

Решения

Ответ 1.

Преимущества золотых наночастиц вкратце:

- 1) Интенсивная окраска, молярный коэффициент поглощения составляет 10^7 - 10^9 $M^{-1} \times cm^{-1}$
- 2) Высокая стабильность наночастиц в коллоидной системе и множество вариантов дополнительной стабилизации (покрытие полиэлектролитами или монослоем бифункциональных органических молекул, содержащих –SH группу на одном конце (для взаимодействия с золотом) гидрофобной цепи и заряженную группу на другом).
- 3) Простота получения конъюгатов с биомолекулами – за счет адсорбции или через тиолы.
- 4) золото – биосовместимый материал
- 5) золото химически инертно
- 6) наночастицы золота способны нагреваться под действием инфракрасного излучения, безопасного для организмов.

Ответ 2. Методов разделения как биомолекул, так и наночастиц существует очень много, основной вопрос состоит в детекции. Как же можно определить, сколько молекул белка связалось с наночастицей, и связались ли вообще?

Например, УФ-спектроскопия. Не подходит, поскольку золотые нанокристаллы поглощают ультрафиолетовый свет значительно сильнее, чем белковые молекулы, поэтому взаимодействия белок-нанокристалл будут незаметными.

Еще один метод, электронная микроскопия, например ТЕМ, не дает достаточно четких и точных картинок, поскольку в белковых молекулах есть только легкие атомы.

Ответ 3. F_1 – выталкивающая сила (сила Архимеда), или сила плавучести; F_2 – сила трения; F_3 – центробежная сила. От вязкости среды зависит сила трения, а от скорости вращения – центробежная сила и сила трения.

Ответ 4. Коэффициент седиментации представляет собой отношение скорости оседания частицы при центрифугировании (v) к $\omega^2 r$, то есть

$$S = v/\omega^2 r$$

где ω - угловая скорость вращения ротора, а r – расстояние от оси вращения до местоположения наночастицы. Угловая скорость вращения задается исследователем, а скорость оседания и расстояние, на котором находится наночастица, нужно определить.

а) Согласно формуле для определения константы седиментации сферической частицы:

$$S_{20,w} = \frac{D^2(\rho - \rho_{20,w})}{18 \times \eta_{20,w}}$$

нужно знать диаметр частицы и ее плотность, потому что плотность и вязкость воды при 20С – табличные величины.

б) Для определения константы седиментации опыты проводят в специальных растворах. Поэтому пользуются другой формулой:

$$S_{20,w} = \frac{v \times (\rho - \rho_{20,w}) \times \eta_c}{\omega^2 r \times \eta_{20,w} \times (\rho - \rho_c)}$$

$$\text{или } S_{20,w} = \frac{10^6 \times v}{4 \times N^2 \times r_{\min}} \times \left[\frac{r_{\min} \times (\rho - \rho_{20,w}) \times \eta_c}{r \times (\rho - \rho_c) \times \eta_{20,w}} \right]$$

где v – скорость оседания частицы, см/час

N – число тысяч оборотов в минуту

r_{\min} – расстояние мениска пробирки от оси вращения, величина известная для данного ротора с данным типом пробирок.

При этом нужно знать скорость частицы и ее плотность, а также плотность и вязкость раствора, в котором происходит центрифугирование. Остальные величины или задаются экспериментатором, или табличные.

Конечно, для экспериментального определения константы пользуются стандартными веществами, константы седиментации которых известны. Кроме того, используют раствор с градиентно изменяющимися свойствами среды, так называемый градиент плотности. Причем профиль градиента должен быть таков, что увеличение расстояния от оси вращения компенсируется изменениями плотности и вязкости среды вдоль него, и все частицы движутся с постоянными скоростями, которые определяются только их размерами. В этом случае отношение констант седиментации двух частиц будет равно отношению расстояний от мениска жидкости до зоны, где находится частица, к моменту окончания эксперимента:

$$S_{20,w1} / S_{20,w2} = l1/l2$$

Ответ 5. Силы, противодействующие движению частицы, увеличиваются, поскольку 1) меняется общая плотность частицы и 2) меняется форма, то есть жидкости приходится обтекать уже не сферический нанокристалл, а сферу, на которой выпячиваются молекулы белка. Это приводит к уменьшению $S_{20,w}$ в зависимости от числа молекул белка, «прилипшего» к наночастице.

Ответ 6. Молекулярная масса белка иммуноглобулина IgG 167000, а миоглобина 16700, то есть в 10 раз меньше. Поскольку

масса = плотность*объем

следовательно, увеличение массы в 10 раз при той же плотности означает увеличение объема в 10 раз. А это означает, что на одной наночастице может разместиться молекул IgG в 10 раз меньше, чем молекул Mb.

Следовательно картинка слева соответствует IgG, а картинка справа – миоглобину.

Для определения количества белка в полученном конъюгате можно белок пометить, например радиоактивной меткой, и посчитать количество метки в полученной суспензии, то есть радиоактивность.

Другой вариант – определить концентрацию белка методом Лоури или Бредфорд, если концентрация находится в необходимом интервале концентраций для данного метода, а в растворе нет веществ, мешающих определению.

Ответ 7. Сначала общее замечание. Поскольку в смеси присутствуют частицы двух типов – собственно золотые нанокристаллы, и наноконъюгаты, то время полного оседания всех частиц будет равно времени оседания самой легкой частицы, то есть той, у которой меньше всего коэффициент седиментации. Исходя из приведенных графиков, он составляет около 850S.

Далее эту задачу можно решать двумя способами:

Способ 1. Поскольку коэффициент седиментации, как уже указывалось в

решении вопроса 3, $S = \frac{v}{\omega^2 r}$, а скорость седиментации, по определению

скорости

$$v = \frac{dr}{dt},$$

то, подставляя выражение для скорости в выражение для коэффициента седиментации, получим

$$S = \frac{dr}{\omega^2 r dt}.$$

Из последнего выражения получаем

$$dt = \frac{dr}{S\omega^2 r},$$

т.е. для вычисления скорости надо проинтегрировать полученное выражение в пределах r_{\min} до r_{\max} , т.е.

$$t = \int_{r_{\min}}^{r_{\max}} \frac{dr}{S\omega^2 r}$$

Поскольку $S\omega^2$ не зависят от r , то их можно вынести за знак интеграла, т.е.

$$t = \frac{1}{S\omega^2} \int_{r_{\min}}^{r_{\max}} \frac{dr}{r}$$

Подставляя значения, получаем

$$t = \frac{1}{850 \times 10^{-13} \text{ c} \cdot \left(2\pi \frac{1}{60} \frac{\text{мин}}{\text{с}}\right)^2} (\ln 15.2 \times 10^{-2} \text{ м} - \ln 6.6 \times 10^{-2} \text{ м})$$

$$\approx 429 \text{ c} \cdot \ln \left(\frac{15.2 \times 10^{-2} \text{ м}}{6.6 \times 10^{-2} \text{ м}} \right) \approx 358 \text{ c} \approx 6 \text{ мин}$$

Способ 2. Оценочный, хотя и не совсем верный.

Этот способ подходит именно для оценки общего времени оседания, и ответ будет отличаться от точно рассчитанного предыдущим способом, но не более чем в несколько раз, то есть с точностью до порядка.

Поскольку

$$t = \int_{r_{\min}}^{r_{\max}} \frac{dr}{v}$$

то можно провести графическое интегрирование. Величины коэффициента седиментации и угловой скорости вращения не зависят от расстояния, пройденного частицей, поэтому

$$t = \frac{10^5}{s_{20,W} \times N^2 \times 0,4 \times r_{\min}} \int_{r_{\min}}^{r_{\max}} \frac{dr}{\alpha}, \text{ где}$$

$$\alpha = \frac{r \times (\rho - \rho_c) \times \eta_{20,W}}{r_{\min} \times (\rho - \rho_{20,W}) \times \eta_c}$$

$$\text{Если обозначить } \Sigma = \frac{1}{0,4 \times r_{\min}} \int_{r_{\min}}^{r_{\max}} \frac{dr}{\alpha}$$

то получается простое выражение для времени:

$$t = \frac{10^5 \times \Sigma}{s_{20,W} \times N^2}$$

величина Σ зависит от среды, в которой происходит центрифугирование, и для всех роторов данного типа ($r_{\max} = 1,25 * r_{\min}$) может быть найдено по номограммам. В данном случае, когда центрифугирование происходило в разбавленном буфере, можно взять номограмму из учебника Л.А. Остермана по методам исследования белков и нуклеиновых кислот, раздел ультрацентрифугирование, рис. 59 для градиента сахарозы 5-20% (поскольку плотность сахарозы в этих пределах не сильно отличается от 1). Из этой номограммы при 20С $\Sigma = 3,5$, тогда

$$t = \frac{10^5 \times \Sigma}{s \times N^2} = \frac{100000 \times 3,5}{850 \times 50^2} \approx 0,165ч \approx 10мин$$

этот ответ, конечно, не совпадает с точным ответом, рассчитанным первым способом, но отличается от него незначительно. Различия связаны в основном с тем, что разбавленный буферный раствор сильно отличается от раствора сахарозы по вязкости, хотя и практически не отличается по плотности.