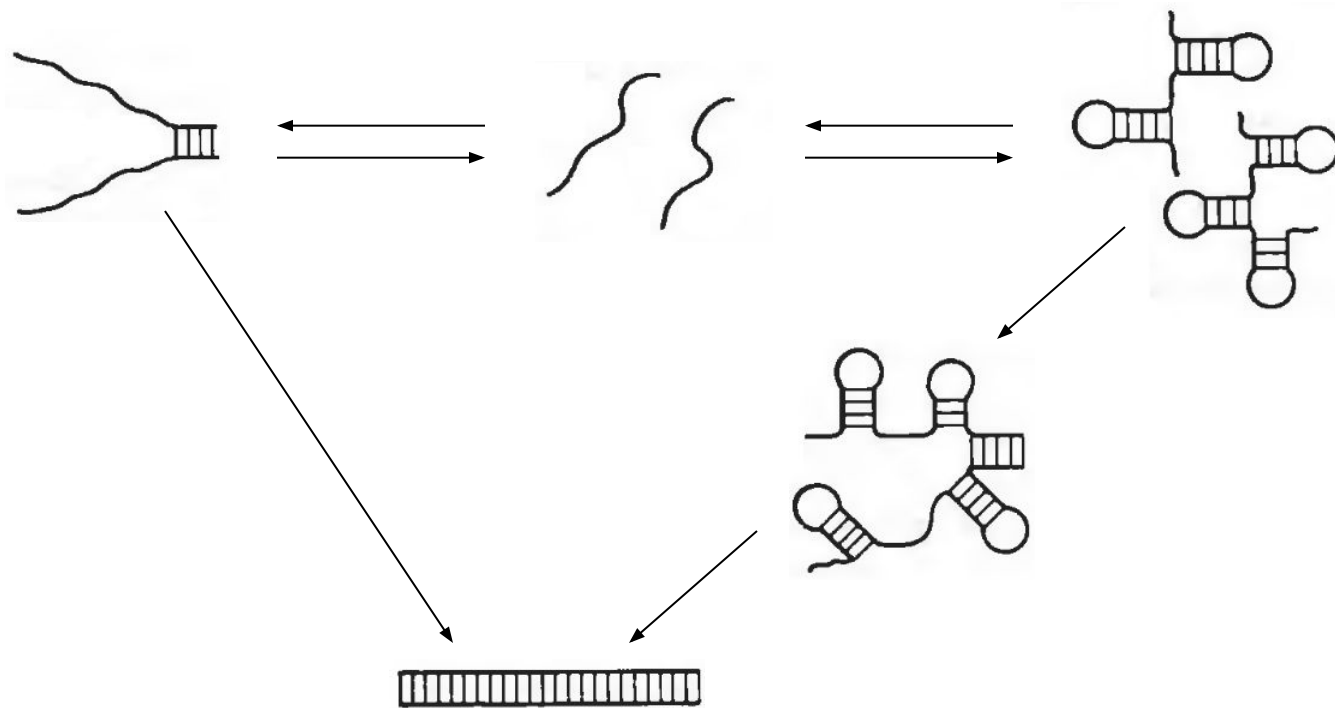
***Структуры ДНК при температурах, близких к T<sub>m</sub>***

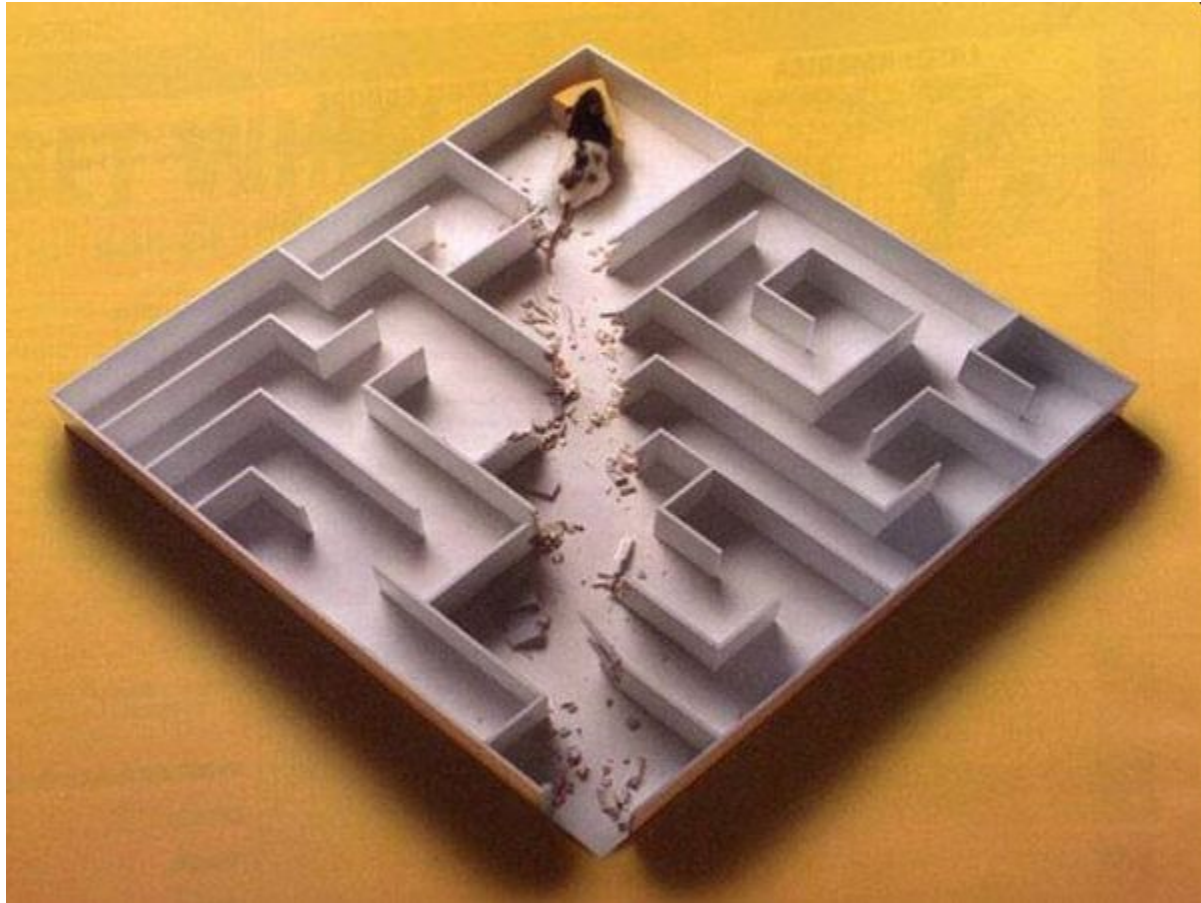
## Реассоциация (ренатурация) ДНК

Отжиг – нагрев и медленное охлаждение

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

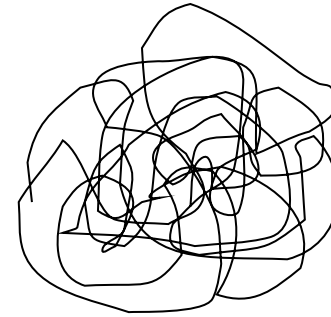
$T_a \approx T_m - 5 \text{ (}^\circ\text{C)}$





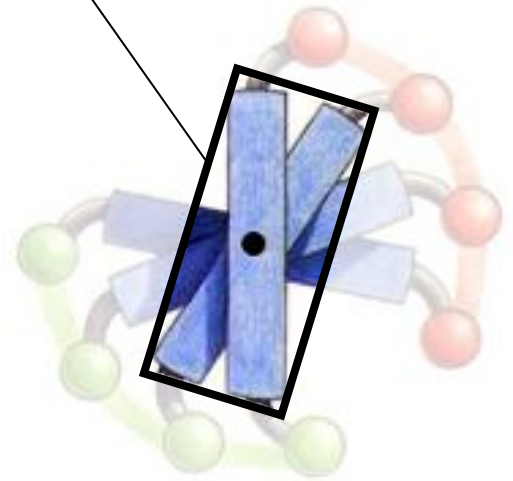
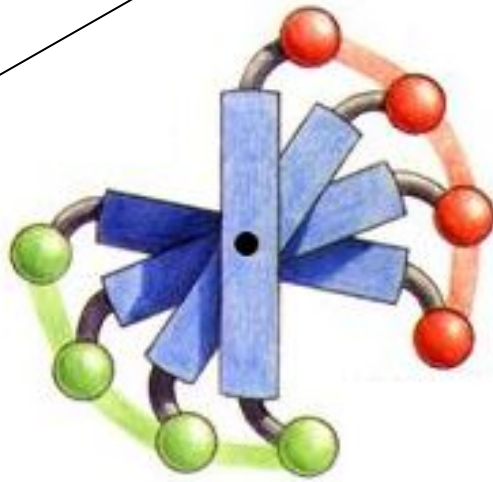
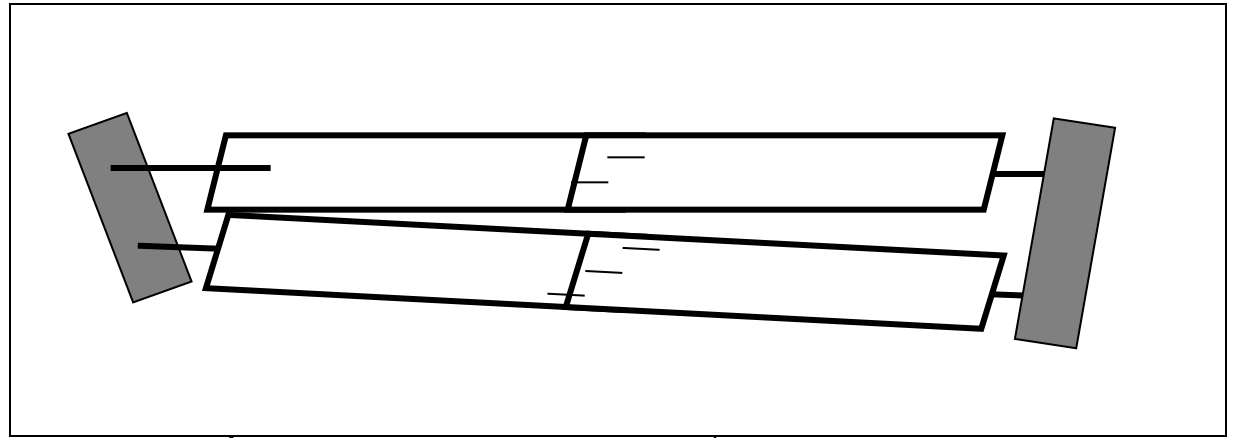
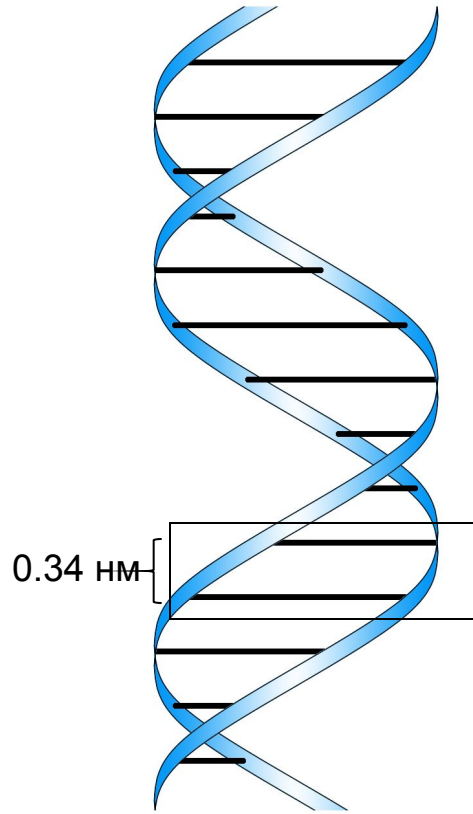


## Гибкость ДНК

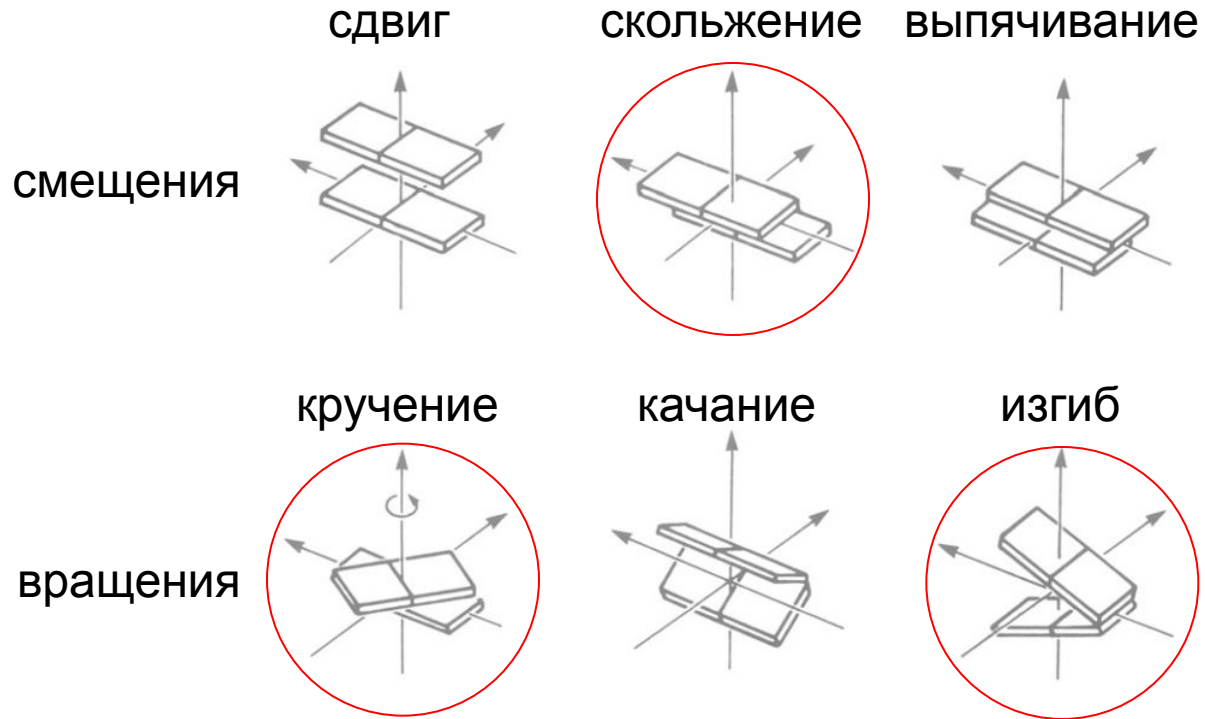


В растворе молекула ДНК представляет собой хаотичный клубок

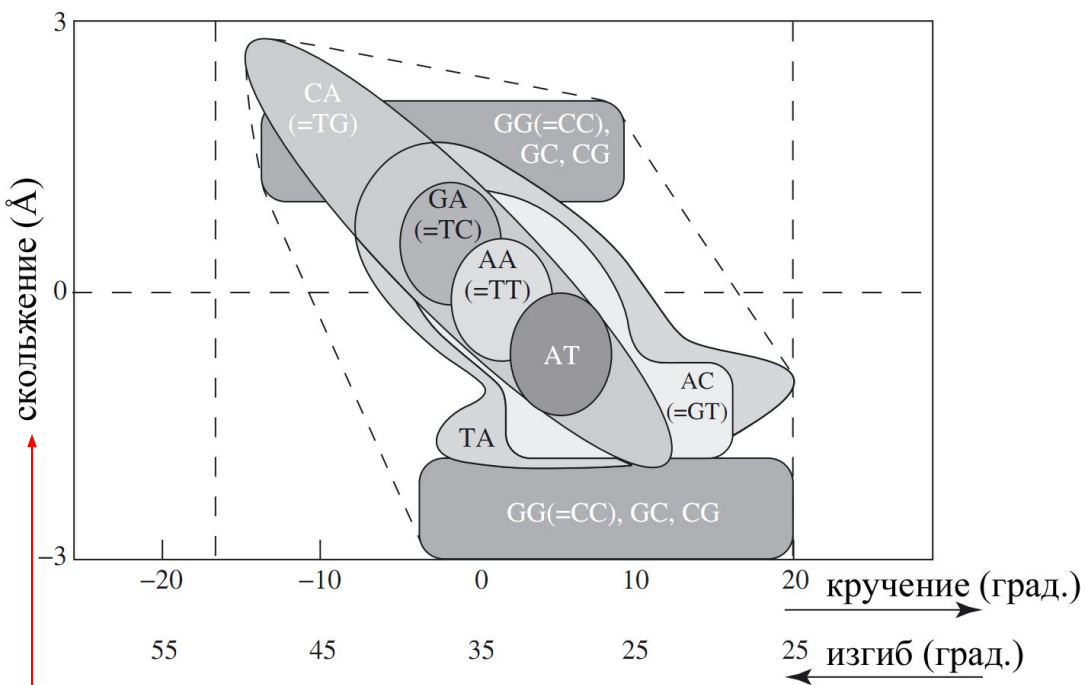
## Шаг пары оснований



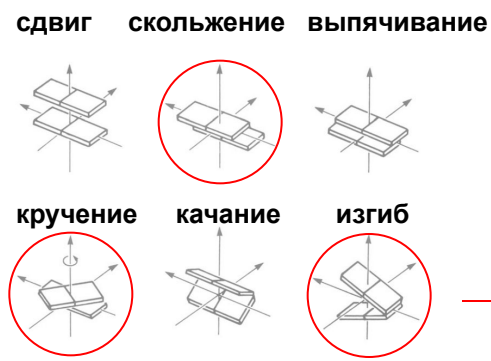
## Конформации шага пары оснований



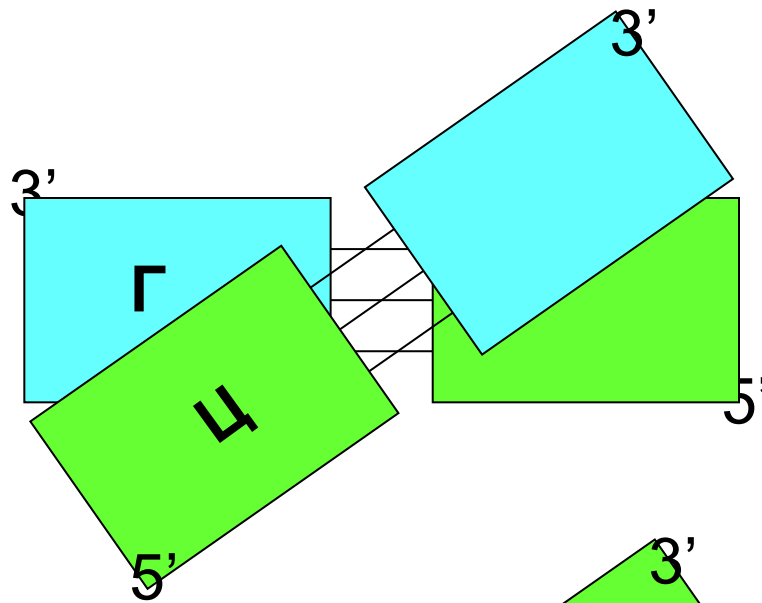
# Конформационная подвижность шага пар оснований



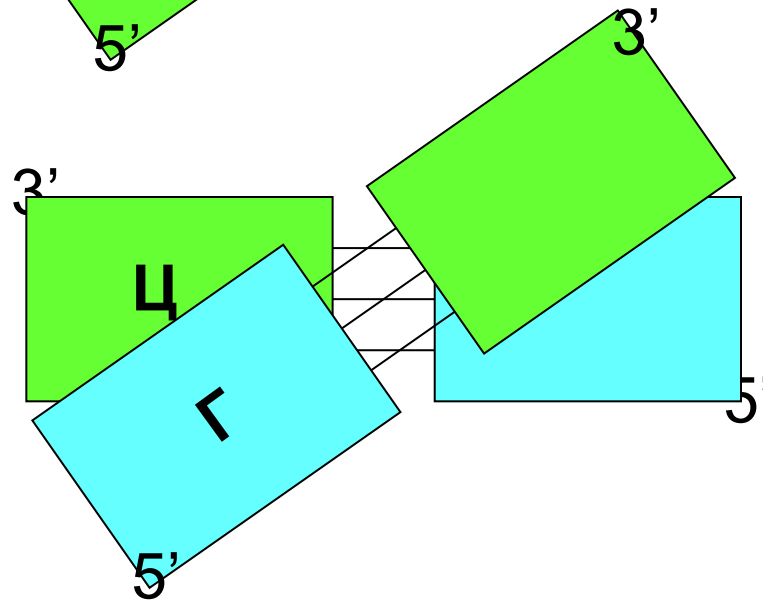
## Конформационные диапазоны шагов пар оснований



## Подвижность шага пар оснований

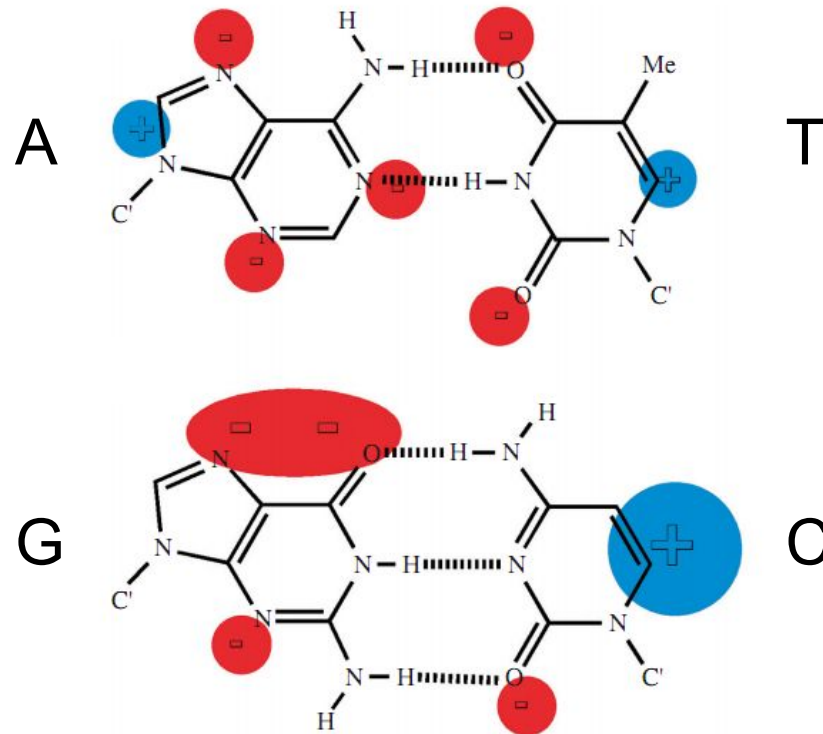


Шаг C-G

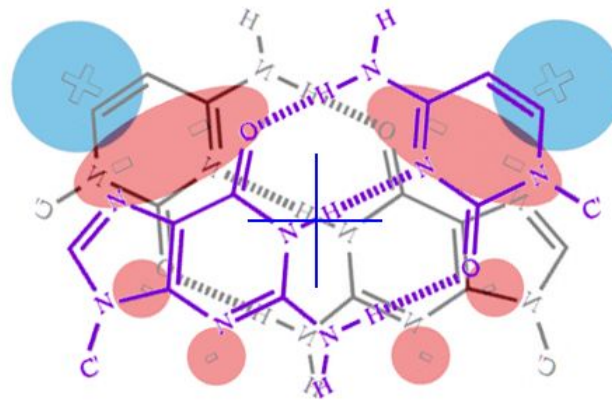
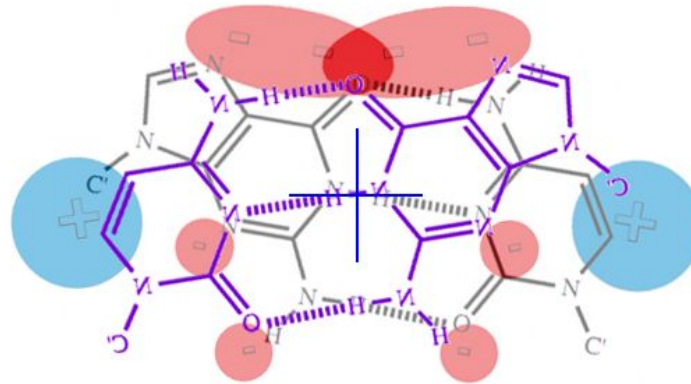


Шаг G-C

## Электронная конфигурация пар оснований

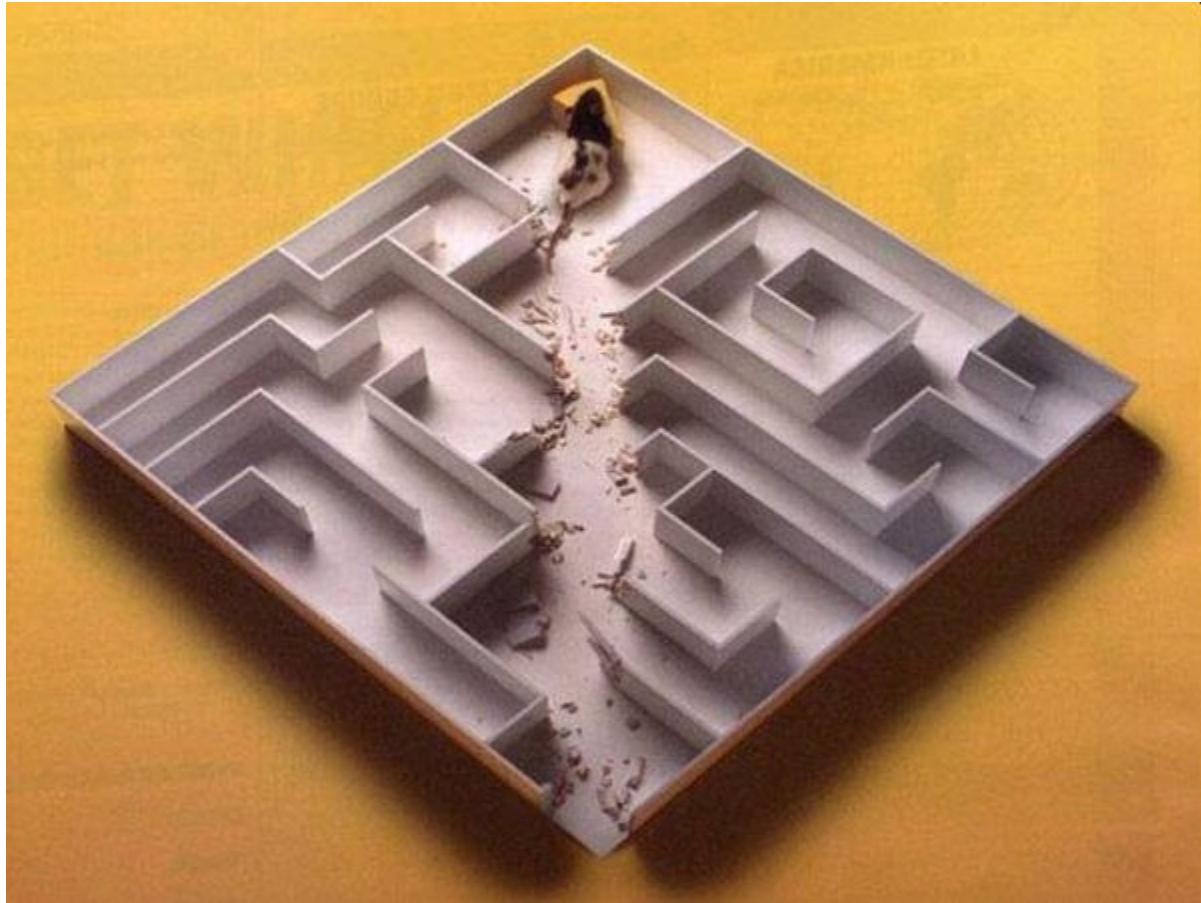


## Электронные конфигурации шагов пар оснований





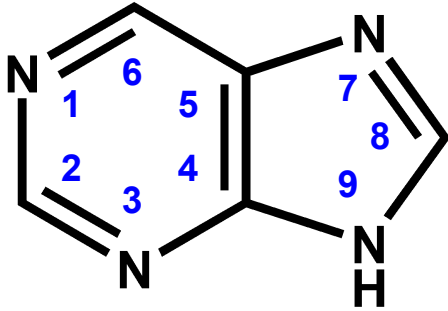




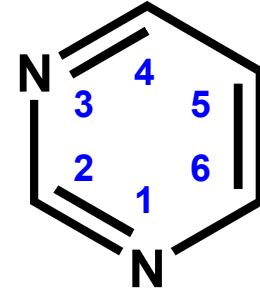
# **РНК**

## **Первичная структура**

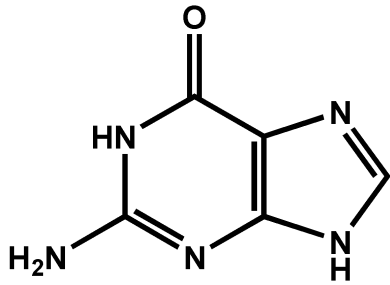
## Азотистые основания



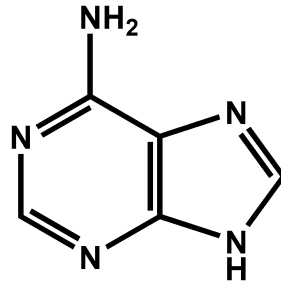
Пурин



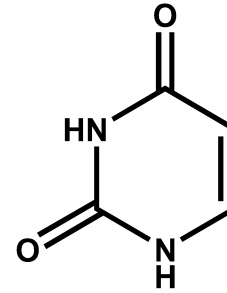
Пиримидин



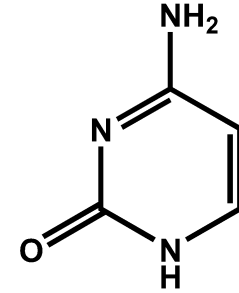
Гуанин



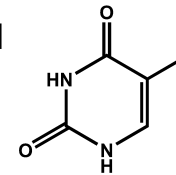
Аденин



Урацил



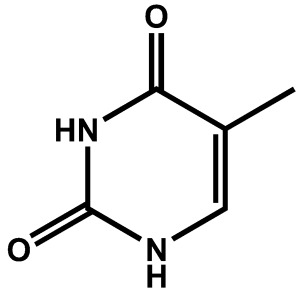
Цитозин



Тимин

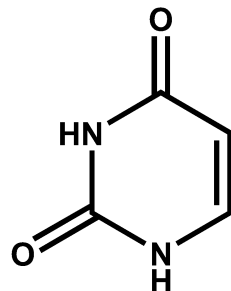
## Различия в биологических свойствах урацила и тимина

ДНК

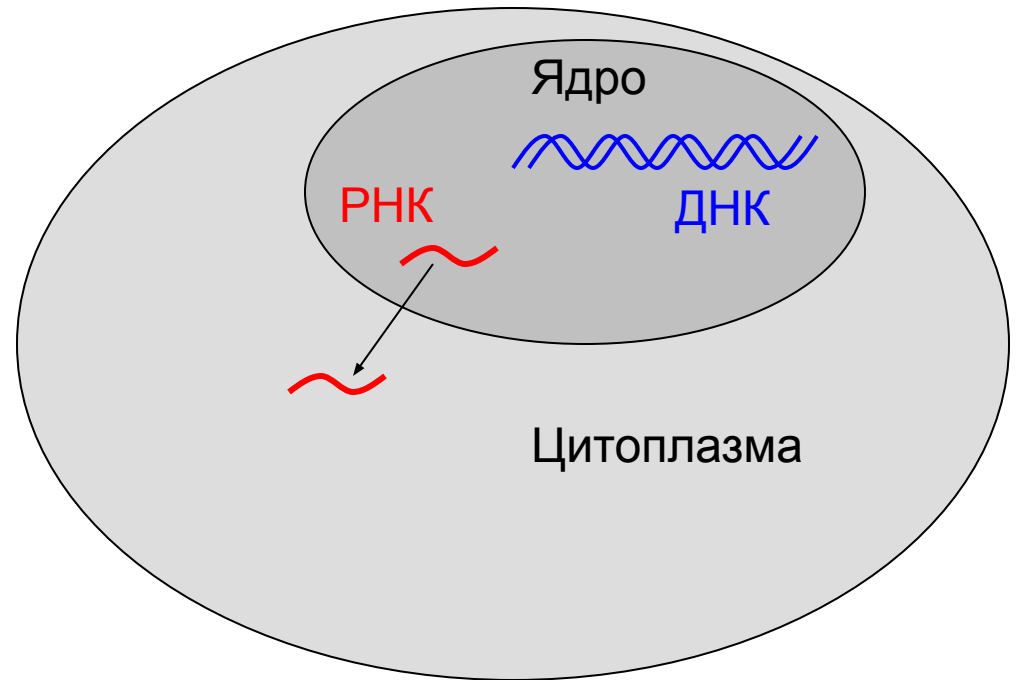


Тимин  
(5-метилурацил)

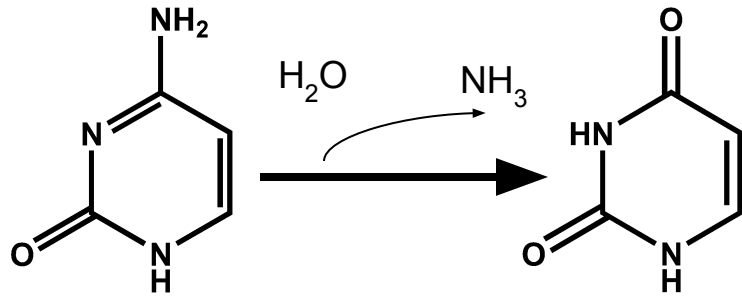
РНК



Урацил



## Различия в биологических свойствах урацила и тимина



ЦИТОЗИН

AUUGCUCGAUGCUCGUUAG  
•••••  
UAACGAGCUACGAAGCAAUC

A

AUUGCUCGAUGCUCUUGUUAG  
•••••  
UAACGAGCUACGAAGCAAUC

A

AUUGCUCGAUGCUCUUGUUAG  
•••••  
UAACGAGCUACGAAACAUC

A

AUUGCUCGAUGCUCUCGUUAG  
•••••  
UAACGAGCUACGAAGCAAUC

A

ATTGCTCGATGCTTCGTTAG  
•••••  
TAACGAGCTACGAAGCAATC

A

ATTGCTCGATGCTTUGTTAG  
•••••  
TAACGAGCTACGAAGCAATC

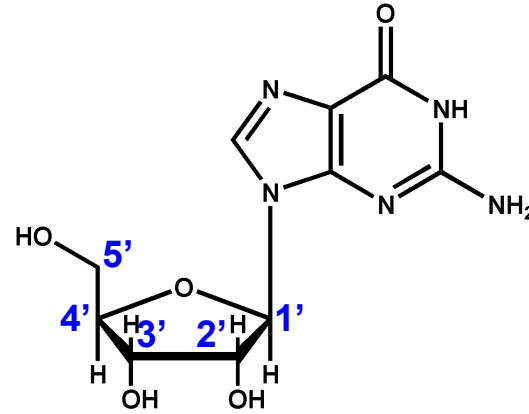
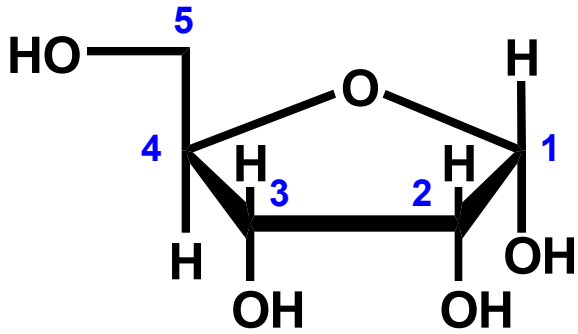
A

ATTGCTCGATGCTTCGTTAG  
•••••  
TAACGAGCTACGAAGCAATC

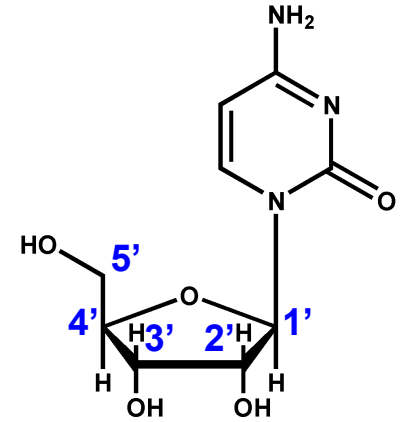
A

## Рибоза

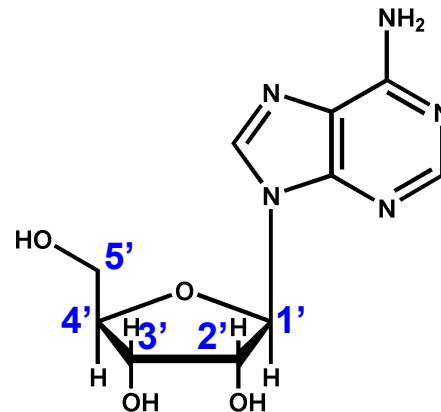
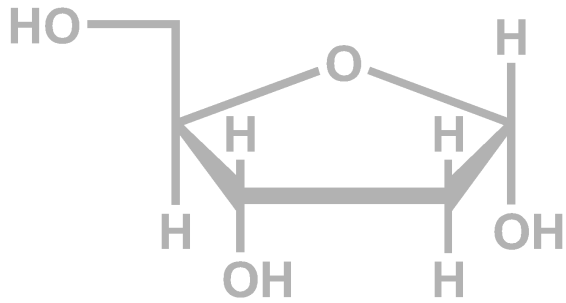
Нуклеозиды  
( $\beta$ -N-гликозиды)



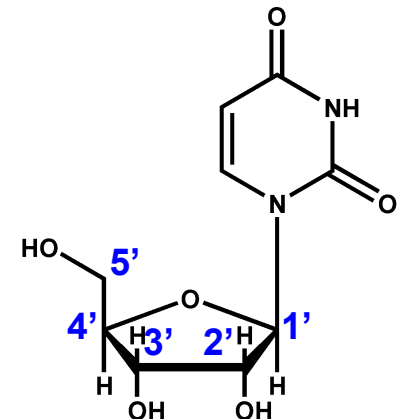
Гуанозин



Цитидин



Аденозин

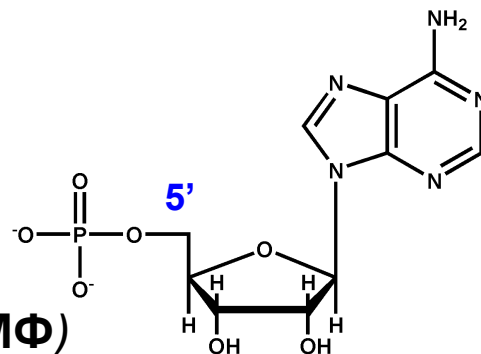


Уридин

## Нуклеотиды - фосфорные эфиры нуклеозидов

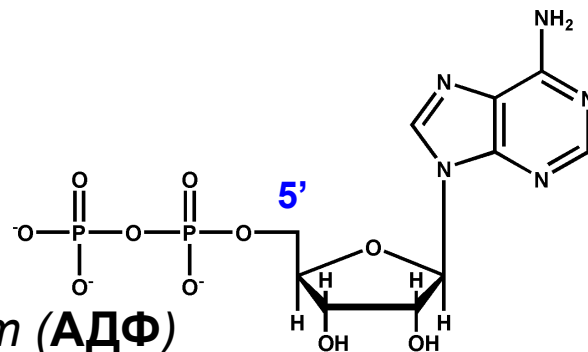
Эфиры ортофосфорной кислоты  
нуклеозидмонофосфаты

Аденозин-5'-монофосфат (АМФ)



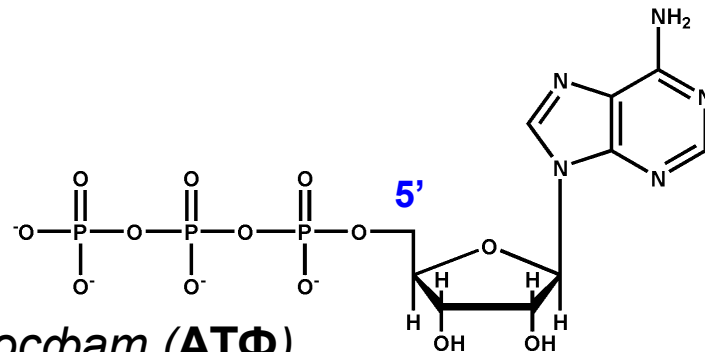
Эфиры пиродифосфорной кислоты  
нуклеозиддифосфаты

Аденозин-5'-дифосфат (АДФ)



Эфиры триполифосфорной кислоты  
нуклеозидтрифосфаты

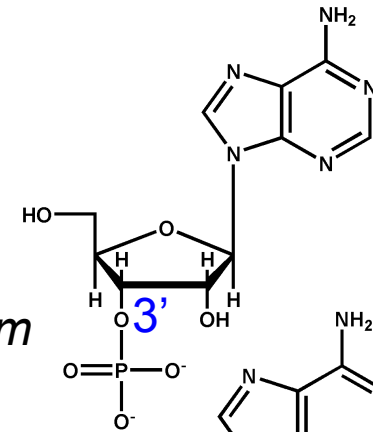
Аденозин-5'-трифосфат (АТФ)



# Нуклеотиды - фосфорные эфиры нуклеозидов

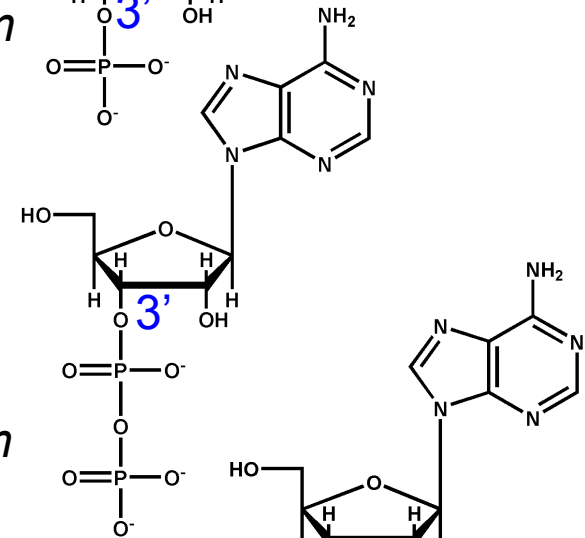
Эфиры ортофосфорной кислоты  
нуклеозидмонофосфаты

*Аденозин-3'-монофосфат*



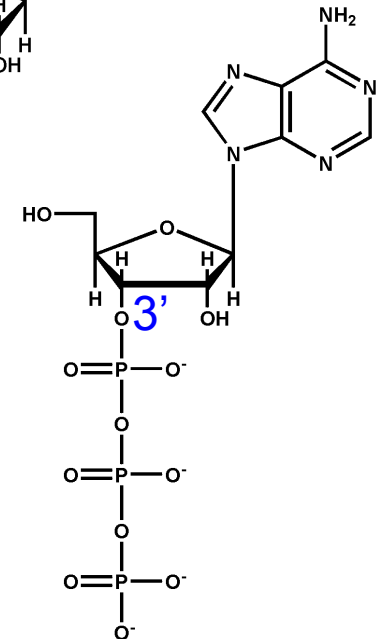
Эфиры пирофосфорной кислоты  
нуклеозиддифосфаты

*Аденозин-3'-дифосфат*



Эфиры триполифосфорной кислоты  
нуклеозидтрифосфаты

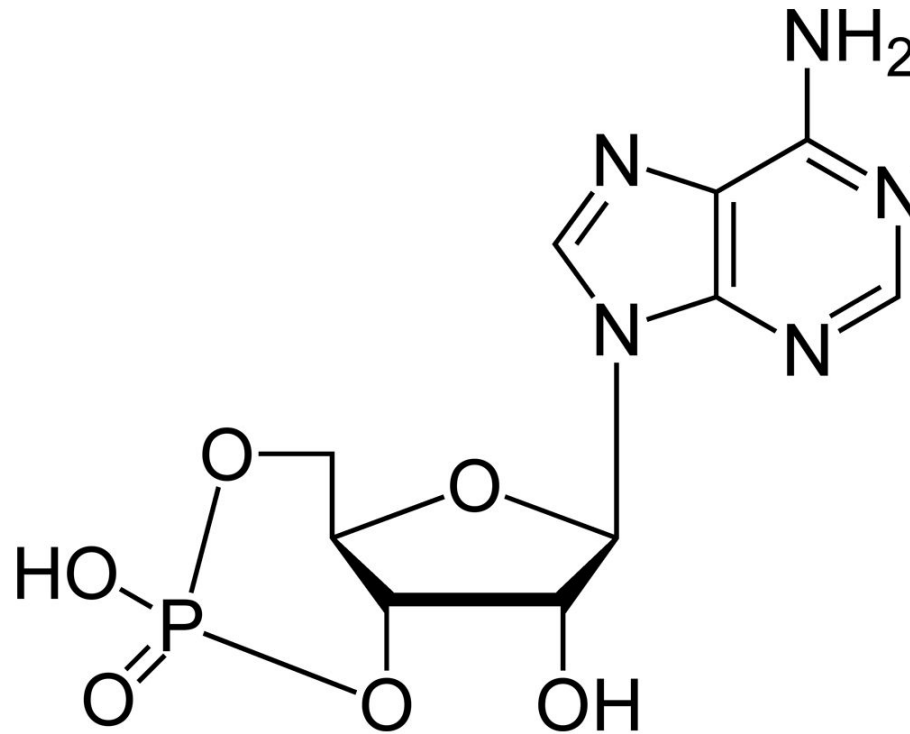
*Аденозин-3'-трифосфат*





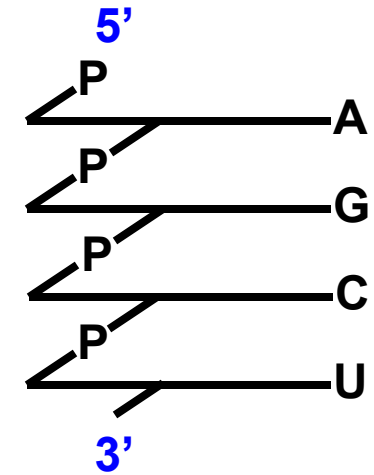
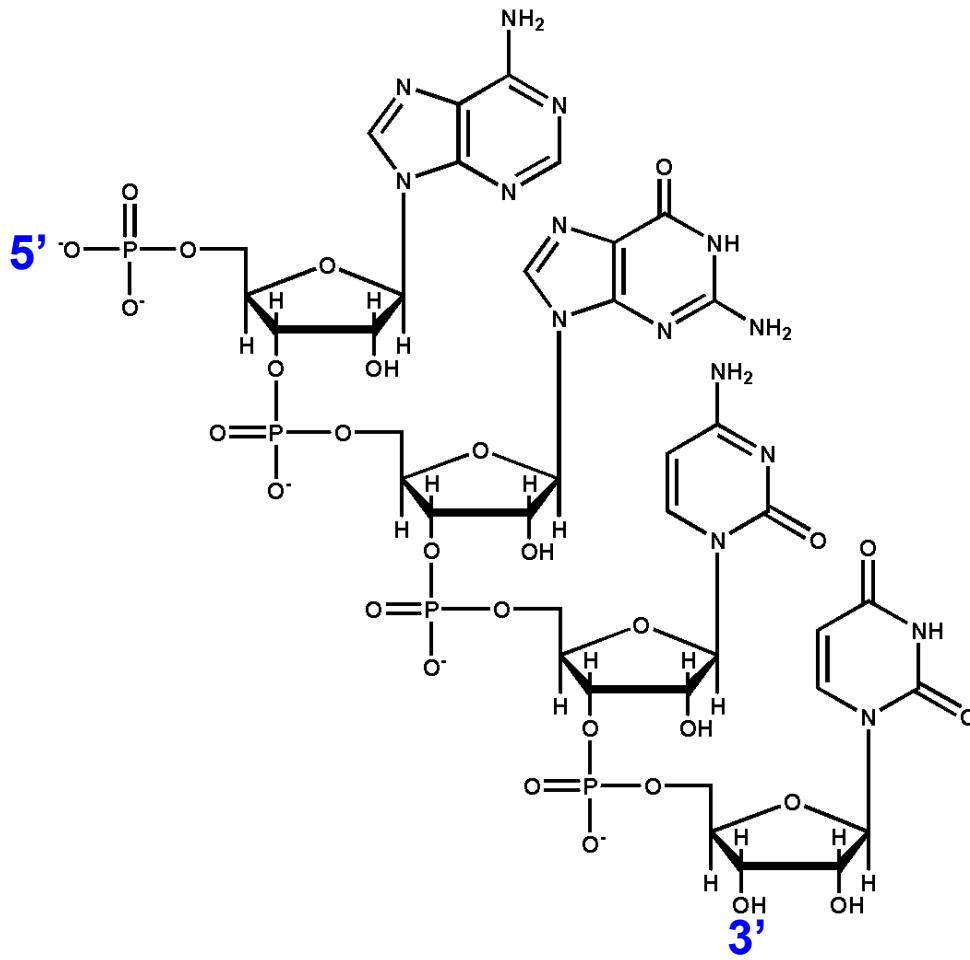
## цАМФ

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



# Олигонуклеотиды и полинуклеотиды

## NpNpNpNpN...



5'-pApGpCpU-3'

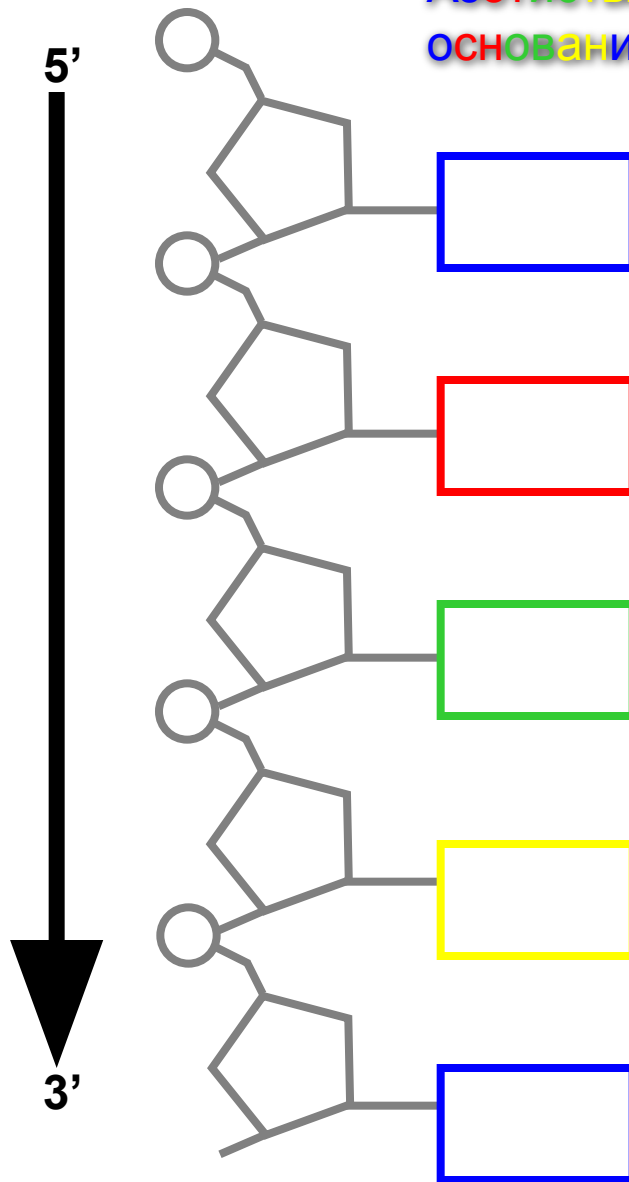
**AGCU**

# Первичная структура РНК

Сахарофосфатный

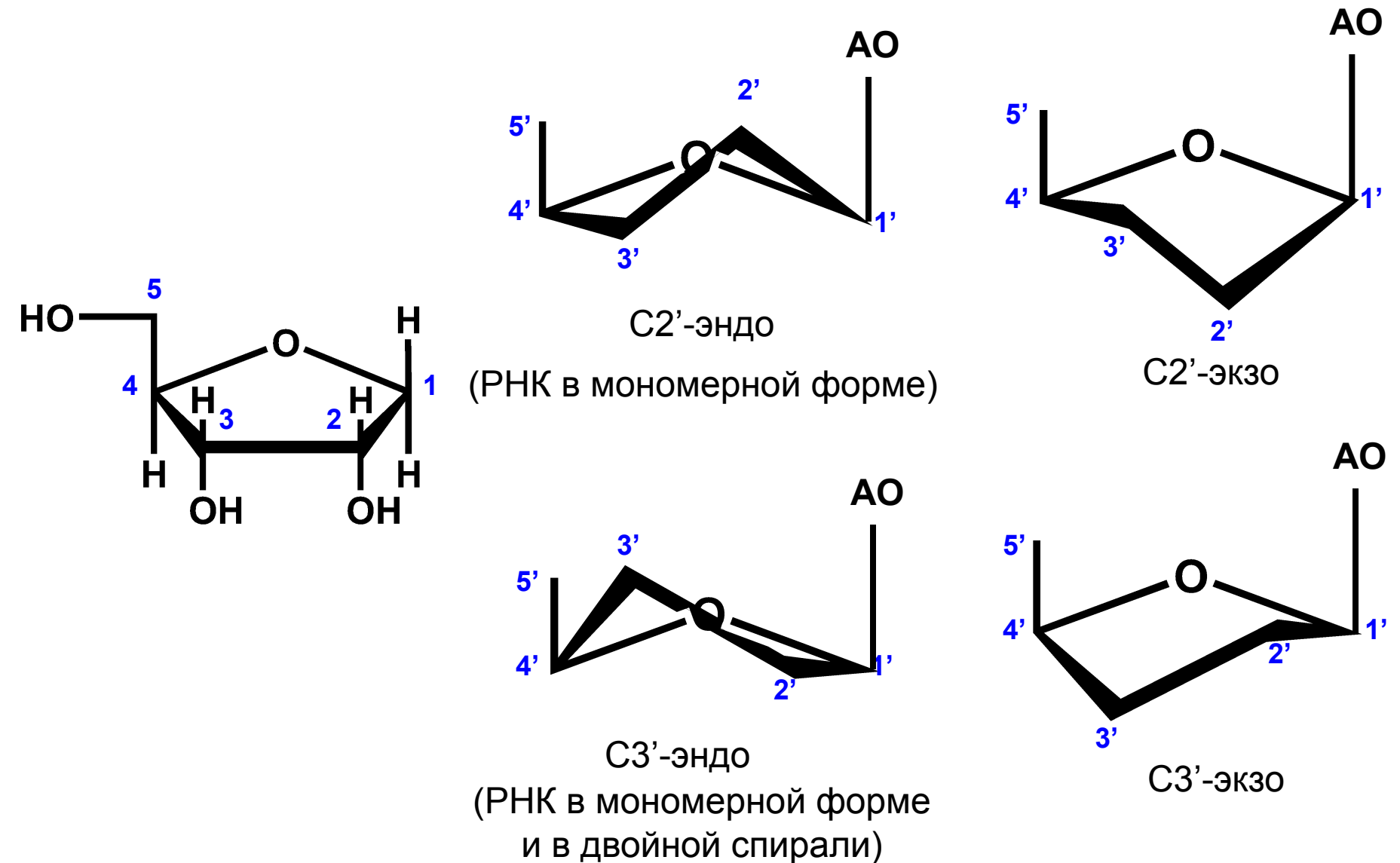
ОСТОВ

Азотистые  
основания

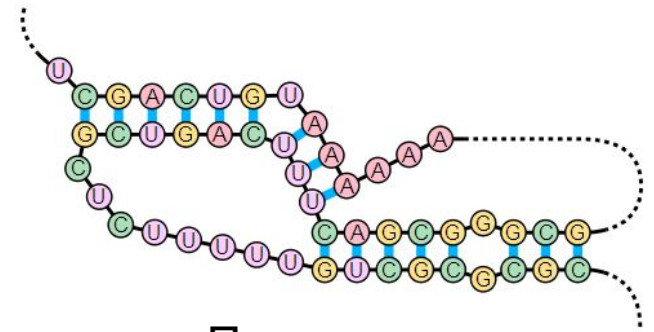


**РНК**  
**Вторичная структура**

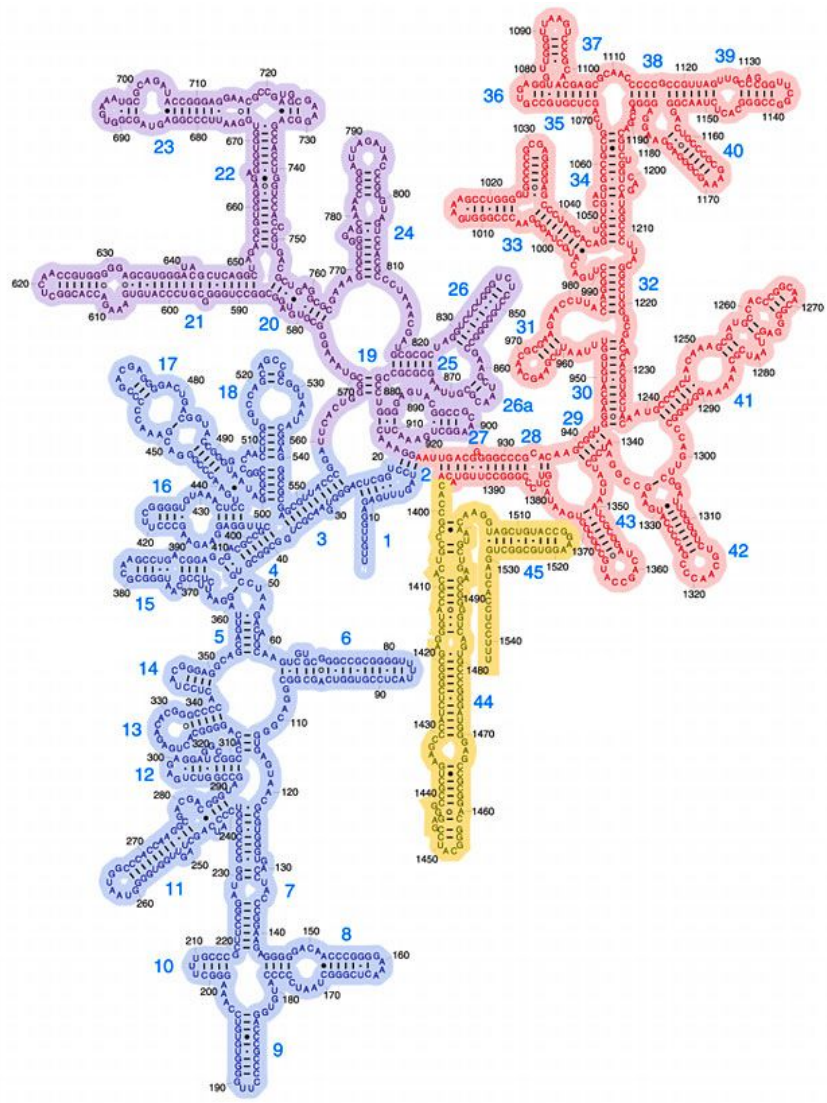
## Конформации фуранозного кольца



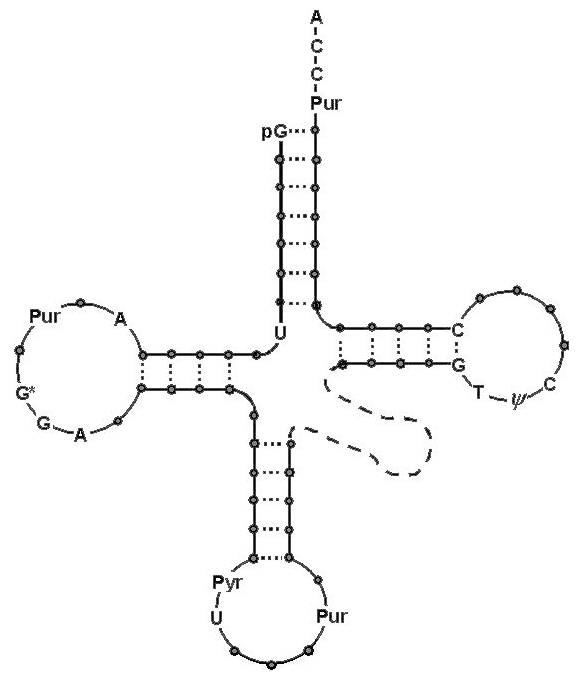
# Внутрицепочечные шпильки



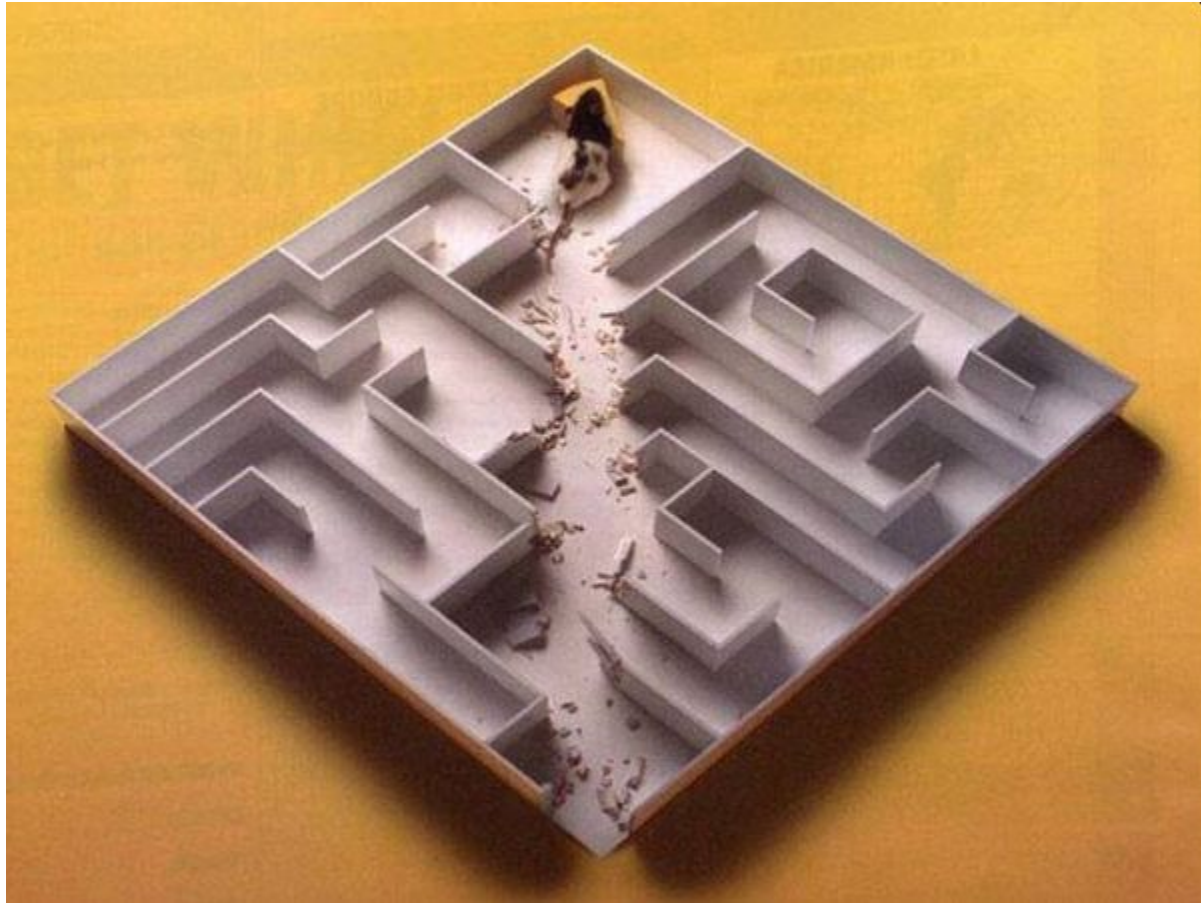
Псевдоузел



16S рРНК



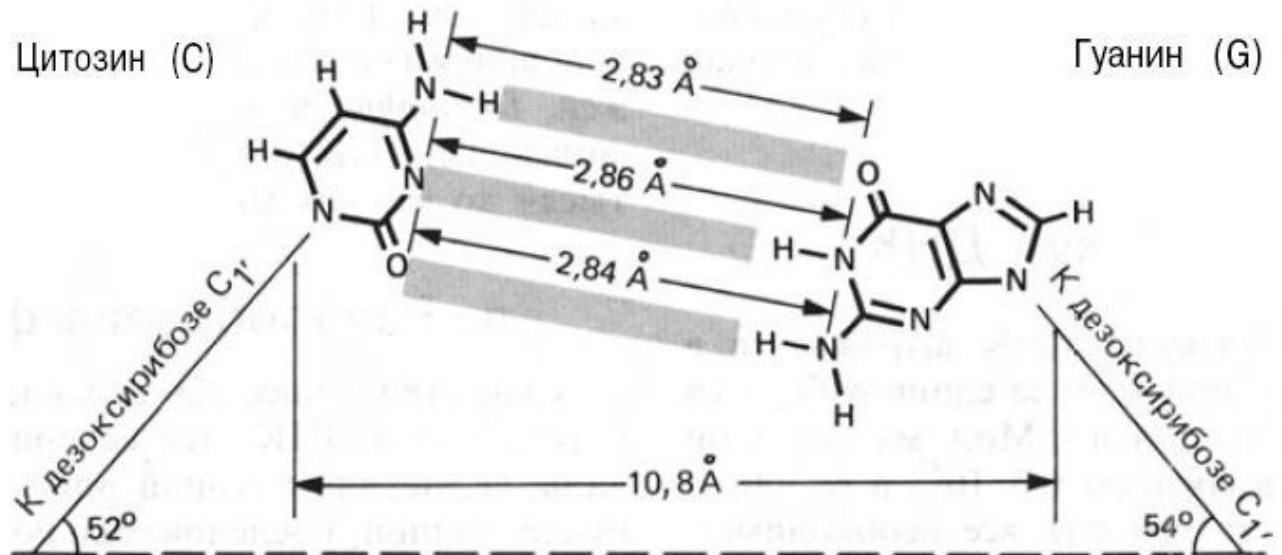
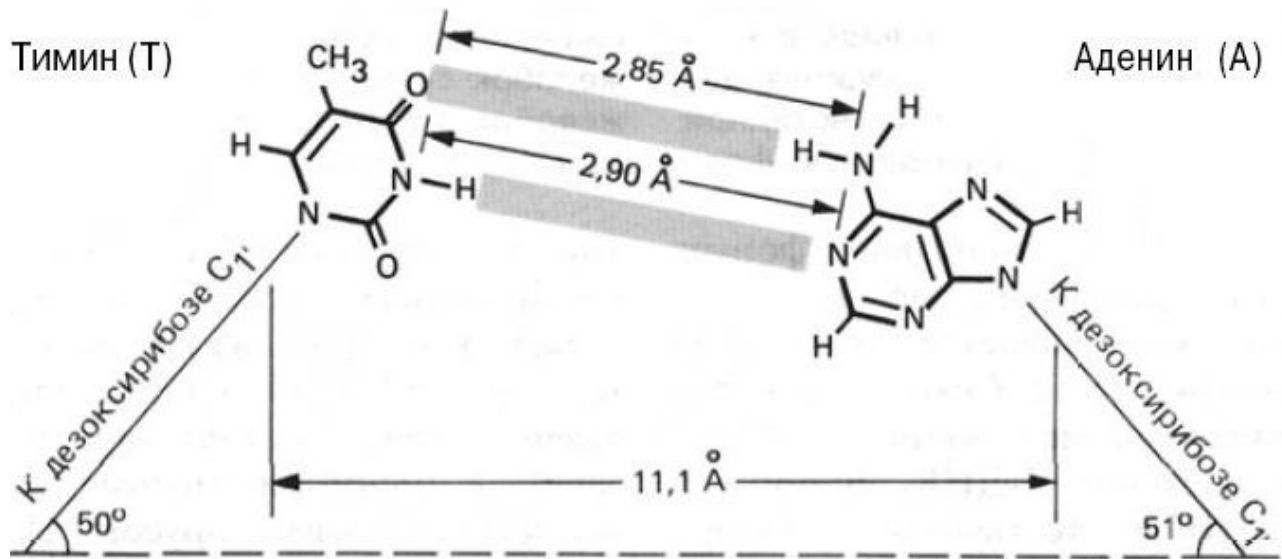
тРНК



**Нестандартные вторичные  
и третичная структура  
нуклеиновых кислот**

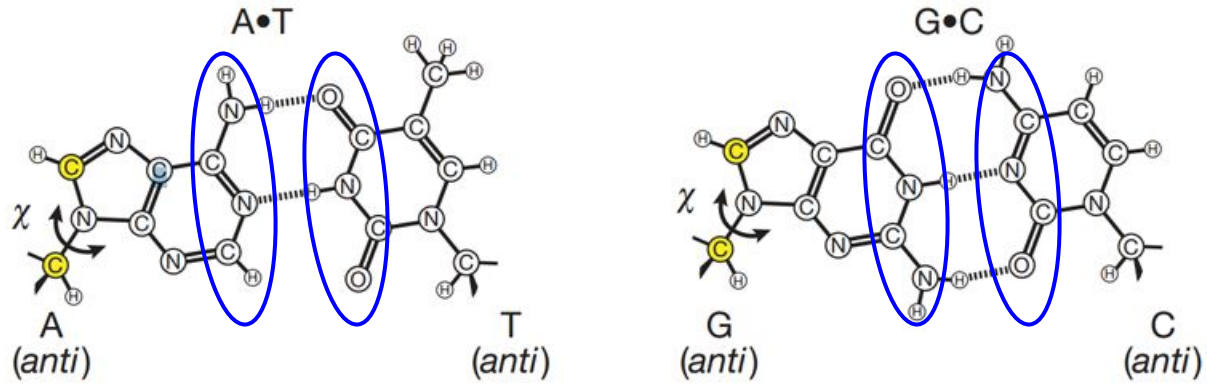


## Уотсон-криковские пары

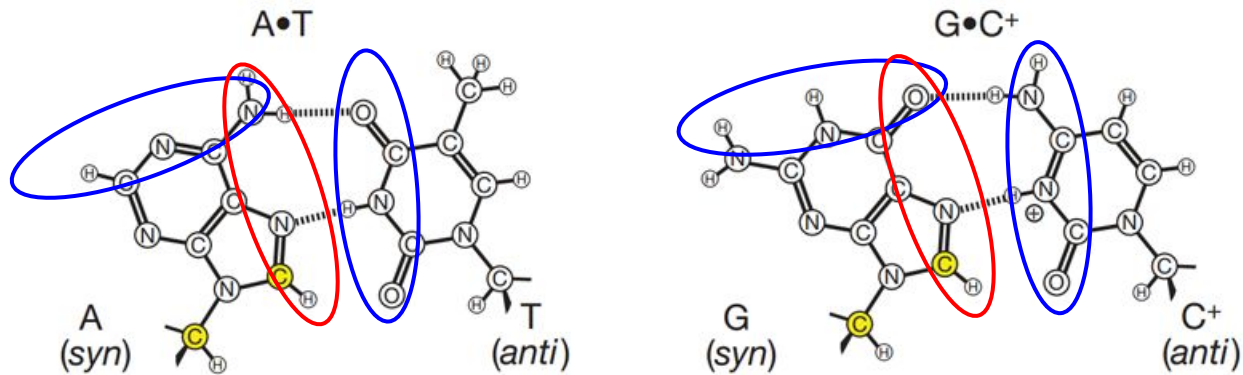


# Хугстиновские пары

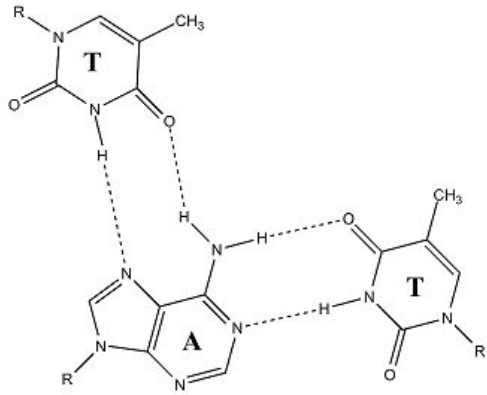
## Уотсон-криковские пары



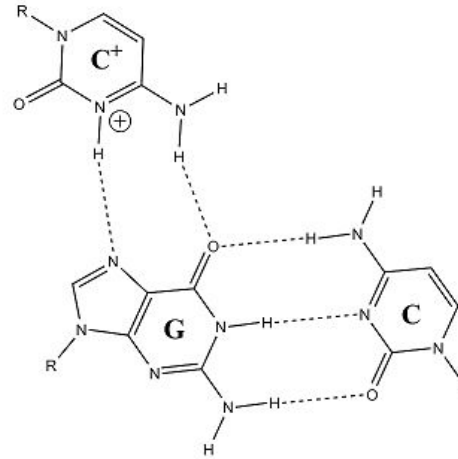
## Хугстиновские пары



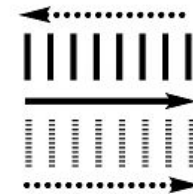
# Триплекс в большом желобке



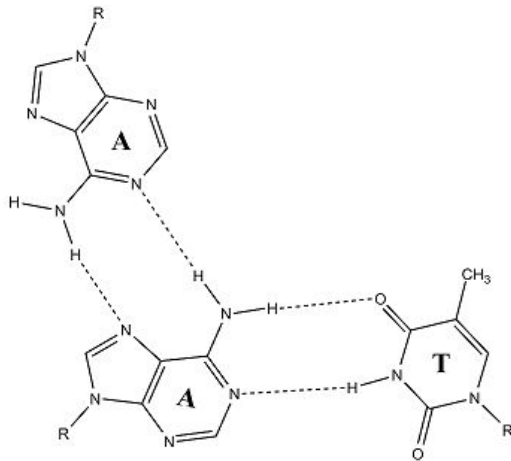
TA\*T



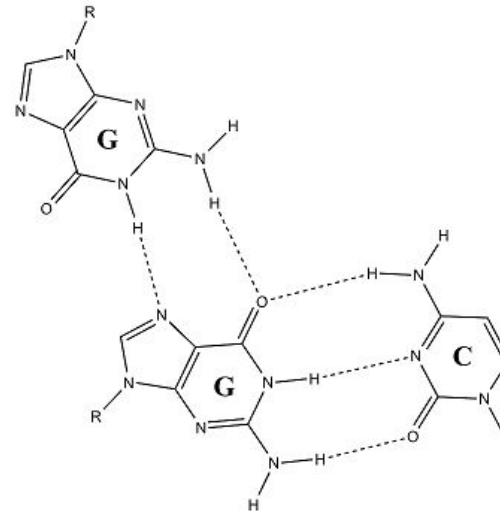
CG\*C<sup>+</sup>



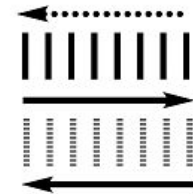
YR\*Y



TA\*A

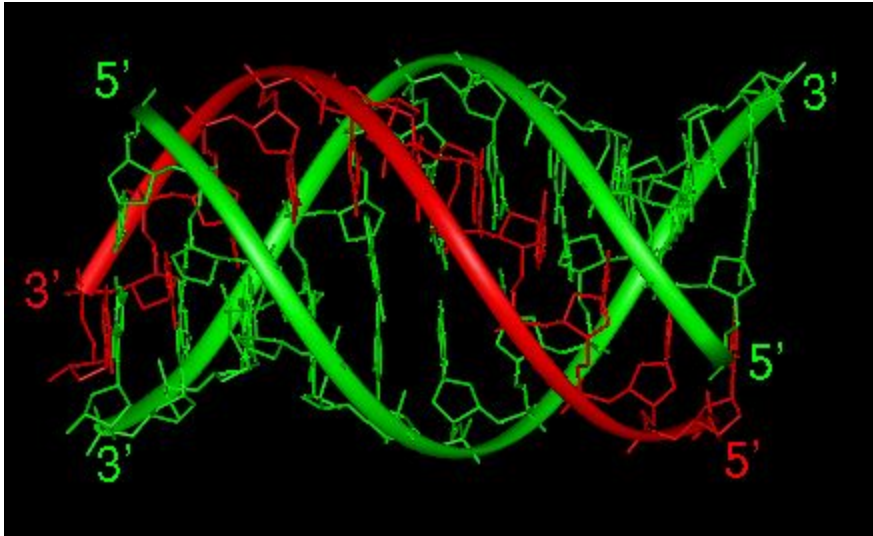


CG\*G

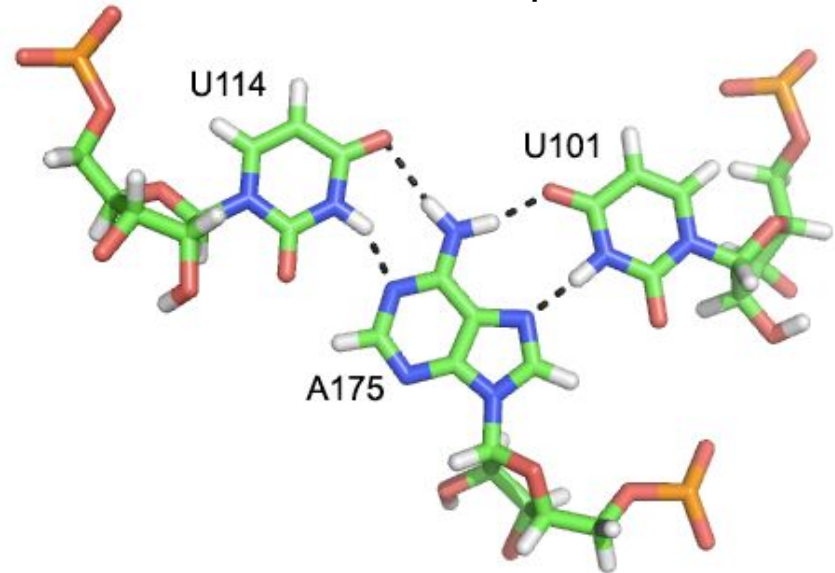


YR\*R

# Триплекс в большом желобке

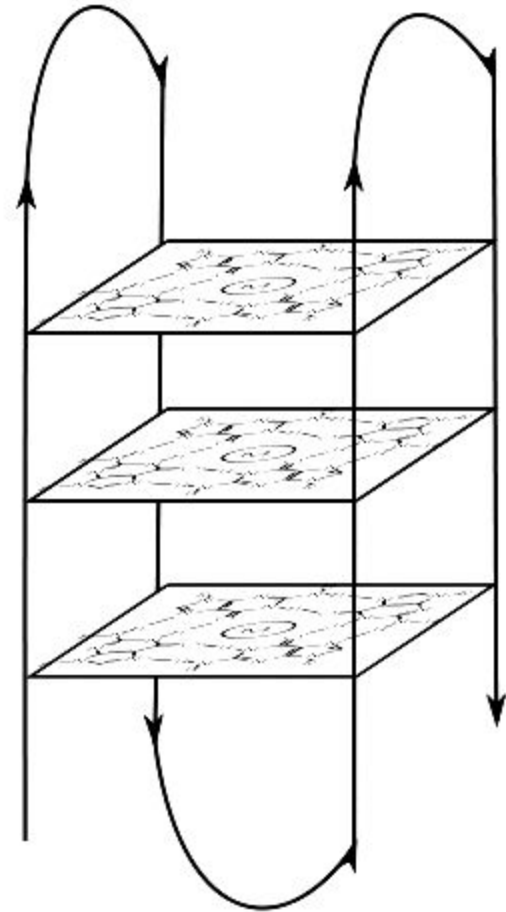
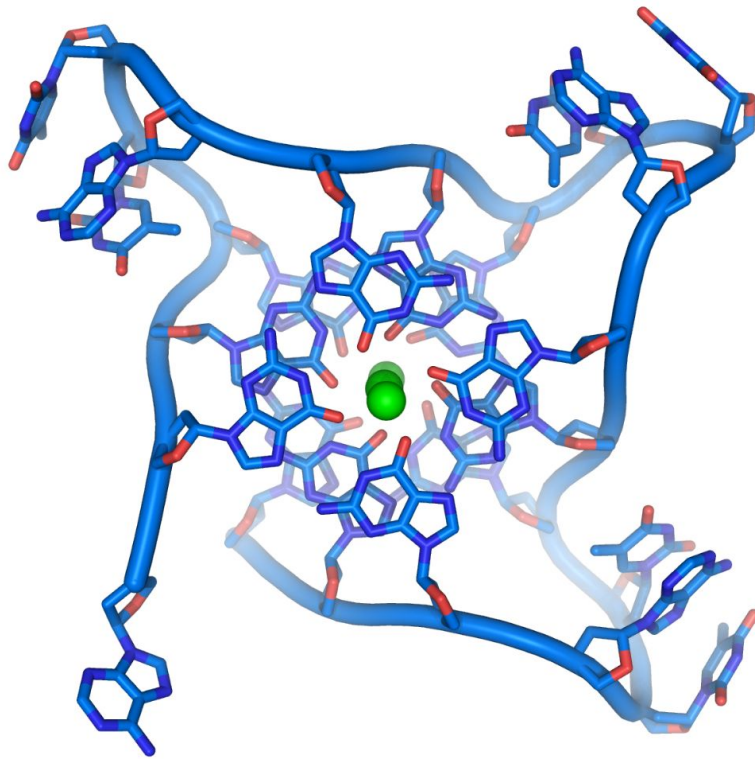


## РНК Теломеразы



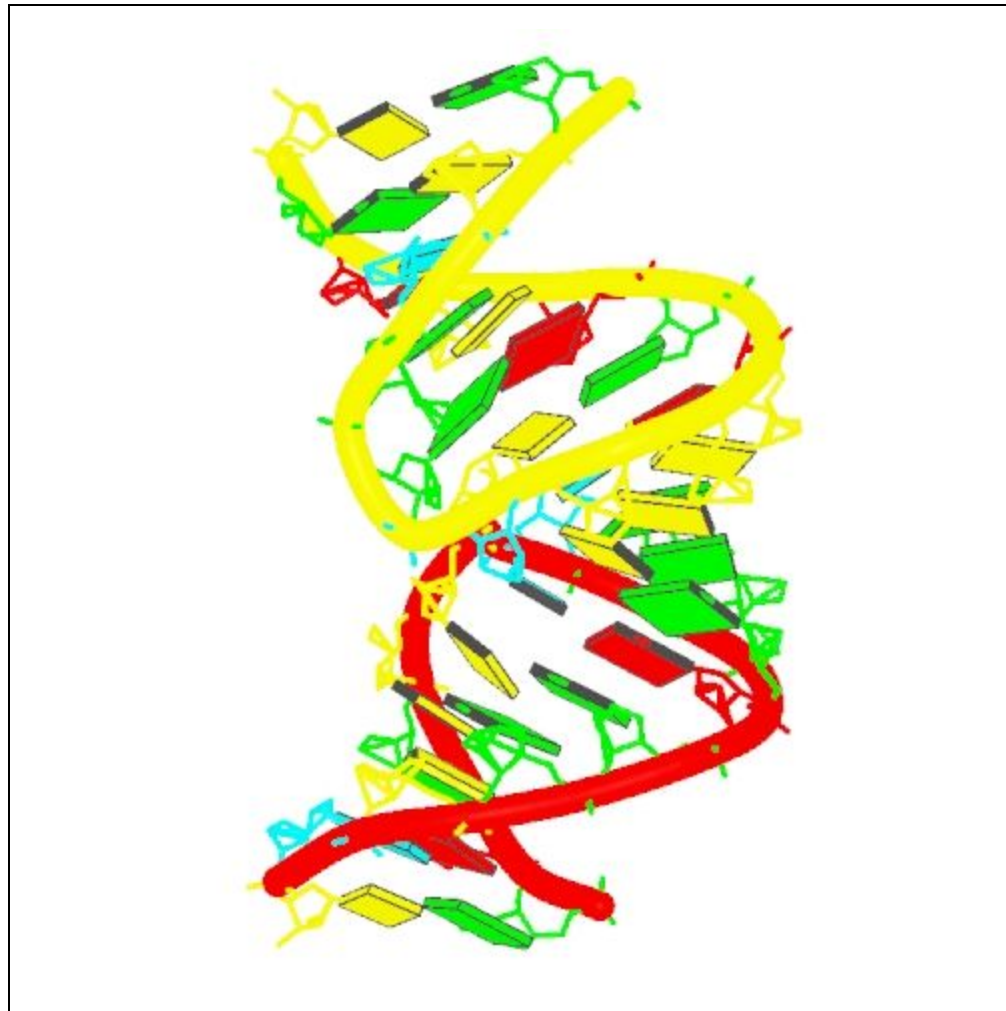
# Квадруплекс

Теломерная ДНК



## Целующиеся петли

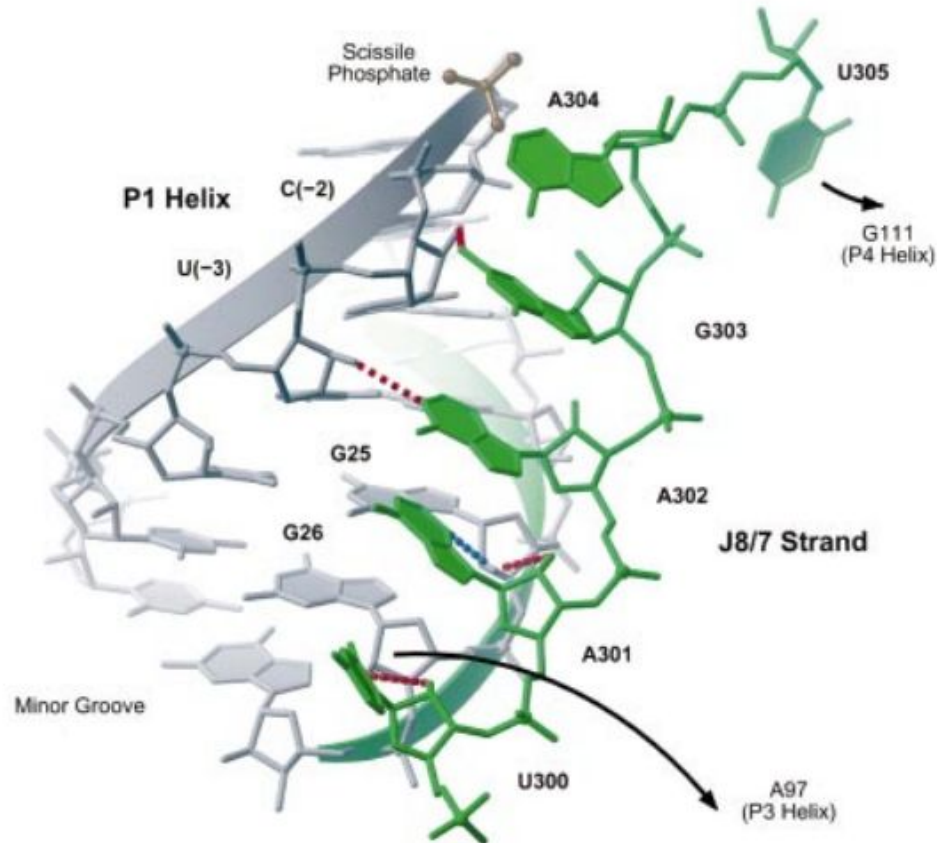
Транспортная РНК



## Триплекс в малом желобке

(водородные связи между азотистым основанием и малой бороздкой)

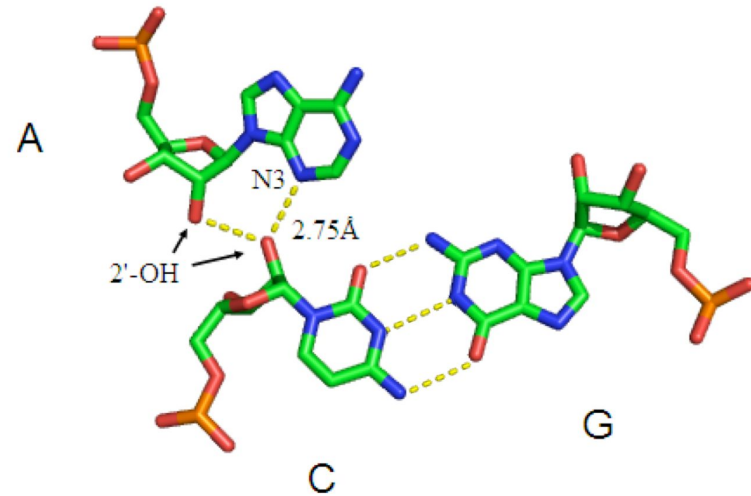
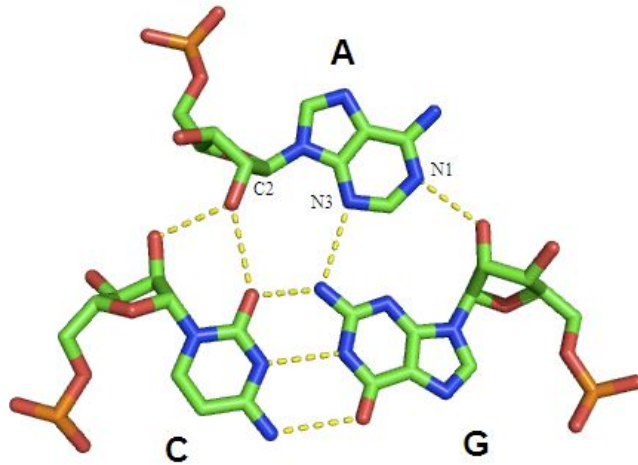
Самосплайсирующиеся рибозимы



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

(водородные связи между аденином и малой бороздкой)

Транспортная РНК

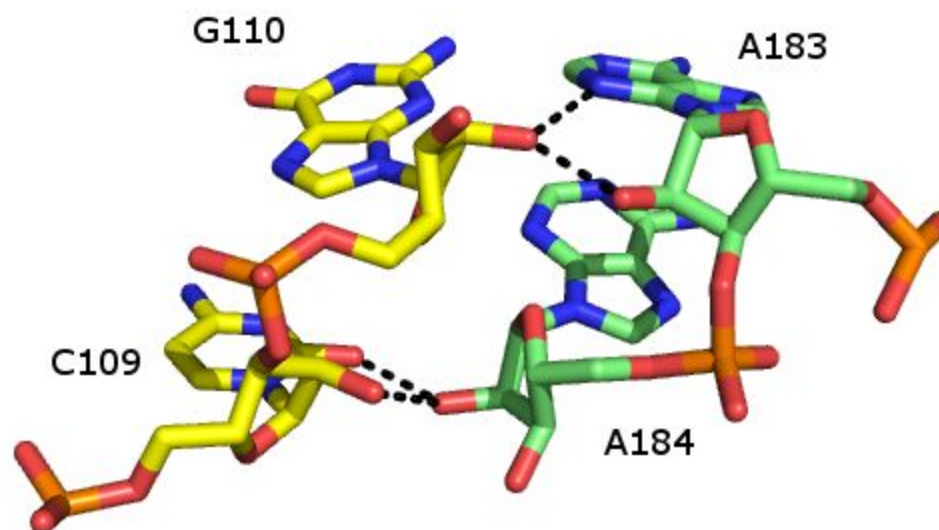




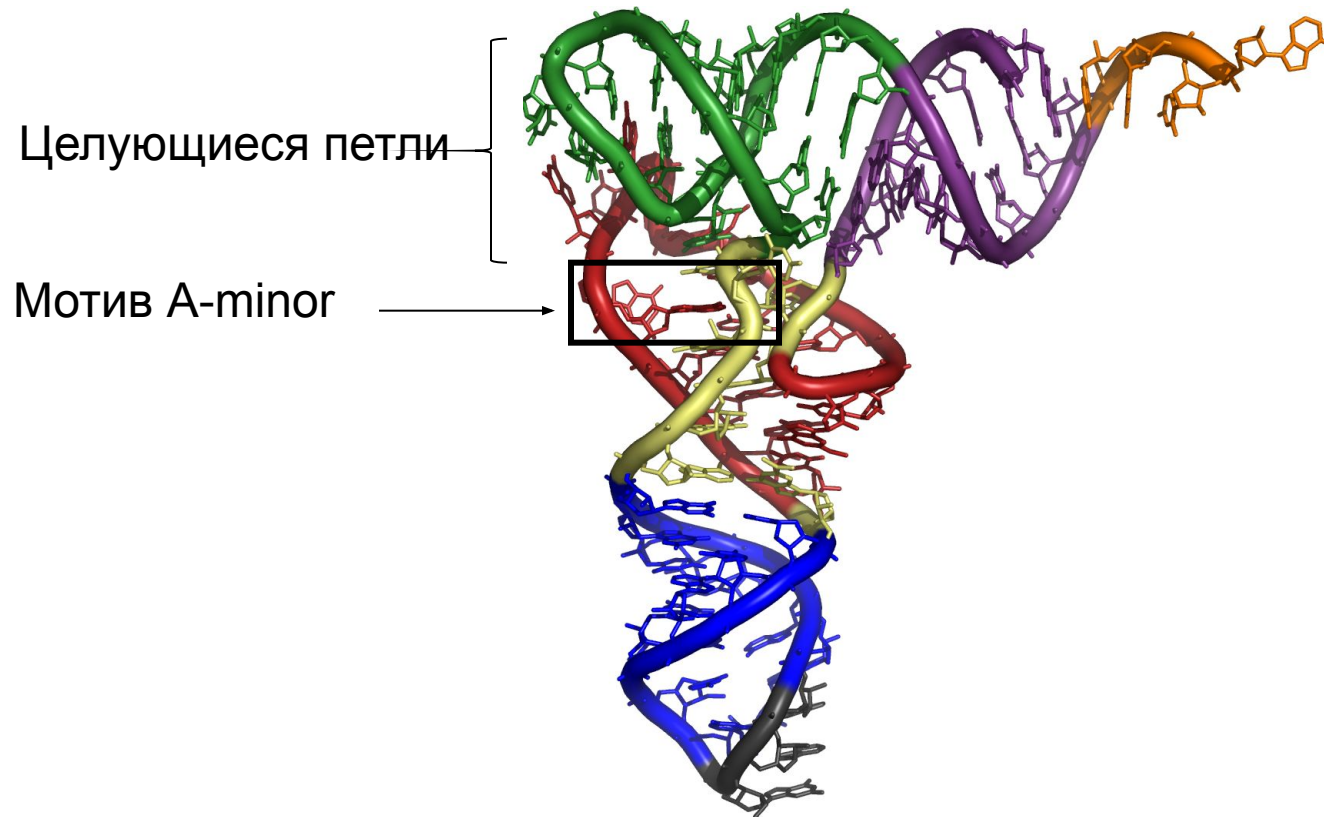
## Рибозная «застежка-молния»

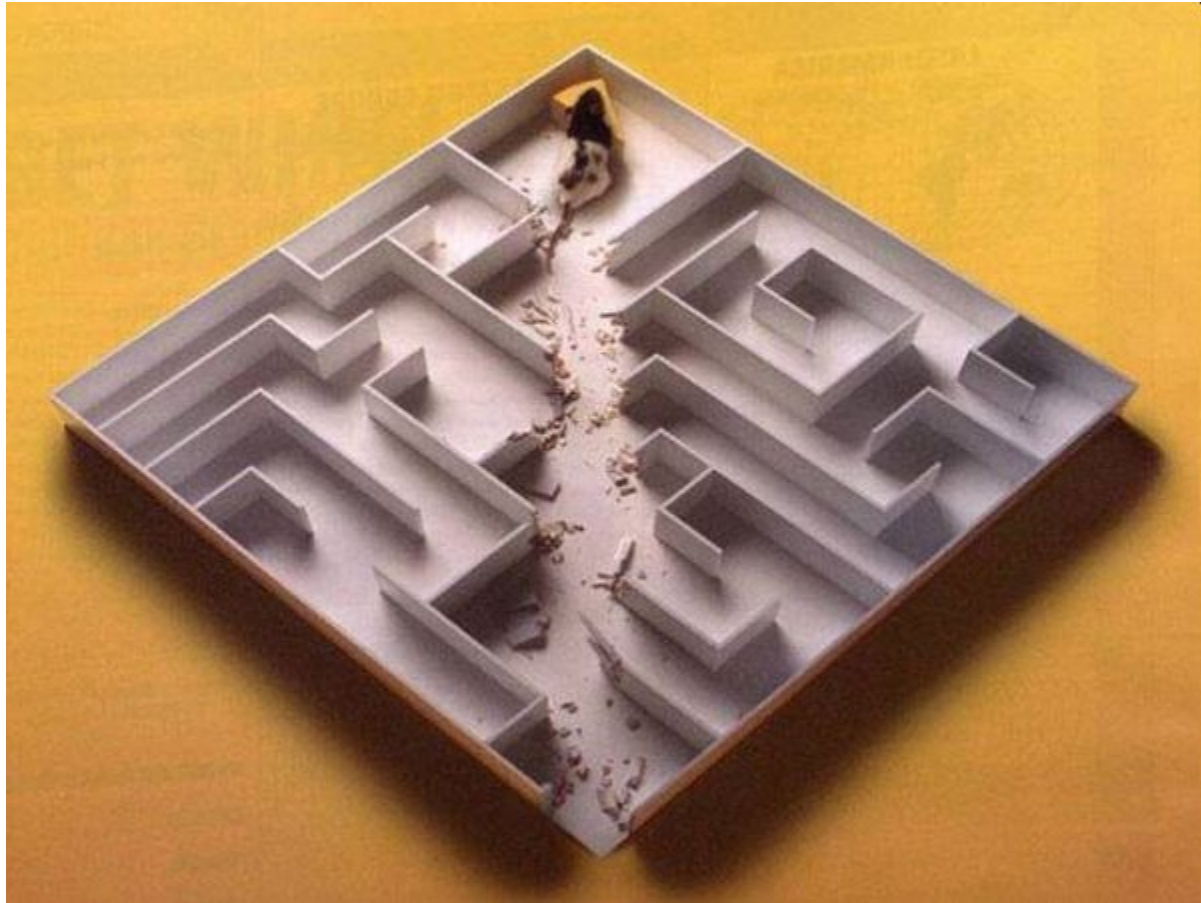
(водородные связи между ОН группами у С2' атома рибозы)

Рибосомальная РНК



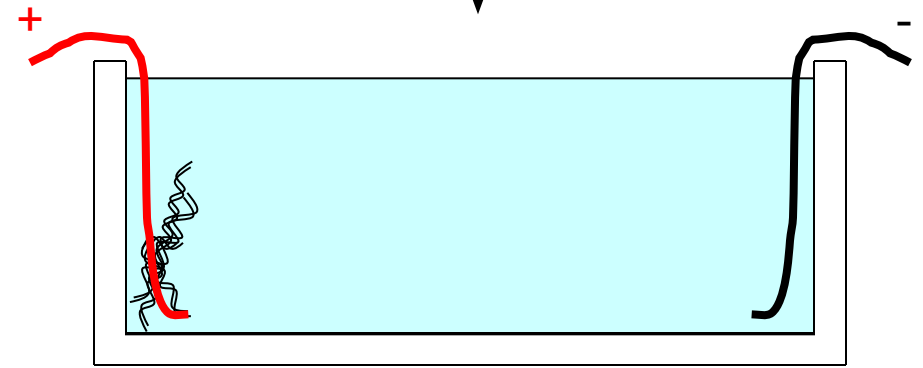
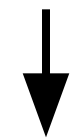
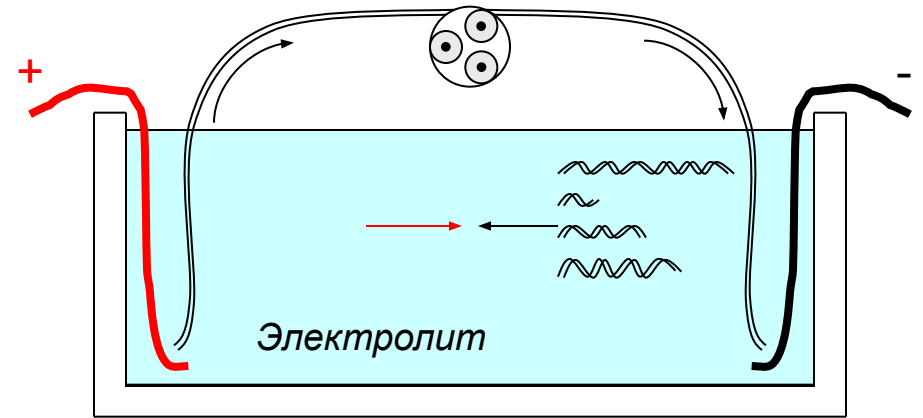
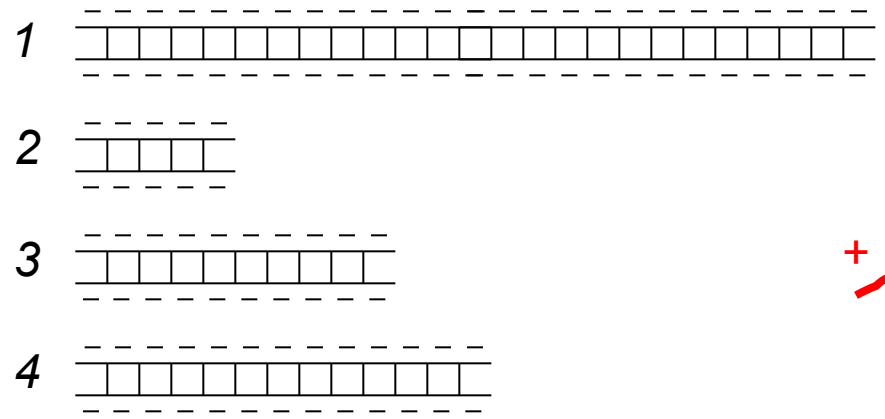
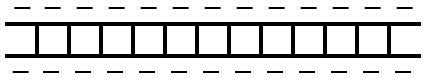
## Третичная структура тРНК



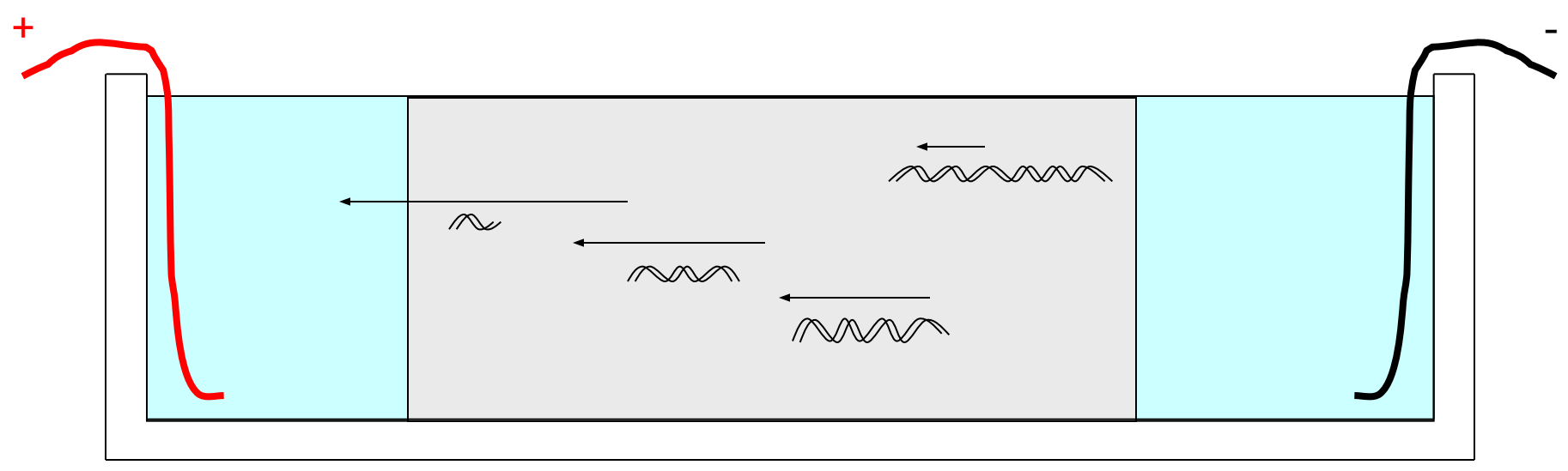
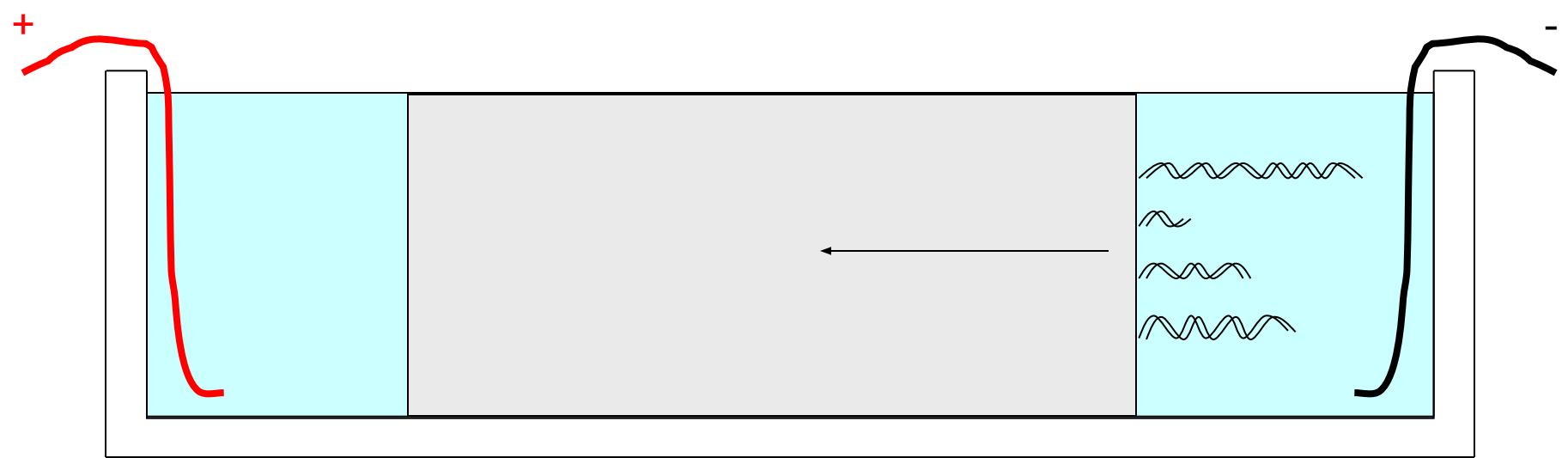


# **Методы исследования нуклеиновых кислот**

# Электрофорез



# Гель-электрофорез



## Гель-электрофорез

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

$\mu$  – электрофоретическая подвижность в геле

$\mu_0$  – электрофоретическая подвижность в электролите

$Kr$  – коэффициент замедления

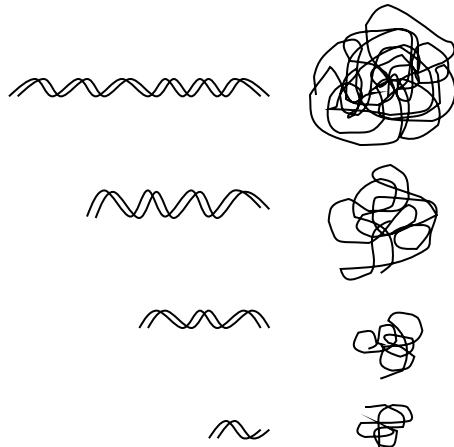
$\tau$  – концентрация геля

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

$z$  – заряд молекулы

$\eta$  – вязкость среды

$r$  – радиус молекулы

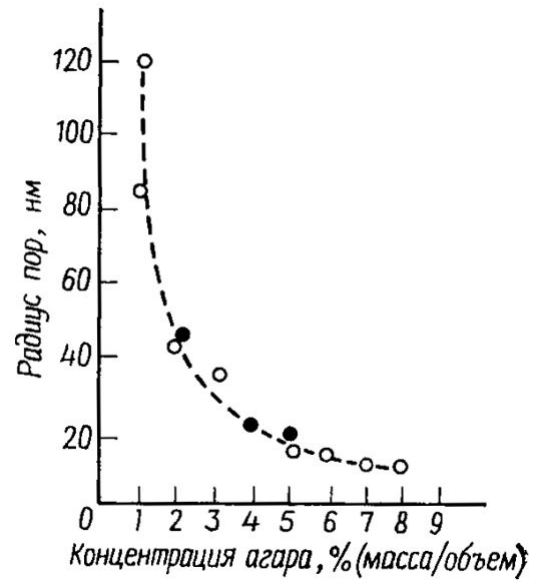
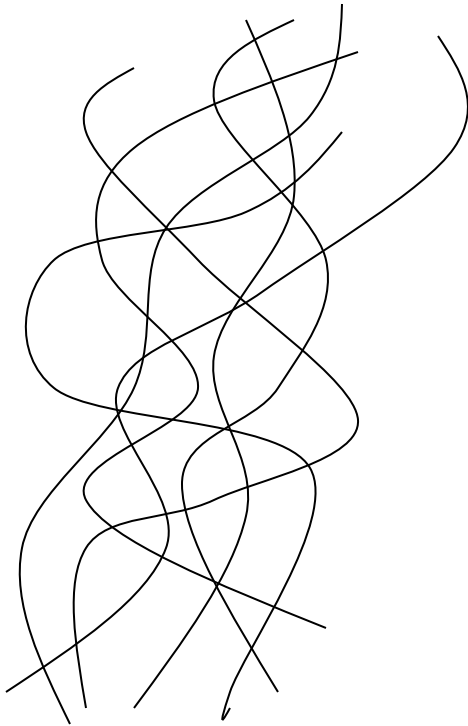


$Kr$  – коэффициент замедления

$z$  – заряд молекулы

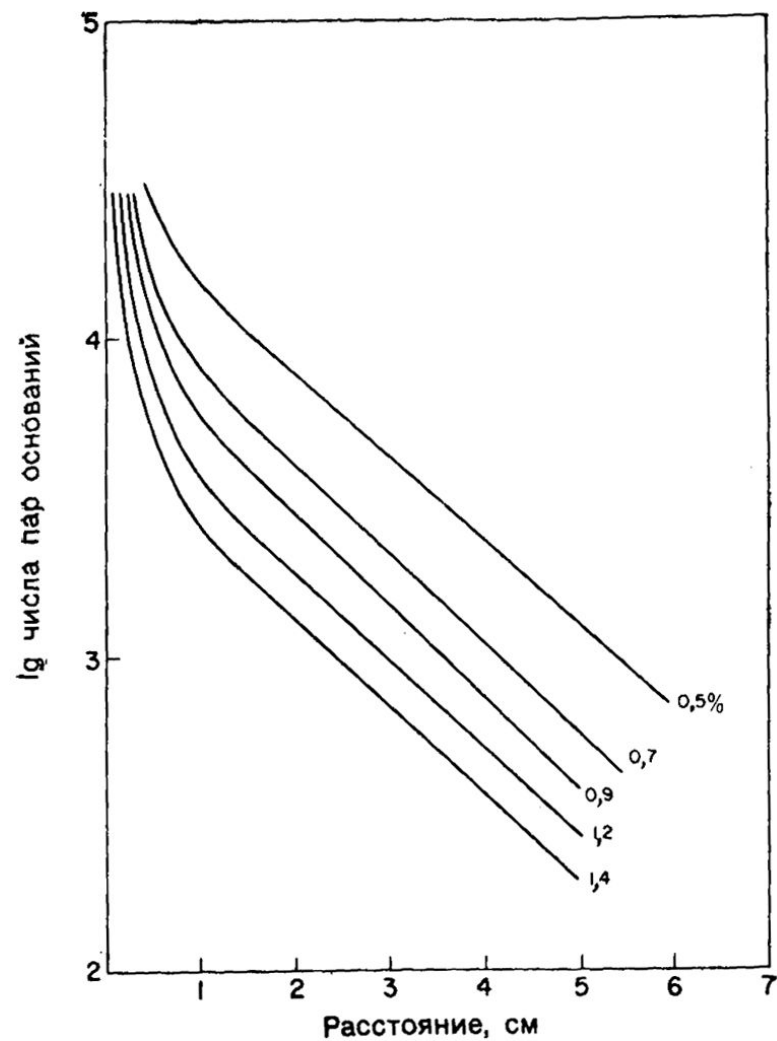
$r$  – радиус молекулы

# Гель-электрофорез





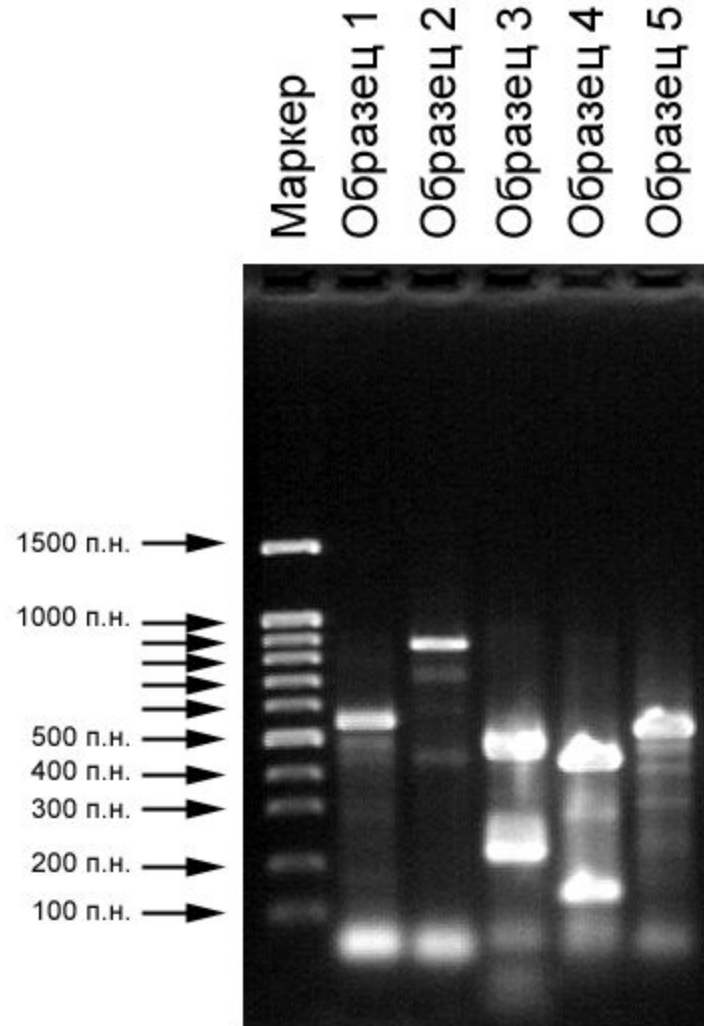
## Гель-электрофорез



Зависимость электрофоретической подвижности от длины ДНК в гелях разной плотности

## Гель-электрофорез

Определение длины фрагмента ДНК



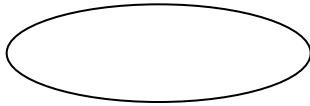
# Гель-электрофорез

Определение состояния ДНК

Линейная ДНК



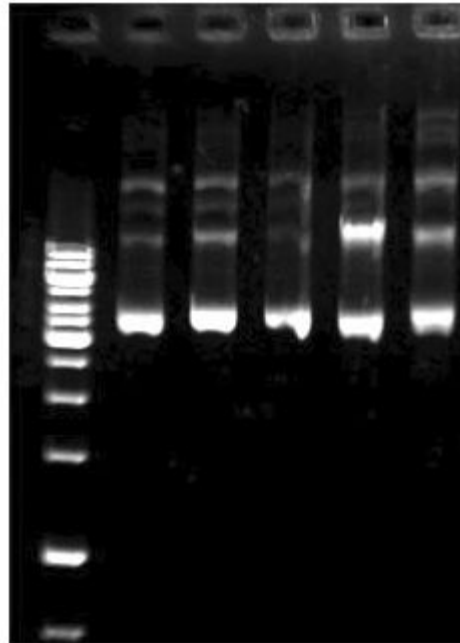
Кольцевая ДНК



Кольцевая суперскрученная ДНК



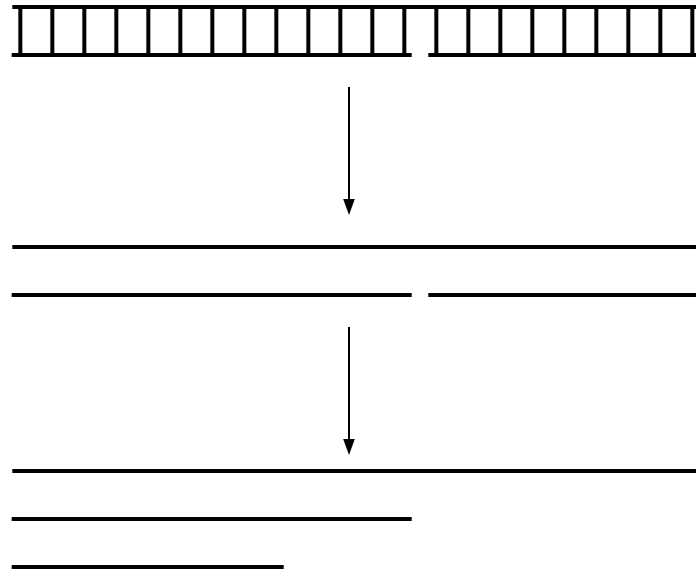
Маркер  
Образец 1  
Образец 2  
Образец 3  
Образец 4  
Образец 5



← Кольцевая ДНК  
← Линейная ДНК  
← Кольцевая суперскрученная ДНК

## Гель-электрофорез

Определение однонитевых разрывов в ДНК



Маркер (тыс. п.н.)

23.1 —

9.4 —

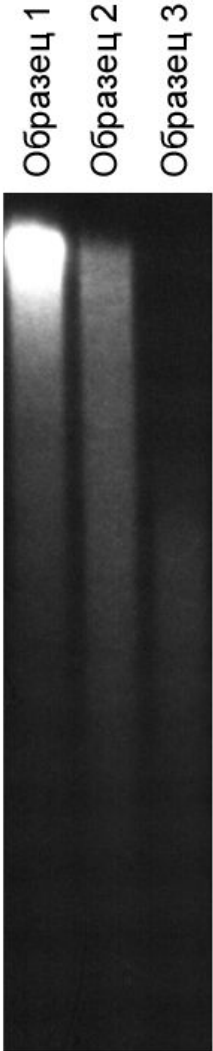
6.6 —

4.4 —

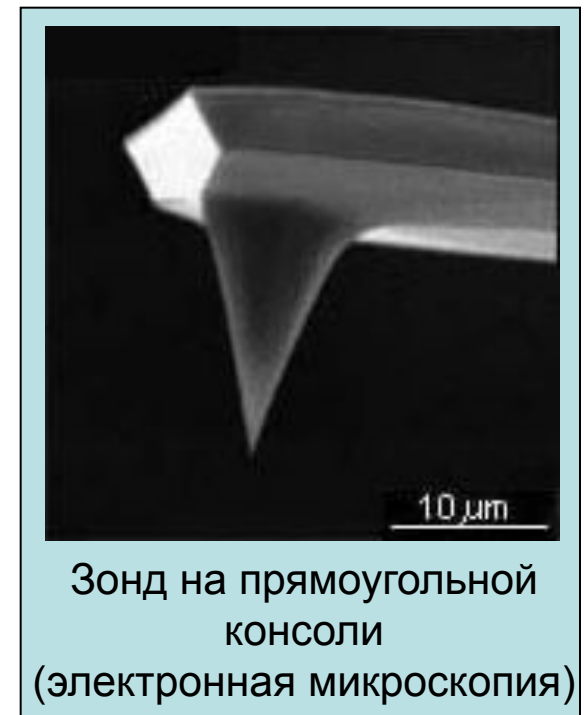
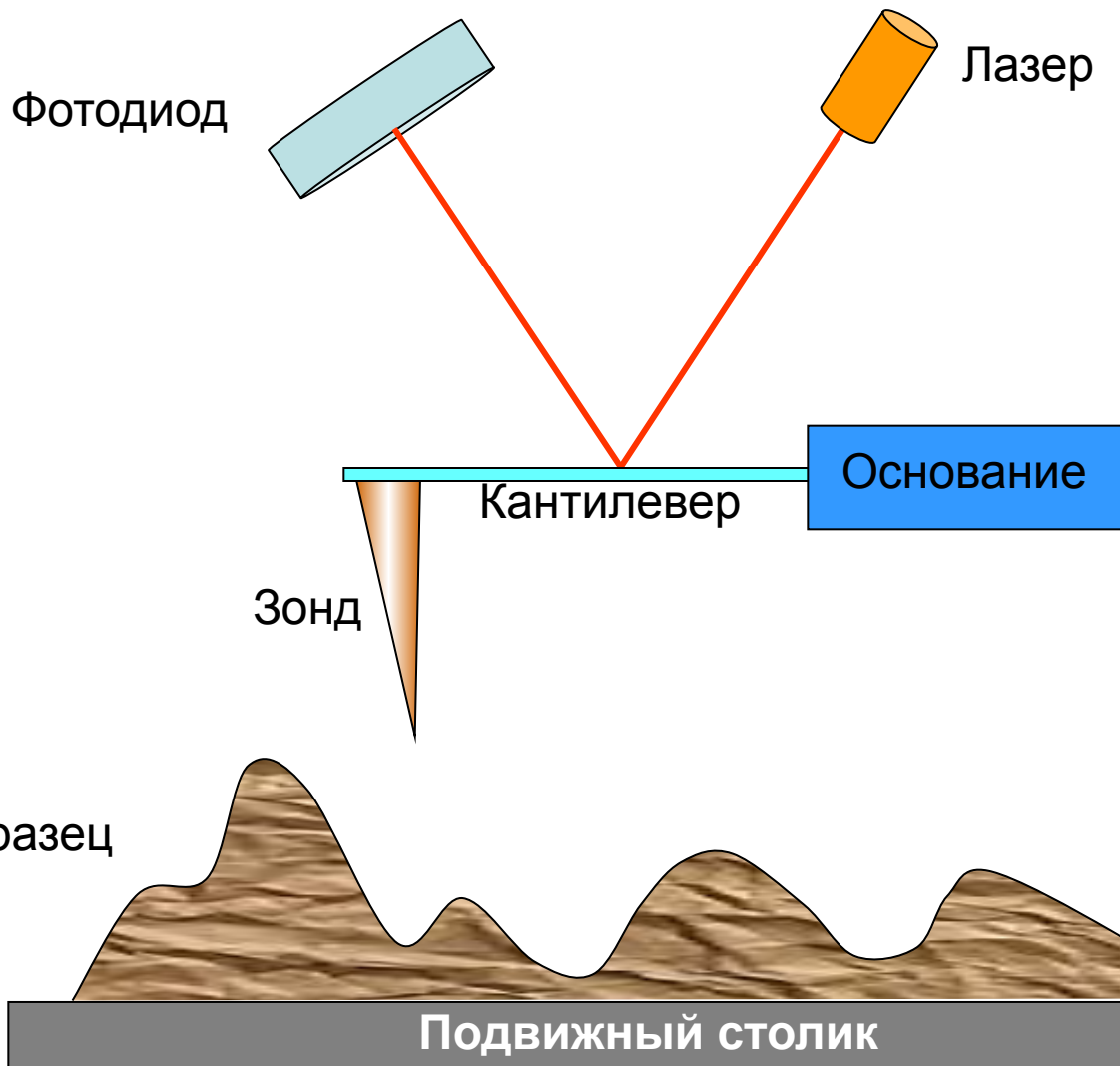
2.3 —

2.0 —

0.6 —

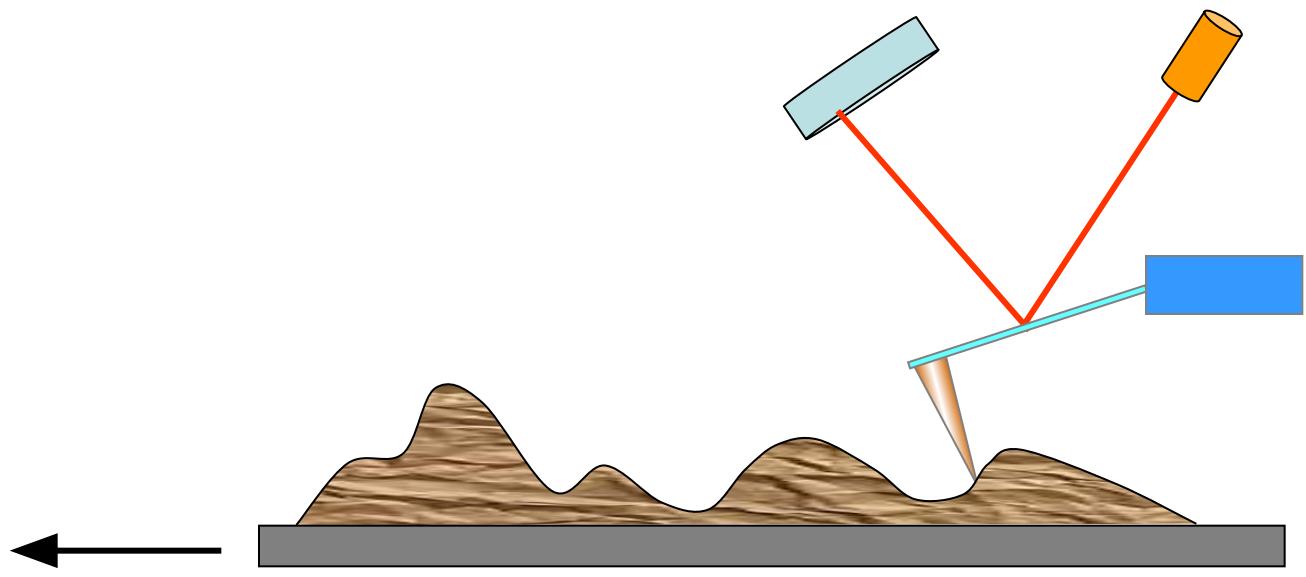
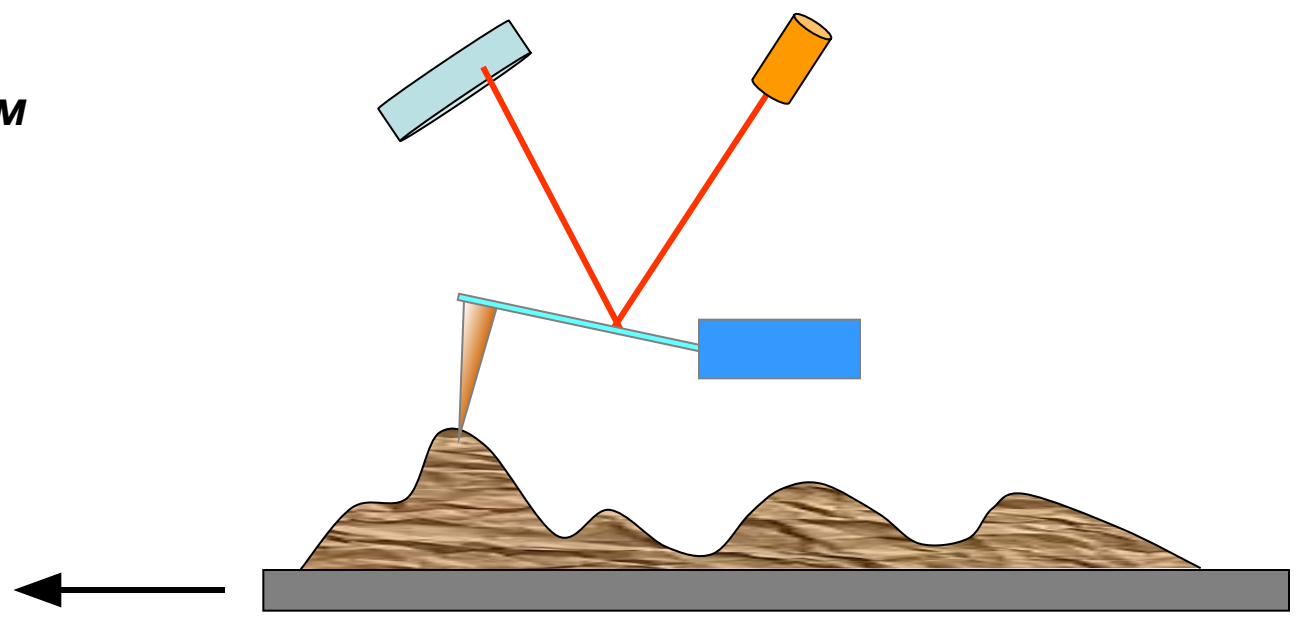


# Атомно-силовая микроскопия (АСМ) Atomic force microscopy (AFM)



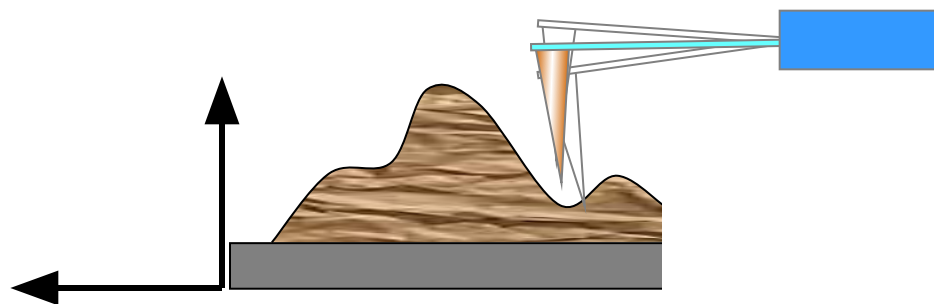
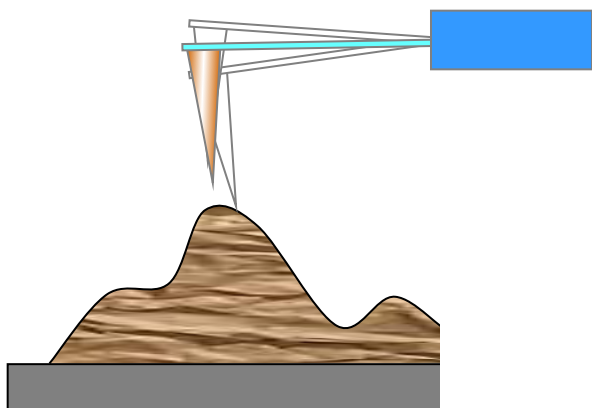
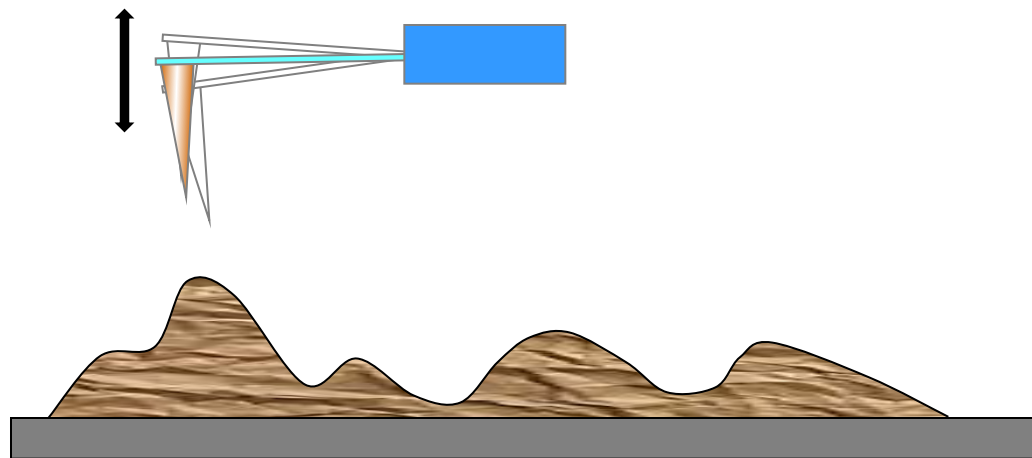
# АСМ

*Контактный режим*



**«Полуконтактный» режим  
Tapping mode**

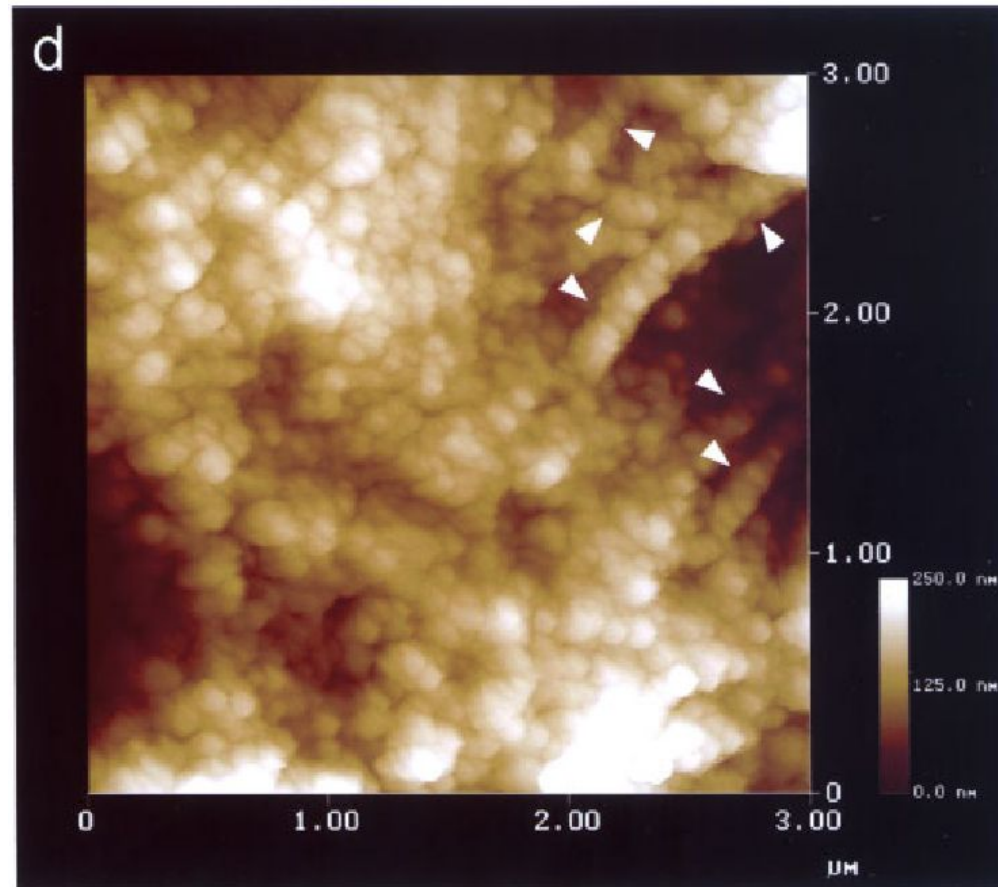
**АСМ**



## АСМ

### Глобулярная структура хромосомы

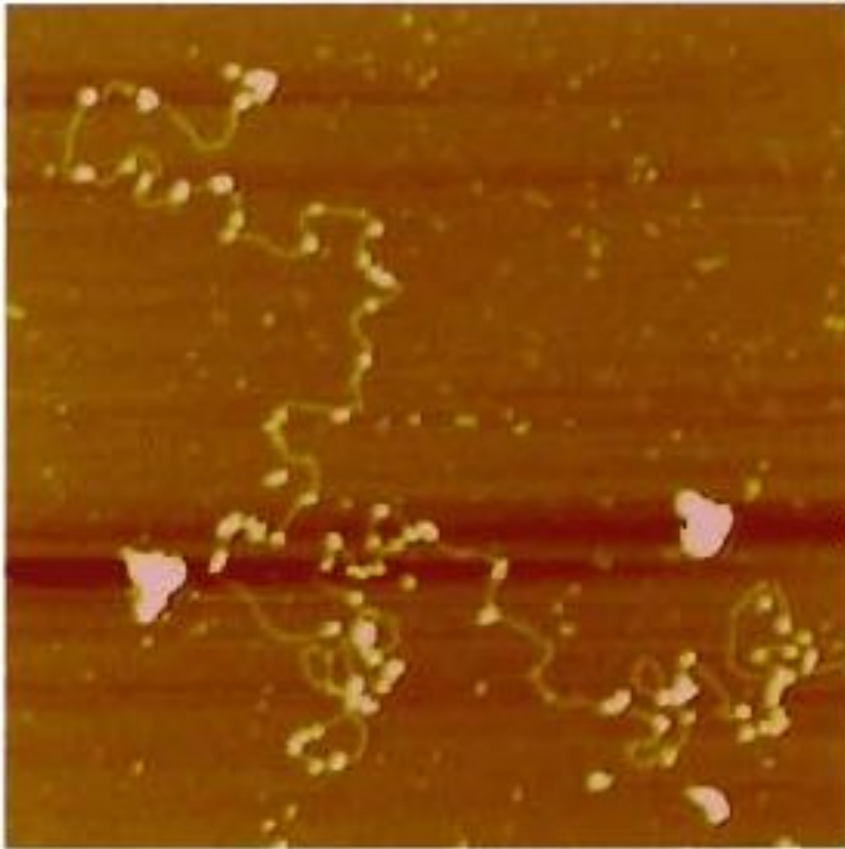
Глобулы диаметром 80 нм



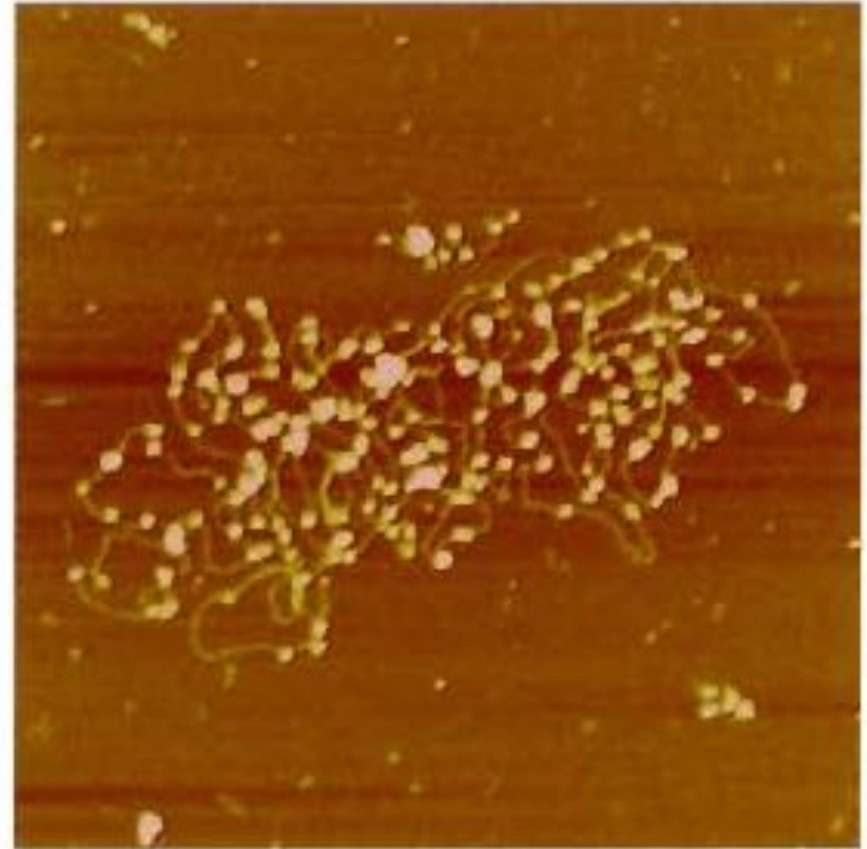


## АСМ

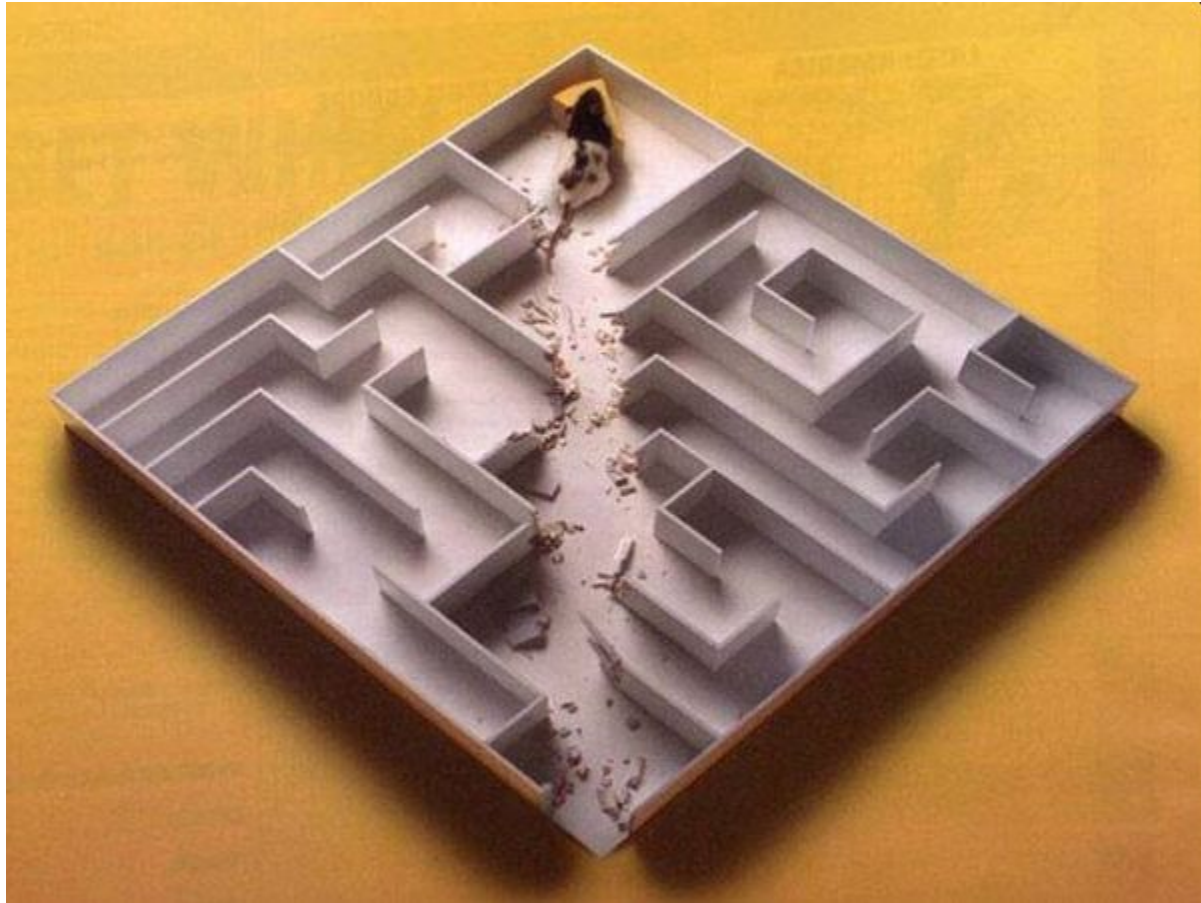
**Взаимодействие ДНК с белками  
(для эффективного связывания требуется суперскрученность)**



**Линейная ДНК**

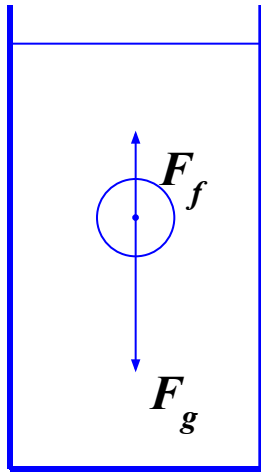


**Суперскрученная ДНК**



## Ультрацентрифугирование

### Седиментация



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

$D$  – диаметр частицы  
 $\rho_q$  – плотность частицы  
 $\rho_c$  – плотность среды  
 $\eta_c$  – вязкость среды

$V_s$  – скорость движения без ускорения

$$a = \omega^2 r$$

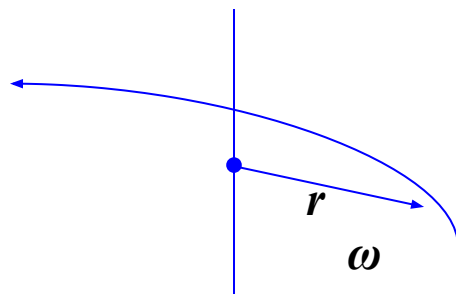
**Седиментация – движение с постоянной скоростью**

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.



$$a = \omega^2 r$$

$\omega$  – 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  $\rho_c$  и  $\eta_c$  **s** зависит только  
от параметров частицы – **D** и  $\rho_u$

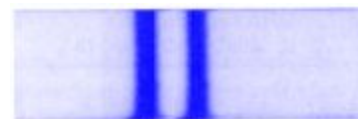
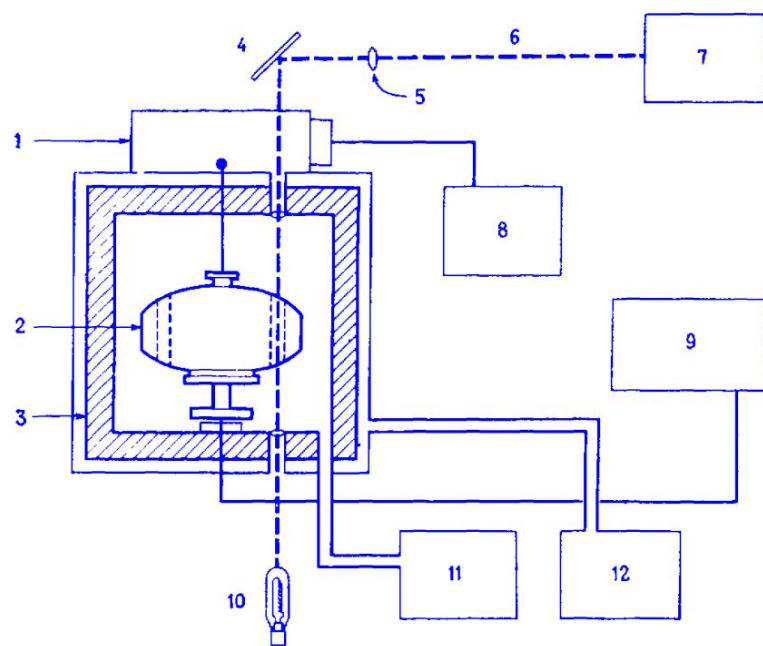
Если седиментация происходит в воде при 20°C ( $\rho_{20,W}$  и  $\eta_{20,W}$  известны),  
то **s** в воде при 20°C – это **константа седиментации**  $s_{20,W}$

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

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

# 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

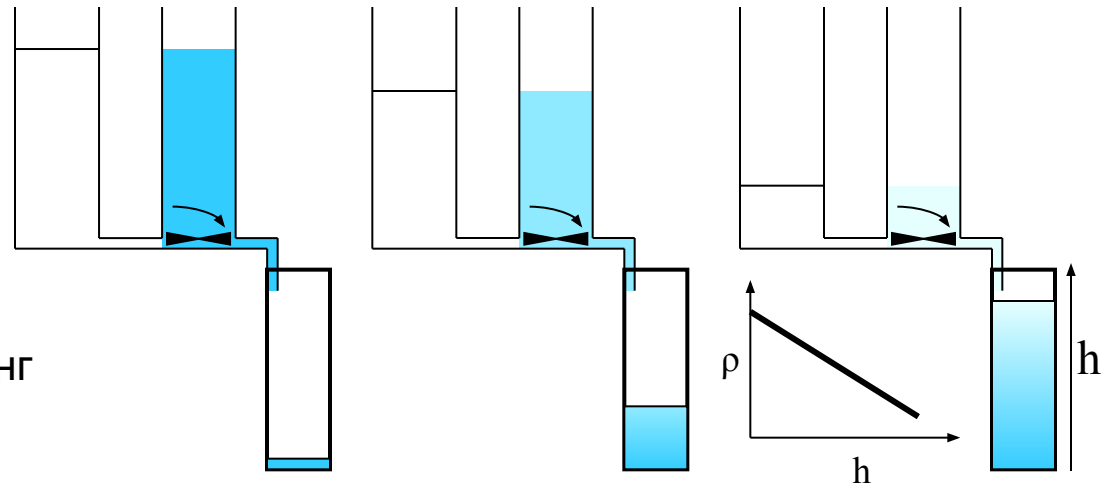
$$s_{20,W} = \frac{V_s}{a} = \frac{(\rho_u - \rho_{20,W}) \cdot \eta_c}{(\rho_u - \rho_c) \cdot \eta_{20,W}}$$

Создание градиента плотности в колонке Линдерстрема-Ланга



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

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

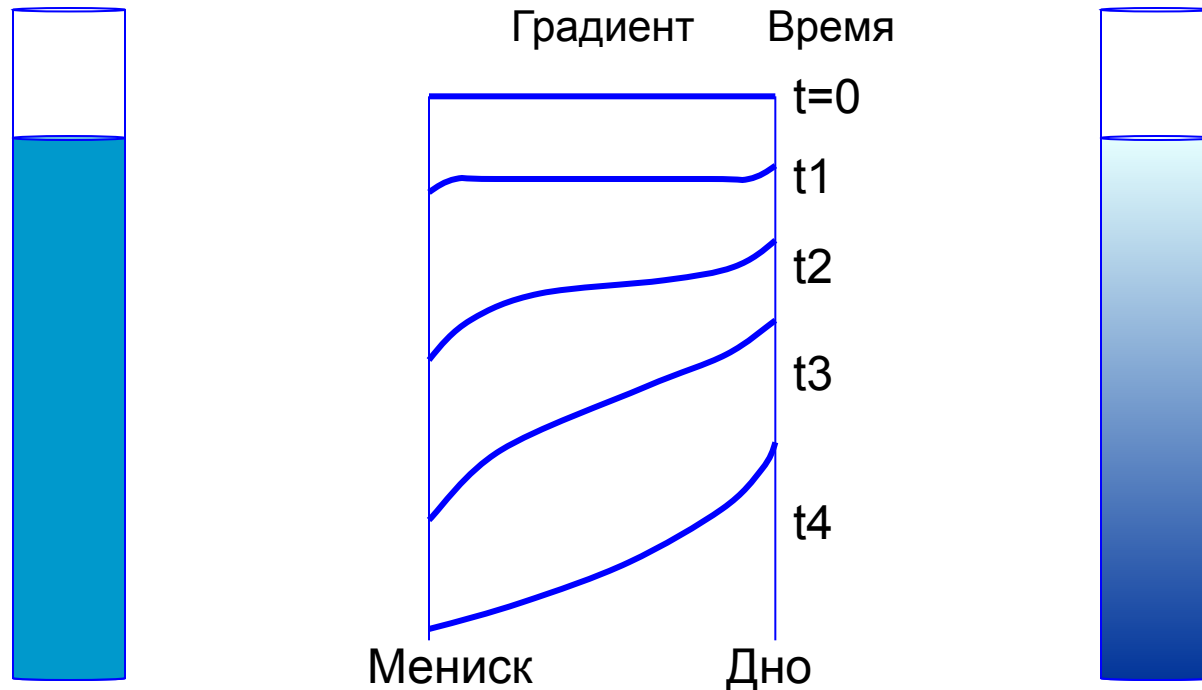


# Ультрацентрифугирование

## Плавучая плотность

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

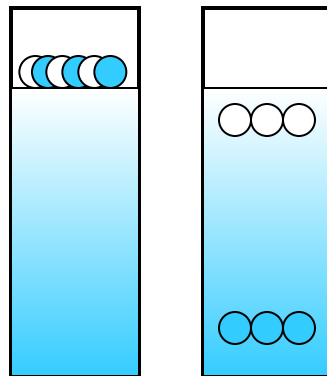
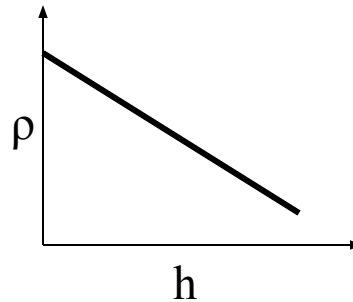
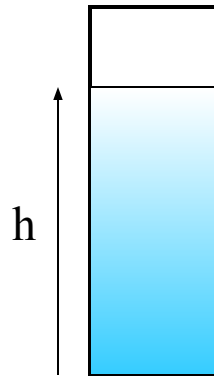
Формирование градиента плотности при ультрацентрифугировании растворов солей



# 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

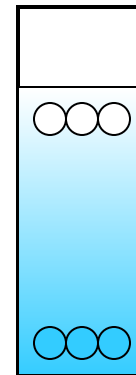
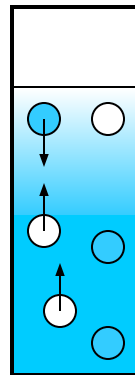
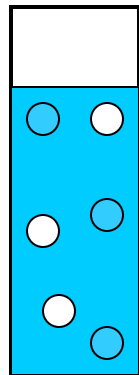
плотность среды, при которой  
движение частицы прекращается,  
т.е. разность  $\rho_{\text{ч}} - \rho_c = 0$



# 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

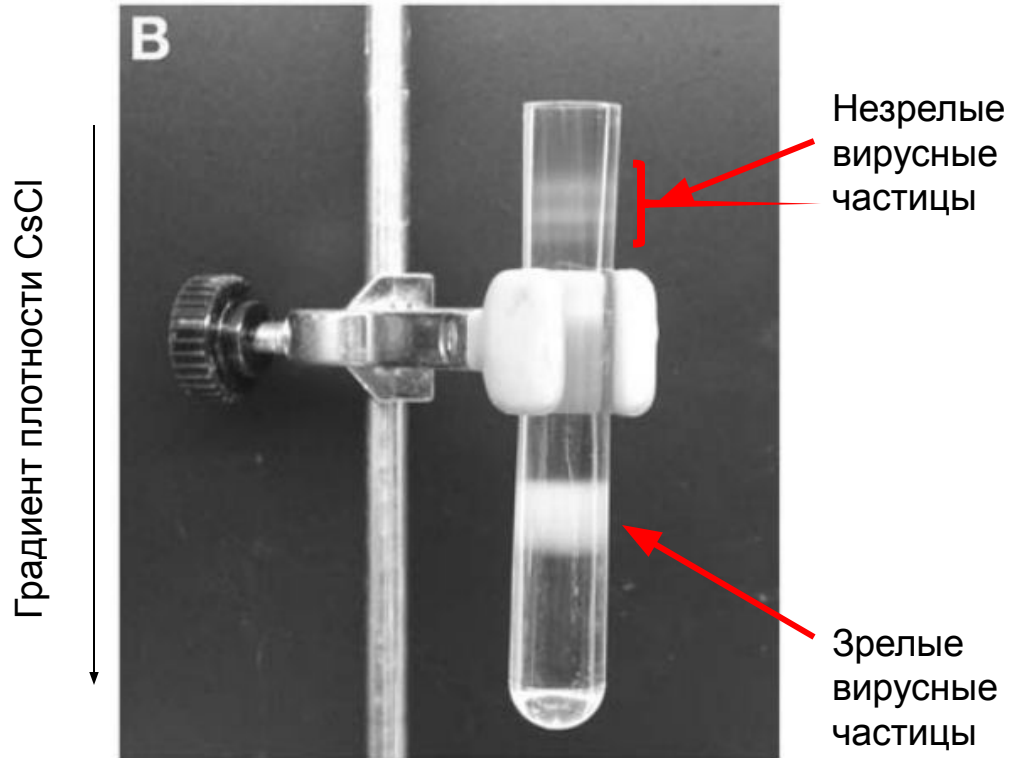
Видимая  $M_q$  зависит от **формы** и **размера** частицы

По результатам седиментационного анализа видимую  $M_q$  выражают в сведбергах:

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

*Небольшое отступление*

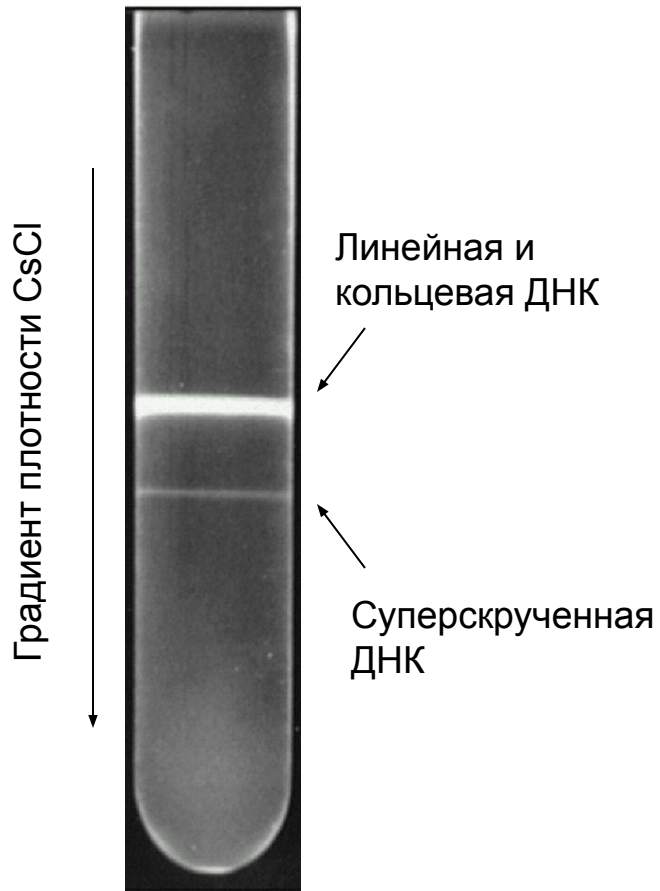
## Разделение частиц по плавучей плотности



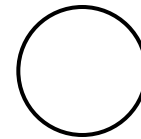
Methods in Biotechnology, Vol. 24: Animal Cell Biotechnology

# Ультрацентрифугирование

## Разделение частиц по плавучей плотности



Для ДНК митохондрий человека



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



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

