

дении иона европия через поглощение конъюгата «ФК–Фен», что подтверждает химическое связывание хелата европия с конъюгатом «ФК–Фен».

На экспрессирующих фолатный рецептор клетках HeLa в системе *in vitro* показано связывание полученного конъюгата «ФК – (Фен)Eu(БТФА)₃» пролиферативно-активными опухолевыми клетками. С использованием ингибиторного анализа установлена определяющая роль в связывании конъюгата клетками экспрессируемого ими фолатного рецептора.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке БРФФИ (договор № Ф10-167).

Литература

1. Савицкий А.П., Соловьев К.Н., Папковский Д.Б. Флуоресцентный иммуноанализ с временным разрешением: концепции, реализация, перспективы // Изв. АН СССР. Сер. физ. – 1990. – Т.54, №3. – С. 518-523.
2. Kamen B.A., Smith A.K. Review of Folate Receptor Alpha Cycling and 5-Methyltetrahydrofolate Accumulation with an Emphasis on Cell Models *in vitro* // Adv. Drug Delivery Rev. – 2004. – V.56. – P. 1085-1097.

ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СОЛЮ ИНДУЦИРУЕМЫХ ЗОЛЬ – ГЕЛЬ ФАЗОВЫХ ПЕРЕХОДОВ В РАСТВОРАХ ГЛОБУЛЯРНЫХ БЕЛКОВ

Рожков С.П., Горюнов А.С.

*Институт биологии, Карельский НЦ РАН, Петрозаводск, Россия
rozhkov@krc.karelia.ru*

Предполагается, что золь↔гель фазовые превращения могут сопровождать множество биохимических реакций в протоплазме. Кроме того, внимание к этим явлениям определяется важными задачами биотехнологии и биологии, в числе которых – их роль в кристаллизации, в патогенезе заболеваний, связанных с конденсацией белка, в производстве фармацевтических белковых препаратов и т.д. Вместе с тем теоретический подход к этой проблеме до сих пор не разработан.

Термодинамическое исследование устойчивости системы вода-белок-соль по отношению к процессам диффузии позволяет построить детерминант устойчивости системы $|\partial^2 G / \partial x_i \partial x_j|$, а из условия его ра-

венства нулю на границе устойчивости получить значения структурных коэффициентов устойчивости $(\partial\mu_1/\partial m_2)_{m_3}$ и $(\partial^2\mu_1/\partial m_2^2)_{m_3}$ [1-2], где μ_1 есть химический потенциал воды, а m_2 и m_3 есть молярные концентрации белка и соли, соответственно. Из условия равенства нулю этих коэффициентов ранее были получены уравнения спинодали и квазиспинодали фазовой диаграммы в аналитическом виде, а также определена температурная зависимость поведения критической точки системы в зависимости от критического состава $X = (m_2/m_3)_{кр}$ [1-2].

Вопрос о нарушении устойчивости раствора белка по отношению к возникновению концентрационной гетерогенности под влиянием солей может быть рассмотрен на основе анализа поведения химического потенциала воды $(\mu_1 - \mu_1^0) = \varphi(m_2, m_3)$, поскольку знак и направление изменения $(\mu_1 - \mu_1^0)$ определяет термодинамическую стабильность раствора. В работе [3] предлагалась фазовая диаграмма водно-солевого раствора белка в координатах изменения $\Delta\mu_1 = (\mu_1 - \mu_1^0)$ от m_2 , построенная на основе вириальных коэффициентов. В ней зависимость $\Delta\mu_1 = f(m_2)$ представлена с учетом двух членов вириального разложения осмотического давления, что математически выражается в параболической форме зависимости. Убывающая ветвь параболы и отрицательные значения $\Delta\mu_1$ соответствуют стабильному состоянию раствора белка в хорошем растворителе. Растущая, но отрицательная часть параболы, хотя и соответствует устойчивому состоянию раствора, указывает на рост свободной энергии и уменьшение термодинамического сродства между компонентами раствора. Это характеризует усиление взаимодействия белков. Пересечение параболы с осью ординат, т.е. $(\mu_1 - \mu_1^0) = 0$ означает равновесие раствора белка с твердой фазой. Концентрация белка, при которой происходит пересечение, близка к концентрации насыщения и соответствует растворимости. Однако обычно в присутствии высоких концентраций солей раствор белка теряет термодинамическую устойчивость, что соответствует $(\mu_1 - \mu_1^0) \gg 0$. Выход из этого состояния в новое устойчивое состояние с $(\mu_1 - \mu_1^0) < 0$ ведет к образованию вязкого геля, установление равновесия в котором может потребовать длительного времени, и/или образованию кристаллической фазы.

В настоящей работе проводится анализ интегральной формы коэффициента устойчивости $\mu_1 - \mu_1^0 = \int_0^{m_2} (\partial\mu_1/\partial m_2) dm_2$, который позволяет, в зависимости от концентрации белка и соли, а также ряда других параметров, найти условия изменения знака $\mu_1 - \mu_1^0$, определяющего состояние фазовой устойчивости раствора.

Результат интегрирования и последующего приведения к виду, удобному для анализа, представлен уравнением (1):

$$\mu_i - \mu_i^0 \approx RT \frac{1}{m_i} \frac{(1 \pm \Delta)}{(2 \pm \Delta)} \left\{ \left(\frac{m_2}{z^2} \mp \frac{2m_3}{v\Delta z^2} \ln[4m_3^2(2 \pm \Delta)] + m_2^2 \left(\frac{3m_3 - m_2 v}{6m_3^2 v(2 \pm \Delta)} \right) \right\} + O(m^n) \quad (1)$$

Здесь m_i – молярная концентрация воды ($i=1$), белка ($i=2$), соли ($i=3$); z - заряд белка; v - число ионов соли, адсорбированных на молекуле белка по специфическим центрам сорбции; $\Delta \approx -m_3 \frac{\partial}{\partial m_3} \left(\frac{A\zeta^{1/2}}{1 + rK\zeta^{1/2}} - \sum \alpha_i \zeta^i \right)$ - скорость изменения коэффициента активности соли от ее концентрации (ионной силы ζ), где под знаком дифференцирования стоит расширенное для больших концентраций соли (введением эмпирических поправок α_i .) выражение Дебая-Хюккеля для коэффициента активности электролита. Поскольку для большинства солей коэффициент активности с концентрацией сначала убывает, а потом возрастает, величина производной от этой функции меняет знак. Поэтому в уравнении (1) знак (+) у параметра Δ соответствует высоким концентрациям соли, а знак (-) соответствует низким концентрациям соли. По модулю величины $\Delta < 1$, поэтому важен лишь знак \pm перед вторым слагаемым, не содержащем концентрацию белка m_2 .

Анализ уравнения (1) показывает, что при $m_3 = 0$, $\mu_1 - \mu_1^0$ не определено, что не позволяет оценить устойчивость. Вместе с тем экспериментально в этих условиях регистрируются белковые кластеры. При $z = 0$ система неустойчива, что является известным фактом. При малых концентрациях соли в уравнении (1) перед слагаемым, не содержащим m_2 , стоит знак (+). Но при этом величина под знаком логарифма $4m_3^2(2 \pm \Delta) < 1$, поэтому $\mu_1 - \mu_1^0 < 0$ и соответствует устойчивым состояниям. Это будет до тех пор, пока $4m_3^2(2 \pm \Delta) < 1$. Дальнейшее увеличение концентрации соли при $4m_3^2(2 \pm \Delta) > 1$ вызывает нарастающую потерю устойчивости системы, поскольку $\mu_1 - \mu_1^0 > 0$. Это должно сопровождаться ростом концентрационной микрогетерогенности системы. По мере того, как отрицательные значения $\Delta \rightarrow 0$, $\mu_1 - \mu_1^0 \rightarrow +\infty$ и нестабильность будет возрастать, что вызовет фазовый переход системы типа золь-гель. При переходе параметра Δ через ноль образование геля скачком приведет к повышению устойчивости системы, так как при этом $\mu_1 - \mu_1^0 \rightarrow -\infty$. Однако состояние геля не является стабильным по отношению к дальнейшему росту m_3 , поскольку величина $\mu_1 - \mu_1^0$ по модулю уменьшается с дальнейшим ростом концентрации соли из-за роста Δ . Как следует из последнего слагаемого в уравнении (1), если концентрация белка превы-

сит величину $m_2 > 3m/v$, значение $\mu_1 - \mu_1^0$ снова начинает быстро убывать, что указывает на рост устойчивости вновь возникающего состояния системы, наиболее вероятно, уже кристаллического.

Таким образом, уравнение (1) позволяет теоретически оценить роль электролита в фазовой устойчивости системы вода-белок-соль и установить взаимосвязь между концентрациями компонентов m_2 и m_3 , зарядом белка z , числом адсорбированных ионов электролита и активностью электролита в реализации фазового перехода золь-гель.

Литература

1. Rozhkov S.P., Phase transitions and precrystallization processes in a water-protein-electrolyte system //J.Cryst.Growth.-2004.-Vol.273.-P.266-279.
2. Rozhkov S.P., Goryunov A.S., Thermodynamic study of protein phases formation and clustering in model water-protein-salt solutions //Biophys.Chem. – 2010.- Vol.151.- P. 22-28.
3. Arakawa T., Timasheff S.N. Mechanism of protein salting in and salting out by divalent salts: balance between hydration and salt binding //Biochemistry. - 1984.- Vol.23- P. 5912-5923.

МЕХАНИЗМЫ РЕЛАКСАЦИОННЫХ ПРОЦЕССОВ В КОМПЛЕКСАХ ВОДОРАСТВОРИМЫХ НАНОКРИСТАЛЛОВ CdSe/ZnS И КАТИОННЫХ ПОРФИРИНОВ

¹Сагун Е.И., ¹Кнюкшто В.Н., ¹Ивашин Н.В., ¹Щупак Е.Е.,
²Жавнерко Г.К., ²Каратай Н.В., ²Агабеков В.Е.

¹Институт физики им. Б.И. Степанова НАН Беларуси, Минск, Беларусь

²Институт химии новых материалов НАН Беларуси, Минск, Беларусь

В последние годы в связи с исследованием возможности использования биоконъюгатов, основанных на полупроводниковых нанокристаллах (НК) и биологических молекулах в медицинской практике и, в частности, для создания на их основе препаратов для фотодинамической терапии (ФДТ), стала актуальной задача изучения процессов взаимодействия НК и тетрапиррольных соединений в водных средах.

В данной работе проведено теоретическое и экспериментальное изучение особенностей и механизмов тушения экситонной люминесценции водорастворимых комплексов, образованных при взаимодействии поверхностно-заряженных НК (CdSe/ZnS, $\lambda_{\text{люм.}} = 577$ нм), пассивирован-