

P3-2002-163

Е. В. Земляная, М. А. Киселев

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТРУКТУРЫ ОДНОСЛОЙНЫХ
ВЕЗИКУЛ ДИМИРИСТОИЛФОСФАТИДИЛХОЛИНА
ПО ДАННЫМ МАЛОУГЛОВОГО РАССЕЯНИЯ
НЕЙТРОНОВ В РАМКАХ МОДЕЛИ
РАЗДЕЛЕННЫХ ФОРМФАКТОРОВ**

Направлено на XVII Совещание по использованию рассеяния
нейтронов в исследованиях конденсированного состояния
«РНИКС-2002», Гатчина, октябрь 2002 г.

1. ВВЕДЕНИЕ

Исследование структуры фосфолипидов, как главной компоненты биологических мембран, представляет интерес с точки зрения структурной биологии и биохимии. Особый интерес вызывают исследования структуры однослойных везикул, так как большинство биологических мембран существует именно в однослойном состоянии. С другой стороны, однослойные везикулы как переносчики лекарств и, соответственно, их структура представляют интерес для фармакологии.

Традиционным методом исследования формы и размера везикул является динамическое и статическое рассеяние света. Однако при этом невозможно получить информацию о толщине мембранного бислоя и его внутренней структуре [1].

Малоугловое рассеяние нейтронов (МУРН) является более информативным методом исследования везикулярных систем. Толщина мембранного бислоя может вычисляться по спектрам малоуглового рассеяния в приближении постоянной плотности длины рассеяния бислоя. При таком подходе приходится пренебрегать внутренней структурой мембранного бислоя [2,3,4]. Следующим шагом в исследовании структуры липидного бислоя методом МУРН были выполнены в последние годы работы по определению структуры липидного бислоя на основе оболочечной модели везикулы [5,6]. При таком подходе происходит разбиение липидного бислоя на гидрофобную и гидрофильную части, каждая из которых описывается постоянной плотностью длины рассеяния. Оболочечная модель везикулы имеет два недостатка. Первый – она не может ответить на вопрос о функции распределения воды в гидрофильной части бислоя и, следовательно, не имеет перспективы применения при исследовании влияния неводных растворителей (криопротекторы, биопротекторы) на гидратацию полярной головы липидной молекулы. Второй недостаток – это трудности определения положения молекул, встроенных в липидный бислой, при исследовании тройных систем типа фосфолипид/детергент/вода и многокомпонентных систем, к которым относятся и везикулярные переносчики лекарств. Перспективу в этом направлении открывает модель разделенных формфакторов (SFF), в которой плотность длины рассеяния нейтрона может описываться любой интегрируемой функцией [7].

В данной работе на основе SFF-модели были созданы программы фитирования спектров малоуглового рассеяния нейтронов от полидисперсной популяции везикул с учетом функции разрешения спектрометра ЮМО [8]. В работе анализируются параметры везикул и мембранного бислоя для различных иерархических моделей описания плотности длины рассеяния нейтрона поперек мембраны. Показано, что распределение воды в гидрофильной области мембраны может быть описано линейной функцией. Без привлечения дополнительных методов (рассеяние света, дифракция, ЯМР) впервые из одного спектра малоуглового рассеяния нейтронов рассчитаны: средний размер и полидисперсность популяции везикул, толщина мембранного бислоя, толщины гидрофобной и гидрофильной частей бислоя, функция распределения воды в гидрофильной части мембраны и количество молекул воды, проникающих в бислой.

2. ЭКСПЕРИМЕНТ

Измерения спектров малоуглового рассеяния были выполнены на времяпролетном малоугловом спектрометре ЮМО импульсного реактора ИБР-2 при двух положениях детектора, соответствующих расстоянию образец – детектор 13,17 и 4,38 м, и температуре образца 30 °С. Однослойные везикулы из димиристоилфосфатидилхолина (DMPC) приготавливались экстракцией 15 мМ (1% по весу) суспензии DMPC в D₂O через фильтры с диаметром пор 500 Å. Спектры нормировались на макроскопическое сечение рассеяния

ванадия [9]. Макроскопическое сечение когерентного рассеяния нейтронов популяцией везикул определялось как разность между экспериментально измеренной величиной сечения и величиной некогерентного фона от ядер водорода, содержащихся в молекулах DMPC. Для концентрации DMPC 15 мМ величина некогерентного фона составляет $0,00546 \text{ см}^{-1}$ [5].

3. ПОСТАНОВКА ЗАДАЧИ ФИТИРОВАНИЯ В РАМКАХ МОДЕЛИ РАЗДЕЛЕННЫХ ФОРМФАКТОРОВ

Макроскопическое когерентное сечение монодисперсной популяции везикул определяется следующей формулой [10]:

$$\frac{d\Sigma}{d\Omega_{mon}}(q) = n \cdot A^2(q) \cdot S(q), \quad (1)$$

где n – число везикул в единице объема; $A(q)$ – амплитуда рассеяния везикул, $S(q)$ – структурный фактор (можно положить $S(q) \approx 1$ для 1% концентрации DMPC [11]); q – вектор рассеяния ($q = 4\pi \sin(\theta/2)/\lambda$, θ – угол рассеяния, λ – длина волны нейтрона). Амплитуда рассеяния $A(q)$ в сферически-симметричном случае равна [10]:

$$A(q) = 4\pi \cdot \int \rho(r) \cdot \frac{\text{Sin}(qr)}{qr} \cdot r^2 \cdot dr. \quad (2)$$

Здесь $\rho(r) = \rho_C(r) - \rho(D_2O)$ – разность плотности длины рассеяния липидного бислоя везикулы $\rho_C(r)$ и тяжелой воды $\rho(D_2O) = 6,4 \cdot 10^{10} \text{ см}^{-2}$, называемая нейтронным контрастом.

Формулу (2) можно переписать в виде

$$A(q) = 4\pi \cdot \int_{-d/2}^{d/2} \rho(x) \cdot \frac{\text{Sin}[(R+x) \cdot q]}{(R+x) \cdot q} \cdot (R+x)^2 \cdot dx. \quad (3)$$

Здесь R – радиус везикулы, d – толщина мембраны.

Интегрирование выражения (3) в предположении $R \gg d/2$, $R+x \approx R$, приводит к следующей формуле:

$$A_{\text{фф}}(q) = 4\pi \cdot \frac{R^2}{qR} \cdot \text{Sin}(qR) \cdot \int_{-d/2}^{d/2} \rho(x) \cdot \text{Cos}(qx) \cdot dx. \quad (4)$$

Таким образом, макроскопическое сечение монодисперсной популяции везикул может быть записано в виде

$$\frac{d\Sigma}{d\Omega_{mon}}(q) = n \cdot F_s(q, R) \cdot F_b(q, d), \quad (5)$$

где $F_s(q, R)$ – формфактор бесконечно тонкой сферы радиуса R [12]:

$$F_s(q, R) = \left(4\pi \cdot \frac{R^2}{qR} \cdot \text{Sin}(qR) \right)^2 \quad (6)$$

и $F_b(q, d)$ – формфактор симметричного липидного бислоя:

$$F_b(q, d) = \left(\int_{-d/2}^{d/2} \rho(x) \cdot \text{Cos}(qx) \cdot dx \right)^2. \quad (7)$$

Формулы (5)-(7) представляют модель разделенных формфакторов (SFF) для однослойных везикул большого радиуса [7]. Ее достоинством является возможность описания мембранной структуры с помощью представления $\rho(x)$ в виде какой-либо интегрируемой функции, так что макроскопическое сечение удастся получить в виде явного выражения. В частности, в приближении $\rho(x) \equiv \Delta\rho = \text{const}$ имеем:

$$F_b(q, d) = \left(\frac{2\Delta\rho}{q} \cdot \text{Sin}\left(\frac{qd}{2}\right) \right)^2. \quad (8)$$

Плотность $\rho(x) \equiv \Delta\rho = \text{const}$ не является реалистичной, тем не менее она довольно часто используется в расчетах (см., например, [2-4]), т.к. позволяет достаточно точно получить значения толщины мембраны и среднего радиуса везикулы.

Для учета полидисперсности везикул использовалось несимметричное распределение Шульца [4, 5, 13]

$$G(R) = \frac{R^m}{m!} \cdot \left(\frac{m+1}{\bar{R}} \right)^{m+1} \cdot \exp \left[- \frac{(m+1) \cdot R}{\bar{R}} \right], \quad (9)$$

где \bar{R} - средний радиус везикулы, m - коэффициент полидисперсности. В качестве характеристики полидисперсности используется величина среднеквадратичного отклонения

$$\sigma = \sqrt{\frac{1}{m+1}}.$$

Таким образом, макроскопическое сечение $d\Sigma(q)/d\Omega$ в рамках рассматриваемого подхода имеет следующий вид:

$$\frac{d\Sigma}{d\Omega}(q) = \frac{\int_{R_{\min}}^{R_{\max}} \frac{d\Sigma}{d\Omega_{\text{мон}}}(q, R) \cdot G(R, \bar{R}) \cdot dR}{\int_{R_{\min}}^{R_{\max}} G(R, \bar{R}) \cdot dR}, \quad (10)$$

где $R_{\min} = 100 \text{ \AA}$, $R_{\max} = 1000 \text{ \AA}$.

Реально измеряемое значение макроскопического сечения $I(q)$ отличается от его теоретического значения (10) из-за того, что функция разрешения спектрометра по q не является дельта-функцией. Конкретно, для спектрометра ЮМО функция разрешения является симметричной функцией, близкой к гауссовской [8]. Поэтому с достаточной точностью измеряемое в эксперименте сечение $I(q)$ может быть записано как

$$I(q) = I_m(q) + \frac{1}{2} \cdot \Delta^2 \cdot \frac{d^2 I_m(q)}{dq^2}. \quad (11)$$

Здесь Δ^2 - второй момент функции разрешения спектрометра [8,14], через $I_m(q)$ обозначена величина сечения, рассчитываемая по формуле (10).

Для фитирования экспериментальных данных использовалась функция χ^2 , т.е. минимизировался функционал вида

$$\chi^2 = \frac{\sum_{i=1}^N [(\Sigma_{\text{экс}}(q_i) - I(q_i)) / \delta(q_i)]^2}{N - k}, \quad (12)$$

где δ - ошибки эксперимента, N - количество экспериментальных точек, k - количество свободных параметров, $\Sigma_{\text{экс}}$ - экспериментально измеренные сечения, из которых вычтена величина некогерентного фона (в случае везикул $0,00546 \text{ cm}^{-1}$).

Параметрами фитирования являются средний радиус везикулы \bar{R} , коэффициент полидисперсности системы m , толщина липидного слоя d и параметры функции $\rho_c(x)$, моделирующей плотность длины рассеяния нейтронов.

Нам осталось определить n - число везикул в единице объема. Эта величина определяется из следующих соображений. Известно, что объем молекулы DMPC в жидкокристаллической фазе равен 1101 \AA^3 [15]. Объем липидного слоя в везикуле можно определить по формуле

$$V = 4\pi/3 [(R+d/2)^3 - (R-d/2)^3]. \quad (13)$$

Тогда $M=V/1101$ — число молекул DMPC в одной везикуле. Количество молекул DMPC в 1 см^3 можно оценить как $C=89,17 \cdot 10^{17}$. Значит, можно положить $n=C/M$. Отметим, что эта величина не является константой. Она зависит от неизвестных величин \bar{R} и d , которые являются параметрами фитирования.

4. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для фитирования сечений малоуглового рассеяния в рамках SFF-модели была разработана программа с использованием минимизирующего пакета DFUMIL из библиотеки программ JNRLIB (ЛИТ ОИЯИ).

Для описания внутренней структуры липидного бислоя использовалось три вида функции плотности амплитуды рассеяния нейтрона $\rho(x)$, представленные на рис. 1.

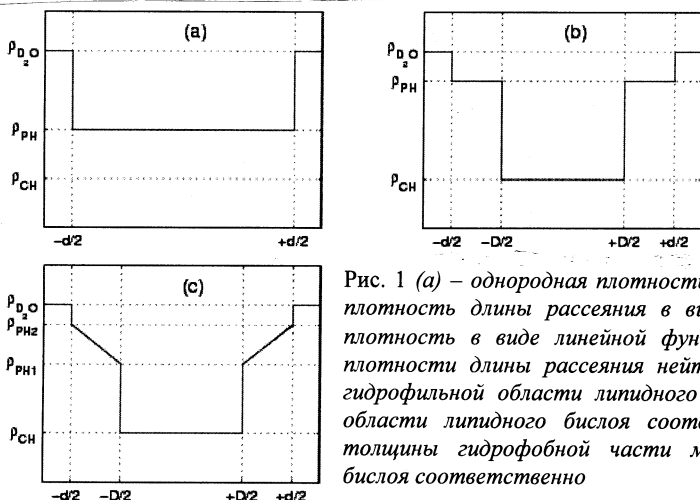


Рис. 1 (а) – однородная плотность длины рассеяния, (б) – плотность длины рассеяния в виде “ступеньки”, (с) – плотность в виде линейной функции. ρ_{D_2O} , ρ_{DH} , ρ_{CH} – плотности длины рассеяния нейтрона в тяжелой воде, гидрофильной области липидного бислоя и гидрофобной области липидного бислоя соответственно; D и d – толщины гидрофобной части мембраны и липидного бислоя соответственно

Для проверки работы программы мы провели расчеты параметров однослойных везикул из неионного детергента $C_{12}E_4$ и сравнили с результатами работы [5], рассчитанными в рамках модели полых сфер (HS). В этой работе радиус \bar{R} и коэффициент полидисперсности m фиксировались из данных эксперимента по криорепликационной электронной микроскопии: $\bar{R}=350$, $m=3$. Мы провели расчет с зафиксированными значениями этих параметров с однородной плотностью (рис. 1а) и плотностью в виде “ступеньки” (рис. 1б). Кроме того, было выполнено фитирование со свободными параметрами \bar{R} и m для однородной плотности (рис. 1а). Далее полученные из этого расчета значения фиксировались и использовались при расчете с плотностью, представленной на рис. 1б. Результаты для плотностей вида (а) и (б) представлены соответственно в табл. 1а и табл. 1б. Для сравнения даны соответствующие данные из работы [5] (везде $m=3$, $\rho_{CH} = -0,36 \cdot 10^{10} \text{ см}^{-2}$). Величина R_d , которая служит для оценки качества фитирования, рассчитывалась по формуле

$$R_I = \frac{1}{N} \cdot \sum_{i=1}^N \left(\frac{\log \left| \frac{d\Sigma}{d\Omega} (q_i) \right| - \log \left| \frac{d\Sigma}{d\Omega_{\text{exp}}} (q_i) \right|}{\log \left| \frac{d\Sigma}{d\Omega_{\text{exp}}} (q_i) \right|} \right)^2 \quad (14)$$

Таблица 1а. Параметры везикул из $C_{12}E_4$, рассчитанные в приближении однородной плотности длины рассеяния для модели разделенных формфакторов (SFF)

Модель	\bar{R} , Å	d , Å	$\Delta\rho$, 10^{10}см^{-2}	R_I , %
SFF	333,7±7,7	25,9±0,06	5,7±0,02	6,8
SFF	350(фикс.)	29,0±0,05	5,7±0,003	7,6

Как видно из табл. 1а, расчет среднего радиуса везикул из нейтронного эксперимента дает при полидисперсности системы 50%-е ($m=3$) отличие от результатов, полученных электронной микроскопией. Значения толщины липидного бислоя в приближении однородной плотности существенно занижены по сравнению с расчетом, выполненным в работе [5] по модели полой сферы с заданием плотности длины рассеяния в виде ступенчатой функции, где было получено значение $d=36\pm 1$ Å. Важно отметить, что приближение однородной плотности является достаточным для определения радиуса везикул и полидисперсности, так как информация об этих параметрах содержится в начальной части кривой рассеяния в области малых значений q . Эта часть кривой описывается формфактором бесконечно тонкой сферы.

Таблица 1б. Параметры везикул из $C_{12}E_4$, рассчитанные в приближении ступенчатой плотности длины рассеяния для модели разделенных формфакторов (SFF) и модели полой сферы (HS)

Модель	\bar{R} , Å	d, D , Å	ρ_{PH} , 10^{10}см^{-2}	R_I , %
SFF	333,7	37,4±1,0	3,9±0,09	6,7
	(фикс.)	10,4±3,8		
SFF	350(фикс.)	36,9±0,9	3,±0,2	8,8
		10,4±4,0		
HS [5]	350(фикс.)	36,0±1		6,8
		12±2		

В табл. 1б представлены результаты расчетов по модели разделенных формфакторов в предположении ступенчатой функции распределения плотности длины рассеяния поперек бислоя (рис. 1б) и результаты расчетов этой же системы в рамках модели полой сферы, опубликованные в [5]. Как видно из табл. 1б, наши результаты близки к результатам работы [5]. В пределах ошибок измерений параметры липидного бислоя, рассчитанные по SFF-модели и HS-модели, совпадают. Что касается расчетов в рамках SFF-модели с двумя различными радиусами везикул, то структура и толщина мембраны в рамках точности вычислений не изменяются. Физически это объясняется тем, что основная информация о внутренней структуре мембраны содержится в конце кривой рассеяния (область больших q), которая описывается формфактором бесконечного липидного бислоя (7). При этом важно отметить, что минимальное значение параметра фитирования R_I соответствует значению $\bar{R}=337,7\pm 7,7$ Å, определенному из кривой малоуглового рассеяния, как описано выше. Расчет кривой рассеяния со значением $\bar{R}=350$ Å, определенным из экспериментов по электронной микроскопии, даёт худшее соответствие между измеренной и рассчитанной

кривой малоуглового рассеяния. Значения среднего радиуса везикул из неионного детергента $C_{12}E_4$, определенные в двух независимых экспериментах, находятся в хорошем соответствии. Необходимо отметить, что при нашем подходе нет необходимости в проведении, дополнительно к нейтронным, экспериментов по электронной микроскопии везикул или динамическому рассеянию света.

На рис. 2а,б представлены результаты фитирования с функциями плотности (а) и (б), радиусом $\bar{R}=350$ и соответствующими параметрами плотности (см. табл. 1а и 1б).

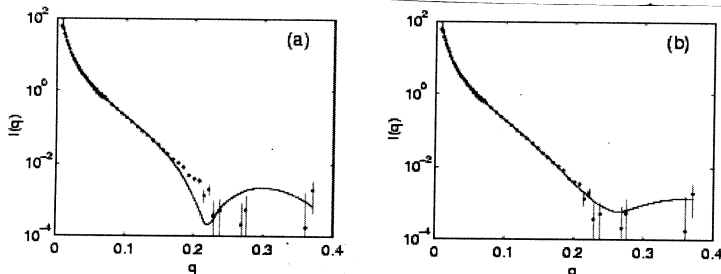


Рис.2 Результаты фитирования спектров малоуглового рассеяния нейтронов на полидисперсной популяции везикул из неионного детергента $C_{12}H_4$, измеренных при $T=25$ °C по SFF-модели: (а) - с однородной плотностью длины рассеяния; (б) - с плотностью длины рассеяния в виде ступенчатой функции

Как видно из рис. 2а, в приближении однородной плотности длины рассеяния расчетная кривая хорошо совпадает с экспериментом до значений $q=0,16 \text{ \AA}^{-1}$. В области $0,16 < q < 0,21 \text{ \AA}^{-1}$, где экспериментальные данные статистически достоверны, приближение однородной плотности длины рассеяния не может описать экспериментальную кривую. Введение внутренней структуры бислоя в виде разбиения на гидрофобную и гидрофильную части с разными плотностями длины рассеяния позволяет полностью описать экспериментальную кривую. Важным выводом из проделанного анализа является то, что области с $q < 0,16 \text{ \AA}^{-1}$ хорошо описываются в приближении однородной плотности длины рассеяния, что использовалось в ряде работ для расчетов толщины мембран по графикам Кратки-Порода в приближении Гинье [7, 16-19].

Результаты расчета для везикул из DMPC с плотностями, представленными на рис. 1, даны в табл. 2 и на рис. 3. Как и в предыдущем случае, значения \bar{R} и t вычислялись для случая однородной плотности и фиксировались в дальнейших расчетах. Везде $m=10$, $\rho_{\text{CH}} = -0,36 \cdot 10^{10} \text{ см}^{-2}$. Такой подход, не ухудшая точности описания экспериментальной кривой, уменьшает на два количество варьируемых параметров при расчете внутренней структуры мембраны. Идеология такого подхода основывается на модели двух разделенных факторов, каждый из которых описывает свой участок кривой рассеяния.

Отметим, что значения функции χ^2 , вычисленные по формуле (12), получились близкими к 1 ($\chi^2=1,31$ для случая плотности (а) и $\chi^2=1,15$ для случаев (б) и (с)), что является показателем корректной работы программы минимизации.

Как и в случае с неионным детергентом $C_{12}E_4$, введение внутренней структуры мембраны в виде деления на гидрофобную и гидрофильную области приводит к увеличению толщины мембраны на $5,4 \text{ \AA}$, варианты (а) и (б) в табл. 2 и на рис. 1. Полученное значение толщины гидрофобной части мембраны DMPC $13,2 \pm 0,7 \text{ \AA}$ хорошо совпадает с результатом, полученным в работе [5] для гидрофобной части мембраны POPC $13 \pm 1 \text{ \AA}$. Полученное значение толщины мембраны DMPC $42,1 \pm 0,4 \text{ \AA}$ отличается от значения $44,2 \text{ \AA}$, рассчитанного в работе [15] из рентгеновского дифракционного эксперимента на мультислойных везикулах из DMPC. Полученные нами результаты показывают, что

гидрофильная область фосфолипида 14,3 Å существенно превышает размер полярной головы его молекулы 9 Å [5] и вода, тем самым, проникает в область углеводородных хвостов примерно на 5 Å, что соответствует протяженности двух метиленовых групп.

Существенным представляется вопрос о функции распределения воды в гидрофильной части бислоя. Были проведены два варианта вычисления линейной функции распределения воды с1 и с2. Вариант с2 соответствует случаю рис. 1с. Вариант с1 соответствует ситуации, когда линейный спад $\rho(x)$ начинается с уровня $\rho_{D2O} = 6,4 \cdot 10^{10} \text{ см}^{-2}$. Оба эти варианта дают результаты, совпадающие в пределах точности вычислений, но в варианте с1 лучшее соответствие между расчетной и экспериментальной кривой по фактору R_I . Введение линейной функции распределения воды приводит к дальнейшему уменьшению гидрофобной части бислоя.

Таблица 2. Параметры везикул из DMPC при $T=30^\circ\text{C}$, рассчитанные по модели разделенных формфакторов (SFF), для различных форм плотности длины рассеяния нейтрона поперек липидного бислоя

	$\bar{R}, \text{Å}$	$d, D, \text{Å}$	$\rho, 10^{10} \text{ см}^{-2}$	$R_I, \%$
(a)	277 ± 5	$36,7 \pm 0,1$	$\Delta\rho = 5,1 \pm 0,01$	1,3
(b)	277(фикс.)	$42,1 \pm 0,4$ $13,2 \pm 0,7$	$\rho_{PH} = 2,5 \pm 0,1$	2,6
(c1)	277(фикс.)	$42,5 \pm 0,3$ $11,0 \pm 0,9$	$\rho_{PH1} = 4,1 \pm 0,1$ $\rho_{PH2} = 6,4(\text{фикс.})$	2,4
(c2)	277(фикс.)	$42,7 \pm 0,4$ $12,7 \pm 0,9$	$\rho_{PH1} = 4,4 \pm 0,09$ $\rho_{PH2} = 5,4(\text{фикс.})$	2,5

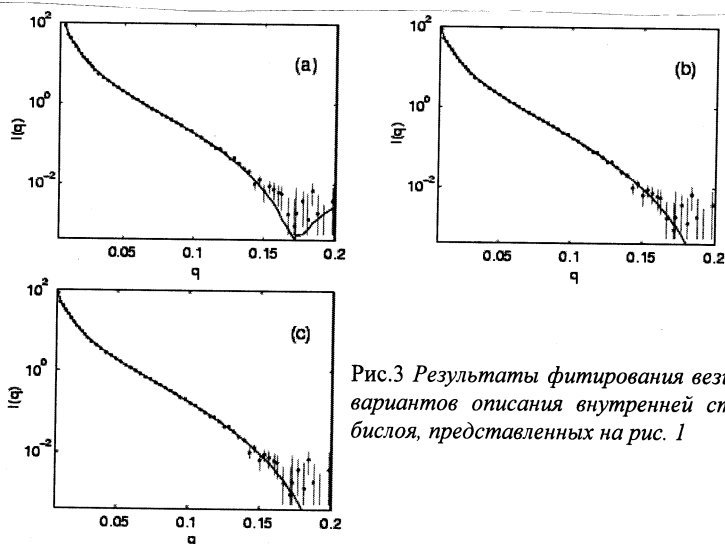


Рис.3 Результаты фитирования везикул DMPC для трех вариантов описания внутренней структуры липидного бислоя, представленных на рис. 1

Используем полученные результаты по варианту с1 для расчета количества молекул воды N_W , проникающих внутрь бислоя, на одну молекулу DMPC. В предположении, что все молекулы воды имеют линейное распределение поперек бислоя, величина N_W рассчитывается из уравнения

$$\frac{(\rho_{PH2} - \rho_{PH1})}{2} \cdot \frac{(d - D)}{2} \cdot A = N_w \cdot I_{D2O}, \quad (15)$$

где $A=59,6 \text{ \AA}^2$ - площадь поверхности мембраны, приходящаяся на одну молекулу DMPC [15], $I_{D2O} = 1,914 \cdot 10^{-12} \text{ см}$ – длина рассеяния молекулы D_2O . Значение $N_w = 11,3 \pm 0,3$, определенное из уравнения (16), превышает значение 8,6, полученное из рентгеновской дифракции на мультислойных везикулах в работе [15], и значение 7 ± 2 , рассчитанное по данным МУРН в работе [6].

Дальнейшее уточнение полученных параметров бислоя DMPC возможно за счет улучшения статистики экспериментальных спектров в конце кривой рассеяния и измерения кривой рассеяния до значений $q=0,6 \text{ \AA}^{-1}$. Такие эксперименты планируется провести в ближайшее время на малоугловых установках рассеяния нейтронов с низким фоном.

5. Выводы

На основе модели разделенных формфакторов разработана программа и методика фитирования спектров малоуглового рассеяния нейтронов от полидисперсной популяции везикул с учетом функции разрешения спектрометра ЮМО, которая состоит из двух этапов. На первом этапе рассчитывается средний радиус везикул и величина полидисперсности системы, которые фиксируются на втором этапе, где производится расчет внутренней структуры мембраны.

На примере везикул из неионного детергента $C_{12}E_4$ показано, что результаты расчетов по модели разделенных формфакторов и ранее используемой модели полых сфер совпадают. При этом установлено, что приближение постоянной плотности длины рассеяния нейтрона внутри мембранного бислоя может описывать спектры малоуглового рассеяния до значений $q=0,16 \text{ \AA}^{-1}$, а описание спектров с $q>0,16 \text{ \AA}^{-1}$ требует введения внутренней структуры мембраны.

Применение метода разделенных формфакторов для описания спектра малоуглового рассеяния нейтронов от полидисперсной популяции везикул DMPC позволило определить средний радиус везикул $277 \pm 5 \text{ \AA}$, их полидисперсность 30%, толщину липидного бислоя $42,5 \pm 0,3 \text{ \AA}$ и толщины составляющих его компонент: гидрофобной области $11,0 \pm 0,9 \text{ \AA}$ и гидрофильной области $15,8 \pm 0,6 \text{ \AA}$. При этом было оценено количество молекул воды, линейно распределенных в гидрофильной области мембраны как $11,3 \pm 0,3$ на одну молекулу DMPC.

Авторы благодарят Пузынина И.В. и Амирханова И.В. за внимание к работе и полезные замечания.

Работа выполнена при поддержке Министерства промышленности, науки и технологий РФ (госконтракт Минпромнауки № 40.012.1.1.1148) и РФФИ (грант № 0001-006-17).

Список литературы

1. A.J. Jin, D. Huster, K. Gawrisch, R. Nossal. Eur. Biophys. J., 28 (1999) 187-199.
2. P.C. Mason, B.D. Gaulin, R.M. Epanand, G.D. Wignall, J.S. Lin. Phys. Rev. E, 59 (1999) 3361-3367
3. J. Pencer, R. Hallet. Phys. Rev. E, 61 (2000) 3003-3008.

4. M.A.Kiselev, P.Lesieur, A.M.Kisselev, D.Lombardo, M.Killany, S. Lesieur. *J. Alloys and Compounds* 328 (2001) 71-76.
5. H.Schmiedel, P.Joerchel, M.Kiselev, G.Klose. *J. Phys. Chem. B*, 105 (2001) 111-117
6. P.Balgavy, M.Dubnicková, N.Kučerka, M.A.Kiselev, S.P.Yaradaikin, and D.Uhrikova. *Biochim. Biophys. Acta* 1521 (2001) 40-52
7. M.A.Kiselev, P.Lesieur, A.M.Kisselev, D.Lombardo, V.L.Aksenov. *JINR Preprint E3-2001-133*, Dubna, 2001.
8. Y.M. Ostanevich: *Макромол. Chem., Macromol. Symp.* 15 (1988) 91-103.
9. В.Ю. Беззаботнов, Ю.М. Останевич. *Препринт ОИЯИ Р3-88-394*, Дубна, 1988
10. L.A. Feigin, D.I. Svergun: *Structure analysis by small-angle X-Ray and neutron scattering* (Plenum Publishing Corporation, New York, 1987).
11. M.A. Kiselev, D. Lombardo, A.M. Kisselev, P. Lesieur: *Annual Report 2000 of FLNP JINR, D-2001-72*, Dubna, 2001, p.136.
12. P. Lesieur, M.A. Kiselev, L.I. Barsukov, D. Lombardo: *J. Appl. Cryst.* 33, 623 (2000).
13. F.R. Hallet, J. Watton, P. Krygsmann: *Biophys. J.* 59, 357 (1991).
14. Е.П. Козлова, Ю.М. Останевич, Л. Чер. *Препринт ОИЯИ Р14-12073*, Дубна, 1979
15. J.F. Nagle, S. Tristram-Nagle. *Biochim. Biophys. Acta* 1469 (2000) 159-195.
16. V.I. Gordeliy, L.V. Golubchikova, A.I. Kuklin, A.G. Syrykh, A.Watts. *Progr. Colloid Polym. Sci.* 93 (1993) 252-257
17. S. N. Shashkov, M. A. Kiselev, S. N. Tiutiounnikov, A. M. Kisselev, P. Lesieur. *Physica B*, 271 (1999) 184-191.
18. T. Gutberlet, M. Kiselev, H. Heerklotz, G. Klose. *Physica B*, 381-383, (2000), 276-278.
19. M. Dubnickova, M. Kiselev, S. Kutuzov, F. Devinsky, V. Gordeliy, P. Balgavy. *Gen. Physiol. Biophys.* 16, 175-188, 1997.

Получено 10 июля 2002 г.

Земляная Е. В., Киселев М. А.

P3-2002-163

Определение структуры однослойных везикул димиристоилфосфатидилхолина по данным малоуглового рассеяния нейтронов в рамках модели разделенных формфакторов

На основе модели разделенных формфакторов разработана программа фитирования спектров малоуглового рассеяния нейтронов от полидисперсной популяции везикул с учетом функции разрешения спектрометра ЮМО. Анализируются параметры везикул и мембранного бислоя для различных иерархических моделей плотности длины рассеяния нейтрона поперек мембраны. Показано, что распределение воды в гидрофильной области мембраны может быть описано линейной функцией. Впервые из эксперимента по малоугловому рассеянию без применения дополнительных методов рассчитаны: средний размер и полидисперсность популяции везикул, толщина мембранного бислоя, толщина гидрофобной и гидрофильной частей бислоя, функция распределения и количество воды в гидрофильной части мембраны.

Работа выполнена в Лаборатории информационных технологий ОИЯИ.

Препринт Объединенного института ядерных исследований. Дубна, 2002

Перевод авторов

Zemlyanaya E. V., Kiselev M. A.

P3-2002-163

Determination of the Unilamellar Dimyristoylphosphatidylcholine Vesicle Structure from the Small-Angle Scattering Data in the Framework of a Model of Separated Form-Factors

On the basis of the model of separated form-factors, a code for fitting of small-angle neutron scattering spectra of the polydispersed vesicle population has been developed with corrections to the resolution function of YuMO spectrometer. Vesicle and membrane bilayer parameters have been analyzed for various hierarchical models of the neutron scattering length density across the membrane. It was shown that hydration of vesicle can be described by the linear distribution function of water molecules. For the first time from the small-angle experiment, without additional methods, the average radius and polydispersity of the vesicle population, thickness of the membrane bilayer, thickness of hydrophobic and hydrophilic parts of bilayer, water distribution function and number of water molecules in the hydrophilic part have been calculated.

The investigation has been performed at the Laboratory of Information Technologies, JINR.

Preprint of the Joint Institute for Nuclear Research. Dubna, 2002

Редактор *Е. В. Калининкова*
Макет *Н. А. Киселевой*

ЛР № 020579 от 23.06.97.

Подписано в печать 07.08.2002.

Формат 60 × 90/16. Бумага офсетная. Печать офсетная.

Усл. печ. л. 0,62. Уч.-изд. л. 0,98. Тираж 300 экз. Заказ № 53464.

Издательский отдел Объединенного института ядерных исследований
141980, г. Дубна, Московская обл., ул. Жолио-Кюри, 6.