

# ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ

Том (A) XXIII

# СОЕДИНЕНИЯ

1981

№ 6

УДК 541(64+49):535.3

## ИЗУЧЕНИЕ СТРОЕНИЯ ВОДОРАСТВОРИМЫХ КОМПЛЕКСОВ БЫЧЬЕГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА С ПОЛИ-4-ВИНИЛ-Н-ЭТИЛПИРИДИНЙБРОМИДОМ МЕТОДОМ СВЕТОРАССЕЯНИЯ

*Изумрудов В. А., Касаинин В. А., Ермакова Л. Н.,  
Мустафаев М. И., Зеин А. Б., Кабанов В. А.*

Методом светорассеяния изучена макромолекулярная организация частиц водорастворимых комплексов бычьего сывороточного альбумина с поли-4-винил-N-этилпирдиинийбромидом. Показано, что в широком интервале соотношений компонентов в частице комплекса находится лишь одна макромолекула поли-4-винил-N-этилпирдиинийбромида. Методом аргентометрии установлено, что взаимодействие между указанными компонентами действительно носит электростатический характер. Получено количественное подтверждение результатов о структуре ранее описанных растворимых поликомплексов и установлено, что частицы этих поликомплексов действительно представляют собой сильно асимметричные образования.

Исследование взаимодействия бычьего сывороточного альбумина (БСА) с кватернизованным поливинилпирдиином (Q-ПВП), проведенное в работе [1], показало, что в широком интервале изменения соотношения компонентов в водном растворе при pH 7 образуются стабильные растворимые кооперативные поликомплексы. При этом глобулы БСА в комплексе сохраняют свою нативную структуру. Существенной особенностью системы является неоднородное распределение белковых глобул по цепочкам поликатиона при недостатке белка в растворе. Так, при соотношении молекул БСА и Q-ПВП, меньшем некоторого определенного значения, обозначенного  $N_i$ ,  $n_{\text{БСА}}:n_{\text{Q-ПВП}} < N_i$ , в системе присутствуют свободные макромолекулы поликатиона и частицы поликомплекса состава  $n_{\text{БСА}}:n_{\text{Q-ПВП}} = N_i$ . При соотношении макромолекулярных компонентов в смеси, превышающем  $N_i$ , система еще остается гомогенной в достаточно широком интервале концентраций БСА и в растворе обнаруживаются только частицы водорастворимых поликомплексов.

Важным вопросом, непосредственно связанным с проблемой изучения механизма связывания глобул белка полимером, является вопрос о структуре растворимых поликомплексов БСА — Q-ПВП и структурных превращениях их частиц при взаимодействии с белком. В работе [1] выводы о строении таких поликомплексов сделаны главным образом на основании результатов, полученных гидродинамическими методами исследования, которые в известной мере все же следует считать косвенными.

Цель данной работы — изучение макромолекулярной организации частиц белок — поликатион методом светорассеяния, позволяющим непосредственно определять характеристики частиц растворимых поликомплексов не задаваясь при этом какими-либо молекулярными моделями [2].

В работе использовали фракционированные образцы кватернизированного поли-4-винилпирдилина, полученного радикальной полимеризацией. Фракции поли-4-винилпирдилина алкилировали бромистым этилом согласно методике [1]. Средневесовую

молекулярную массу  $\bar{M}_w$  определяли методом светорассеяния. Степень кватерниации  $\bar{\beta}$  образцов Q-ПВП рассчитывали из данных УФ- и ИК-спектроскопии. Результаты приведены ниже.

Образец	Q-ПВП-1	Q-ПВП-2	Q-ПВП-3
$\bar{\beta}, \%$	95	65	65–70
$\bar{M}_w \text{ Q-ПВП} \cdot 10^{-3}$	120	250	320

БСА фирмы «Koch Light Lab.» (Великобритания) характеризовали методом светорассеяния.  $\bar{M}_w \text{ БСА} = 70\,000$ , что хорошо совпадает с лит. данными [3].

Число молекул  $n_{\text{БСА}}$  и  $n_{\text{Q-ПВП}}$  в единице объема раствора рассчитывали по формуле  $n = c \cdot 10^{-2} N_A / \bar{M}_w$ , где  $c$  – концентрация макромолекулярного компонента, г/дл;  $N_A$  – число Авогадро,  $\bar{M}_w$  – молекулярная масса БСА или Q-ПВП.

Все опыты проводили со свежеприготовленными смесями при pH 7.

Равновесный дialisь растворов проводили в дialisаторе, состоящем из двух стеклянных цилиндров объемом 7 мл, разделенных полупроницаемой мембраной марки «Целлофан № 100». Диализное равновесие устанавливалось через 5 ч.

Определение количества выделяющегося при взаимодействии БСА и Q-ПВП низкомолекулярного электролита проводили методом аргентометрического титрования дialisата комплекса на потенциометре РН-340, настроенном на измерение  $\text{pAg}$ . Измерительным электродом служил электрод марки ЭСЛ-51-07, а электродом сравнения – ЭВП-1-МЗ. Точку эквивалентности определяли по точке перегиба зависимости  $\text{pAg}$  от количества добавленного 0,1 M раствора  $\text{AgNO}_3$ .

Вязкость растворов полимеров определяли в вискозиметре Уббеллоде при  $25 \pm 0,05^\circ$  со временем истечения растворителя  $115 \pm 0,1$  с. Перед измерением растворы поликомплексов подвергали равновесному дialisу в течение суток.

Удельный парциальный объем  $\bar{v}$  растворов полимеров определяли пикнометрически при  $20 \pm 0,05^\circ$  в бикапиллярном дилатометре с диаметром капилляра 0,7 мм и объемом 7,39 мл. Расчет проводили по формуле  $\rho = \rho_0 + (1 - \bar{v})\rho_0 c$ , где  $\rho$  – плотность раствора,  $\rho_0$  – плотность растворителя,  $c$  – концентрация комплекса в растворе. Ошибка при измерении  $\bar{v}$  составляла 3–5%.

Светорассеяние растворов полимеров измеряли на автоматическом фотометре рассеянного света СРГ-21 фирмы «Shimadzu» (Япония) в неполяризованном свете с длиной волны  $\lambda_0 = 436$  нм в интервале изменения углов  $30$ – $150^\circ$ . Растворы обесцвечивали фильтрованием непосредственно в измерительную кювету через стеклянный фильтр G-5 со средним диаметром пор 1,35 мкм.

Инкремент показателя преломления определяли на дифференциальном рефрактометре типа DR-4B фирмы «Shimadzu» (Япония) при  $\lambda_0 = 436$  нм. Во избежание ошибок, обусловленных изменением ионной силы растворов в результате реакции между полиэлектролитами и явлением избирательной сорбции противоионов, измерения проводили в избытке поддерживающего низкомолекулярного электролита после установления дialisного равновесия между раствором поликомплекса и растворителем [3].

Обработку данных светорассеяния с целью определения средневесовой молекулярной массы  $\bar{M}_w$  и среднего радиуса инерции  $\langle R_g^2 \rangle^{1/2}$  растворенных частиц проводили по уравнению

$$\frac{Kc}{R_\theta} = \frac{1}{\bar{M}_w} \left\{ 1 + \frac{16\pi^2 n_0^2}{3\lambda_0^2} \overline{\langle R_g^2 \rangle} \sin^2 \frac{\theta}{2} \right\} + 2A_2 c,$$

где  $c$  – концентрация раствора, г/дл;  $R_\theta$  – отношение Релея для раствора, измеренное под углом рассеяния  $\theta$ ,  $\text{см}^{-1}$ ;  $K = 2\pi^2 n_0^2 (\partial n / \partial c)^2 / \lambda_0^4 N_A$  – оптическая постоянная раствора;  $\lambda_0$  – длина волны падающего света в вакууме, нм;  $A_2$  – второй вириальный коэффициент;  $n_0$  – показатель преломления растворителя.

Состав реакционной смеси с минимальным содержанием белка, при котором оба полимерных компонента количественно связываются в поликомплекс, т. е.  $N_i$  [1], в дальнейшем по аналогии с полиэлектролитными комплексами, образованными синтетическими полиэлектролитами [4], будем называть характеристическим составом. Как уже отмечалось выше, в смесях БСА – Q-ПВП при соотношениях полимерных компонентов, превышающих  $N_i$ , присутствуют только частицы растворимых поликомплексов и система остается гомогенной. Это позволяет исследовать растворы поликомплексов методом светорассеяния.

Нами методом светорассеяния были определены молекулярные характеристики частиц растворимых поликомплексов БСА – Q-ПВП составов  $n_{\text{БСА}}:n_{\text{Q-ПВП}} > N_i$ . Данные светорассеяния интерпретировали согласно методу двойной экстраполяции. Как видно из рис. 1, на котором приведены

диаграммы Зимма растворов поликомплексов БСА – Q-ПВП различных составов, во всем исследованном интервале изменения концентрации зависимость  $Kc/R_\theta$  от концентрации с линейна, что указывает на отсутствие процессов диссоциации поликомплексов при разбавлении. Аналогичные графики двойной экстраполяции получены и для поликомплексов, образо-

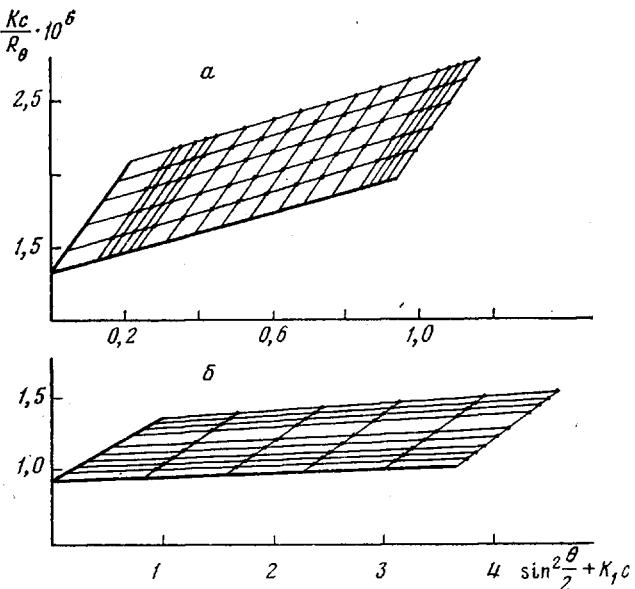


Рис. 1. Диаграммы Зимма растворов поликомплекса БСА – Q-ПВП-2 состава  $n_{\text{БСА}} : n_{\text{Q-ПВП-2}} = 7 : 1$  (а) и  $11 : 1$  (б).  $K_1 = 10^2$  (а) и  $2 \cdot 10^3$  (б).  $I = 0,01$  моль/л; pH 7,0

ванных поликатионами другой молекулярной массы. Отсюда следует, что растворимые поликомплексы БСА – Q-ПВП устойчивы в широком интервале изменения концентрации растворов и составов поликомплексов.

В табл. 1 сведены результаты исследования растворов поликомплексов БСА – Q-ПВП различного состава и поликомплексов, образованных поликатионами различной молекулярной массы  $\bar{M}_{w\text{-Q-PVP}}$  методом светорассеяния. Как видно из таблицы, для всех исследованных смесей БСА – Q-ПВП характерно увеличение молекулярной массы частиц поликомплексов с ростом содержания белка в реакционной смеси. Зная молекулярные массы частиц поликомплексов, нетрудно рассчитать их макромолекулярный состав. Результаты расчета приведены в табл. 1. Из этих данных видно, что при любом содержании белка в смеси сверх  $N_i$  состав растворимого поликомплекса в пределах ошибки эксперимента совпадает с составом реакционной смеси. Следует особо подчеркнуть, что при этом в каждой частице поликомплекса находится лишь одна молекула Q-ПВП. Это указывает на отсутствие каких-либо процессов агрегации частиц поликомплексов БСА – Q-ПВП в исследованном интервале концентраций и соотношений компонентов.

Обращает на себя внимание тот факт, что увеличение степени полимеризации поликатиона  $\bar{P}_{w\text{-Q-PVP}}$  приводит к росту числа глобул БСА в поликомплексе, причем число молекул белка возрастает пропорционально длине поликатиона. Поэтому состав поликомплекса удобно выражать в терминах отношения  $\xi = \bar{P}_{w\text{-Q-PVP}} / n_{\text{БСА}}$ , где  $n_{\text{БСА}}$  – число белковых глобул, сортированных одной цепочкой Q-ПВП. Как было показано ранее [1], это соотношение не зависит от молекулярной массы поликатиона. Заметим, что  $\xi = 3,3 \cdot 10^2$  соответствует поликомплексам характеристического состава, образованным БСА и цепочками поликатиона различной длины, а уве-

Таблица 1

**Молекулярные характеристики частиц водорастворимых поликомплексов  
БСА – Q-ПВП (рН 7,  $I=0,01$  моль/л)**

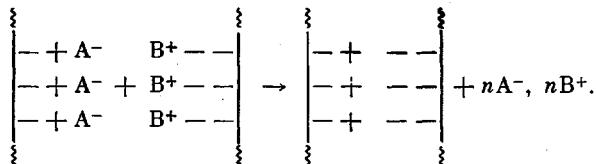
$\bar{P}_w \text{Q-ПВП} \cdot 10^{-3}$	Состав смеси		$M_w \cdot 10^{-5}$	$A_2 \cdot 10^4$	Состав поликомплекса $n_{\text{БСА}} : n_{\text{Q-ПВП}}$
	$\xi \cdot 10^{-2}$	$n_{\text{БСА}} : n_{\text{Q-ПВП}}$			
1,0	3,3	3 : 1	3,6	3,25	3,4 : 1
	2,5	4 : 1	4,2	—	4,3 : 1
	2,0	5 : 1	5,1	3,33	5,5 : 1
	1,8	6 : 1	5,7	2,08	6,4 : 1
2,3	3,3	7 : 1	7,6	2,16	7,3 : 1
	2,5	9 : 1	8,6	0,94	8,7 : 1
	2,0	11 : 1	10,5	0,72	10,3 : 1
	1,7	12 : 1	11,2	0,50	12,4 : 1
2,6	3,3	8 : 1	8,9	0,82	8,1 : 1
	2,5	11 : 1	11,3	0,23	11,6 : 1
	2,0	14 : 1	13,2	0,17	14,3 : 1
	1,8	16 : 1	14,1	0,01	15,6 : 1

личение содержания БСА в поликомплексе приводит к уменьшению  $\xi$ . Как видно из табл. 1, частицы поликомплексов БСА – Q-ПВП характеристического состава обладают минимальной молекулярной массой и наибольшим сродством к растворителю, что непосредственно вытекает из значений вторых вириальных коэффициентов. Введение белка в реакционные смеси в количествах, превышающих характеристические, вызывает наряду с ростом молекулярной массы частиц поликомплексов уменьшение значений вторых вириальных коэффициентов  $A_2$  растворов смеси полиэлектролитов. Такое поведение исследуемых систем позволяет предположить, что введение белка в раствор в количествах, превышающих  $N_i$ , вызывает протекание реакции, в которой в качестве взаимодействующих компонентов выступают частицы поликомплексов характеристического состава и свободные белковые глобулы. Так как в условиях реакции при рН 7 глобулы БСА заряжены отрицательно ( $pI_{\text{БСА}}=4,9$ ), разумно предположить, что за связывание БСА в поликомплексы составов  $\xi < 3,3 \cdot 10^2$  ответственны ионогенные группы поликатиона, вошедшего в поликомплекс, которые не образовали солевые связи с молекулами белка.

Факт существования заряженных участков поликатиона в частицах растворимых поликомплексов непосредственно следует из данных вискозиметрии. На рис. 2 представлены зависимости приведенной вязкости растворов поликомплексов БСА – Q-ПВП-1 составов  $\xi = 3,3 \cdot 10^2$  и  $\xi = 2,5 \cdot 10^2$  от их концентрации. Как видно из рис. 2, уменьшение концентрации раствора сопровождается ростом приведенной вязкости, что свидетельствует о способности частиц поликомплексов к полиэлектролитному набуханию. Подобные явления можно объяснить присутствием в частицах поликомплексов последовательностей заряженных групп поликатиона, не связанных с белковыми глобулами.

Для выяснения природы связывания глобул БСА цепочками поликатиона были изучены растворы поликомплексов БСА – Q-ПВП методом равновесного диялиза с последующим анализом диялизата на содержание низкомолекулярного электролита. Хорошо известно, что в результате кооперативных реакций образования межмакромолекулярных солевых связей в подавляющем большинстве случаев выделяется низкомолекулярный

электролит по схеме



Поэтому, анализируя содержание низкомолекулярной соли в реакционной смеси, можно достаточно точно определить число солевых связей, образованных белковой глобулой с макромолекулой поликатиона.

Для определения концентрации низкомолекулярного электролита, выделяющегося при взаимодействии БСА и Q-ПВП, проводили равновесный диализ, а диализат анализировали на содержание галоид-иона аргентометрическим титрованием. Учет доннановского исключения при анализе данных равновесного диализа, проведенный методом последовательных приближений, показал, что поправка, обусловленная эффектом Доннана,

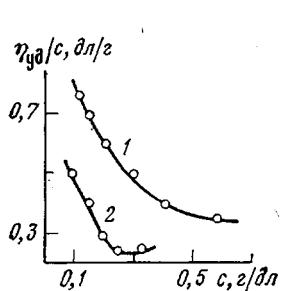


Рис. 2

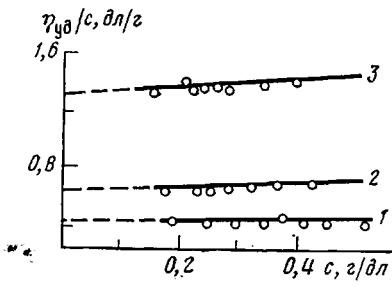


Рис. 3

Рис. 2. Зависимость приведенной вязкости  $\eta_{уд}/c$  растворов поликомплексов БСА – Q-ПВП-1 от концентрации растворов при  $\xi \cdot 10^{-2} = 3,3$  (1) и 2,5 (2)

Рис. 3. Зависимость приведенной вязкости растворов поликомплексов БСА – Q-ПВП харктеристического состава от концентрации растворов (изоионное разбавление): 1 – БСА – Q-ПВП-1, 2 – БСА – Q-ПВП-2 и 3 – БСА – Q-ПВП-3

не превышала 5 %. Данные анализа приведены в табл. 2. Видно, что увеличение содержания БСА в смеси приводит к пропорциональному росту концентрации  $Br^-$  в диализате, что, согласно схеме, свидетельствует об увеличении общего числа солевых связей между глобулами белка и макромолекулами поликатиона.

Из приведенных экспериментальных данных следует, что взаимодействие между БСА и Q-ПВП действительно носит электростатический характер и обусловлено возникновением солевых связей между ионизованными карбоксильными группами белка и положительно заряженными группами поликатиона.

Зная макромолекулярные составы поликомплексов и общее количество низкомолекулярного электролита, выделившегося в межмакромолекулярной реакции, нетрудно рассчитать число солевых связей, приходящихся на одну белковую глобулу в поликомплексе. Как видно из табл. 2, эта величина практически не зависит от состава реакционной смеси и равна  $55 \pm 10$ . Этот результат убедительно свидетельствует об одинаковой реакционной способности глобул БСА при их взаимодействии с Q-ПВП. Следует отметить, что в реакции образования солевых связей между БСА и Q-ПВП принимает участие только около половины определяемых из аминокислотного состава [5] карбоксильных групп белка. Это, по-види-

мому, следует отнести к влиянию конформации макромолекул БСА на межмакромолекулярную реакцию, что согласуется с данными работы [1], где показано, что структура глобул БСА не разрушается при их взаимодействии с полиэлектролитом.

Совокупность экспериментальных данных позволяет описывать реакцию между БСА и Q-ПВП следующим образом. При составе смеси  $\xi = 3,3 \cdot 10^2$  (характеристический состав) в растворе обнаруживаются только частицы поликомплекса характеристического состава. Строение таких частиц в соответствии с работой [1] можно представить как совокупность глобул БСА, связанных солевыми связями с навернутой на них цепочкой поликатиона. При этом большинство заряженных групп макромолекулы поликатиона в поликомплексе остаются свободными. Такие

Таблица 2

**Результаты аргентометрического анализа концентрации Br<sup>-</sup> в диялизатах поликомплексов БСА – Q-ПВП-2 различного состава**

Состав поликомплекса "БСА : "Q-ПВП	Концентрация выделяю- щегося Br <sup>-</sup> на 1 г Q-ПВП-2 с · 10 <sup>3</sup> , моль/л	Количество солевых связей на 1 молекулу БСА (точность ±10)
7 : 1	0,974	60
9 : 1	1,154	50
11 : 1	1,374	60
13 : 1	1,634	50

группы находятся в петлях на поверхности частицы характеристического состава и обеспечивают ее растворимость в водных средах. При введении в реакционную смесь новых порций белка ( $\xi < 3,3 \cdot 10^2$ ) осуществляется электростатическое связывание глобул БСА со свободными участками макромолекулы поликатиона, включенной в поликомплекс, что сопровождается ростом молекулярной массы частиц комплекса. В результате такого взаимодействия общий положительный заряд частиц поликомплекса уменьшается, что приводит к уменьшению их сродства к растворителю (табл. 1). Как видно из рис. 2, на котором представлена зависимость приведенной вязкости растворов поликомплексов БСА – Q-ПВП-1 состава  $\xi = 2,5 \cdot 10^2$  (кривая 2) от концентрации раствора, увеличение содержания белка в частице поликомплекса приводит к уменьшению значений приведенной вязкости их растворов, что согласуется с приведенными выше результатами. Однако при этом частицы поликомплексов сохраняют способность к полиэлектролитному набуханию. При содержании белка в реакционной смеси, близком к значениям, соответствующим точке осаждения поликомплексов из раствора [1] ( $\xi = 1,7 \cdot 10^2$ ), значения  $A_2$  для растворов поликомплексов минимальны (табл. 1).

Рассмотрим теперь более подробно структуру водорастворимых поликомплексов БСА – Q-ПВП. Для определения формы таких частиц было проведено исследование характеристической вязкости растворов указанных поликомплексов характеристического состава в зависимости от молекулярной массы поликатиона. Чтобы исключить эффекты полиэлектролитного набухания, измерение характеристической вязкости растворов проводили в режиме, близком к изоионному разбавлению. Для этого растворы поликомплексов определенной концентрации в 0,01 M NaBr диялизовали относительно растворителя. При этом активность низкомолекулярного электролита в растворах поликомплексов в диялизате уравнивается, поэтому последующее разбавление растворов поликомплексов диялизатом не приводит к заметному изменению ионной силы растворов. На рис. 3 представлены зависимости приведенной вязкости  $\eta_{sp}/c$  растворов поликомплексов БСА – Q-ПВП характеристического состава от концентрации растворов  $c$ . Видно, что во всем интервале изменения концентрации растворов такие зависимости линейны, что указывает на отсутствие поли-

электролитного набухания частиц поликомплексов. Экстраполяция зависимостей  $\eta_{sp}/c$  от  $c$  для растворов поликомплексов различных молекулярных масс к  $c=0$  дает возможность определить значения характеристических вязкостей этих систем. На рис. 4 приведена зависимость логарифма характеристической вязкости  $\lg [\eta]$  растворов поликомплексов состава  $\xi=3,3 \cdot 10^2$  от логарифма их молекулярной массы  $\lg \bar{M}_w$ . Нетрудно видеть, что эта зависимость в пределах ошибки эксперимента линейна и подчиняется уравнению Марка — Куна — Хаувинка  $[\eta]=K\bar{M}^\alpha$  с параметрами  $K=1,1 \cdot 10^{-6}$  и  $\alpha=1,4 \pm 0,3$ .

Хорошо известно, что показатель степени в уравнении Марка — Куна — Хаувинка однозначно связан с формой растворенных частиц. Так,

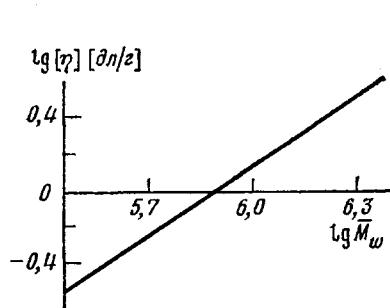


Рис. 4

Рис. 4. Зависимость  $\lg [\eta]$  от  $\lg \bar{M}_w$  для растворов поликомплексов БСА — Q-ПВП характеристического состава

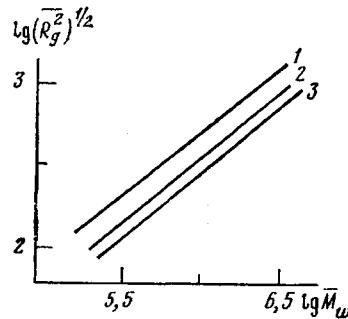


Рис. 5

Рис. 5. Зависимость  $\lg \langle R_g^2 \rangle^{1/2}$  от  $\lg \bar{M}_w$  для растворов поликомплексов БСА — Q-ПВП при  $\xi \cdot 10^{-2}=3,3$  (1);  $2,0$  (2) и  $1,8$  (3)

для макромолекулы в конформации статистического клубка  $a=0,5-0,8$ , а для стержнеобразных частиц  $1,5-1,8$ . В рассматриваемом нами случае  $a=1,4 \pm 0,3$ , что отвечает модели жесткого стержня. Этот результат следует рассматривать как количественное подтверждение данных исследования поликомплексов БСА — Q-ПВП методами скоростной седиментации, вискозиметрии и электронной микроскопии, полученных в работе [1]. Он указывает на то, что частицы поликомплекса БСА — Q-ПВП характеристического состава действительно можно представить в виде жестких асимметрических образований.

Для определения формы частиц поликомплексов нехарактеристического состава  $\xi<3,3 \cdot 10^2$  методом светорассеяния изучены зависимости среднеквадратичных радиусов инерции  $\langle R_g^2 \rangle^{1/2}$  частиц поликомплексов одинакового состава  $\xi$  от их молекулярной массы. На рис. 5 представлены такие зависимости в координатах  $\lg \langle R_g^2 \rangle^{1/2}$  от  $\lg \bar{M}_w$  для составов поликомплексов  $\xi=3,3 \cdot 10^2$  (кривая 1),  $2,0 \cdot 10^2$  (кривая 2) и  $1,8 \cdot 10^2$  (кривая 3). Из рисунка видно, что эти зависимости линейны для растворов поликомплексов всех изученных составов. Это свидетельствует о том, что поликомплексы одинакового состава можно рассматривать как представители одного полимергомологического ряда, частицы которых обладают одинаковым строением. Зависимость среднеквадратичного радиуса инерции от молекулярной массы частиц поликомплекса, как видно из рис. 5, может быть описана известным уравнением

$$\langle R_g^2 \rangle^{1/2} = \text{const} \cdot \bar{M}_w^\alpha$$

с показателем степени  $\alpha=1 \pm 0,15$ . Хорошо известно, что по значению показателя степени  $\alpha$  в данном уравнении можно судить о форме макромолекул в растворе. Так, для статистического клубка  $\alpha=0,5$ , а для жесткого стержня  $\alpha=1$  [6]. Приведенные выше экспериментальные данные

Таблица 3

## Размеры частиц водорастворимых поликомплексов БСА – Q-ПВП

$\bar{F}_{wQ\text{-ПВП}} \cdot 10^{-3}$	Состав поликомплекса $n\text{-БСА} : n\text{-Q-ПВП}$	$\langle R_g^2 \rangle^{1/2}, \text{ нм}$	$(\bar{v} \pm 1,6) \cdot 10^{-2}, \text{ мл/г}$	$D, \text{ нм}$	$L, \text{ нм}$
1,0	3 : 1	21	0,78	2,8	74
	4 : 1	24	0,72	2,8	82
	5 : 1	17	0,74	3,6	60
	6 : 1	17	0,79	4,0	60
2,3	7 : 1	37	0,78	3,1	130
	9 : 1	34	0,72	3,3	120
	11 : 1	33	0,74	3,6	110
	12 : 1	32	0,79	4,1	110
2,6	8 : 1	44	0,78	3,1	150
	11 : 1	47	0,72	3,2	160
	14 : 1	45	0,74	3,6	160
	16 : 1	41	0,79	4,1	140

свидетельствуют о том, что частицы поликомплексов различных составов § следует рассматривать как сильно асимметричные образования.

Таким образом, частицы водорастворимых комплексов БСА – Q-ПВП всех исследованных составов представляют собой стержнеобразные частицы. Иными словами, связывание белковых глобул частицами поликомплекса характеристического состава мало меняет форму последних, влияя лишь на геометрические размеры. Поэтому в качестве модели таких частиц была выбрана модель цилиндра. В дальнейшем под эквивалентным цилиндром будем понимать такой цилиндр, объем и радиус инерции которого равны соответственно объему и радиусу инерции частицы поликомплекса. Очевидно, что геометрические размеры эквивалентного цилиндра строго не соответствуют реальным размерам частицы поликомплекса, а отражают лишь некоторые ее характеристики, такие, например, как степень асимметричности.

Объем цилиндра и его радиус инерции связаны с его геометрическими размерами следующими уравнениями:

$$\bar{R}_g^2 = \frac{L^2}{12} + \frac{D^2}{8} \quad V = \pi \left( \frac{D}{2} \right)^2 L,$$

где  $V$ ,  $\langle \bar{R}_g^2 \rangle^{1/2}$ ,  $L$ ,  $D$  – объем, радиус инерции, длина и диаметр цилиндра соответственно.

В первом приближении, пренебрегая набуханием частицы комплекса, можно принять, что ее удельный парциальный объем связан с геометрическим объемом соотношением

$$V = \bar{v} \bar{M}_w / N_A,$$

где  $V$  – геометрический объем частицы, а  $\bar{v}$  – удельный парциальный объем.

Определенные нами величины удельных парциальных объемов растворов поликомплексов БСА – Q-ПВП различного состава совместно с радиусами инерции их частиц, полученными методом светорассеяния, представлены в табл. 3. Там же представлены значения  $D$  и  $L$  эквивалентных цилиндров, рассчитанные по приведенным выше уравнениям.

Из табл. 3 видно, что растворимые поликомплексы БСА – Q-ПВП различного состава действительно представляют собой сильно асимметрич-

ные образования, причем их асимметрия растет с ростом молекулярной массы поликатиона. Отдавая себе отчет в приближенности подобного рассмотрения, тем не менее высажем ряд замечаний относительно возможной структуры частиц поликомплекса БСА – Q-ПВП. Обращает на себя внимание тот факт, что диаметр эквивалентного цилиндра, моделирующего строение частицы поликомплекса характеристического состава, практически не зависит от молекулярной массы поликатиона. При увеличении содержания белка в частицах поликомплекса диаметр эквивалентного цилиндра возрастает пропорционально числу глобул БСА в составе поликомплекса. Сравнивая размеры белковых глобул с размерами эквивалентного цилиндра, отвечающего частицам поликомплекса характеристического состава, несмотря на грубость приведенных оценок, можно предположить, что белковые глобулы в таких частицах расположены в один ряд вдоль наиболее вытянутой оси частицы поликомплекса. При увеличении содержания белка в составе поликомплекса сверх характеристического состава наблюдается их утолщение, обусловленное, по-видимому, достройкой второго ряда белковых глобул в частицах поликомплекса. При этом частицы поликомплекса остаются сильно асимметричными.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Кабанов В. А., Ездаев В. П., Мустафаев М. И., Антипина А. Д. Кооперативное связывание сывороточного альбумина кватернизованными поли-4-винилпиридинами и структура образующихся комплексов. – Молек. биол., 1977, т. 11, вып. 3, с. 582.
2. Гуляева Ж. Г., Полетаева О. А., Калачев А. А., Касаукин В. А., Зезин А. Б. Исследование водорастворимых полизелектролитных комплексов на основе полиакрилата натрия и 5,6-ионенбромида. – Высокомолек. соед. А, 1976, т. 18, № 12, с. 2800.
3. Stacey K. Light Scattering in the Physical Chemistry. – London, 1955, p. 150.
4. Изумрудов В. А., Касаукин В. А., Ермакова Л. Н., Зезин А. Б. Исследование водорастворимых полизелектролитных комплексов неэквимольного состава. – Высокомолек. соед. А, 1978, т. 20, № 2, с. 400.
5. Тристрам Г. Аминокислотный состав белков. – В кн.: Белки. М.: Изд-во иностр. лит., 1956, т. 11, с. 244.
6. Цветков В. Н., Эскин В. Е., Френкель С. Я. Структура макромолекул в растворе. М.: Наука, 1964, с. 275.

Московский государственный  
университет им. М. В. Ломоносова

Поступила в редакцию  
11.IV.1980

#### STUDY OF THE STRUCTURE OF WATER-SOLUBLE COMPLEXES OF BOVINE SERUM ALBUMINE WITH POLY-4-VINYL-N-ETHYL PYRIDINIUM BROMIDE BY LIGHT SCATTERING METHOD

*Izumrudov V. A., Kasatkin V. A., Yermakova L. N.,  
Mustafaeva M. I., Zezin A. B., Kabanov V. A.*

#### Summary

The macromolecular organization of particles of water-soluble complexes of bovine serum albumine with poly-4-vinyl-N-ethylpyridinium bromide has been studied by light scattering method. It is shown that in the wide range of components ratios only one macromolecule of the polymer is included into the complex particle. The electrostatic character of the interaction between complex components is proved by argentometric titration. The results on the structure of earlier described soluble polycomplexes are quantitatively confirmed, and considerable asymmetry of their particles is found.