

УДК 577.322: 537.632.5

© В. С. Мартынюк, Ю. В. Цейслер, П. С. Калиновский, 2003.

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ КРАЙНЕ НИЗКОЙ ЧАСТОТЫ НА КОНФОРМАЦИОННОЕ СОСТОЯНИЕ СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА ПРИ ЕГО НАСЫЩЕНИИ ХЛОРОФОРМОМ

В. С. Мартынюк¹, Ю. В. Цейслер², П. С. Калиновский²¹ Крымский научный центр НАН Украины (председатель – член-кор. Н. В. Багров).² Кафедра биохимии (зав. каф. – проф. С. В. Коношенко)
Таврического национального университета им. В. И. Вернадского.

РЕЗЮМЕ

Исследовано влияние экологически значимого переменного магнитного поля на вероятность явления различных конформационных форм сывороточного альбумина при его взаимодействии с гидрофобным лигандом – хлороформом. Обнаружено, что тонкая структура спектров сывороточного альбумина изменяется во времени, что свидетельствует о конформационной динамике данного белка в водных растворах. Установлено, что действие магнитного поля частотой 8 Гц индукцией 25 мкТл в условиях насыщения сывороточного альбумина хлороформом сопровождается достоверным снижением доли белковых спектров, не имеющих тонкой структуры. Данный факт свидетельствует об изменении в динамике конформационных переходов белковых глобул при действии магнитного поля крайне низкой частоты.

Ключевые слова: переменное магнитное поле, конформационные состояния, альбумин.

INFLUENCE OF THE ELECTROMAGNETIC FIELD OF THE EXTREMELY LOW FREQUENCY ON CONFORMATION OF SERUM ALBUMIN UNDER ITS SATURATION BY CHLOROFORM

V. S. Martynyuk, Yu. V. Tseisler, P. S. Kalinovsky

SUMMARY

The influence of ecologically significant variable magnetic field on the revealing various conformational forms of serum albumin was investigated at its interaction with waterproof ligand – chloroform. It was revealed, that the thin structure of albumin's spectra changes in time that testifies on conformation change of the given protein in water solutions. It is established, that action of a magnetic field by frequency of 8 Hz induction 25 microtesla in conditions of saturation under serum albumin by chloroform is accompanied by authentic decrease in a share of the proteins spectra which are not having thin structure. The given fact testifies to change in dynamics of conformations transitions of protein under the action of extremely low frequency magnetic fields.

Key words: variable magnetic field, conformation conditions, serum albumin.

ВПЛИВ ЕЛЕКТРОМАГНІТНИХ ПОЛІВ ВКРАЙ НИЗЬКИХ ЧАСТОТ НА КОНФОРМАЦІЙНИЙ СТАН СИРОВАТКОВОГО АЛЬБУМІНУ ПРИ ЙОГО НАСИЩЕННІ ХЛОРОФОРМОМ

В. С. Мартинюк, Ю. В. Цейслер, П. С. Калиновський

РЕЗЮМЕ

Досліджено дію екологічно значущого змінного магнітного поля на вірогідність виявлення різних конформаційних форм сироваткового альбуміну при його взаємодії з гідрофобним лігандом – хлороформом. Виявлено, що тонка структура спектрів сироваткового альбуміну з часом змінюється. Установлено, що дія магнітного поля частотою 8 Гц індукцією 25 мкТл в умовах насичення альбуміну хлороформом супроводжується достовірним зниженням доли білкових спектрів, що не мають тонкої структури. Даний факт свідчить про зміну в динаміці конформаційних переходів білкової глобули при дії магнітного поля вкрай низької частоти.

Ключові слова: змінне магнітне поле, конформаційні стани, тонка структура, альбумін.

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время в связи с быстро расширяющейся сетью применения источников электромагнитных излучений в среде деятельности человека и потребности строгой гигиенической регламентации [2] появилась острая необходимость более точного знания молекулярных механизмов действия факторов электромагнитной

природы [1]. Известно, что переменные поля крайне низких частот (ПНЧ) естественного происхождения являются составной частью биосферных связей [10]. Одновременно ПНЧ техногенного происхождения являются доминирующими в общем электромагнитном фоне, который постоянно воз-

живые организмы. Однако молекулярно-клеточные механизмы биологического действия данного фактора изучены недостаточно.

В соответствии с развивающимися представлениями, первичные механизмы влияния ПемП КНЧ осуществляются на уровне структурных перестроек водной фазы, которые играют важную роль в динамическом поведении и функционировании биополимеров [5-8]. Предполагается, что изменение структурно-динамических свойств воды и её растворов может приводить к изменению гидрофильно-гидрофобного баланса в водно-коллоидных системах, что в свою очередь может оказывать влияние на структурные перестройки биополимеров, в том числе и при их взаимодействии с низкомолекулярными лигандами, в частности с углеводородами и их галогенпроизводными гидрофобной природы [5, 7, 8].

В связи с этим целью настоящего исследования была оценка влияния ПемП КНЧ на вероятность выявления различных конформационных состояний нативного сывороточного альбумина при его взаимодействии с веществом гидрофобной природы – хлороформом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом исследования служили растворы коммерческого лиофильного электрофоретически чистого препарата бычьего сывороточного альбумина.

В настоящем исследовании, так же как и в ряде предыдущих работ [5, 7, 8], в качестве базовой модели гидрофобных взаимодействий было использовано явление насыщения растворов белка низкомолекулярными веществами гидрофобной природы [4]. Насыщение 0.1%-ных растворов бычьего сывороточного альбумина хлороформом осуществляли путем наслаивания 3 мл раствора белка на 1.5 мл хлороформа с последующей инкубацией образцов при комнатной температуре. Согласно [4] насыщение белковых растворов неполярными низкомолекулярными веществами в таких "мягких" условиях не приводит к существенным изменениям структурно-функциональных свойств белков.

О конформационном состоянии сывороточного альбумина судили по наличию тонкой структуры в интегральных спектрах поглощения данного белка. Спектры поглощения экспериментальных растворов альбумина регистрировали на спекрофотометре SPECTROMOM-195 в диапазоне длин волн $\lambda = 230-310$ нм.

С целью выявления конформационных состояний сывороточного альбумина полученные интегральные спектры анализировали на предмет наличия тонкой структуры в отдельных спектральных диапазонах 246-256 нм, 254-274 нм и 270-290 нм (рис. 1.), соответствующих полосам поглощения дисульфидных групп, пептидных связей, ароматических аминокислотных остатков и других функциональных групп [10]. Интегральные спектры классифицировали в соответствии с наличием или отсутствием в выделенных спектральных областях тонкой структуры. Её наличие оценивалось как «1», отсутствие – как «0». Соответственно этому, выборка интегральных спектров была представлена восемью теоретически возможными вариантами (000, 001, 010, 011, 100, 101, 110, и 111), каждый из которых характеризовал конформационное состояние исследуемого белка, доминирующее в определенное время.

Воздействие ПемП на растворы белка осуществляли в течение 24 часов. В процессе магнитно-полевой обработки экспериментальных образцов регистрировали их спектры поглощения через 2, 4, 24 часа после начала инкубации. Проведено 100 экспериментальных серий, в каждой из которых регистрировали спектры поглощения контрольных образцов, не подвергавшихся воздействию ПемП, а также растворов сывороточного альбумина, насыщаемых хлороформом и обработанных магнитным полем.

Импульсное магнитное поле создавали экспериментальной установкой, представляющей собой систему колец Гельмгольца. Импульсы были прямоугольной формы и разной поляризации. Источником тока служил генератор сигналов специальной формы Гб-28. Частота магнитного поля составляла 8 Гц, индукция 25 мкТл. Вектор индукции создаваемого магнитного поля был параллельным вектору геомагнитного поля. Опытные образцы помещали в кольца Гельмгольца. Контрольные пробы находились в условиях фоновых значений ПемП, характерных для данной лаборатории (20-65 нТ). Для оценки возможного влияния различий в уровне фоновых ЭМП в местах расположения опытных и контрольных образцов проводили эксперименты с ложным воздействием МП. В этом случае опытные образцы помещали в установку, но не подвергали воздействию МП.

Для оценки достоверности влияния ПемП использовали t-критерий Стьюдента.

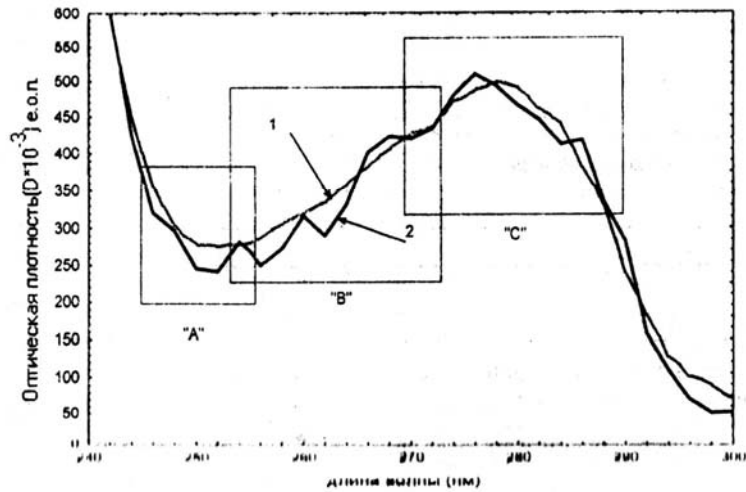


Рис. 1. Спектры поглощения растворов альбумина в ультрафиолетовой области (1 – отсутствие тонкой структуры в спектре; 2 – наличие тонкой структуры в спектре). А, В, С – области спектра, в которых регистрировали отсутствие или наличие тонкой структуры.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ интегральных спектров сывороточного альбумина показал, что их тонкая структура меняется во времени. Наиболее вероятная причина такого динамического поведения исследуемого белка связана с изменением во времени конформационного состояния биополимера в растворе и характера межмолекулярных взаимодействий [11]. Подобные флуктуации оптических свойств белковых растворов показаны в ряде работ [11-13].

В спектрах контрольных образцов растворов нативного сывороточного альбумина следует отметить явное преимущество доли белковых форм, не имеющих тонкой структуры на протяжении всего своего спектра поглощения (состояние «000») (рис. 2.(А) и 3 (А)). Белковые глобулы с тонкой структурой спектра, такой как «101», «110», «111», встречаются реже остальных форм. Характер встречаемости различных конформационных состояний белка в контрольных пробах и в экспериментах с ложным воздействием аналогичен и не обладает какими-либо достоверными отличиями.

Для растворов альбумина, подвергавшегося инкубации с хлороформом (рис. 2 (Б) и 3 (Б)), характерно достоверное ($p < 0,05$) увеличение доли спектров, лишённых тонко структурных участков («000»), а в остальном встречаемость отдельных конформационных состояний сохраняет сходный характер с контрольными образцами.

В экспериментах с влиянием ПемП КНЧ на растворы альбумина не установлено достоверных различий между контрольными и опытными образцами, как внутри серий с ложным и магнитным воздействием, так и между ними.

Одновременное воздействие магнитного поля в сочетании с насыщением раствора хлороформом приводит к достоверному снижению вероятности регистрации интегральных спектров по сравнению с экспериментальными моделями (рис. 2). Повреждению в этом совместном действии КНЧ и хлороформа приводит к повышению доли отдельных конформационных состояний альбумина, таких как «010», «011» и «100».

Таким образом, насыщение гидрофобных частей молекулы альбумина хлороформом в относительно «мягких» условиях не приводит к существенным изменениям конформационного состояния белка. Данный факт подтверждают полученные результаты об отсутствии достоверных изменений каталитической активности цитохрома с при его взаимодействии с хлороформом в подобных условиях [8]. Однако с этим, воздействие ПемП в процессе инкубации растворов альбумина хлороформом приводит к достоверным динамическим конформационным перестройкам молекулы белка.

ВЫВОДЫ

Основываясь на результатах моделирования взаимодействия цитохрома с хлороформом [8], можно предположить, что индуцированные ПемП-индуцированные структурные изменения молекул альбумина являются результатом повышенного связывания хлороформом данным биополимером, что в свою очередь приводит к усилению межмолекулярного взаимодействия белковых молекул между собой и к ратимому образованию их агрегатов.

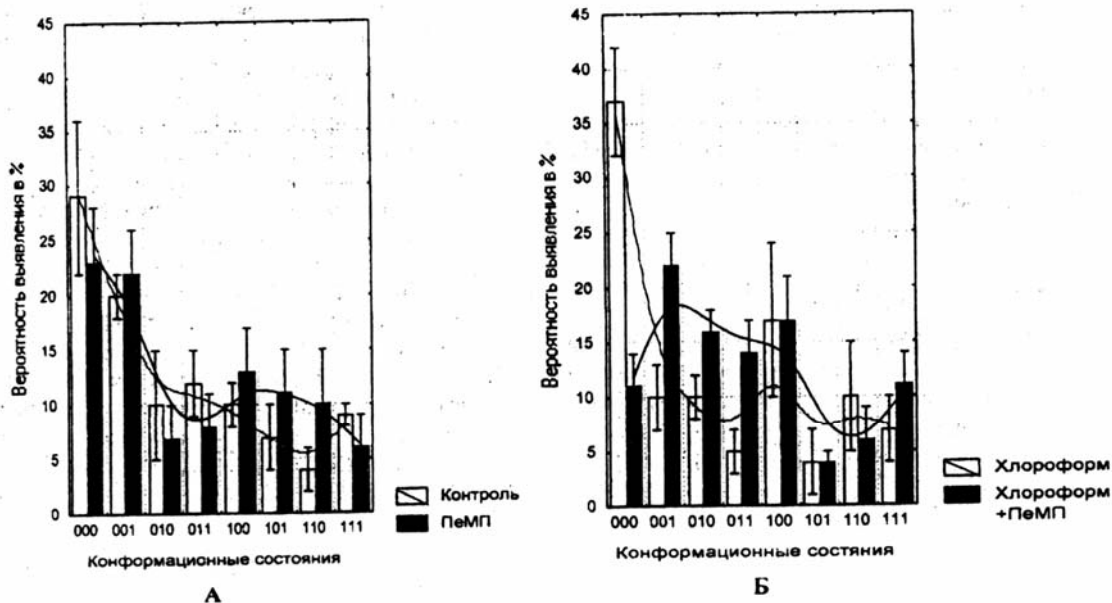


Рис. 2. Влияние ЭМП частотой 8 Гц 25 мкТл на вероятности выявления различных конформационных состояний нативного сывороточного альбумина (А) и при его насыщении хлороформом (Б).

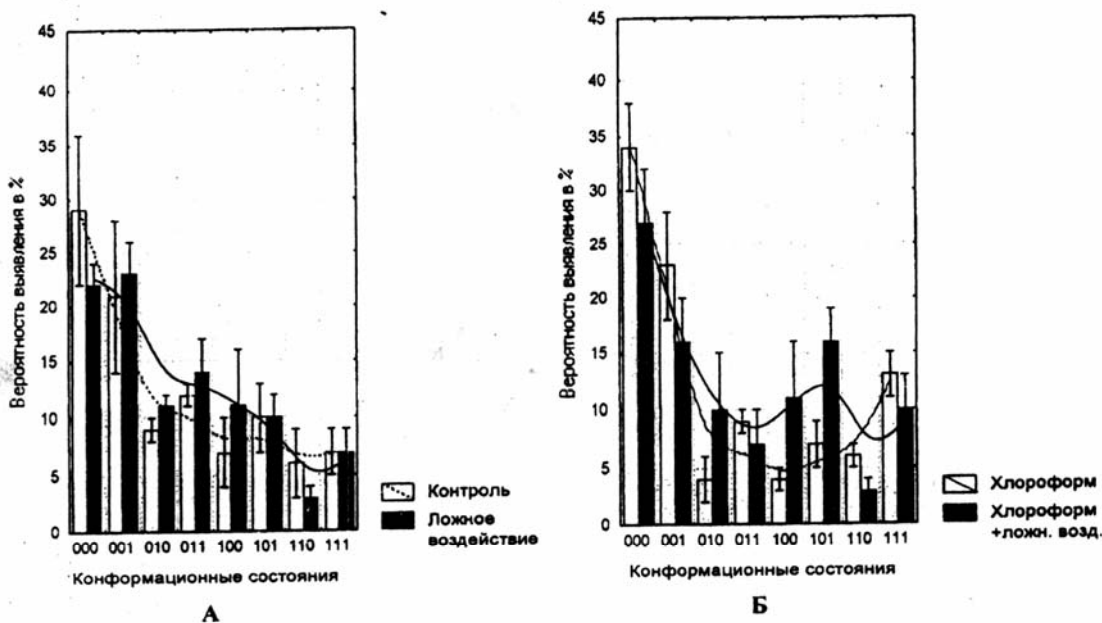


Рис. 3. Влияние ложной экспозиции на вероятности выявления различных конформационных состояний нативного сывороточного альбумина (А) и при его насыщении хлороформом (Б).

ЛИТЕРАТУРА

1. Абдуллина З. М. Биологическое действие магнитных полей на живой организм. - Фрунзе, 1985. - 147 с.
2. Гатовский С. И., Перов Ю. В. Электромагнитная безопасность в офисе и дома. - М.: «ИМЕДИС», 1998. - С. 6.
3. Демченко А.П. Ультрафиолетовая спектрофотометрия и структура белков // Киев:Наукова думка, 1981. - 208 с.
4. Измайлова В.Н., Ребиндер П.А. Структурообразование в белковых системах. - М.: Наука, 1974. - 286 с.
5. Калиновский П. С., Мартынюк В. С. Действие переменных магнитных полей на связывание гидрофобных лигандов сывороточным

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

- альбумином // Учёные записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского сер. «Биология». - 2000. - Т. 14. - №2. - С. 89-93.
6. Кяйверяйнен Л. И. Динамическое поведение белков в водной среде и их функции. - Л.: Наука, 1980. - 272 с.
 7. Мартынюк В.С., Шадрина О.Г. Влияние переменного магнитного поля крайне низкой частоты на растворимость бензола в воде и растворах белка // Биомедицинская радиозлектроника. - 1999. - № 2. - С. 56-60.
 8. Мартынюк В. С., Калиновский П. С., Цейслер Ю. В. Влияние слабого магнитного поля крайне низкой частоты на спектральные характеристики цитохрома *c* в присутствии хлороформа // Учёные записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского, сер. «Биология» - 2002. - Т. 14. - №3. - С.121-126.
 9. Соркина Д. А., Залевская И. Н. Структурно-функциональные свойства белков. Вища школа, 1990. - 215 с.
 10. Степанюк И.А. Электромагнитные процессы в аэро- и гидрофизических процессах. Петербург, 2002. - 215 с.
 11. Черников В.Ф. Влияние некоторых факторов на колебания светорассеяния в воде и водных растворах биополимеров. Биофизика. - 1990. - т. 35, В. 5. - С. 711-715.
 12. Черников Ф.Р. Сверхмедленные светорассеяния в жидкостях различной вязкости. Биофизика. - 1990. - Т. 35. - В. 5. - С. 716-720.
 13. Черников Ф.Р. Экспериментальные исследования структурных флуктуаций в растворах белков / Тезисы докладов Международной конференции «Космос и Биология», 2003. - С. 31.

Поступила 24