

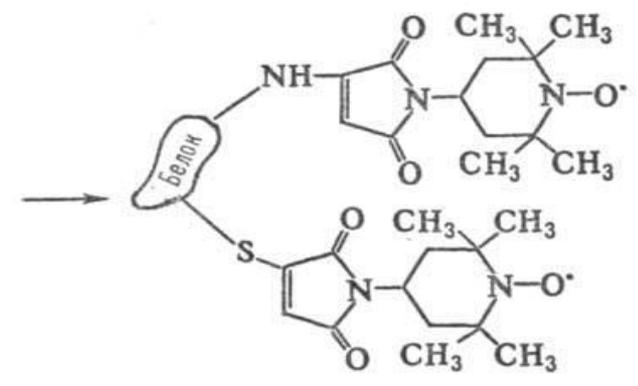
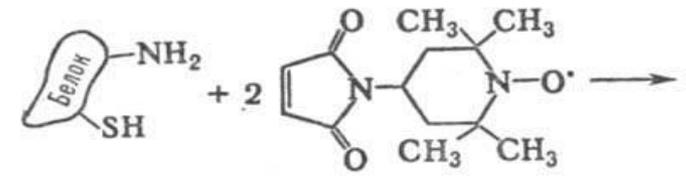
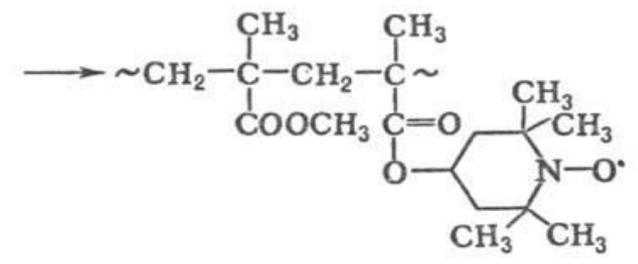
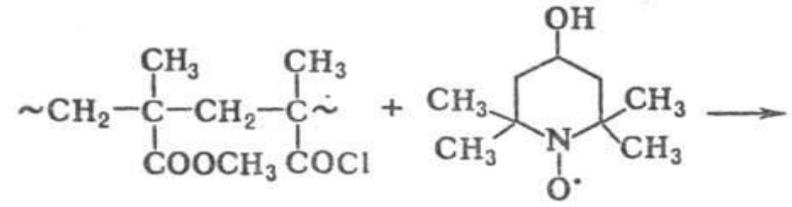
Метод спиновых меток в ЭПР

Выполнил: Алтыбаев А.В.
Студент ФМБТ, гр.30-41

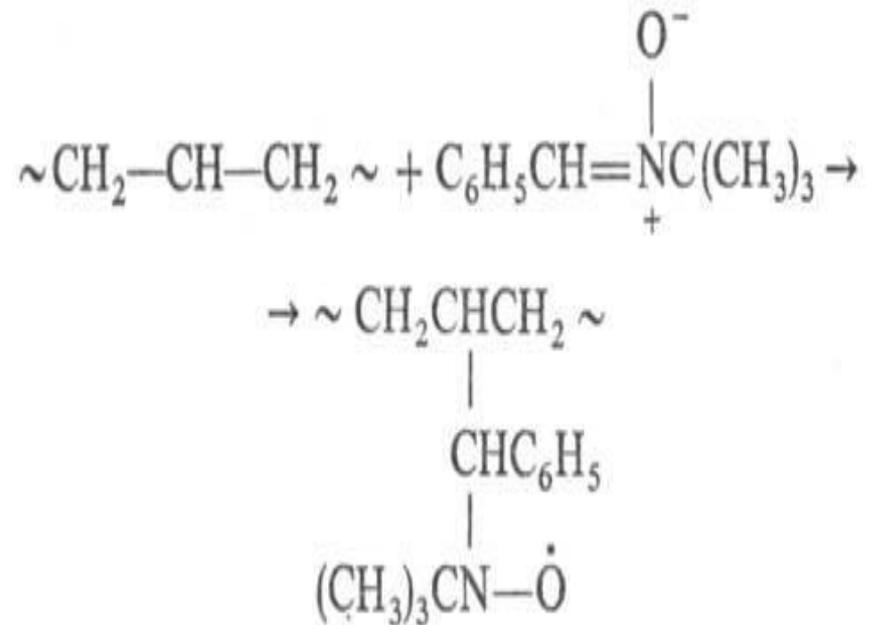
Метки вводят, как правило, в макромолекулярные системы (полимеры, биополимеры), для чего существуют разнообразные способы. Ниже перечислены наиболее простые и доступные из них.

1. Образование спин-меченых макромолекул полимеризацией или поликонденсацией в присутствии мономеров, содержащих нитроксильную группу или фрагмент, способный при дальнейшей обработке давать нитроксильную группу.

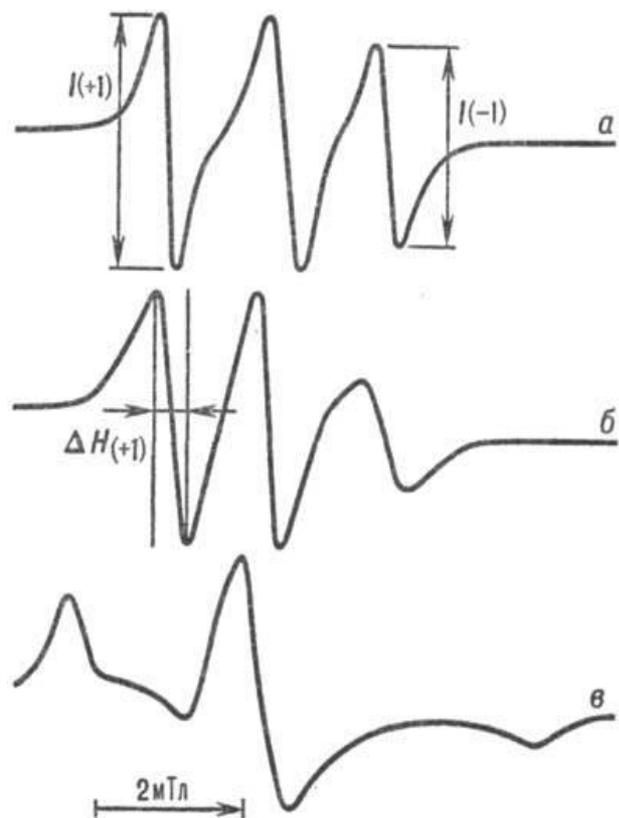
2. Химическая "прививка" нитроксильного радикала к макромолекулам с реакционноспособными группами, как, например, при получении спин-меченых полиметилметакрилатов и белка:



Реакции макромолекул с бирадикалами и спиновыми ловушками. В полимер вводят бирадикал и подвергают фотолизу, радиолизу или механо-деструкции. С образующимися в полимере активными центрами бирадикалы могут связываться только одним из парамагнитных фрагментов (при сохранении второго). Спиновая ловушка в этих же условиях образует с активными центрами полимера стабильный радикал, как, например, при взаимодействии фенил-трет-бутилнитрона с макрорадикалом полиэтилена, полученным радиолизом:

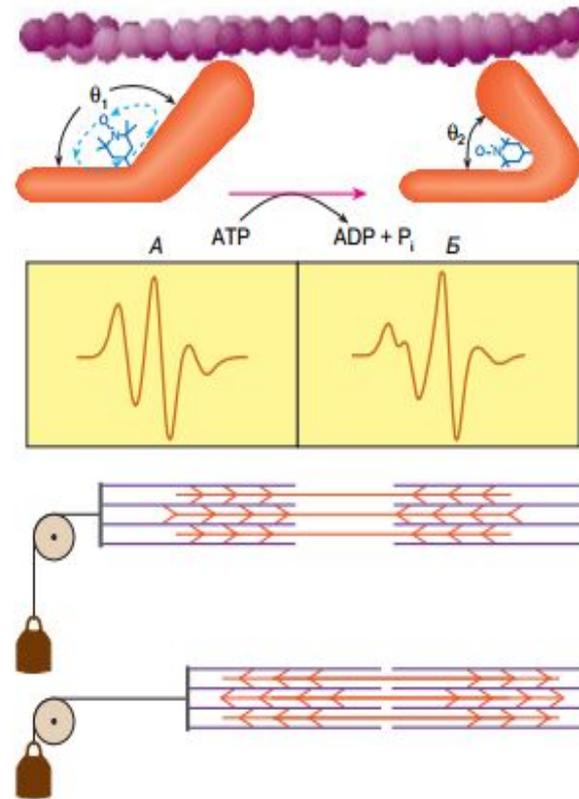


- Спектры ЭПР нитроксильных радикалов в разбавленных растворах представляют собой три линии, возникающие вследствие взаимодействия неспаренного электрона с ядром ^{14}N . Соотношение ширин и интенсивностей линий в спектре, а также расстояние между ними зависят от интенсивности вращательного движения радикала, которая, в свою очередь, определяется подвижностью окружающих частиц среды. Интенсивность вращательного движения характеризуют временем корреляции τ (период малоамплитудной переориентации), частотой вращения $\nu = 1/\tau$ или коэффициентом вращательной диффузии



Конформационные перестройки

- Функционирование большинства биологических макромолекул (белки, нуклеиновые кислоты) сопровождается их структурными перестройками. Спиновые метки оказались удобными молекулярными зондами, с помощью которых можно следить за конформационными перестройками биополимеров. Суть метода заключается в том, что молекулы метки химическим путем "пришивают" к определенным группам макромолекул, а затем по форме спектра ЭПР наблюдают за изменениями молекулярной подвижности спиновой метки, обусловленными структурными перестройками в макромолекуле.



Схема, иллюстрирующая использование спиновых меток для изучения структурных перестроек белков. В нижней части рисунка дано схематическое изображение фрагмента мышечного волокна: А, Б – спектры ЭПР спиновой метки, связанной с белком, имеющим "открытую" (А) или "закрытую" (Б) конформацию

Изучение мембран.

• Спиновые метки оказались одним из самых удобных инструментов для изучения структурно-функциональных свойств искусственных и биологических мембран. Для этой цели чаще всего используют жирорастворимые спиновые метки, которые сравнительно легко встраиваются в мембрану и поэтому становятся чувствительными индикаторами происходящих в них структурных изменений. На рис. А показано схематическое расположение в бислое липидной мемbrane двух таких меток - спин-меченых производных стеариновой кислоты. Отрицательно заряженная карбоксильная группа COO^- стеариновой кислоты не проникает внутрь мембраны и удерживается вблизи ее поверхности, в то время как электронейтральный жирорастворимый "хвост" молекулы оказывается втянутым в липидный бислой мембраны. Используя набор спиновых меток, у которых парамагнитные фрагменты "пришиты" к различным участкам стеариновой кислоты, можно зондировать строение липидного бислоя на разной глубине.

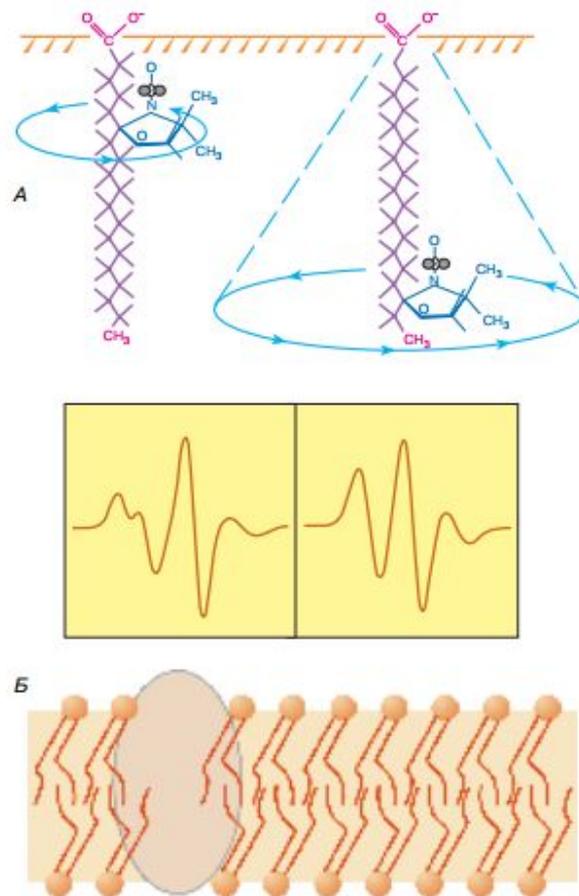


Рис. 4. А – схема расположения в мембране и спектры ЭПР липидорастворимых спиновых меток – производных стеариновой кислоты; Б – схематическое изображение профиля упорядоченности углеводородных цепей липидов в мембране

Заключение.

Метод спиновых зондов и меток применяется особенно широко для исследования синтетических полимеров и биологических объектов. При этом можно изучать :

- общие закономерности динамики низкомолекулярных частиц в полимерах, когда спиновые зонды моделируют поведение различных добавок ;
- получать информацию об изменении молекулярной подвижности при химической модификации;
- исследовать бинарные и многокомпонентные системы;
- изучать растворы полимеров;
- определять вращательную подвижность ферментов, структуру и пространственное расположение групп в активном центре фермента, конформацию белка при различных воздействиях, скорость ферментативного катализа;
- изучать мембранные препараты ;
- изучать жидкокристаллические системы, ДНК, РНК, полинуклеотиды

Метод используют также в различных областях медицины для исследования механизма действия лекарственных препаратов, анализа изменений в клетках и тканях при различных заболеваниях, определении низких концентраций токсичных и биологически активных веществ в организме, изучения механизмов действия вирусов.