

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
"МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ имени М.В.ЛОМОНОСОВА"

"ИНДИКАТРИСА РАССЕЯНИЯ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ ГЕМОГЛОБИНА"

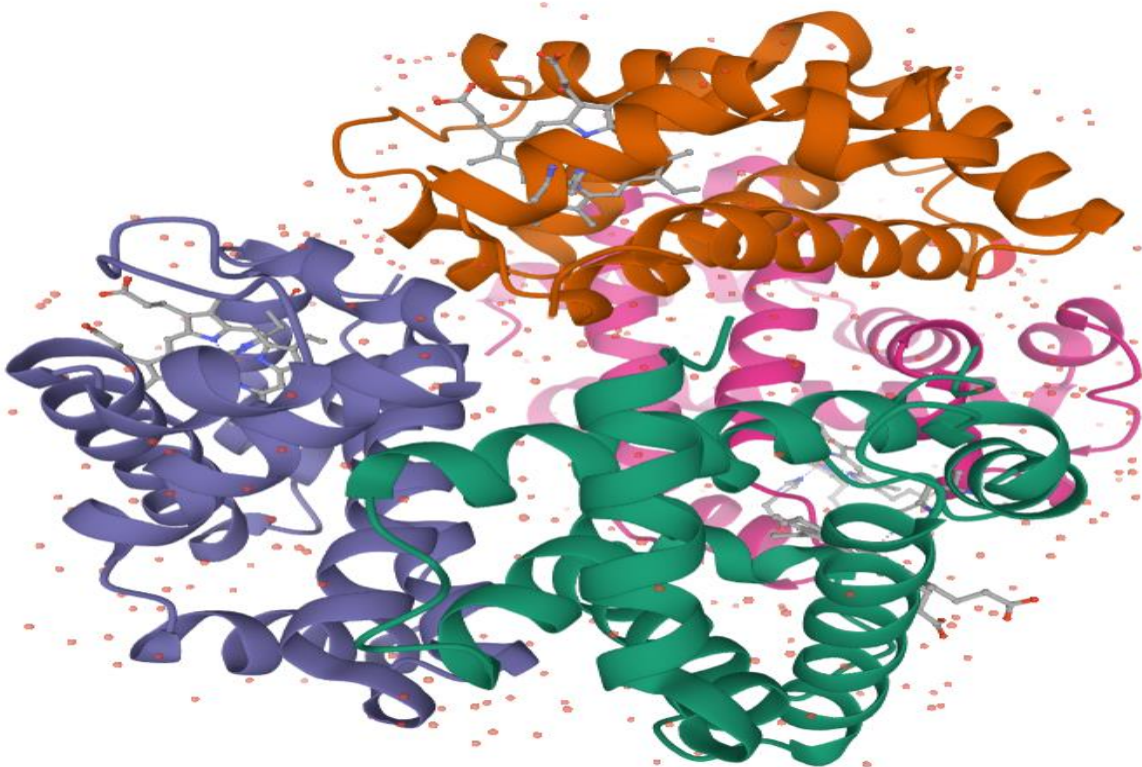


Рисунок 1. 3D модель белка гемоглобина [1]

ВЫПОЛНИЛА:

ИСАЕВА АРИНА ИГОРЕВНА

НАУЧНЫЙ РУКОВОДИТЕЛЬ:

К.Ф. – М.Н., М.Н.С. В.В. ГИБИЗОВА

ГРУППА: 204М

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ЦЕЛИ РАБОТЫ



➤ Изучение формы гемоглобина является актуальной проблемой. Исследование модификации и трансформации молекулы гемоглобина может быть использовано для разработки стратегии реанимации и лечения угрожающих жизни типов анемии, связанных с изменением формы гемоглобина.

➤ Целью данной работы было исследование изменений **формы** и **размеров** гемоглобина, происходящих в водных растворах при разных концентрациях белка с помощью многоугольного метода статистического рассеяния света.

ГЕМОГЛОБИН

- Гемоглобин — это компонент эритроцитов, относящийся к группе белков. Состоит из 96 % белкового вещества глобина и 4 % вещества с атомом 2-валентного железа — гема. В одной клетке эритроцита его содержится порядка 280 млн молекул, что и формирует красный цвет крови.
- Гемоглобин представляет собой тетрамер, состоящий из 2 пар полипептидных цепей, называемых глобинами, и 4 групп гема.

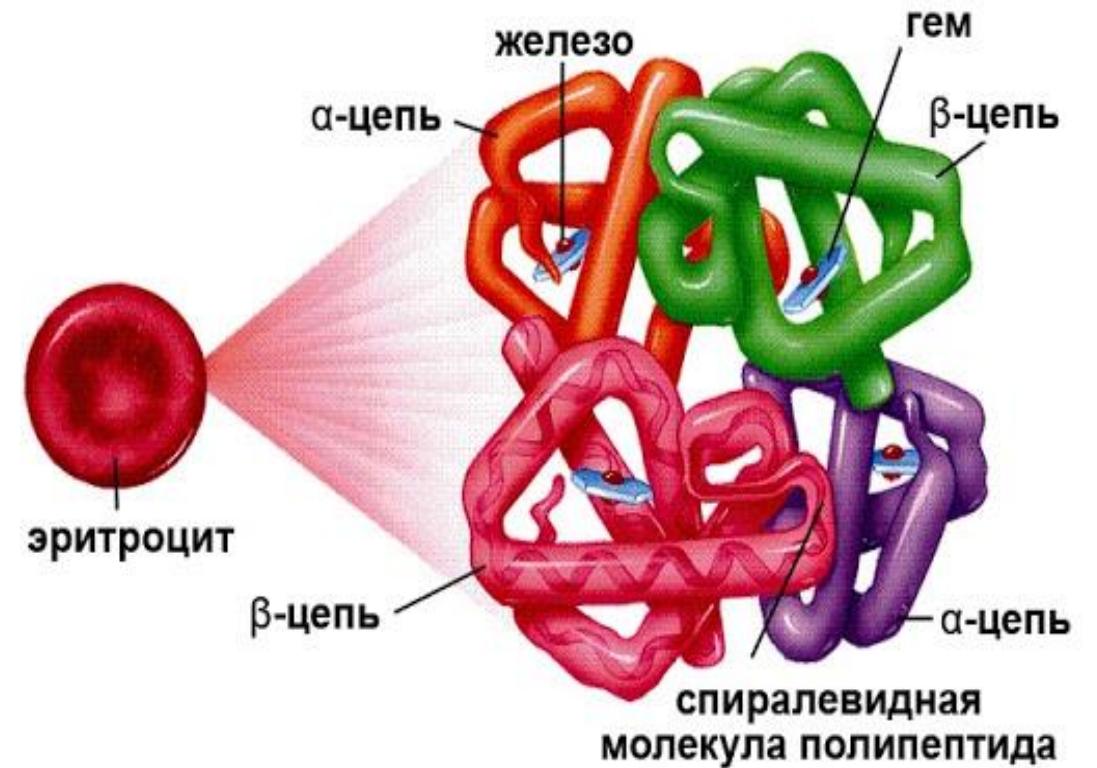


Рисунок 2. Гемоглобин [2]

ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

В статье [4] было проведено исследование наночастиц диоксида кремния SiO_2 . Для приготовления наночастиц SiO_2 использовали водный раствор этилового спирта, содержащий воду, аммиак и тетраэтоксисилан с соответствующими молярными соотношениями 25 : 1 : 0,14.

Вывод: конечный диаметр частиц, определенный с помощью атомно-силовой микроскопии, составлял 150 нм.

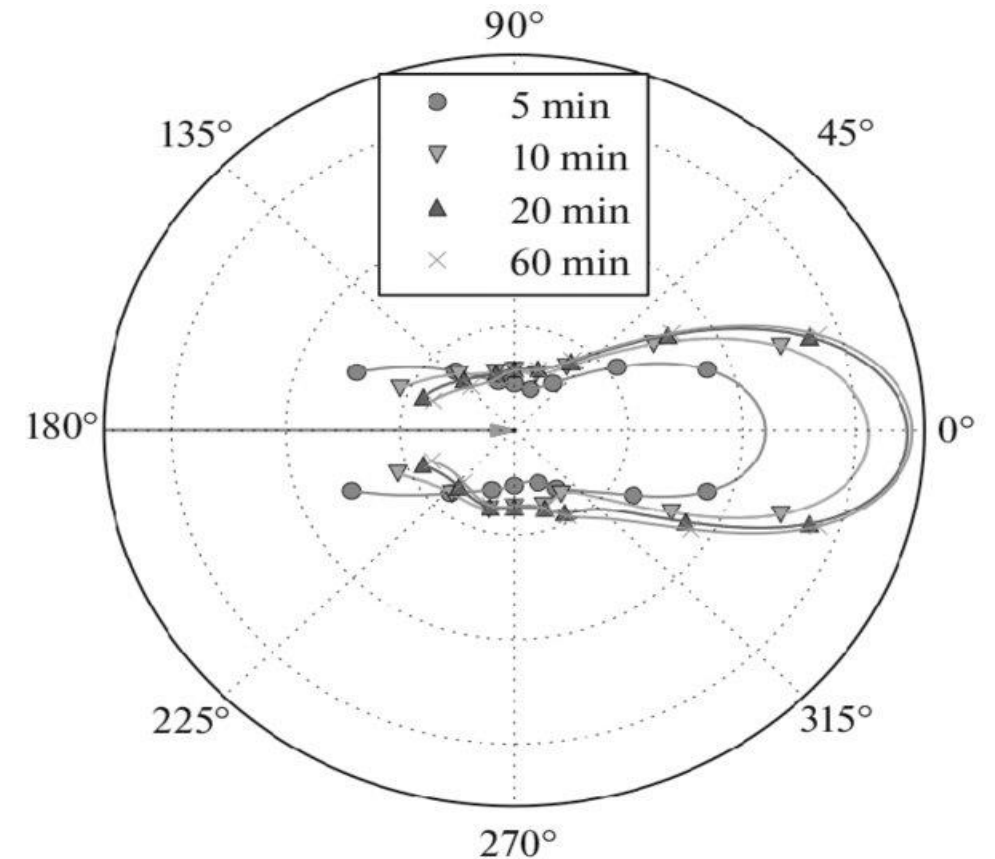


Рисунок 4.

Экспериментальные графики индикатрисы рассеяния частиц SiO_2 через различные промежутки времени от начала синтеза [4]

ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

Метод статического рассеяния света

- В статье [5] авторы исследуют процесс рассеяния света на растворах гемоглобина с солями при различных концентрациях. Акцент делается на некотором изменении молекулярной массы гемоглобина в нейтральных растворах, содержащих различные компоненты.
- Исходя из этого, авторами был сделан вывод, что увеличение концентрации соли приводит к уменьшению молекулярной массы, и, что диссоциация белка на субъединицы происходит в сильных солевых растворах.

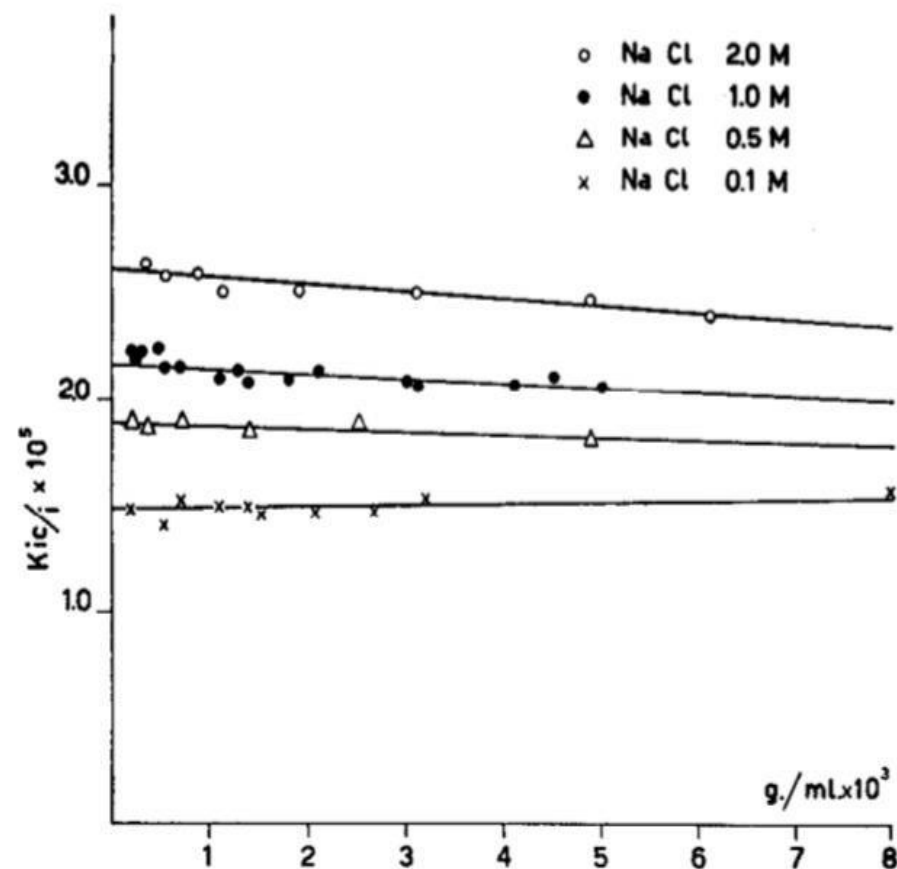


Рисунок 5. График зависимости оптической постоянной раствора K от концентрации соли NaCl [5]

ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

В статье [6] был смоделирован гемоглобин при серповидно-клеточной анемии.

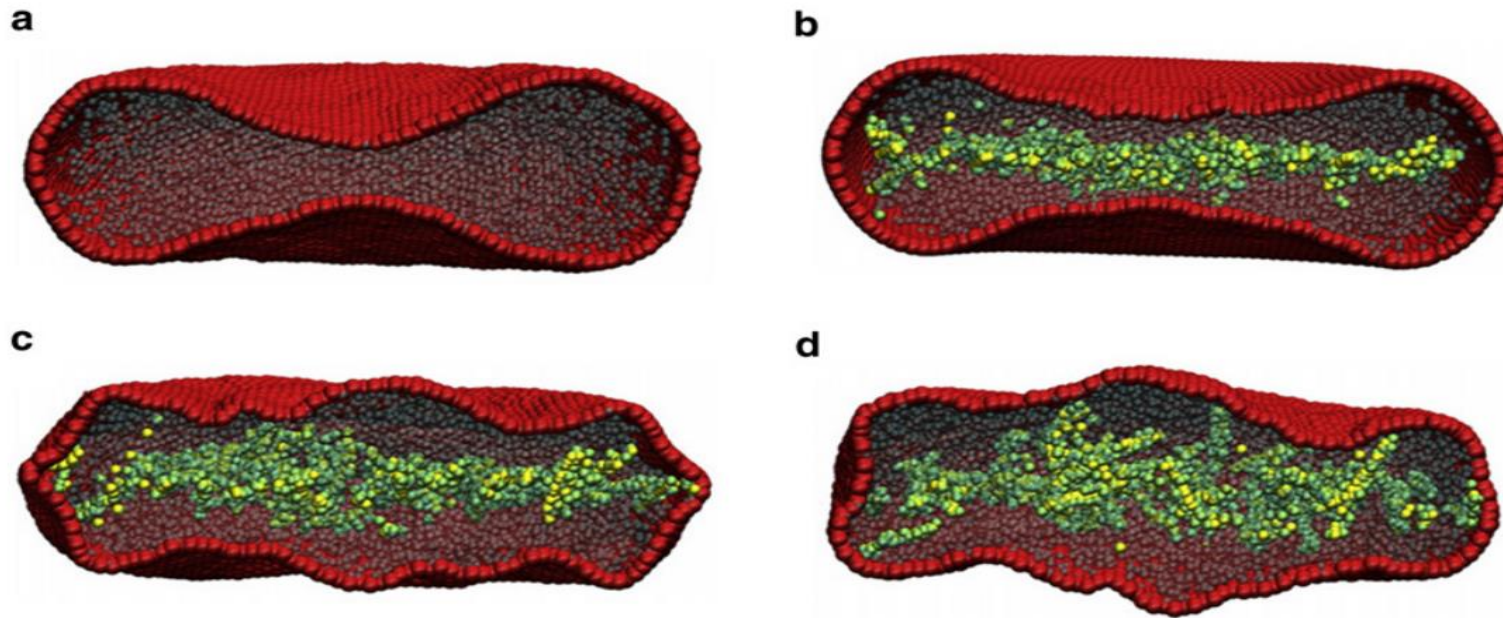


Рисунок 6. Результаты для цитозольных частиц, включенных в мембрану эритроцитов (a); и молекулы серпового гемоглобина и цитозольные частицы, включенные в мембрану эритроцитов в начальном состоянии (b), в промежуточном состоянии (c) и метастабильном состоянии (d) [6]

СПЕКТРОМЕТР PHOTOCOR COMPLEX.

- Измерение корреляционной функции флуктуаций интенсивности рассеянного света позволяет находить ряд динамических и статических параметров, таких как коэффициент трансляционной диффузии, размер дисперсных частиц, молекулярный вес рассеивающих частиц, второй вириальный коэффициент.
- Прибор РС предназначен предназначенного для многоугловых измерений динамического и статического рассеяния света. В установке использовался диодный лазер с длиной волны 647 нм и мощностью 25 мВт.
- Красная область спектра, где коэффициенты поглощения малы, является наиболее приемлемой для эксперимента, поскольку в видимом и ближнем ультрафиолетовом диапазоне гемоглобин имеет очень большие коэффициенты поглощения.



Рисунок 7. Спектрометр Photocor Complex [7]

Светорассеяние – один из основных количественных методов исследования полимеров в растворе, который, не требуя специальной калибровки, позволяет напрямую определять молекулярную массу и радиус инерции макромолекул.

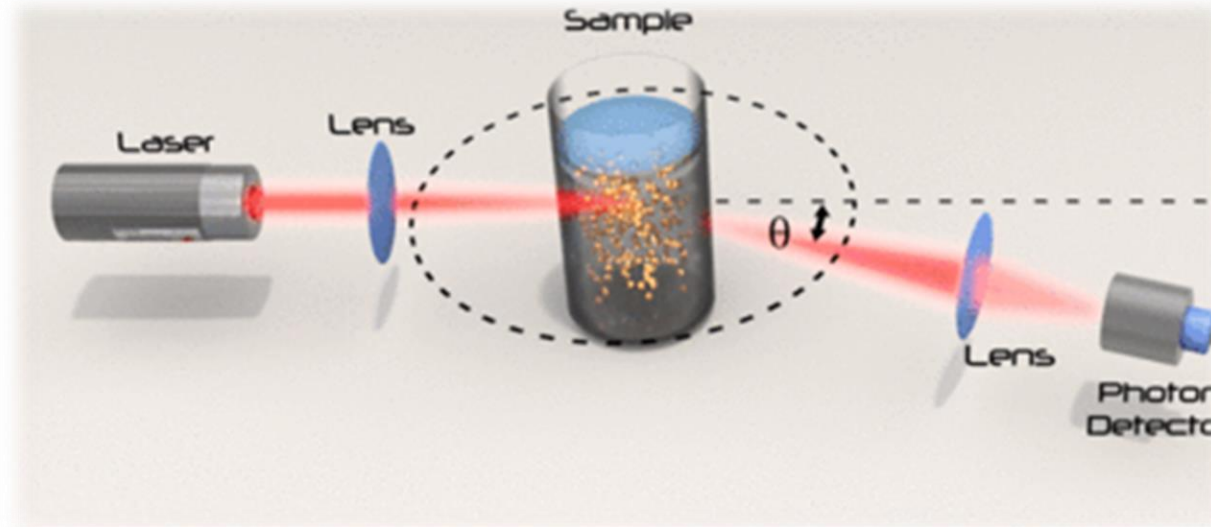


Рисунок 8. Прохождение луча лазера через рассеивающий объем [8]

В приемник излучения попадает свет, рассеянный всеми частицами, находящимися в объеме фокусировки источника. Общая интенсивность рассеянного света раствора (I) является суммой интенсивностей рассеяния, обусловленного флуктуациями плотности I' и флуктуациями концентрации I''

$$I = I' + I''$$

Интенсивность рассеянного света I зависит от длины волны падающего света λ_0 , интенсивности падающего света I_0 , рассеивающего объема Ω , расстояния от рассеивающего объема до приемника x , поляризуемости молекулы α , концентрации рассеивающих частиц c и угла рассеяния θ :

$$I'' = \frac{16 * \pi^4}{\lambda_0^4 * x^2} * \alpha^2 * c * \Omega * I_0 * P(\theta)$$

$P(\theta)$ – функция, содержащая угловую зависимость интенсивности рассеяния. Она называется «фактор внутримолекулярной интерференции».

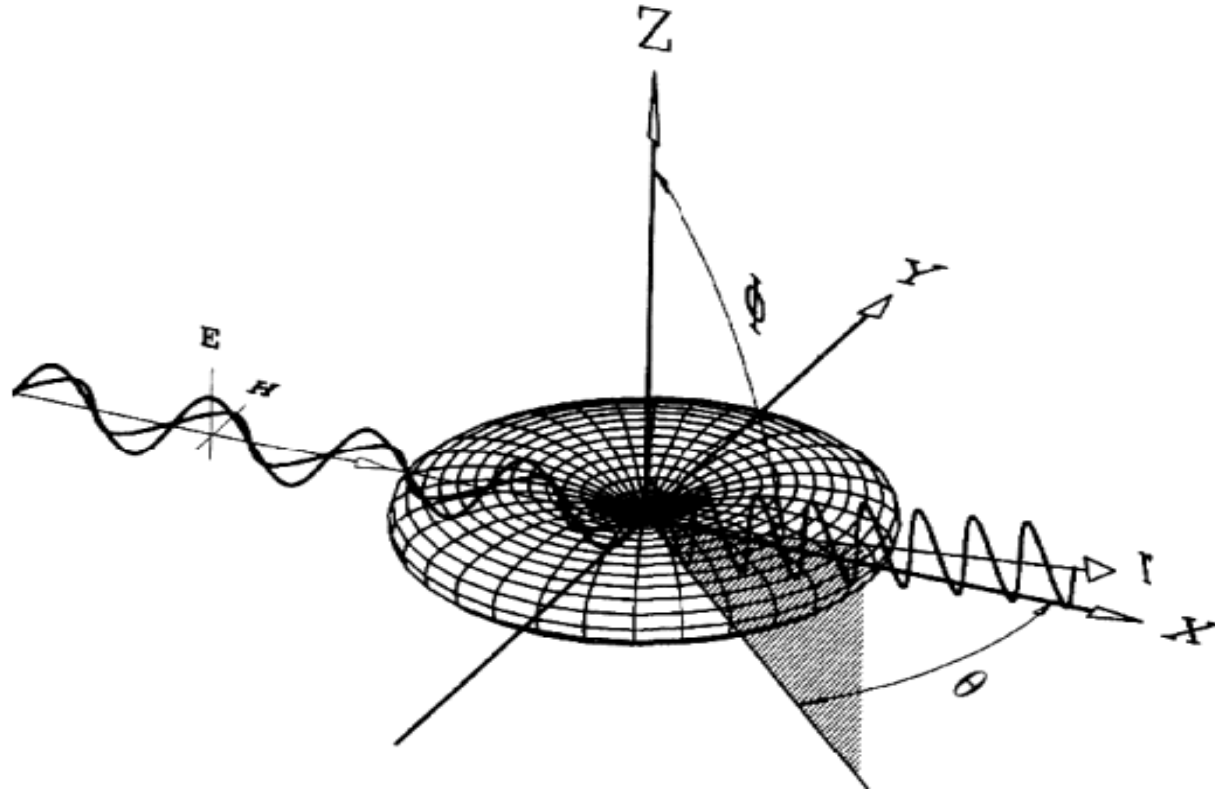


Рисунок 10. Рассеяния вертикально поляризованного светаа малой частицей. Распределение интенсивности не зависит от азимутального угла θ и зависит от полярного угла Φ . Указаны электрическая E и магнитная H составляющие электромагнитного поля волны [10]

УГЛОВУЮ ЗАВИСИМОСТЬ ИНТЕНСИВНОСТИ РАССЕЯННОГО СВЕТА ПРЕДСТАВЛЯЮТ В ВИДЕ ИНДИКАТРИСЫ РАССЕЯНИЯ.

ИНДИКАТРИСА РАССЕЯНИЯ – КРИВАЯ, ГРАФИЧЕСКИ ОТОБРАЖАЮЩАЯ ЗАВИСИМОСТЬ ИНТЕНСИВНОСТИ РАССЕЯННОГО СВЕТА ОТ УГЛА РАССЕЯНИЯ.

Отношение интенсивностей рассеяния света, измеренных под двумя углами, симметричными относительно 90 градусов, называется коэффициентом асимметрии Z .

$Z = 1$ для малых частиц (рис. 11а),

$Z > 1$ для больших молекул и возрастает по мере увеличения размера молекул (рис. 11б).

Если размеры рассеивающей частицы соизмеримы с длиной волны падающего света, то удаленные друг от друга участки частицы рассеивают свет с некоторой разностью фаз (рис. 11в).

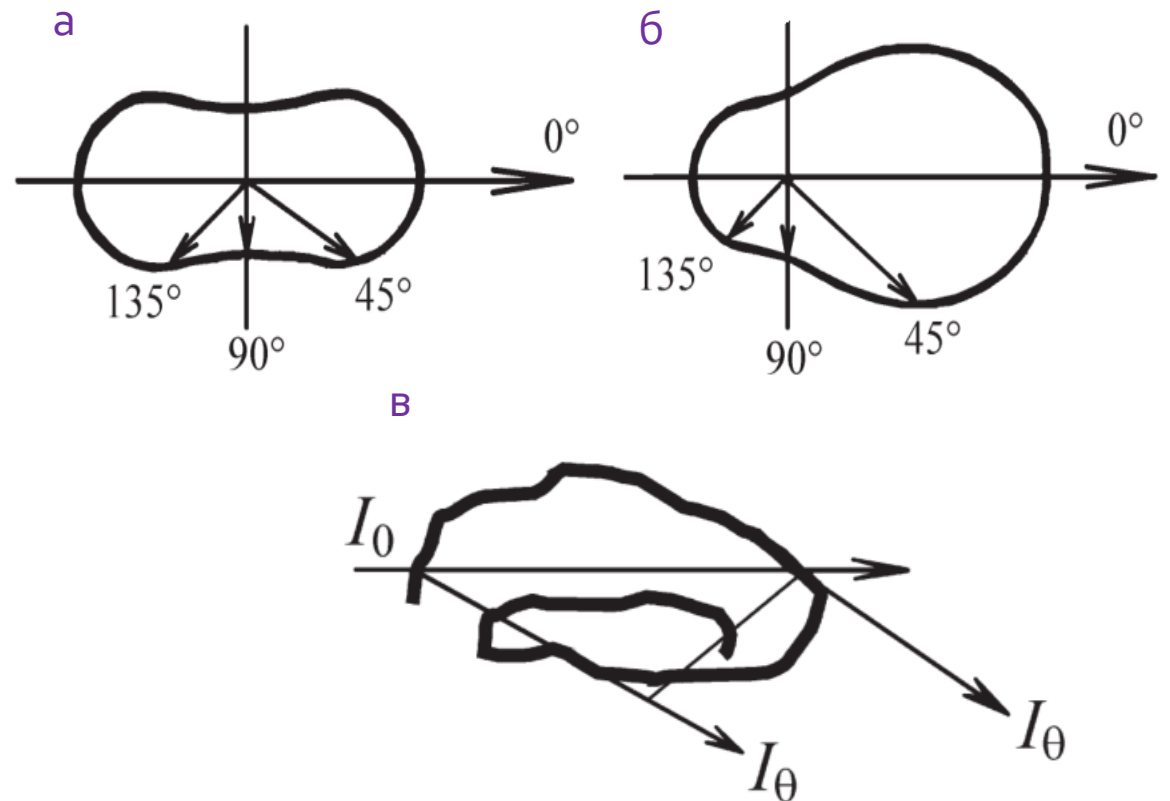
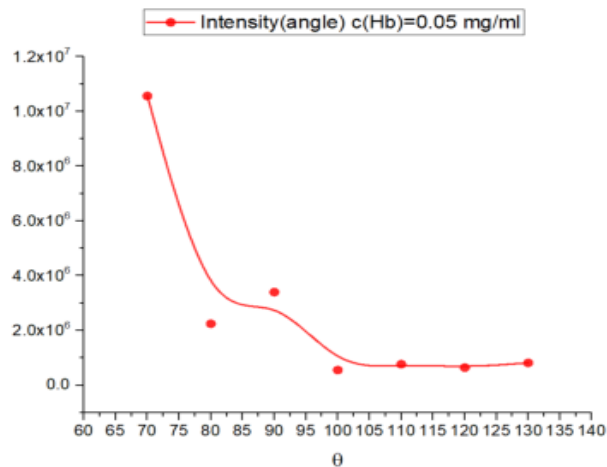


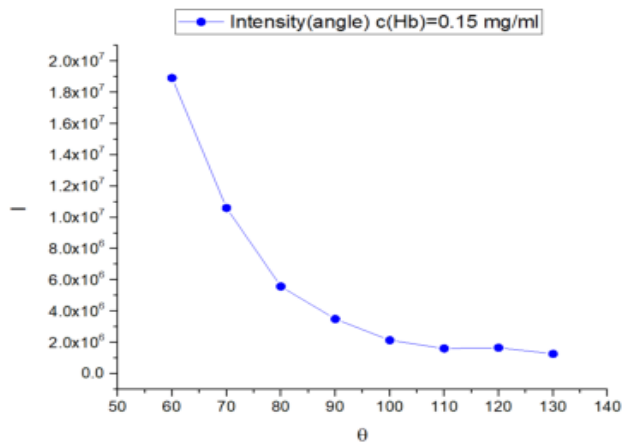
Рисунок 11. Примеры индикатрис рассеяния для частиц различных размеров

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ДАННЫЕ

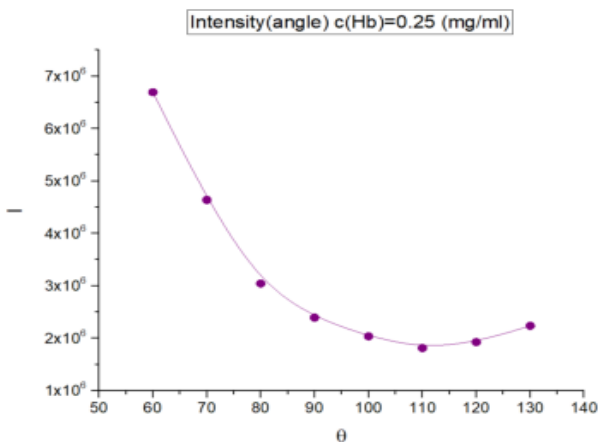
Зависимости интенсивности от угла в при разных концентрациях



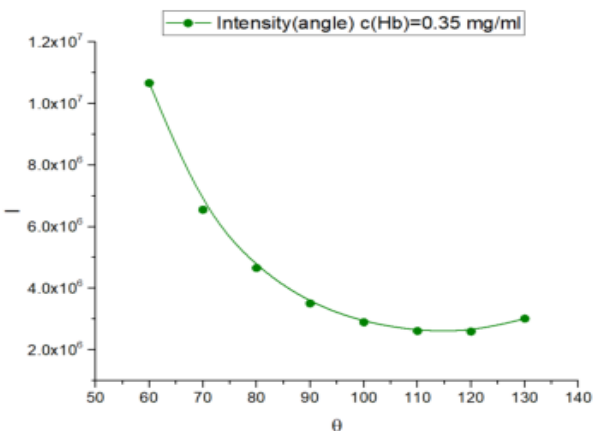
Интенсивности (I) от угла θ



Интенсивности (I) от угла θ



Интенсивности (I) от угла θ



Интенсивности (I) от угла θ

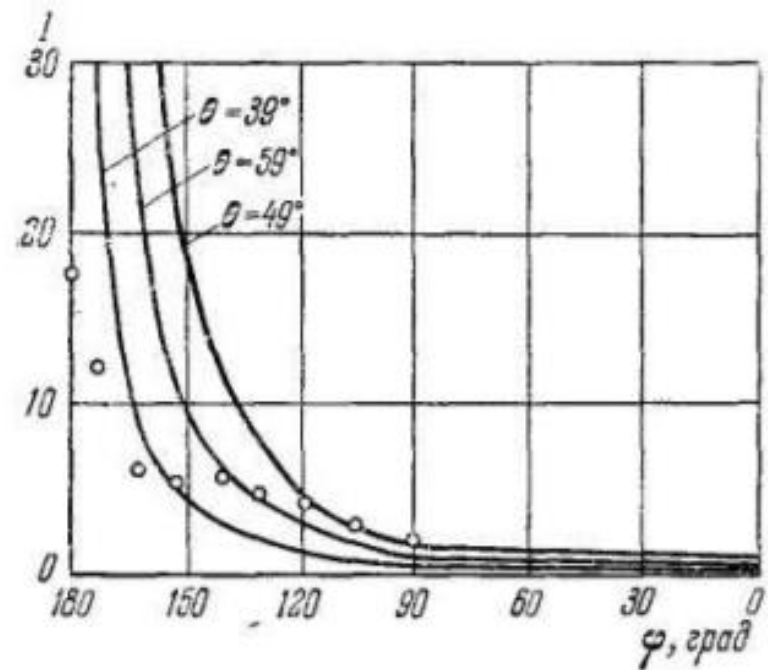


Рис. 56. Зависимость интенсивности (в условных единицах) света, рассеянного поверхностью метилового спирта, от азимута φ при трех различных углах θ .

Сплошная кривая – теоретическая [111].
Кружками отмечены экспериментальные данные [398]. [12]

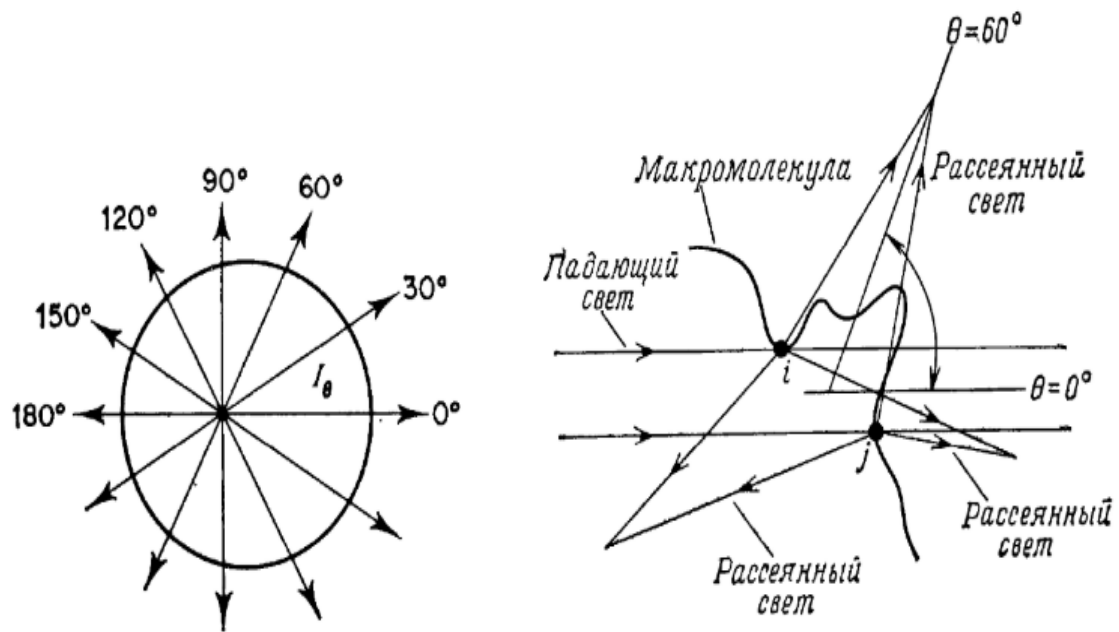


Рисунок 13. Индикатриса рассеяния света [13]

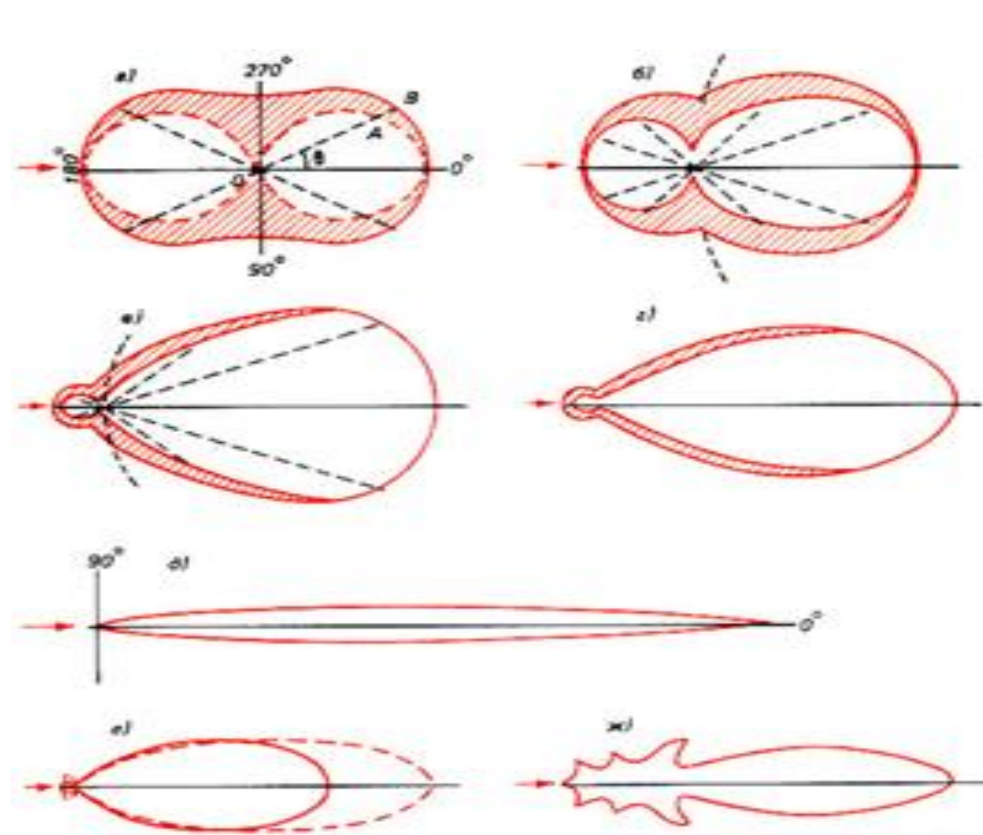
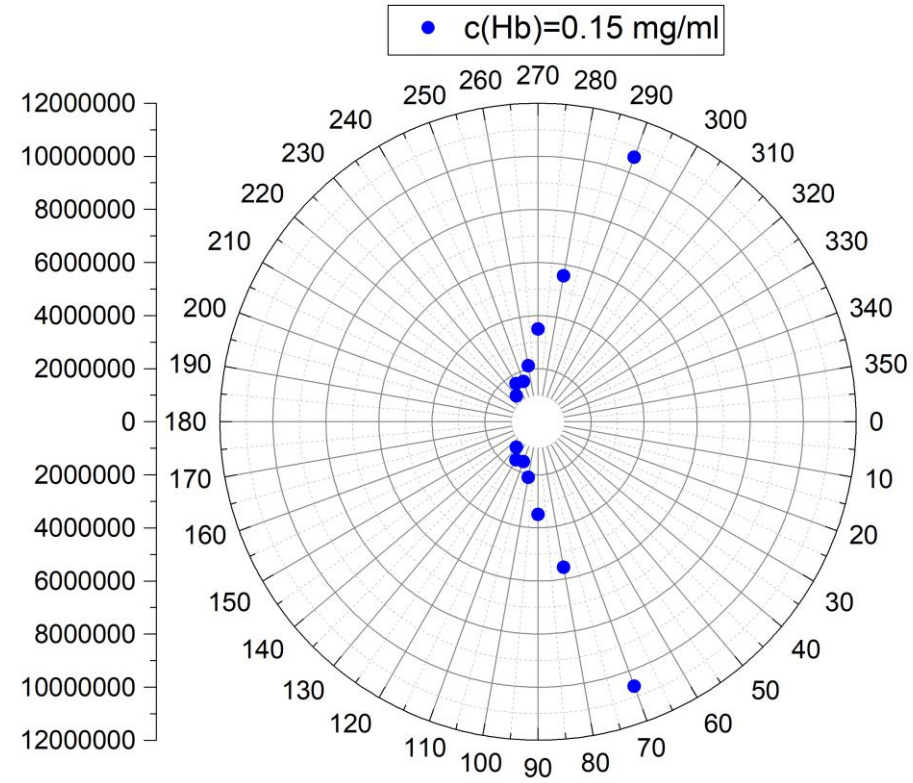
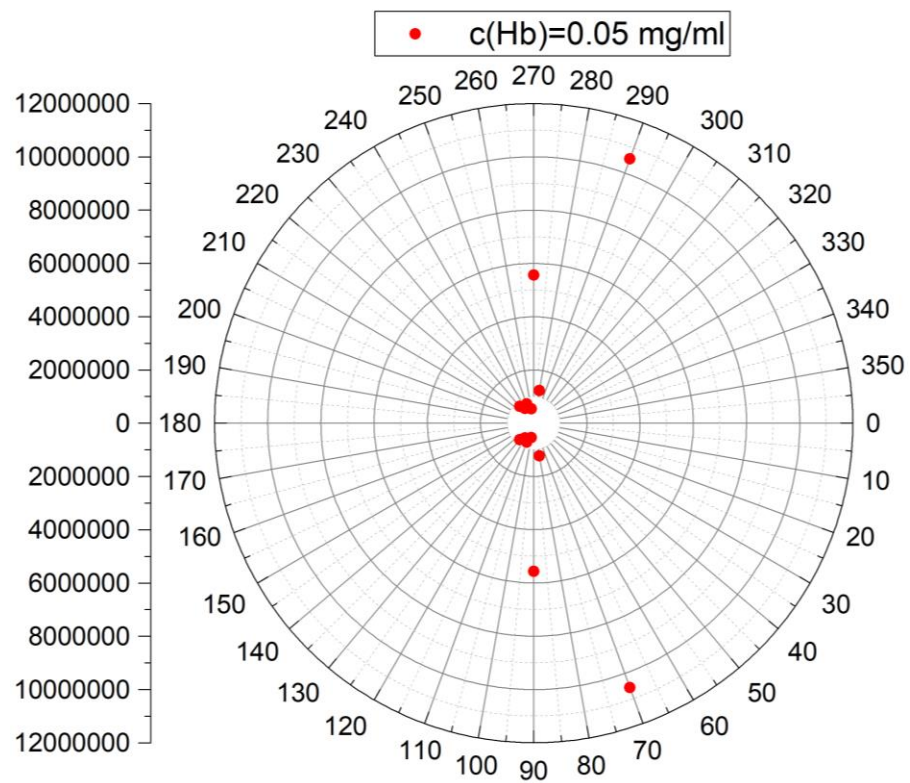
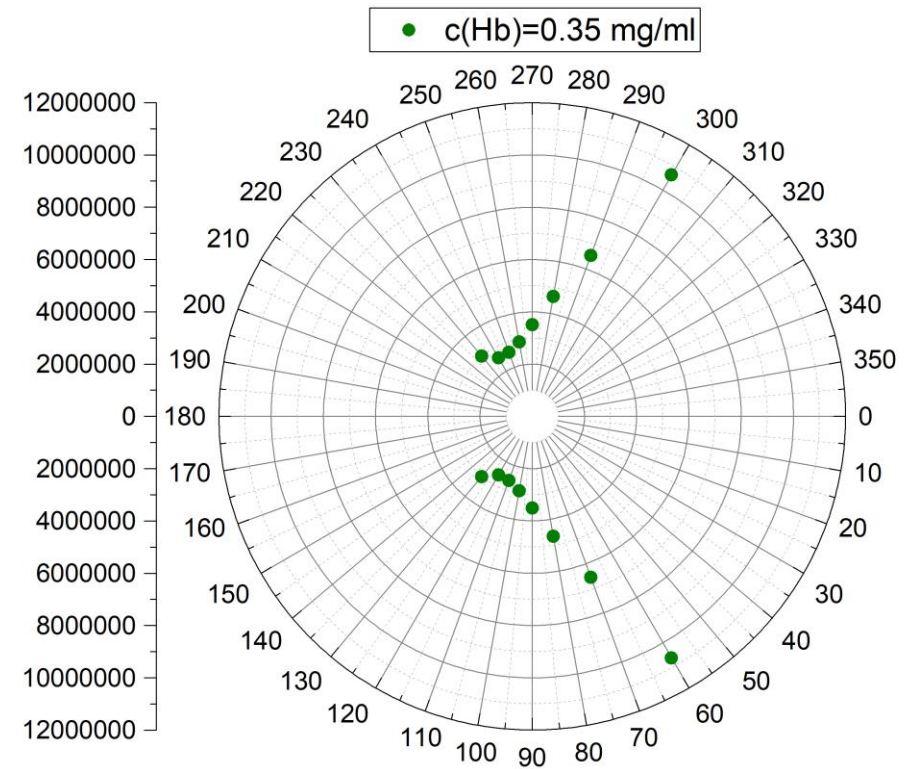
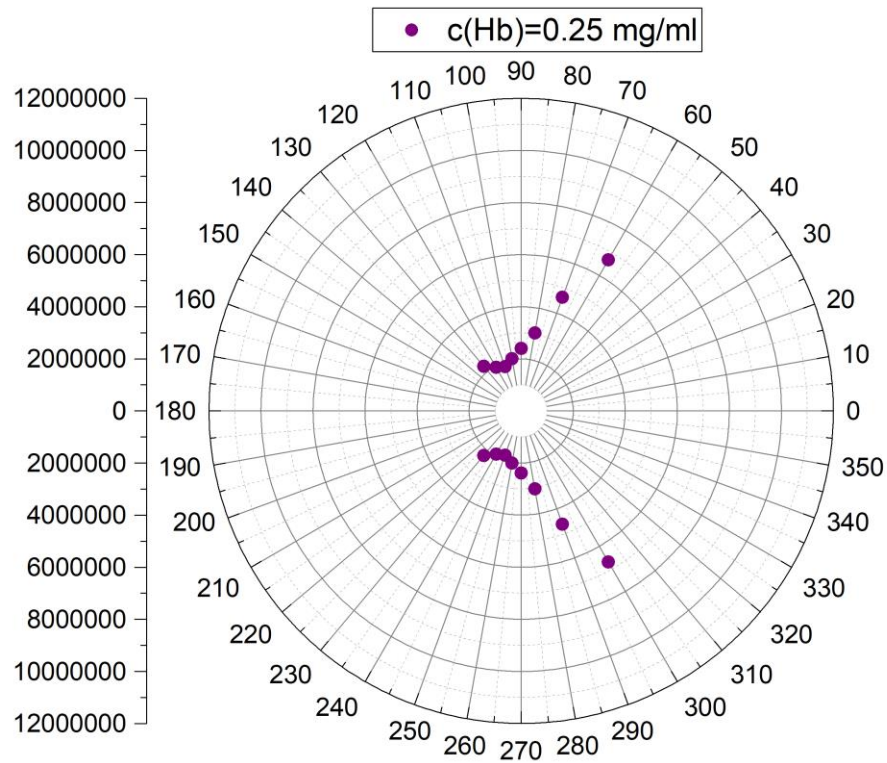


Рисунок 14. Индикатрисы рассеяния: а - при молекулярном рассеянии; б - для частиц диаметром, равным $\frac{1}{3}\lambda$; в - для частиц диаметром λ ; г - для частиц диаметром 3λ ; д - для частиц диаметром 40λ ; е, ж - с дополнительными максимумами [14]

Индикатрисы рассеяния для разных концентраций гемоглобина



Индикатрисы рассеяния для разных концентраций гемоглобина



1. МЕТОД ДЕБАЯ

Уравнение Дебая:

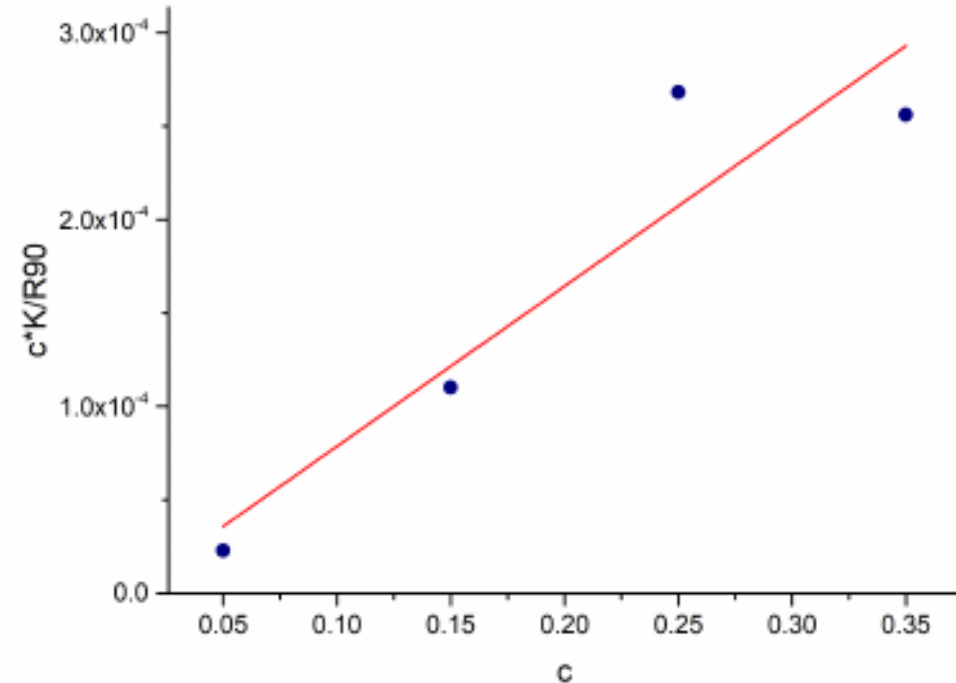
$$\frac{K * c}{R_{90}} = \frac{1}{M_w} + 2 * A_2 * c^2$$

$$R_{90} = \frac{I - I_W}{I_B - I_T}$$

Коэффициент рассеяния

$$K = \frac{4 * \pi^2 * n_0^2}{\lambda_0^4 * N_A} * \left(\frac{\partial n}{\partial c}\right)^2$$

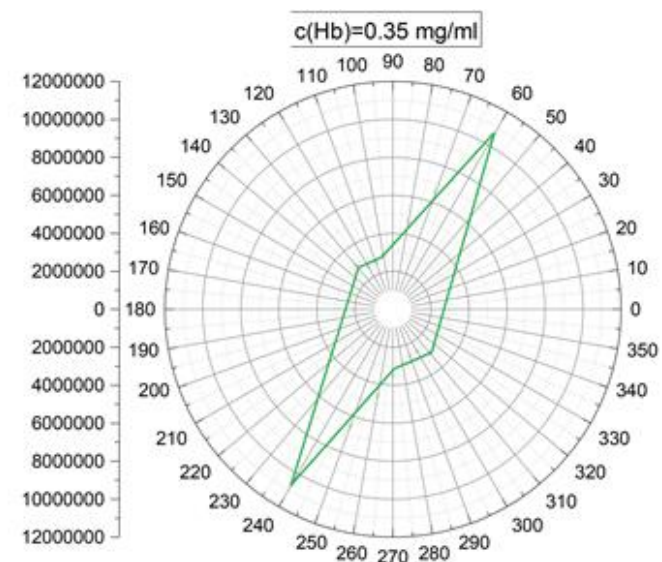
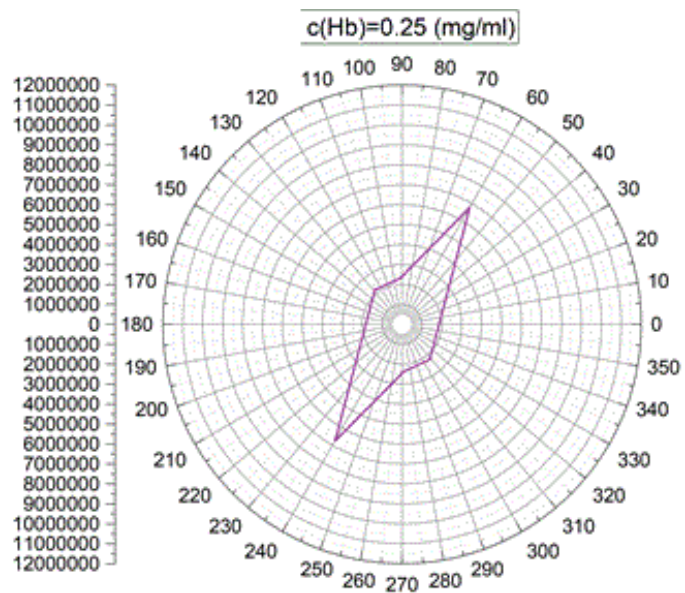
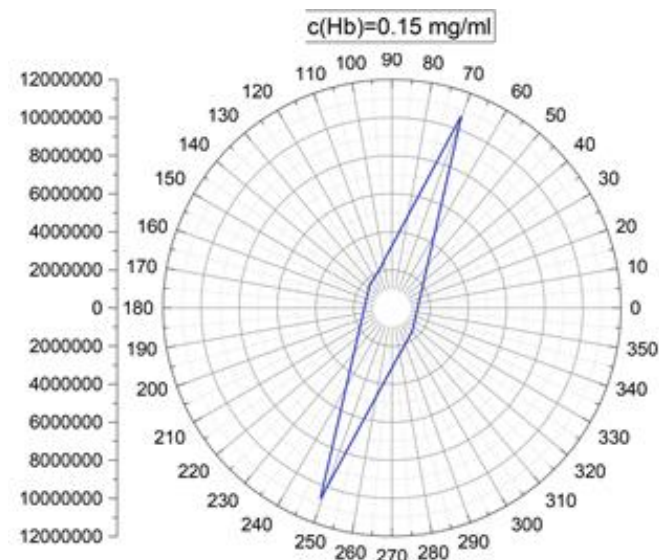
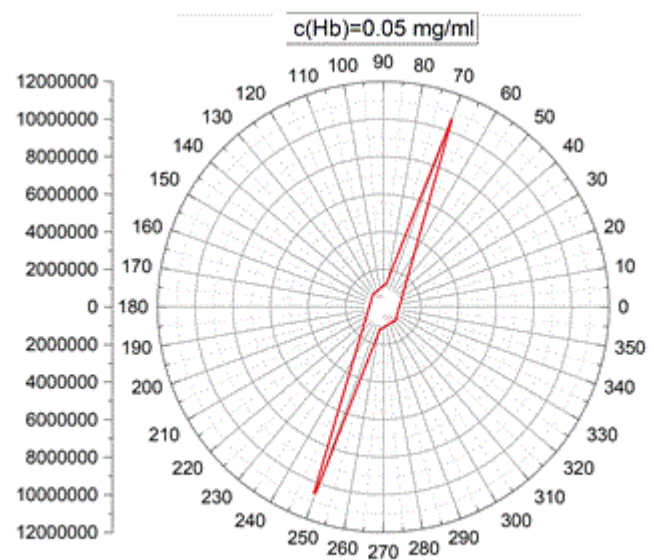
Оптическая постоянная раствора



Концентрационная зависимость параметра рассеяния cK/R_{90} в водном растворе гемоглобина, построенная с помощью МНК

Вывод: с помощью экстраполяции к $c=0$ получено: $1/M = 1.49 * 10^{-5}$. Полученное значение эффективной массы молекулы гемоглобина $M = 67000$ г/моль близко к литературному значению: $M = 64500$ г/моль. Получено значение второго вириального коэффициента $A_2 = 4.5 * 10^{-4}$.

Зависимости интенсивности от угла в полярных координатах при разных концентрациях



2. МЕТОД АСИММЕТРИИ

Расчётная формула коэффициента асимметрии при разных углах

$$Z = (I_{\theta})/I_{(180-\theta)}_{c=0}$$

$$I_{\theta} = K * c * M * P(\theta)$$

Путем умножения обратной величины начальной ординаты графика $cK/2I_{90}$ от c на фактор $P^{-1}(\theta)$:

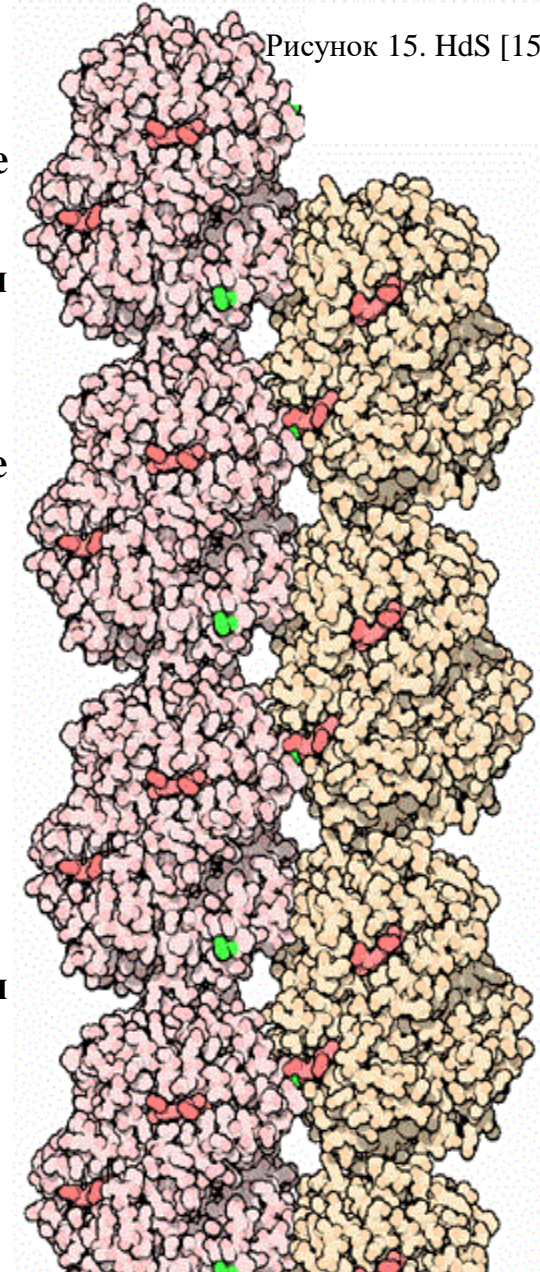
$$M = \left(\frac{c * K}{R_{90}}\right)^{-1} * P^{-1}(\theta)$$

c	$c_1 = 0.05$	$c_2 = 0.15$	$c_3 = 0.25$	$c_4 = 0.35$
Z	2.27	2.61	1.49	1.61
P^{-1}	2.05	2.44	1.38	1.48
$\frac{D}{\lambda}$	0.45	0.50	0.40	0.45
Форма	клубки	клубки	палочки	палочки

Таблица 1. Результаты обработки экспериментальных данных

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ:

- Получены угловые зависимости интенсивности рассеянного света в чистом водном растворе гемоглобина при разных концентрациях.
- Построены индикатрисы рассеянного света, которые показывают распределение интенсивности света в чистых водных растворах гемоглобина.
- С помощью обработки данных методом Дебая:
 - ❑ Получено значение эффективной массы молекулы гемоглобина $M = 67000$ г/моль, которое близко к литературному значению: $M = 64500$ г/моль.
 - ❑ Получено значение второго вириального коэффициента $A_2 = 4.5 \cdot 10^{-4}$
- С помощью метода асимметрии получены значения при разных концентрациях :
 - ❑ Коэффициента асимметрии Z .
 - ❑ Фактор внутримолекулярной интерференции P .
 - ❑ Исследована форма гемоглобина.
 - ❑ Относительные размеры молекулы гемоглобина D/λ .
- При приближении исследуемых водных растворов к концентрациям близким к физиологическим форма гемоглобина стремится к патологическому виду - HbS.



СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

- 1) <https://www.rcsb.org/3d-view/1A3N/0>
- 2) <http://run-ski.ru/sportmed/gemoglobin-kak-vse-proiskhodit-na-samom-dele/>
- 3) <https://100urokov.ru/predmety/urok-7-himicheskaya-svyaz>
- 4) L. B. Matyushkin*, O. A. Aleksandrova, and V. A. Moshnikov, A Device for Measuring the Scattering Indicatrix of the Nanomaterial Synthesis Process, Glass Physics and Chemistry, 2017, Vol. 43, No. 3, pp. 263–266. Pleiades Publishing, Ltd., 2017
- 5) A. Rossi-Fanelli, E. Antonini and A. Caputo. Studies on the relations between molecular and functional properties of hemoglobin. I. The effect of salts on the molecular weight of human hemoglobin // J. Biol. Chem. 1961
- 6) Effect of Chain Chirality on the Self-Assembly of Sickle Hemoglobin Xuejin Li, Bruce Caswell, and George Em Karniadakis Division of Applied Mathematics and School of Engineering, Brown University, Providence, Rhode Island// Biophysical Journal //September 2012// P 1130–1140
- 7) <https://www.photocor.ru/dls-instrument>
- 8) <https://lsinstruments.ch/en/technology/static-light-scattering-sls/zimm-plot/>
- 9) Методы статического и динамического рассеяния света для исследования наночастиц и макромолекул в растворах. Учебно-методическое пособие / сост.: К. В. Бочаров, Н. И. Марукович, А. Ю. Куксин. – М.: МФТИ, 2016. –40 с.
- 10) Методы исследования полимерных систем. С. А. Вшивков, А. П. Сафронов, Е. В. Русинова, Л. В. Адамова, А. Л. Надольский, И. С. Тюкова, Т. В. Терзиян, А. Г. Галяс
- 11) Фабелинский И.Л. “Молекулярное рассеяние света” // М. Наука, 1965.
- 12) https://studme.org/216010/matematika_himiya_fizik/staticheskoe_svetorasseyanie_malymi_chastitsami
- 13) <http://geoman.ru/books/item/f00/s00/z0000111/st017.shtml>
- 14) <https://pdb101.rcsb.org/motm/41>



СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!