

6. Мажуль В.М., Ермолаев Ю.С., Конев С.В. Триптофановая флуоресценция при комнатной температуре – новый метод изучения структурного состояния биологических мембран и белков в клетке // ЖПС. – 1980. – Т. 32, Вып. 5. – С. 903 – 907.

## СВОЙСТВА МОЛЕКУЛЯРНЫХ РОТОРОВ НА ОСНОВЕ НОВЫХ СТИРИЛОВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ

Луговский А.А.<sup>1</sup>, Самцов М.П.<sup>1</sup>, Луговский А.П.<sup>1</sup>,  
Лавыш А.В.<sup>2</sup>, Маскевич А.А.<sup>2</sup>, Кузнецова И.М.<sup>3</sup>, Туроверов К.К.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

<sup>2</sup> Гродненский госуниверситет им. Я. Купалы, Гродно, Беларусь

<sup>3</sup> Институт цитологии Российской академии наук, Санкт-Петербург, РФ

В настоящее время однозначно показано, что болезнь Альцгеймера и ряд других прогрессирующих нейродегенеративных расстройств связаны со спонтанной пространственной перестройкой определённого белка (специфичного для каждого заболевания) и его последующей полимеризацией с образованием амилоидных фибрилл (АФ) с молекулярной массой в несколько миллионов дальтон, вызывающих дегенерацию нейронов [1]. Обнаружение АФ в различных тканях является актуальной задачей для разработки эффективной диагностики данных заболеваний на ранних стадиях. В качестве флуоресцентного зонда для изучения АФ широко используется бензотиазоловый краситель тиофлавин Т (ThT), образующий интенсивно флуоресцирующий в сине-зеленой области (450–500 нм) комплекс. Однако использование ThT в опытах *in vivo* осложняется тем, что в этой спектральной области биологические ткани обладают значительным собственным поглощением и флуоресценцией.

Нами был синтезирован ряд производных ThT, обладающих длинноволновым поглощением и флуоресценцией и являющихся перспективными в качестве флуоресцентных красителей для детекции и изучения структуры фибрилл и протофибрилл. Выполнены измерения спектров поглощения и флуоресценции синтезированных соединений в растворителях различной полярности. Максимумы спектров поглощения красителей смещаются в длинноволновую область с ростом длины полиметиновой цепочки. Так максимум поглощения соединения (1) в изопропанолe находится на длине волны 421 нм, для монокарбостирилового соедине-

ния (2) – 543 нм, а для дикарбостириловых красителей (3) и (4) – 584 и 556 нм, соответственно.

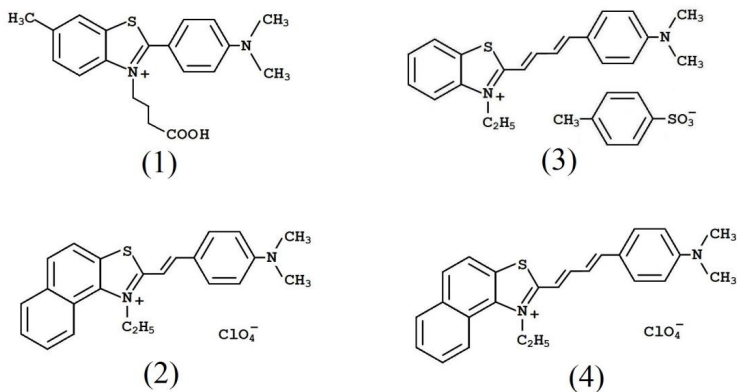


Рисунок 1 – Структуры синтезированных соединений

Установлено, что с ростом полярности растворителя спектр поглощения всех полученных соединений испытывает гипсохромный сдвиг. Вследствие взаимодействия молекул красителя с полярными молекулами растворителя энергия основного состояния понижается, что и приводит к гипсохромному сдвигу спектра поглощения. При этом величина сдвига увеличивается с ростом полиметиновой цепочки исследуемых стириловых красителей. Положение спектра флуоресценции также изменяется в различных растворителях, однако не наблюдается определенной зависимости от полярности растворителя.

Выполнены измерения спектров флуоресценции (возбуждение 520 нм) и кинетики затухания флуоресценции (возбуждение 467 нм) красителей в водно-глицериновых растворах, имеющих различную вязкость. Установлено, что с ростом вязкости растворителя существенно возрастает интенсивность и длительность затухания флуоресценции всех исследуемых соединений. Такое свойство данных соединений позволяет отнести их к классу молекулярных роторов [1]. Например, при увеличении вязкости среды на 2 порядка интенсивность флуоресценции соединения (3) увеличивается примерно на порядок, а длительность затухания возрастает от 0,09 до 1,15 нс. Интересно отметить, что для соединения (1) характерно наличие двух полос поглощения с максимумами на 330 и 420 нм, причем при возбуждении на 330 нм интенсивность флуоресцен-

ции соединения (1) снижается практически в 2 раза, в то время как при возбуждении на 420 нм интенсивность флуоресценции возрастает примерно в 60 раз при увеличении вязкости раствора на 2 порядка. При этом оптическая плотность на длинах волн возбуждения с увеличением вязкости практически не изменялась.

Для исследования спектральных свойств соединений (1)–(4) в водном (рН 6,0) растворе в присутствии протофибрилл и фибрилл, измерения выполняли в процессе приготовления фибрилл (т.е. инкубации белка), добавляя к раствору красителя одинаковое количество раствора инкубируемого инсулина быка, а также в присутствии зрелых фибрилл при различных концентрациях. Результаты измерений представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Интенсивность флуоресценции синтезированных красителей в зависимости от концентрации АФ ( $C_{\text{АФ}}$ )

Соединение	Интенсивность флуоресценции, отн. ед.			
	без фибрилл	$C_{\text{АФ}} = 0,05$ мг/мл	$C_{\text{АФ}} = 0,08$ мг/мл	$C_{\text{АФ}} = 0,10$ мг/мл
(1) (возб. 390 нм)	15,7	18,7	29,5	31,7
(2) (возб. 500 нм)	3,4	21,0	34,3	42,1
(3) (возб. 500 нм)	7,5	22,8	31,9	35,7
(4) (возб. 500 нм)	6,7	26,7	41,9	52,3

На основании полученных результатов можно заключить, что в присутствии АФ в растворе происходит значительное возрастание интенсивности флуоресценции производных ThT (особенно соединений (2) и (4)), что может быть объяснено встраиванием молекул данных соединений в фибриллы. При встраивании жесткая структура  $\beta$ -складчатого листа АФ препятствует торсионному вращению фрагментов молекул друг относительно друга, вследствие чего переход в нефлуоресцирующее ПСТ-состояние оказывается невозможным. Это позволяет заключить, что новые синтезированные соединения могут рассматриваться как перспективные флуоресцентные зонды для обнаружения и изучения АФ.

Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ (договор № Ф14Р-226).

## Литература

1. Chimon, S. et al. Evidence of fibril-like  $\beta$ -sheet structures in a neurotoxic amyloid intermediate of Alzheimer's  $\beta$ -amyloid // Nat. Struct. Mol. Biol. – 2007. – 14. – P.1157–1164.

## СИММЕТРИИ В ИЕРАРХИЯХ ХИРАЛЬНЫХ БЛОКОВ ВНУТРИМОЛЕКУЛЯРНЫХ СТРУКТУР БЕЛКОВ

**Малышко Е.В., Твердислов В.А.**

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,  
физический факультет, кафедра биофизики,  
ул. Ленинские горы, д.1, кор.2, Москва, Россия, 119991*

Одним из продуктивных методов теоретической биологии является геометризация задачи. Естественно предположить, что генетический мир нуклеиновых кислот и мир белков должны функционировать в пространстве одного ранга симметрий, но с определенным количественным отличием в материальных носителях. Речь идёт о соотношениях симметрий в первичных, вторичных и т.д. структурных уровнях в нуклеиновых кислотах и белках. При этом обе системы должны быть построены иерархически, чтобы иметь исполнительную и регулирующую подсистемы. Естественным инструментом в комбинаторике структурных корреляций в этих подсистемах становится хиральный дуализм элементов на всех уровнях структурной организации. Предназначение биологических иерархий состоит в способности сопрягать разномасштабные в пространстве и времени процессы.

Впервые в макромолекулярных системах нами были выделены знакопеременные уровни иерархии хиральных объектов в последовательности от «нижнего» ассиметричного атома углерода до суперспиралей и надмолекулярных структур [1,2]. Отмечено закономерное чередование знака хиральности D-L-D-L при переходе на более высокий уровень структурно-функциональной организации ДНК [3]. Последовательность смены знака хиральности в структурно-функциональной иерархии белковых структур подобна той, что мы наблюдали для ДНК: L-D-L-D. Очевиден сдвиг на полпериода, поскольку белковая иерархия «стартовала» с L-аминокислот, а нуклеотидная – с D-углевода дезоксирибозы. Первичная структура белка представляет собой последовательность остатков L-аминокислот. Полипептидная цепь укладывается в спираль или в склад-