

[Akceptuję](#)

W ramach naszej witryny stosujemy pliki cookies w celu świadczenia państwu usług na najwyższym poziomie, w tym w sposób dostosowany do indywidualnych potrzeb. Korzystanie z witryny bez zmiany ustawień dotyczących cookies oznacza, że będą one zamieszczone w Państwa urządzeniu końcowym. Możecie Państwo dokonać w każdym czasie zmiany ustawień dotyczących cookies. Więcej szczegółów w naszej [Polityce Prywatności](#)

[Portal](#) [Informacje](#) [Katalog firm](#) [Praca](#) [Szkolenia](#) [Wydarzenia](#) [Porównania międzylaboratoryjne](#)
[Kontakt](#)



[Laboratoria](#)
[.net](#)
[Innowacje](#)
[Nauka](#)
[Technologie](#)

[Logowanie](#) [Rejestracja](#) [pl](#)

Newsletter

zapisz się



- [Nowe technologie](#)
- [Felieton](#)
- [Tygodnik "Nature"](#)
- [Edukacja](#)
- [Artykuły](#)
- [Przemysł](#)

[Strona główna](#) > [Artykuły](#)

Technika spektrometrii elektronowego rezonansu magnetycznego (EPR) w biologii

Streszczenie

Większość znanych substancji jest diamagnetyczna bądź ferromagnetyczna. Tylko nieliczne oddziałują z polem magnetycznym, są to paramagnetyki. Efekt tych oddziaływań jest także bardzo niski, ale możliwy dzięki nieparzystym elektronom w cząsteczkach lub niesparowanym elektronom w cząsteczkach rodników. Elektronowy Rezonans Paramagnetyczny (EPR) zwany także Elektronowym Rezonansem Spinowym (ESR) pozwala na rejestrację i badanie tego całkiem

powszechnego, ale bardzo ważnego zjawiska w różnych dziedzinach nauki (chemia, biologia).

Wprowadzenie

Elektronowy rezonans paramagnetyczny (EPR) został odkryty i opisany w 1944 przez E. K. Zavoiskii. Zastosowanie tej metody w biologii rozpoczęło się dopiero w latach 60 XX wieku. I od tego czasu metoda badania próbek biologicznych metodą EPR jest ciągle szeroko dyskutowana w literaturze []. Szeroki zakres badań próbek biologicznych zostało przeprowadzonych na mediach ustroju ludzkiego: krwi, moczu, ślinie itp. Badania te zostały przeprowadzone w celach diagnostyki medycznej.

Teoria

Elektronowy rezonans paramagnetyczny (EPR, ang. Electron Paramagnetic Resonance) jest związany ze zmianą orientacji spinu elektronowego w zewnętrznym polu magnetycznym, wywołanego absorpcją energii pola wysokiej częstości. Zjawisko to obserwuje się w atomach, cząsteczkach i kompleksach molekularnych posiadających niesparowane spinowe momenty magnetyczne μ_s , tworzące centra paramagnetyczne badanych związków.

Moment magnetyczny μ_s i spin elektronu S centrum paramagnetycznego są kolinearne, ale przeciwnie skierowane:

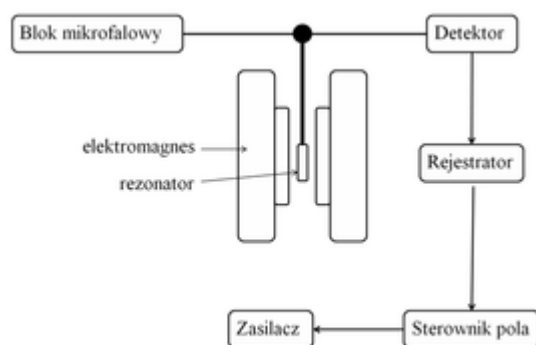
$$\mu_s = -g \mu_B S$$

μ_B - magneton Bohra ($9,27 \times 10^{-24} \text{ JxT}^{-1}$)

g - współczynnik zeemanowskiego rozszczepienia

Współczynnik rozszczepienia g określa udział orbitalnego momentu magnetycznego w całkowitym momencie μ danego centrum paramagnetycznego.

Dla spinu $S=1/2$ wartości magnetycznej liczby spinowej wynoszą: $m_s=+1/2$ i $m_s=-1/2$. Ze względu na dwie przeciwne orientacje spinu w polu magnetycznym możliwe są dwa poziomy energetyczne: $W+1/2=1/2g\mu_B B$ i $W-1/2=-1/2g\mu_B B$, różnica energii ($\Delta W= W+1/2-W-1/2$) tych poziomów rośnie wraz z przyłożonym polem magnetycznym B . Zmiana orientacji spinu nastąpi, gdy zostanie spełniony warunek rezonansu $\Delta W = hf$, czyli zostanie dostarczona energia równa różnicy energetycznej dwóch poziomów. Amplituda sygnału obserwowanego w rejestratorze jest miarą absorpcji mocy mikrofal wywołanej zmianą orientacji spinu elektronów względem kierunku stałego pola magnetycznego [].



Rys. Detekcja sygnału EPR [2]

Rys. Detekcja sygnału EPR [2]

Standardowa analiza EPR

Metoda EPR w badaniach biologicznych pozwala badać wolne rodniki lub metale, które w wyniku biochemicznych przemian redoks posiadają niesparowany elektron np. hemoglobina, która była jednym z pierwszych metaloenzymów zbadanych tą metodą. Badanie wolnych rodników w komórkach nie patogennych nie jest łatwe, gdyż naturalny poziom rodników jest bardzo niski (10⁻⁸-10⁻¹⁰M) a nowoczesne spektrometry EPR są w stanie zarejestrować wolne rodniki w stężeniu 10⁻⁶-10⁻⁷. Stężenie wolnych rodników można zwiększyć wykorzystując jednolity materiał tkankowy (10¹⁴-10¹⁶ na gram tkanki) lub traktując materiał biologiczny donorami wolnych rodników lub napromienieniem. Intensywność sygnału EPR jest także zależna od fazy wzrostu komórek i fazy cyklu komórkowego. Dodatkową trudność w pomiarach biologicznych stwarza stosunkowo duża ilość wody, która uniemożliwia dokładne zarejestrowanie sygnału oraz pozwala na dalsze przemiany biochemiczne. Dlatego próbki te zazwyczaj badane są w temperaturze poniżej 0°C lub w postaci zliofilizowanej. [,]

Mimo wielu trudności w zastosowaniu metody EPR przy badaniu próbek biologicznych metoda ta pozwala jakościowo a nawet ilościowo oznaczyć rodniki w tych bardzo złożonych próbkach.

Pułapkowanie spinów

W roku 1965 w Rosji badaczom pierwszy raz udało się zarejestrować metodą EPR tlenek azotu(II) - NO. Rodnik ten posiada jeden niesparowany elektron przemieszczający się pomiędzy atomem azotu a atomem tlenu. NO został unieruchomiony i zablokowany wobec ewentualnych reagentów grupami metylowymi. W dalszych badaniach stwierdzono, że NO daje widma EPR, gdzie kształt ich zmienia się w zależności do lepkości, polarności i struktury otaczających go mediów. I tak powstała pierwsza sonda EPR, która po przyłączeniu do białek czy lipidów pozwala uzyskać informacje o miejscowej ruchliwości łańcucha polipeptydu. Badania nad sondami EPR pozwoliły określić struktury ciekłych kryształów i ruchliwości lipidów w membranach.

W biologii metoda „pułapkowania spinów” jest bardzo ważna w wykrywaniu reaktywnych form tlenu (RFT). Istota metody jest tworzenie paramagnetycznych adduktów w wyniku reakcji nitonów (związki azowe) z oznaczanymi rodnikami RFT. Powstały produkt jest bardziej stabilny niż oznaczany rodnik. Dodatkowo powstałe produkty różnią się miejscem akceptorowym elektronu w zależności od stabilizowanego rodnika co pozwala na jakościową analizę rodników. „Pułapki”, którymi są związki nitrowe różnią się od siebie nawzajem szybkością reakcji z rodnikami tlenowymi. Stałe szybkości tych reakcji są zazwyczaj małe dlatego też wskazane jest stosowanie dużych stężeń pułapek spinowych (5-200 mmolxl⁻¹). [,]

Niebawem dostępne będą banki danych zawierające parametry widm EPR adduktów pułapkowania, które pozwolą na dokładną identyfikację wolnego rodnika a będzie to możliwe w oparciu o widma EPR adduktów powstałych z pułapkowania.

Autor: Karolina Wójciuk

<http://laboratoria.net/artukul/15707.html>

Informacje dnia: [Jak otworzyć laboratorium? Dziękujemy za odwiedziny na targach Labs Expo W przyszłości będziemy jedli mięso z drukarki Ruszył nabór na wspólne projekty przedsiębiorców i naukowców; w puli 66 mln zł Błonica - choroba groźna także dla dorosłych 87% internautów uważa hejt za poważny problem społeczny](#) [Jak otworzyć laboratorium? Dziękujemy za odwiedziny na targach Labs Expo W przyszłości będziemy jedli mięso z drukarki Ruszył nabór na wspólne projekty przedsiębiorców i naukowców; w puli 66 mln zł Błonica - choroba groźna także dla dorosłych 87% internautów uważa hejt za poważny problem społeczny](#) [Jak otworzyć laboratorium? Dziękujemy za odwiedziny na targach Labs Expo W przyszłości będziemy jedli mięso z drukarki Ruszył nabór na](#)

[wspólne projekty przedsiębiorców i naukowców; w puli 66 mln zł Błonica - choroba groźna także dla dorosłych 87% internautów uważa hejt za poważny problem społeczny](#)

Partnerzy