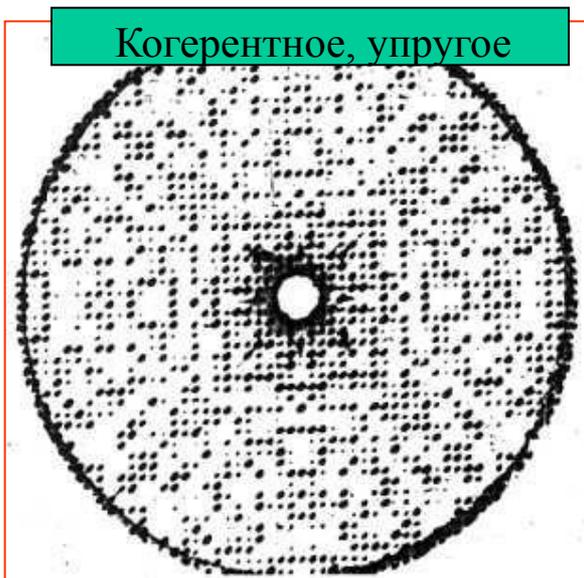


Общие положения малоугловой дифракции

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

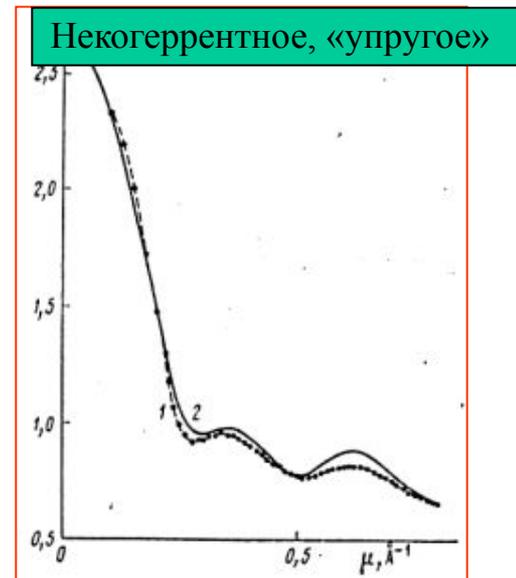
Картина рассеяния от объекта в кристаллическом состоянии (кристалл)



Картина рассеяния от объекта в частично упорядоченном состоянии (волокно)

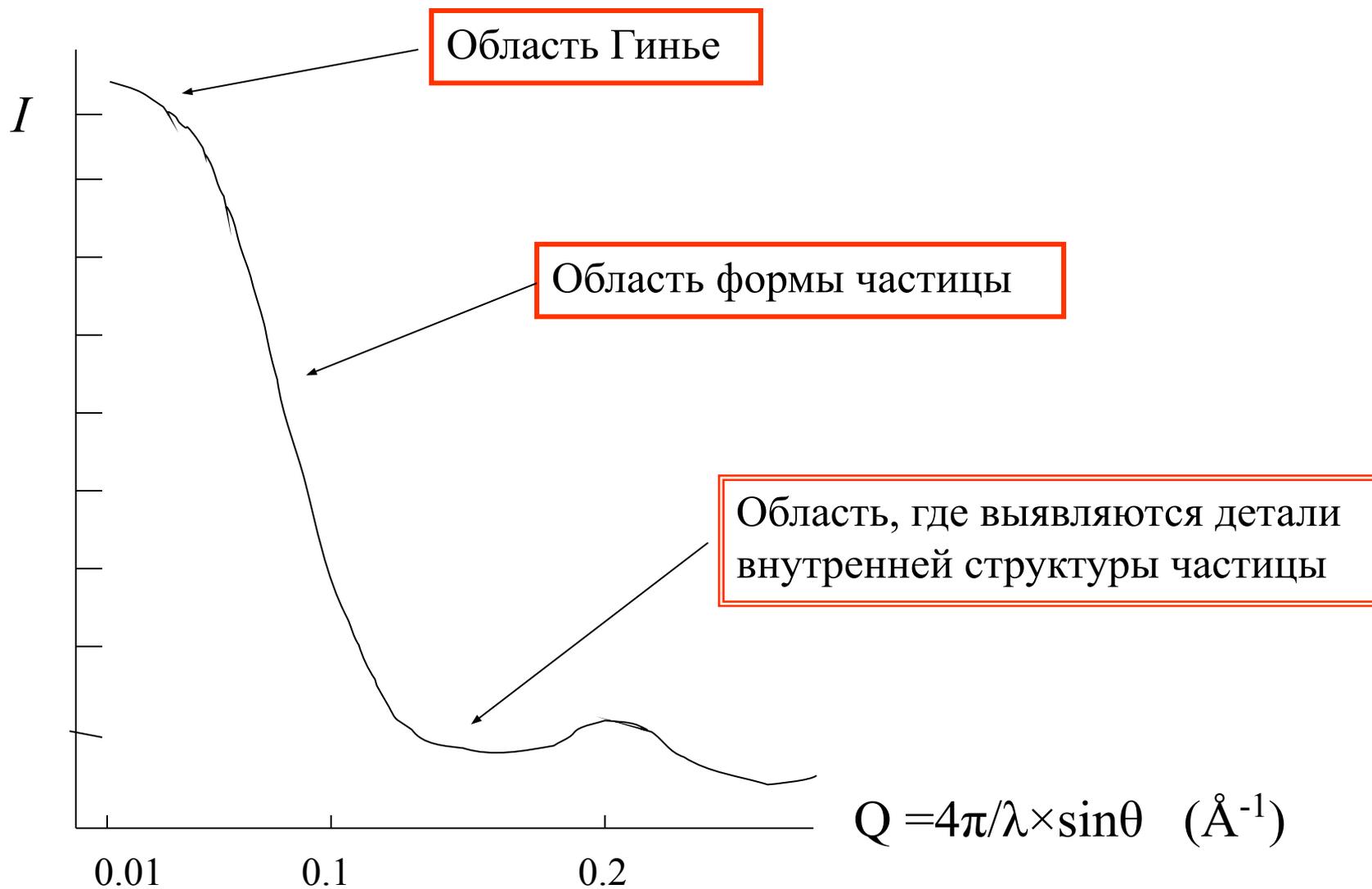


Картина рассеяния от объекта в неупорядоченном состоянии (раствор)



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

Общий вид кривой в малоугловом рассеянии



Аппроксимация Гинье

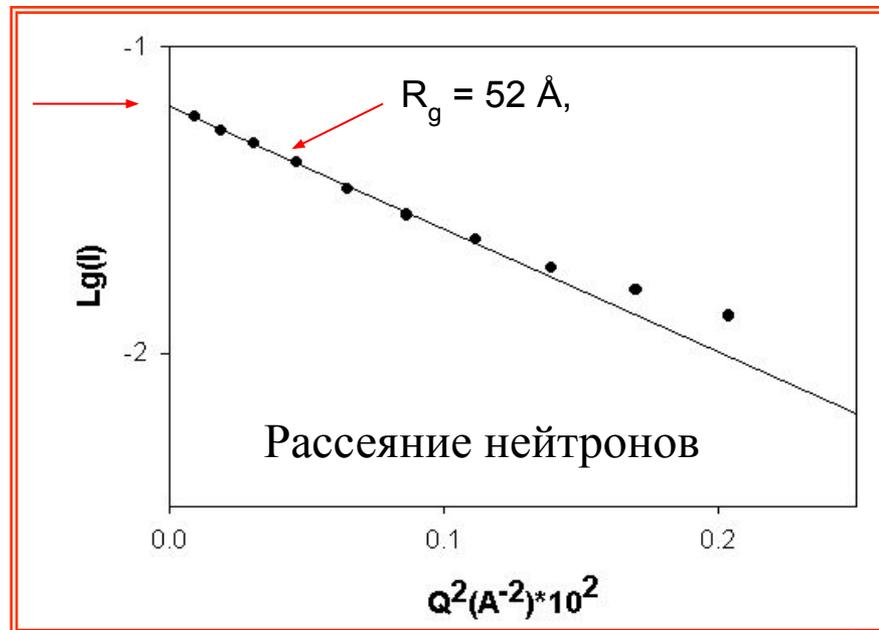
В 1939 году А. Гинье показал, что в области малых углов интенсивность рассеяния может быть представлена экспоненциальной функцией

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

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

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

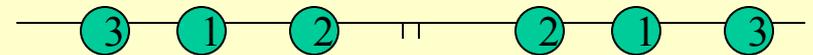
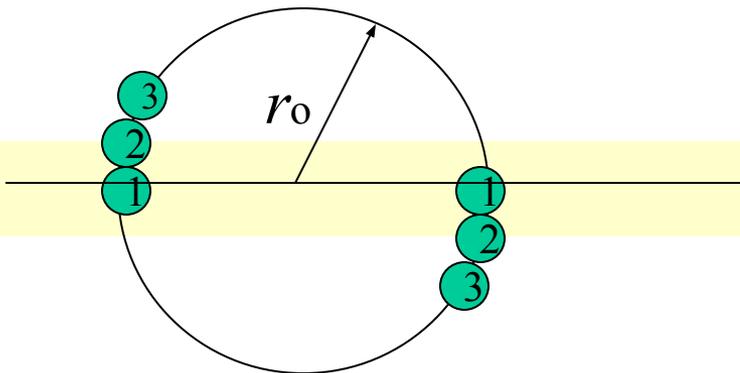
- **Свойство 1.** Радиус инерции **однородной** частицы не зависит от ее плотности.
- **Свойство 2.** Радиус инерции **однородной** сферической частицы связан с ее радиусом r_0

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

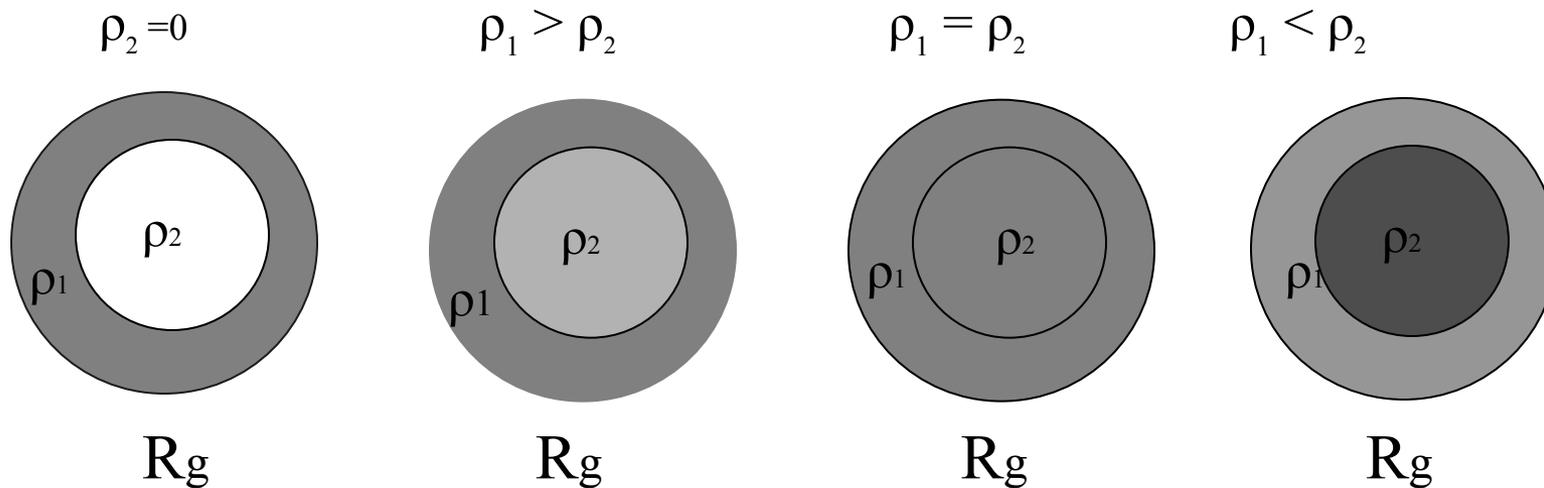
- **Свойство 3.** Радиус инерции двух сферических частиц зависит от расстояния между ними L

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

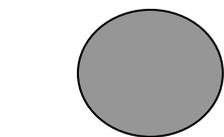
- **Свойство 4.** Радиус инерции совокупности сферических частиц зависит от их распределения в пространстве



- **Свойство 5.** Радиус инерции **неоднородной** частицы зависит от распределения «рассеивающей плотности» внутри нее. Для двухкомпонентной частицы с «рассеивающими плотностями» ρ_1 и ρ_2



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



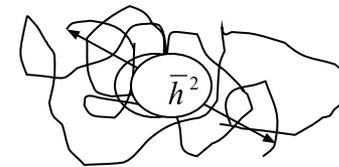
$$R_g^2 = 3/5 r_0^2$$



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

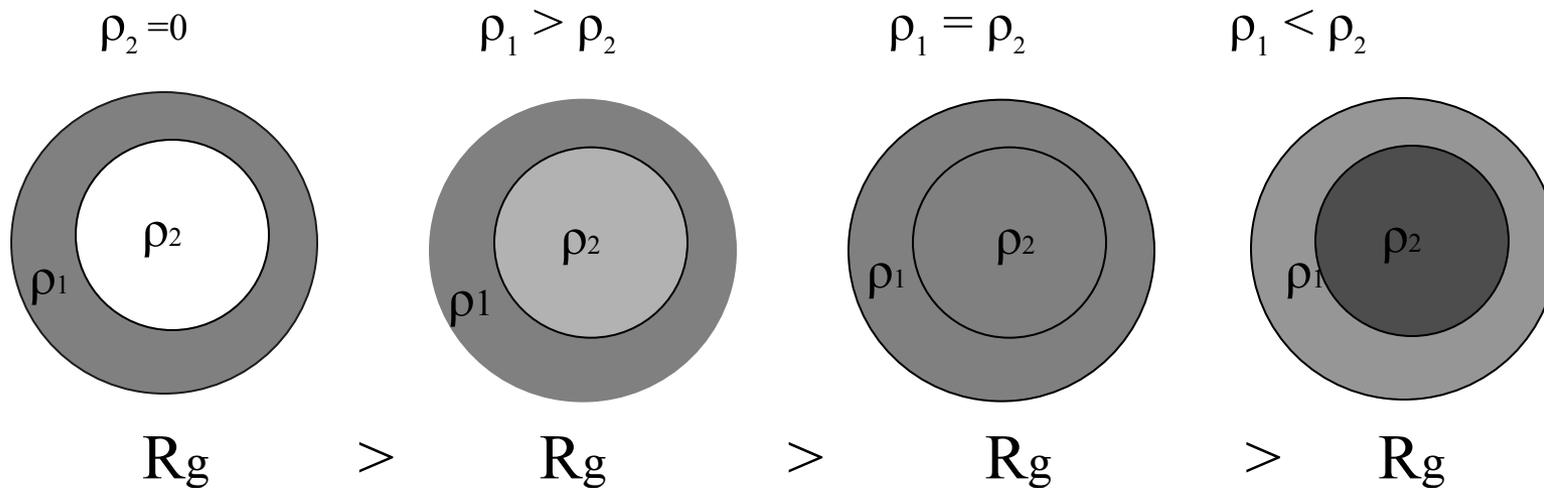


$$R_g^2 = L^2 / 12$$

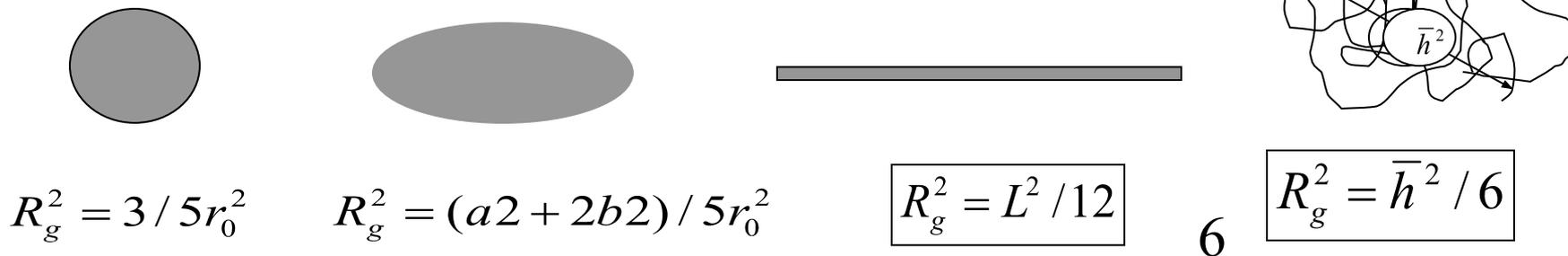


$$R_g^2 = \bar{h}^2 / 6$$

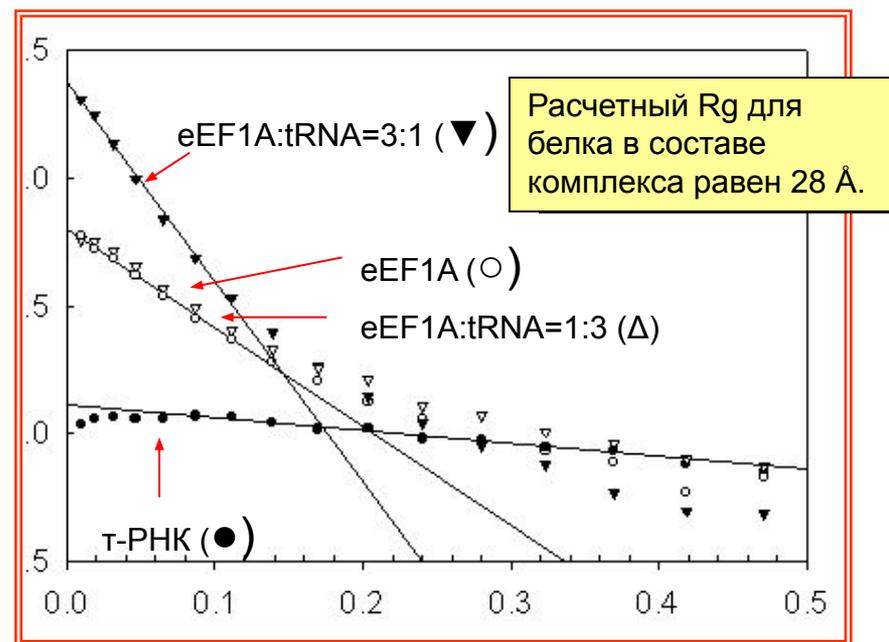
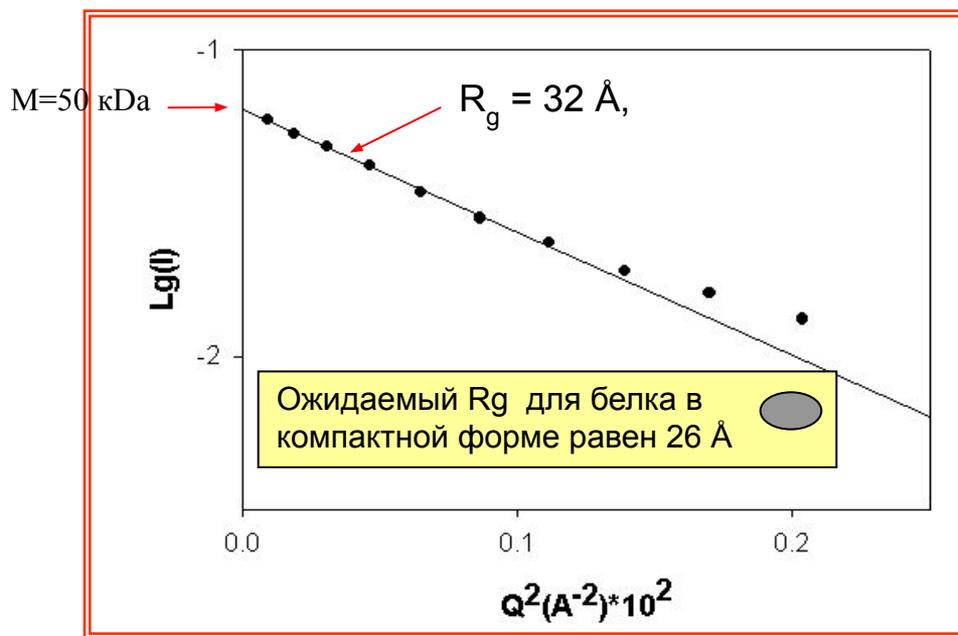
- **Свойство 5.** Радиус инерции неоднородной частицы зависит от распределения «рассеивающей плотности» внутри нее. Для двухкомпонентной частицы с «рассеивающими плотностями» ρ_1 и ρ_2



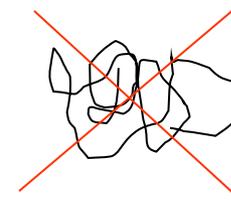
- **Свойство 6.** Для частиц простой формы радиус инерции связан с их геометрическими размерами следующим образом



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

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

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

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

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

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

Радиус инерции и характеристическая вязкость

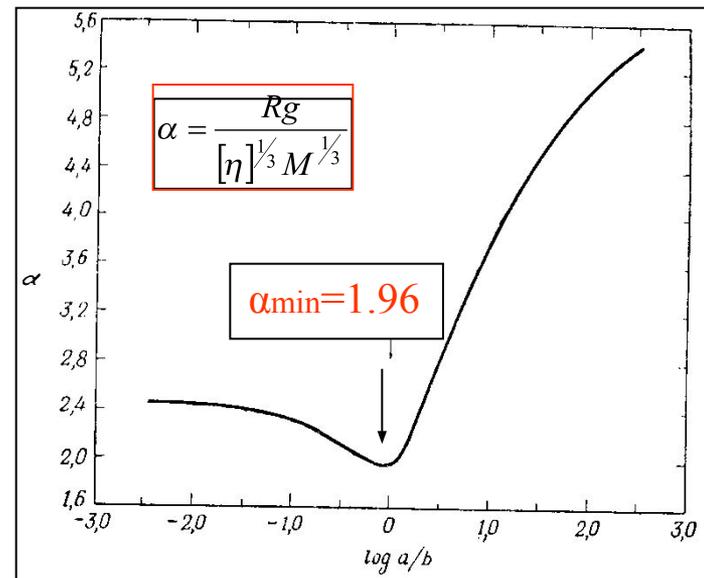
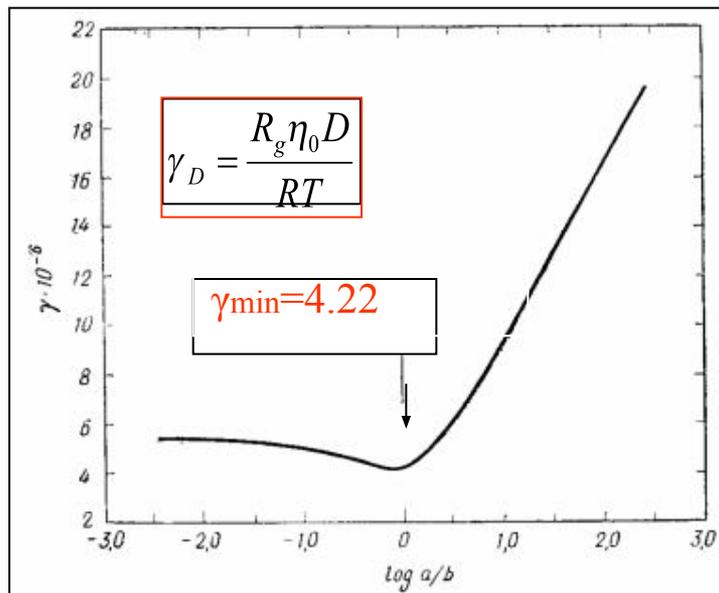
$$R_g^2 = \frac{a^2 + 2b^2}{5}$$

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

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

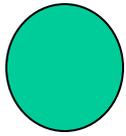
$$\alpha = \frac{Rg}{[\eta]^{1/3} M^{1/3}}$$

Функции γ и α могут быть рассчитаны теоретически и определены экспериментально

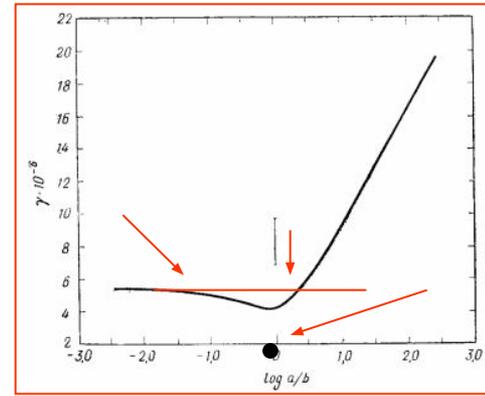


Примеры использования функций α и γ

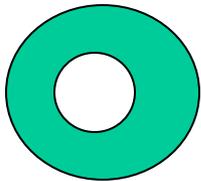
1. Миоглобин



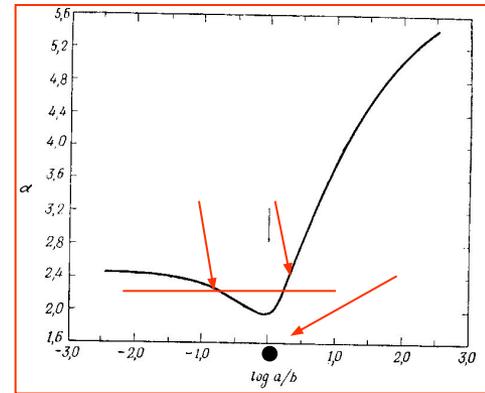
$M=17.836 \text{ Da}$, $D=10.8 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{sec}$, $s=2.08 \text{ S}$
 $v=0.741 \text{ cm}^3/\text{g}$, $[\eta]=3.1 \text{ cm}^3/\text{g}$, $R_g=15.8 \text{ \AA}$
 $\alpha=2.00$, $\gamma_s=4.28$, $\gamma_D=4.32$, $p=1.6$, $1/p=2.0$



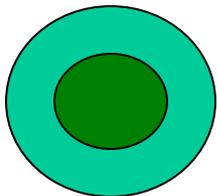
2. Апоферритин



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

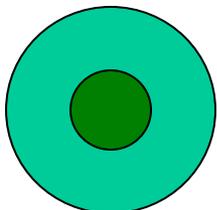


1. Ферритин



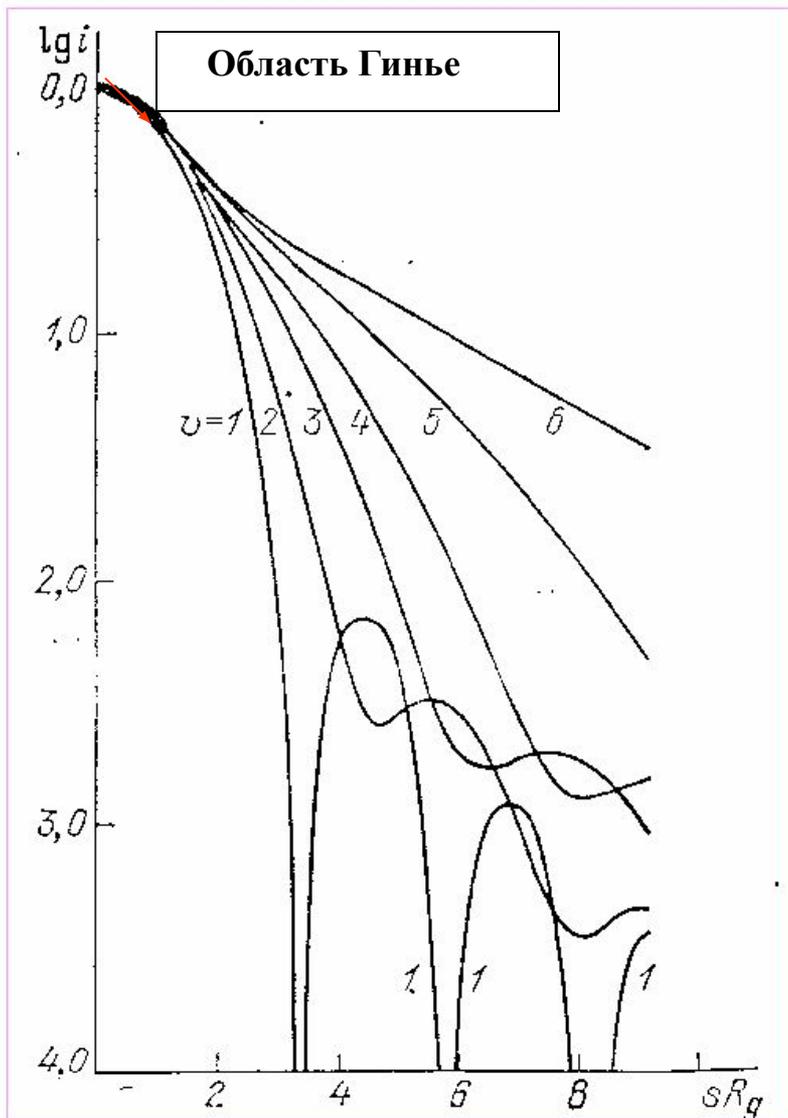
$M=890.000 \text{ Da}$, $D=3.61 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{sec}$, $s=67 \text{ S}$
 $v=0.51 \text{ cm}^3/\text{g}$, $[\eta]=3.0 \text{ cm}^3/\text{g}$, $R_g=37.3 \text{ \AA}$
 $\alpha=1.7$, $\gamma_s=3.43$, $\gamma_D=3.38$.

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 $s = Q$

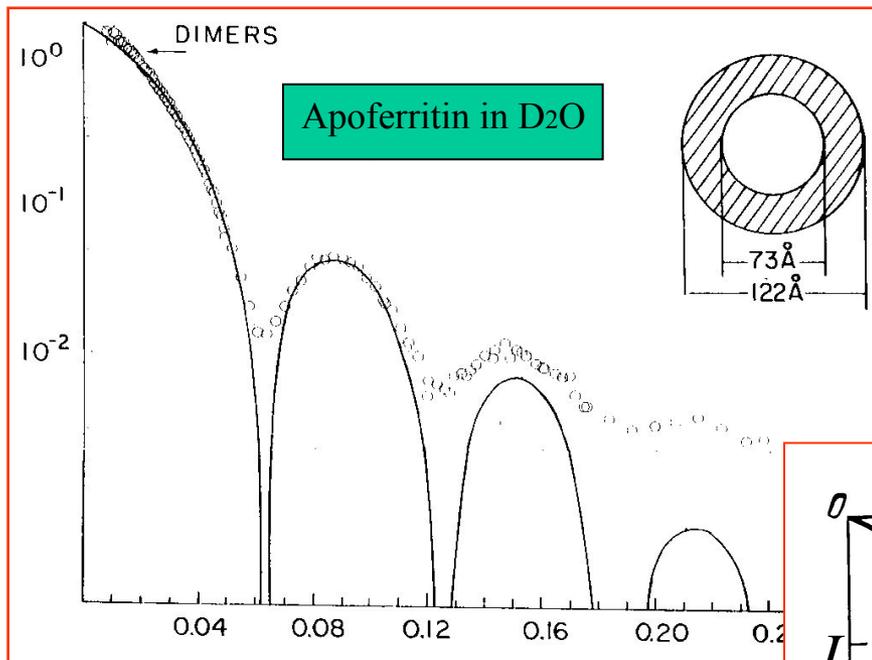
Кривые рассеяния для сферы и эллипсоидов с разным соотношением осей (v).

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 $QR_G > 2$.

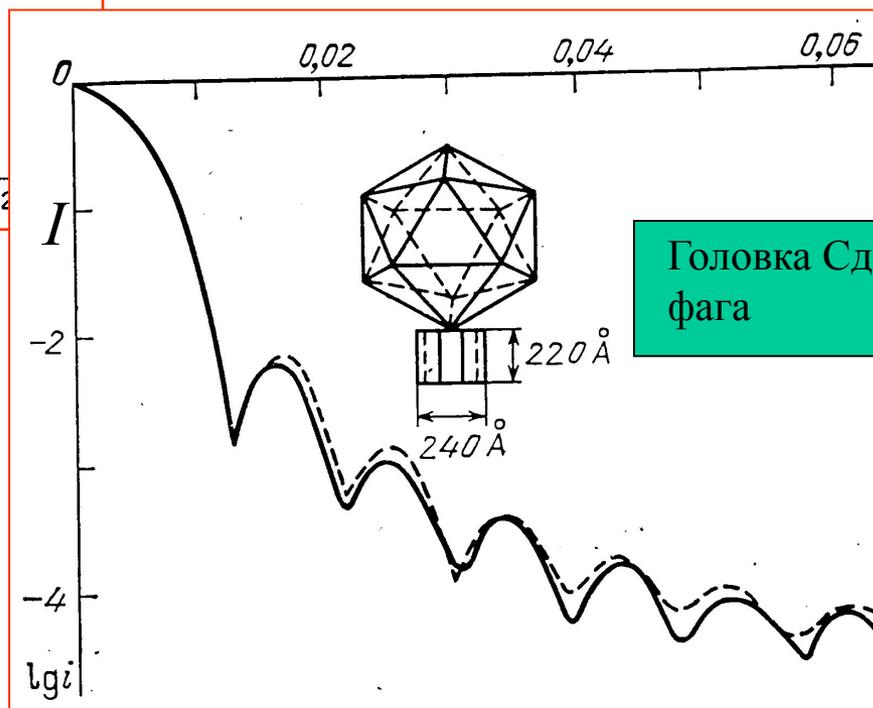
Для наблюдения за формой частицы, независимо от её абсолютных размеров кривые интенсивности следует строить как функцию QR_G .

I



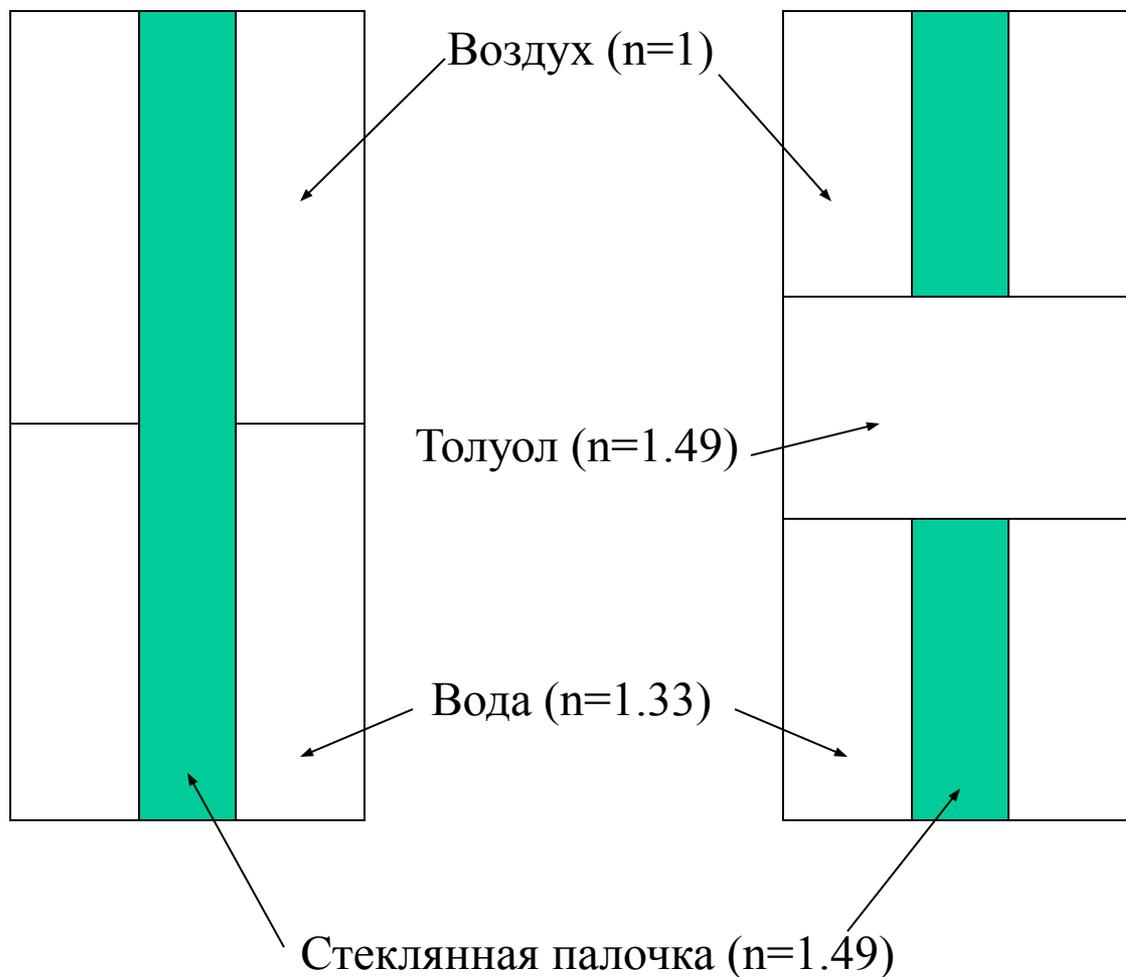
$$Q = \frac{4\pi}{\lambda} \sin \theta$$

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



Примеры кривых рассеяния частицами, форма которых близка к сферической

Контраст в быту



ЧТ 02 12

ЧТ 02 12

ЧТ 02 12

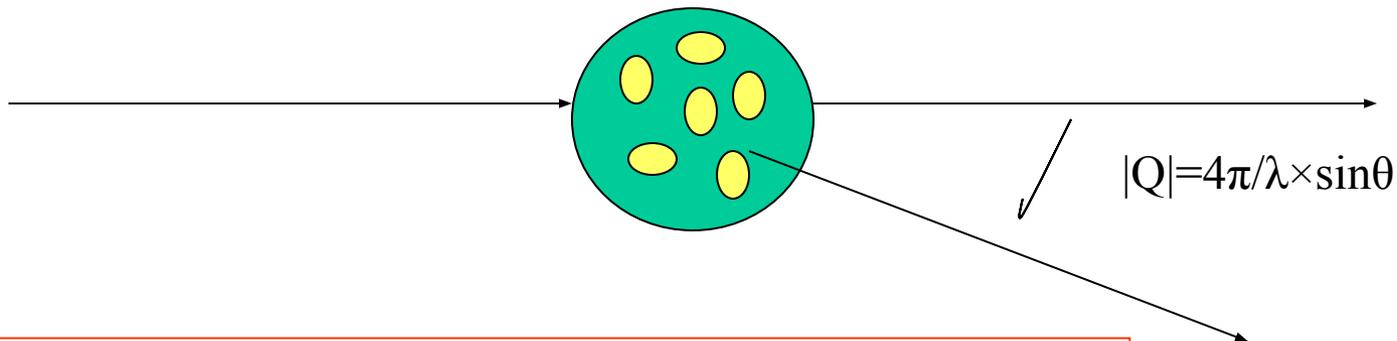
ЧТ 02 12

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.

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

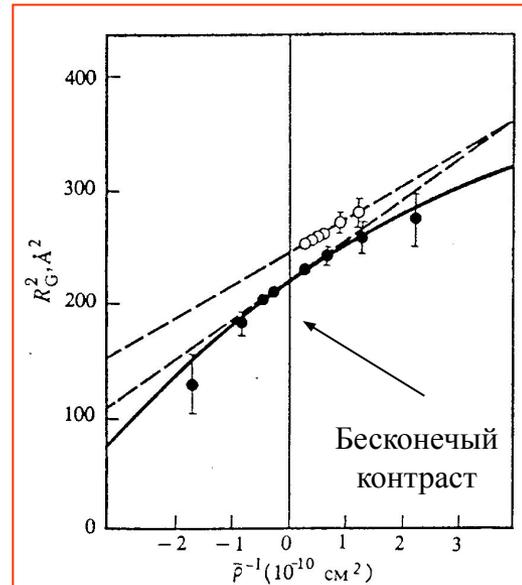
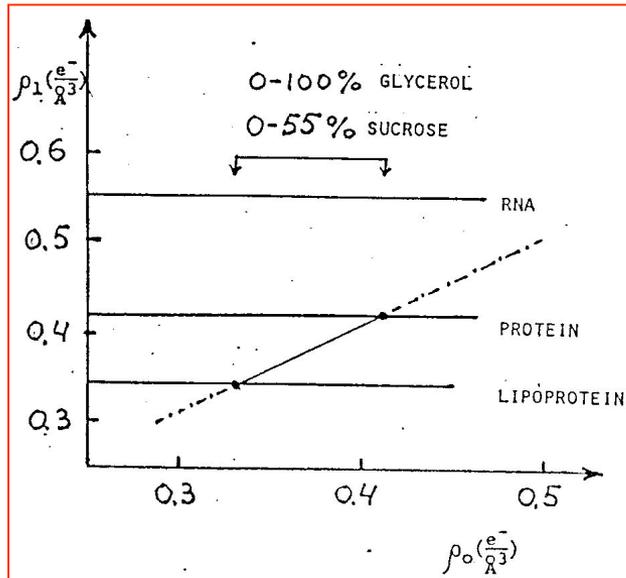
$$\bar{\rho}_0 = \frac{A}{M} N_A d_0$$

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

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

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

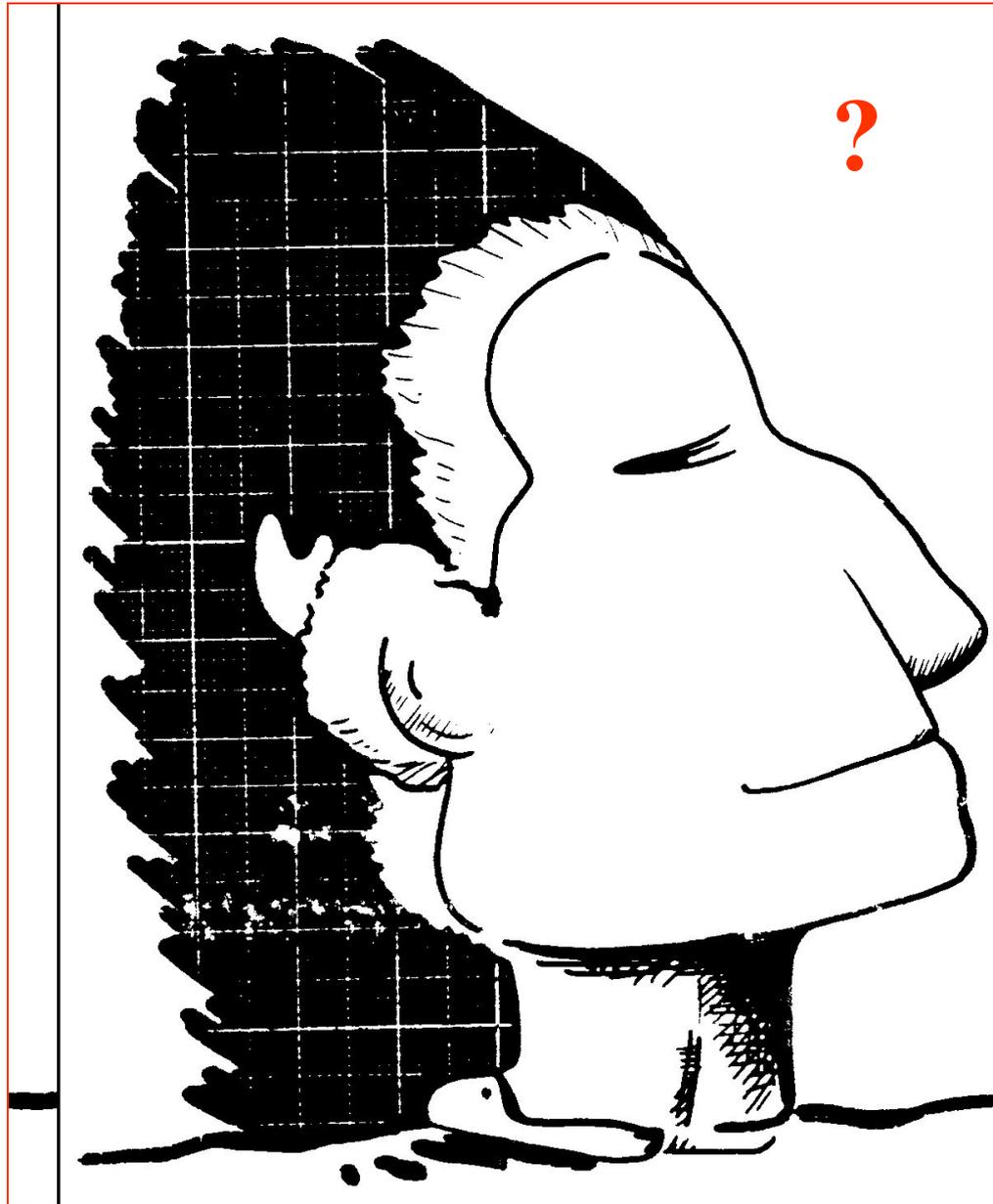
$$\bar{\rho}_{\text{РНК}} = 0.55 \frac{e}{A^3}$$

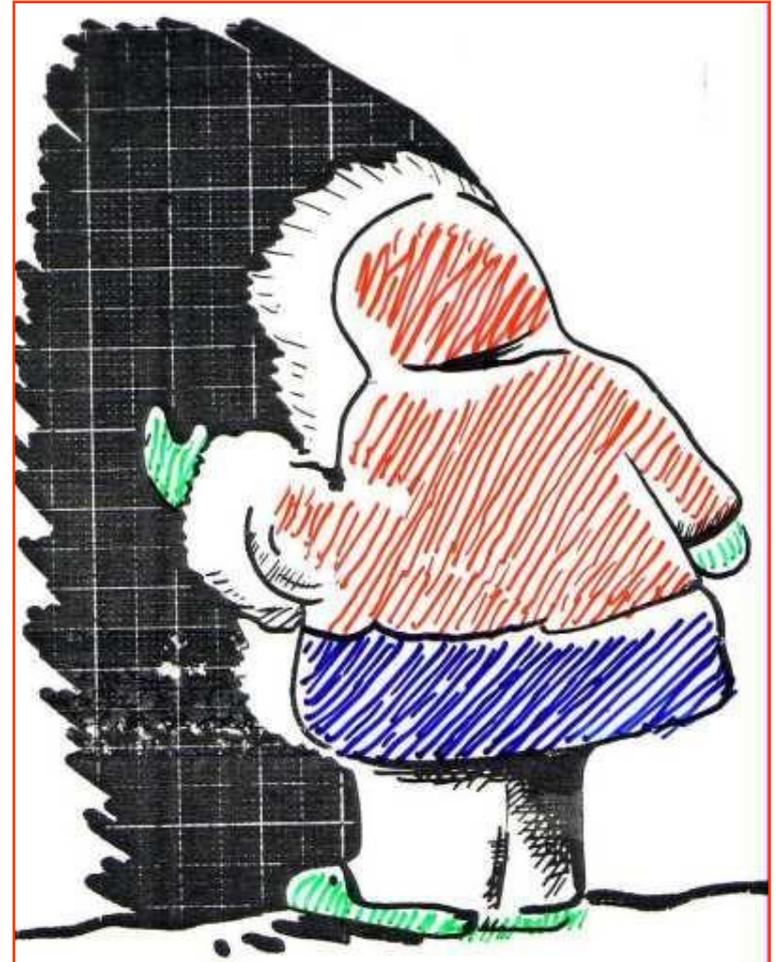
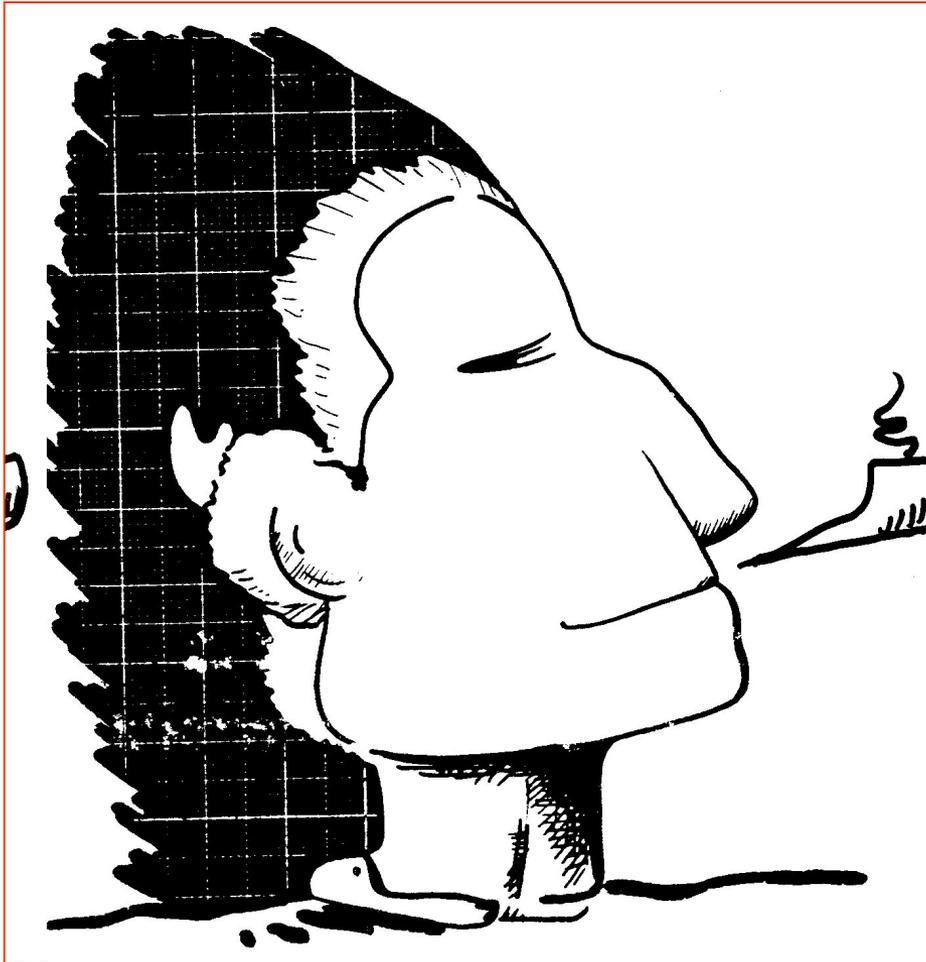


Зависимость квадрата радиуса инерции миоглобина кашалота от обратного контраста (○○○).

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

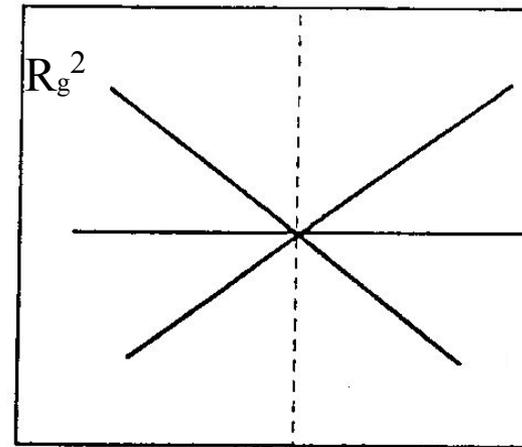
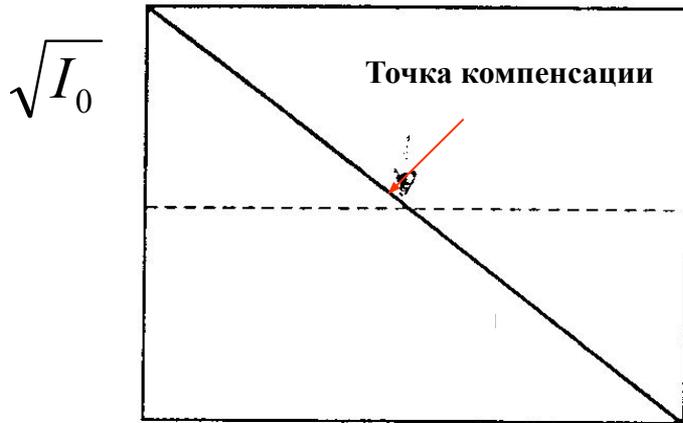
Вариация контраста в нейтронном рассеянии

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

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

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



$\alpha < 0, \beta = 0$

$\alpha = 0, \beta = 0$

$\alpha > 0, \beta = 0$

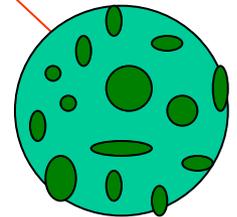
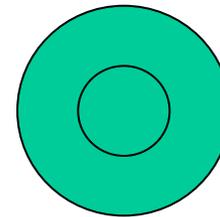
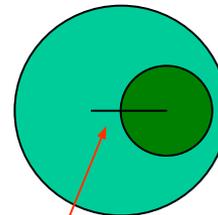
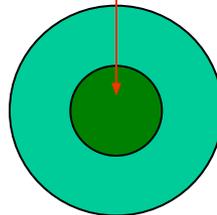
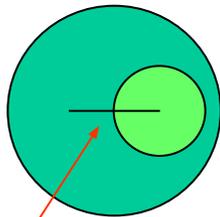
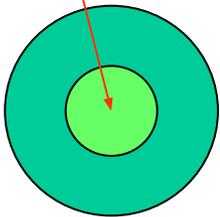
Плотность рассеяния растворителя \bar{a}_0

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 β нулю означает, что центры тяжести компонент смещены друг относительно друга

Вариация контраста методом H₂O/D₂O смесей

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

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

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

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

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

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

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

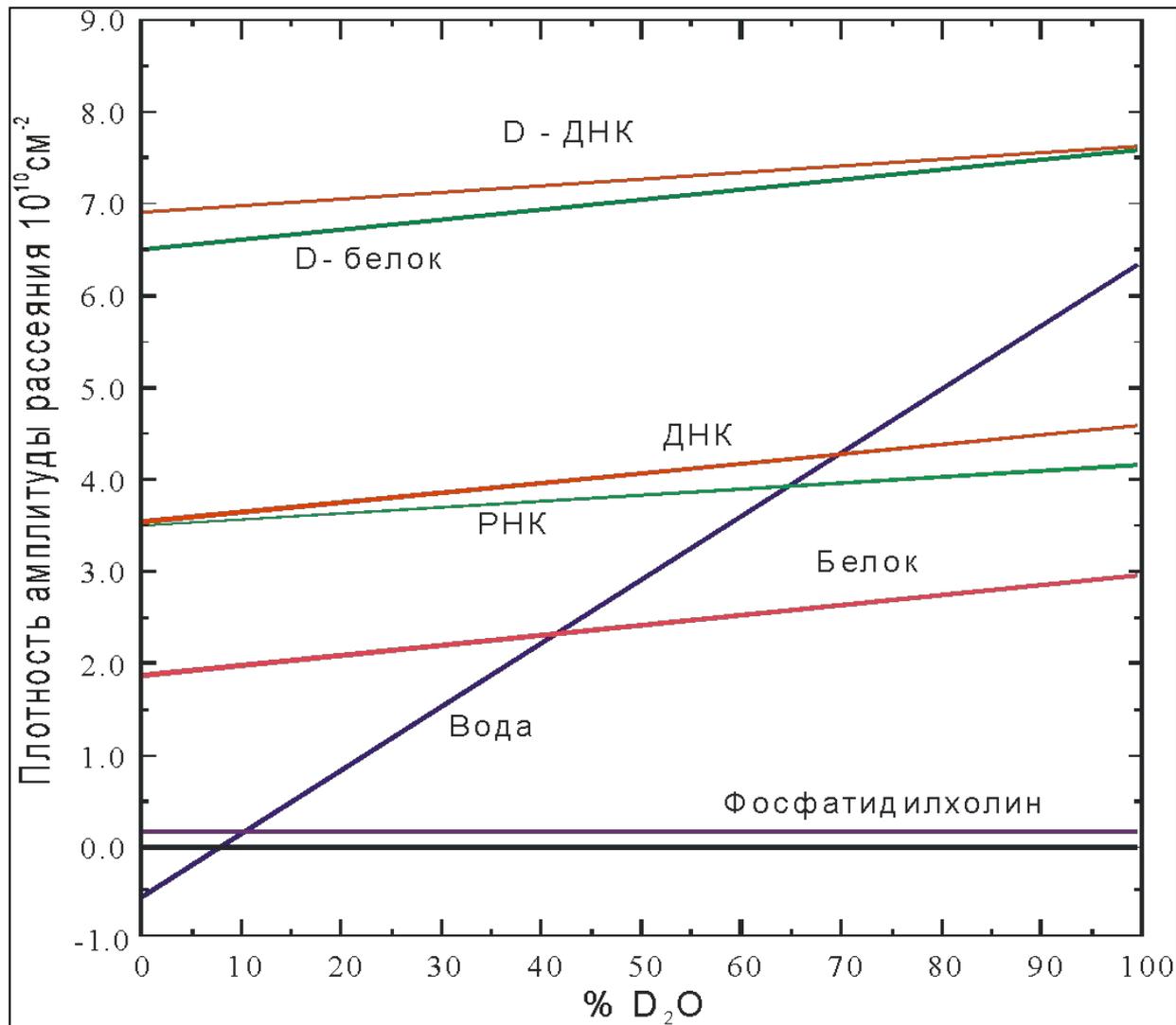
$$\bar{a}_{\text{белок}}(D_2O) = +2.94 \cdot 10^{-14} \text{ cm} / A^3$$

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

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

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

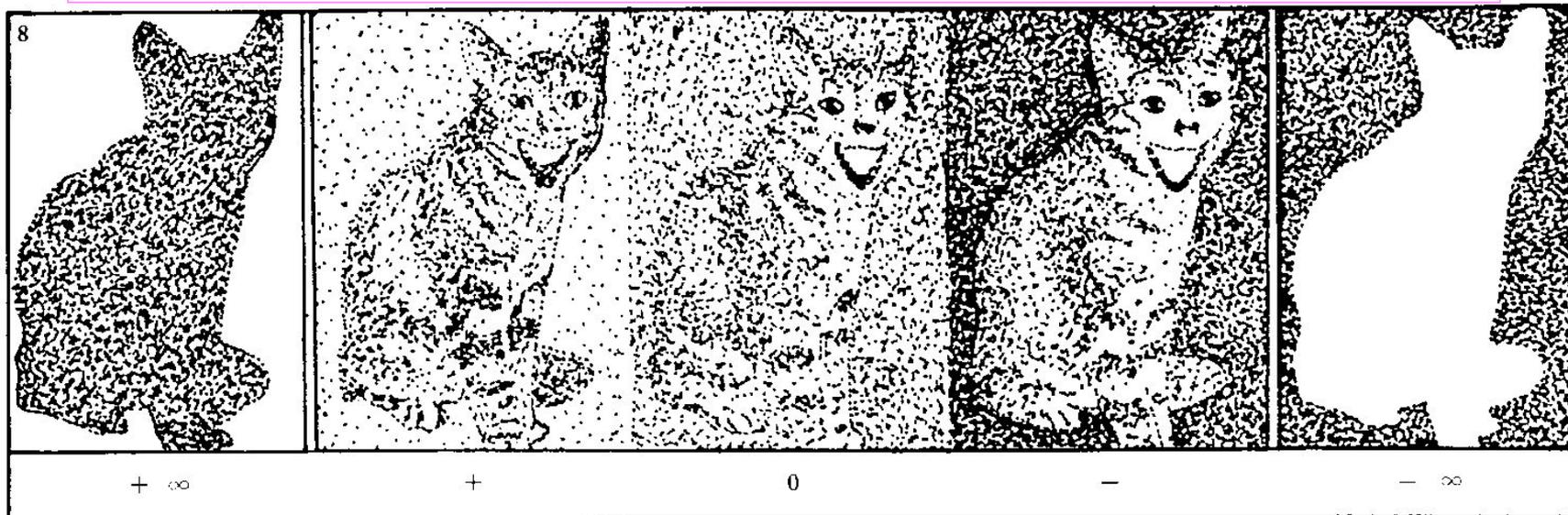
$$\bar{a}_{\text{РНК}} = 3.73 + 0.87Y$$



Плотность амплитуды нейтронного рассеяния биологических частиц как функция процентного содержания тяжёлой воды в смеси

Наклон каждой прямой связан с дейтериевым обменом

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

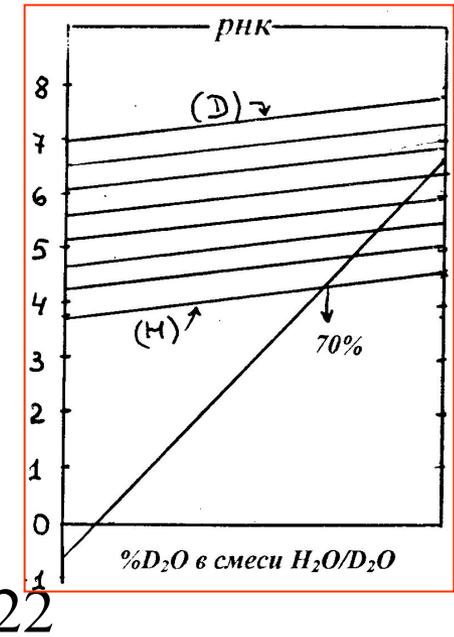
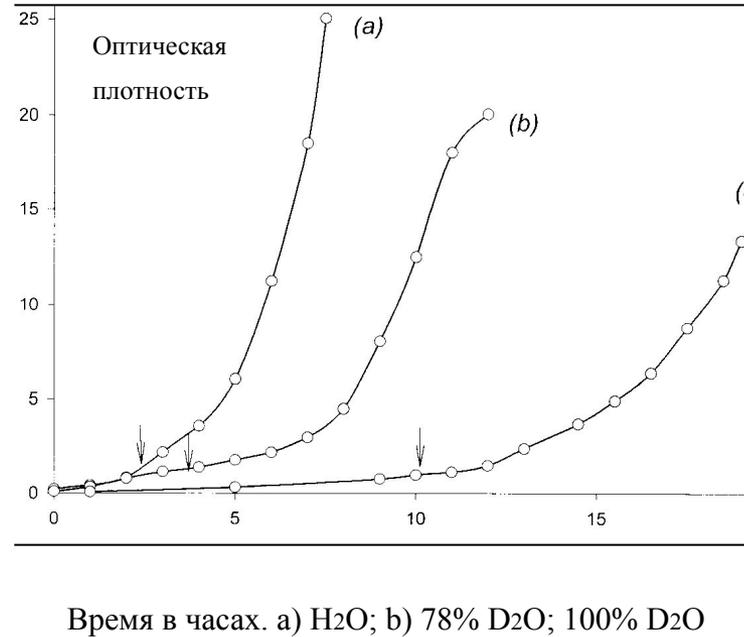
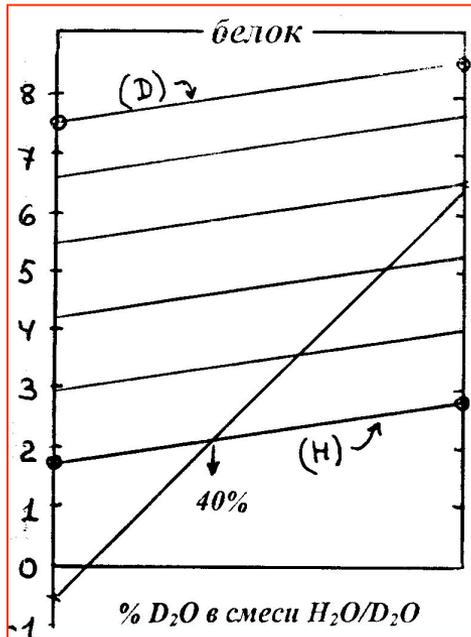
Вариация контраста за счет рассеивающих свойств среды: биосинтетическое дейтерирование

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

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

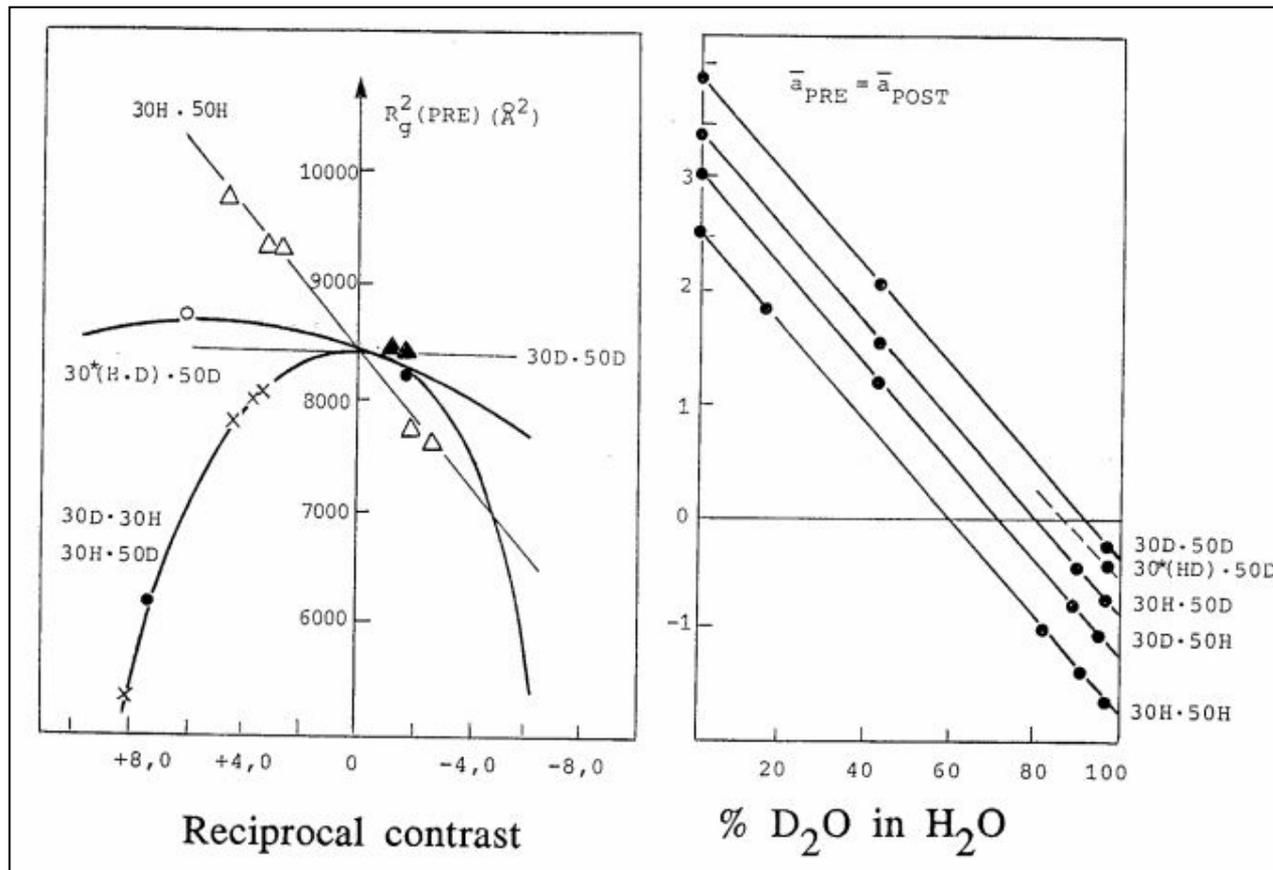
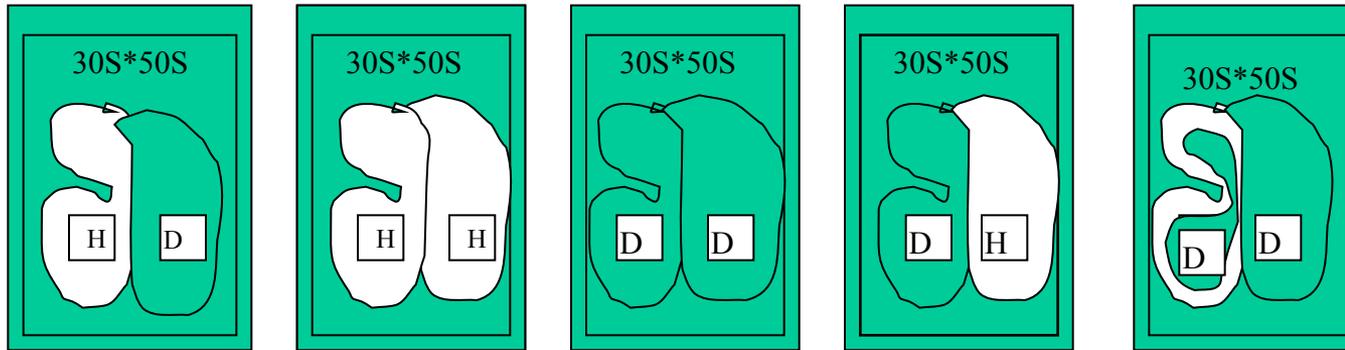
$$\bar{a}_{\text{РНК}} = 3.73 + 0.87Y + 3.20S$$

где Y -доля D₂O в смеси H₂O/D₂O, S - доля D₂O в среде выращивания



Рибосома в пре- и пост-транслоцированном состоянии

Растворитель 91% D₂O



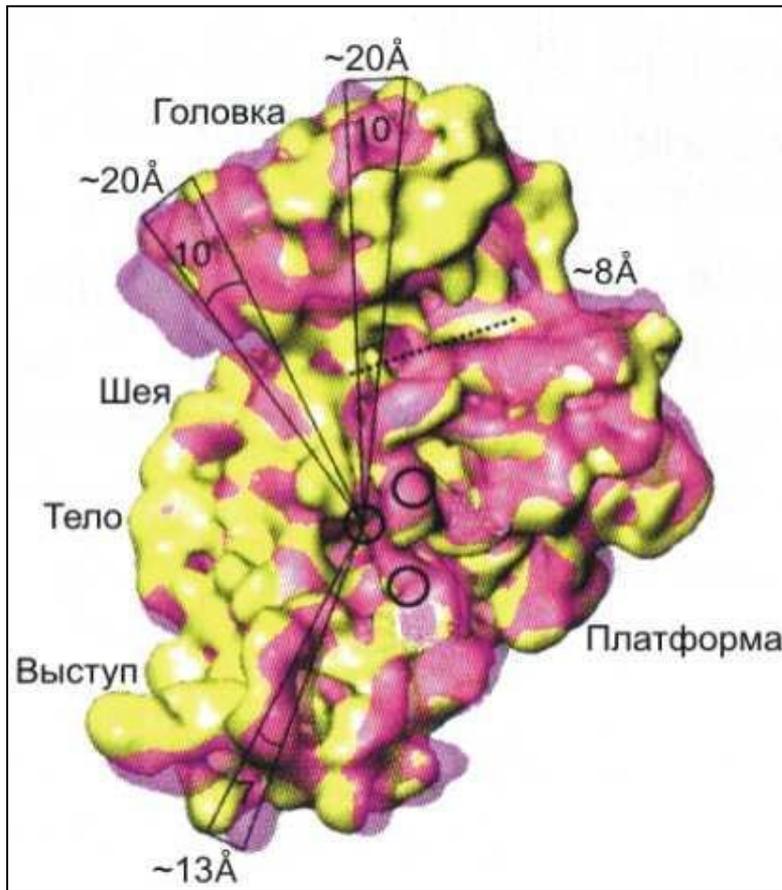
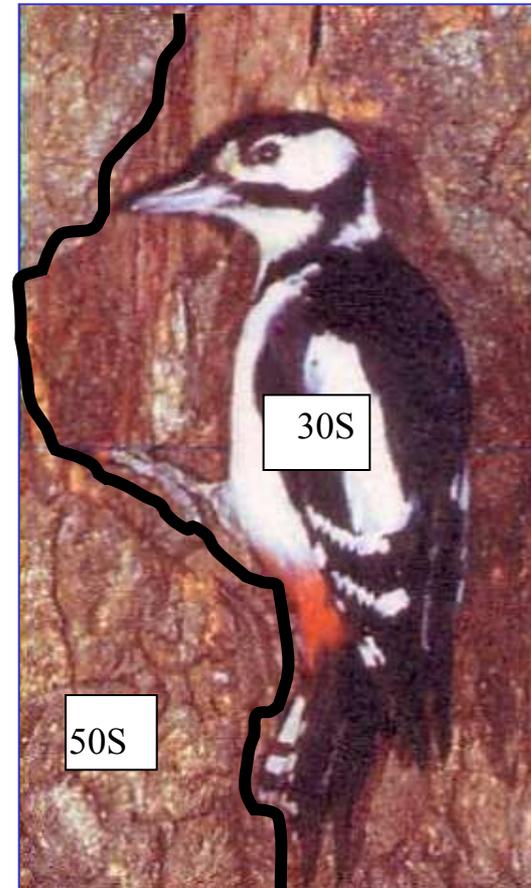
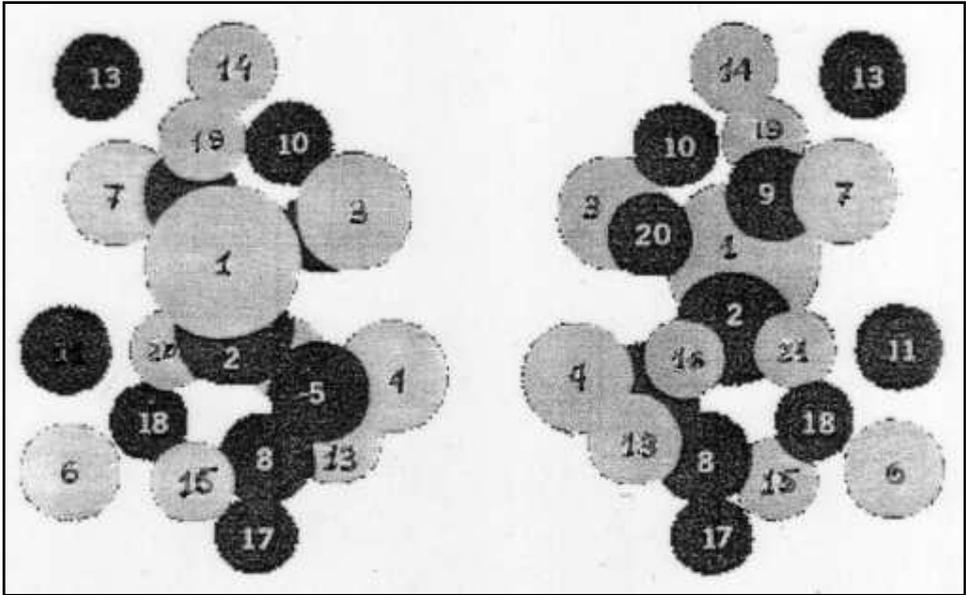
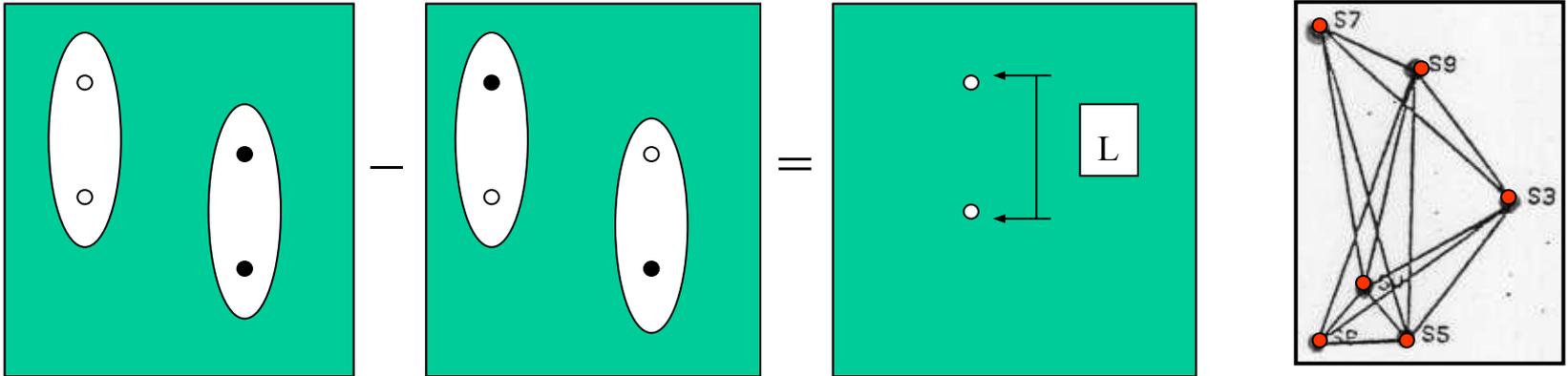


Рис. Ж2.14 Положение 30S субъединицы до взаимодействия с элонгационным фактором (полупрозрачный розовый) и после (желтый)(Valle *et al.*, 2003)



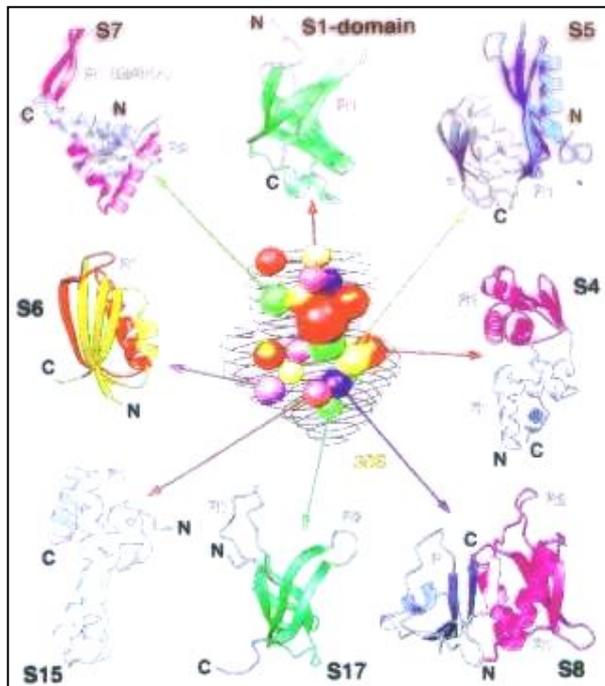
У большого пестрого дятла трель идет со скоростью 20-27 ударов в секунду.
У малого пестрого дятла - 50 ударов в секунду (Энциклопедия)

Техника триангуляции (W. Hoppe and P. Moore)

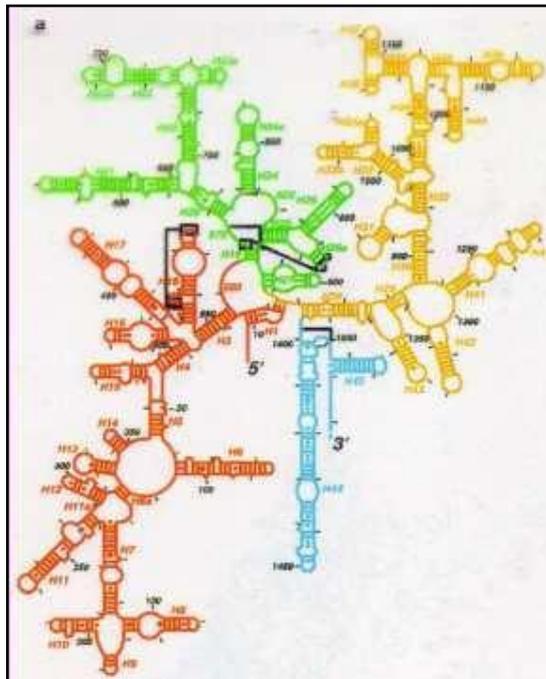


Пространственное расположение 21 белков в 30S рибосомной субчастице

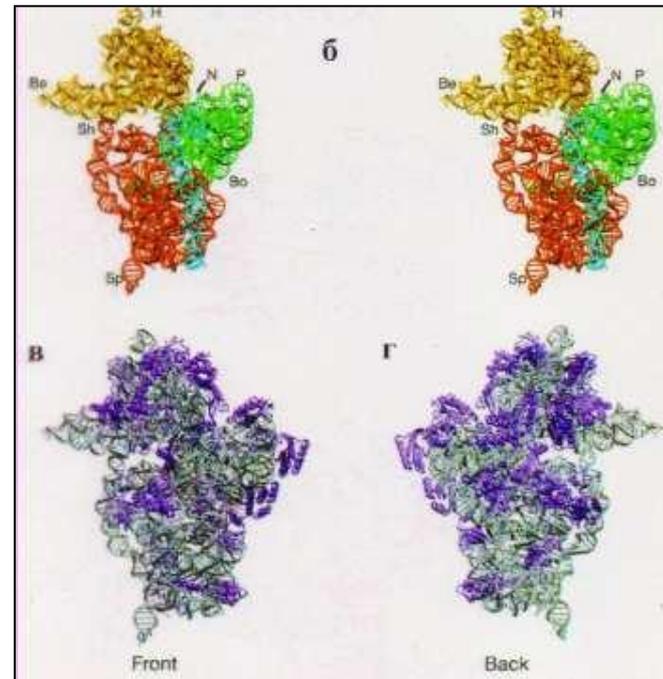
Структура 30S рибосомной субчастицы *T. thermophilus*



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



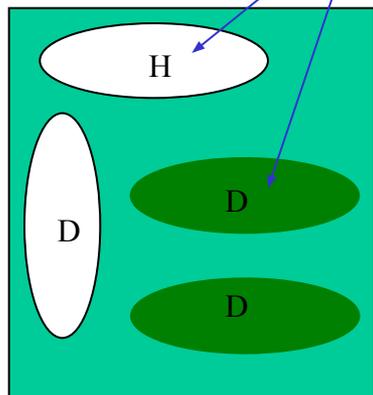
Вторичная структура 16S РНК и ее три домена: 5'-домен (красный), центральный домен (зеленый) и 3'- домен (желтый) и 3' малый домен (голубой)



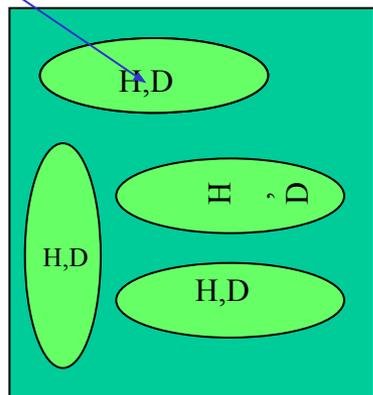
Рентгеновская структура 30S рибосомной частицы *T. th.* с разрешением 3Å. Вверху - стерео изображение третичной структуры. Внизу – фронтальная и обратная сторона 30S субчастицы. Серым цветом окрашена РНК, сиреневым цветом - белки

Использование смесей частиц разной степени дейтерированности

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

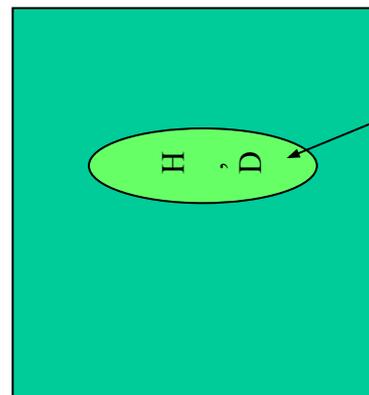


Раствор 1



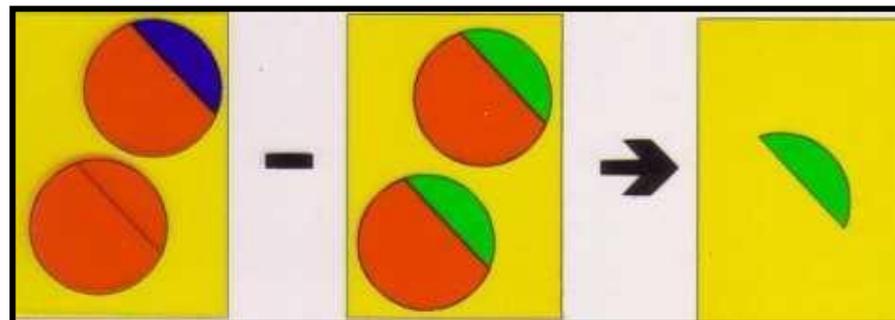
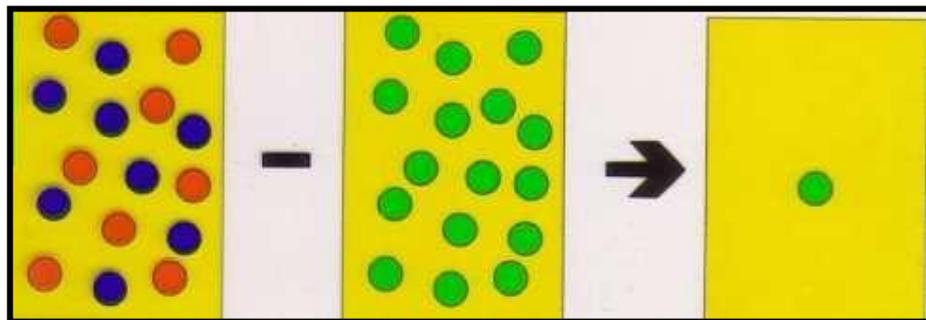
Раствор 2

=

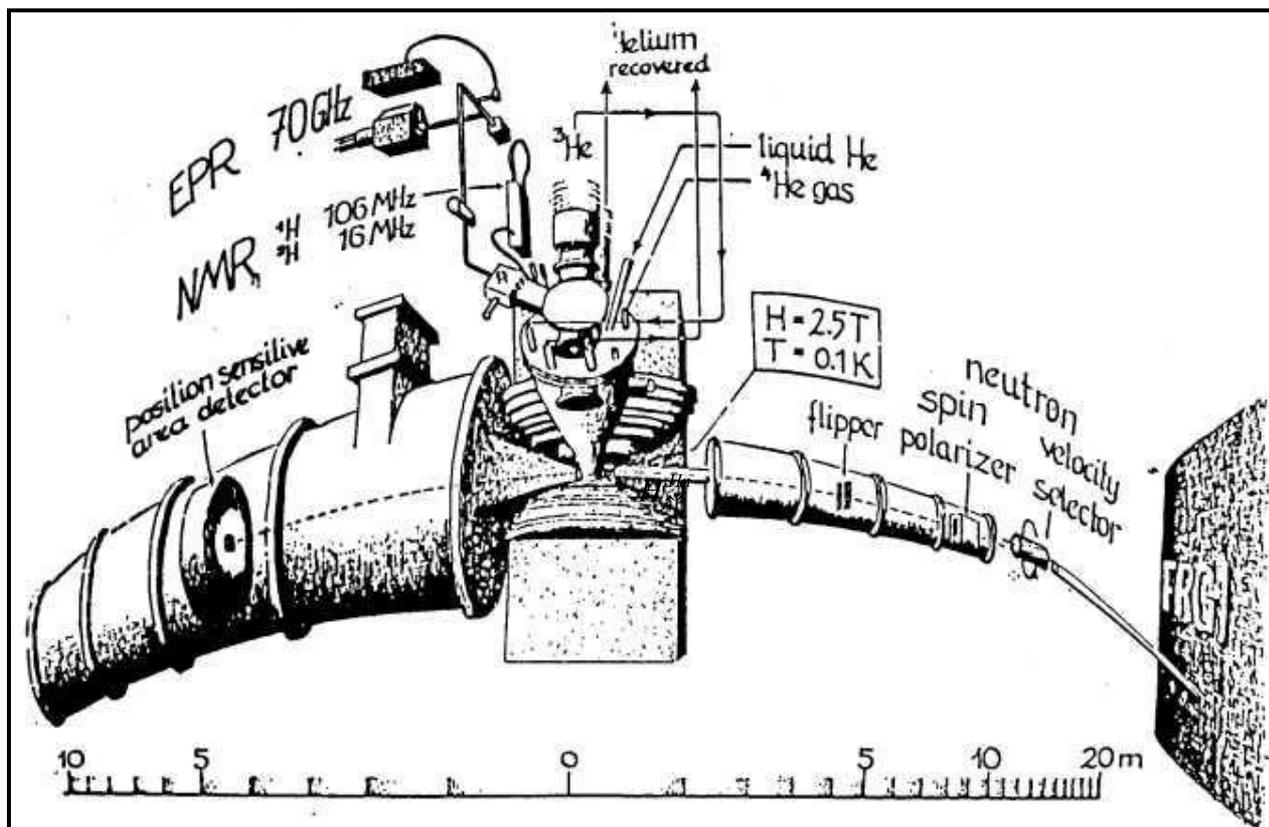


Разность двух растворов

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



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



Неполяризованное рассеяние

H (-0.374) D (+0.667)

Поляризованное рассеяние

$H_{\uparrow\downarrow}^{Hn}$ (+1.082) ${}_{28}H_{\uparrow\uparrow}^{Hn}$ (-1.83)