

УДК 571.1

ВЛИЯНИЕ МАГНИТНОГО ПОЛЯ КРАЙНЕ НИЗКОЙ ЧАСТОТЫ НА СОБСТВЕННУЮ ФЛУОРЕСЦЕНЦИЮ СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА В УСЛОВИЯХ ЕГО НАСЫЩЕНИЯ ХЛОРОФОРМОМ

Мартынюк В.С., Цейслер Ю.В., Мирошниченко Н.С., Артеменко А.Ю.

*Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, биологический факультет,
кафедра биофизики, e-mail: mavis@science-center.net*

Поступила в редакцию 17.01. 2008

Изучено влияние магнитного поля (МП) частотой 8 Гц 25 мкТл на собственную флуоресценцию сывороточного альбумина в воде, а также в воде в условиях насыщения воды и белка хлороформом. Обнаружено, что насыщение белка хлороформом приводит к исчезновению триптофановой флуоресценции и появлению полосы, соответствующей триптофановой фосфоресценции. Показано, что воздействие МП на растворы альбумина приводит к изменениям пространственной структуры макромолекулы. Магнито-индуцированные изменения собственной флуоресценции сывороточного альбумина более выражены в условиях «структурного возмущения», вызванного нагрузкой данного белка неспецифическим низкомолекулярным гидрофобным лигандом – хлороформом, что подтверждает результаты ранее проведенных исследований на модели насыщения белка бензолом. Одной из главных особенностей указанных изменений является их динамичность и квазипериодичность во времени. Сделан вывод, что действие МП модифицирует характер квазипериодических колебаний, связанных с крупномасштабной динамикой в белковых растворах, что согласовывается с предыдущими данными, а также данными других исследователей.

Ключевые слова: магнитное поле, сывороточный альбумин, собственная флуоресценция белка, фосфоресценция триптофана, крупномасштабная динамика белков.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время известно, что эффекты воздействия магнитных полей крайне низких частот (МП КНЧ) проявляются на всех уровнях организации живых систем [1, 2]. Однако первичные механизмы действия МП КНЧ на молекулярном и физико-химическом уровне остаются мало изученными.

В предыдущих исследованиях было показано, что воздействие МП КНЧ может приводить к изменению гидрофильно-гидрофобного баланса в растворах белков. Так, в магнитном поле частотой 8 Гц изменяется растворимость бензола в воде, а также его неспецифическое связывание сывороточным альбумином [3]. Данные результаты подтверждаются флюориметрическими исследованиями [4]. Результаты этих экспериментов свидетельствуют об индуцированных бензолом и МП КНЧ конформационных изменениях в белковых макромолекулах.

Следует отметить, что молекула бензола является неполярной, с нулевым дипольным моментом. В тоже время, существует ряд низкомолекулярных веществ, которые относят к категории неполярных или слабополярных, но которые растворяются так же, как и бензол, по гидрофобному механизму и могут

сорбироваться в гидрофобных полостях белков. Одним из таких наиболее часто используемых веществ является хлороформ, молекула которого имеет дипольный момент равный $\mu=1.06$ D (для сравнения дипольный момент молекулы воды $\mu_{\text{вода}}=1.84$ D, а бензола $\mu_{\text{бензол}} \approx 0$ D)

В связи с этим целью данного исследования было выявить особенности влияния МП частотой 8 Гц на собственную флуоресценцию сывороточного альбумина в воде, а также в условиях насыщения данного белка неспецифическим гидрофобным лигандом - хлороформом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом исследования служили 0.1 %-ные растворы лиофильного коммерческого препарата бычьего сывороточного альбумина в дистиллированной воде. Буферные среды для приготовления белковых растворов не использовали по двум причинам. Во-первых, применяемая методика насыщения гидрофобными веществами водных растворов белков хорошо отработана [5] и на ее основе были проведены исследования влияния МП КНЧ на растворимость бензола в воде и водных растворах альбумина [3, 4]. Во-вторых, наличие дополнительных веществ, составляющих буферные

системы, сильно и нелинейно влияет на растворимость бензола в воде, однако характер этого влияния для буферных систем, используемых в биологических исследованиях, не известен и требует отдельных исследований.

В основе выбранной базовой экспериментальной модели гидрофобных взаимодействий лежит явление насыщения белковых растворов низкомолекулярными веществами гидрофобной природы, при котором происходит неспецифическое взаимодействие лиганда с гидрофобными полостями молекулы белка по гидрофобному механизму [5]. Насыщение растворов сывороточного альбумина хлороформом осуществляли в стеклянных бюксах объемом 5 мл путем наслаивания 3 мл раствора белка на 1.5 мл хлороформа (без интенсивного встряхивания) с последующей инкубацией образцов в течение 1, 2, 4 и 24 часа при комнатной температуре. В таких «мягких» условиях насыщения, при которых равновесие в системе «хлороформ-вода-белок» устанавливается в течение 30 минут, происходит растворение хлороформа в воде по гидрофобному механизму и его связывание неполярными участками молекулы белка.

pH исходных растворов белка составляла 6.92. Контроль значений pH растворов осуществляли в каждой временной точке эксперимента, при этом вследствие естественного насыщения белковых растворов углекислотой воздуха в течение эксперимента имел место незначительный тренд в сторону уменьшения значений pH до 6.8. Тем не менее, в условиях указанного тренда значения pH как контрольных, так и в опытных образцах, были одинаковыми, что свидетельствовало о равенстве экспериментальных условий по данному параметру.

Импульсное МП создавали системой колец Гельмгольца. Источником тока служил генератор сигналов специальной формы Г6-28. Индукцию поля контролировали микротеслометром Г-79. Импульсы были прямоугольной формы и разной полярности. Частота МП составляла 8 Гц, индукция – 25 μ T. Вектор индукции создаваемого МП был параллелен вектору геомагнитного поля. Опытные образцы помещали в экспериментальную установку, генерирующую МП, экспозиция в которой составляла 1, 2, 4 и 24 часа. Контрольные пробы находились в условиях фоновых значений МП, интенсивность которых составляла 20-65 nT, что приблизительно в 500 - 1000 раз ниже интенсивности МП в кольцах Гельмгольца.

Флуоресцентные исследования проводили на базе кафедры биофизики Киевского национального университета имени Тараса Шевченко на спектрофлуориметре «ЛЮМО» (Санкт-Петербург). Использовали флуоресцентный монохроматор МДР-23 с шириной щели 2.2. мм (точность настройки 0.01 мм), а также светосильный монохроматор МДР-

12 с шириной щели 4 мм (точность настройки 0.01 мм); дифракционные решетки 200-500 нм с 1200 штрихов на 1 мм. Шаг сканирования спектров флуоресценции - 0.5 нм. Спектры собственной флуоресценции альбумина регистрировали при ее возбуждении на длинах волн, которые соответствуют максимумам поглощения фенилаланина ($\lambda=255$ нм), тирозина ($\lambda=278$ нм) и триптофана ($\lambda=288$ нм) в молекуле сывороточного альбумина.

Математический анализ полученных результатов исследования проводили в соответствии с общепринятыми правилами вариационной статистики. Среднестатистические спектры флуоресценции получали путем усреднения спектральных линий, полученных в повторных экспериментах (n=5). Для оценки достоверности различий использовали t-критерий Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рисунках 1-4 представлены спектры собственной флуоресценции сывороточного альбумина, находящегося в различных условиях (контроль, насыщение хлороформом, воздействие МП КНЧ), при возбуждении на разных длинах волн. Видно, что независимо от длины волны возбуждающего света регистрируется главным образом флуоресценция триптофана с максимумом на 338-340 нм, что хорошо согласуется с литературными данными [6, 7]. Флуоресценция фенилаланиновых и тирозиновых остатков в данном белке вносит малый вклад. Тем не менее, интенсивность флуоресценции триптофанового остатка сильно зависит от длины возбуждающего света. Из трех применяемых длин волн возбуждающего света минимальная интенсивность характерна для длины волны возбуждающего света 255 нм, соответствующая максимуму в спектре поглощения фенилаланина, а максимальная - для длины волны 288 нм, что соответствует максимуму поглощения триптофана в альбумине. Данное соотношение интенсивностей связано с одной стороны с тем, что спектр поглощения триптофана частично перекрывается со спектрами поглощения фенил-аланина и тирозина, а с другой – с разной вероятностью переноса энергии возбуждения на триптофановый флуорофор с других ароматических аминокислот.

Воздействие МП частотой 8 Гц приводит к небольшим, но в отдельных случаях достоверным изменениям спектров флуоресценции сывороточного альбумина. Эти изменения зависят от времени экспозиции. Так, при одночасовом воздействии МП достоверно ($p<0,05$) на 10% усиливалась флуоресценция при ее возбуждении на 255 нм, тогда как при возбуждении на 278 нм имело места только слабая тенденция (+4%) (рис. 1 А). Одновременно с этим происходило снижение интенсивности флуоресценции на 8% ($p<0,05$) при возбуждении на

длине волны 288 нм. При двухчасовой экспозиции растворов сывороточного альбумина в МП спектр флуоресценции данного белка при ее возбуждении на 255 нм не отличался от контрольного (рис. 2 А). Однако имело место достоверное ($p < 0,05$) снижение интенсивности флуоресценции на 7% при ее возбуждении на 278 нм, и тенденция к снижению на 5% при возбуждении на 288 нм (рис. 2 А). Подобные изменения имели место при четырехчасовой экспозиции МП (рис. 3 А), а при суточной экспозиции достоверное ($p < 0,05$) уменьшение интенсивности флуоресценции на 6% наблюдали только при ее возбуждении на 288 нм (рис. 4 А).

Наблюдаемые в данном эксперименте магнитоиндуцированные изменения спектров флуоресценции примерно существенно меньше, по сравнению изменениями, обнаруженными другими исследователями для цитохрома *c* и для другого частотно-амплитудного диапазона МП [8].

Изменение интенсивности флуоресценции связано в первую очередь с тушащим действием окружающих флуорофор полярных молекул или химических групп. Так, повышение интенсивности флуоресценции при ее возбуждении на 255 нм после одночасовой экспозиции в МП (рис. 1 А) можно было бы объяснить снижением тушащего действия полярных групп аминокислотных остатков, окружающих триптофановый флуорофор. Но в таком случае подобное повышение должно наблюдаться и при возбуждении флуоресценции на других длинах волн. Этого, однако, не происходило. При этом интенсивность флуоресценции, возбуждаемой на длине волны, соответствующей максимуму поглощения триптофана 288 нм, снижалась (рис. 1 А). Это указывает на то, что воздействие МП частотой 8 Гц приводит к таким изменениям пространственной структуры молекулы альбумина, при которых повышается вероятность переноса энергии возбуждения на триптофан с фенилаланиновых остатков. Одновременно с этим усиливается взаимодействие триптофанового остатка с окружающими его полярными группами, что приводит к диссипации энергии возбуждения и, как следствие, к небольшому снижению интенсивности флуоресценции при ее возбуждении на 288 нм. При этом первый эффект преобладает над вторым. Подобным образом можно пояснить изменения в спектрах флуоресценции альбумина и при других магнитопольных экспозициях.

Таким образом, анализ спектров собственной флуоресценции сывороточного альбумина при ее возбуждении на разных длинах волн показывает, что воздействие слабого МП частотой 8 Гц 25 мкТл на растворы данного белка приводит к небольшим, но статистически достоверным, изменениям пространственной структуры макромолекулы. Главной особенностью указанных изменений является то, что

они динамичны и их характер меняется во времени. Такая динамичность поведения белков и квазипериодичность их оптических свойств в магнитных полях описана в литературе [9,10]. Это явление хорошо поясняется в рамках теоретических представлений, развиваемых А. Кяйверяненном [11-14], при этом в такой крупномасштабной динамике обнаруживаются периоды в диапазоне минуты – десятки минут. На наш взгляд такая динамичность также может быть связана с влиянием данного физического фактора на процессы ассоциации-диссоциации белковых молекул, которые всегда имеют место в белковых растворах и которые сопровождаются небольшими структурными изменениями макромолекул, что отражается не только на спектрах флуоресценции, но на тонкой структуре спектров поглощения [15]. Молекула белка вместе с водной фазой представляют собой единое целое, которое характеризуется определенной динамикой во времени [9,10,11,13]. Белок, как динамическая молекулярная конструкция, оказывает существенное воздействие на водное окружение [16], а водное окружение, в свою очередь, оказывает влияние на динамику белковой молекулы [12]. Молекулы белка в растворе вследствие взаимодействия друг с другом могут обратимо образовывать агрегаты. Таким образом, в растворе белка устанавливается определенная временная иерархия структурных переходов начиная с времен порядка 10^{-9} с до десятки секунд - десятки минут [13]. Характер такой иерархии изменяется при действии разнообразных факторов, в том числе и МП [9,10].

Связывание хлороформа с сывороточным альбумином приводит к масштабным изменениям в спектрах собственной флуоресценции данного белка (рис. 1-4 Б). Практически исчезает собственная флуоресценция триптофана в области 338-340 нм, которая характерна для нативного состояния и проявляется даже при взаимодействии данного белка с бензолом [4]. На этом фоне становится заметной тирозиновая флуоресценция с максимумом 305 нм. Считается, что флуоресценция тирозина малочувствительна к изменению свойств окружения, по сравнению с триптофаном [17]. Видимо, поэтому она сохраняется на характерной полосе с максимумом 305 нм. В то же время интенсивность флуоресценции при ее возбуждении на 288 нм, т.е. на линии максимума поглощения триптофана была практически такая же, как и при возбуждении на длине волны максимума поглощения тирозина. Можно предположить, что в результате конформационных перестроек, вызванных связыванием хлороформа, полярность окружения триптофана существенно уменьшается и спектр его люминесценции смещается в синюю область примерно на 30 нм. Это очень сильные

изменения, но сдвиги такого порядка описаны в литературе, частности, для белка мелиттина при его укладки в тетрамерную структуру [18]. При этом создаются такие условия, когда либо происходит очень быстрая диссипация энергии возбуждения данного хромофора, что приводит к падению квантового выхода его флуоресценции в 4-5 раз, либо наоборот создаются такие условия, при которых энергия возбуждения не диссипирует и триптофан находится длительное время в возбужденном состоянии, при этом повышается вероятность его перехода в триплетное состояние с последующими фосфоресцентным излучением, сопровождающееся диссипацией значительной части энергии электронного возбуждения. Вероятно, именно по этой причине в регистрируемых нами спектрах флуоресценции появляется еще один максимум – максимум фосфоресценции в области 445-450 нм. Он не связан с повышением полярности окружения триптофана, так как в воде максимум флуоресценции лежит в пределах 348-352 нм [18]. Подобное явление может иметь место, если остаток триптофана находится в плотном гидрофобном окружении [19]. Таким образом, в условиях нагрузки белка хлороформом тепловая подвижность данного хромофора сильно снижается («замораживается»), в результате чего вероятность диссипации энергии электронного возбуждения из синглетного состояния снижается, при этом повышается вероятность перехода триптофана в триплетное состояние.

Следует отметить, что в водных растворах переход органических хромофоров в триплетное состояние, как правило, не происходит из-за высокой подвижности хромофоров и диссипации энергии в результате их взаимодействия с молекулами растворителя. Обычно считается, что фосфоресценцию органических веществ можно наблюдать лишь в стеклах, где их тепловая подвижность сильно ограничена. Однако состояние триптофана в белке существенно отличается от его состояния в растворе. Во-первых, он «вмонтирован» в относительно жесткую полипептидную цепь, а во-вторых, - он расположен в гидрофобной полости, в которой на тепловую подвижность аминокислотных радикалов накладываются определенные ограничения. Связывание слабополярных молекул хлороформа в гидрофобных полостях и образование белковых агрегатов, видимо, является дополнительным ограничивающим фактором, который переводит ближайшее окружение триптофана в «стеклоподобное» состояние.

Насыщение альбумина хлороформом в условиях воздействия МП КНЧ сопровождается более сильными изменениями спектров флуо- и фосфоресценции (рис. 1-4 Б), по сравнению с изменениями, обнаруженными в экспериментах с насыщением альбумина бензолом [4]. Однако характер этих изменений тоже зависит от времени экспозиции.

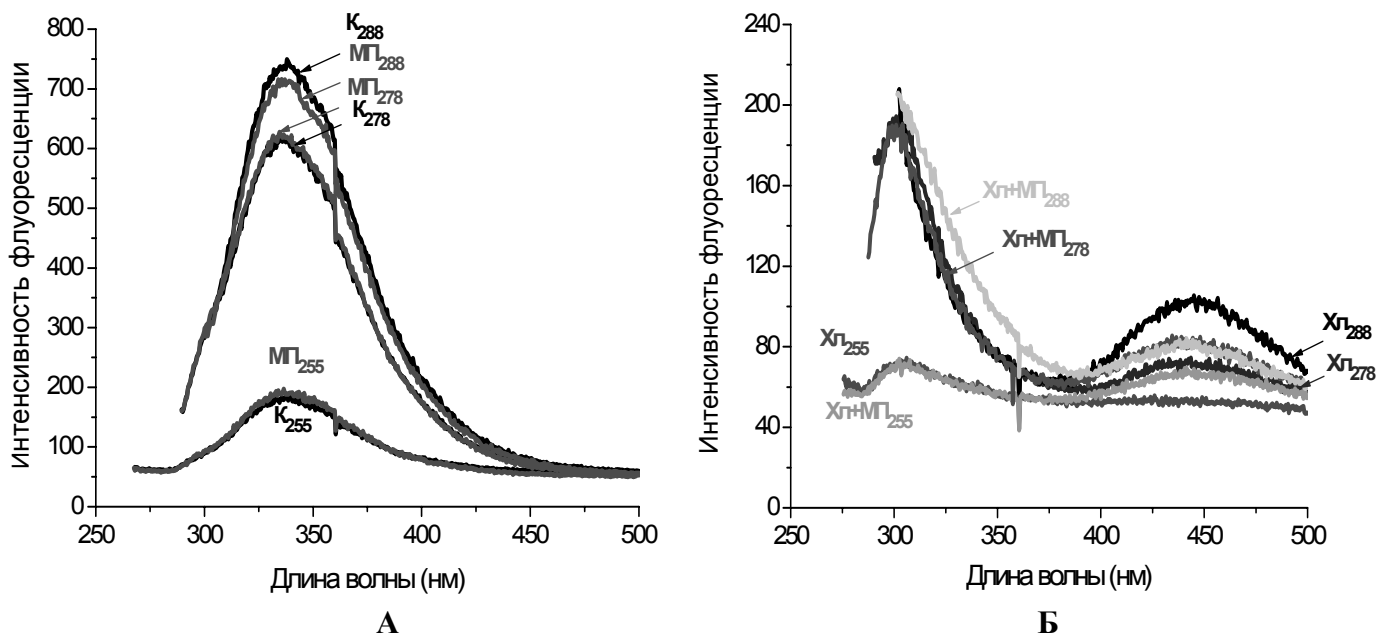


Рис. 1. Спектры собственной флуоресценции сывороточного альбумина при одночасовой экспозиции в магнитном поле частотой 8 Гц 25 мкТл без насыщения (А) и при насыщении хлороформом (Б): К – контрольные образцы; МП – экспозиция в магнитном поле; Хл - насыщение белка хлороформом; Хл+МП - насыщение белка хлороформом под действием МП. Цифры при λ обозначают длину волны возбуждающего света.

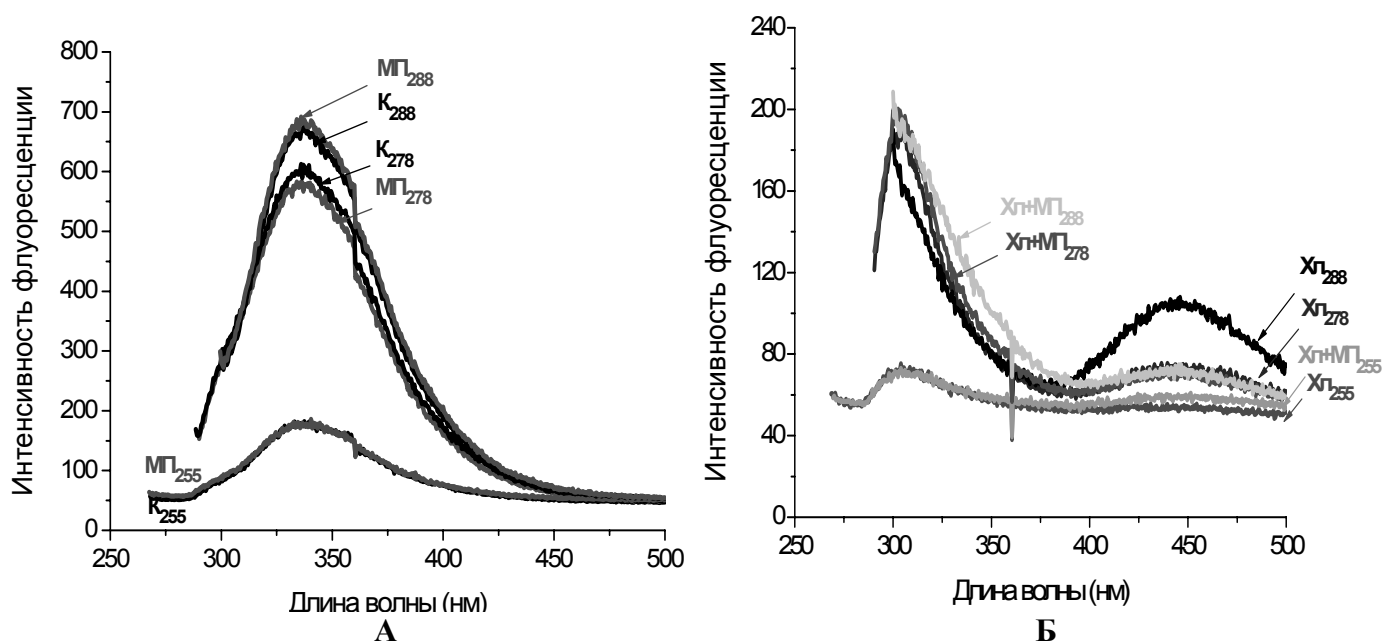


Рис. 2. Спектры собственной флуоресценции сывороточного альбумина при двухчасовой экспозиции в магнитном поле частотой 8 Гц 25 мкТл без насыщения (А) и при насыщении хлороформом (Б): К – контрольные образцы; МП – экспозиция в магнитном поле; Хл - насыщение белка хлороформом; Хл+МП - насыщение белка хлороформом под действием МП. Цифры при λ обозначают длину волны возбуждающего света.

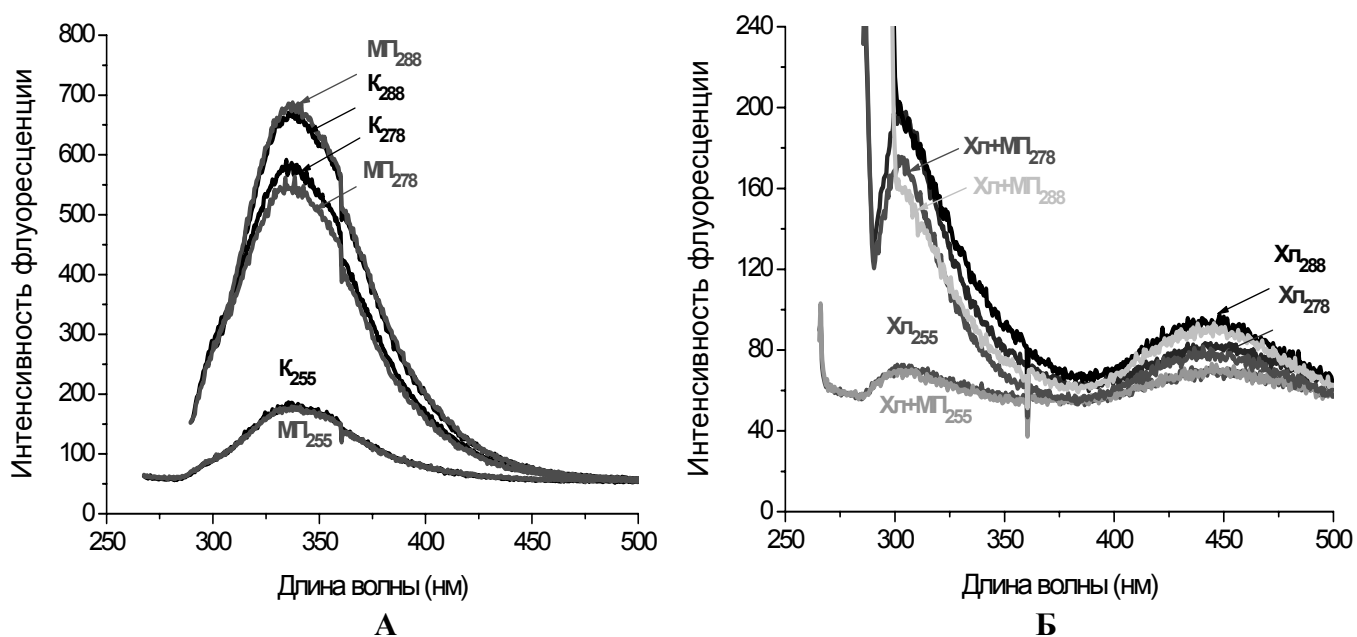


Рис. 3. Спектры собственной флуоресценции сывороточного альбумина при четырехчасовой экспозиции в магнитном поле частотой 8 Гц 25 мкТл без насыщения (А) и при насыщении хлороформом (Б): К – контрольные образцы; МП – экспозиция в магнитном поле; Хл - насыщение белка бензолом; Хл+МП - насыщение белка хлороформом под действием МП. Цифры при λ обозначают длину волны возбуждающего света.

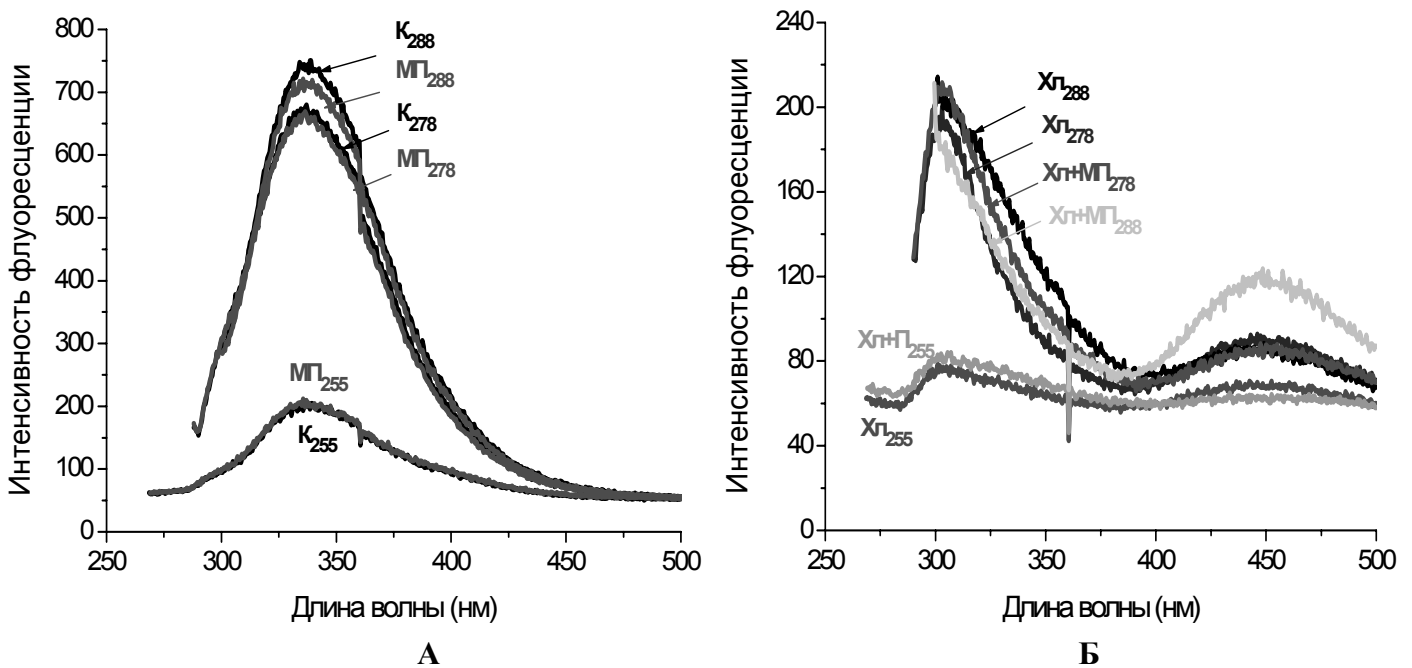


Рис. 4. Спектры собственной флуоресценции сывороточного альбумина при суточной экспозиции в магнитном поле частотой 8 Гц 25 мкТл без насыщения (А) и при насыщении хлороформом (Б): К – контрольные образцы; МП – экспозиция в магнитном поле; Хл - насыщение белка бензолом; Хл+МП - насыщение белка хлороформом под действием МП. Цифры при λ обозначают длину волны возбуждающего света.

Так, при одночасовом насыщении хлороформом белковых растворов в переменном магнитном поле имели место следующие изменения. При возбуждении люминесценции на длине волны 255 нм флуоресценция тирозиновых остатков с максимумом на 305 нм не изменялась (рис. 1 Б). Однако, воздействие МП КНЧ приводило к появлению фосфоресценции триптофана, которая в растворах альбумина, насыщаемого хлороформом без магнитного воздействия, отсутствовала. Поэтому величину данного эффекта в относительных единицах трудно рассчитать. Фактически она составляет несколько порядков. При возбуждении свечения на длине волны 278 нм флуоресценция образцов, подвергнутых воздействию МП КНЧ, не изменялась, тогда как фосфоресценция усилилась. В то же время действие МП КНЧ повышало интенсивность флуоресценции в полосе 300-370 нм и на 45% снижало интенсивность фосфоресценции в полосе 400-500 нм при возбуждении свечения на длине волны 288 нм (рис. 1 Б).

При двухчасовом воздействии МП КНЧ различия в свечении образцов при возбуждении хромофоров на длинах волн 255 и 278 нм были менее выражены, однако снижение фосфоресценции на максимуме 547 нм более выражено, чем при одночасовом воздействии МП КНЧ и составляет 57-58% относительно интенсивности свечения неомагнитных образцов (рис. 2 Б).

При четырехчасовой экспозиции образцов в МП КНЧ различия в спектрах флуо-

фосфоресценции были минимальными (рис. 3 Б). В то же время суточная магнитнополевая экспозиция растворов альбумина, насыщаемых хлороформом, приводила к наиболее сильным сдвигам в спектрах флуо- и фосфоресценции (рис. 4 Б). При возбуждении свечения на длине волны 255 нм интенсивность флуоресценции тирозиновых хромофоров относительно фонового уровня сигнала увеличилась на 20%, а фосфоресценция триптофана – уменьшалась почти на 50% (рис. 4 Б). Подобные, но менее выраженные изменения имели место при возбуждении свечения белковых растворов на длине волны 278 нм. При возбуждении свечения на длине волны 288 нм были выявлены противоположные изменения, в частности интенсивность флуоресценции триптофана относительно интенсивности уровня свечения образцов, не подвергавшихся воздействию МП КНЧ, на 10-15% уменьшилась, а фосфоресценция – в два раза повысилась (рис. 4 Б).

Возникает вопрос о том, в какой степени согласуются результаты исследования спектров флуоресценции с данными об изменениях дифференциальных спектров сывороточного альбумина [20] и тонкой структуры спектров поглощения в ультрафиолетовой области [15].

Во-первых, все без исключения спектральные данные свидетельствуют о динамичности процесса насыщения растворов белка хлороформом.

Во-вторых, воздействие МП существенно образом модифицирует эту динамику вследствие увеличения адсорбции хлороформа гидрофобными

полостями и другими участками белка. Причиной увеличения адсорбции хлороформа молекулами белка, предположительно, может быть изменение гидрофильно-гидрофобного баланса в водно-коллоидных системах, приводящее изменению растворимости хлороформа в воде.

ВЫВОДЫ

1. Неспецифическое связывание хлороформа сывороточным хлороформа альбумином приводит к исчезновению триптофановой флуоресценции и возникновению фосфоресценции триптофана, что свидетельствует снижении подвижности данного аминокислотного остатка и его гидрофобного окружения.

2. Процесс насыщения белковых полостей хлороформом является динамическим и сопровождается квазипериодическими колебаниями параметров собственной люминесценции белков, что свидетельствует о наличии в белковых растворах крупномасштабной динамики с временами порядка минут и десятки минут.

3. Воздействие МП КНЧ модифицирует характер квазипериодических колебаний, связанных с крупномасштабной динамикой в белковых растворах, что согласуется с полученными ранее данными по динамике спектров поглощения растворов разных белков [20, 21], а также данными других исследователей [9, 10, 12, 14].

Литература

1. *Бинги В.Н.* Магнитобиология. Эксперименты и модели. – М.: Изд-во МИЛТА, 2002. – 592 с.
2. *Гуляр С.А., Лиманский Ю.П.* Постоянные магнитные поля и их применение в медицине. – Киев, Изд-во Ин-та физиологии им. А.А. Богомольца, 2006. – 320 с.
3. *Мартынюк В.С., Шадрина О.Г.* Влияние переменного магнитного поля крайне низкой частоты на растворимость бензола в воде и растворах белка // Биомедицинская радиоэлектроника. – 1999. – № 2. – С. 61 – 63.
4. *Мартынюк В.С., Цейслер Ю.В., Мирошниченко Н.С., Артеменко А.Ю.* Влияние магнитного поля крайне низкой частоты на собственную флуоресценцию сывороточного альбумина в условиях его насыщения бензолом // Физика живого. – 2007. – Т. 15, № 2. – С. 11-17.
5. *Измайлова В.Н., Ребиндер П.А.* Структурообразование в белковых системах. – М.: Наука, 1974. – 286 с.
6. *Зима В.Л., Драган А.И., Богач П.Г.* Флуоресценция и температурно-пертурбационные дифференциальные спектры триптофана в гидрофобном окружении // Доклады АН УССР. Серия «Б». – 1978. – № 11. – С. 1018-1022.
7. *Лакович Дж.* Основы флуоресцентной спектроскопии. – М.: Мир, 1986. – 496 с.
8. *Новиков В.В., Кувичкин В.В., Фесенко Е.Е.* Влияние слабых комбинированных постоянного и переменного низкочастотного магнитных полей на собственную флуоресценцию ряда белков в водных растворах // Биофизика. – 1999. – Т. 44, № 2. – С. 224 – 230.
9. *Черников Ф.Р.* Влияние некоторых физических факторов на колебания светорассеяния в воде и водных растворах биополимеров // Биофизика. – 1990. – Т. 35. – в. 5. – С. 711- 715.
10. *Черников Ф.Р.* Сверхмедленные колебания светорассеяния в жидкостях разного типа // Биофизика. – 1990. – Т. 35. – Вып. 5. – С. 717- 721.
11. *Кяйверяйнен А.И.* Динамическое поведение белков в водной среде и их функции. – Л.: Наука, 1980. – 272 с.
12. *Kaivarainen A.* The effect of large-scale dynamics of serum proteins over solvent properties. New mechanism of regulation in biological systems // Ann. Immunol. Hung. – 1986. – Vol. 26. – P. 425-444.
13. *Kaivarainen A.* Hierarchic Concept of Matter and Field. Water, biosystems and elementary particles. – New York, USA, 1995. – 485 p.
14. *Kaivarainen A., Fradkova L., Korpela T.* Determination of the large and small-scale dynamics contributions into heat capacity of protein solutions. A new viscosity approach // Acta Chem. Scand. – 1993. – Vol. 47. – P. 456-460.
15. *Мартынюк В.С., Цейслер Ю.В., Калиновский П.С.* Влияние электромагнитного поля крайне низкой частоты на конформационное состояние сывороточного альбумина при его насыщении хлороформом // Таврический медико-биологический вестник. – 2004. – Т. 7, № 1. – С. 86-90.
16. *Ebbinghaus S., Joong Kim S., Heyden M., Yu X., Gruebele M., Leitner D.M., Havenith M.* Protein Sequence- and pH-Dependent Hydration Probed by Terahertz Spectroscopy // J. Am. Chem. Soc. – 2008. – Vol. 130, N 8. – P. 2374 -2375.
17. *Демченко А.П.* Люминесценция и динамика структуры белков. – Киев: Наукова думка, 1988. – 280 с.
18. *Емельяненко В.И., Грищенко В.М., Бурштейн Э.А.* Компонентный анализ спектров триптофановой флуоресценции мелиттина в процессе олигомеризации // Биофизика. – 2005. – т. 50, № 4. – С. 623 -630.
19. *Мажуль В.М., Кананович С.Ж.* О возможности белка существовать во множестве частично свернутых состояний // Биофизика. – 2004. – Т. 49, № 3. – С. 413 – 423.
20. *Martynyuk V.S., Kalinovskiy P.S., Tseisler Yu.V.* Influence of 8 Hz Magnetic Field on The Binding of Chloroform With Proteins // Biophysics. – 2004. – V. 49. – N. 1. – P. 17-22.
21. *Martynyuk V.S., Tseisler Yu. V.* The Hydrophobic-Hydrophilic Balance in Water Solution of Proteins as The Possible Target for Extremely Low Frequency Magnetic Fields // In: Biophotonics and Coherent Systems in Biology - Berlin-Heidelberg- New York: Springer, 2006. – P. 105 – 122.

ВПЛИВ МАГНІТНОГО ПОЛЯ НАДНИЗЬКОЇ ЧАСТОТИ НА ВЛАСНУ ФЛУОРЕСЦЕНЦІЮ СИРОВАТКОВОГО АЛЬБУМІНУ В УМОВАХ ЙОГО НАСИЧЕННЯ ХЛОРОФОРМОМ**Мартынюк В.С., Цейслер Ю.В., Мирошниченко М.С., Артеменко О.Ю.**

Досліджено вплив магнітного поля (МП) частотою 8 Гц 25 мкТл на власну флуоресценцію сироваткового альбуміну у воді, а також у воді в умовах насичення води і білка хлороформом. Встановлено, що насичення білка хлороформом призводить до зникнення триптофаної флуоресценції і виникненню смуги, що відповідає фосфоресценції триптофану. Показано, що дія МП на розчині альбуміну призводить до змін просторової структури макромолекули. Магнітоіндуковані зміни власній флуоресценції сироваткового альбуміну більш виражені в умовах «структурного збурення», що викликане навантаженням даного білка неспецифічним низькомолекулярним гідрофобним лігандом – хлороформом, що підтверджує результати раніше проведених досліджень на моделі насичення білку бензолом. Однією з головних особливостей вказаних змін є їх динамічність і квазіперіодичність в часі. Зроблено висновок, що дія МП модифікує характер квазіперіодичних коливань, пов'язаних з великомасштабною динамікою в білкових розчинах, що узгоджується з попередніми даними, а також даними інших дослідників.

Ключові слова: магнітне поле, сироватковий альбумін, власна флуоресценція білку, фосфоресценція триптофану, великомасштабна динаміка білків.

INFLUENCE OF EXTREMELY LOW FREQUENCY MAGNETIC FIELDS ON OWN FLUORESCENCE OF SERUM ALBUMIN UNDER ITS SATURATION BY CHLOROFORM**Martyniuk V.S., Tseyslyer Yu.V., Miroshnychenko M.S., Artemenko O.Yu.**

The influence of magnetic field (MF) with 8 Hz 25 microtesla on own fluorescence of serum albumin in water and in water under saturation by chloroform was studied. It was revealed that the satiation of albumin by chloroform brings to disappearance of triptophane fluorescence and appearance of triptophane phosphorescence. It was shown that influence of MF change conformation of protein macromolecule. MF-associated changes of own fluorescence of serum albumin is more significant in condition of “structural disturbances” that induced by loading of protein molecules by nonspecific low-molecular hydrophobic ligand – chloroform. The dynamicity and quasi-periodicity of revealed changes are the one of the main features of MF-influence on proteins. Influence of MF modifies the character of quasi-periodical oscillations that related to the large-scale dynamics in protein solutions. These conclusions confirm the previous results, and also results of other researchers.

Key words: magnetic field, serum albumin, protein own fluorescence, triptophane phosphorescence, large-scale dynamics of proteins.
