

УДК 577.352

ОЦЕНКА ПЛОЩАДИ, ПРИХОДЯЩЕЙСЯ НА ОДНУ МОЛЕКУЛУ ДЕТЕРГЕНТА НА ГРАНИЦЕ РАЗДЕЛА ФАЗ В СМЕШАННЫХ ЛИПИД-ДЕТЕРГЕНТНЫХ АГРЕГАТАХ

© 2008 г. Ю. В. Храмцов, Л. И. Барсуков*

Институт биологии гена РАН, 119334 Россия, г. Москва, ул. Вавилова, д. 34/5, факс: (499)135-41-05,
электронная почта: ykhram2000@mail.ru

* Институт биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, 117997
Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10, факс: (495) 336-43-33,
электронная почта: libar@mx.ibch.ru

Поступила в редакцию 17.07.2008 г.

С целью теоретического анализа строения смешанных липид-детергентных и белок-детергентных агрегатов, а также изучения межмолекулярных взаимодействий в этих агрегатах разработан новый подход к оценке площади, приходящейся на одну молекулу детергента на границе раздела фаз, a_d , основанный на рассмотрении взаимосвязи между геометрическими параметрами упаковки детергентных и липидных молекул и составом смешанных агрегатов. Описание структурных переходов между агрегатами различного типа проведено на основе концепции параметра молекулярной упаковки, δ , обобщенного для случая двухкомпонентной липид-детергентной системы (Goltsov A.N., Barsukov L.I. // J. Biol. Phys. 2000. V. 26. P. 27–41). Показано, что в рамках этой концепции эффективный параметр упаковки $\delta_{кр}$ определяется соотношением детергент/липид, необходимым для полной сольubilизации смешанных агрегатов, R_e^{sol} , площадью, приходящейся на одну молекулу детергента на границе раздела фаз, a_d , а также рядом других параметров молекулярной упаковки, зависящих от строения детергента и липида. Рассчитанные с помощью предлагаемого подхода значения a_d достаточно хорошо совпадают с имеющимися в литературе экспериментальными данными. Показано, что этот подход позволяет эффективно оценивать влияние на величину a_d состава среды, температуры и строения детергента в широком диапазоне температур и соотношений детергент/липид. Проанализированы условия, при которых происходит насыщение липидного бислоя детергентом на начальных этапах сольubilизации. Установлена взаимосвязь между R_e^{sol} и соотношением детергент/липид, необходимым для насыщения липидного бислоя детергентом, R_e^{sat} ; предложен способ оценки этого параметра с использованием имеющихся в литературе значений R_e^{sol} .

Знание процессов структурообразования в смешанных липид-детергентных системах необходимо для проведения сольubilизации и реконструкции мембран, выделения и кристаллизации мембранных белков [1], изучения их структуры методом ЯМР [2], а также для создания новых систем доставки лекарственных препаратов [3]. С це-

лю выявлению общих закономерностей процесса структурообразования широко используются теоретические подходы к описанию структурного поведения липид-детергентных систем [4–10]. В частности, предпринимаются попытки теоретического предсказания условий формирования липид-детергентных агрегатов разного типа [6]. Равновесное строение липид-детергентных агрегатов определяется спонтанной кривизной липид-детергентного монослоя. Изучая зависимость этой кривизны от состава смеси и температуры, можно описать структурные переходы, происходящие в смешанных липид-детергентных системах [5–10]. Одним из параметров, задающих спонтанную кривизну монослоя, является площадь, приходящаяся на одну молекулу детергента на границе раздела фаз, a_d [5, 6]. Знание этой площади необходимо для понимания характера межмолекулярных взаимодействий в смешанных липид-детергентных агрега-

Сокращения: DMPC – димиристоилфосфатидилхолин, DPPC – дипальмитоилфосфатидилхолин, C_nE_m – алкильный эфир полиэтиленгликоля (n – число атомов углерода в алкильной цепи детергента, m – число оксиэтиленовых звеньев), OG – октилглюкозид, DM – додецилмальтозид, SOS – октилсульфат натрия, SDeS – децилсульфат натрия, SDS – додецилсульфат натрия, DeTABr – децилтриметиламмонийбромид, DTABr – додецилтриметиламмонийбромид, TTABr – тетрадецилтриметиламмонийбромид, HTABr – гексадецилтриметиламмонийбромид, MEGA-8 – октаноил-N-метилглюкамид, MEGA-9 – нонаноил-N-метилглюкамид, MEGA-10 – деканоил-N-метилглюкамид, ККМ – критическая концентрация мицеллообразования.

тах [4] и принципов связывания липидов и детергентов с интегральными мембранными белками [11]. В частности, зная значения a_d , можно оценить площадь гидрофобной поверхности мембранных белков, даже если структура этих белков еще не известна [11, 12].

Параметр a_d обычно оценивают по данным малоуглового рассеяния рентгеновских лучей в смешанных липид-детергентных бислоях при низком содержании воды [13, 14]. Однако дефекты упаковки молекул в таких бислоях могут оказывать довольно сильное влияние на измеряемые величины a_d [13]. Кроме того, результаты измерений a_d , которые проводятся при низком содержании воды, вообще говоря, могут оказаться неприемлемыми для разбавленных водных систем, где площадь, приходящаяся на молекулу детергента, может быть совершенно иной.

Кроме метода малоуглового рентгеновского рассеяния площадь, приходящуюся на молекулу детергента на границе раздела фаз, можно оценить, проводя измерения в мономолекулярных пленках [15–17]. Однако при этом определяется минимальная площадь, которая приходится на молекулу детергента в условиях плотно сжатого монослоя, а она также может значительно отличаться от площади, занимаемой детергентом на поверхности липид-детергентных агрегатов. Величину a_d можно оценить также с помощью резонансного переноса энергии возбуждения между флуоресцентными метками [18]. Однако данный метод требует флуоресцентно меченных детергентов и зачастую дает завышенные значения площади. Это связано с тем, что в данном случае приходится проводить измерения при низких соотношениях детергент/липид, а относительная ошибка определения a_d обратно пропорциональна этому соотношению [18]. Другие ограничения существующих методов определения a_d связаны с тем, что они требуют больших затрат времени и позволяют определять значение a_d только в случае бислоевой упаковки липид-детергентных агрегатов в узком диапазоне температур. Очевидно, что для смешанных липид-детергентных агрегатов с высокой кривизной поверхности, таких как мицеллы, эти методы могут найти лишь ограниченное применение.

Строение липид-детергентных агрегатов можно описать, используя геометрические упаковочные параметры липида и детергента [5–10]. Другой важный параметр для характеристики этих агрегатов – мольное соотношение детергент/липид в смешанных агрегатах, R_c , который используют при описании структурного и фазового поведения липид-детергентных систем [19]. Обычно предполагается, что R_c отвечает равновесному состоянию липид-детергентных агрегатов [19]. Ранее была установлена связь упаковочных параметров липида и детергента с R_c на основе концепции параметра

молекулярной упаковки δ , обобщенного для случая двухкомпонентной липид-детергентной системы [5, 6] (подробное описание его приведено в разделе “Результаты и их обсуждение”). В настоящей работе эффективный параметр упаковки использован для описания смешанных липид-детергентных агрегатов в условиях их насыщения детергентом, когда в липид-детергентной системе имеет место переход мицеллы–везикулы. В этих граничных условиях эффективный параметр упаковки имеет строго заданные значения, что позволяет, зная состав липид-детергентных агрегатов, оценивать упаковочные параметры липида и детергента. Большинство упаковочных параметров, кроме площади, приходящейся на молекулу детергента на границе раздела фаз, можно оценить, исходя из строения детергента и липида. Площадь, приходящуюся на одну молекулу липида, можно оценить по литературным данным. И тогда, зная состав липид-детергентных агрегатов, можно получить искомую площадь одной молекулы детергента на границе раздела фаз, a_d .

Термочувствительные липид-детергентные системы являются очень эффективной и удобной моделью для изучения структурного перехода мицеллы–везикулы [20, 21]. Ранее мы детально описали термоиндуцируемые структурные и фазовые переходы, происходящие в системе димристоилфосфатидилхолин–холат натрия [22], и показали, что эти переходы могут быть использованы для определения состава липид-детергентных агрегатов [23]. В настоящей работе этот подход был применен для определения a_d .

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали синтетические DMPC и DPPC, алкильные эфиры полиэтиленгликоля с общей формулой C_nE_m (n – число атомов углерода в алкильной цепи детергента, m – число оксиэтиленовых звеньев) – $C_{12}E_7$, $C_{12}E_8$, $C_{14}E_8$, $C_{16}E_8$, и NaCl фирмы “Sigma” (США), трис фирмы “Serva” (Германия) и воду, очищенную с помощью системы очистки Milli-Q фирмы “Millipore” (США) до сопротивления 18 МОм.

Для приготовления смесей использовали 10 мМ трис-HCl-буфер (pH 7.3–7.4), содержащий 100 мМ NaCl. Липид-детергентные образцы готовили путем смешивания аликвот концентрированных растворов (дисперсий) детергента (100 мМ) и липида (50 мМ) в нужных пропорциях и разведения буфером до требуемых концентраций.

Для приведения образцов в исходное равновесное состояние, их нагревали при 50–60°C в течение 30–50 мин, затем охлаждали до комнатной температуры и выдерживали при этой температуре не менее 20 мин. Для образцов, приготовленных таким образом, температуры характерных измене-

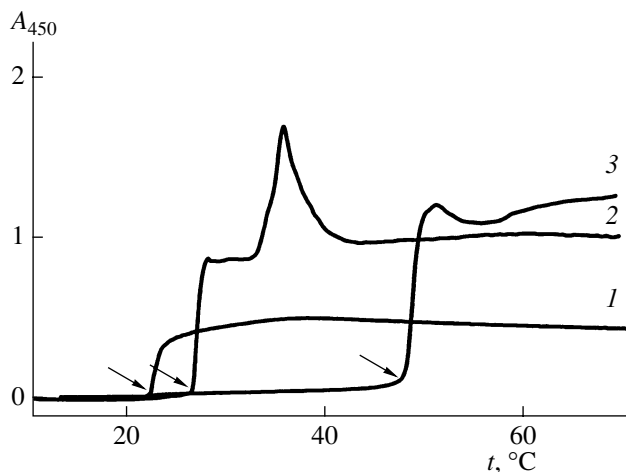


Рис. 1. Кривые турбидиметрии для системы DMPC–C₁₂E₈ в зависимости от концентрации детергента в смеси. Концентрация липида 5 мМ. Концентрации детергента: 2 (1), 4 (2) и 10 мМ (3). Стрелками показана температура начала роста оптической плотности смеси, t_n .

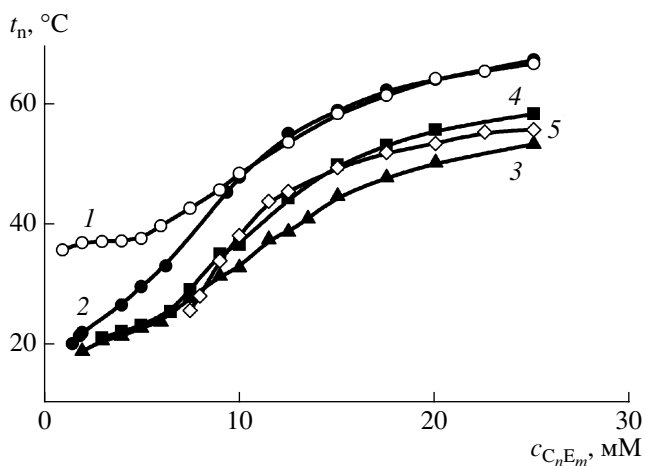


Рис. 2. Зависимости температуры начала роста оптической плотности смеси, t_n , от концентрации детергента $c_{C_nE_m}$ в смеси для изученных систем PC–C_nE_m. Концентрация липида 5 мМ. Показаны системы: DPPC–C₁₂E₈ (1), DMPC–C₁₂E₈ (2), DMPC–C₁₂E₇ (3), DMPC–C₁₄E₈ (4) и DMPC–C₁₆E₈ (5).

ний оптической плотности различались не более чем на 1°C при повторных температурных сканированиях.

Турбидиметрические измерения в режиме сканирования по температуре проводили при длине волны 450 нм на спектрофотометре UVIKON 943 фирмы “KONTRON Instruments” (США) с термостатируемым кюветным отделением и магнитной мешалкой, повышая температуру в диапазоне 8–

85°C со скоростью 0.8°C/мин при постоянном перемешивании. Скорость повышения температуры задавали с помощью программируемого термостата Polystat фирмы “Cole Parmer Instrument Co.” (США). Характеристические температуры изменений оптической плотности образцов в режиме нагревания при повторных сканированиях отличалась не более чем на 1.5°C. Температуру в кювете спектрофотометра измеряли с помощью термопары с точностью 0.1°C. Полученные турбидиметрические кривые сглаживали, и определяли характеристические температуры изменений оптической плотности образцов с помощью программы Origin 5.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При нагревании смесей DMPC или DPPC с алкильными эфирами полиэтиленгликоля C_nE_m, начиная с некоторой характеристической температуры (t_n), происходит скачкообразное возрастание оптической плотности образцов. Типичный вид наблюдаемых при этом турбидиметрических кривых приведен на рис. 1 для смеси DMPC–C₁₂E₈. Для систем подобного типа это явление было описано ранее [24] и может быть объяснено термоиндуцируемым переходом мицеллы–везикулы, наблюдавшимся также в случае других липид-детергентных систем (см., например, [20, 21, 25–30]). Как видно из рис. 1, температура, при которой начинается этот переход, зависит от концентрации детергента. При низких концентрациях детергента (до 5–8 мМ) эта температура лежит в пределах 19–24°C для DMPC и 37–41°C для DPPC (рис. 2), что близко к температуре основного фазового перехода гель–жидкий кристалл этих фосфолипидов. При более высоких концентрациях детергента температура начала перехода мицеллы–везикулы t_n значительно превышает температуру основного фазового перехода липида, постепенно приближаясь к точке помутнения соответствующего детергента (73.3, 61.8, 65.5 и 60.0°C для C₁₂E₈, C₁₂E₇, C₁₄E₈ и C₁₆E₈ соответственно). Следует отметить, что термоиндуцируемый переход мицеллы–везикулы полностью обратим, и при охлаждении система возвращается в исходное мицеллярное состояние, причем характеристическая температура, при которой происходит полная мицеллизация, практически совпадает с температурой перехода t_n , измеренной в режиме нагревания (различия не превышали 1.5°C).

Алкильные эфиры полиэтиленгликоля, использованные в качестве детергентов в настоящей работе, имеют низкую критическую концентрацию мицеллообразования (<0.1 мМ) [31]. Учитывая, что концентрация детергентов в изученных системах была выше 3 мМ, можно полагать, что в этих условиях практически весь детергент находится в составе смешанных липид-детергентных

агрегатов, поэтому мольное соотношение детергент/липид в этих агрегатах, R_e , должно совпадать с общим соотношением детергент/липид в смеси. Мольное соотношение детергент/липид в смешанных агрегатах, при котором происходит их полная сольubilization, R_e^{sol} , можно получить, определяя при заданной температуре и концентрации липида ту концентрацию детергента, при которой оптическая плотность образцов достигает значений, не превышающих 0.1 ед., что является характерным признаком образования мицеллярных растворов [32].

На рис. 3 представлены зависимости R_e^{sol} от температуры для изученных липид-детергентных систем. С целью анализа этих систем в сопоставимых фазовых состояниях были отобраны только те температуры, при которых липид заведомо находится в жидкокристаллической фазе (выше 25°C в случае DMPC и выше 41°C в случае DPPC), а сама система достаточно удалена от критического состояния чистого детергента, т.е. находится при температурах, которые по меньшей мере на 10°C ниже точки помутнения соответствующего детергента.

Как видно из представленных данных, в выбранном температурном диапазоне R_e^{sol} монотонно возрастает по мере повышения температуры. Наибольшее влияние на значения R_e^{sol} оказывает размер полярных головок детергентов (рис. 3, кривые 2 и 3), а не длина углеводородных цепей липидов и детергентов (ср. кривые 1 и 2, а также 4 и 5 на рис. 3). Размер полярной головки детергента определяет площадь, приходящуюся на одну молекулу детергента на границе раздела фаз в липид-детергентных агрегатах, a_d . Следовательно, значения R_e^{sol} больше зависят от удельной площади молекул детергента на границе раздела фаз, чем от других упаковочных параметров детергентных и липидных молекул.

Покажем, что, зная величины R_e^{sol} , можно оценить значения a_d для разных детергентов. Тип агрегатов, образуемых амфифильными молекулами, можно описать с помощью молекулярного безразмерного параметра упаковки $\delta = v/ah$ [4], где v – объем гидрофобной части амфифильной молекулы, a – площадь, приходящаяся на одну молекулу на границе раздела фаз, и h – эффективная толщина гидрофобной части монослоя, образуемого амфифильными молекулами (рис. 4). Мицеллярным и бислойным агрегатам отвечают различные значения параметра δ , причем для мицелл этот параметр имеет значения < 0.5 , а для бислойных агрегатов он лежит в пределах от 0.5 до 1 [4]. Показано, что в случае смешанных ли-

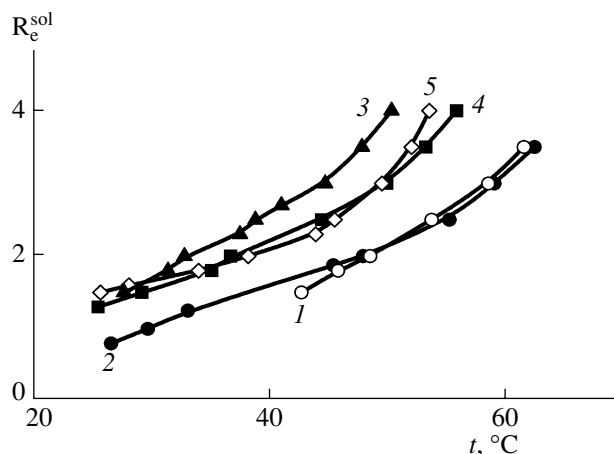


Рис. 3. Зависимости мольного соотношения детергент/липид, при котором происходит полная мицеллизация, R_e^{sol} , от температуры для изученных систем PC-C_nE_m. Показаны системы: DPPC-C₁₂E₈ (1), DMPC-C₁₂E₈ (2), DMPC-C₁₂E₇ (3), DMPC-C₁₄E₈ (4) и DMPC-C₁₆E₈ (5).

пид-детергентных агрегатов эффективный параметр упаковки может быть представлен следующим образом [5, 6]:

$$\delta_{eff} = (v_l + R_e v_d) / (a_l h_{dl} + R_e a_d h_{dl}), \quad (1)$$

где индексами l и d помечены упаковочные параметры молекул липида и детергента соответственно, а h_{dl} – эффективная толщина смешанного липид-детергентного монослоя (рис. 4). Как и в случае однокомпонентных систем, эффективный параметр упаковки должен возрасти при переходе от мицелл к бислойным агрегатам.

Предположим, что при R_e^{sol} эффективный параметр упаковки имеет критическое значение $\delta_{кр}$. Тогда из выражения (1) получаем:

$$\delta_{кр} = (v_l + R_e^{sol} v_d) / (a_l h_{dl} + R_e^{sol} a_d h_{dl}). \quad (2)$$

Путем преобразования из этого выражения можно получить для данных условий:

$$a_d = (v_l + R_e^{sol} v_d) / (\delta_{кр} R_e^{sol} h_{dl}) - a_l / R_e^{sol}. \quad (3)$$

Имея температурную зависимость $R_e^{sol}(t)$, по выражению (3) можно определить зависимость искомой удельной площади a_d от температуры. Для этого необходимо оценить все другие параметры, входящие в выражение (3).

Объем насыщенной неразветвленной углеводородной цепи рассчитывался на основе ван-дер-ваальсовых объемов групп, образующих эту цепь. Были использованы следующие величины объемов для метильной и метиленовых групп: $v_{CH_3} =$

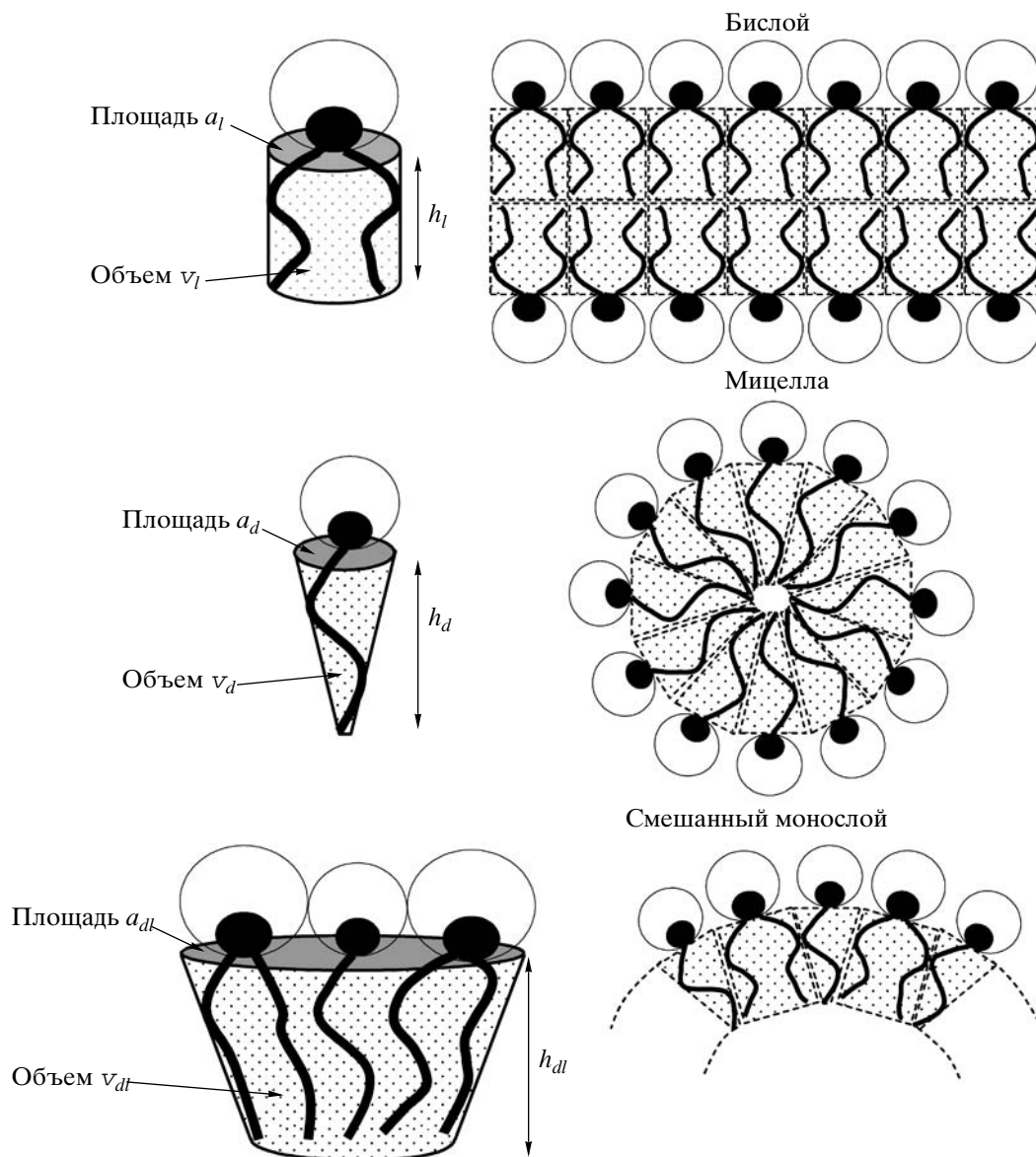


Рис. 4. Упаковочные параметры липида и детергента (применительно к веществам, использованным в работе) в агрегатах: a_l , a_d и a_{dl} – площадь на границе раздела фаз, v_l , v_d и v_{dl} – гидрофобный объем, h_l , h_d и h_{dl} – эффективная толщина монослоя.

$= 54 \text{ \AA}^3$ и $v_{\text{CH}_2} = 28.4 \text{ \AA}^3$ [9, 33]. Тогда для углеводородной цепи детергента, содержащей n атомов углерода:

$$v_d = 54 + 28.4(n - 1) \text{ \AA}^3. \quad (4)$$

Для липида гидрофобный объем ацильной цепи рассчитывается, начиная от второго атома углерода. Поэтому для двух ацильных цепей липида, каждая из которых имеет n атомов углерода:

$$v_l = 108 + 56.8(n - 2) \text{ \AA}^3. \quad (5)$$

Таким образом, для молекулы DMPC ($n = 14$) получаем $v_l = 790 \text{ \AA}^3$, а для молекулы DPPC ($n = 16$) $v_l = 900 \text{ \AA}^3$.

Площадь, приходящаяся на одну молекулу DMPC на границе раздела фаз, в зависимости от метода ее определения, при 30°C составляет $59.5\text{--}67.6 \text{ \AA}^2$ [33, 34], а площадь, приходящаяся на одну молекулу DPPC при 50°C составляет $57\text{--}71.2 \text{ \AA}^2$ [33]. Пренебрегая зависимостью удельной площади этих липидов от температуры, будем считать, что в среднем

$$a_l = 63 \text{ \AA}^2. \quad (6)$$

Это допущение вносит ошибку в определение искомой величины a_d порядка 3–6 Å².

За эффективную толщину смешанного липид-детергентного монослоя h_{dl} принимаем среднее из эффективных толщин однокомпонентных липидных и детергентных монослоев с учетом того, что липидная молекула имеет две углеводородных цепи, а детергентная молекула одну цепь:

$$h_{dl} = (2N_l h_l + N_d h_d) / (2N_l + N_d) = (2h_l + R_e h_d) / (2 + R_e), \quad (7)$$

где N_l и N_d – среднее число молекул детергента и липида в липид-детергентном агрегате. При этом в выражении (7) учитываем, что вычисления проводятся для случая, когда температура равна t_n , т.е. когда R_e совпадает с R_e^{sol} . Для сферических и цилиндрических мицелл можно приближенно считать, что $h \approx h_{\text{max}}$, где h_{max} – длина полностью вытянутой углеводородной цепи, которую можно оценить по формуле Танфорда [4]:

$$h_{\text{max}} \approx (1.54 + 1.265n) \text{ \AA}, \quad (8)$$

где n – число атомов углерода в углеводородной цепи. По этой формуле получаем для DMPC $h_l^{\text{max}} \approx 18 \text{ \AA}$, а для DPPC $h_l^{\text{max}} \approx 21 \text{ \AA}$. Однако следует иметь в виду, что даже в случае смешанных липид-детергентных мицелл, которые преобладают в условиях R_e^{sol} , эффективные значения h_l и h_d будут заведомо меньше h_l^{max} и h_d^{max} за счет наличия гош-конформеров в углеводородной цепи. Для учета этого эффекта принимаем, что $h_l = \gamma h_l^{\text{max}}$ и $h_d = \gamma h_d^{\text{max}}$, где коэффициент $\gamma \leq 1$.

В выражении (3) осталось оценить только произведение эффективного параметра упаковки, отвечающего полной мицеллизации, $\delta_{\text{кр}}$, и коэффициента γ . Используя выражения (2) и (7), можно получить:

$$\delta_{\text{кр}} \gamma = ((v_l + R_e^{\text{sol}} v_d)(2 + R_e^{\text{sol}})) / ((a_l + R_e^{\text{sol}} a_d) \times (2h_l^{\text{max}} + R_e^{\text{sol}} h_d^{\text{max}})). \quad (9)$$

Согласно данным, полученным для полиоксиэтиленовых детергентов с помощью метода рассеяния рентгеновских лучей, значения a_d составляют $54 \pm 3 \text{ \AA}^2$ в случае C₁₂E₇ и $60 \pm 2 \text{ \AA}^2$ в случае C₁₂E₈ при температуре 25°C [18]. Подставляя в выражение (9) эти значения, оценки геометрических параметров, сделанные в соответствии с выражениями (4) – (8), а также используя экспериментальные зависимости $R_e^{\text{sol}}(t)$, представленные на рис. 3, получим, что при температуре 25°C произведение $\delta_{\text{кр}} \gamma$ составляет 0.564 ± 0.008 для системы DMPC–C₁₂E₈, и 0.544 ± 0.016 для системы DMPC–C₁₂E₇. Приняв

за искомое значение $\delta_{\text{кр}} \gamma$ их среднее, получим, что

$$\delta_{\text{кр}} \gamma = 0.554 \pm 0.009. \quad (10)$$

Подставив оценки (6), (7) и (10) в выражение (3), получаем:

$$a_d(t) = ((v_l + R_e^{\text{sol}}(t) v_d)(2 + R_e^{\text{sol}}(t))) / (0.554 R_e^{\text{sol}}(t) \times (2h_l^{\text{max}} + R_e^{\text{sol}}(t) h_d^{\text{max}})) - 63 / R_e^{\text{sol}}(t), \quad (11)$$

где параметры v_d , v_l , h_l^{max} и h_d^{max} оцениваются по формулам (4), (5) и (8). Строго говоря, значения a_d определяются только при соотношениях детергент/липид в смешанных агрегатах при R_e^{sol} , поэтому выражение (11) задает зависимость a_d от R_e^{sol} , а не от температуры. Однако зависимость a_d от температуры можно получить, если предположить, что этот параметр не зависит от состава смешанных липид-детергентных агрегатов.

Как видно из данных, представленных на рис. 5, для систем, содержащих алкильные эфиры полиэтиленгликоля, площадь, приходящаяся на одну молекулу детергента на границе раздела фаз в смешанных липид-детергентных агрегатах, значительно уменьшается с ростом температуры. Это может быть связано с сильной дегидратацией полярных головок молекул этих детергентов по мере повышения температуры. Так, при увеличении температуры от 30 до 60°C степень гидратации C₁₂E₈ уменьшается с 20 до 5 молекул воды в расчете на одну молекулу детергента [35]. Известно, что полиоксиэтиленовый фрагмент с числом оксиэтиленовых звеньев больше трех имеет конформацию спирали [36, 37]. Методом молекулярной динамики показано, что параметры этой спирали определяются степенью гидратации полиоксиэтиленовой цепи [36]. Снижение степени гидратации полярной головки полиоксиэтиленовых детергентов будет приводить к уменьшению ее размеров, и, следовательно, к уменьшению площади, приходящейся на одну молекулу детергента на границе раздела фаз.

Собственный размер полярной головки полиоксиэтиленовых детергентов определяется числом образующих ее оксиэтиленовых звеньев. Поэтому при всех температурах уменьшение числа оксиэтиленовых звеньев в молекулах этих детергентов приводит к существенному уменьшению площади, приходящейся на одну молекулу детергента на границе раздела фаз (ср. кривые 2 и 3 на рис. 5).

В то же время площадь, приходящаяся на одну молекулу полиоксиэтиленового детергента на границе раздела фаз, зависит от соотношений в длине углеводородных цепей липидных и детергентных молекул. Так, когда детергент имеет более длин-

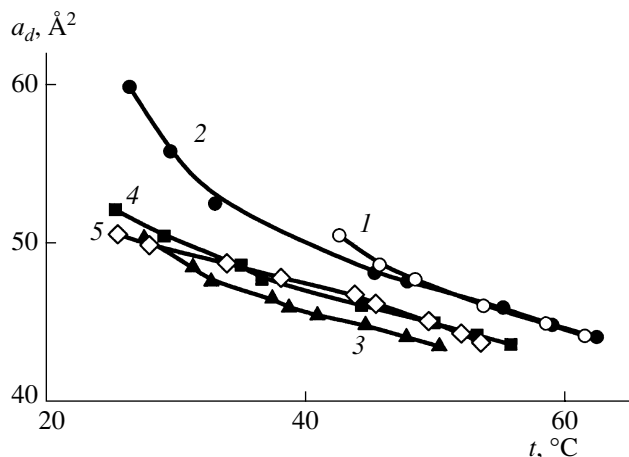


Рис. 5. Полученные по выражению (11) зависимости площади, приходящейся на одну молекулу детергента на границе раздела фаз, a_d от температуры для изученных систем $PC-C_nE_m$. Показаны системы: DPPC- $C_{12}E_8$ (1), DMPC- $C_{12}E_8$ (2), DMPC- $C_{12}E_7$ (3), DMPC- $C_{14}E_8$ (4) и DMPC- $C_{16}E_8$ (5).

ную углеводородную цепь, чем липид, изменение длины этой цепи практически не сказывается на величине a_d (ср. кривые 4 и 5 на рис. 5). Аналогично, если углеводородные цепи липида длиннее, чем у детергента, изменение длины цепей липида также не влияет на a_d (ср. кривые 1 и 2 на рис. 5). Когда же углеводородная цепь детергента короче, чем у липида, с увеличением длины цепи у детергентов происходит резкое падение a_d (ср. кривые 2, 4 и 5 на рис. 5). Это можно объяснить возрастанием площади поверхности контакта между углеводородными цепями липидных и детергентных молекул, что приводит к усилению ван-дер-ваальсовых взаимодействий между ними и соответственно к возрастанию плотности упаковки молекул в смешанных липид-детергентных агрегатах, в результате чего площадь, приходящаяся на одну молекулу детергента на границе раздела фаз, уменьшается.

В настоящей работе значения R_e^{sol} были получены при анализе термоиндуцируемых переходов мицеллы-везикулы в липид-детергентных системах. Однако способ нахождения параметра R_e^{sol} не имеет принципиального значения для предложенного нами подхода к оценке площади, приходящейся на одну молекулу детергента на границе раздела фаз. Поэтому для оценки a_d можно также использовать литературные значения R_e^{sol} , полученные для различных липид-детергентных систем разными методами. Такая оценка была нами проведена, и полученные данные представлены в сводной таблице. Оказалось, что расчетные значения a_d , оцененные с помощью нашего подхода для детергентов совершенно разного строения, хоро-

шо согласуются с литературными данными, полученными в экспериментах на мономолекулярных пленках или с помощью малоуглового рентгеновского рассеяния (см. таблицу). Среднеквадратичное отклонение расчетных данных от значений a_d , полученных в прямых экспериментах, составляло 4 \AA^2 , что можно принять за ошибку предлагаемого нами способа оценки площади, приходящейся на молекулу детергента на границе раздела фаз.

Анализ данных, представленных в таблице, позволяет сделать ряд интересных выводов о состоянии и поведении смешанных липид-детергентных систем разного типа. Так например, в случае системы DPPC-додецилмальтозид (DM) расчетная площадь, приходящаяся на одну молекулу детергента (51 \AA^2), хорошо совпадает с экспериментальными данными (54 \AA^2) [39], полученными при 37°C , т.е. при температуре ниже температуры основного фазового перехода гель-жидкий кристалл чистого DPPC (41°C) [40]. Скорее всего, это связано с тем, что добавление детергента приводит к снижению температуры фазового перехода липида, как это наблюдалось нами в случае смесей насыщенных фосфатидилхолинов с холатом натрия [22].

На основании оценок a_d можно также проанализировать влияние электролита на этот параметр. Так, в случае системы DMPC-SDS, по известным значениям R_e^{sol} при 60°C [27] было установлено, что добавление 0.1 M NaCl в липид-детергентную систему приводит к уменьшению площади, приходящейся на одну молекулу додецилсульфата натрия на границе раздела фаз, от 65 до 50 \AA^2 (см. таблицу). Это можно объяснить тем, что в присутствии электролита происходит экранирование заряда полярных головок молекул SDS и соответственно, уменьшается площадь, приходящаяся на одну молекулу этого детергента на границе раздела фаз [17].

Интересно отметить, что изменения температуры по-разному влияют на значение a_d для различных детергентов. Так, в случае липид-детергентных систем, содержащих SDS, a_d слабо зависит от температуры: при изменении температуры на 30°C изменяется всего лишь на 2 \AA^2 (см. таблицу). То же самое наблюдается и для октилглюкозида: при изменении температуры на 43°C изменяется на 1 \AA^2 (см. таблицу). А для DM, используя литературные данные по зависимости оптической плотности смесей DPPC-DM от температуры [26], мы нашли, что при нагревании всего на 10°C a_d уменьшается на 5 \AA^2 . Такая же зависимость a_d от температуры характерна для изученных нами алкильных эфиров полиэтиленгликоля, в случае которых a_d уменьшается на $3\text{--}8 \text{ \AA}^2$ при нагревании на 10°C (рис. 5).

Экспериментальные и расчетные характеристики липид-детергентных систем

Система	R_e^{sol} эксперимент	$a_d, \text{\AA}^2$		α расчет	R_e^{sat}	
		расчет	эксперимент		расчет	эксперимент
C ₁₂ E ₈ -DMPC	0.70 ^a (25°C)	63	60 ± 2 ^f (25°C)	–	0.45 ± 0.17	–
C ₁₂ E ₇ -DMPC	1.29 ^a (25°C)	52	54 ± 3 ^f (25°C)	–	0.8 ± 0.3	–
C ₁₄ E ₈ -DMPC	1.25 ^a (25°C)	53	–	–	0.7 ± 0.3	–
C ₁₆ E ₈ -DMPC	1.47 ^a (25°C)	51	–	–	0.9 ± 0.3	–
C ₁₂ E ₈ -DPPC	1.72 ^a (45°C)	49	–	–	1.0 ± 0.4	–
OG-DMPC	1.79 ^b (27°C)	48	51 ± 3 ^g (23°C)	0.56	1.0 ± 0.4	1.56 ^b
	2.03 ^b (70°C)	47	–	0.57	1.1 ± 0.5	1.66 ^b
OG-DPPC	1.94 ^b (70°C)	48	–	0.57	1.1 ± 0.5	1.5 ^b
SDS-DPPC	0.98 ^c (45°C)	56	55 ^h (30°C)	0.63	0.6 ± 0.2	0.3 ^c
SDS-DMPC	0.69 ^c (30°C)	63	–	0.61	0.44 ± 0.16	0.32 ^c
	0.63 ^d (60°C)	65	–	0.56	0.40 ± 0.14	0.59 ^d
	1.52 ^d (60°C, 0.1 M NaCl)	50	–	0.58	0.9 ± 0.4	1.05 ^d
SDeS-DMPC	0.68 ^c (30°C)	63	–	–	0.43 ± 0.15	–
SOS-DMPC	1.4 ^c (30°C)	51	–	–	0.8 ± 0.3	–
DeTABr-DMPC	0.69 ^c (30°C)	63	–	–	0.44 ± 0.16	–
DTABr-DMPC	0.79 ^c (30°C)	60	–	0.60	0.50 ± 0.18	0.42 ^c
TTABr-DMPC	0.63 ^c (30°C)	66	–	0.58	0.40 ± 0.14	0.46 ^c
DeTABr-DPPC	0.99 ^c (45°C)	56	–	–	0.6 ± 0.2	–
DTABr-DPPC	1.0 ^c (45°C)	56	–	0.63	0.6 ± 0.2	0.34 ^c
TTABr-DPPC	1.0 ^c (45°C)	56	–	0.62	0.6 ± 0.2	0.36 ^c
HTABr-DPPC	1.0 ^c (45°C)	56	–	0.61	0.6 ± 0.2	0.45 ^c
MEGA-8-DPPC	1.7 ^c (45°C)	49	44.9 ^b (30°C)	–	1.0 ± 0.4	–
MEGA-9-DPPC	1.6 ^c (45°C)	50	46.4 ^b (30°C)	–	0.9 ± 0.4	–
MEGA-10-DPPC	1.6 ^c (45°C)	50	45.2 ^b (30°C)	–	0.9 ± 0.4	–
DM-DPPC	1.4 ^e (37°C)	51	54 ⁱ (37°C)	–	0.8 ± 0.3	–

^a Данные настоящей работы, ^b [25], ^c [32], ^d [27], ^e [26], ^f [18], ^g [38], ^h [16], ⁱ [39].

В случае смесей DPPC с катионными детергентами алкилтриметиламмонийбромидами нам удалось обнаружить, что a_d не зависит от длины углеводородных цепей детергента и составляет 56 \AA^2 в диапазоне 10–16 углеродных атомов в цепи (см. таблицу). Подобный результат был получен в случае смесей DPPC с неионными детергентами – алкил-N-метилглюкамидами (MEGA), для которых, a_d также не зависит от длины алкильной цепи и составляет 50 \AA^2 в диапазоне 8–10 углеродных атомов в цепи (см. таблицу).

Ценную информацию о поведении липид-детергентных систем можно получить, используя для расчета a_d другой фундаментальный параметр мицеллярно-везикулярного перехода, R_e^{sat} , который описывает мольное соотношение детер-

гент/липид в смешанных агрегатах, образующихся при насыщении липидного бислоя детергентом [19]. При достижении R_e^{sat} бислоя под действием вошедшего в него детергента начинает распадаться с образованием липид-детергентных агрегатов различного типа. Обычно распад бислоя сопровождается уменьшением оптической плотности липид-детергентной смеси, и по концентрации детергента, при которой начинается это уменьшение, можно определить R_e^{sat} . Будем считать, что эффективный параметр молекулярной упаковки при R_e^{sat} равен δ_v . Тогда из выражения (1) получаем

$$R_e^{\text{sat}} = (v_l - \delta_v a_l h_{dl}) / (\delta_v a_d h_{dl} - v_d). \quad (12)$$

При этом предполагается, что a_d не зависит от состава смешанных липид-детергентных агрегатов, т.е. a_d имеет одну и ту же величину при R_e^{sat} и R_e^{sol} .

При R_e^{sat} липид-детергентные агрегаты все еще сохраняют бислойную молекулярную упаковку. Известно, что для плоских бислоев параметр молекулярной упаковки должен быть равен единице [4]. Для достаточно крупных везикул, диаметр которых превышает 100 нм, с ошибкой порядка 4% можно считать, что

$$\delta_v \approx 1. \quad (13)$$

Эффективная длина ацильных цепей липида в липидном бислое $h_l \approx 0.7h_{\text{max}}$ [4], где h_{max} – длина максимально вытянутых ацильных цепей липида. Будем считать, что в смешанном липид-детергентном бислое эффективная длина углеводородных цепей липида и детергента

$$h = \alpha h_{\text{max}}. \quad (14)$$

Используя данные по R_e^{sol} , можно получить величину a_d . Тогда, подставляя выражения (6), (7), (13) и (14) в выражение (12) и преобразуя последнее, получаем

$$\alpha = ((v_l + R_e^{\text{sat}} v_d)(2 + R_e^{\text{sat}})) / ((63 + a_d R_e^{\text{sat}})(h_l^{\text{max}} + R_e^{\text{sat}} h_d^{\text{max}})), \quad (15)$$

где параметры v_d , v_l , h_l^{max} и h_d^{max} оцениваются по формулам (4), (5) и (8). В таблице приведены значения параметра α , рассчитанные для липид-детергентных систем с различным строением детергента и липида. Видно, что значения α слабо зависят от строения детергента и липида и лежат в интервале 0.56–0.63. Разброс значений α может быть обусловлен как ошибками определения α , так и различиями в размерах используемых в экспериментах липидных везикул. В среднем получаем $\alpha = 0.59 \pm 0.03$ (\pm SD).

Таким образом, насыщение везикул детергентом должно приводить к уменьшению толщины гидрофобной области липидного бислоя, и, когда толщина этой области становится меньше некоторого критического значения h_k , равного $2(0.59 \pm 0.03)h_{\text{max}}$, начинается сольubilизация везикул с образованием фрагментов липидного бислоя в виде смешанных липид-детергентных агрегатов. Для систем DMPC– C_nE_m , изученных в настоящей работе, критическая толщина гидрофобной области насыщенного детергентом бислоя составляет $h_k = 21\text{--}23$ А, в то время как толщина гидрофобной области бислоя, образуемого DMPC, составляет 26.2 А [33]. Подобный эффект уменьшения толщины липидного бислоя при включении в него детергента был предсказан ранее при теоретическом анализе промежуточных структур, образующихся

при термоиндуцируемом переходе мицеллы-везикулы в системе ДМФХ–холат натрия [5] и подтвержден экспериментально при изучении этой системы методом малоуглового нейтронного рассеяния [41].

Используя найденное значение $\alpha = 0.59 \pm 0.03$, можно решить обратную задачу: из выражения (15) получить зависимость R_e^{sat} от a_d , определяя a_d по известным значениям R_e^{sol} . Используя этот подход, для любой липид-детергентной системы можно оценить R_e^{sat} , зная величину R_e^{sol} . Такие расчетные значения R_e^{sat} были нами получены и приведены в таблице, в которую также включены имеющиеся в литературе данные по R_e^{sat} , полученные экспериментально. Сравнение расчетных данных с экспериментальными показывает, что в целом теоретический расчет дает разумные оценки R_e^{sat} , которые в большинстве случаев достаточно близки к экспериментально найденным величинам. В остальных случаях отклонение расчетных значений от экспериментальных не превышает 40% от величины R_e^{sat} . Возможно, это связано с экспериментальными ошибками определения R_e^{sat} либо с тем, что в случае определенных липид-детергентных систем при расчете следует учитывать дополнительные факторы, влияющие на характер взаимодействия между липидными и детергентными молекулами. Однако, принимая во внимание, что далеко не для всех липид-детергентных систем имеются полные данные по количественным значениям таких фундаментальных параметров мицеллярно-везикулярных переходов, как R_e^{sat} и R_e^{sol} , возможность нахождения даже приблизительных значений этих параметров расчетными методами может оказаться весьма полезной.

В предлагаемом нами подходе к оценке площади, приходящейся на одну молекулу детергента на границе раздела фаз, используются только данные по R_e^{sol} . Параметр R_e^{sol} , как правило, определяют во многих работах, посвященных изучению структурного и фазового поведения липид-детергентных систем, поэтому для широкого класса систем его можно найти в соответствующих публикациях. Кроме того, для детергентов с низкой ККМ (<0.5 мМ) его можно определить, как описано в настоящей работе. В этом случае можно даже установить температурную зависимость этого параметра. Для детергентов с высокой ККМ ранее нами был предложен способ количественного определения состава смешанных липид-детергентных агрегатов [23], с помощью которого можно получить значения $R_e^{\text{sol}}(t)$ по данным турбидиметрии.

В отличие от других методов определения a_d , описанный в настоящей работе подход дает возможность эффективно анализировать влияние на этот параметр состава среды, температуры и строения детергента в широком диапазоне температур и соотношений детергент/липид. Это позволит более глубоко понять поведение липид-детергентных систем, а также процессы, протекающие при их структурных и фазовых превращениях. Полученные в настоящей работе результаты могут быть использованы при теоретическом анализе строения промежуточных структур, образующихся в ходе трансформации мицеллы–везикулы, с целью выявления факторов, вызывающих эту трансформацию. Знание площади, приходящейся на одну молекулу детергента на границе раздела фаз, a_d , может оказаться полезным при анализе межмолекулярных взаимодействия в липид-детергентных агрегатах, а также при изучении связывания липидов и детергентов с интегральными мембранными белками.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Rigaud J.L. Membrane proteins: functional and structural studies using reconstituted proteoliposomes and 2-D crystals // *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2002. V. 35. P. 753–766.
2. Prosser R.S., Evanics F., Kitevski J.L., Al-Abdul-Wahid M.S. Current applications of bicelles in NMR studies of membrane-associated amphiphiles and proteins // *Biochemistry*. 2006. V. 45. P. 8453–8465.
3. Storm G., Crommelin J.A. Liposomes: quo vadis? // *Pharm. Sci. Technol. Today*. 1998. V. 1. P. 19–31.
4. Israelachvili J.N. Intermolecular and surface forces. Second edition. London: Academic, 1992. 450 p.
5. Goltsov A.N., Barsukov L.I. Synergetics of the membrane self-assembly: A micelle-to-vesicle transition // *J. Biol. Phys.* 2000. V. 26. P. 27–41.
6. Гольцов А.Н., Барсуков Л.И. Теоретические расчеты молекулярной упаковки смешанных липид-детергентных агрегатов // Нелинейные явления в открытых системах. Сборник научных трудов. Вып. № 15/Под ред. Лупичева Л.Н. М7: Государственный институт физико-технических проблем, 2004. С. 38–63.
7. Andelman D., Kozlov M.M., Helfrich W. Phase transition between vesicles and micelles driven by competing curvatures // *Europhys. Lett.* 1994. V. 25. P. 231–236.
8. May S., Ben-Shaul A. Spontaneous curvature and thermodynamic stability of mixed amphiphilic layers // *J. Phys. Chem.* 1995. V. 103. P. 3839–3849.
9. Fattal D.R., Ben-Shaul A. Lipid chain packing and lipid-protein interaction in membranes // *Physica A*. 1995. V. 220. P. 192–210.
10. Swanson-Vethamuthu M., Almgren M., Karlsson G. Effect of sodium chloride and varied alkyl chain length on aqueous cationic surfactance-bile salt systems // *Langmuir*. 1996. V. 12. P. 2173–2185.
11. le Maire M., Champeil P., Moller J.V. Interaction of membrane proteins and lipids with solubilizing detergents // *Biochim. et biophys. acta*. 2000. V. 1508. P. 86–111.
12. Moller J.V., le Maire M. Detergent binding as a measure of hydrophobic surface area of integral membrane proteins // *J. Biol. Chem.* 1993. V. 268. № 25. P. 18659–18672.
13. Gawrisch K., Richter W., Mops A., Balgavy P., Arnold K., Klose G. The influence of water concentration on the structure of egg yolk phospholipid/water dispersions // *Stud. Biophys.* 1985. V. 108. P. 5–16.
14. Carvel M., Hall D.G., Lyle I.G., Tiddy G.J.T. Surfactant-water interaction in lamellar phases // *Faraday Dis. Chem. Soc.* 1986. V. 81. P. 1–14.
15. Rosen M.J., Murphy D.S. Effect of the nonaqueous phase on interfacial properties of surfactants. 2. Individual and mixed nonionic surfactants in hydrocarbon/water systems // *Langmuir*. 1991. V. 7. P. 2630–2635.
16. Ko J.-S., Oh S.-W., Kim Yu-S., Nakashima N., Nagadome S., Sugihara G. Adsorption and micelle formation of mixed surfactant systems in water. IV. Three combinations of SDS with MEGA-8, -9 and -10 // *J. Oleo Sci.* 2004. V. 53. № 3. P. 109–126.
17. Umlong I.M., Ismail K. Micellization behaviour of sodium dodecyl sulfate in different electrolyte media // *Colloids Surf. A*. 2007. V. 299. P. 8–14.
18. Lantzsch G., Binder H., Heerklotz H., Wendling M., Klose G. Surface areas and packing constraints in POPC/C(12)EO(n) membranes. A time-resolved fluorescence study // *Biophys. Chem.* 1996. V. 58. P. 289–302.
19. Lichtenberg D., Opatowski E., Kozlov M.M. Phase boundaries in mixtures of membrane-forming amphiphiles and micelle-forming amphiphiles // *Biochim. et biophys. acta*. 2000. V. 1508. P. 1–19.
20. Полозова А.И., Дубачев Г.Э., Симонова Т.Н., Барсуков Л.И. Аномальное термотропное поведение бинарных смесей насыщенных фосфатидилхолинов с холатом натрия // *Биоорган. химия*. 1993. Т. 19. С. 655–662.
21. Polozova A.I., Dubachev G.E., Simonova T.N., Barsukov L.I. Temperature-induced micellar-lamellar transformation in binary mixtures of saturated phosphatidylcholines with sodium cholate // *FEBS Letters*. 1995. V. 358. P. 17–22.
22. Храмов Ю.В., Симонова Т.Н., Суханов С.В., Барсуков Л.И. Термоиндуцируемые структурные и фазовые переходы в смешанной системе димиристоилфосфатидилхолин–холат натрия по данным турбидиметрии и дифференциальной сканирующей калориметрии // *Medline.ru*. 2008. Т. 9. С. 138–148.
23. Храмов Ю.В., Барсуков Л.И. Новый способ количественного определения состава смешанных липид-детергентных агрегатов // *Medline.ru*. 2008. Т. 9. С. 149–159.
24. Inoue T., Kawamura H., Okukado S., Shimozawa R. Characterization of molecular assemblies formed in

- aqueous C₁₀E₇/DPPC mixture by spin label and fluorescence probe techniques and mechanism of micelle-to-vesicle transformation // *J. Colloid Interf. Sci.* 1994. V. 168. P. 94–102.
25. Keller M., Kerth A., Blume A. Thermodynamics of interaction of octyl glucoside with phosphatidylcholine vesicles: Partitioning and solubilization as studied by high sensitivity titration calorimetry // *Biochim. et biophys. acta.* 1997. V. 1326. P. 178–192.
 26. Carion-Taravella B., Chopineau J., Ollivon M., Lesieur S. Phase behavior of mixed aqueous dispersions of DPPC and dodecyl glycosides: Aggregation states implicated in the micelle-to-vesicle transition // *Langmuir.* 1998. V. 14. P. 3767–3777.
 27. Majhi P.R., Blume A. Temperature-induced micelle-vesicle transitions in DMPC-SDS and DMPC-DTAB mixtures studied by calorimetry and dynamic light scattering // *J. Phys. Chem. B.* 2002. V. 106. P. 10753–10763.
 28. Schnitzer E., Lichtenberg D., Kozov M.M. Temperature-dependence of the solubilization of dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC) by the non-ionic surfactant Triton X-100, kinetic and structural aspects // *Chem. Phys. Lipids.* 2003. V. 126. P. 55–76.
 29. Hildebrand A., Beyer K., Neubert R., Garidel P., Blume A. Temperature dependence of the interaction of cholate and deoxycholate with fluid model membranes and their solubilization into mixed micelles // *Colloid Surface B.* 2003. V. 32. P. 335–351.
 30. Van Dam L., Karlsson G., Edwards K. Direct observation and characterization of DMPC/DHPC aggregates under conditions relevant for biological solution NMR // *Biochim. et biophys. acta.* 2004. V. 1664. P. 241–256.
 31. Berthod A., Tomer S., Dorsey J.G. Polyoxyethylene alkyl ether nonionic surfactants: physicochemical properties and use for cholesterol determination in food // *Talanta.* 2001. V. 55. P. 69–83.
 32. Inoue T., Yamahata T., Shimozawa R. Systematic study on the solubilization of phospholipid vesicles by various surfactants // *J. Colloid Interf. Sci.* 1992. V. 149. P. 345–358.
 33. Nagle J.F., Tristram-Nagle S. Structure of lipid bilayers // *Biochim. et biophys. acta.* 2000. V. 1469. P. 159–195.
 34. Costigan S.C., Booth P.J., Templer R.H. Estimations of lipid bilayer geometry in fluid lamellar phases // *Biochim. et biophys. acta.* 2000. V. 1468. P. 41–54.
 35. Zulauf M., Weckstrom K., Hayter B., Degiorgio V., Corti M. Neutron scattering study of micelle structure in isotropic aqueous solutions of poly(oxyethylene) amphiphiles // *J. Phys. Chem.* 1985. V. 89. P. 3411–3417.
 36. Tasaki K. Poly(oxyethylene)-water interactions: a molecular dynamics study // *J. Am. Chem. Soc.* 1996. V. 118. P. 8459–8469.
 37. Binder H., Klose G. Lyotropic phase behavior and structure of mixed lipid (POPC)-detergent (C12En, n = 2, 4, 6) assemblies: Insights from hydration-tuning infrared spectroscopy // *J. Phys. Chem. B.* 2002. V. 106. P. 10991–11001.
 38. Wenk M.R., Thomas A., Seelig A., Seelig J. Octyl- β -D-glucopyranoside partitioning into lipid bilayers: thermodynamics of binding and structural changes of the bilayer // *Biophys. J.* 1997. V. 72. P. 1719–1731.
 39. Carion-Taravella B., Lesieur S., Chopineau J., Lesieur P., Ollivon M. Phase behavior of mixed aqueous dispersions of dipalmitoylphosphatidylcholine and dodecyl glycosides: A differential scanning calorimetry and X-ray diffraction investigation // *Langmuir.* 2002. V. 18. P. 325–335.
 40. Koynova R., Caffrey M. Phases and phase transitions of the phosphatidylcholines // *Biochim. et biophys. acta.* 1998. V. 1376. P. 91–145.
 41. Kiselev M.A., Lesieur P., Kisselev A.M., Kutuzov S.A., Barsukov L.I., Simonova T.N., Cuberlet T., Klose G. Investigation of temperature-sensitive mixed lipid/detergent systems at YuMO spectrometer // *Proc. of German-Russian User Meeting “Condensed Matter Physics with Neutrons at IBR-2”.* Dubna, Russia, 1998. P. 52–57.

Estimation of the Surface Area of a Detergent Molecule at the Interphase Boundary of Mixed Lipid-Detergent Aggregates

Yu. V. Khramtsov, L. I. Barsukov*

Institute of Gene Biology, Russian Academy of Sciences, ul. Vavilova, 34/5, 119334 Moscow, Russia;

Fax: +7(499)-135-41-05, e-mail: ykhran2000@mail.ru

**Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, ul. Miklukho-Maklaya, 16/10, 117997 Moscow, Russia. Tel.: +7(495)-336-43-33, e-mail: libar@mx.ibch.ru*

A new approach was proposed to estimate the surface area of a detergent molecule, a_d , at the interphase boundary of mixed lipid-detergent aggregates. The approach is based on consideration of the relationships between geometrical packing parameters of lipid and detergent molecules and the composition of mixed aggregates. The structural transitions between various aggregates are described in terms of the molecular packing parameter, δ , generalized for the case of a two-component lipid-detergent system (Goltsov A.N., Barsukov L.I. // *J. Biol. Phys.*

2000. V. 26. P. 27–41). The effective packing parameter, δ_{crit} , was shown to be a function of the detergent/lipid ratio required for complete solubilization of mixed aggregates, R_e^{sol} , the interfacial surface area of a detergent molecule, a_d , and some other molecular packing parameters dependent on the chemical structure of detergent and lipid. The a_d values calculated using the proposed approach are in a fairly good agreement with the experimental data available in literature. The approach enables effective evaluation of the dependence of a_d on the composition of medium, temperature, and the chemical structure of detergent in a broad range of temperatures and detergent/lipid ratios. The conditions were considered under which the lipid bilayer becomes saturated with detergent at starting stages of the solubilization. The relationship between R_e^{sol} and the lipid/detergent ratio required for the saturation of lipid bilayer with detergent, R_e^{sat} , was established. A method was proposed for R_e^{sol} estimation on the basis of known R_e^{sat} values. The results of the present study can be used in the theoretical analysis of mixed lipid-detergent and protein-detergent aggregates.