

УДК 541.12.038.2:536.75:536.728

**ПРОСТРАНСТВЕННОЕ СТРОЕНИЕ УСИЛИВАЮЩЕГО
ВИЧ ГЕПТАПЕПТИДА Glu-Ile-Leu-Asn-His-Met-Lys
В РАСТВОРЕ И КОМПЛЕКСЕ: ГЕПТАПЕПТИД –
МОДЕЛЬ БИОЛОГИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ**

*И.З. Рахматуллин, Д.С. Блохин, О.В. Аганова, А.Р. Юльметов,
А.В. Филиппов, А.В. Аганов, В.В. Клочков*

Аннотация

Методами ЯМР ^1H спектроскопии, двумерной ЯМР (TOCSY, HSQC-HECADE, NOESY) спектроскопии определено пространственное строение синтетического фрагмента SEVI – гептапептида Glu-Ile-Leu-Asn-His-Met-Lys в растворе и комплексе: гептапептид – модель поверхности мембраны клетки (мицеллы додецилсульфата натрия, ДСН). Комплексообразование подтверждено изменением химических сдвигов ЯМР ^1H спектров гептапептида, а также знаками и величинами ядерного эффекта Оверхаузера в различных средах. Проведено сравнение пространственного строения гептапептида Glu-Ile-Leu-Asn-His-Met-Lys, определенного в водном растворе и комплексе.

Ключевые слова: олигопептиды, мицеллы, ЯМР ^1H спектроскопия, TOCSY, NOESY.

Введение

Пептид PAP_{248–286} (англ. *prostatic acid phosphatase* – простатическая кислая фосфатаза), состоящий из 39 аминокислотных остатков, продуцируется простатой и содержится в сперме. Показано, что этот пептид формирует амилоидоподобные фибриллы [1], образующие волокна вблизи клеточной мембраны и играющие определенную роль в оплодотворении [2]. Вместе с тем присутствие волокон PAP может многократно увеличить риск инфекций, в том числе и ВИЧ, способствуя прикреплению вируса к живой клетке [3]. Предполагается, что эти амилоидные волокна, известные как SEVI (Semen-derived Enhancer of Viral Infection – полученный из спермы, усиливающий вирусную инфекцию), служат поликатионными мостами, нейтрализующими отрицательный заряд (заряд на поверхности мембраны) между капсидом вируса и мембраной клетки [4]. Однако механизм действия PAP до сих пор остается слабо изученным.

Центральным фрагментом PAP_{248–286} является гептапептид Glu-Ile-Leu-Asn-His-Met-Lys (EILNHMK), вследствие чего можно предположить, что изучение взаимодействия гептапептида с клеточной мембраной может быть полезным для понимания механизма активности данного пептида в целом.

Цель настоящей работы заключалась в определении пространственной структуры EILNHMK в мембраноподобном окружении (мицеллы додецилсульфата натрия, ДСН) методами ЯМР-спектроскопии высокого разрешения. Описание пространственного строения комплекса PAP-пептид – мембрана так же, как и строение PAP-пептида в растворе, позволит подойти к пониманию одного из важных механизмов процессов биохимического взаимодействия, протекающих на поверхности клеток. Это, в свою очередь, в перспективе даст возможность поиска эффективных лекарственных препаратов, ингибирующих связывание клеточной мембраны с вирусом ВИЧ или другой вирусной инфекцией.

1. Экспериментальная часть

Синтез исследуемого гептапептида выполняли методом твердофазного синтеза [5, 6] с помощью автоматического синтезатора пептидов ABI 433A (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) [7] при использовании аминокислот, защищенных 9-флуоренилметокси-карбонильными группами, и контролем процесса по анализу проводимости реакционной смеси. Отделение пептида от подложки и защитных групп производили в кислой среде на основе трифторуксусной кислоты. Очистку пептида производили методом высокопроизводительной жидкостной хроматографии на приборе Series 200 Perkin Elmer HPLC System (Waltham, MA, USA) в системе вода–ацетонитрил. Качество конечного продукта характеризовали, используя метод MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionization) масс-спектрометрии. Образец пептида хранили при температуре -75°C до его использования.

Регистрацию одномерных (^1H , ^{13}C) и двумерных (^1H – ^1H , ^1H – ^{13}C) спектров ЯМР гептапептида EILNHMK в растворах воды ($\text{H}_2\text{O} + \text{D}_2\text{O} / 95\% + 5\%$) и лиотропной жидкокристаллической среды проводили на ЯМР-спектрометре AVANCE II-500 (Bruker) (500 МГц (^1H), 125.76 МГц (^{13}C)) при температуре 293 К. Спектрометр работал в режиме внутренней стабилизации по линии резонанса ^2H . При записи спектров ЯМР ^1H использовали 90° -импульсы и задержки между импульсами равнялись 2 с; ширина спектра была 8.6 м.д.; число накоплений от 10. Для отнесения сигналов в спектрах ЯМР ^1H гептапептида использовали 2D TOCSY-спектроскопию. Образцы представляли собой растворы соединения в соответствующих средах, концентрации веществ 0.5–0.6% (весовых) при записи ЯМР ^1H и ^{13}C спектров. Химические сдвиги определяли относительно ДСС (4,4-диметил-4-силапентан-1-сульфоуксусная кислота). Ошибка в определении величин диполь-дипольного взаимодействия не превышала 1 Гц.

Остаточные величины диполь-дипольного взаимодействия (ДДВ) между магнитными ядрами в EILNHMK определялись в смеси *n*-алкил-поли(этилен)гликоль (C_{12}E_5 , где 12 – число атомов углерода в *n*-алкильной группе, а 5 – число гликольных групп в поли(этилен)гликоле) и *n*-гексанол в воде (5.6% (весовых)). Молярное отношение *n*-алкил-поли(этилен)гликоль : гексанол равно 0.96. Существование ламеллярной L_{α} -фазы подтверждалось наблюдением квадрупольного расщепления ЯМР-сигнала ядра ^2H воды D_2O [8], входящей в состав жидкокристаллической системы. Жидкокристаллическая система на основе *n*-алкил-поли(этилен)гликоля и *n*-гексанола готовилась так, как описано в работах [9, 10]. Мицеллярный раствор ДСН в $\text{H}_2\text{O} + \text{D}_2\text{O}$ готовили при концентрации 12 г/л. Порошкообразный гептапептид смешивали с мицеллярным раствором непосредственно перед измерениями.

При проведении двумерных ЯМР-экспериментов (NOESY-модификация) в молекулярной системе время задержки между последовательностями импульсов было втрое большим, чем усредненное время продольной релаксации T_1 для протонов гептапептида EILNHMK. Спектры записывали с использованием фазочувствительной методики для 1024 точек F_2 -координаты и 256 точек F_1 -координаты; использовали экспоненциальную фильтрацию вдоль обеих координат. Параметр времени смешивания τ_m выбирали равным 0.10, 0.15, 0.20, 0.25, 0.30, 0.35 и 0.40 с.

2. Результаты и их обсуждение

2.1. ЯМР-спектроскопия гептапептида EILNHMK в растворе. Объект исследования (рис. 1) представляет собой олигопептид, включающий в себя семь аминокислотных остатков: глутаминовую кислоту, изолейцин, лейцин, аспарагин, гистидин, метионин и лизин.

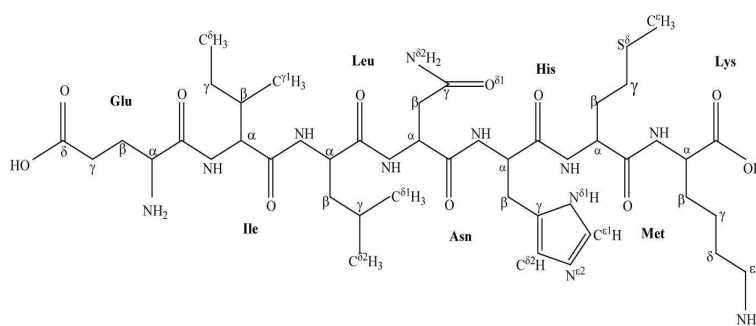


Рис. 1. Структурная формула гептапептида Glu-Ile-Leu-Asn-His-Met-Lys (EILNHMK)

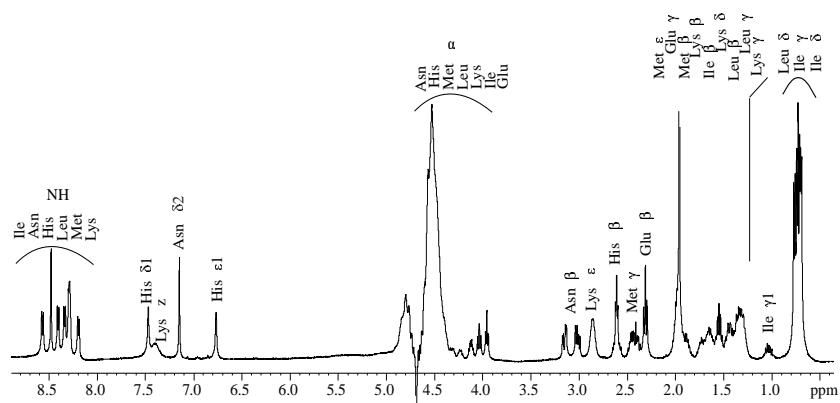
Рис. 2. Спектр ЯМР ^1H (500 МГц) гептапептида EILNHMK в растворе $\text{H}_2\text{O} + \text{D}_2\text{O}$

Табл. 1

ЯМР ^1H -химические сдвиги гептапептида EILNHMK в растворе $\text{H}_2\text{O} + \text{D}_2\text{O}$

Остаток	Химические сдвиги, м.д.				
	NH	H α	H β	H γ	Прочие
Glu		3.95	2.31	1.97	
Ile	8.56	4.04	1.66	0.74	1.03 (γ_1), 0.72 (δ)
Leu	8.34	4.22	1.44	1.34	0.76 (δ_1), 0.70 (δ_2)
Asn	8.48	4.50	3.09		7.15 (δ_2)
His	8.4	4.53	2.61		7.47 (δ_1), 6.77 (δ_2)
Met	8.29	4.31	1.93	2.44	1.97 (ϵ)
Lys	8.19	4.13	1.74	1.29	1.55 (δ), 2.86 (ϵ), 7.40 (z)

На рис. 2 представлен спектр ЯМР ^1H (500 МГц) гептапептида EILNHMK, растворенного в водной среде, а в табл. 1 приведены ЯМР ^1H химические сдвиги исследуемого гептапептида.

Отнесение сигналов альфа-протонов, протонов метиленовых и метильных групп гептапептида EILNHMK было сделано с учетом данных двумерных ^1H - ^1H TOCSY (см. рис. 3 в качестве примера) и ^1H - ^1H COSY спектров, сведений из литературы о химических сдвигах протонов в аминокислотных фрагментах, а также интегральных интенсивностей сигналов в спектрах ЯМР.

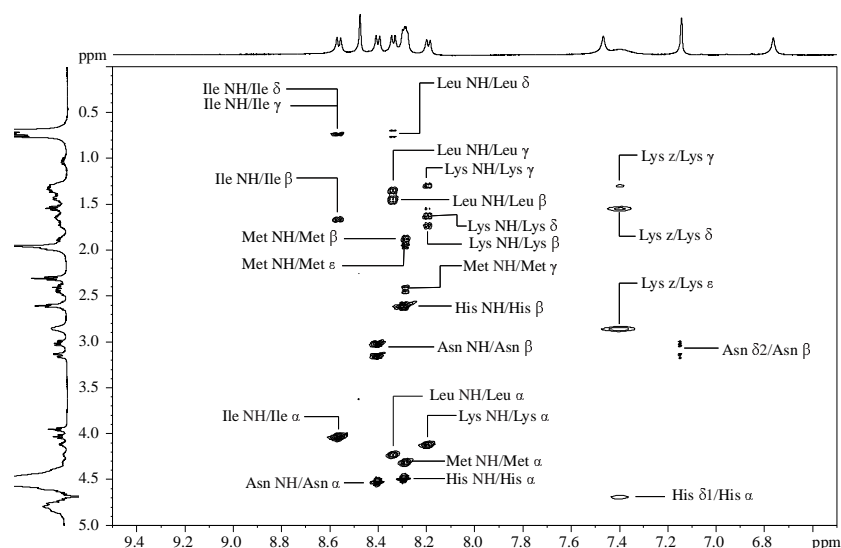


Рис. 3. Область ^1H - ^1H TOCSY спектра ЯМР гептапептида в растворе $\text{H}_2\text{O} + \text{D}_2\text{O}$

Табл. 2

ЯМР ^{13}C химические сдвиги гептапептида EILNНМК в растворе $\text{H}_2\text{O} + \text{D}_2\text{O}$

Остаток	Химические сдвиги, м.д.				
	CO	C α	C β	C γ	Прочие
Glu	169.26	52.17	29.16	26.38	176.69 (δ)
Ile	172.91	58.43	35.80	14.63	24.51 (γ_1), 9.92 (δ)
Leu	117.34	52.17	39.73	24.23	20.67 (δ_1), 22.04 (δ_2)
Asn	172.18	52.58	26.03	128.54	
His	171.42	50.32	36.19		173.86 (ϵ_1), 174.1 (δ_1)
Met	173.04	53.03	30.22	29.51	14.17 (ϵ)
Lys	176.48	53.68	30.22	22.04	26.34 (δ), 39.39 (ϵ)

На основе полученных данных о химических сдвигах протонов были определены величины химических сдвигов ЯМР ядер ^{13}C . Для этого был снят ^1H - ^{13}C HSQC спектр ЯМР EILNНМК в растворе $\text{H}_2\text{O} + \text{D}_2\text{O}$. Сигналы от углеродов карбоксильной группы аминокислотных фрагментов были определены на основе спектров НМВС. В табл. 2 приведены химические сдвиги сигналов углеродных групп гептапептида.

2.2. Пространственное строение EILNНМК, определенное на основе анализа величин остаточного диполь-дипольного взаимодействия. Двумерная ЯМР NOESY-спектроскопия не всегда эффективна при исследовании пространственной структуры небольших молекул, таких как олигопептиды, поскольку ее возможности ограничены малыми временами корреляции движения этих молекул в растворе. Как известно, диполь-дипольное взаимодействие между магнитными ядрами полностью усредняется в изотропном растворителе, но при растворении молекулярной системы в лиотропной жидкокристаллической среде возможно появление остаточного диполь-дипольного взаимодействия между магнитными ядрами, в том числе и между ядрами ^1H и ^{13}C , за счет анизотропных вкладов вследствие ограниченности движения молекул. Величина, характеризующая это взаи-

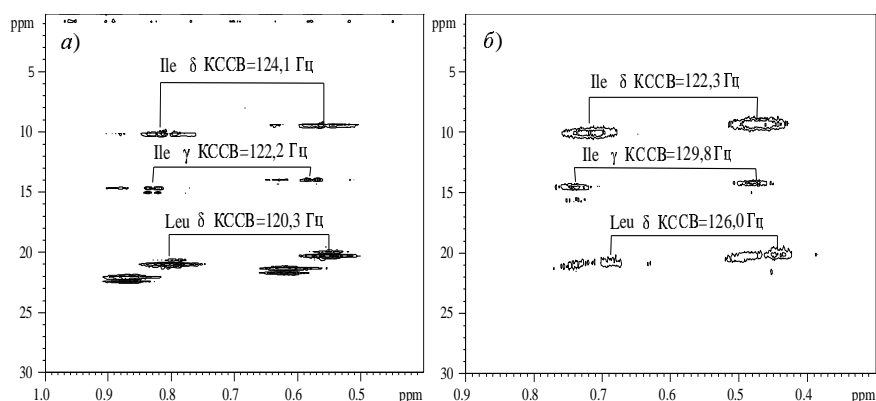


Рис. 4. Области ^1H - ^{13}C HSQC-HECADE ЯМР-спектров гептапептида EILNHMK в воде (а) и смеси C_{12}E_5 , гексанола и воды (б)

Табл. 3

Величины остаточного диполь-дипольного взаимодействия для гептапептида EILNHMK в лиотропной жидкокристаллической среде

Остаток	$^1D_{CH}$, Гц			
	$\text{H}\alpha$	$\text{H}\beta$	$\text{H}\gamma$	Прочие
Glu	-0.7		1.5	
Ile	-0.1	3.7		
Lys	35.9			6.2 (δ), -0.9 (ε)

модельное, извлекается из ЯМР-спектров в виде значения остаточного диполь-дипольного взаимодействия ($^1D_{CH}$), зависящего от угла между направлениями магнитного поля и межъядерного вектора ^1H - ^{13}C . Это обстоятельство позволяет определить пространственное строение органических молекул в растворе.

Экспериментальные величины остаточного диполь-дипольного взаимодействия получены с помощью ^1H - ^{13}C HSQC-HECADE-эксперимента [11]. Двумерные ЯМР ^1H - ^{13}C HSQC-HECADE-эксперименты для гептапептида EILNHMK позволили получить значения прямых констант спин-спинового взаимодействия (K_{CSB}) между ядрами ^1H и ^{13}C ($^1J_{CH}$) в воде (рис. 4, а) и в жидкокристаллической лиотропной системе ($^1J_{CH} + ^1D_{CH}$) (рис. 4, б).

Величины $^1D_{CH}$ (табл. 3) были получены вычитанием величин констант спин-спинового взаимодействия в воде ($^1J_{CH}$) из значений прямых констант спин-спинового взаимодействия, определенных в лиотропной жидкокристаллической среде ($^1J_{CH} + ^1D_{CH}$). Анализ полученных величин $^1D_{CH}$ осуществлялся с помощью программы DYNAMO, использующей методы молекулярной механики [12]. Данная программа позволяет связывать значения наблюдаемых констант и пространственное расположение межъядерных векторов относительно внешнего магнитного поля в рамках известной конформации исследуемой молекулы.

Критерием соответствия исходной структуры реальной является линейная корреляция между наблюдаемыми и рассчитанными значениями остаточных величин диполь-дипольного взаимодействия. Оптимизация исходной конформации гептапептида EILNHMK в программе DYNAMO путем использования в качестве входных данных экспериментально полученные величины диполь-дипольного взаимодействия позволила выбрать единственную пространственную структуру, для ко-

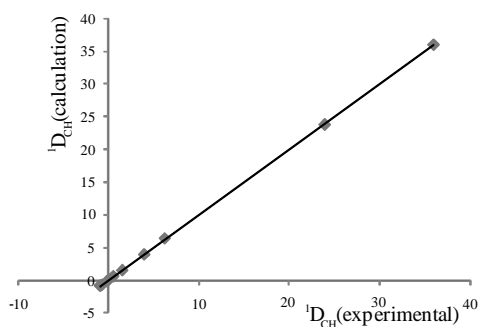


Рис. 5. Линейная корреляция между наблюдаемыми $^1D_{CH}$ (эксп) и рассчитанными $^1D_{CH}$ (теор) для гептапептида EILNHMK

торой наблюдалась линейная корреляция между наблюдаемыми и рассчитанными константами $^1D_{CH}$ (рис. 5).

Определенная таким образом пространственная структура гептапептида EILNHMK в растворе, для которой наблюдалось лучшее соответствие между наблюдаемыми и рассчитанными величинами остаточного диполь-дипольного взаимодействия, приведена на рис. 8, а.

2.3. Пространственное строение гептапептида EILNHMK в комплексе: олигопептид – синтетическая модель поверхности мембраны клетки. Мембранные белки различаются по своему положению в мембране. Они могут глубоко проникать в липидный бислой или даже пронизывать его (интегральные белки) либо разными способами прикрепляться к мембране, образуя с ней комплекс (поверхностные белки) [13]. ЯМР-спектроскопия в настоящее время позволяет исследовать структуру белков, липидных мембран и их комплексов, хотя при исследовании последних имеются существенные трудности. Работы [14–16] являются примерами первых исследований комплексов протеин – мембрана методом ЯМР-спектроскопии высокого разрешения.

Мицеллы являются удобной моделью мембранной поверхности для структурных исследований методом ЯМР-спектроскопии [16, 17] и могут быть использованы для моделирования поведения протеинов на биологических мембранах для небольших гидрофобных протеинов [18].

Поверхностно-активные вещества (ПАВ) образуются из молекул, состоящих из гидрофобных и гидрофильных участков. ПАВ имеют критическую концентрацию мицеллообразования (ККМ), с достижением которой при добавлении ПАВ в раствор его концентрация на границе раздела фаз остается постоянной. В результате такой агрегации образуются так называемые мицеллы, при этом полярная группа мицелл в водной среде расположена на ее оболочке (гидрофильная часть мицеллы), а центральная часть мицеллы являлась гидрофобной [17, 18].

Нужно отметить, что для молекул с большими молекулярными массами, связанными с мицеллами на основе ПАВ, существуют ограничения для структурных исследований, использующих внутримолекулярные 1H NOE-эксперименты [19, 20]. При образовании комплекса протеин – мицелла заметно увеличивается молекулярная масса по сравнению с массой несвязанного протеина, так что в этом случае появляется возможность использования двумерной ЯМР NOESY-спектроскопии при решении структурных задач и для небольших по количеству аминокислот протеинов [19–21].

На рис. 6 представлен ЯМР 1H (500 МГц) спектр гептапептида EILNHMK, растворенного в воде с мицеллами на основе додецилсульфата натрия (ДСН),

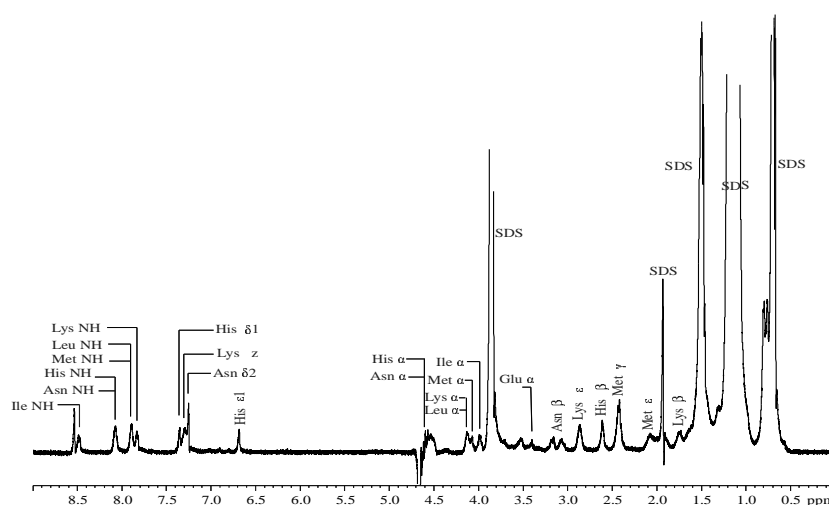
Рис. 6. ЯМР ^1H (500 МГц) спектр EILNНМК в растворе $\text{H}_2\text{O} + \text{D}_2\text{O}$ с ДСН

Табл. 4

ЯМР ^1H химические сдвиги гептапептида EILNНМК в мицеллярном растворе $\text{H}_2\text{O} + \text{D}_2\text{O}$ (в скобках приведены значения химических сдвигов различающиеся более чем на 0.1 м.д., в водном растворе, взятые из табл. 1)

Остаток	Химические сдвиги, м.д.				
	NH	H α	H β	H γ	Прочие
Glu		3.41 (3.95)	1.39 (2.31)	1.18 (1.97)	
Ile	8.50	4.00	1.76	0.71	1.45 (1.03) (γ_1) 0.68 (δ)
Leu	7.90 (8.34)	4.14	1.67 (1.44)	1.62 (1.34)	0.82 (δ_1) 0.58 (0.70) (δ_2)
Asn	8.10 (8.48)	4.49	3.14		7.27 (7.15) (δ_2)
His	8.09 (8.4)	4.43	2.63		7.37 (δ_1) 6.70 (ϵ_1)
Met	7.92 (8.29)	4.11 (4.31)	1.93	2.44	2.08 (1.97) (ϵ)
Lys	7.85 (8.19)	4.14	1.74	1.33	1.60 (δ) 2.88 (ϵ)

образование которых (мицелл) контролировалось методом ЯМР ^1H , как это предложено в работах [22]. Отнесение сигналов этого спектра сделано, опираясь на данные предыдущего исследования и двумерного эксперимента ЯМР ^1H - ^1H TOCSY [20]. В табл. 4 представлены полученные ЯМР ^1H химические сдвиги гептапептида EILNНМК в мицеллярном растворе.

Образование комплекса в данной системе подтверждается двумя фактами, во-первых, изменением химических сдвигов EILNНМК при смене среды (табл. 4), что свидетельствует об изменении химического окружения ядер исследуемой молекулы. Во-вторых, наблюдающийся положительный кросс-пик в двумерном ЯМР ^1H - ^1H NOESY спектре означает, что произошло существенное увеличение молекулярной массы молекулы.

Для того чтобы охарактеризовать пространственную геометрию гептапептида EILNНМК в комплексе с мицеллами додецилсульфата натрия записывались двумерные ЯМР NOESY спектры с вариацией времени смешивания τ_m (см. рис. 7 как пример).

В двумерных ЯМР-спектрах ^1H - ^1H NOESY наблюдались кросс-пики как между сигналами протонов внутри аминокислотных остатков, так и между протонами, которые относятся к различным аминокислотным фрагментам. Анализируя

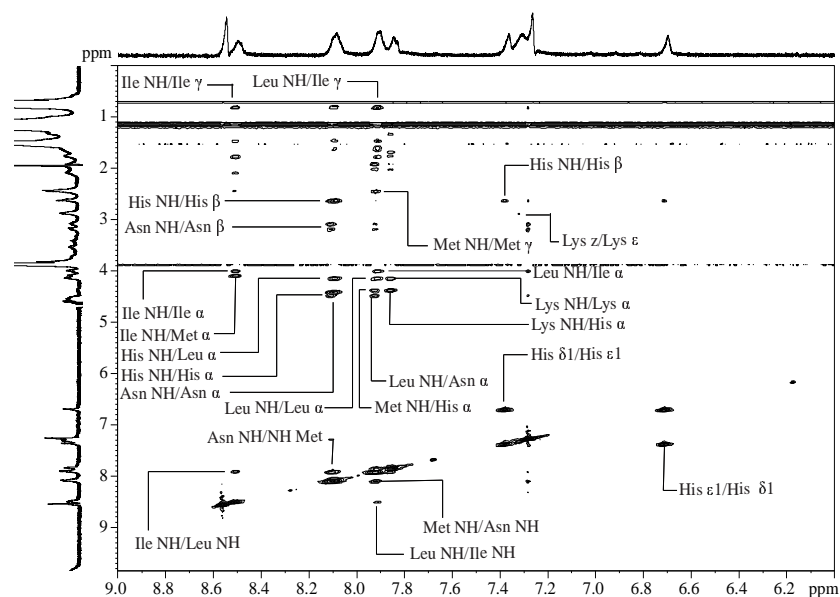


Рис. 7. Область ^1H - ^1H NOESY спектра ЯМР гептапептида EILNHMK в растворе $\text{H}_2\text{O} + \text{D}_2\text{O}$ с додецилсульфатом натрия, время смешивания $\tau_m = 0.4$ с

Табл. 5

Межпротонные расстояния для гептапептида EILNHMK в мицеллярном растворе; (*) калибровочное расстояние; ошибка в определении расстояний – до 8%

Пара атомов	Межпротонное расстояние r , Å NOESY	Межпротонное расстояние r , Å DYNAMO
H5 H δ 1 – His H ϵ 1	2.6*	2.6
N4 NH – M6 NH	3.4 ± 0.2	3.4
I2 NH – L3 NH	3.6 ± 0.2	3.4
H5 NH – L3 H α	3.2 ± 0.2	3.3
L3 NH – I2 H α	3.8 ± 0.2	3.6
I2 NH – I2 H α	3.5 ± 0.2	3.3
N4 NH – N4 H β 2	3.4 ± 0.2	3.5
N4 H β 1 – N4 H α	3.4 ± 0.2	3.2
H5 NH – H5 H β 2	3.0 ± 0.2	2.9
M6 NH – M6 H γ 2	4.3 ± 0.2	4.4
I2 NH – I2 H β	3.2 ± 0.2	3.1
L3 NH – I2 H γ 11	4.4 ± 0.2	4.3
I2 NH – I2 H γ 12	4.7 ± 0.2	4.7
M6 H α – M6 H ϵ 2	3.0 ± 0.2	3.1
L3 H α – I2 H β	3.9 ± 0.2	4.0

и обрабатывая данные кросс-пики с использованием методики, изложенной в работе [21], были получены межпротонные расстояния в гептапептиде EILNHMK (табл. 5). В качестве калибровочной интенсивности кросс-пики был выбран кросс-пик между ароматическими протонами гистидина His5 H δ 1 – His5 H ϵ 1. Такой выбор обусловлен тем, что ароматическое кольцо представляет собой жесткую конструкцию и расстояние между протонами соседних атомов можно считать неизменным при любых внешних условиях. Расстояние между калибровочными протонами определялось различными методами и принято равным 2.6 Å.

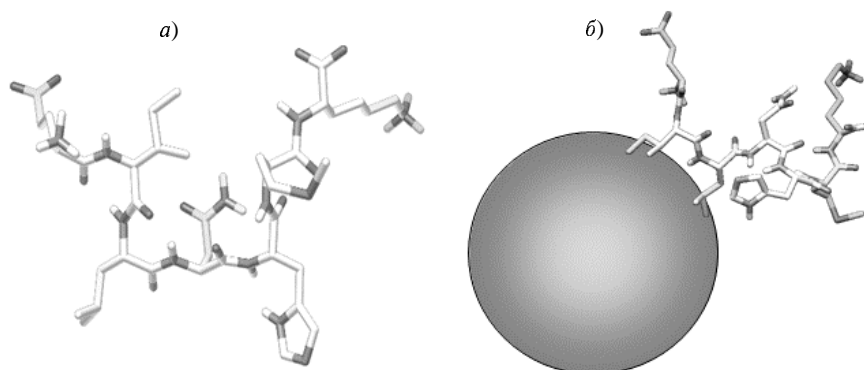


Рис. 8. Пространственное строение EILNHMK: а) в растворе; б) в комплексе с синтетической моделью поверхности мембраны клетки

Табл. 6
Расстояния между некоторыми атомами EILNHMK для конформаций в растворе и комплексе с мицеллами додецилсульфата натрия

Пара атомов	Расстояние, Å	
	Раствор	Комплекс
E1 C δ – K7 CO	14.4	15.0
M6 S δ – L3 C γ	12.3	9.6
E1 N – K7 Nz	17.6	12.2
L3 N – M6 N	7.4	7.6
I2 C δ – L3 C δ 1	10.2	6.9

Расчет с использованием метода молекулярной механики по программе DYNAMO [12], исходными данными для которой служили полученные межпротонные расстояния, позволил однозначно определить пространственную структуру как наиболее подходящую для гептапептида (рис. 8. б).

В результате проведенных исследований определены координаты атомов (в pdb-формате) пространственной структуры гептапептида EILNHMK в растворе и в комплексе с мицеллами додецилсульфата натрия в растворе H₂O + D₂O, которые можно получить у авторов работы.

Для количественного сравнения пространственного строения гептапептида в растворе и комплексе EILNHMK – модель поверхности мембраны рассчитаны расстояния между некоторыми атомами в гептапептиде EILNHMK, используя полученные координаты (см. табл. 6).

Как видно из табл. 6, существенного изменения в конформациях молекулы не произошло, и все отличия могут быть интерпретированы поворотом отдельных групп молекулы. Качественное рассмотрение изменения ЯМР ¹H химических сдвигов при смене среды (табл. 4) позволило предположить, что комплексообразование гептапептида EILNHMK с мицеллой додецилсульфата натрия осуществляется гидрофобной частью – аминокислотными остатками изолейцина и лейцина, поскольку сама мицелла имеет гидрофильную поверхность.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ (госконтракт № 16.552.11.7008) и Академии наук РТ (проект № 12-03-97040).

Summary

I.Z. Rakhmatullin, D.S. Blokhin, O.V. Aganova, A.R. Yulmetov, A.V. Filippov, A.V. Aganov, V.V. Klochkov. Spatial Structure of HIV-Enhancing Heptapeptide Glu-Ile-Leu-Asn-His-Met-Lys in Solution and in the Complex with a Model Biological Membrane.

The spatial structure of a synthetic fragment of SEVI – heptapeptide Glu-Ile-Leu-Asn-His-Met-Lys – in solution and in the complex with a model cell membrane surface (a micelle based on sodium dodecyl sulfate) was determined and described by ^1H NMR spectroscopy and two-dimensional NMR (TOCSY, HSQC-HECADE, NOESY) spectroscopy. The complexation was confirmed by the change in the chemical shifts of the heptapeptide's ^1H NMR spectra as well as by the signs and values of NOE effects in various media. A comparison of the spatial structure of heptapeptide Glu-Ile-Leu-Asn-His-Met-Lys in water solution and in the complex was made.

Key words: oligopeptides, micelles, NMR ^1H spectroscopy, TOCSY, NOESY.

Литература

1. Münch J., Rucker E., Standker L., Adermann K., Goffinet C., Schindler M., Wildum S., Chinnadurai R., Rajan D., Specht A., Gimenez-Gallego G., Sanchez P.C., Fowler D.M., Koulov A., Kelly J.W., Mothes W., Grivel J.C., Margolis L., Keppler O.T., Forssmann W.G., Kirchhoff F. Semen-derived amyloid fibrils drastically enhance HIV infection // *Cell*. – 2007. – V. 131, No 6. – P. 1059–1071.
2. Hassan M.I., Aijaz A., Ahmad F. Structural and functional analysis of human prostatic acid phosphatase // *Expert Rev. Anticancer Ther.* – 2010. – V. 10, No 7. – P. 1055–1068.
3. Nanga R.P., Brender J.R., Vivekanandan S., Popovych N., Ramamoorthy A. NMR structure in a membrane environment reveals putative amyloidogenic regions of the SEVI precursor peptide PAP(248–286) // *J. Am. Chem. Soc.* – 2009. – V. 131, No 49. – P. 17972–17979.
4. Roan N.R., Münch J., Arhel N., Mothes W., Neidleman J., Kobayashi A., Smith-McCune K., Kirchhoff F., Greene W.C. The cationic properties of SEVI underlie its ability to enhance human immunodeficiency virus infection // *J. Virol.* – 2009. – V. 83, No 1. – P. 73–80.
5. Merrifield R.B. Solid phase peptide synthesis. I. The synthesis of a tetrapeptide // *J. Am. Chem. Soc.* – 1963. – V. 85. – P. 2149–2154.
6. Jones J. Amino acid and peptide synthesis. – N. Y.: Oxford Univ. Press, 2002. – 92 p.
7. Filippov A. Synthesis and aggregation studies on amyloid oligomers of Alzheimer's A β peptides. – Lulea: University of Technology, 2010. – 26 p.
8. Alba E., Tjandra N. NMR dipolar couplings for the structure determination of biopolymers in solution // *Prog. NMR Spectrosc.* – 2002. – V. 40. – P. 175–197.
9. Ruckert M., Otting G. Alignment of biological macromolecules in novel nonionic liquid crystalline media for NMR experiments // *J. Am. Chem. Soc.* – 2000. – V. 122, No 32. – P. 7793–7797.
10. Klochkov V.V., Klochkov A.V., Thiele C.M., Berger S. A novel liquid crystalline system for partial alignment of polar organic molecules // *J. Magn. Reson.* – 2006. – V. 179, No 1. – P. 58–63.
11. Kozminski W., Nanz D. Sensitivity improvement and new acquisition scheme of heteronuclear active-coupling-pattern-tilting spectroscopy // *J. Magn. Reson.* – 2000. – V. 142, No 2. – P. 294–299.
12. Delaglio F., Grzesiek S., Vuister G.W., Zhu G., Pfeifer J., Bax A. NMRPipe: a multi-dimensional spectral processing system based on UNIX pipes // *J. Biomol. NMR.* – 1995. – V. 6, No 3. – P. 277–293.

13. *Coles M., Bicknell W., Watson A.A., Fairlie D.P., Craik D.J.* Solution structure of amyloid β -peptide(1-40) in a water-micelle environment. Is the membrane-spanning domain where we think it is? // *Biochemistry*. – 1998. – V. 37, No 31. – P. 11064–11077.
14. *Henry G.D., Sykes B.D.* Methods to study membrane protein structure in solution // *Methods Enzymol.* – 1994. – V. 239. – P. 515–535.
15. *Lee K.H., Fitton J.E., Wüthrich K.* Nuclear magnetic resonance investigation of the conformation of δ -haemolysin bound to dodecylphosphocholine micelles // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1987. – V. 911, No 2. – P. 144–153.
16. *Braun W., Wider G., Lee K.H., Wüthrich K.* Conformation of glucagon in a lipid-water interphase by ^1H nuclear magnetic resonance // *J. Mol. Biol.* – 1983. – V. 169, No 4. – P. 921–948.
17. *Motta A., Pastore A., Goud N.A., Castiglione Morelli M.A.* Solution conformation of salmon calcitonin in sodium dodecyl sulfate micelles as determined by two-dimensional NMR and distance geometry calculations // *Biochemistry*. – 1991. – V. 30, No 43. – P. 10444–10450.
18. *Wang G., Keifer P.A., Peterkofsky A.* Solution structure of the N-terminal amphitropic domain of *Escherichia coli* glucose-specific enzyme IIA in membrane-mimetic micelles // *Protein Sci.* – 2003. – V. 12, No 5. – P. 1087–1096.
19. *Ernst R.R., Bodenhausen B., Wokaun A.* Principles of Nuclear Magnetic Resonance in One and Two Dimensions. – Oxford: Oxford Univ. Press, 1987. – 610 p.
20. *Berger S., Braun S.* 200 and More NMR Experiments. – Weinheim: Wiley-VCH, 2004. – 810 p.
21. *Bremer J., Mendz G.L., Moore W.J.* Skewed exchange spectroscopy. Two-dimensional method for the measurement of cross relaxation in proton NMR spectroscopy // *J. Am. Chem. Soc.* – 1984. – V. 106, No 17. – P. 4691–4696.
22. *Блохин Д.С., Ефимов С.В., Клочков А.В., Юльметов А.Р., Филиппов А.В., Аганов А.В., Клочков В.В.* Пространственное строение декапептида Val-Ile-Lys-Lys-Ser-Thr-Ala-Leu-Leu-Gly в комплексе протеин – мицеллы додецилсульфата натрия // *Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки.* – 2011. – Т. 153, кн. 1. – С. 59–70.

Поступила в редакцию
01.02.12

Рахматуллин Ильфат Зуфарович – студент Института физики Казанского (Приволжского) федерального университета.

Блохин Дмитрий Сергеевич – студент Института физики Казанского (Приволжского) федерального университета.

Аганова Оксана Вартановна – студент Института физики Казанского (Приволжского) федерального университета.

Юльметов Айдар Рафаилович – кандидат физико-математических наук, ассистент кафедры общей физики Казанского (Приволжского) федерального университета.

Филиппов Андрей Васильевич – доктор физико-математических наук, профессор кафедры физики молекулярных систем Казанского (Приволжского) федерального университета.

Аганов Альберт Вартанович – доктор химических наук, профессор кафедры общей физики, директор Института физики Казанского (Приволжского) федерального университета.

Клочков Владимир Васильевич – доктор химических наук, профессор кафедры общей физики Казанского (Приволжского) федерального университета.

E-mail: vladimir.klochkov@ksu.ru