

Г. А. ДЕБОРИН, И. Е. ЭЛЬПИНЕР, В. З. БАРАНОВА, А. Д. СОРОКИНА,
А. М. ТОНГУР

**ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ВИРУСА ТАБАЧНОЙ МОЗАИКИ (ВТМ)
С МОНОСЛОЯМИ ФОСФОЛИПИДОВ, ПОДВЕРГШИХСЯ ДЕЙСТВИЮ
УЛЬТРАЗВУКОВЫХ ВОЛН**

(Представлено академиком А. И. Опариным 1 VII 1970)

Одним из подходов к выяснению принципов организации, функциональной роли и путей становления биологических мембран является изучение монослойных и бислойных пленок фосфолипидов и белков на различных границах раздела фаз, а также влияния на эти пленки разнообразных физических и химических факторов. Существенное значение имеет изучение изменения биологических функций белков и нуклеопротеидов при их адсорбции на пленках различного состава и упаковки.

В этой связи интенсивно изучается взаимодействие липидных, фосфолипидных и белковых монослоев на границе раздела вода — воздух с различными биологически активными веществами. Раппорт с сотрудниками (1) исследовали взаимодействие монослоев ряда липидов и белков с липопротеидами высокой плотности. Куин и Даусон (2) изучали взаимодействие цитохрома с монослоями дифосфатидилэтаноламина. Демель (3) исследовал взаимодействие полиеновых антибиотиков с монослоями фосфолипидов и холестерина.

В предыдущей работе нами было изучено образование индивидуальных и смешанных монослоев липовителлина и вируса табачной мозаики, подвергшихся действию ультразвуковых волн (4). Было показано, что введенный в подкладку ВТМ способен взаимодействовать с поверхностным слоем липовителлина и проникать в него. В поле ультразвуковых волн ВТМ образует агглютинаты, обладающие иной кинетикой поступления из подкладки на поверхность, чем неозвученные частицы ВТМ.

Задачей настоящего исследования было изучить взаимодействие фосфолипидных монослоев с ВТМ на границе раздела вода — воздух и влияние на него ультразвуковых волн.

Для получения мономолекулярных пленок использовали смесь фосфолипидов, выделенных из мозга крупного рогатого скота (5), и переведенную в бензол. Содержание фосфора в препарате фосфолипида, определенное по Фиске и Субарроу, составляло 0,011%. Фосфолипиды в бензольном растворе наносили при помощи градуированного микрошприца на поверхность водной подкладки в ванне Лэнгмюра. Измерения изотерм сжимаемости монослоя фосфолипидов проводили по методу Вильгельми при помощи торсионных весов. Поверхностная концентрация фосфолипидов во всех опытах составляла 0,22 мг/м².

Ранее (7) в работе с поверхностными пленками фосфолипидов из бактериальных мембран было показано, что при аналогичных поверхностных концентрациях получаются пленки жидкорастянутого типа.

Для получения смешанных пленок 1 мл суспензии вируса, содержащий $9 \cdot 10^3$ частиц, вводили в объем подкладки, после чего на ее поверхность наносили монослой фосфолипида. На рис. 1 приведены изотермы сжимаемости фосфолипида и фосфолипида с ВТМ. Хорошее совпадение кривых растяжения и сжатия указывает на эластичность исследуемых пленок. Кри-

вые *a* и *б* сходны по форме, имеют одинаковый наклон к оси абсцисс и близкие значения максимальных давлений. На этом основании можно предположить, что ВТМ не внедряется в поверхностную пленку фосфолипида. По-видимому, происходит адсорбция диффундирующих из объема к поверхности частиц ВТМ под фосфолипидной пленкой со стороны жидкой фазы.

Иными свойствами обладает монослой фосфолипида, обработанного ультразвуковыми волнами. Нами было изучено влияние ультразвука на раствор фосфолипида в бензоле, предварительно насыщенный азотом или гелием. Озвучивание проводилось на пьезокварцевом генераторе (частота ультразвуковых волн 850 кГц, интенсивность 6—8 Вт/см²).

На рис. 2 приведены изотермы сжимаемости фосфолипида, озвученного в течение различного вре-

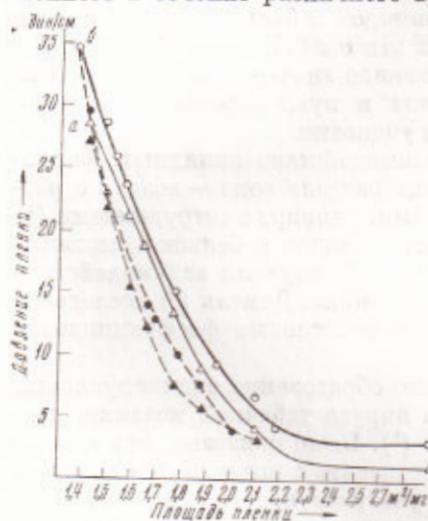


Рис. 1. Кривые сжатия (сплошные) и растяжения (пунктирные) монослоя фосфолипидов. *a* — монослой чистых фосфолипидов, *б* — монослой фосфолипидов с ВТМ

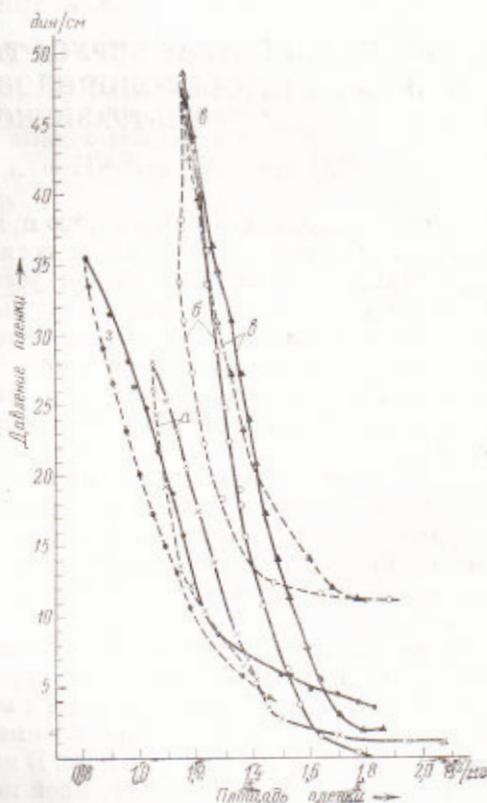


Рис. 2. Изотермы сжимаемости монослоя фосфолипидов при обработке ультразвуком 30 мин. (*a*), 45 мин. (*б*) и 60 мин. (*в*); *г* — неозвученный раствор. Сплошные кривые — сжатие, пунктирные — растяжение

мени в атмосфере азота. Из этих кривых видно, что монослой озвученного фосфолипида более конденсирован и эластичен по сравнению с монослоем неозвученного фосфолипида. Кривые сжатие — растяжение пленок фосфолипида, обработанного ультразвуком, сдвинуты в сторону больших значений площадей. При этом с увеличением продолжительности озвучивания возрастает предельная площадь, занимаемая молекулой фосфолипида, и возрастает разрыв между исходными и конечными значениями прилагаемых давлений. Увеличивается также величина тангенса угла наклона изотермы сжимаемости. Обращает на себя внимание тот факт, что пленку озвученного фосфолипида удается подвергнуть большему сжатию, чем пленку неозвученного фосфолипида, что указывает на возрастание сил сцепления между молекулами, образующими монослой.

На изменение конформации молекул фосфолипида под действием ультразвука указывает тот факт, что монослой озвученного фосфолипида

приобретали способность взаимодействовать с вирусными частицами с образованием смешанной пленки фосфолипид — вирус.

На рис. 3 приведены изотермы сжимаемости озвученного фосфолипида и озвученного фосфолипида с ВТМ. Кривая б значительно сдвинута в сторону больших площадей по сравнению с кривой а, что может свидетельствовать об увеличении количества частиц в поверхностном слое в результате

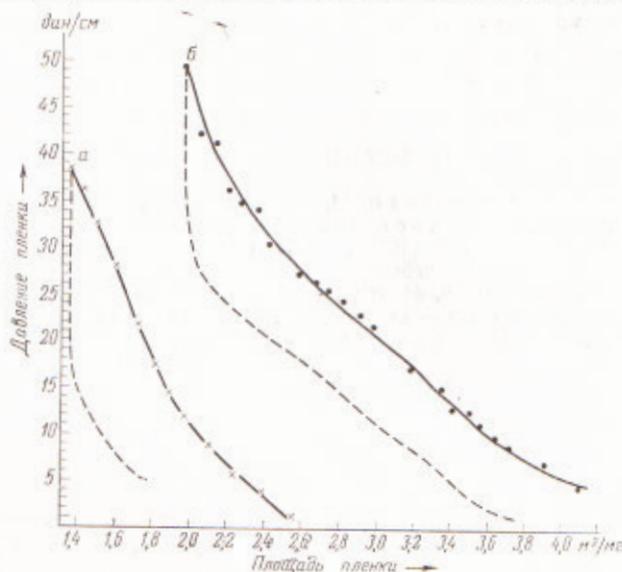


Рис. 3. Изотермы сжимаемости озвученного фосфолипида (а) и озвученного фосфолипида с ВТМ (б). Сплошные кривые — сжатие, пунктирные — растяжение

внедрения в него ВТМ. Давление коллапса пленки фосфолипид — ВТМ (45—50 дин/см) выше, чем давление пленки чистого фосфолипида (37—40 дин/см). Увеличение давления коллапса указывает на большую стабильность смешанной пленки. Обращает на себя внимание также то обстоятельство, что кривая б фосфолипид — ВТМ имеет более пологий ход, чем кривая а, что указывает на переход монослоя из «конденсированного» состояния в «жидкорастянутое». Аналогичные явления наблюдались нами при взаимодействии ВТМ с монослоями липовителлина (3).

Было проведено также исследование изучавшихся пленок в электронном микроскопе JEM-5 при увеличении 20 000×. На рис. 4 (см. вклейку к стр. 1441) приведены электронные микрофотографии. На снимке заметны различия в распределении гидрофильных (черные участки) и гидрофобных (белые участки) областей монослоя фосфолипидов, что указывает на существенную структурную перестройку молекул фосфолипида под действием ультразвуковых волн (окрашивание 1% раствором фосфорновольфрамовой кислоты). Поскольку гидрофобная часть монослоя изменилась меньше, чем гидрофильная, можно предположить, что изменения связаны с нарушением электростатической «сетки» гидрофильной части молекул фосфолипида, погруженной в интерфазу. Структурные перестройки молекул фосфолипида при озвучивании сопровождались изменением свойств монослоя, вследствие чего монослой озвученного фосфолипида приобретает способность к взаимодействию с частицами ВТМ, введенными в подкладку. В том случае, когда поверхностная пленка образована молекулами фосфолипидов мозга, не подвергшимися структурной перестройке, образования смешанной пленки фосфолипид — ВТМ не происходит.

Естественно предположить, что ультразвук является лишь одним из факторов, моделирующих сложные процессы регуляции структуры поверх-

постных пленок фосфолипидов. Однако на основании этих данных можно сделать вывод о том, что изменение состояния и структуры биологической мембраны или ее отдельных компонентов существенно влияет на ее взаимодействие с нуклеопротеидами и другими веществами, важными для жизнедеятельности клетки.

Институт биохимии им. А. Н. Баха
Академии наук СССР

Поступило
25 VI 1970

Институт химической физики
Академии наук СССР
Москва

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ G. Samejo, G. Colacicco, M. Rapport, *J. Lipid Res.*, **9**, № 5, 562 (1968).
² P. J. Quinn, R. M. C. Dawson, *Biochem. J.*, **113**, 791 (1969). ³ R. A. Demel, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **45**, 305 (1968). ⁴ И. Е. Эльпинер, Ультразвук, Биологическое и физико-химическое действие, М., 1963. ⁵ И. Е. Эльпинер, Г. А. Деборин и др., Биофизика, **16**, 44 (1971). ⁶ In: *Phospholipids*. Ed. G. B. Ansell and J. N. Hawthorne, Amsterdam — London — N. Y., 1964, p. 87. ⁷ Г. А. Деборин, В. З. Баранова, И. Г. Жукова, ДАН, **159**, № 5, 1161 (1964).