

ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ

Том (A) XXIII

1981

№ 2

УДК 541(64+572)

РАСТВОРИМЫЕ КОМПЛЕКСЫ БЫЧЬЕГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА С ПОЛИ-4-ВИНИЛПИРИДИНИЕВЫМИ КАТИОНАМИ, СОДЕРЖАЩИМИ Н-ЦЕТИЛЬНЫЕ БОКОВЫЕ РАДИКАЛЫ

Кабанов В. А., Мустафаев М. И., Гончаров В. В.

Исследовано взаимодействие бычьего сывороточного альбумина с различными фракциями сополимера 4-винилпиридина и 4-винил-N-цетилпиридинийбромида в зависимости от длины макромолекул и от содержания в них боковых гидрофобных цетильных радикалов. Обнаружено неравномерное распределение белковых глобул между поликатионами-сорбентами. Установлено, что форма частиц растворимых комплексов приближенно аппроксимируется стержнем, и при некоторых критических соотношениях происходит «полимеризация» таких асимметричных частиц комплекса. Исследовано влияние ионной силы на поведение поликомплексов. Предложена вероятная структурная модель описанных растворимых комплексов.

Показано [1], что поликатионы 4-винилпиридина, нагруженные длинными N-алкильными радикалами (в количестве 7 мол. %) в кислых водных растворах (рН 4,3), образуют прочные растворимые комплексы с бычьим сывороточным альбумином (БСА). Оказалось, что способность поликатиона связывать одноименно заряженные глобулы БСА зависит от длины бокового гидрофобного радикала и коррелирует с конформационным переходом «клубок – компактная структура» в соответствующем ряду [2]. Показано также, что способность набухающих афинных адсорбентов связывать белки сыворотки крови зависит от длины n-алифатических групп, присоединенных к сетке сорбента [3]. Согласно работе [4], в ряду C₁₂ – C₂₀ цетильный радикал C₁₈H₃₃ наилучшим образом стерически соответствует сорбционным центрам на глобулах альбумина.

Показано также [5, 6], что в тех случаях, когда N-алкильная группа представляет собой достаточно длинную углеродную цепочку (например C₁₈H₃₃), при достижении некоторых критических содержаний N-алкилированных звеньев такие поликатионы могут претерпевать конформационный переход в разбавленных водных растворах, сопровождающийся компактизацией макромолекулярных клубков.

В предлагаемой работе была поставлена задача систематически изучить особенности комплексообразования БСА с различными фракциями сополимера 4-винилпиридина и 4-винил-N-цетилпиридинийбромида (СП) в зависимости от длины макромолекул и от содержания в них боковых гидрофобных цетильных радикалов. Использование в подобного рода исследованиях фракций СП с достаточно узким ММР имеет принципиально важное значение, так как позволяет оперировать соотношениями компонентов на уровне индивидуальных макромолекул.

Указанные исследования, как оказалось, представляют существенный интерес, в частности в плане создания искусственных антигенов. Недавно было показано [7], что комплексы БСА с полимераналогами поли-4-винилпиридина проявляют исключительно высокую иммуногенность.

СП получали путем кватернизации узких фракций поли-4-винилпиридина (ПВП) бромистым цетиолом в метаноле, как описано в работе [1]. Среднюю степень кватернизации $\bar{\beta}$ определяли элементным анализом на содержание брома и азота, а также методами ИК- и ПМР-спектроскопии. Во всех случаях получены удовлетворительно совпадающие результаты.

Молекулярные массы \bar{M}_v кватернизированных ПВП определяли методом светорассеяния, а также рассчитывали из соотношения

$$(\bar{M}_v)_{\text{СП}} = \bar{P}_v [M_{\text{ПВП}} + \bar{\beta} \cdot M_{C_{14}H_{10}Br}], \quad (1)$$

где \bar{P}_v – средневязкостная степень полимеризации исходной фракции ПВП; $M_{\text{ПВП}}$ и $M_{C_{14}H_{10}Br}$ – молекулярные массы 4-винилпиридина и бромистого цетила. Полученные значения молекулярных масс приведены в табл. 1. БСА (фирмы «Ciech», Польша; «Sigma», США; «fraction V», Бельгия) характеризовали методами седиментации,

Таблица 1

Гидродинамические характеристики сополимеров при различных значениях $\bar{\beta}$

$\bar{\beta}, \%$	$S_c, \text{с}$	$\eta_{\text{уд}}/\text{с}, \text{дл/г}$	$\bar{\beta}, \%$	$S_c, \text{с}$	$\eta_{\text{уд}}/\text{с}, \text{дл/г}$	$\bar{\beta}, \%$	$S_c, \text{с}$	$\eta_{\text{уд}}/\text{с}, \text{дл/г}$
СП-I			СП-II			СП-III		
0	–	0,90	0	0,86	1,68	0	–	3,2
3,4	1,12	0,59	1,5	0,84	1,55	1,8	–	3,16
6,5	1,15	0,34	3,9	1,00	1,25	2,8	0,90	3,0
7,6	–	0,28	6,8	1,19	0,80	4,0	1,00	1,19
9,5	1,40	0,18	10,2	1,84	0,33	5,7	1,37	1,88
			14,5	2,53	0,11	10,0	2,13	0,96

дисперсии оптического вращения и электрофореза на поликарбамидном геле. Полученные характеристики хорошо совпадали с лит. данными [8]. Молекулярную массу БСА во всех расчетах принимали равной 70 000 [8].

Число макромолекул m белка и СП ($m_{\text{БСА}}$ и $m_{\text{СП}}$) в единице объема раствора рассчитывали по формуле $m = c \cdot 10^{-2} \cdot N_A / M$, где c – концентрация белка либо СП, г/дл ; N_A – число Авогадро; M – молекулярная масса БСА и СП.

Вязкость растворов сополимеров и их смесей с белком определяли в вискозиметре Уббелоде при $25 \pm 0,05^\circ$. Время истечения раствора (с $\text{CH}_3\text{COOH} = 8,3 \cdot 10^{-2}$ моль/л) $70 \pm 0,1$ с.

Измерения угла оптического вращения растворов белка и его смесей с СП проводили на спектрополяриметре «JASCO ORD/UV-5». Процент спиральности белка рассчитывали по уравнению Моффита [9].

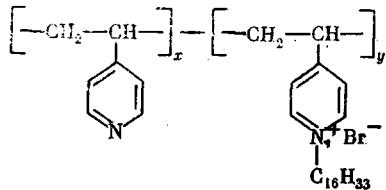
Седиментационные измерения проводили на аналитической ультрапентрифуге «Spinco-E» при $25 \pm 0,1^\circ$. Градиент показателя преломления регистрировали при помощи оптической схемы Фильпotta – Свенсона с фазовой пластинкой. Скорость вращения ротора 56 000 об/мин. Численный расчет коэффициентов седиментации S_c проводили по методике Шахмана [10]. Количество СП, не вступившие в реакцию с белком, и комплекса БСА – СП определяли измерением площадей пиков на седиментограммах.

Электронно-микроскопическое исследование выполняли на электронном просвечивающем микроскопе типа ЭВМ-100 при прямых электронно-оптических увеличениях ($\times 20\ 000$ – $100\ 000$). Растворы комплексов готовили смешиванием растворов исходных компонентов ($m_{\text{БСА}}/m_{\text{СП}} = 3,4$; рН 4,3) и разбавляли в 10–100 раз до концентрации ($0,058$ – $0,0058$) $\cdot 10^{-4}$ моль/л.

Объекты готовили следующим образом. В первом случае каплю раствора наносили на поверхность свежерасщепленной слюды слоем ~ 20 – 50 мкм. Избыток раствора снимали кусочком фильтровальной бумаги. Затем объект оттеняли платиной или палладием под углом 12° и напыляли углеродом. Полученную реплику снимали на воде и укрепляли на сетке. Во втором случае применяли методики замораживания – травления и замораживания – скальвания, для чего каплю раствора наносили на поверхность свежерасщепленной слюды, быстро замораживали в жидкем азоте, помешали в заранее охлажденный до -196° блок и переносили под колпак вакуумной установки на охлажденный столик. По достижении давления $2 \cdot 10^{-6}$ тор убирали защитный экран и объект подвергали скальванию и травлению в течение 1–5 мин. Затем с объектов получали платино-углеродную реплику и просматривали ее в электронном микроскопе. Независимо от методики подготовки объектов к электронно-микроскопическому исследованию всегда получались надмолекулярные структуры одного и того же типа.

Интенсивности светорассеяния измеряли на автоматическом нефелометре CPG-21 фирмы «Shimadzu» (Япония). Измерения проводили в неполяризованном свете с длиной волны $\lambda_0 = 436,0 \text{ нм}$. Прибор калиброван по бензолу при 25° , считая, что $R_{90^\circ} = 48,5 \cdot 10^{-6}$. При исследовании использовали стандартные цилиндрические кюветы. Растворы для исследования светорассеяния обесцвечивали методом многократного фильтрования через стеклянный фильтр G-5 (средний диаметр пор $\sim 120 \text{ нм}$) под давлением в измерительную кювету. Растворы считали обесцвеченными если асимметрия рассеяния $\Delta = I_{15}/I_{135}$ не превышала 1,04. Терmostатирование осуществляли с помощью термостата U-10. Инкремент показателя преломления определяли на дифференциальном рефрактометре DR-4B фирмы «Shimadzu» (Япония) в терmostатированных кюветах при 25° . Обработку данных светорассеяния проводили как описано в работе [11].

В качестве объектов были синтезированы пять рядов сополимеров общей формулы



со степенями полимеризации $\bar{P}_v = 6 \cdot 10^2$ (ряд СП-I); $1 \cdot 10^3$ (ряд СП-II); $2,15 \cdot 10^3$ (ряд СП-III); $4,5 \cdot 10^3$ (ряд СП-IV) и $7,5 \cdot 10^3$ (ряд СП-V) и различными степенями кватернизации $\beta = y/(x+y) \cdot 100\%$. (В дальнейшем изложении величина β будет добавляться к сокращенному обозначению ряда в виде соответствующего числа, например СП-II-7 означает сополимер с $\bar{P}_v = 1 \cdot 10^3$ и $\beta = 7\%$).

Располагая указанными рядами, мы получили возможность отдельно исследовать влияние длины цепи при фиксированных значениях β и влияние β при фиксированной длине цепи на характеристики сополимеров и их взаимодействие с БСА.

В табл. 1 представлены зависимости приведенной вязкости и коэффициента седиментации от степени кватернизации для различных СП при pH 4,3. При этом pH некватернизованные звенья СП частично протонированы, т. е. суммарное количество положительных зарядов на макромолекуле определяется степенью кватернизации (pH-независимый заряд) и степенью протонирования (pH-зависимый заряд).

Как и следовало ожидать, введение гидрофобных радикалов приводит к существенной компактизации макромолекулярных клубков (падение η_{sp}/c и рост S_c) уже при сравнительно небольших значениях β . Особенно резко это проявляется в солевых растворах, где указанные изменения приобретают характер конформационного перехода.

Добавление БСА в растворы, содержащие СП, приводит к значительному возрастанию их приведенной вязкости (рис. 1, а) и коэффициентов седиментации (рис. 1, б). Этот рост при прочих равных условиях выражен тем сильнее, чем компактнее конформация исходного СП, т. е. чем больше содержание *N*-цетильных радикалов в его макромолекулах ($N_i = m_{\text{БСА}}/m_{\text{СП}}$) (рис. 1, в).

Поскольку сама по себе вязкость растворов чистого БСА при соответствующих концентрациях пренебрежимо мала, данные рис. 1 однозначно свидетельствуют о связывании белковых глобул с поликатионами СП. В области pH 4,3, при котором проводили все описанные измерения, глобулы БСА (pI 4,9) заряжены положительно. Поэтому надо полагать, что определяющую роль в образовании контактов между молекулами белка и поликатионами играют взаимодействия гидрофобных *N*-цетильных радикалов с гидрофобными участками на поверхности белковых глобул.

На рис. 2 в качестве примера приведены типичные седиментограммы для систем БСА и СП при различных соотношениях их макромолекул

в растворе N_i . Во всех случаях имеется определенный интервал соотношений, в котором системы характеризуются бимодальным распределением осаждающихся частиц по коэффициентам седиментации. Значения S_c в пиках I соответствуют свободному СП. Быстро седimentирующее вещество (пик II) представляет собой комплекс БСА – СП ($S_c=3,0$ с). Об этом свидетельствуют данные рис. 3, на котором представлены зависимости площадей пиков I от значений N_i при постоянной весовой концентрации СП. Видно, что увеличение количества молекул белка в системе

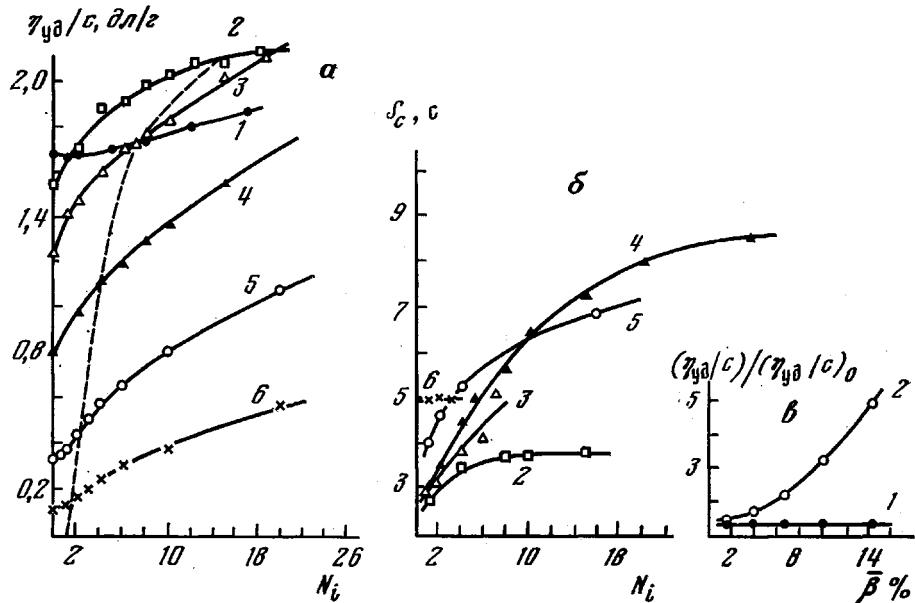


Рис. 1. Зависимость приведенной вязкости (α), коэффициента седиментации (β) и относительной приведенной вязкости (γ) растворов смеси БСА+СП-II от N_i (α, β) и β (γ):
α, β – $\beta=0$ (1); 1,5 (2); 4,0 (3); 7,0 (4); 10,0 (5) и 14,5 (6); $c = N_i = \bar{N}_i$ (1) и 20 (2). Штриховой линией на α обозначена граница \bar{N}_i

приводит к уменьшению площади пика, соответствующего свободным поликатионам, а площадь пиков II при этом линейно возрастает.

Соединение свободного СП и комплекса СП – БСА при $N_i > 1$ означает, что поликатионы неравномерно заселяются глобулами СП белка подобно тому, как это имеет место в системе БСА – ПВП – *N*-этилпиридинийбромид [10]. При определенном соотношении белок – СП пик свободного СП исчезает и на седиментограмме остается только пик II (диаграмма 3). Описанная картина типична для взаимодействия всех изученных фракций СП с БСА в исследованном интервале $\beta=1,5-14\%$.

Характеристическое соотношение $m_{БСА}/m_{СП}=\bar{N}_i$, при котором бимодальное распределение переходит в унимодальное, т. е. весь СП оказывается связан с белком, можно определить экстраполяцией к нулю зависимости площади пика свободного СП от N_i . Такие экстраполяции приведены на рис. 3. Из этих данных следует, что зависимости $P_0=f(N_i)$ и соответственно величины \bar{N}_i чувствительны к длине макромолекул СП при фиксированных значениях β (что представляется естественным по аналогии с результатами работ [2, 12]), а при фиксированной степени полимеризации СП чувствительны также и к содержанию в СП боковых *N*-пентильных радикалов.

В отличие от ранее описанной системы БСА – поли-4-винил-*N*-этилпиридиний бромид [12], функции $P_0=f(N_i)$ нелинейны. Это значит, что при данном значении степени полимеризации и β в системе присутствуют макромолекулы СП, обладающие существенно различной «емкостью» в отно-

шении глобул БСА. Последнее обстоятельство с учетом сильного влияния $\bar{\beta}$ на ход кривых $P_0=f(N_i)$ естественно приписать композиционной неоднородности СП. Поэтому величины \bar{N}_i , определяемые упомянутой выше экстраполяцией, менее точны, чем в случае [12], и характеризуют лишь среднее число белковых глобул, связывающихся с одной макромолекулой, принадлежащей к данной фракции СП.

В табл. 2 приведены зависимости характеристического состава поликомплекса \bar{N}_i от средней степени полимеризации СП для различных $\bar{\beta}$.

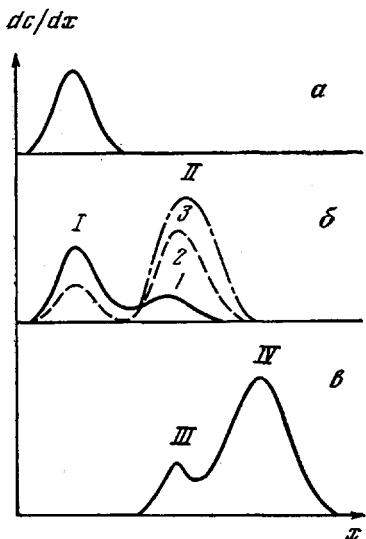


Рис. 2

Рис. 2. Седиментограммы для СП-II-7 (a) и его смесей с БСА при различных N_i (б, в): б – $N_i=0,5$ (1), 2 (2), 3 (3); в – $N_i=10$; dc/dx – градиент концентрации, x – расстояние от центра вращения ротора в произвольных единицах; время центрифугирования 50 мин

Рис. 3. Зависимость площадей пиков свободного СП на седиментограммах в системе СП+БСА от N_i : 1 – СП-II-1,5; 2 – СП-II-4; 3 – СП-II-7; 4 – СП-II-10; 5 – СП-II-14,5; 6 – СП-III-6; 7 – СП-I-6,5. $c_{\text{СП}}=1,8 \cdot 10^{-5}$ моль/л; pH 4,3; 25°

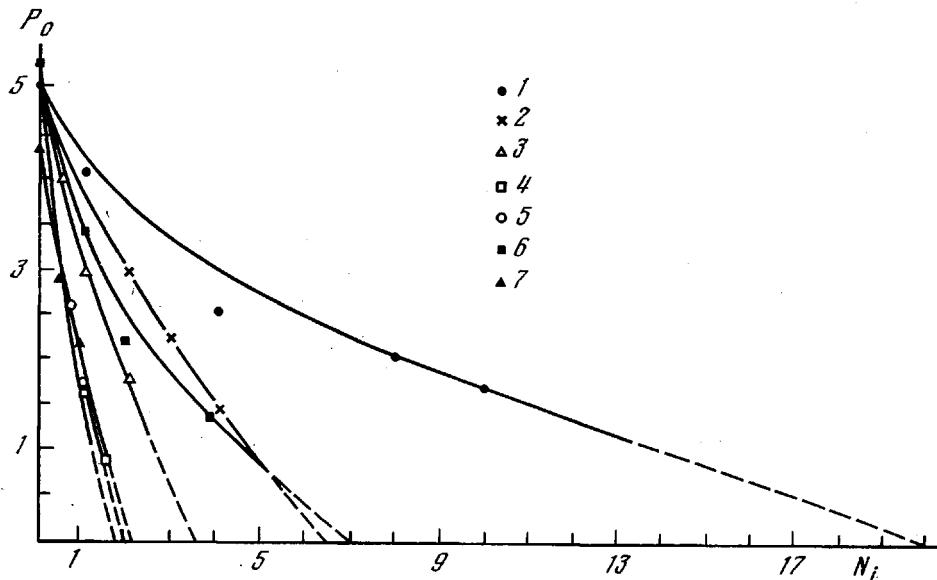


Рис. 3

Видно, что среднее число белковых глобул, сорбируемое макромолекулой СП, при данном значении $\bar{\beta}$ увеличивается с ростом ее длины. В исследованном интервале $\bar{\beta}$ темп этого роста тем выше, чем ниже значение $\bar{\beta}$. Из данных табл. 2 можно приближенно оценить среднее число звеньев ($\xi = \bar{P}_v / \bar{N}_i$) или среднюю длину участка макромолекулы СП, приходящее-

Таблица 2

Гидродинамические характеристики поликомплексов при соотношении $m_{\text{БСА}}/m_{\text{СП}} = \bar{N}_i$ и значения \bar{N}_i при различных значениях \bar{P}_v сополимера

Сополи- мер	\bar{N}_i	$S_c, \text{с}$	$\eta_{\text{уд}}/\text{с},$ дл/г	\bar{N}_i	$S_c, \text{с}$	$\eta_{\text{уд}}/\text{с},$ дл/г	\bar{N}_i	$S_c, \text{с}$	$\eta_{\text{уд}}/\text{с},$ дл/г
	$\beta=4$			$\beta=7$			$\beta=10$		
СП-I	4,0	4,6	0,82	2,0	3,8	0,4	1,5	4,1	0,35
СП-II	6,5	4,9	1,71	3,5	4,1	1,1	2,0	4,6	0,44
СП-III	13,0	4,9	1,68	7,0	4,7	2,3	2,5	4,5	1,17
СП-IV	—	—	—	—	—	—	2,5	5,2	1,50
СП-V	70	3,8	6,00	19	8,0	5,4	—	—	—

Таблица 3

Результаты исследования растворов комплекса БСА-СП и индивидуальных компонентов методом светорассеяния

Компонент	$(dn/dc) \cdot 10$	$\bar{M}_w \cdot 10^{-3}$	$\bar{M}_v \cdot 10^{-3}$	\bar{N}_i	
				светорассея- ние	седимента- ция
БСА	1,80	70	—	—	—
СП-I-6,5	2,21	70	70	—	—
СП-II-7,0	2,19	120	116	—	—
СП-II-8,0	2,17	125	118	—	—
СП-II-14,0	2,68	130	126	—	—
БСА+СП-I-6,5	2,15	120	140	0,7	1,0
БСА+СП-II-7,0	1,85	320	336	3,5	3,0
БСА+СП-II-8,0	1,93	240	290	2,5	2,0
БСА+СП-II-14,0	2,32	250	260	2,0	2,0

гося на одну белковую глобулу в комплексе. Это число соответственно тем больше, чем выше процентное содержание N-пентильных радикалов в макромолекуле.

Молекулярные массы \bar{M}_v некоторых исходных СП и их комплексов с БСА при $m_{\text{БСА}}/m_{\text{СП}} = \bar{N}_i$ были определены методом светорассеяния*. Полученные результаты приведены в табл. 3. Для сравнения в этой же таблице представлены значения молекулярных масс СП и их комплексов (\bar{M}_v)_k, рассчитанные соответственно по формулам (1) и

$$(\bar{M}_v)_k = (\bar{M}_v)_{\text{СП}} + \bar{N}_i \cdot M_{\text{БСА}} \quad (2)$$

Видно, что величины (\bar{M}_v)_k и \bar{M}_v во всех случаях удовлетворительно совпадают. Это означает, что в условиях измерений (т. е. при $c \leq 0,1 \text{ г/дл}$, 25°) в состав каждой частицы комплекса входит одна молекула СП. Соответственно величины \bar{N}_i , рассчитанные путем экстраполяции данных седиментационных измерений и вычисленные из данных светорассеяния, также удовлетворительно согласуются между собой.

Некоторое представление о форме частиц комплекса при $m_{\text{БСА}}/m_{\text{СП}} = \bar{N}_i$ дает сопоставление зависимостей их приведенных вязкостей и коэффициентов седиментации от степени полимеризации исходных поликатионов \bar{P}_v . Как видно из табл. 2, заметный рост приведенной вязкости, наблюдаемый по мере увеличения длины поликатионов-сорбентов, происходит при практическом постоянстве соответствующих значений S_c . Это свиде-

* Авторы выражают признательность В. А. Касаинкину за помощь в проведении экспериментов, в обработке и обсуждении данных светорассеяния.

тельствует о том, что форма частиц комплексов БСА – СП приближенно аппроксимируется стержнем, длина которого увеличивается с ростом \bar{P}_v гораздо быстрее, чем радиус. Данные электронной микроскопии вполне согласуются с этим выводом *. На электронных микрофотографиях (рис. 4) видны отдельные частицы комплекса БСА – СП-II-8, длина и толщина которых, измеренные по величинам теней напыления, составляют соответственно 40–50 и 10 нм (контурная длина макромолекулы СП-II-8 $\sim 2,5 \cdot 10^2$ нм).

Следует отметить, что из данных измерения дисперсии оптического вращения БСА и его комплексов с СП следует, что степень спиральности белковых глобул ($\sim 40\%$) при их связывании поликатионами практически

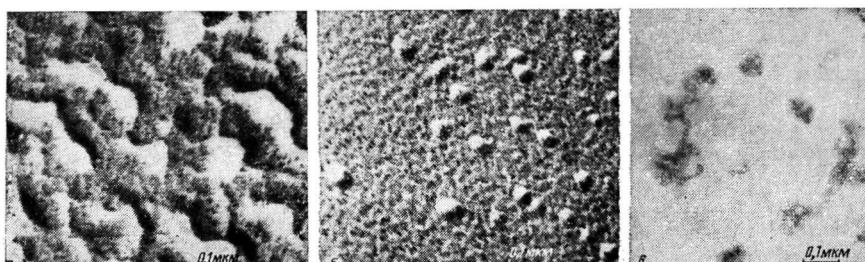
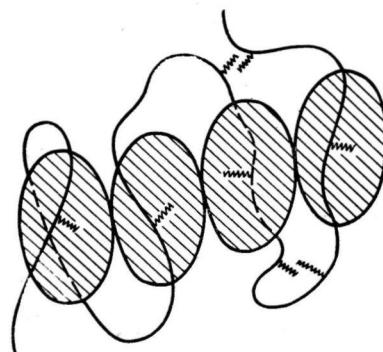


Рис. 4. Электронные микрофотографии комплексов СП-II-8+БСА. Снимки сделаны с угольных реплик с оттенением Pd под углом 12° : а – образец приготовлен методом замораживания – травления, $c_{SP}=1,8 \cdot 10^{-6}$ моль/л, $t_{BSA}/t_{SP}=3$; б – образец приготовлен методом теплового прикрепления к свежерасщепленной слюдяной поверхности $c_{SP}=1,8 \cdot 10^{-7}$ моль/л, $t_{BSA}/t_{SP}=3$; в – образец приготовлен методом теплового прикрепления к свежерасщепленной слюдяной поверхности, $c_{SP}=1,8 \cdot 10^{-6}$ моль/л $t_{BSA}/t_{SP}=4$

не изменяется. Последнее обстоятельство свидетельствует в пользу сохранения в комплексе третичной структуры БСА, близкой к нативной.

На основании совокупности приведенных выше результатов можно предложить следующую схему строения комплексов БСА – СП.



Связывание поликатионами глобул белка, как уже указывалось, осуществляется в результате внедрения в их гидрофобные области некоторых из N-цетильных радикалов СП. Можно предположить, что, как и в случае комплексов БСА с поли-4-винил-N-этилпиридинийбромидом [12], молекулы белка в структуре изучаемых комплексов контактируют друг с другом, и выигрыш свободной энергии в результате таких контактов обуславливает неравномерное заселение макромолекул СП белковыми глобулами. В данном случае, однако, последнее утверждение неоднозначно, поскольку не-

* Авторы выражают признательность И. А. Литвинову за помощь в проведении электронно-микроскопических измерений.

равномерность распределения может быть также вызвана необходимостью для осуществления сорбции частичного разрушения исходной компактной конформации СП (по аналогии с работой [13]). При всех обстоятельствах для объяснения резкого уменьшения \bar{N}_i с ростом β следует допустить, что фрагменты исходной компактной конформации СП сохраняются также в структуре самого комплекса и играют существенную роль в его стабилизации. Это фрагменты, вероятно, представляют собой небольшие внутримолекулярные кластеры, включающие в себя несколько N-цетильных радикалов, не вовлеченных прямым образом в связывание белка. Понятно, что самосборка всей структуры в целом требует преодоления электростатического отталкивания при сближении одноименно заряженных глобул и участков макромолекул СП. Согласно работе [2], в случае N-цетильных радикалов такое становится возможным, ибо вклад энергии гидрофобного взаимодействия оказывается доминирующим.

Далее представляло интерес проследить за поведением комплексов БСА – СП в растворах при $m_{\text{БСА}}/m_{\text{СП}} > \bar{N}_i$. Важную информацию об этом можно получить уже из данных рис. 1, на котором пунктиром отмечена граница \bar{N}_i . В области правее этой границы количество введенного белка в соответствии со сказанным выше уже превышает основную сорбционную емкость поликатионов СП. Действительно, как видно на рис. 2, в в области $m_{\text{БСА}}/m_{\text{СП}} > \bar{N}_i$ на седиментограммах появляется пик III, соответствующий свободному белку. Площадь этого пика линейно растет по мере добавления избытка белка. Однако увеличение приведенной вязкости продолжается и при $m_{\text{БСА}}/m_{\text{СП}} > \bar{N}_i$ (рис. 1). Коэффициенты седиментации комплексов увеличиваются симбатно возрастанию вязкости.

Таким образом, в области $m_{\text{БСА}}/m_{\text{СП}} > \bar{N}_i$ происходит «полимеризация» частиц комплекса, приводящая к увеличению их массы и асимметрии, причем в этот процесс вовлекаются лишь немногие молекулы избыточного белка; большинство их остается свободным и выходит в виде отдельного пика на седиментограммах. Склонность частиц комплекса к «полимеризации» иллюстрируется электронными микрофотографиями (рис. 4, в), на которых отчетливо видны асимметричные агрегаты частиц комплекса, длина которых существенно превышает контурную длину соответствующих поликатионов СП.

Некоторое представление о влиянии ионной силы на поведение поликомплексов БСА – СП можно получить из данных табл. 4. Видно, что при увеличении ионной силы, создаваемой добавлением NaCl в растворы ком-

Таблица 4

Значения $\eta_{\text{уд}}/c$ растворов сополимеров и их смесей с БСА при различных концентрациях добавленной низкомолекулярной соли (NaCl)

[NaCl], моль/л	$\eta_{\text{уд}}/c, \text{dl/g}$			
	СП-II-7	СП-II-7+БСА ($N_i = 3,5$)	СП-III-6	СП-III-6+БСА ($N_i = 7$)
0	0,86	1,11	1,88	2,24
0,001	0,98	1,26	2,51	2,98
0,005	0,82	1,10	2,36	2,79
0,010	0,78	1,04	1,96	2,22
0,020	0,74	0,93	1,67	2,05
0,050	0,55	0,75	1,00	1,17
0,100	0,40	0,58	0,72	0,78

плексов характеристических составов, приведенная вязкость в исследованном интервале концентраций понижается, по всей вероятности, из-за электростатического экранирования зарядов на участках цепей СП, не контактирующих с глобулами БСА (петли и т. п.). Интересно, что добавление NaCl в системы, в которых $m_{\text{БСА}}/m_{\text{СП}} < \bar{N}_i$ приводит к перераспределению

белковых глобул и заселению ими поликатионов СП, до этого в свободном состоянии сосуществовавших с частицами комплекса. Последнее следует из седиментограмм, приведенных на рис. 5. На седиментограмме присутствуют два пика. Пик I соответствует свободному СП, пик II — поликомплексу. Добавление соли в концентрации 0,02 моль/л приводит к исчезновению пика I и соответствующему увеличению площади пика II. Фактически это означает уменьшение \bar{N}_i , аналогичное тому, которое наблюдается

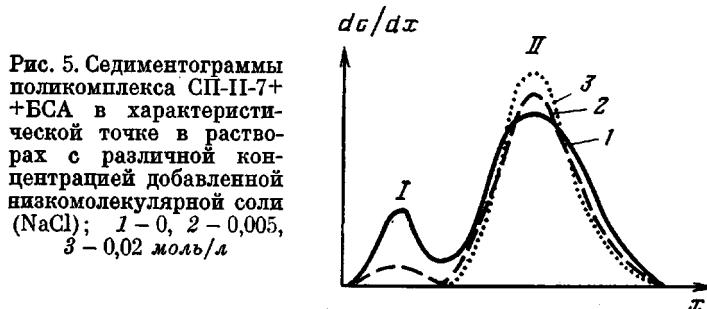
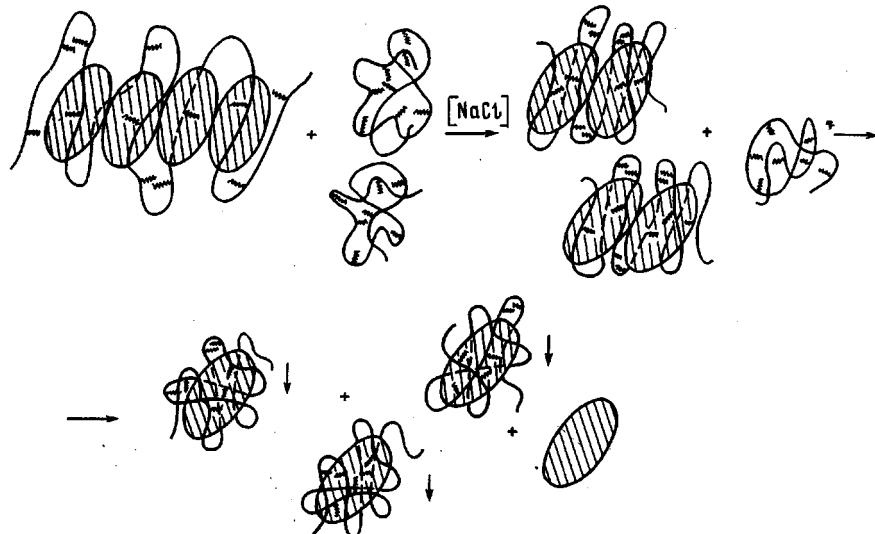


Рис. 5. Седиментограммы поликомплекса СП-II-7+ + БСА в характеристической точке в растворах с различной концентрацией добавленной низкомолекулярной соли (NaCl): 1 — 0, 2 — 0,005, 3 — 0,02 моль/л

при фиксированной ионной силе с ростом степени кватернизации СП. Приведенная ниже схема иллюстрирует предполагаемую перестройку в системе БСА — СП — NaCl .



При дальнейшем повышении концентрации низкомолекулярного электролита в системе БСА — СП происходят более глубокие перестройки комплексов, сопровождающиеся фазовым разделением. Этому вопросу будет посвящена специальная публикация.

Московский государственный
университет им. М. В. Ломоносова

Поступила в редакцию
13 VII 1979

ЛИТЕРАТУРА

1. М. И. Мустафаев, В. В. Гончаров, В. П. Евдаков, В. А. Кабанов, Докл. АН СССР, 225, 721, 1975.
2. В. А. Кабанов, М. И. Мустафаев, В. В. Гончаров, Докл. АН СССР, 244, 1261, 1979.
3. Н. А. Платэ, М. Н. Матросович, Докл. АН СССР, 229, 496, 1976.
4. D. S. Goodman, J. Amer. Chem. Soc., 80, 3892, 1958.
5. U. P. Strauss, N. L. Gershfeld, J. Phys. Chem., 58, 747, 1954.
6. U. P. Strauss, N. L. Gershfeld, E. H. Brook, Ibid., 60, 577, 1954.

7. В. А. Кабанов, М. И. Мустафаев, А. Ш. Норимов, Р. В. Петров, Р. М. Хаигов, Докл. АН СССР, 243, 1330, 1978.
 8. W. F. Harrington, P. Johnson, R. H. Ottewill, Biochem. J., 62, 569, 1956.
 9. А. Б. Зезин, В сб.: Новое в методах исследования полимеров, под ред. З. А. Роговина, В. П. Зубова, «Мир», 1968, стр. 119.
 10. В. Н. Цвеклов, В. Е. Эскин, С. Я. Френкель, Структура макромолекулы в растворе, «Наука», 1964, стр. 421.
 11. V. A. Kabanov, A. B. Zezin, M. I. Mustafaev, V. A. Kasaikin, In: Polymeric amines and ammonium salts, ed. by E. J. Coethals, N. Y., 1980, p. 173.
 12. В. А. Кабанов, В. П. Евдаков, М. И. Мустафаев, А. Д. Антипина, Молек. биол., 11, 582, 1977.
 13. В. Ю. Бараковский, И. М. Паписов, Докл. АН СССР, 217, 123, 1974.
-

**SOLUBLE COMPLEXES OF BOVINE SERUM ALBUMINE
WITH POLY-4-VINYLPYRIDINIUM CATIONS
CONTAINING N-CETYL SIDE FRAGMENTS**

Kabanov V. A., Mustafayev M. I., Goncharov V. V.

Summary

The interaction of bovine serum albumine with various fractions of the copolymer of 4-vinylpyridine and 4-vinyl-N-cetylpyridinium bromide has been studied depending on the length of macromolecules and on the content of side hydrophobic cetyl fragments. The non-uniform distribution of protein globules between polycations-sorbents is revealed. It is found that the shape of particles of soluble complexes can be approximated by the rod, at some critical conditions the «polymerization» of such asymmetric particles takes place. The influence of ionic strength on the behaviour of polycomplexes is studied. A probable structural model of complexes described is proposed.
