

17. Сормачева Н.Д., Блинов А.Г. LTR ретротранспозоны растений. *Вавиловский журнал генетики и селекции*, 2011, № 15 (2), с. 351-381. [Sormacheva I.D., Blinov A.G. LTR retrotransposons in plants. *Vavilovskiy zhurnal genetiki i seleksii*, 2011, vol. 15 (2), pp. 351-381. (In Russ.)]
18. Cordaux R., Udit S., Batzer M.A., Feschotte C. Birth of a chimeric primate gene by capture of the transposase gene from a mobile element. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, vol. 103 (21), pp. 8101-8106.
19. Jurka J. Conserved eukaryotic transposable elements and the evolution of gene regulation. *Cell Mol Life Sci.*, 2008, vol. 65, pp. 201-204.
20. Lim J.K., Simmons M.J. Gross chromosome rearrangements mediated by transposable elements in *Drosophila melanogaster*. *Bioessays*, 1994, vol. 16 (4), pp. 269-275.
21. Rebollo R., Romanish M.T., Mager D.L. Transposable elements: an abundant and natural source of regulatory sequences for host genes. *Annu Rev Genet.*, 2012, vol. 46, pp. 21-42.
22. Kohany O., Gentles A.J., Hankus L., Jurka J. Annotation, submission and screening of repetitive elements in Repbase: RepbaseSubmitter and Censor. *BMC Bioinformatics*, 2006, vol. 25 (7), p. 474
23. Jurka J. Repeats in genomic DNA: mining and meaning. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 1998, vol. 8, pp. 333-337.
24. Llorens C., Muñoz-Pomer A., Bernad L., Botella H., Moya A. Network dynamics of eukaryotic LTR retroelements beyond phylogenetic trees. *Biol Direct.*, 2009, vol. 4, p. 41.

СООТВЕТСТВИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БИОМОДЕЛИ И МЕТОДОВ ЕЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Алексеева О.М.¹, Кременцова А.В.¹, Шибряева Л.С.¹, Кривандин А.В.¹,
Шаталова О.В.¹, Ким Ю.А.², Ягольник Е.А.³

¹ Институт биохимической физики РАН
г. Москва, РФ

e-mail: olgavek@yandex.ru;

² Институт биофизики клетки РАН
г. Пущино, РФ

e-mail: yuk01@rambler.ru;

³ Тульский государственный университет
Ул. Косыгина, 4, г. Москва, 119334, РФ
e-mail: yea_88@mail.ru

Аннотация. Рассматривается применение методов ДСК и малоуглового рентгеновского рассеяния (МУРР) для исследования структуры 2-х видов экспериментальных объектов. Это - мультиламеллярные липосомы, сформированные из синтетического индивидуального фосфолипида, и второй объект мультиламеллярные липосомы, сформированные из смеси природных фосфолипидов. Необходимость изучения структуры мультиламеллярных липосом обусловлена тем, что такой экспериментальный объект достаточно хорошо отражает свойства многослойных мембран в живых клетках. Мембраны в процессе жизнедеятельности клетки меняют свою структуру, и, как первая мишень на пути биологически активных веществ (БАВ), могут менять свои структурные параметры при воздействии БАВ. Основной акцент - мультиламеллярные липосомы, сформированные из индивидуального синтетического фосфолипида или из природной смеси фосфолипидов необходимо исследовать разными методами. При этом возможно получить адекватные структурные характеристики на разном организационном уровне. Мультиламеллярные липосомы, сформированные из индивидуального фосфолипида, также и в присутствии БАВ, являются адекватным экспериментальным объектом для изучения методами ДСК и МУРР. Применение ДСК, выявляющего фазовые переходы фосфолипида позволяет оценить микродоменную организацию каждого бислоя в составе мультиламеллярных липосом, контрольных и при воздействии БАВ. Однако исследование смеси природных фосфолипидов методом ДСК не позволяет получить полную информацию о параметрах индивидуальных основных фазовых переходов каждого из компонентов смеси. Возможно получение весьма общей картины на термограммах, без характеристик кооперативности переходов, изменении теплоемкости и сдвигов температуры в максимуме перехода для отдельных компонентов смеси. При исследовании структуры липосом, сформированных из смеси природных фосфолипидов, применение метода МУРР позволяет адекватно оценить структурные свойства липосом также и при воздействии БАВ. При этом регистрируются структурные параметры мультиламеллярных липосом на следующем организационном уровне: упорядоченность упаковки бислоев в мультиламеллярной липосоме и изменение толщины бислоев в контроле и при воздействии БАВ.

Ключевые слова: ДСК, малоугловое рентгеновское рассеяние, мультиламеллярные фосфолипидные липосомы

THE CORRECT APPLICATION OF METHODS FOR INVESTIGATION OF DIFFERENT EXPERIMENTAL MODELS

Alekseeva O.M.¹, Krementsova A.V.¹, Shibryaeva L.S.¹, Krivandin A.V.¹,
Shatalova O.V.¹, Kim Yu.A.², Yagolnik E.A.³

¹N.M. Emmanuel Institute of Biochemical Physics RAS

Moscow, Russia

e-mail: olgavek@yandex.ru

²Institute of Cell Biophysics RAS

Pushchino, Russia

e-mail: yuk01@rambler.ru

³Tula State University

Kosigina, 4, Moscow, 119334, Russia

e-mail: yea_88@mail.ru

Abstract. Article is devoted to application of DSC and small-angle X-ray scattering (SAXS) for study of structure of two types of experimental objects - multilamellar liposomes, formed from synthetic individual phospholipid, and another, formed from mixture of nature phospholipids. It is an actual task, because such experimental objects adequately reflect properties of multilayer biomembranes. Cellular fates depend on membrane structure – the first target for biologically active substances (BAS) which change membrane properties. The main thesis is that the multilamellar liposomes, formed from individual phospholipid or from natural mixture of phospholipids should be investigated by different methods characterizing different levels of structure organization. Multilamellar liposomes formed from individual phospholipid, as control sample and under the action of BAS, are appropriate objects for DSC and SAXS study. DSC registers thermodynamic parameters of main phospholipid phase transitions that characterize bilayer microdomains organization. Examining by DSC of natural phospholipids mixture does not give any complete information on thermodynamic parameters of individual main phase transitions of each component of the mixture. Researchers obtain the thermograms, without correct characteristics of transitions cooperativity, heat capacity, and temperature at transition peak for each individual lipid component. In SAXS study of liposomes formed from mixture of nature phospholipids researchers obtained adequate characteristic of structural properties of liposomes in control sample and under the action of BAS. By SAXS application the structure parameters of multilamellar liposomes are obtained at the higher organization levels concerning the thickness of bilayers and their packing in multilamellar liposome in control samples and under the action of BAS.

Key words: DSC, small-angle X-ray scattering (SAXS), phospholipids, multilamellar liposomes.

Основная цель работы показать, что разные по организационному уровню экспериментальные объекты исследуются соответствующими методами, дающими возможность количественно оценить параметры структуры моделей, но уже и на разных организационных уровнях. В данном случае от оценки микродоменной организации фосфолипидов внутри бислоев мембран до определения толщин бислоев и порядка упаковки бислоев в составе мультислойной липосомы.

Итак, первичной мишенью для любого биологически активного вещества (БАВ) при попадании в организм животного являются мембраны, ограждающие клетки от воздействия внешней среды. Структурная основа биомембран белки и липиды. В наших исследованиях для формирования первичных модельных экспериментальных объектов использовались липиды одного из 8-ми важнейших классов липидов живых организмов глицерофосфолипиды (фосфолипиды). Молекулы фосфолипидов состоят из гидрофильной полярной головки с заряженными фосфатными группами, и гидрофобной неполярной части. Суммарно молекула может быть нейтральной или заряженной отрицательно. Гидрофобная часть состоит из жирнокислотных остатков. Такое строение молекулы позволяет фосфолипидам в зависимости от стереоспецифических параметров и соотношения размеров полярной головки и неполярных жирнокислотных остатков формировать бислоиные или гексагональные образования в водных средах. Эти структуры как раз и встречаются в живых организмах. В качестве экспериментальной модели были использованы фосфолипидные бислоиные мембраны липосом, взвешенных в разбавленном водном растворе фосфатного буфера. В разбавленных растворах эффекты слишком малы, поэтому для исследований организации тонкой структуры липосом использовали метод адиабатной дифференциальной сканирующей микрокалориметрии (ДСК).

Метод ДСК основан на измерении мощностей, подводимых к ячейкам, прогреваемым со строго одинаковой скоростью. Метод позволяет оценить тепловые эффекты исследуемых систем: изменение теплоемкости, теплоты фазовых переходов. В разбавленных растворах тепловые эффекты, обусловленные макромолекулами, чрезвычайно малы (теплоемкость биополимеров в 0,3 % растворе составляет лишь тысячную долю от общей теплоемкости растворителя). Измерения с помощью сверхчувствительного ДАСМ-4 (дифференциальный адиабатный сканирующий микрокалориметр) [1] позволили оценить структурные изменения в организации липидных микродоменов в бислое в присутствии БАВ.

В качестве вещества для формирования липосом был выбран синтетический индивидуальный глицерофосфолипид димиристоилфосфатидилхолин (ДМФХ). Его углеводородные цепи - это два остатка насыщенной миристиновой кислоты. Молекулы ДМФХ имеют форму цилиндра. Размер фосфатной головки небольшой, поэтому из такого фосфолипида возможно сформировать бислоиные большие липосомы с небольшой кривизной мембраны [2]. Для исследования микродоменной структуры бислоиной мембраны,

состоящей из ДМФХ, использовали мультламеллярные липосомы, сформированные при гидратации в фосфатном буфере при нейтральных значениях pH при температуре выше основного фазового перехода. Тонкие высушенные под вакуумом пленки ДМФХ гидратируются последовательно слой за слоем, что и способствует образованию многослойных везикулярных структур, состоящих из бислойных мембран (см. рис. 1). По данным электронной микроскопии полученные липосомы имеют мультламеллярную структуру размером до 2000 Å [3], состоящую из множества вложенных друг в друга бислойных липосом.

При плавлении мультламеллярных липосом ДМФХ методом ДСК на кривой плавления четко выявляются 2 изолированных друг от друга пика, отражающие термоиндуцированные эндотермические фазовые переходы: предпереход и второй - основной переход. Интерпретация кривой плавления, описывающая переходы в индивидуальном соединении наиболее проста. Неярко выраженный пик в области 14-15 °С отражает предпереход, при котором происходит перестройка упорядоченной упаковки фосфолипидов в гель-фазе в риппл-фазу (рифленую фазу). Затем происходит основной эндотермический переход (24,3 °С) в менее упорядоченное состояние фазы жидкого кристалла. Методом электронной микроскопии риппл-фаза наблюдалась для некоторых фосфатидилхолинов, в частности для ДМФХ и ДПФХ (дипальмитоил-фосфатидилхолина). Было показано, что период волнистости характерен для каждого вида липидов. Периодичность волнистости и ее амплитуда меняется в зависимости от факторов, влияющих на бислои [2]. С точки зрения воздействия БАВ на мембраны риппл-фаза представляет большой интерес, т.к. в этот период сосуществуют фосфолипидные микродомены, находящиеся в состоянии гель-фазы и микродомены – в состоянии жидкого кристалла. Это и обуславливает рифленую картину при электронной микроскопии. На стыке между микродоменами образуются короткоживущие гидрофильные наноразмерные поры [4]. Через них может проникать гидрофильное вещество ко всем внутренним липосомам, составляющим мультламеллярную липосому (см. рис. 1), поэтому влияние БАВ проявляется на ДСК параметрах пиков (см. рис. 2). Максимум основного фазового перехода ДМФХ достигается при 24,3 °С, по площади пика определяется теплоемкость эндотермического пика, на полувысоте пика определяется полуширина, величина, обратная

кооперативности

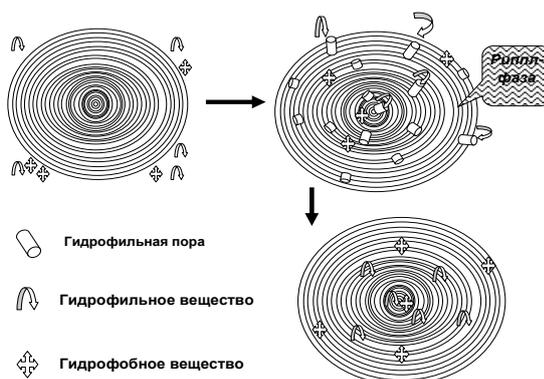


Рисунок 1 – Схема строения мультламеллярных липосом, сформированных из фосфолипидов. Во время «Риппл-фазы» образуются наноразмерные гидрофильные поры [4] и гидрофильные БАВ проникают к поверхности всех бислойных липосом в составе мультламеллярных липосом. Гидрофобные БАВ насыщают бислои, встраиваясь среди фосфолипидов

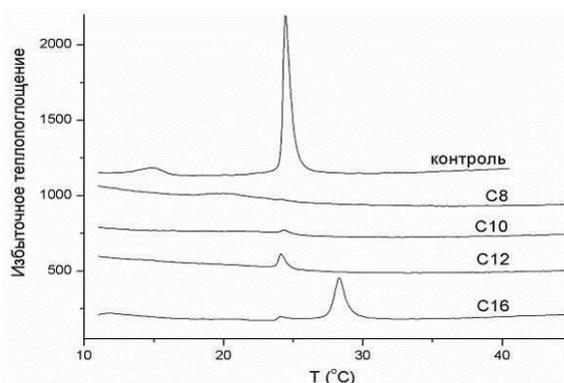


Рисунок 2 – Кривые, полученные при плавлении ДМФХ мультламеллярных липосом в присутствии гидрофобных БАВ- ИХФАНов с разной длиной гидрофобной части молекул от C8 до C12. ИХФАН- C16 формирует собственную фазу доменов в бислое при концентрациях 10^{-5} - 10^{-6} М. Большие концентрации C10 и C12 максимально меняют бислои, C8 и C16 влияют меньше. Оптимальная длина проникающих в бислои жирнокислотных остатков C10, C12

перехода. Экспериментальный объект и ДСК метод в случае ДМФХ липосом – это адекватная модель для исследования действия БАВ на липидную составляющую биомембран. БАВ могут оказывать существенное влияние на липидный бислой, изменяя параметры фазовых переходов липидов, что указывает на локализацию БАВ в бислое, и позволяет предположить механизмы взаимодействия с липидами. Плавление бислоя происходит при физиологических температурах. Мультиламеллярные липосомы отражают многослойное строение внутриклеточных органелл. По ДСК параметрам кривых плавления индивидуального фосфолипида с ярко выраженным пиком основного фазового перехода при воздействии БАВ в разных концентрациях четко выявляется доза-зависимая способность вещества встраиваться в фосфолипидный бислой или же действовать с поверхности бислоя. При определенных концентрациях либо разрушается микродоменная структура бислоя, либо укрепляется для противодействия различным воздействиям.

Предлагаемый подход методом ДСК для изучения свойств мембран достаточно корректен, т.к. главный термоиндуцированный фазовый переход, т.е. переход из твердого состояния геля в упорядоченное жидкое состояние жидкого кристалла играет важнейшую роль в мембранах живого организма. В жидкой фазе легко происходят все конформационные перестройки белков, формирование олигомеров, флип-флоп липидов, латеральные перемещения. В твердой фазе все эти виды биологической подвижности затруднены, соответственно, и все структурные и функциональные активности заторможены. В состоянии жидкого кристалла и структура мембраны поддерживается, и торможение всех конформационных процессов отсутствует [2]. Поэтому исследование действия БАВ на термоиндуцированные переходы липидной фазы важнейшее звено в цепи тестирования биологических эффектов БАВ. Экспериментальный модельный объект, сформированный из индивидуального нейтрального фосфолипида ДМФХ, является простейшим и проявляет большую уязвимость для внешних воздействий.

Следующий экспериментальный объект, достаточно близко имитирующие природные мембраны, это липосомы, содержащие смесь липидов. Многослойные (мультиламеллярные) липосомы сформированы из нейтральных, положительно и отрицательно заряженных фосфолипидов, их организационный уровень по сравнению с липосомами, содержащими индивидуальный фосфолипид, значительно выше. Они, как модель соответствуют устойчивым природным мембранам. Именно равновесное распределение фосфолипидов и обеспечивает стабильность бислоев. Известно, что деструкция плазматической мембраны клеток при запрограммированной гибели клеток – апоптозе, как раз и вызывается перераспределением фосфолипидов. В исходно уравновешенной по зарядам и топографии мембране происходит переход фосфатидилсерина во внешний листок бислоя, что вызывает дестабилизацию заряда и регулярности упаковки, структура нарушается, происходит фрагментация мембраны.

Поэтому далее рассмотрим способ проведения исследования влияния БАВ в широком диапазоне концентраций на структурную организацию липидов в мембранах, состоящих из смеси природных фосфолипидов. В качестве экспериментального объекта использовали мультиламеллярные липосомы из яичного лецитина. Такие мультиламеллярные липосомы из яичного лецитина являются удобной моделью, приближенной по своему составу и строению к природным мембранам.

Мультиламеллярные липосомы могут служить хорошей моделью природных мембран. В клетке в результате ее жизнедеятельности расположение мембран меняется, мембраны сближаются, удаляются, структура самой мембраны упорядочивается или становится разупорядоченной. Действие биологически активного вещества может не иметь определенной мишени и, тем не менее, значительно затрагивать все процессы, влияя на упорядоченность структуры на разных организационных уровнях от степени регулярности мембран и толщины бислоя до взаимного расположения бислоев.

Выбор яичного лецитина для исследования действия мелафена на мембраны, состоящие из природных фосфолипидов, был обусловлен следующими причинами. Яичный лецитин преимущественно содержит фосфодитилхолин, фосфатидилэтанолламин, и в малых количествах фосфатидилинозитол и сфинголипиды. В состав молекулы таких фосфолипидов входят полярные группы: холин, этаноламин, инозит, и жирнокислотные остатки разной величины и степени насыщенности. Эти фосфолипиды содержатся во всех мембранах клеток животного происхождения, составляя основу структурного обеспечения целостности мембран, а также и функционального обеспечения деятельности мембранных компонентов. Для активной работы интегрированных и ассоциированных мембранных белков: рецепторов, каналов, ионных обменников, насосов и ферментов, необходим определенный состав окружения этих белковых структур.

Отметим, что в липосомах, сформированных из яичного лецитина, корректно измерить микродоменную организацию липидов бислоя используемым нами методом ДСК не представлялось возможным в силу того, что температурные максимумы переходов в смеси фосфолипидов перекрыты и индивидуальные пики не выявлены. В результате четкой картины, пригодной для количественной оценки параметров термоиндуцированных переходов не получали. Для исследования действия БАВ на фосфолипидные мембраны, состоящие из природных липидов, нами был использован метод МУРР [5]. Этот метод позволяет, проведя анализ измеренной интенсивности малоуглового рентгеновского рассеяния суспензией многослойных липосом, получить информацию о пространственной структуре липидных мембран и характере их взаимного расположения (укладке) в липосомах. Исследование липосом проводили на автоматизированном малоугловом рентгеновском дифрактометре, изготовленном в Институте биохимической физики РАН на основе конструкции малоуглового рентгеновского дифрактометра АМУР-К, разработанного в Институте кристаллографии РАН. Были исследованы суспензии многослойных липосом, сформированных из яичного лецитина [6]. На дифрактограммах всех

исследованных суспензий липосом наблюдаются два дифракционных пика с максимумами при $S \approx 0.14 \text{ нм}^{-1}$ и $S \approx 0.29 \text{ нм}^{-1}$, которые являются первым и вторым порядками отражения от упорядоченных мультислоев липидных мембран в липосомах ($S = (2\sin\theta)/\lambda$, где 2θ и λ – угол рассеяния и длина волны рентгеновского излучения). Дифрактограммы всех исследованных дисперсий липосом с БАВ и контрольных совпадают (см. рис. 3). Следовательно, структура мембран в этих липосомах одинаковая.

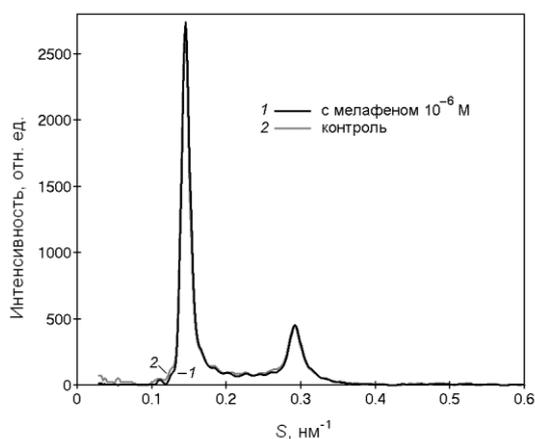


Рисунок 3 – Дифрактограммы суспензии мультитамеллярных липосом из яичного лецитина, содержащей 10^{-6} М мелафена (1), и без мелафена (2).

Проведено сглаживание экспериментальных данных и введена коллимационная поправка. $S = (2\sin\theta)/\lambda$

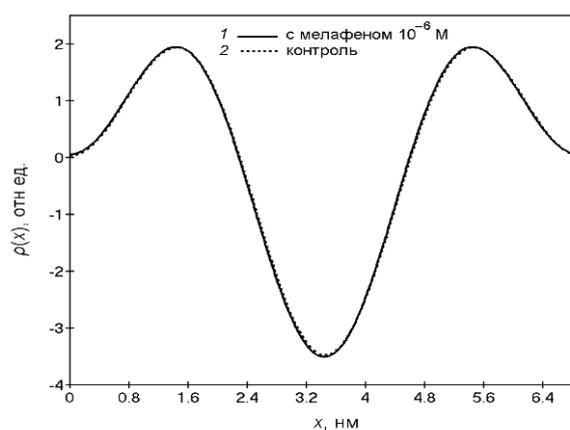


Рисунок 4 – Профили электронной плотности фосфолипидных мембран в мультитамеллярных липосомах из яичного лецитина: 1 – при концентрации мелафена в буфере 10^{-6} М, 2 – для контрольной суспензии липосом без мелафена. x – расстояние в направлении, перпендикулярном плоскости мембраны

Период повторяемости мембран в липосомах, определенный по формуле Вульфа-Брэгга, составляет 6.9 нм. Профиль электронной плотности мембран в липосоме (распределение электронной плотности в направлении перпендикулярном плоскости мембран), приведен на рисунке 4. Толщина одной мембраны, определенная, как расстояние между пиками электронной плотности, соответствующими положению полярных групп липидов, составляет около 4 нм. Результаты малоуглового рентгеновского исследования показывают, что БАВ (мелафен) не оказывает заметного влияния на структуру мультитамеллярных липосом, сформированных из яичного лецитина. Для доза-зависимого воздействия ИХФАНов показаны значительные изменения толщины бислоев и порядка их укладки [7]. Таким образом, с помощью МУРР возможно получить количественные характеристики: пространственную структуру – ширину бислоя и взаимное расположение бислоев в укладке в мультитамеллярной липосоме.

В заключение отметим, что разные по составу компоненты экспериментальные модельные объекты, исследованные строго соответствующими методами, дают возможность количественно оценить влияние БАВ на разные параметры мембран. Регистрация фазовых переходов с помощью ДСК при плавлении липосом из индивидуального фосфолипида продемонстрирует температурные характеристики фазовых переходов, кооперативность переходов и теплоемкость. Это характеристики микродоменной структуры фосфолипида внутри каждого бислоя. Изменения размеров бислоев и расстояний при их упаковке внутри многослойных липосом регистрируется методом МУРР. Методами ДСК и МУРР можно так охарактеризовать липосомы, состоящие из индивидуального фосфолипида. Но смеси фосфолипидов в многослойных липосомах затруднительно охарактеризовать методом ДСК. Плавление липосом, состоящих из смеси природных фосфолипидов, не покажет четкого разделения на индивидуальные пики фазовых переходов. Природные липиды преимущественно имеют близкие температуры фазовых переходов. При температуре, характерной для активного состояния животных, липидная фаза находится в состоянии жидкого кристалла. И все молекулы, составляя бислоем, взаимно располагаются соответственно своим стереоспецифическим характеристикам. При плавлении из-за разной стереоспецифичности липиды проявляют разную способность к латеральной диффузии и «флип-флоп»-перескокам в листках бислоев [8]. Определение микродоменной организации невозможно, т.к. состав микродоменов будет меняться в процессе плавления, и данные можно получить только описательного характера. Для того, чтобы разнести по кривой ДСК плавления пики основных фазовых переходов смеси фосфолипидов, необходимо применять специальные подходы – изменять скорость нагревания и охлаждения образцов, повторять несколько раз процесс плавления–охлаждения «reheating» [9]. Присутствие холестерина в области жирнокислотных хвостов в природной смеси липидов, вовсе ликвидирует пик фазового перехода [10]. Правильнее применить метод МУРР, который не покажет микродоменную организацию смеси природных фосфолипидов внутри каждого бислоя, но количественно охарактеризует порядок упаковки бислоев в составе мультитамеллярной липосомы, и покажет ушивание или сжатие толщины каждого из бислоев.

Список литературы / References:

1. Privalov P.L., Plotnikov V.V. Three generations of scanning microcalorimeters for liquids. *Therm. Acta.*, 1989, vol. 139, pp. 257-277.
2. Тараховский Ю.С. *Интеллектуальные липидные наноконтейнеры в адресной доставке лекарственных веществ*. М.: Издательство ЛКИ, 2011, 280 с. [Tharachovsky Yu.S. *Intellectual lipid's nanoccontainers at address transport of medical substances*. Moscow, LKI, 2011, 280 p. (In Russ.)]
3. Тараховский Ю.С., Кузнецова С.М., Васильева Н.А., Егорочкин М.А., Ким Ю.А. Взаимодействие таксифолина (дигидрокверцетина) с мультиламеллярными липосомами из димиристоилфосфатидилхолина. *Биофизика*, 2008, т. 53, № 1, с. 78-84. [Tharachovsky Y.S., Kuznetsov S.M., Vasilyev N.A., Egorochkin M.A., Kim Yu.A. Taxifolin interaction (dihydroquercetin) with multilamellar liposomes from dimitristoyl phosphatidylcholine. *Biophysicist*, 2008, vol. 53, no. 1, pp. 78-84. (In Russ.)]
4. Антонов В.Ф., Смирнова Е.Ю., Шевченко Е.В. *Липидные мембраны при фазовых превращениях*. М.: Наука, 1992, 125 с. [Antonov V.F., Smirnova E.Yu., Shevchenko E.V. *Lipid membrane in phase transformations*. M.: Science, 1992, 125 p. (In Russ.)]
5. Свергун Д.И., Фейгин Л.А. *Рентгеновское и нейтронное малоугловое рассеяние*. М.: Изд-во Наука, 1986, 280 с. [Feigin L.A., Svergun D.I. *Structure analysis by small-angle X-ray and neutron scattering*. New York: Plenum Press, 1987, 280 p. (In Russ.)]
6. Алексеева О.М., Кривандин А.В., Шаталова О.В., Рыков В.А., Фаттахов С.Г., Бурлакова Е.Б., Коновалов А.И. Исследование взаимодействия мелафена с фосфолипидными мембранами. *ДАН*, 2009, т. 427, № 6, с. 837-839. [(In Russ.)]
7. Кривандин А.В., Фаткуллина Л.Д., Шаталова О.В., Голощанов А.Н., Бурлакова Е.Б. Исследование встраивания антиоксиданта ИХФАН в липосомы методом малоуглового рентгеновского рассеяния. *Химическая физика*, 2013, т. 32, № 5, с. 91-96. [Krivandin A.V., Fatkullina L.D., Shatalova O.V., Goloshchapov A.N., Burlakova E.B. Small Angle X-ray Scattering Study of the Incorporation of ICHPHAN Antioxidant in Liposomes. *Russian Journal of Physical Chemistry B.*, 2013, vol. 7, no. 3, pp. 338-342. (In Russ.)]
8. Филиппов А.В., Рудакова М.А., Гиматдинов Р.С., Семина И.Г. *Диффузия липидов в биологических мембранах*. Учебное пособие для студентов третьего и четвертого курсов специализации. Медицинская физика физического факультета. Казань, 2006. [Filippov A.V., Rudakova M.A., Gimatdinov P.S., Semina I.G. *Lipids diffusion at biological membranes*. Educational material for students of third and fourth courses specialization. Medical physics of physics department. Kazan, 2006. (In Russ.)]
9. Геннис Р. *Биомембраны – Молекулярная структура и функции*. М., изд-во МИР, 1997г. [Gennis R.B. *Biomembranes. Molecular structure and function*. M.: Mir, 1997. (In Russ.)]
10. Lindblom G., Oradd G., Filipov A. Lipid lateral diffusion in bilayers with phosphatidylcholine, sphingomyelin and cholesterol. An NMR study of dynamics and lateral phase separation. *Chem Phys Lipids*, 2006, vol. 141, pp. 179-184.

**ВЛИЯНИЕ ИОННОЙ СИЛЫ СРЕДЫ И ПРИРОДЫ ПРОТИВОИОНОВ НА ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ
МОЛЕКУЛЫ ДНК С ПРОИЗВОДНЫМИ АКТИНОЦИНА**

Морошкина Е.Б.

Санкт-Петербургский государственный университет
Университетская наб., 7/9, г. Санкт-Петербург, 199034, Россия
e-mail: evmorosh@mail.ru

Аннотация. Взаимодействие ДНК с различными производными актиноцина, аналогами антибиотика актиномицина D, было исследовано спектральными, гидродинамическими и оптическими методами. Термодинамические параметры взаимодействия и стехиометрия комплексов были определены с помощью спектрофотометрического титрования. Способ связывания и структура комплексов определялись с помощью анализа изменений характеристической вязкости и оптической анизотропии макромолекулы при образовании комплекса. Была исследована зависимость термодинамических параметров и способа связывания с ДНК производных актиноцина от природы его заместителей и ионной силы среды. Показано, что протонированные заместители хромофора увеличивают сродство лиганда к ДНК. Интеркаляция актиноцинового хромофора в двойную спираль ДНК происходит только при оптимальной длине линкера, соединяющего хромофор с протонированной группой заместителя. В случае краунсодержащих производных актиноцина природа противоионов и ионная сила среды оказывает влияние не только на сродство соединения к ДНК, но и на его способ связывания с макромолекулой.

Ключевые слова. ДНК, бензокраунсодержащие производные актиноцина, спектрофотометрия, вискозиметрия, оптическая анизотропия, взаимодействие, интеркаляция, ионная сила среды.