

УДК 541.12.038.2:536.75:536.728

СПОСОБЫ КОНТРОЛЯ ОБРАЗОВАНИЯ МИЦЕЛЛЯРНЫХ СИСТЕМ НА ОСНОВЕ ДОДЕЦИЛСУЛЬФАТА НАТРИЯ В РАСТВОРЕ И ПРОСТРАНСТВЕННОЕ СТРОЕНИЕ ТЕТРАПЕПТИДА nAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe В КОМПЛЕКСЕ ПРОТЕИН – МИЦЕЛЛЫ ПО ДАННЫМ СПЕКТРОСКОПИИ ЯМР

Д.С. Блохин, М.А. Кулькова, В.В. Клочков

Аннотация

Предложены способы контроля образования мицеллярных систем на основе додецилсульфата натрия в растворе методами ЯМР-спектроскопии. Методами спектроскопии ЯМР ^1H и двумерной ЯМР (TOCSY, NOESY) спектроскопии исследована пространственная структура комплекса тетрапептид nAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe – мицеллы додецилсульфата натрия в водном растворе. Комплексообразование подтверждено изменением химических сдвигов ЯМР ^1H спектров тетрапептида, знаками и величинами NOE эффектов в присутствии додецилсульфата натрия. Методами двумерной ЯМР (TOCSY, NOESY) спектроскопии определено пространственное строение тетрапептида в этом комплексе.

Ключевые слова: олигопептид, мицеллы, ЯМР ^1H спектроскопия, двумерная ЯМР (TOCSY, NOESY) спектроскопия.

Введение

Протеины представляют собой чрезвычайно сложные органические молекулы – биополимеры (полипептиды), структурными единицами которых являются аминокислоты. Хорошо известно, что биологическая активность протеинов связана с их пространственным строением. Изучение конформаций олигопептидов, содержащих в цепи от двух и более аминокислотных остатков, также важно, поскольку их можно рассматривать в качестве структурных блоков протеинов и знание их строения может быть использовано для предсказания конфигурации цепей полипептидов. Известно также, что некоторые короткие пептидные последовательности, синтезируемые клеткой, являются частью иммунной системы живого организма [1–4].

Традиционно исследования строения относительно небольших органических соединений в растворах основаны как на данных одномерной ЯМР (^1H , ^{13}C) спектроскопии, так и на использовании современных подходов в ЯМР спектроскопии, таких как двумерная ЯМР (COSY, TOCSY, HSQC, HMBSC и NOESY модификации) спектроскопия [5, 6]. Отметим, что использование (^1H – ^1H) NOESY ЯМР-спектроскопии позволяет определять расстояния между магнитными ядрами, отстоящими друг от друга на расстоянии до 5 Å и тем самым устанавливать пространственную структуру органических соединений в растворе [5]. Отметим, что применение вышеназванного метода двумерной ЯМР NOESY

спектроскопии к относительно малым молекулам не всегда эффективно [5, 6]. Это обусловлено малыми временами корреляции τ_c таких молекул в растворе, что приводит к слабым по интенсивности кросс-пикам в спектрах NOESY и затрудняет получение количественной информации о межпротонных расстояниях в таких молекулярных системах.

В настоящей работе на основе предлагаемого подхода, включающего использование комплекса протеин – мицеллярные системы (на основе додецилсульфата натрия (ДСН)), определены межпротонные расстояния, характеризующие пространственную геометрию тетрапептида $n\text{Ac-Ser-Phe-Val-Gly-OMe}$ в растворе методом двумерной спектроскопии ЯМР NOESY. «Работоспособность» подхода связана с тем, что при связывании протеина с мицеллами образуется комплекс протеин – мицелла, молекулярная масса которого больше, чем у несвязанного протеина, что может перевести протеин из разряда малых молекул, подпадающих под условие быстрого обмена, в разряд молекул, подпадающих под условие медленного обмена [5, 6]. Последнее обстоятельство позволяет использовать спектроскопию ЯМР NOESY при решении структурных задач и для небольших по количеству аминокислотных остатков протеинов.

Протеины могут взаимодействовать с мембраной клетки преимущественно двумя способами: проникать сквозь бислои (и тогда говорят об интегральных мембранных белках) или образовывать комплекс с поверхностью бислоя (периферийные или внешние мембранные белки) [7]. При исследовании комплексов протеин – поверхность мембраны в качестве модели мембран используют мицеллы на основе поверхностно-активных веществ (ПАВ) или небольшие фосфолипидные везикулы [7, 8].

Среда, которая наиболее близко соответствует нативному бислою липида, состоит из фосфолипидных везикул, минимальный размер частиц которых составляет 250–300 Å в диаметре. Частицы такого размера имеют большое вращательное время корреляции, что приводит к коротким значениям времен поперечной релаксации T_2 и к уменьшению информативности двумерных ЯМР-экспериментов (TOCSY, HSQC, HMBC, NOESY), необходимых как для отнесения резонансных сигналов, так и для определения пространственной структуры протеинов в комплексе [5, 6, 9].

Известно, что хорошей моделью мембранной поверхности, подходящей для структурных исследований методом ЯМР-спектроскопии [10–12], являются мицеллы или мицеллярные системы. Последние на основе ДСН образуются в воде при минимальной концентрации 8.1 мМ [7]. Большинство протеинов связывается с мицеллами ДСН в весовом соотношении (1.4 г ДСН и 1 г протеина) [6]. Мицеллы ДСН могут быть использованы для моделирования поведения протеинов на биологических мембранах для небольших гидрофобных протеинов, которые образуют комплексы, связываясь непосредственно с мицеллой ДСН. Отметим, что у синтетических мицелл ДСН, подобно многим биологическим мембранам, имеется поверхностно-отрицательный заряд. От величины этого заряда зависит критическая концентрация мицеллообразования ДСН при формировании мицеллы. Присутствие соли (NaCl для систем ДСН) в растворе позволяет формироваться мицеллам при меньшей концентрации ДСН [7].

Изменение условий для образца (температуры, концентрации компонентов раствора) при проведении двумерных ЯМР NOESY экспериментов по определению межпротонных расстояний в олигопептидах в комплексе протеин – мицелла требует постоянного контроля существования додецилсульфата натрия в виде мицелл. В работе описаны оригинальные способы контроля образования мицеллярных систем на основе додецилсульфата натрия в растворе с использованием методов одно- и двумерной спектроскопии ЯМР.

Экспериментальная часть

Тетрапептид *n*Ac-Ser-Phe-Val-Gly-OMe предоставлен профессором С. Бергером из Университета Лейпцига, Германия.

Регистрацию ЯМР ^1H (500 МГц) спектров тетрапептида *n*Ac-Ser-Phe-Val-Gly-OMe в комплексе с ДСН в водном растворе проводили на ЯМР-спектрометре AVANCE II-500 фирмы Bruker. Спектрометр работает в режиме внутренней стабилизации по линии резонанса ^2H . При записи спектров ЯМР ^1H использовали 90° -ные импульсы и задержки между импульсами равнялись 2 с; ширина спектра была 9.40 м.д.; число накоплений от 10. Двумерный спектр 2D TOCSY [9] использовали для отнесения сигналов в спектрах ЯМР ^1H тетрапептида *n*Ac-Ser-Phe-Val-Gly-OMe.

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 тетрапептида *n*Ac-Ser-Phe-Val-Gly-OMe. 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 0.075, 0.10, 0.15, 0.20 и 0.25 с.

Обсуждение результатов

Адекватное описание образования мицеллярных систем на основе ПАВ в растворе различными физико-химическими методами, в том числе и методом ЯМР-спектроскопии, по сей день является актуальной задачей [13]. Так, в работе [13] проводится исследование и анализ связи концентрации ЯМР ^1H додецилсульфата натрия (рис. 1) в воде с изменением химических сдвигов протонов ПАВ.

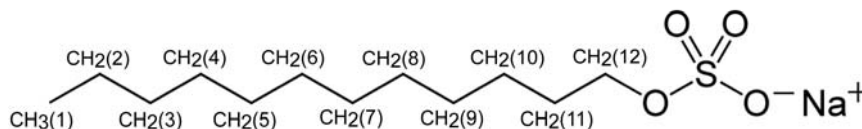


Рис. 1. Структурная формула додецилсульфата натрия

Контроль образования мицеллярных систем на основе додецилсульфата натрия в растворе методом ЯМР ^1H спектроскопии. Изменение концентрации додецилсульфата натрия (рис. 1) в воде приводит, как известно [13], к изменению величин химических сдвигов протонов ПАВ. В отличие от работы [13],

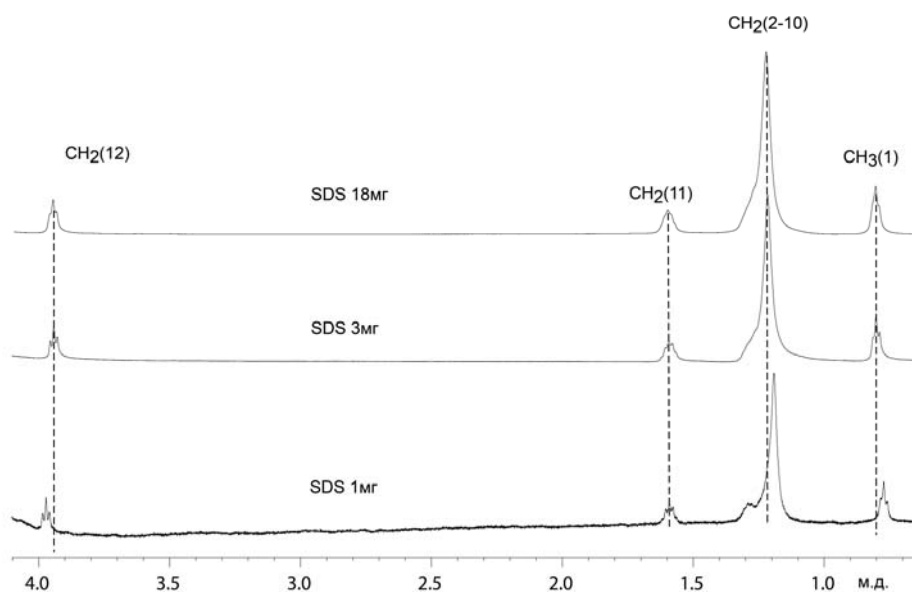


Рис. 2. ЯМР ^1H (500 МГц) спектры додецилсульфата натрия в водном растворе (700 мкл $\text{H}_2\text{O} + \text{D}_2\text{O}$ (90% + 10%)) при различном содержании ДСН; T 298 К

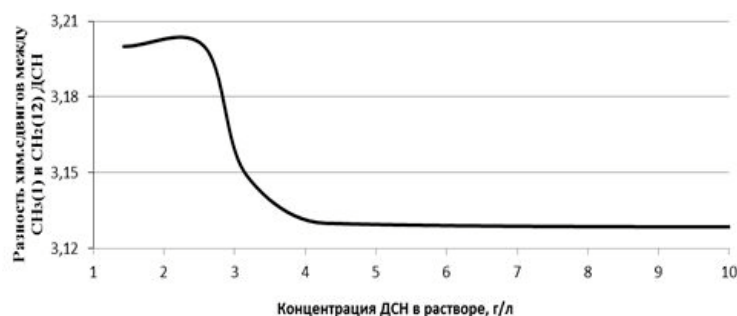


Рис. 3. Зависимость разности химических сдвигов CH_3 (1) и CH_2 (12) додецилсульфата натрия от концентрации ДСН в водном растворе

было рассмотрено изменение разности ($\Delta\delta$, м.д.) химических сдвигов протонов метиленовой группы CH_2 (12) (рис. 2) и метильной группы CH_3 (1) в спектрах ЯМР ^1H от концентрации ДСН в водном растворе, что позволяет с большей точностью фиксировать эти изменения.

На рис. 2 представлены спектры ЯМР ^1H додецилсульфата натрия при различных его концентрациях в водном растворе (отнесение сигналов ЯМР к соответствующим группам протонов сделано на основании рассмотрения формы и интенсивностей сигналов). Как следует из рисунка, при изменении концентрации ДСН происходит смещение сигналов ЯМР ^1H , что объяснимо с позиций быстрого химического обмена между мономерами ДСН и мицеллярной формой на его основе. Рассмотрим более подробно изменение разности ($\Delta\delta$, м.д.) химических сдвигов протонов метиленовой группы CH_2 (12) (рис. 2) и метильной группы CH_3 (1) от концентрации ДСН в водном растворе, которое представлено на рис. 3. Исходя из рисунка, можно говорить о том, что при концентрациях

ДСН в растворе менее чем 1.4 г/л додецилсульфат натрия существует в мономерной форме; в области концентраций от 1.4 до 4.3 г/л в растворе присутствуют как мономерная, так и мицеллярная формы. При концентрациях ДСН более чем 4.3 г/л, исходя из неизменности разности химических сдвигов протонов метиленовой группы CH_2 (1) и метильной группы CH_3 , в растворе реализуется лишь мицеллярная форма. Таким образом, разница химических сдвигов протонов метиленовой группы CH_2 (1) и метильной группы CH_3 , равная 3.20 м.д. свидетельствует о том, что додецилсульфат натрия существует в мономерной форме, тогда как $\Delta\delta$, равная 3.13 м.д. указывает на то, что в растворе реализуется лишь мицеллярная форма додецилсульфата натрия.

Контроль образования мицеллярных систем на основе додецилсульфата натрия в растворе методом двумерной ЯМР NOESY спектроскопии. Данный способ определения основан на различии интенсивностей и знаков кросс-пиков в двумерных ЯМР NOESY спектрах додецилсульфата натрия, который находится в мономерной и мицеллярной формах. Как уже отмечалось, относительно малые молекулы имеют слабые по интенсивности кросс-пики в спектрах ЯМР NOESY и характеризуются обратным знаком интегральных интенсивностей по отношению к интенсивностям диагональных пиков, что и подтверждает рис. 4, а.

Увеличение концентрации ДСН в водном растворе приводит к формированию мицеллярных систем, которые находятся в быстром обмене с мономерными структурами. Критической концентрацией мицеллообразования ПАВ является концентрация ПАВ в растворе, при которой в системе образуются устойчивые мицеллы. В водном растворе мицеллы ведут себя как глобулярные белки. Они содержат от 60 мономерных молекул, при этом частицы такого размера имеют относительно небольшое вращательное время корреляции ($\tau_c \sim 5 \cdot 10^{-8}$ с) [7]. Последнее приводит к тому, что в спектрах ЯМР NOESY додецилсульфата натрия в мицеллярной форме наблюдаются интенсивные кросс-пики того же знака, что и сигналы диагональных пиков (рис. 4, б).

Таким образом, при проведении двумерных ЯМР NOESY экспериментов по определению межпротонных расстояний в олигопептидах в комплексе протеин – мицелла мы имеем два ЯМР-способа контроля существования додецилсульфата натрия в виде мицелл.

Межпротонные расстояния в тетрапептиде nAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe в комплексе протеин – модель поверхности мембраны клетки. В работе определены межпротонные расстояния, напрямую характеризующие пространственную геометрию тетрапептида nAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe (рис. 5) в растворе методом двумерной ЯМР NOESY спектроскопии в комплексе протеин – модель поверхности мембраны клетки (мицеллярные системы на основе ДСН). Тетрапептид nAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe может представлять собой интерес как модель межмолекулярных взаимодействий пептида с растворителями, такими как вода и трифторэтанол, поскольку, являясь коротким пептидом, он содержит как ароматическую, так и алифатическую составляющие и полярные группы.

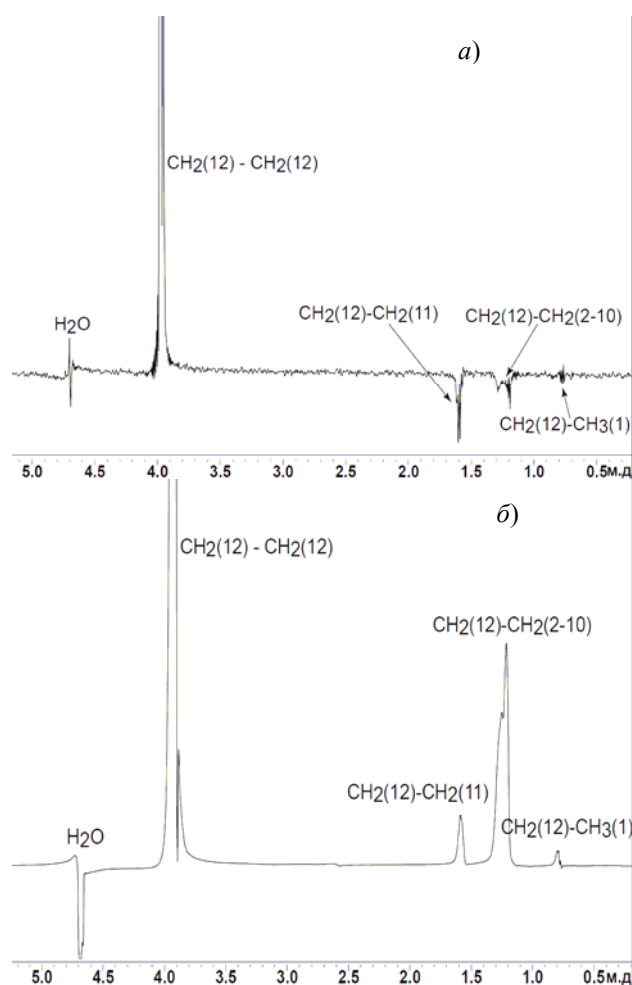


Рис. 4. Проекция двумерных ЯМР NOESY спектров додецилсульфата натрия вдоль частоты соответствующей δ 3.93 м.д. (химический сдвиг метиленовых протонов CH_2 (12)) в водном растворе: *а*) концентрация ДСН в водном растворе равна 2.2 г/л; *б*) концентрация ДСН в водном растворе равна 7.5 г/л

Спектр ЯМР ^1H тетрапептида $\text{nAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe}$, растворенного в водной среде с додецилсульфатом натрия, находящимся в мицеллярной форме, (700 мкл $\text{H}_2\text{O} + \text{D}_2\text{O}$ (90% + 10%)) представлен на рис. 6.

Отнесение сигналов в спектре ЯМР ^1H тетрапептида $\text{nAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe}$ в растворе $\text{H}_2\text{O} + \text{D}_2\text{O}$ с ДСН сделано в соответствии с литературными данными [16] и на основании двумерного эксперимента ЯМР TOCSY [9], а также химических сдвигов сигналов спектра ЯМР ^1H данного тетрапептида, растворенного в воде [14, 17].

Ранее [14] с использованием подхода, основанного на величинах констант остаточного диполь-дипольного взаимодействия [15] между магнитными ядрами ^{13}C и ^1H , разделенными одной химической связью (^1D), было определено пространственное строение тетрапептида $\text{nAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe}$. В той же работе [14] для определения межпротонных расстояний, напрямую характеризующих пространственную геометрию тетрапептида $\text{nAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe}$

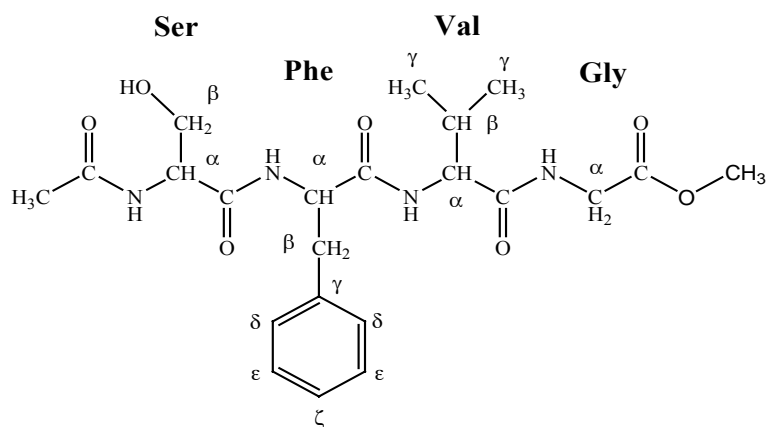


Рис. 5. Структурная формула тетрапептида NAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe

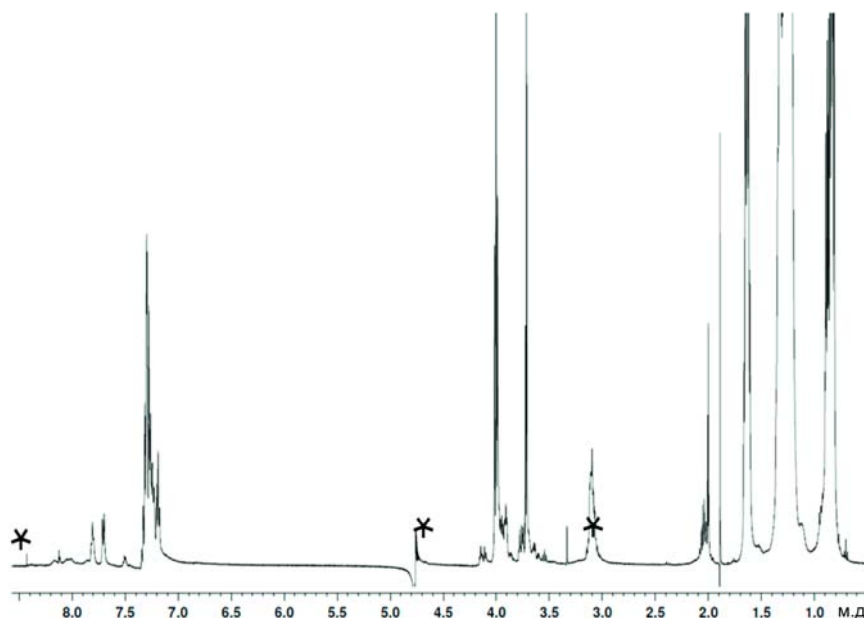


Рис. 6. ЯМР ^1H (500 МГц) спектр тетрапептида nAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe в растворе $\text{H}_2\text{O} + \text{D}_2\text{O}$ с додецилсульфатом натрия (5.71 г/л), находящемся в мицеллярном состоянии (звездочкой отмечены сигналы от не до конца подавленной воды и примеси); T 298 К, 0 м.д. соответствует сигналу ЯМР ^1H TMS

в растворе D_2O , использовался метод двумерной ЯМР NOESY спектроскопии. Однако наблюдать кросс-пики между протонами, принадлежащими к различным аминокислотным фрагментам, в спектрах 2D NOESY не удалось (рис. 7, а). Это объяснялось тремя причинами:

- удаленностью друг от друга αCH или αCH_2 протонов, принадлежащих различным аминокислотным остаткам;
- отмеченной неэффективностью метода двумерной ЯМР NOESY спектроскопии в исследовании строения относительно малых молекул;
- участием амидных протонов в межмолекулярном обмене.

Табл. 1

Химические сдвиги ЯМР ^1H протонов (δ_{H} , м.д., относительно ТМС) для тетрапептида $\text{nAc-Ser-Phe-Val-Gly-Ome}$, растворенного в $\text{H}_2\text{O} + \text{D}_2\text{O}$ с додецилсульфатом натрия (5.71 г/л), находящимся в мицеллярном состоянии (в скобках указаны химические сдвиги тетрапептида в растворе воды [17])

Ser, ppm	Phe, ppm	Val, ppm	Gly, ppm	SDS, ppm
α 4.30 (4.40)	α 4.60 (4.72)	α 4.05 (4.07)	α 4.43 (3.69)	H1 0.76
β 3.70 (3.79)	β 3.05 (3.10)	β 1.98 (2.00)	NH 7.73 (7.47)	H(2–10) 1.23
NH 7.45 (8.12)	γ 7.24 (7.29)	γ 1 0.79 (0.92)		H11 1.59
	σ 1 7.24 (7.29)	γ 2 0.79 (0.92)		H12 3.95
	σ 2 7.24 (7.29)	NH 7.63 (8.12)		
	ϵ 1 7.24 (7.29)			
	ϵ 2 7.24 (7.29)			
	k 7.24 (7.29)			
	NH (8.29)			

Сравнивая химические сдвиги тетрапептида в растворе с ДСН (табл. 1) и без ДСН (табл. 1 в скобках) [17], можно видеть изменения в их значениях. Отличие химических сдвигов в данных растворах может быть обусловлено изменением конформации молекулы тетрапептида и образованием комплекса тетрапептид – мицеллы ДСН. Далее, в двумерном ЯМР ^1H NOESY спектре тетрапептида наблюдались кросс-пики того же знака, что и основные сигналы, расположенные вдоль диагонали двумерного спектра (рис. 7, б). Последнее характерно для больших молекул. Все вышеприведенные факты подтверждают образование комплекса тетрапептид – мицеллы на основе додецилсульфат натрия. Нужно обратить особое внимание на существенное изменение химических сдвигов метиленовых протонов GlyNH в растворе с добавлением ДСН и без него, что позволяет сделать предположение о том, что комплексообразование происходит с участием этих протонов.

Описание пространственного строения исследуемого тетрапептида в комплексе декапептид – мицеллы проводили путем определения межпротонных расстояний с помощью двумерной ЯМР NOESY спектроскопии [5, 9], для чего была записана серия спектров ЯМР NOESY (рис. 7, б) с различными временами смешивания: 0.075, 0.100, 0.150, 0.200 и 0.250 с.

Обрабатывали и анализировали интенсивности кросс-пигов в ЯМР NOESY спектрах с использованием методики, изложенной в работе [18]. В качестве примера на рис. 8 приведена зависимость усредненных интегральных относительных интенсивностей кросс-пигов для пар протонов $\text{Phe N}\alpha - \text{Val NH}$ от времени смешивания, угол наклона которой позволяет определять константы скорости кросс-релаксации (σ_{ij}) между соответствующими парами протонов; последние напрямую связаны со значениями расстояний между взаимодействующими протонами (r_{ij}) [9, 18]. Полученные таким образом межпротонные расстояния для тетрапептида $\text{nAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe}$ в растворе $\text{H}_2\text{O} + \text{D}_2\text{O}$ с додецилсульфатом натрия, находящемся в мицеллярном состоянии, приведены в табл. 2.

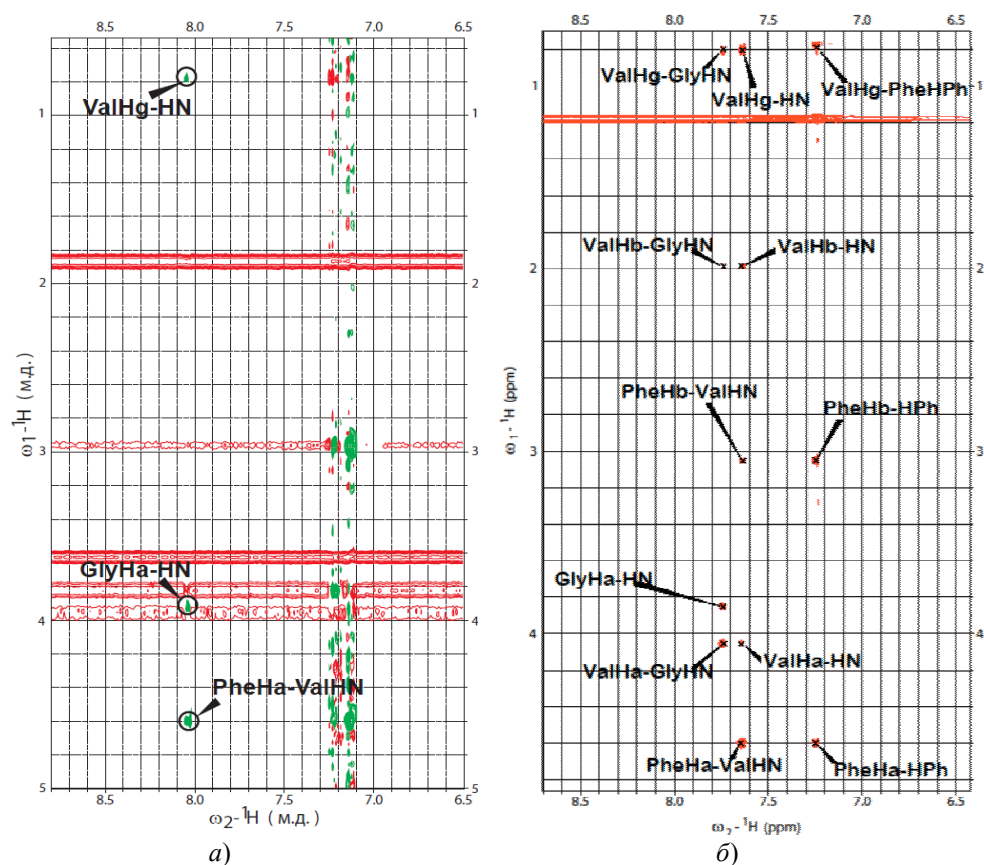


Рис. 7. Двумерные ЯМР NOESY (^1H 500 МГц) спектры тетрапептида $n\text{Ac-Ser-Phe-Val-Gly-Ome}$, растворенного в воде (а) и в смеси $\text{H}_2\text{O} + \text{D}_2\text{O}$ с додецилсульфатом натрия (б), находящимся в мицеллярном состоянии. Время смешивания $\tau_m = 2.5$ с

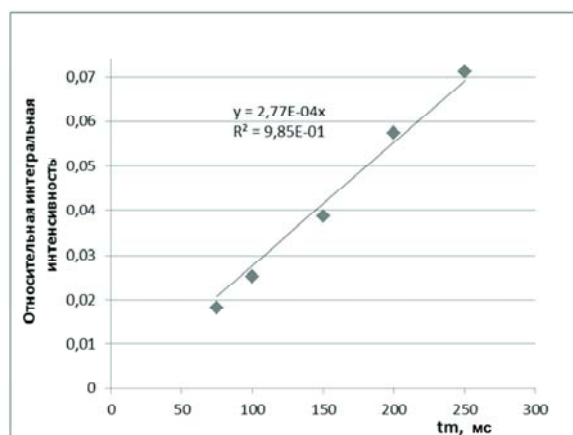


Рис. 8. Зависимость усредненной относительной интегральной интенсивности кросс-пика для пары протонов PheHa – ValHN от времени смешивания

Табл. 2

Межпротонные расстояния для тетрапептида nAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe в растворе H₂O + D₂O с додецилсульфатом натрия, находящемся в мицеллярном состоянии. Звездочкой отмечено калибровочное расстояние

Пара протонов	Межпротонное расстояние r , Å
Gly 5 HA/Gly 5 HN	2.93 ± 0.5
Val 4 HG1#/Gly 5 HN	3.24 ± 0.5
Val 4 HG1#/Val 4 HN	3.14 ± 0.5
Val 4 HB/Gly 5 HN	3.01 ± 0.5
Val 4 HB/Val 4 HN	2.99 ± 0.5
Phe 3 HB/Val 4 HN	3.30 ± 0.5
Phe 3 HA/Phe 4 HN	2.26 ± 0.5
Phe 3 HA/Phe3 HB	2.65^*

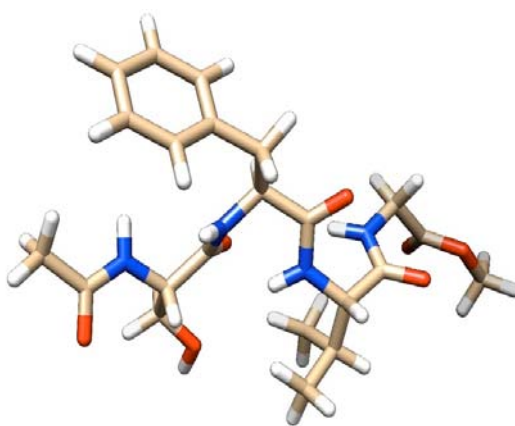


Рис. 9. Конформация тетрапептида nAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe в комплексе с мицеллами додецилсульфата натрия, рассчитанная в программе XPLOR с использованием экспериментально определенных межпротонных расстояний

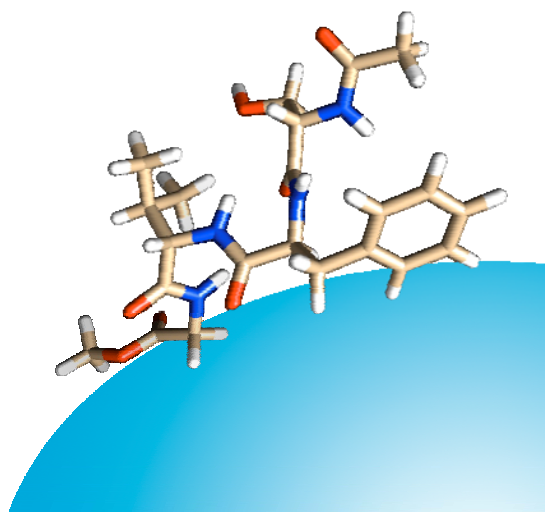


Рис. 10. Модель комплекса: тетрапептид nAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe – мицелла додецилсульфата натрия

Расчеты по программе XPLOR, использующие экспериментальные значения межпротонных расстояний, позволили выбрать единственную энергетически выгодную структуру (рис. 9) для тетрапептида nAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe в комплексе с мицеллами додецилсульфата натрия. Координаты атомов (в pdb-формате) пространственной структуры тетрапептида nAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe можно получить у авторов статьи. На рис. 10 представлена модель комплекса тетрапептид nAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe – мицелла додецилсульфата натрия, построенная на основании изменений химических сдвигов тетрапептида, определенных в растворе с ДСН и без ДСН.

Работа выполнена при поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» Министерства образования и науки РФ и при финансовой поддержке Академии наук РТ (проект № 12-03-97040).

Summary

D.S. Blokhin, M.A. Kulkova, V.V. Klochkov. Methods for the Formation Control of Micellar Systems of Sodium Dodecyl Sulfate in Solution and the Spatial Structure of Tetrapeptide nAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe in a Protein–Micelles Complex According to NMR Spectroscopy.

This paper describes the ways to control the formation of micellar systems of sodium dodecyl sulfate in solution by NMR spectroscopy. The spatial structure of a complex of tetrapeptide (nAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe) with sodium dodecyl sulfate micelles in aqueous solution was studied by ¹H NMR spectroscopy and two-dimensional NMR (TOCSY, NOESY) spectroscopy. The complexation was confirmed by the change in the chemical shifts of the tetrapeptide's ¹H NMR spectra and by the signs and values of the NOEs in the presence of sodium dodecyl sulfate. The spatial structure of the tetrapeptide in the complex was determined by two-dimensional NMR (TOCSY, NOESY) spectroscopy.

Key words: oligopeptide, micelle, ¹H NMR spectroscopy, two-dimensional NMR (TOCSY, NOESY) spectroscopy.

Литература

1. *Boman H.G.* Peptide antibiotics and their role in innate immunity // *Annu. Rev. Immunol.* – 1995. – V. 13. – P. 61–92.
2. *Zasloff M.* Antimicrobial peptides of multicellular organisms // *Nature.* – 2002. – V. 415. – P. 389–395.
3. *Wang Z., Wang G.* APD: the antimicrobial peptide database // *Nucleic Acids Res.* – 2004. – V. 32. – P. 590–592.
4. *Epand R.M., Vogel H.J.* Diversity of antimicrobial peptides and their mechanisms of action // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1999. – V. 1462, No 1–2. – P. 11–28.
5. *Ernst R.R., Bodenhausen B., Wokaun A.* Principles of Nuclear Magnetic Resonance in One and Two Dimensions. – Oxford: Oxford Univ. Press, 1987. – 610 p.
6. *Van de Ven F.J.M., Frank J.M.* Multidimensional NMR in liquids: basic principles and experimental methods. – N. Y.; Toronto: Wiley-VCH, 1995. – 399 p.
7. *Henry G.D., Sykes B.D.* Methods to study membrane protein structure in solution // *Methods Enzymol.* – 1994. – V. 239. – P. 515–535.
8. *Wang G., Keifer P., 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.

9. *Berger S., Braun S.* 200 and More NMR Experiments. – Weinheim: Wiley-VCH, 2004. – 810 p.
10. *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.
11. *Inagaki F., Shimada I., Kawaguchi K., Hirano M., Teresawa I., Ikura T., Go N.* Structure of melittin bound to perdeuterated dodecylphosphocholine micelles as studied by two-dimensional NMR and distance geometry calculations // *Biochemistry.* – 1989. – V. 28, No 14. – P. 5985–5991.
12. *Malikayil J.A., Edwards J.V., McLean L.R.* Micelle-bound conformations of a bombesin/gastrin releasing peptide receptor agonist and an antagonist by two-dimensional NMR and restrained molecular dynamics // *Biochemistry.* – 1992. – V. 31, No 31. – P. 7043–7049.
13. *Al-Soufi W., Piñeiro L., Novo M.* A model for monomer and micellar concentrations in surfactant solutions: Application to conductivity, NMR, diffusion and surface tension data // *J. Colloid Interface Sci.* – 2012. – V. 370, No 1. – P. 102–110.
14. *Klochkov V.V., Baikov R.F., Skirda V.D., Klochkov A.V., Muhamadiev F.R., Baskyr I., Berger S.* Spatial structure of peptides determined by residual dipolar couplings analysis // *Magn. Reson. Chem.* – 2009. – V. 47, No 1. – P. 57–62.
15. *Alba E., Tjandra N.* NMR dipolar couplings for the structure determination of biopolymers in solution // *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* – 2002. – V. 40. – P. 175–197.
16. *Wüthrich K.* NMR of Proteins and Nucleic Acids. – N. Y.: Wiley-VCH, 1986. – 396 p.
17. *Díaz M.D., Berger S.* Preferential solvation of a tetrapeptide by trifluoroethanol as studied by intermolecular NOE // *Magn. Reson. Chem.* – 2001. – V. 39, No 7. – P. 369–373.
18. *Gadiev T.A., Khairutdinov B.I., Antipin I.S., Klochkov V.V.* Analysis of the spatial structure of calixarenes in solutions by 2-D NMR (NOESY) spectroscopy // *Appl. Magn. Reson.* – 2006. – V. 30, No 2. – P. 65–73.

Поступила в редакцию
22.06.12

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

Кулькова Марина Александровна – студент 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