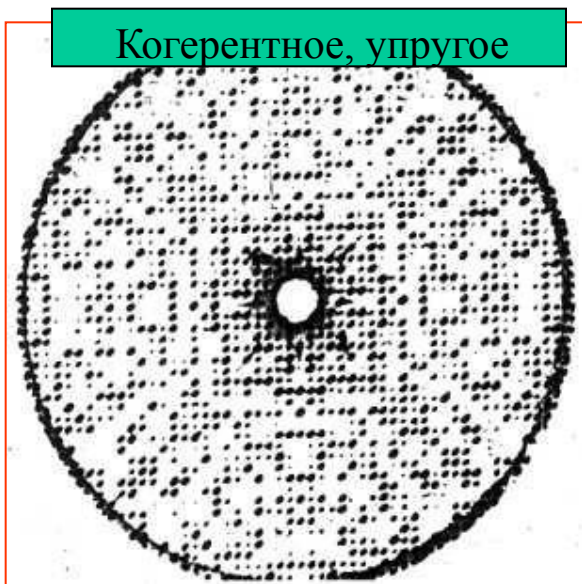


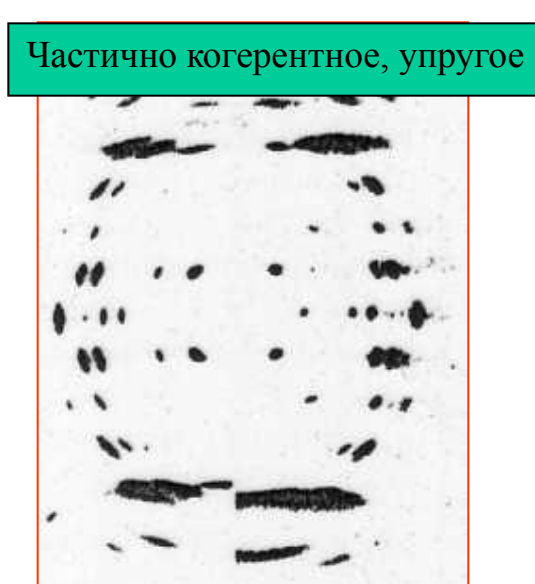
# Общие положения малоугловой дифракции

Вид дифракционной картины и возможности извлечения из нее структурной информации существенно зависят от упорядоченности в рассеивающем объекте

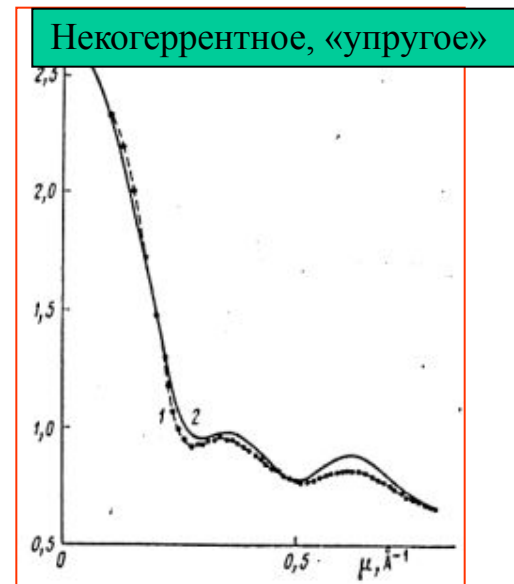
Картина рассеяния от объекта в кристаллическом состоянии (кристалл)



Картина рассеяния от объекта в частично упорядоченном состоянии (волокно)

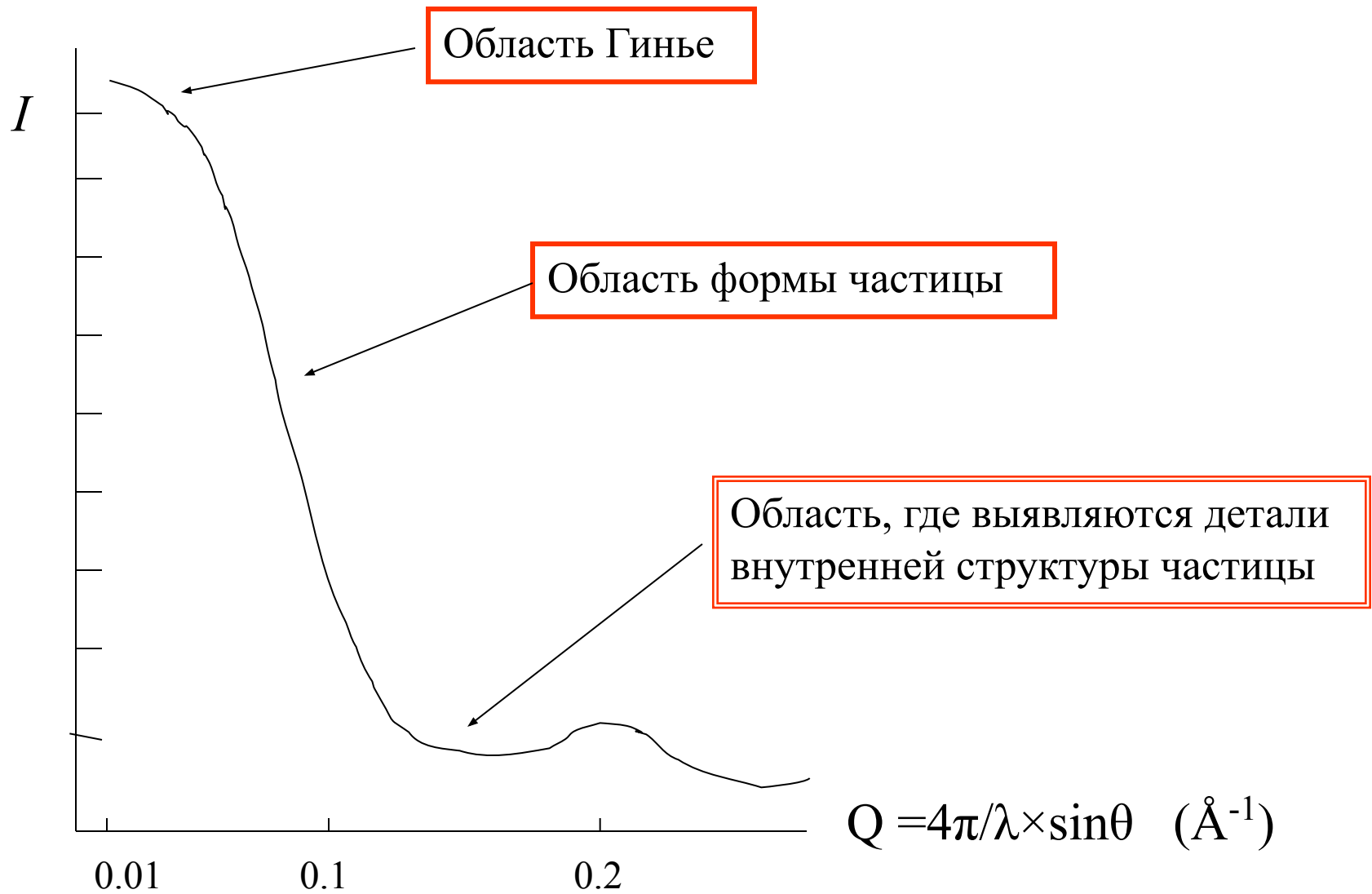


Картина рассеяния от объекта в неупорядоченном состоянии (раствор)



Главный вывод: чем выше степень упорядоченности объекта, тем более информативной будет от него картина дифракции

# Общий вид кривой в малоугловом рассеянии



## Аппроксимация Гинье

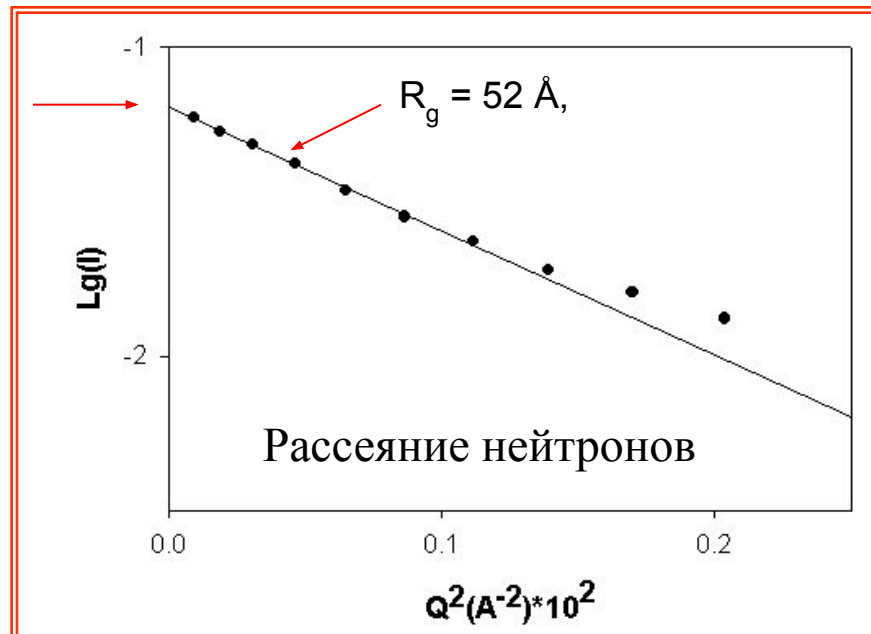
В 1939 году А. Гинье показал, что в области малых углов интенсивность рассеяния может быть представлена экспоненциальной функцией

$$I(Q) = I(0) \exp -1/3 R_G^2 Q^2$$

Это уравнение известно как аппроксимация Гинье. Оно верно для частицы любой формы при условии что произведение  $QR_G$  меньше или равно 1.

$$\ln I(Q) = \ln I(0) - 1/3 R_G^2 Q^2$$

$M = 50$  кДа



## Радиус инерции $R_g$ в механике и его свойства

$$R_G^2 = \frac{\sum m_j r_j^2}{\sum m_j}$$

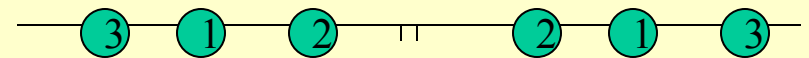
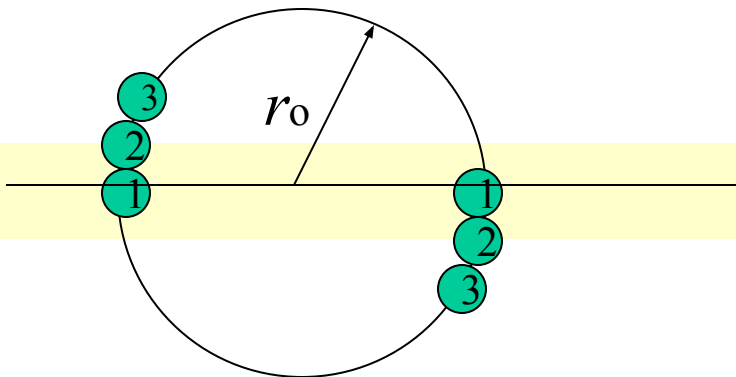
- **Свойство 1.** Радиус инерции **однородной** частицы не зависит от ее плотности.
- **Свойство 2.** Радиус инерции **однородной** сферической частицы связан с ее радиусом  $r_0$

$$R_g^2 = \frac{3}{5} r_0^2$$

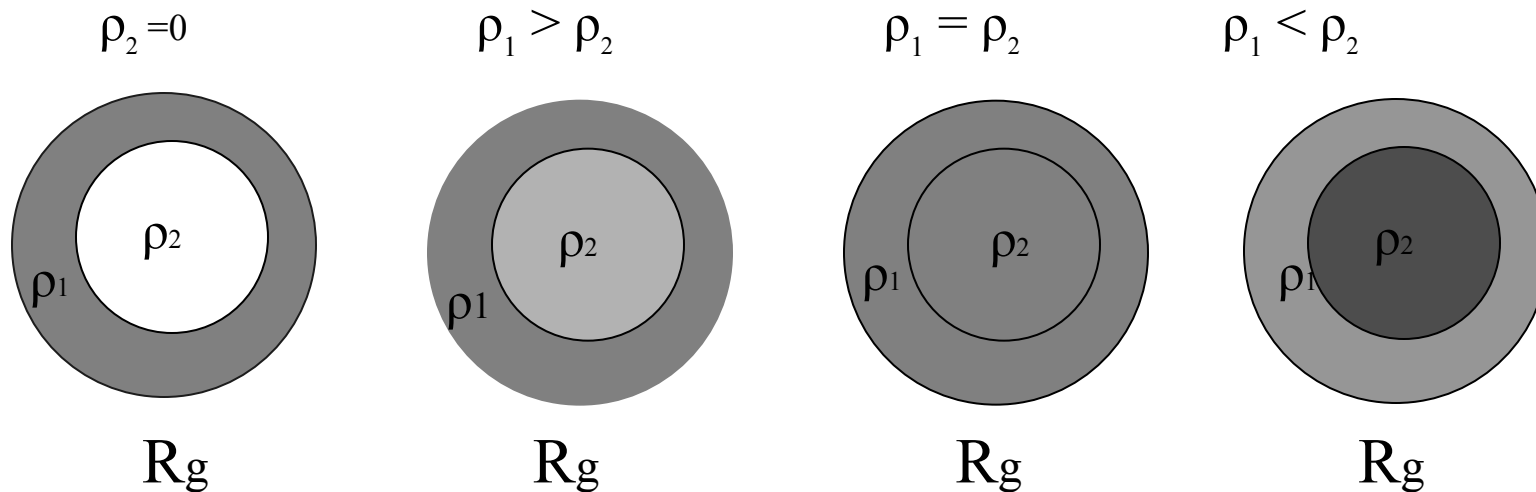
- **Свойство 3.** Радиус инерции двух сферических частиц зависит от расстояния между ними  $L$

$$R_{g_{00}}^2 = 1/2 R_{g_0}^2 + 1/2 R_{g_0}^2 + 1/4 L^2 = R_{g_0}^2 + 1/4 L^2$$

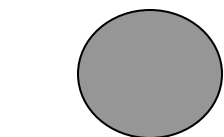
- **Свойство 4.** Радиус инерции совокупности сферических частиц зависит от их распределения в пространстве



- **Свойство 5.** Радиус инерции **неоднородной** частицы зависит от распределения «рассеивающей плотности» внутри нее. Для двухкомпонентной частицы с «рассеивающими плотностями»  $\rho_1$  и  $\rho_2$



- **Свойство 6.** Для частиц простой формы радиус инерции связан с их геометрическими размерами следующим образом



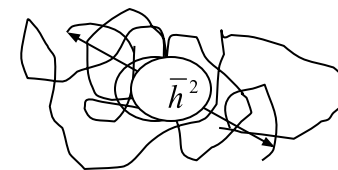
$$R_g^2 = 3/5 r_0^2$$



$$R_g^2 = (a^2 + 2b^2) / 5r_0^2$$



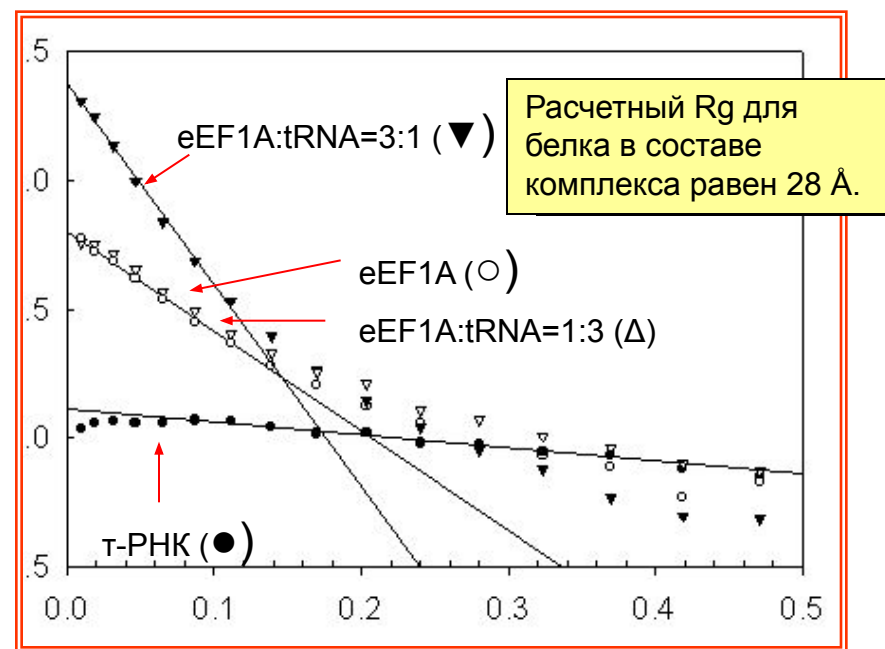
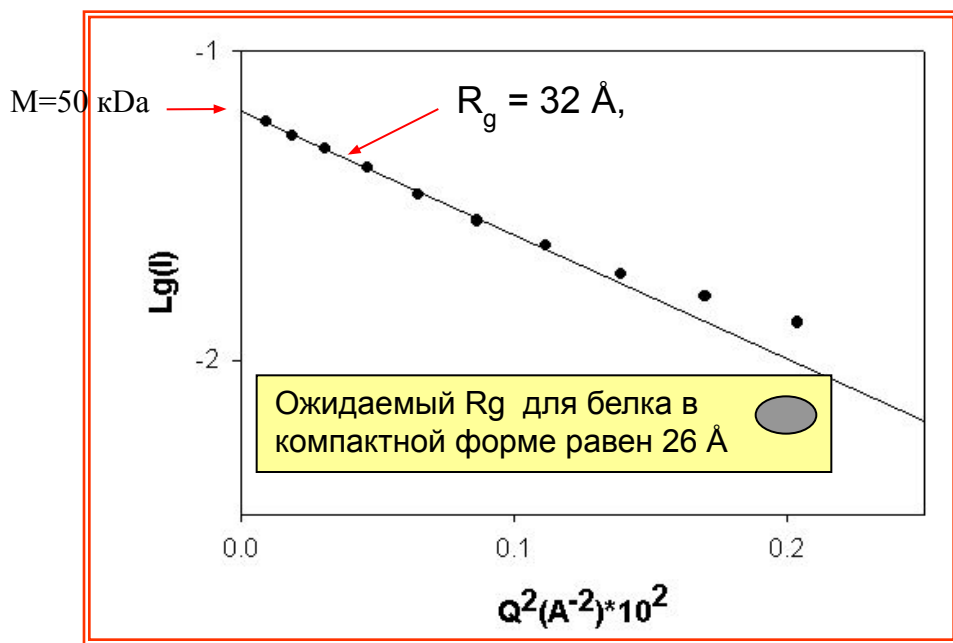
$$R_g^2 = L^2 / 12$$



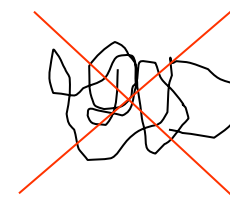
$$R_g^2 = \bar{h}^2 / 6$$



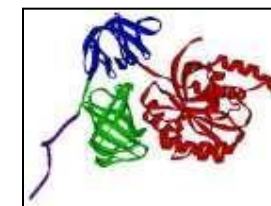
## Фактор EF1A в изолированном состоянии и в комплексе с лигандом (т-РНК)



Элонгационный эукариотический фактор eF1A не является глобулярным белком в обычном понимании, а относится к классу природно неструктурированных белков.



Такие белки не имеют уникальной третичной структуры в физиологических условиях, а приобретают ее при взаимодействии с лигандами”



# Сравнение радиуса инерции частицы с ее гидродинамическими параметрами

Радиус инерции и константа поступательного трения

$$f = 6\pi\eta_0 R_0 F(p)$$

$$f = \frac{RT}{D}$$

$$f = \frac{M(1-\nu\rho_0)}{s}$$

Радиус инерции и характеристическая вязкость

$$R_g^2 = \frac{a^2 + 2b^2}{5}$$

$$V = \frac{4\pi}{3} p \left[ \frac{5R_g^2}{p^2 + 2} \right]^{3/2}$$

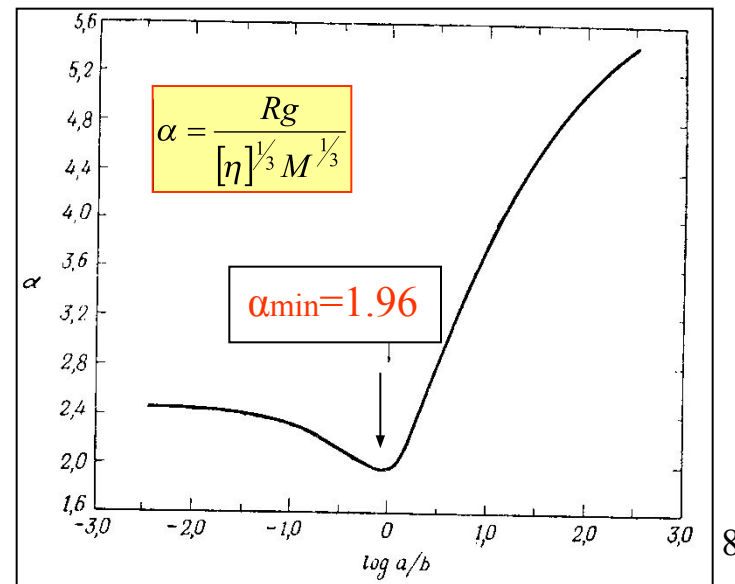
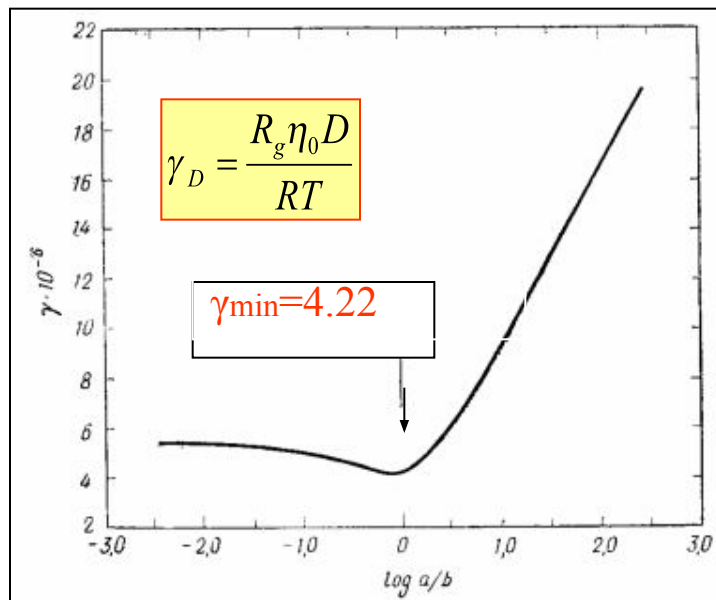
$$[\eta] = \frac{5}{2} \frac{V}{M} \nu(p)$$

$$\gamma_s = \frac{R_g \eta_0 s}{M(1-\nu\rho_0)}$$

$$\gamma_D = \frac{R_g \eta_0 D}{RT}$$

$$\alpha = \frac{Rg}{[\eta]^{1/3} M^{1/3}}$$

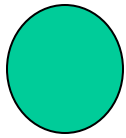
Функции  $\gamma$  и  $\alpha$  могут быть рассчитаны теоретически и определены экспериментально



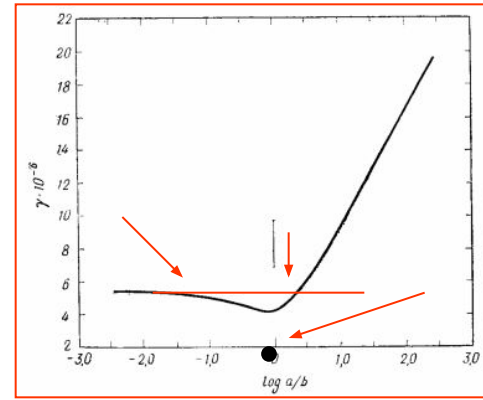


# Примеры использования функций $\alpha$ и $\gamma$

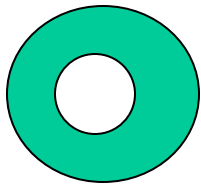
## 1. Миоглобин



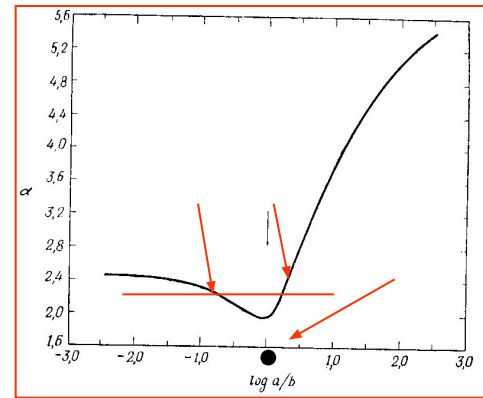
$M=17.836 \text{ Da}$ ,  $D=10.8 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{sec}$ ,  $s=2.08 \text{ S}$   
 $v=0.741 \text{ cm}^3/\text{g}$ ,  $[\eta]=3.1 \text{ cm}^3/\text{g}$ ,  $R_g=15.8 \text{ \AA}$   
 $\alpha=2.00$ ,  $\gamma_s=4.28$ ,  $\gamma_D=4.32$ ,  $p=1.6$ ,  $1/p=2.0$



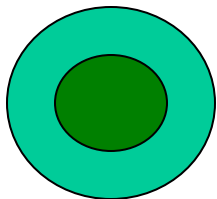
## 2. Апоферритин



$M=465.000 \text{ Da}$ ,  $D=3.64 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{sec}$ ,  $s=17.6 \text{ S}$   
 $v=0.747 \text{ cm}^3/\text{g}$ ,  $[\eta]=3.2 \text{ cm}^3/\text{g}$ ,  $R_g=51.9 \text{ \AA}$   
 $\alpha=2.20$ ,  $\gamma_s=4.60$ ,  $\gamma_D=4.63$ .

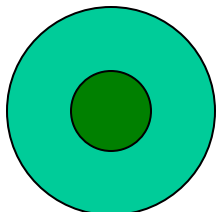


## 1. Ферритин



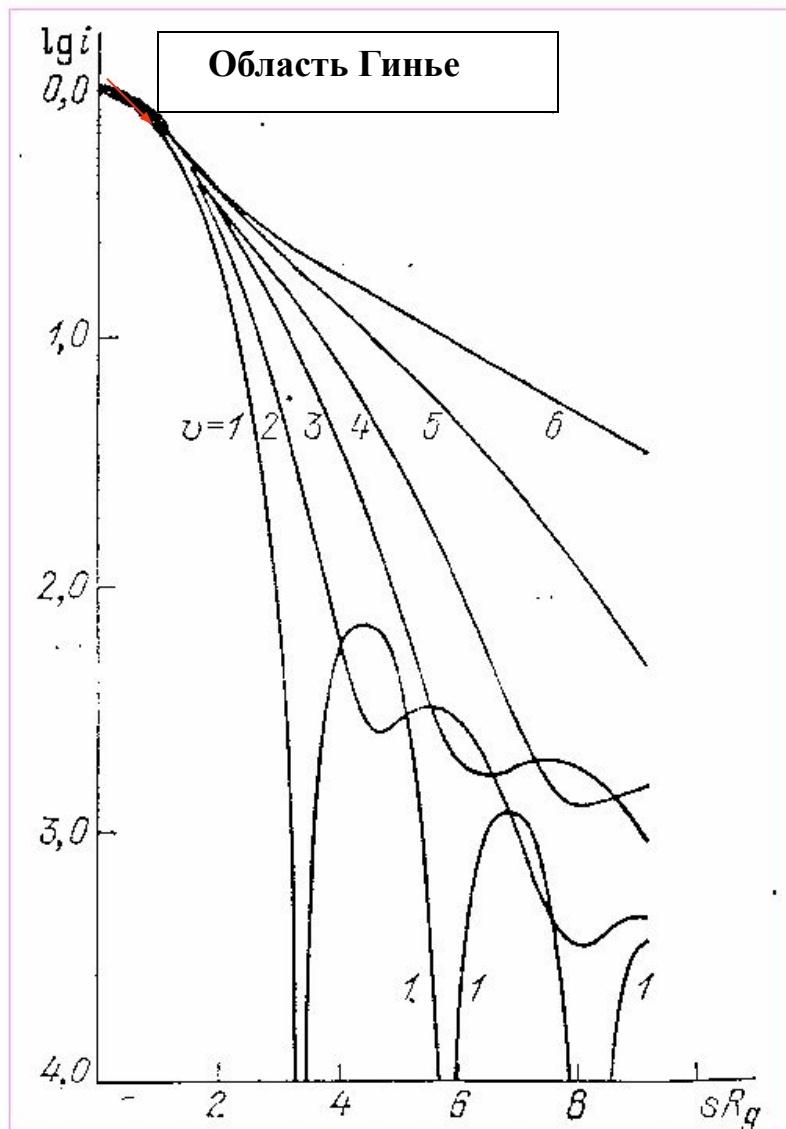
$M=890.000 \text{ Da}$ ,  $D=3.61 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{sec}$ ,  $s=67 \text{ S}$   
 $v=0.51 \text{ cm}^3/\text{g}$ ,  $[\eta]=3.0 \text{ cm}^3/\text{g}$ ,  $R_g=37.3 \text{ \AA}$   
 $\alpha=1.7$ ,  $\gamma_s=3.43$ ,  $\gamma_D=3.38$ .

## 2. 50S E. coli



$M=1.65 \times 10^6 \text{ Da}$ ,  $D=1.87 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{sec}$ ,  $s=50.0 \text{ S}$   
 $v=0.61 \text{ cm}^3/\text{g}$ ,  $[\eta]=3.8 \text{ cm}^3/\text{g}$ ,  $R_g=75.0 \text{ \AA}$   
 $\gamma_s=3.42$ ,  $\gamma_D=3.43$ .

# Форма молекулы из кривой рассеяния



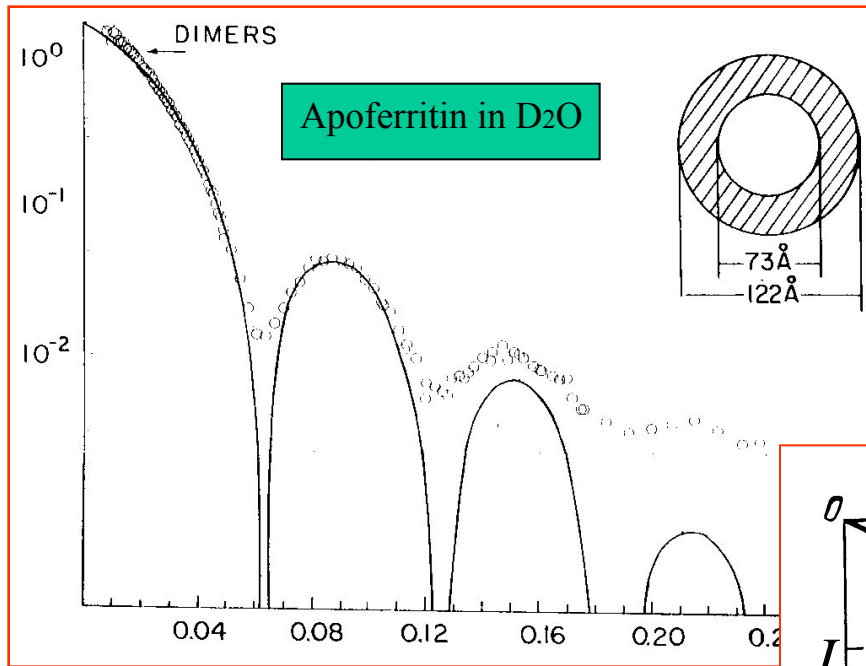
В данном контексте  $s = Q$

Кривые рассеяния для сферы и эллипсоидов с разным соотношением осей ( $v$ ).

Жирным выделена область Гинье, в которой произведение  $QR_G$  порядка 1. В этой “малоугловой” области кривая рассеяния не зависит от формы частиц.

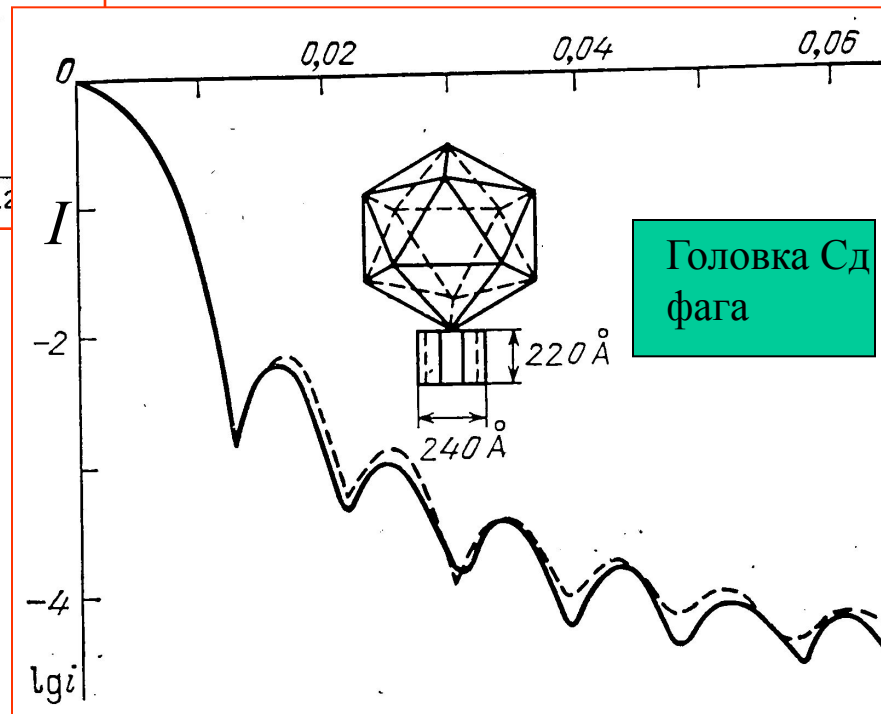
Кривая рассеяния “чувствует” форму частицы вне области Гинье, когда  $QR_G > 2$ .

Для наблюдения за формой частицы, независимо от её абсолютных размеров кривые интенсивности следует строить как функцию  $QR_G$ .



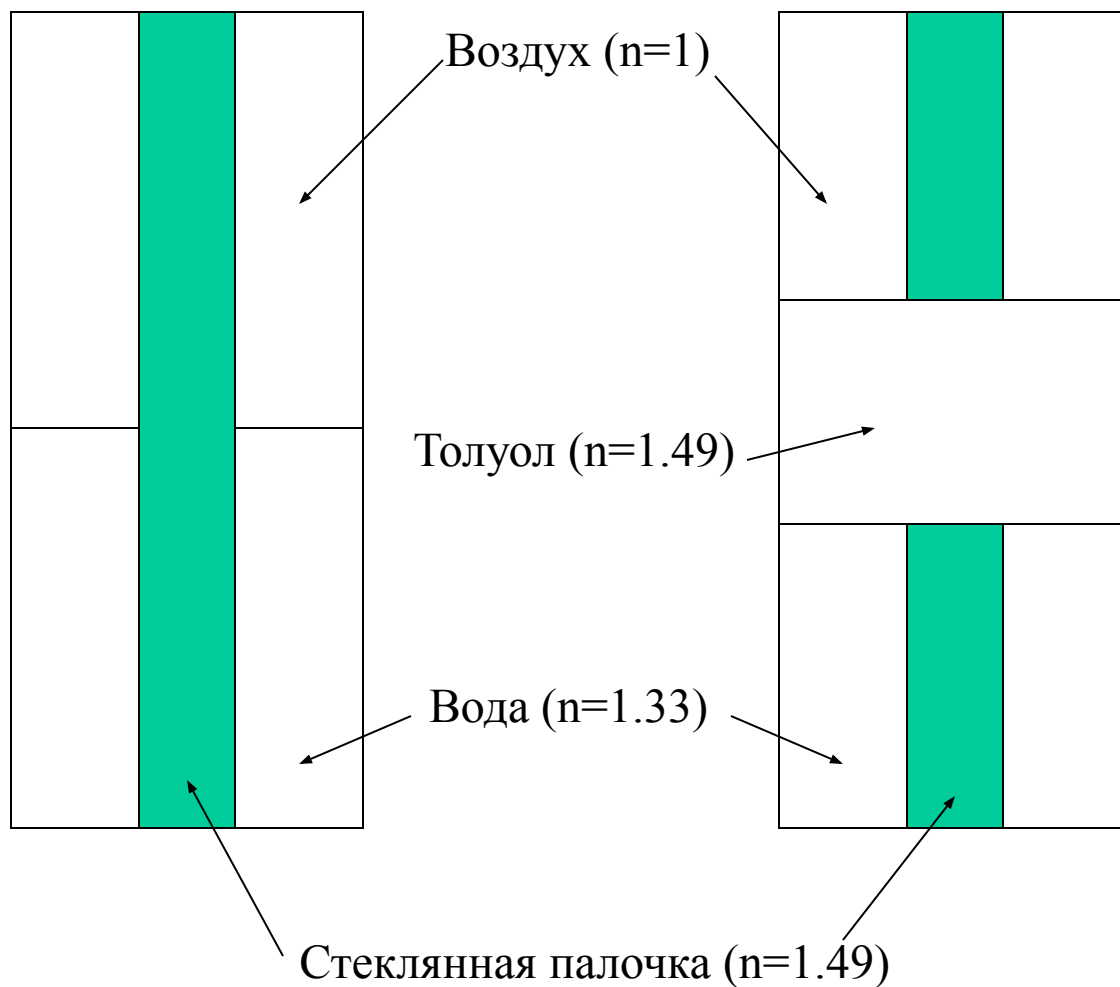
$$Q = \frac{4\pi}{\lambda} \sin \theta$$

$$Q = \frac{4\pi}{\lambda} \sin \theta$$



Примеры кривых рассеяния частицами, форма которых близка к сферической

## Контраст в быту



**ЧТ 02 12**

**ЧТ 02 12**

**ЧТ 02 12**

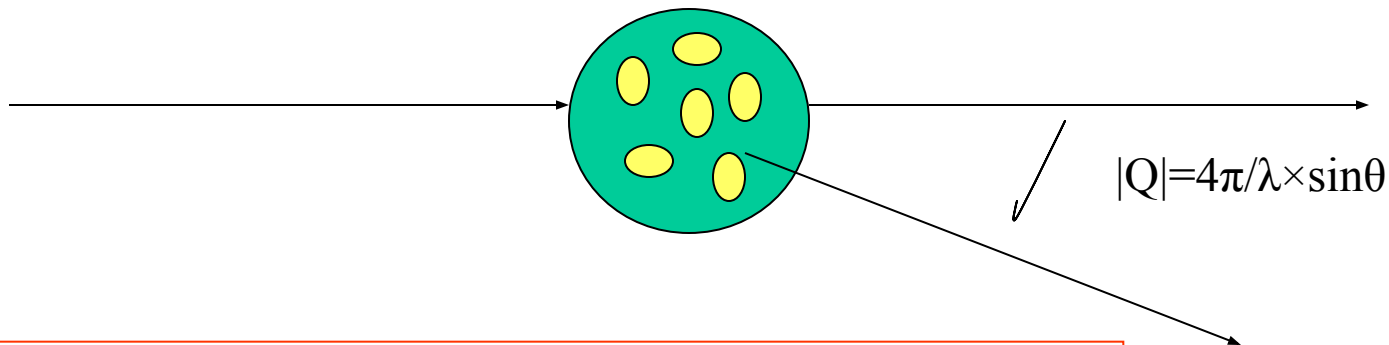
**ЧТ 02 12**

**Номера автомобилей**

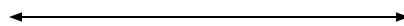
**Книгопечатание**

**Цирковые фокусы**

# Контраст в рассеянии света, рентгеновских лучей и нейтронов



$$I_{\text{раствора}}(Q) - I(Q)_{\text{растворителя}} \approx N(a_{\text{частицы}} - a_{\text{растворителя}})^2 F(Q)$$



контраст

**Контраст в рассеянии  
света**

$$\Delta I \sim (n_1 - n_0)^2$$

На практике не  
может быть  
изменен

**Контраст в рассеянии  
рентгеновских лучей**

$$\Delta I \sim (\bar{\rho}_1 - \bar{\rho}_0)^2$$

На практике достига-  
ется за счет изменения  
свойств растворителя

**Контраст в рассеянии  
нейтронов**

$$\Delta I \sim (\bar{a}_1 - \bar{a}_0)^2$$

На практике достигается как за  
счет изменения свойств раство-  
рителя, так и свойств частицы.

# Контрастирование в малоугловом рассеянии рентгеновских лучей: добавление «электронно-плотных» веществ в растворитель.

$$\Delta I \sim (\bar{\rho}_1 - \bar{\rho}_0)^2$$

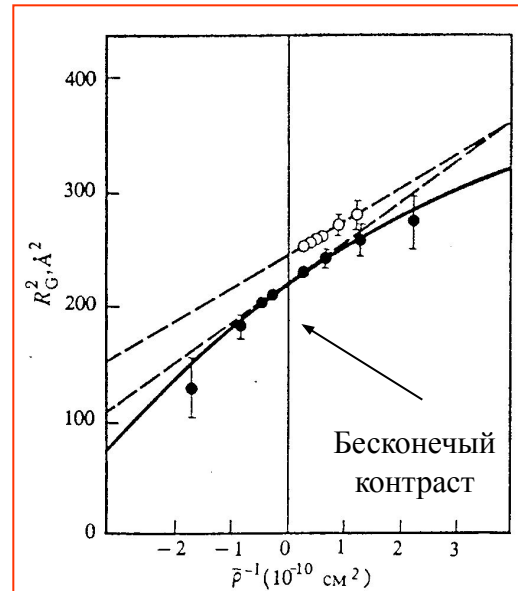
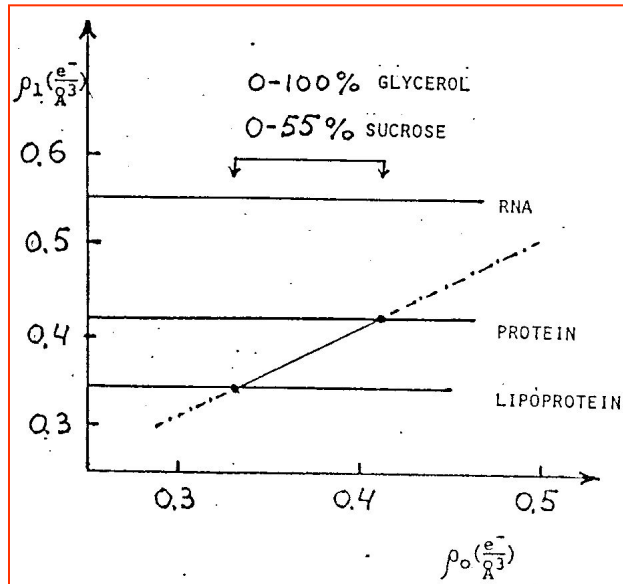
$$\bar{\rho}_0 = \frac{A}{M} N_A d_0$$

$$\bar{\rho}_{H_2O} = \frac{2+8}{18} \times 6.02 \cdot 10^{23} \times 1.0 \cdot 10^{-24} = 0.334 \frac{e}{A^3} = \bar{\rho}_{D_2O}$$

$$\bar{\rho}_{\text{част}} = \frac{A}{M} N_A \frac{1}{\bar{v}_{\text{част}}}$$

$$\bar{\rho}_{\text{белок}} = 0.42 \frac{e}{A^3}$$

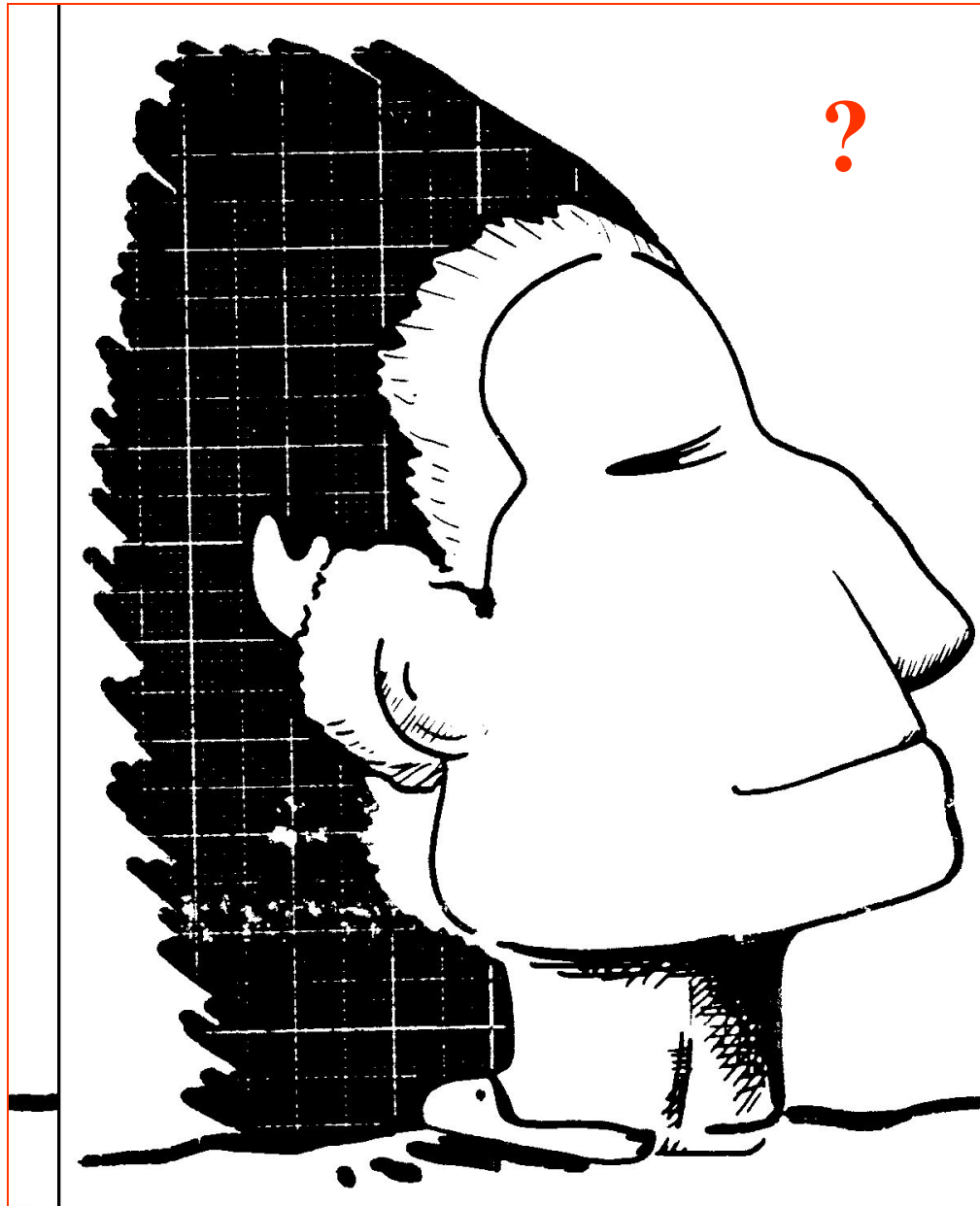
$$\bar{\rho}_{\text{РНК}} = 0.55 \frac{e}{A^3}$$



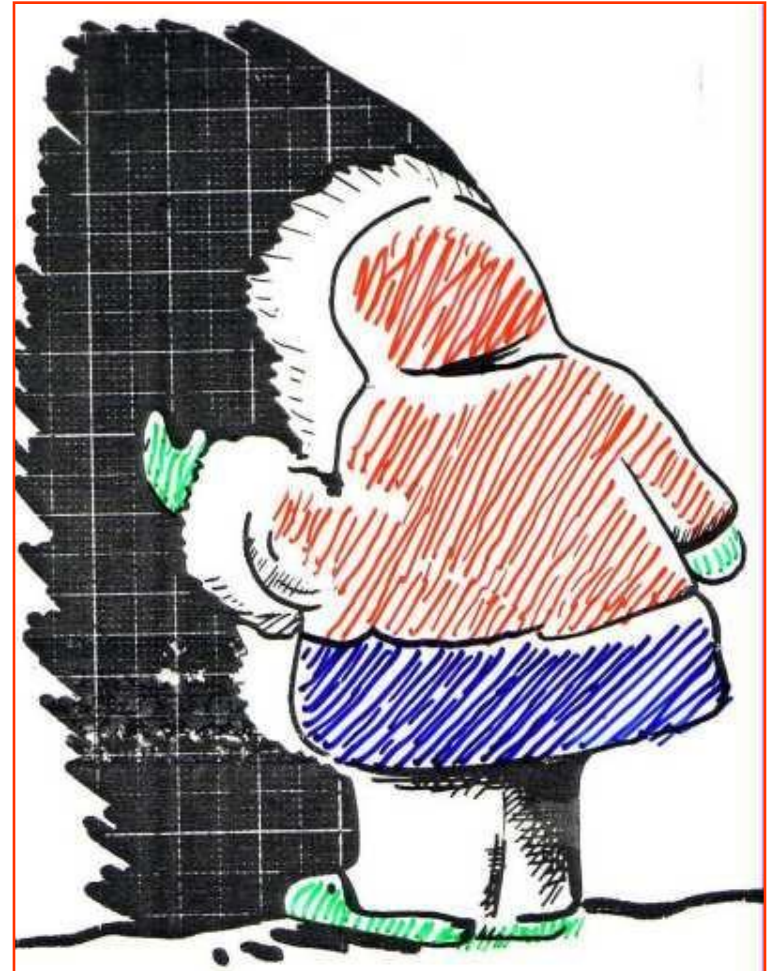
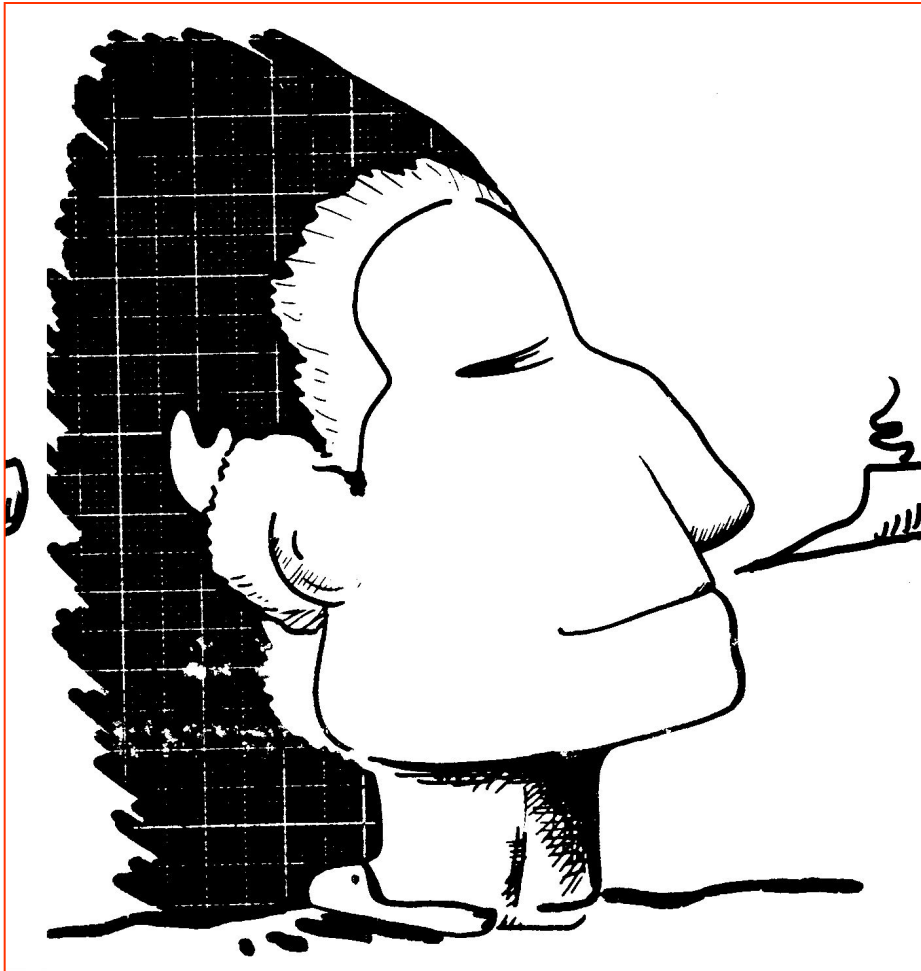
Зависимость квадрата радиуса инерции миоглобина кашалота от обратного контраста (○○○).

Параметр  $\alpha > 0$ , что свидетельствует о наличии в частице гидрофобного ядра и гидрофильной оболочки. Плотность последней больше таковой ядра.

$$R_G^2 = \frac{\sum m_j r_j^2}{\sum m_j}$$







**Контрастирование в малоугловом рассеянии нейтронов**



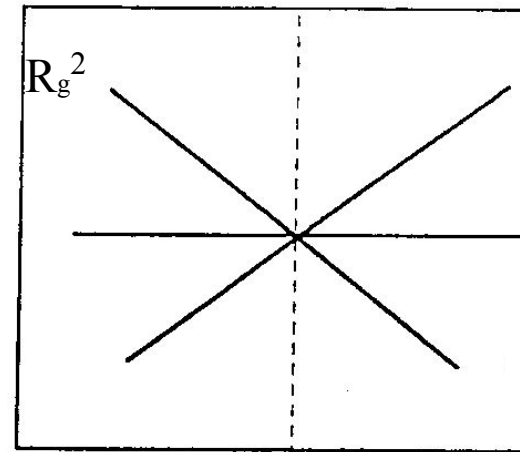
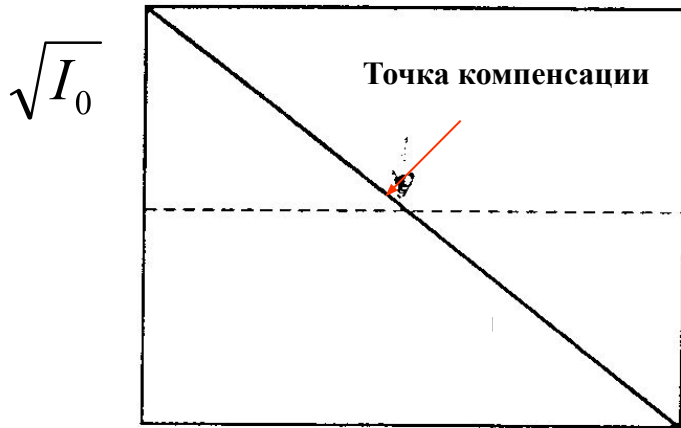
## Вариация контраста в нейтронном рассеянии

1. Изменение рассеивающих свойств растворителя (использование разных  $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$  смесей)
2. Изменение рассеивающих свойств частицы (биосинтетическое дейтерирование)
3. Использование смесей частиц с разными рассеивающими свойствами ( изотопическое замещение на тройном уровне, техника триангуляции)
4. Изменение взаимной ориентации спинов протонов частицы и падающего нейтрона (спин-спиновое взаимодействие)

# Контраст в малоугловом рассеянии

$$I(0) \sim (\bar{a}_1 - \bar{a}_0)^2$$

$$R_g^2 = R_\infty^2 + \frac{\alpha}{\bar{a}_1 - \bar{a}_0} - \frac{\beta}{(\bar{a}_1 - \bar{a}_0)^2}$$



$\alpha < 0, \beta = 0$

$\alpha = 0, \beta = 0$

$\alpha > 0, \beta = 0$

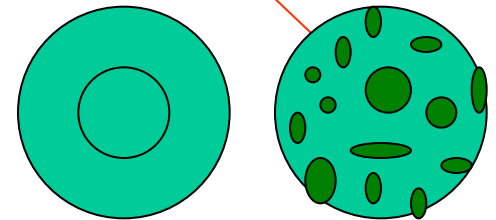
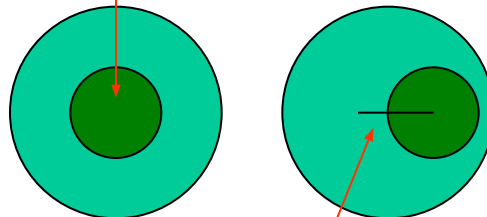
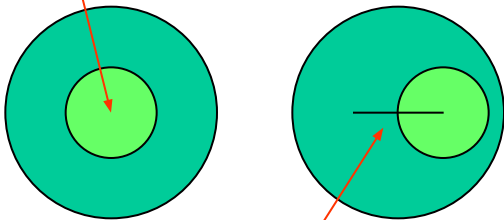
Плотность рассеяния растворителя  $\bar{a}_0$

Обратный контраст  $1/(\bar{a}_1 - \bar{a}_0)$

$\alpha < 0, \beta = 0$  означает, что менее плотная компонента находится в центре частицы

$\alpha > 0, \beta = 0$  означает, что более плотная компонента находится в центре частицы

$\alpha = 0, \beta = 0$  означает, что оба компонента в частице равномерно перемешаны.



Неравенство  $\beta$  нулю означает, что центры тяжести компонент смещены друг относительно

## Вариация контраста методом H<sub>2</sub>O/D<sub>2</sub>O смесей

$$\bar{a}_0 = \frac{\sum a_k b_k}{M} N_A d_0$$

$$\bar{a}_{\text{част}} = \frac{\sum a_k b_k}{M} N_A \frac{1}{\bar{v}_{\text{част}}}$$

$a_H = -3.74 \times 10^{-13}$	$a_D = +6.69 \times 10^{-13}$
$a_N = +9.40 \times 10^{-13}$	$a_O = +5.80 \times 10^{-13}$
$a_P = +5.11 \times 10^{-13}$	$a_C = +6.05 \times 10^{-13}$

$$\bar{a}_{H_2O} = \frac{(-2 \cdot 3.74 + 5.80)}{18} 10^{-13} \cdot 6.02 \cdot 10^{23} \cdot 1.00 \cdot 10^{-24} = -0.56 \cdot 10^{-14} \text{ cm} / A^3$$

$$\bar{a}_{D_2O} = \frac{(+2 \cdot 6.69 + 5.80)}{20} 10^{-13} \cdot 6.02 \cdot 10^{23} \cdot 1.10 \cdot 10^{-24} = +6.38 \cdot 10^{-14} \text{ cm} / A^3$$

$$\bar{a}_{H_2O/D_2O} = -0.56 + 6.94Y$$

$$\bar{a}_{\text{белок}}(H_2O) = +1.72 \cdot 10^{-14} \text{ cm} / A^3$$

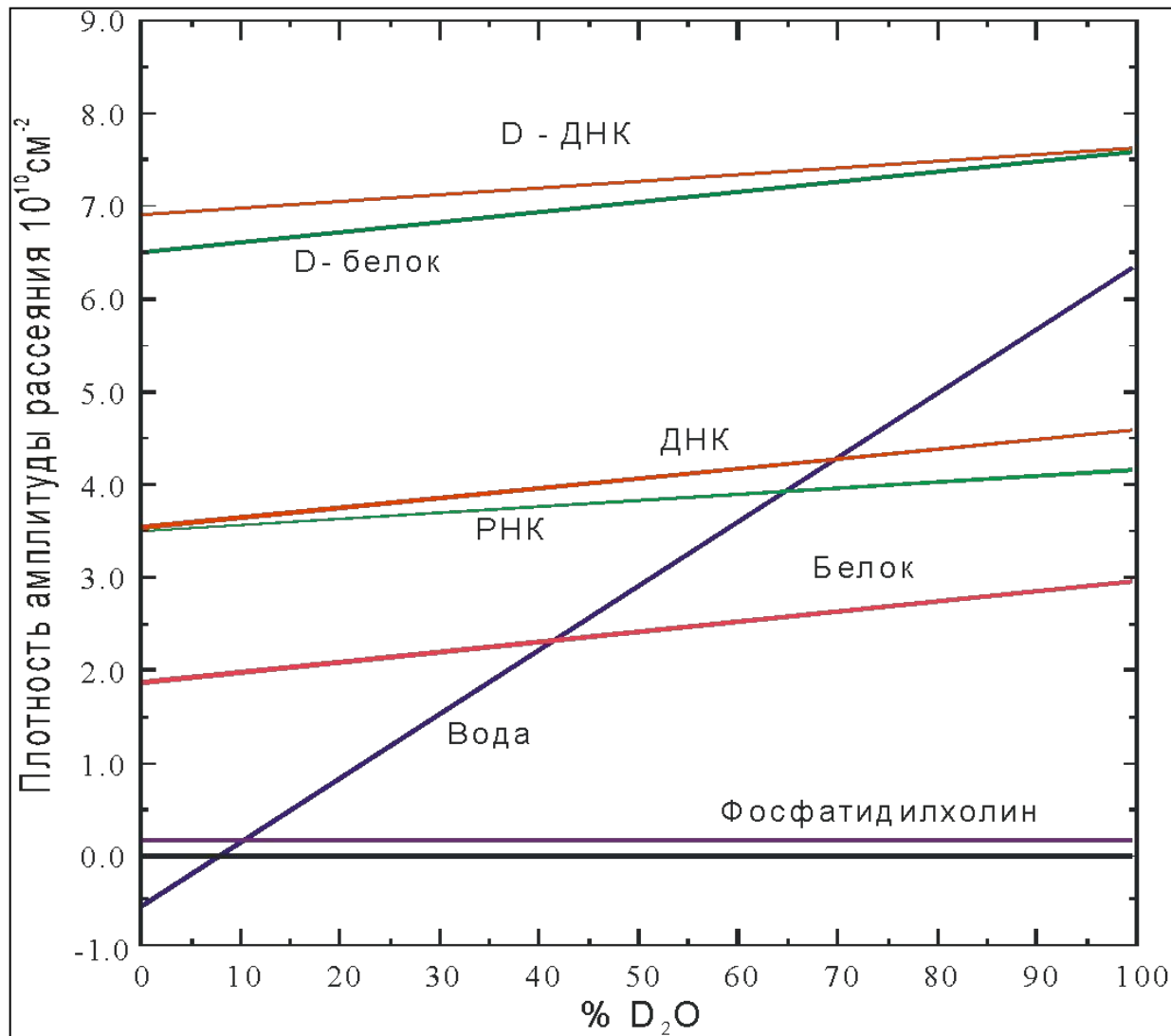
$$\bar{a}_{\text{белок}}(D_2O) = +2.94 \cdot 10^{-14} \text{ cm} / A^3$$

$$\bar{a}_{\text{белок}} = 1.72 + 1.22Y$$

$$\bar{a}_{\text{РНК}}(H_2O) = +3.73 \cdot 10^{-14} \text{ cm} / A^3$$

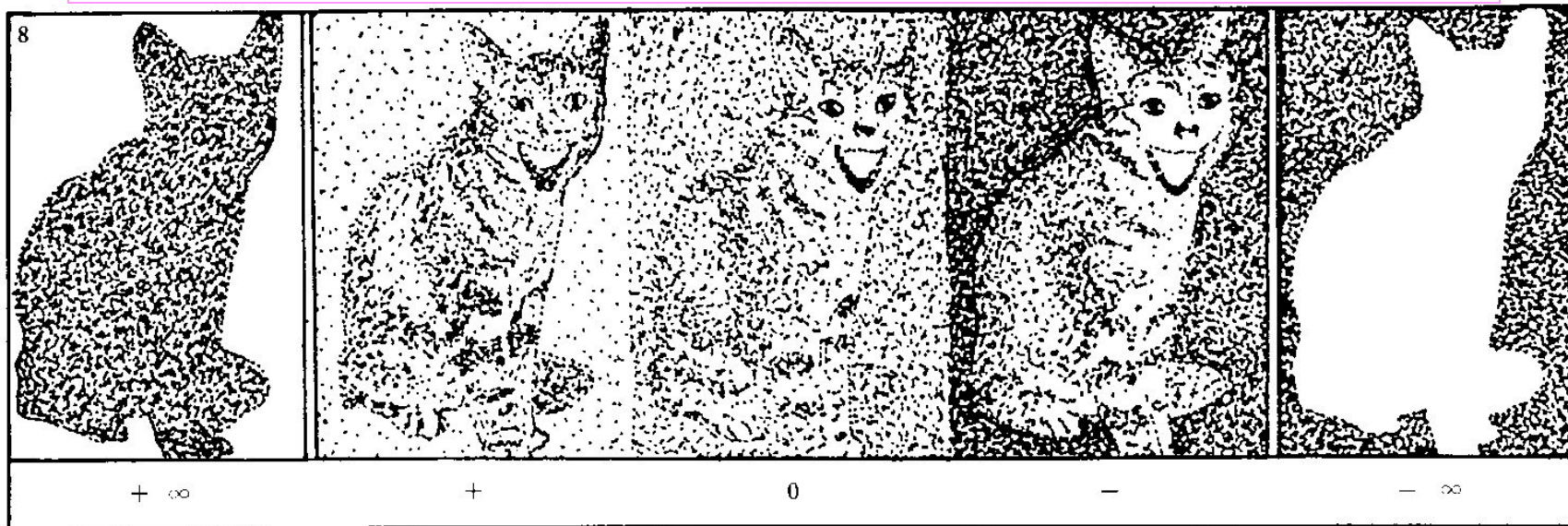
$$\bar{a}_{\text{РНК}}(D_2O) = +4.60 \cdot 10^{-14} \text{ cm} / A^3$$

$$\bar{a}_{\text{РНК}} = 3.73 + 0.87Y$$



Плотность амплитуды нейтронного рассеяния биологических частиц как функция процентного содержания тяжёлой воды в смеси  
 Наклон каждой прямой связан с дейтерообменом

# Кошка Штурмана



Белок и РНК в  $H_2O$

Белок в 40%  $D_2O$   
РНК в 70%  $D_2O$

Белок и РНК в  $D_2O$

- При бесконечном отрицательном или положительном контрасте проявляется форма частицы
- При малом контрасте проявляется внутренняя структура

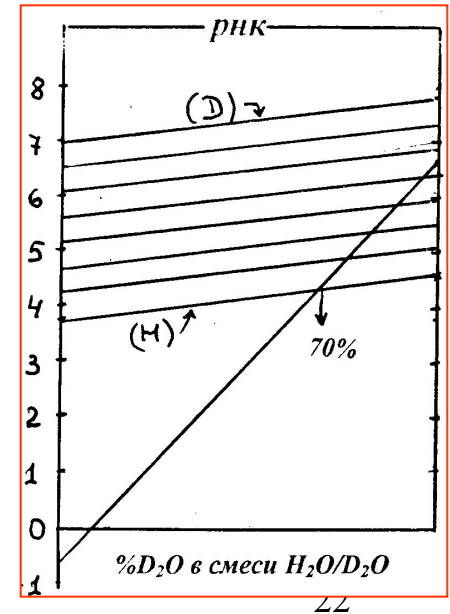
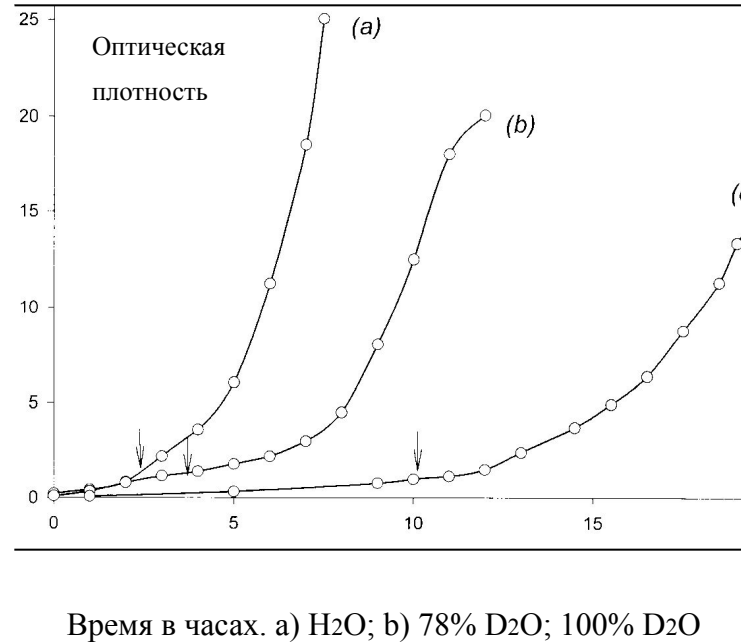
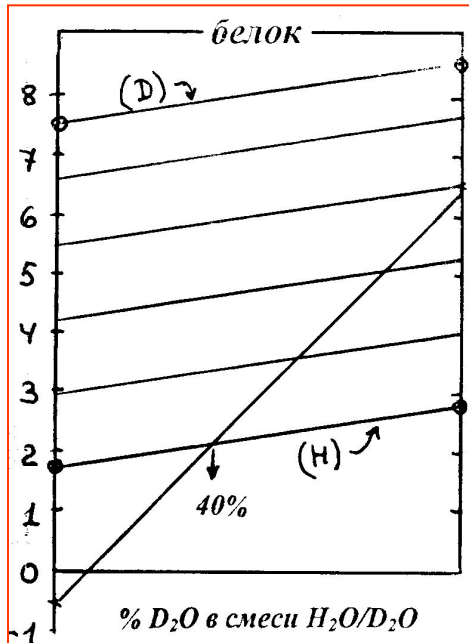
# Вариация контраста за счет рассеивающих свойств среды: биосинтетическое дейтерирование

(H)-белок в H <sub>2</sub> O	$\bar{a} = 1.72 \cdot 10^{-14} \text{ см} / \text{Å}^3$	(H)-РНК в H <sub>2</sub> O	$\bar{a} = 3.73 \cdot 10^{-14} \text{ см} / \text{Å}^3$
(H)-белок в D <sub>2</sub> O	$\bar{a} = 2.94 \cdot 10^{-14} \text{ см} / \text{Å}^3$	(H)-РНК в D <sub>2</sub> O	$\bar{a} = 4.60 \cdot 10^{-14} \text{ см} / \text{Å}^3$
(D)-белок в D <sub>2</sub> O	$\bar{a} = 8.44 \cdot 10^{-14} \text{ см} / \text{Å}^3$	(D)-РНК в D <sub>2</sub> O	$\bar{a} = 7.80 \cdot 10^{-14} \text{ см} / \text{Å}^3$

$$\bar{a}_{\text{белок}} = 1.72 + 1.22Y + 5.50S$$

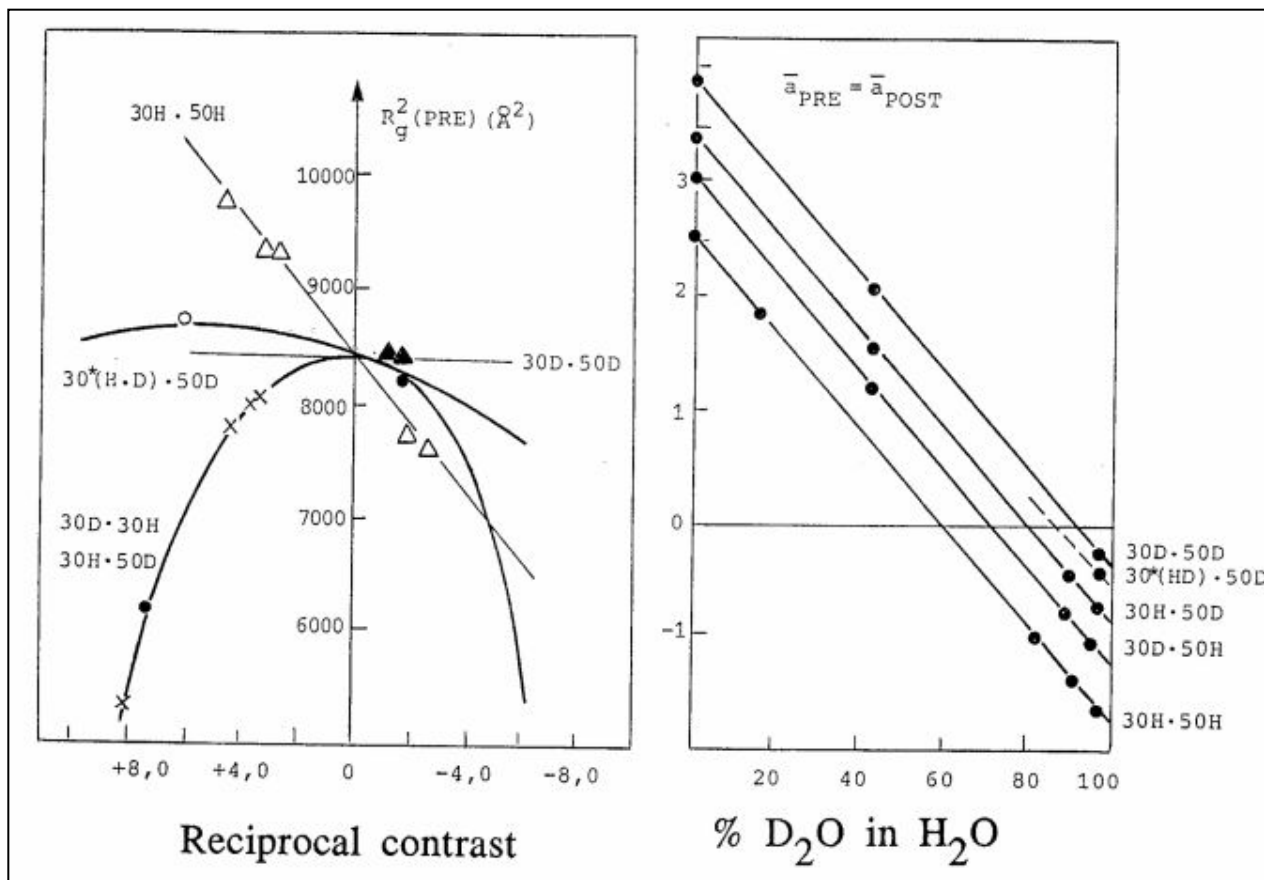
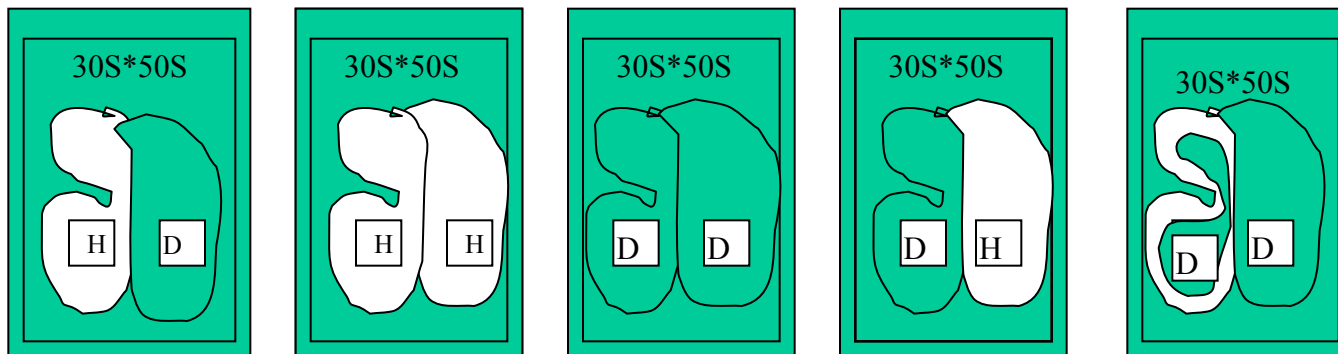
$$\bar{a}_{\text{РНК}} = 3.73 + 0.87Y + 3.20S$$

где  $Y$ -доля D<sub>2</sub>O в смеси H<sub>2</sub>O/D<sub>2</sub>O,  $S$ - доля D<sub>2</sub>O в среде выращивания



# Рибосома в пре- и пост-транслоцированном состоянии

Растворитель 91% D<sub>2</sub>O





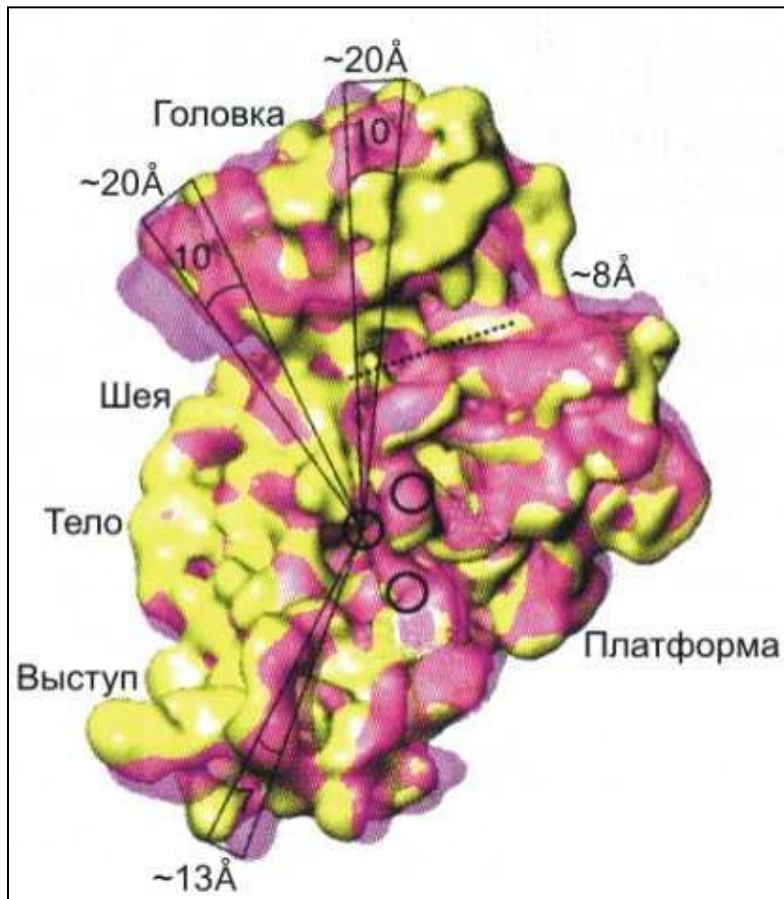
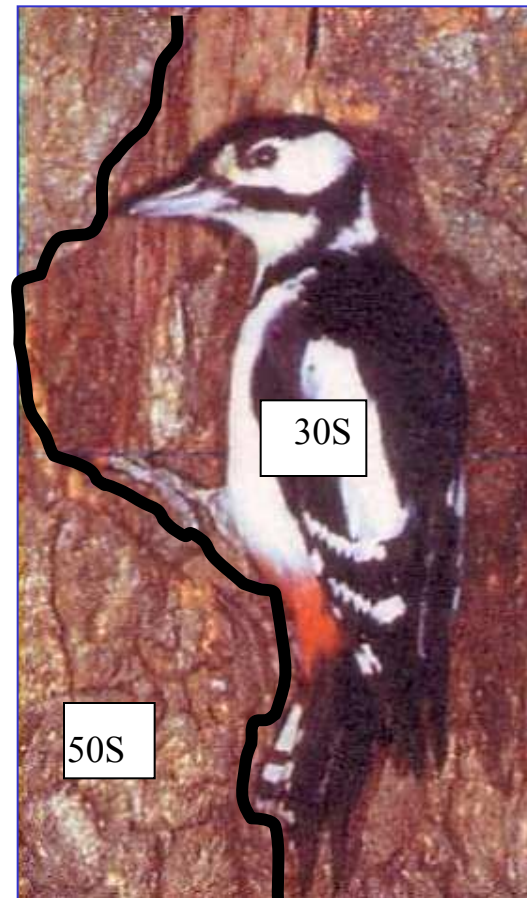


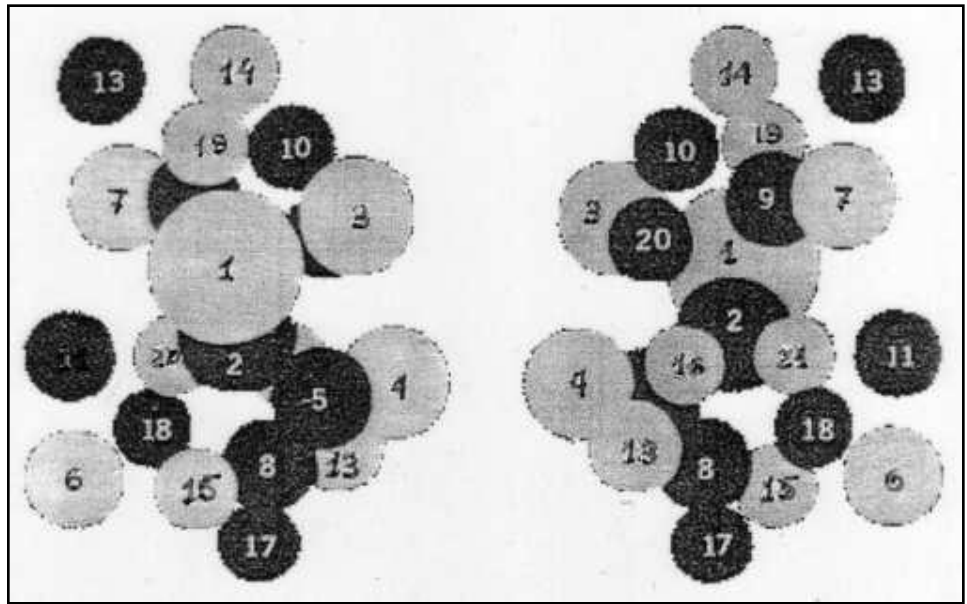
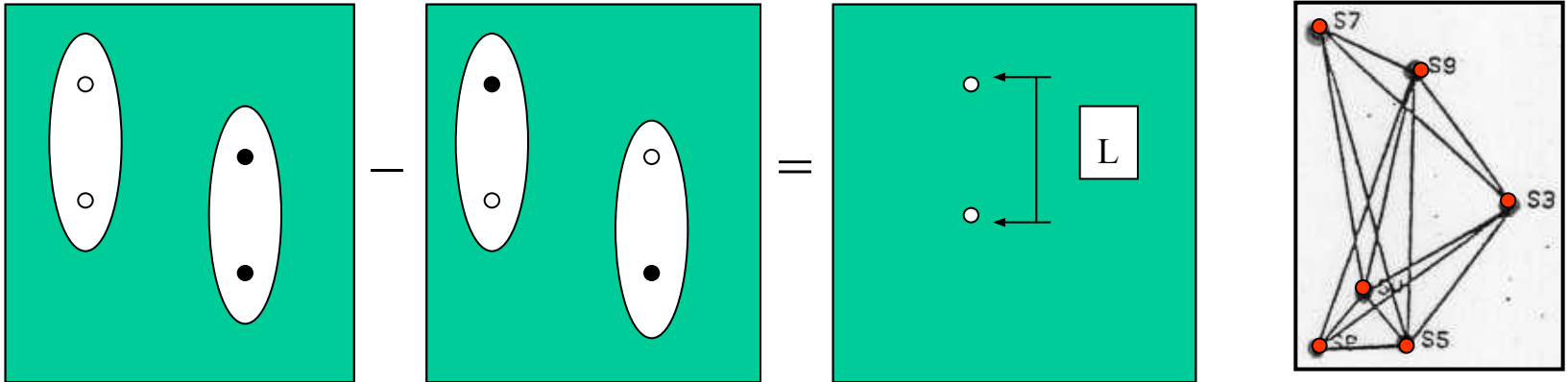
Рис. Ж2.14 Положение 30S субъединицы до взаимодействия с элонгационным фактором (полупрозрачный розовый) и после (желтый)(Valle *et al.*, 2003)



У большого пестрого дятла трель идет со скоростью 20-27 ударов в секунду.  
У малого пестрого дятла - 50 ударов в секунду (Энциклопедия) 24

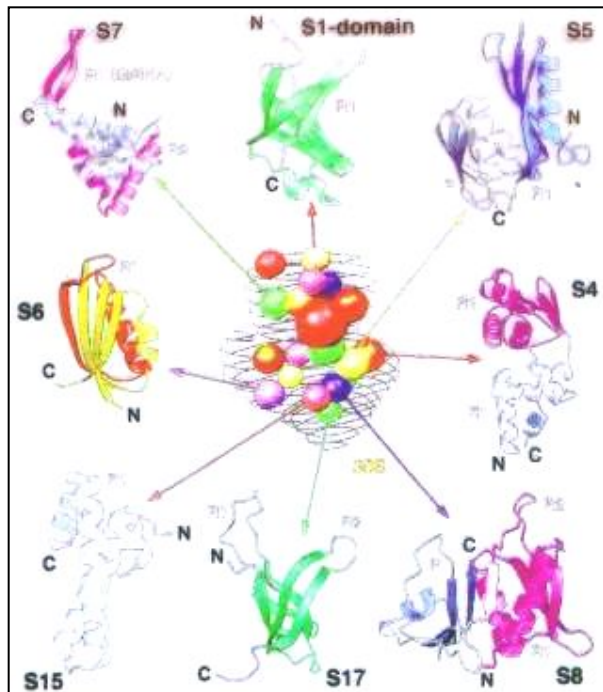


Техника триангуляции (W. Hoppe and P. Moore)

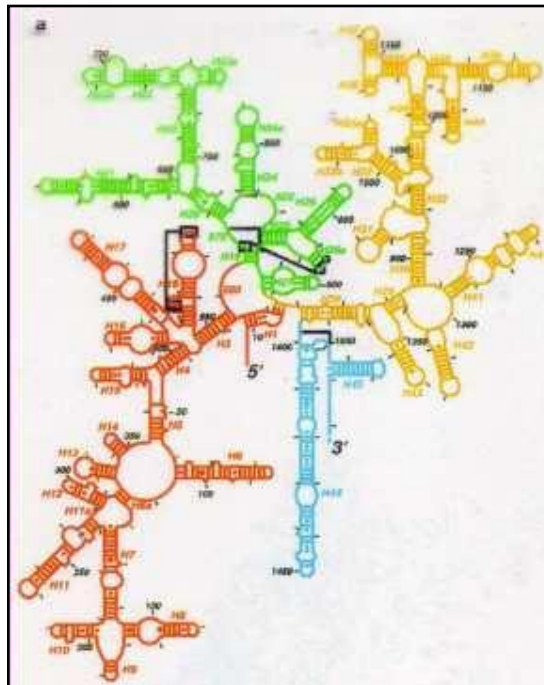


Пространственное расположение 21 белков в 30S рибосомной субчастице

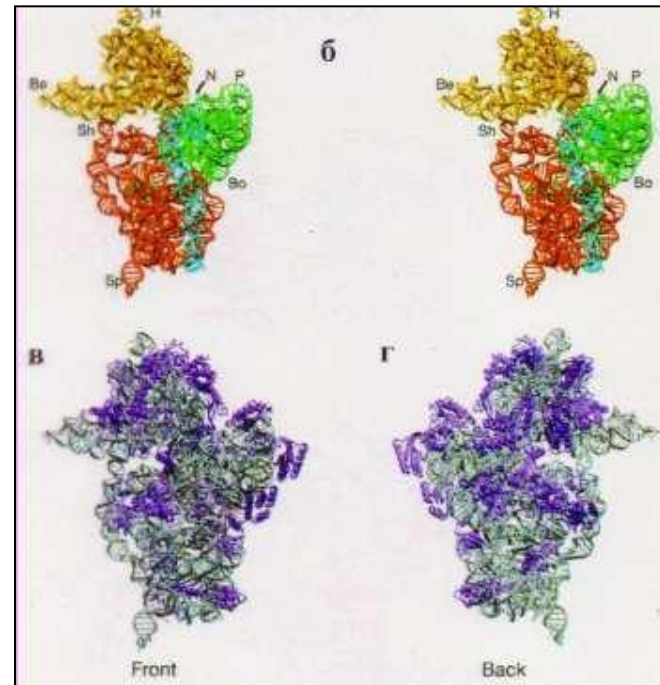
## Структура 30S рибосомной субчастицы *T. thermophilus*



Структура некоторых рибосомных белков 30S субчастицы *T. Th.*, полученная методом ЯМР.



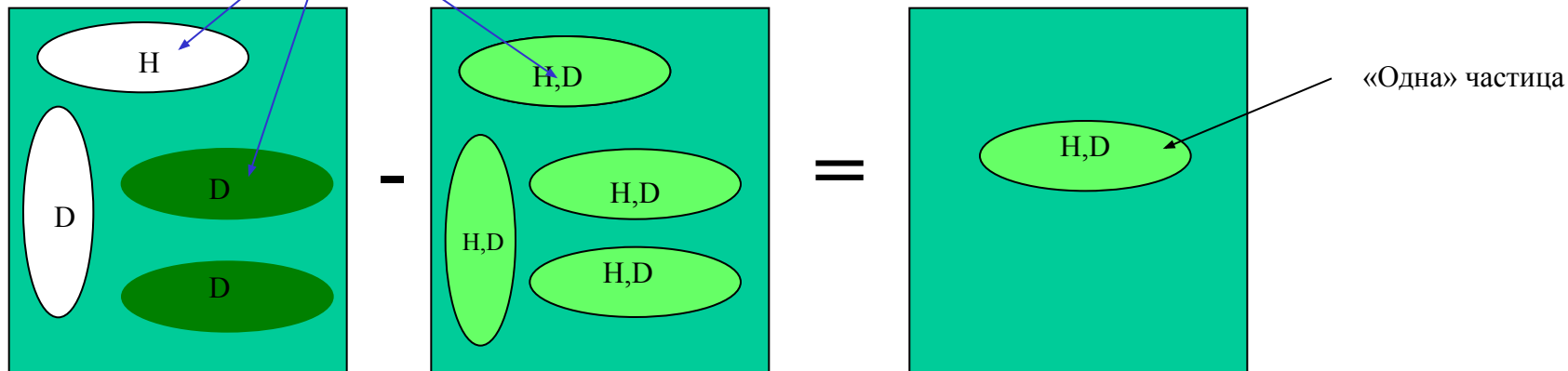
Вторичная структура 16S РНК и ее три домена: 5'-домен (красный), центральный домен (зеленый) и 3'- домен (желтый) и 3' малый домен (голубой)



Рентгеновская структура 30S рибосомной частицы *T. th.* с разрешением 3Å. Вверху - стерео изображение третичной структуры. Внизу – фронтальная и обратная сторона 30S субчастицы. Серым цветом окрашена РНК, сиреневым цветом - белки

# Использование смесей частиц разной степени дейтерированности

Метод тройного изотопического замещения (М. Павлов и И. Сердюк)

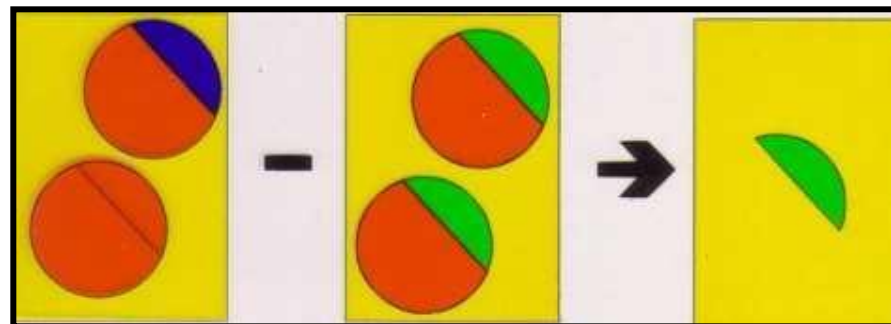
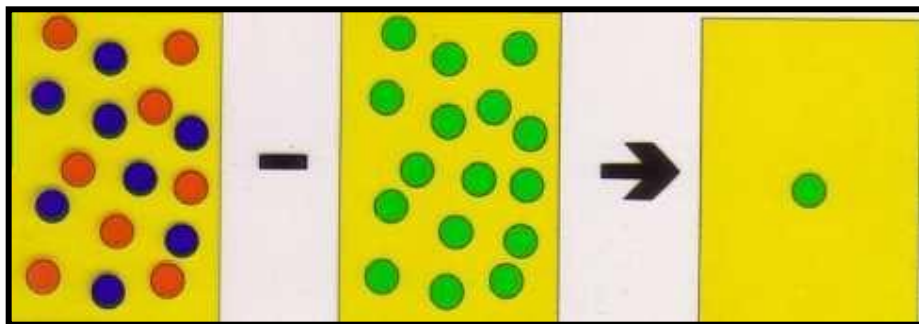


Раствор 1

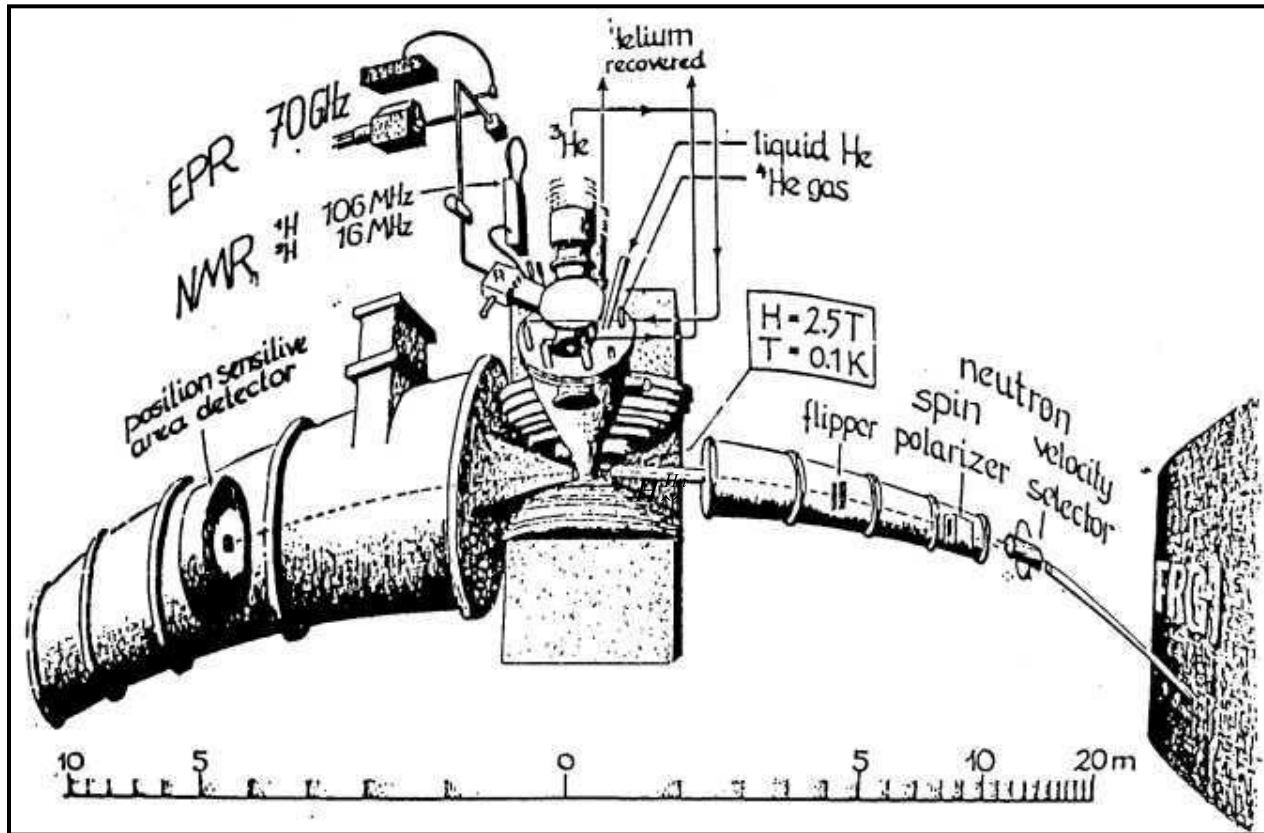
Раствор 2

Разность двух растворов

$$I_1(Q) - I_2(Q) = N\delta(1-\delta)(a_H - a_D)^2 F(Q)$$



Изменение взаимной ориентации спинов протонов частицы и падающего нейтрона (спин-спиновое взаимодействие) (Х. Штурманн)



Неполяризованное рассеяние

Поляризованное рассеяние

H (-0.374)    D (+0.667)

$H_{\uparrow\downarrow}^{Hn}$  (+1.082)     $H_{\uparrow\uparrow}^{Hn}$  (-1.83)