



УДК 577.112

**ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ АПОЛИПОПРОТЕИНА А1 С ФОСФОЛИПИДАМИ  
И СТРУКТУРА СМЕШАННЫХ МИЦЕЛЛ**

© 1998 г. А. Ю. Мишарин

*Институт экспериментальной кардиологии, Российский кардиологический  
научно-производственный комплекс, 121552, Москва, 3-я Черепковская ул., 15А*

Поступила в редакцию 09.12.96 г.

Принята к печати 24.12.97 г.

Рассмотрены особенности молекулы аполипопротеина А1, обеспечивающие образование стабильных мицеллярных комплексов белка с фосфатидилхолином. Проанализированы результаты исследования вторичной структуры и функциональных свойств отдельных участков полипептидной цепи аполипопротеина А1, рассмотрены методы получения дискообразных мицеллярных комплексов аполипопротеина А1 с фосфатидилхолином, характеристики которых приведены. Охарактеризованы поверхностно-активные свойства аполипопротеина А1 в составе мицеллярных комплексов, обсуждены механизмы рекомбинации липидно-белковых мицелл в модельных системах. Представленные в обзоре данные указывают на то, что все известные в настоящее время структурные и функциональные свойства аполипопротеина А1, а также его участие в метаболических и физиологических процессах полностью определяются поверхностно-активными свойствами амфифильных фрагментов конформационно-лабильной полипептидной цепи аполипопротеина А1.

*Ключевые слова: аполипопротеин А1, липидно-белковые взаимодействия; липидно-белковые мицеллярные комплексы.*

**ВВЕДЕНИЕ**

Аполипопротеин А1 (апоА1) – основной белок ЛВП. Его содержание в плазме крови человека составляет около 1.0 мг/мл. Белок синтезируется клетками печени и кишечника. Достоверно показано, что высокий уровень апоА1 в плазме крови снижает риск развития атеросклероза [1–4]. Основными функциями апоА1 в организме являются стабилизация мицеллярных и глобулярных частиц липопротеинов в крови и активация лецитин: холестерин-ацилтрансферазы (ЛХАТ) – ключевого фермента системы обратного транспорта холестерина.

В 1974 г. Сегрестом и соавт. [5] была выдвинута гипотеза, согласно которой взаимодействие аполипопротеинов с липидами определяется наличием уникального элемента вторичной структуры – амфифильной  $\alpha$ -спирали. Впоследствии гипотеза неоднократно модифицировалась. Полипептидная цепь апоА1, по расчетным данным,

содержит 11 амфифильных  $\alpha$ -спиральных участков. Наличие амфифильных  $\alpha$ -спиральных участков характерно для многих белков, взаимодействующих с липидами: аполипопротеинов плазмы крови [5–8], полипептидных гормонов и ядов, трансмембранных белков, многих липаз, гликопротеина вируса иммунодефицита человека [9–12].

Локализация амфифильных участков в полипептидной цепи основывается на закономерностях, установленных при изучении модельных синтетических пептидов, различающихся длиной, гидрофобностью и вариациями аминокислотных остатков в определенных положениях [13–20]. Для образования спиральной структуры длина N-, C-незащищенного пептида должна составлять не менее 18 аминокислот [13–15]. Степень спирализации амфифильного пептида в водных растворах может быть низкой, но увеличивается в присутствии липидов [16–18]. Блокирование N- и C-концов пептида липофильными защитными группами способствует образованию спирали: в присутствии липидов участки спиральной структуры образуют даже некоторые восьмичленные N-, C-защищенные пептиды [18, 19]. Для образования амфифильной  $\alpha$ -спирали достаточно минимального набора из пяти аминокислот (нейтральные и гидрофобные – Ser, Val и Leu; основная – Lys; кислая – Asp) [14]. Помимо водородной связи N...H...O...C между  $i$ -м и  $i + 5$ -м аминокислотными остатками, стабилизирующими каноническую  $\alpha$ -спираль, для стаби-

Сокращения: апоА1 – аполипопротеин А1, ЛВП – липопротеины высокой плотности, РС – фосфатидилхолин, DMPC – димиристоилфосфатидилхолин, DPPC – дипальмитоилфосфатидилхолин, POPC – пальмитоилолеилфосфатидилхолин, ЛХАТ – лецитин:холестерин-ацилтрансфераза, а.о. – аминокислотный остаток. В таблицах для обозначения аминокислот использован однобуквенный код, для синтетических пептидов (18A, LAP и WMAP) сохранены обозначения, использованные в оригинальных работах.

лизации амфифильного участка существенны ионные взаимодействия между  $i$ -м и  $i + 3$ -м (или  $i + 4$ -м) остатком [19].

При изображении амфифильного пептида в проекции “спирального колеса” Шиффера–Эдмонсона гидрофобные и гидрофильные остатки оказываются сгруппированными на противоположных сторонах окружности. Гидрофобность каждого аминокислотного остатка может быть выражена количественно, сумма гидрофобностей каждой пары аминокислотных остатков, соединенных диаметром, является вектором, а векторная сумма всех пар называется гидрофобным моментом  $\langle \mu_H \rangle$  и является важнейшей характеристикой амфифильного спирального участка [21, 22]. Расчет полипептидных  $\alpha$ -спиралей с использованием пяти компьютерных программ [7, 8] позволяет различить семь типов амфифильной  $\alpha$ -спирали: А, Н, L, G, K, С и М. В работах [6, 7, 23] показано, что амфифильные участки аполипопротеинов относятся к типам А и G. Расчет отдельных “кластеров” из положительных, отрицательных или нейтральных аминокислотных остатков на полярной стороне амфифильного участка дал возможность дополнительно усовершенствовать классификацию [6,7], что, по мнению Сегреста и соавт. [6], позволяет предсказать вероятность связывания пептидного фрагмента с липидом.

Гены *apoA1*, *apoA2*, *apoC1*, *apoC2*, *apoC3*, *apoE* состоят из четырех экзонов и трех интронов, структурной единицей экзона 4 является участок, кодирующий 22-аминокислотный амфифильный фрагмент, который определяет взаимодействие аполипопротеина с липидами; в экзоне 3, кодирующем N-концевой фрагмент, локализованы последовательности, соответствующие 11-членным амфифильным участкам [24–28].

АпоА1 является классическим объектом для изучения поверхностно-активных белков. Моделирование отдельных амфифильных участков апоА1 синтетическими пептидами [13–20, 29–32], сравнение апоА1 из разных источников [33, 34], исследование природных и рекомбинантных мутаций [35–37] и совершенствование методов предсказания вторичной структуры [11, 23, 34] позволили представить полипептидную цепь апоА1 как набор близких по свойствам амфифильных  $\alpha$ -спиральных фрагментов, разделенных небольшими участками неупорядоченной структуры.

Моделирование липидно-белковых взаимодействий в природных липопротеинах при помощи искусственных аполипопротеин-фосфолипидных комплексов важно как для структурных исследований липопротеинов, так и для изучения роли липопротеинов в физиологических и метаболических процессах. Значительную часть обзоров, посвященных проблемам липидно-белко-

вых взаимодействий в природных липопротеинах [38–44] или в искусственных аполипопротеин-липидных комплексах [45–47], составляют результаты исследования взаимодействия апоА1 с липидами. Основной целью обзоров [38–47] было сравнение структуры и свойств разных аполипопротеинов, а также их роли в метаболизме и транспорте липидов. Отдельных обзоров, суммирующих исследования взаимодействия апоА1 с фосфолипидами, не публиковалось, хотя большое число экспериментальных статей, посвященных этому вопросу, выходит ежегодно. Хотелось бы, чтобы данная обзорная статья восполнила существующий пробел.

Цель настоящего обзора – рассмотрение экспериментальных работ, опубликованных в основном за последнее десятилетие. В ряде случаев приводятся ссылки на более ранние работы, необходимые для обсуждения. В работе сделана попытка рассмотреть современное состояние данной проблемы и сравнить точки зрения специалистов, работающих в этой области.

## 1. АМФИФИЛЬНЫЕ $\alpha$ -СПИРАЛЬНЫЕ УЧАСТКИ И ВНУТРИМОЛЕКУЛЯРНЫЕ ГИДРОФОБНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В МОЛЕКУЛЕ ДЕЛИПИДИРОВАННОГО апоА1

Молекула апоА1 состоит из одной полипептидной цепи и не содержит остатков цистеина и изолейцина, ковалентно связанных углеводов и простетических групп. На основании первичной последовательности и спектральных данных Нолте и Аткинсон [48] рассчитали, что доля  $\alpha$ -спиральных участков апоА1 составляет 69% (168 а. о.),  $\beta$ -структуры – 9% (23 а. о.), а остальные 21% (52 а. о.) приходится на повороты или неупорядоченную структуру. Расчетными методами [6, 23, 48] показано наличие в молекуле апоА1 восьми (или девяти) 22-членных доменов и трех (или четырех) 11-членных. Спектры КД делипидированного апоА1, согласно которым 50–60% полипептидной цепи организовано в  $\alpha$ -спиральные участки [48–51], подтверждают расчетные данные. Все исследователи сходятся во мнении, что 22-членные амфифильные  $\alpha$ -спиральные фрагменты сгруппированы в центральной и C-концевой части молекулы [52–60], однако предлагают разные структуры для N-концевой части молекулы. По данным Спаркса и соавт. [54, 55], N-концевой фрагмент апоА1 организован в  $\beta$ -структуру, Ионас и соавт. [56, 57, 60] отрицают существование упорядоченных участков в N-концевой части апоА1, а Сегрест и соавт. [6, 23] указали на возможность организации фрагмента апоА1 (8–33) в амфифильную  $\alpha$ -спираль типа G\*, характеризующуюся неупорядоченным распределени-



**Рис. 1.** Первичная последовательность апоА1 плазмы крови человека. Показана локализация амфифильных участков (по данным Сегреста и соавт. [6]) : //// – тип А1, ### – тип G\*, ++++ – тип Y), приведены соответствующие значения (гидрофобный спиральный момент / а. о. ) [61].

ем положительно и отрицательно заряженных остатков на гидрофильной поверхности спирали.

Локализация амфифильных  $\alpha$ -спиральных участков в молекуле апоА1, по данным Сегреста и соавт. [6], и значения  $\langle \mu \text{H} \rangle$  для указанных фрагментов, рассчитанные по методу [61], представлены на рис. 1, модель вторичной структуры апоА1 в комплексе с фосфатидилхолином [54], разработанная в лаборатории Филлипса [54, 55, 62, 63] – на рис. 2. В этой модели апоА1 содержит 10 амфифильных  $\alpha$ -спиральных участков и 2 участка, имеющих  $\beta$ -структуру.

Исследования денатурации апоА1, вызываемой температурой [64], мочевиной или гидрохлоридом гуанидина [51, 65, 66], свидетельствуют о высокой конформационной лабильности молекулы апоА1 в водных растворах. Значение  $\Delta G$  денатурации апоА1 при 37°C (2.4 ккал/моль) мало (для глобулярных белков соответствующие значения  $\Delta G$  лежат в пределах 5–10 ккал/моль [67]). Денатурация апоА1 гидрохлоридом гуанидина в условиях, при которых, по данным КД,  $\alpha$ -спиральная структура полностью исчезает, приводит к сольватации всех гидрофобных участков водой [51]. Добавление к водным растворам апоА1 2-хлорэтанола, 2,2,2-трифторэтанола или глицерина [49, 50, 68, 69] увеличивает степень  $\alpha$ -спирализации белка.

АпоА1 содержит четыре остатка триптофана (8, 50, 72 и 108), причем, по данным Сегреста и соавт. [6], три остатка (50, 72 и 108) находятся на ги-

дрофобной поверхности  $\alpha$ -спиральных амфифильных фрагментов. Мантуллин и соавт. [70], однако, рассчитали, что лишь два остатка – Trp50 и Trp108 – лежат на гидрофобной поверхности амфифильной спирали, а Trp8 и Trp72 локализованы на границе раздела полярной и неполярной поверхностей. По данным Спаркса и соавт. [54, 55], остаток Trp8 расположен в области  $\beta$ -структуры. Ионас и соавт. [71] исследовали денатурацию апоА1 гидрохлоридом гуанидина, наблюдая за сдвигом максимума флуоресценции триптофановых остатков, и нашли, что остатки Trp8, Trp50 и Trp72 переходят из гидрофобного окружения в воду при концентрации гидрохлорида гуанидина меньше 2 М. Это, по мнению авторов, указывает на отсутствие упорядоченных участков вторичной структуры в N-концевой части апоА1.

Положение максимума флуоресценции делипидированного апоА1 (336 нм) свидетельствует о локализации по крайней мере трех триптофановых флуорофоров в гидрофобной области и резко отличается от положения максимума в спектрах коротких амфифильных пептидов. Остаток триптофана, локализованный на гидрофобной поверхности амфифильных пептидов, представляющих собой один амфифильный  $\alpha$ -спиральный участок, сольватирован водой. В работах [72, 73] проведено сравнительное изучение сольватации 2-хлорэтанола триптофановых остатков в молекулах апоА1 и 20-членного синтетического пептида LAP-20, VSSLLSSLKEYWSSLKESFS, ко-

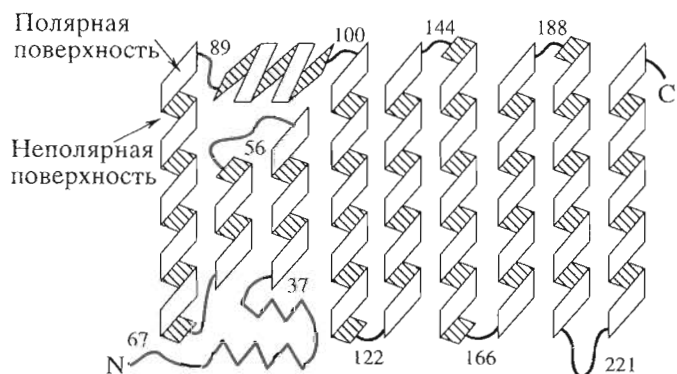


Рис. 2. Вторичная структура апоА1 плазмы крови человека в присутствии фосфатидилхолина (по данным Спаркса и соавт. [54]).

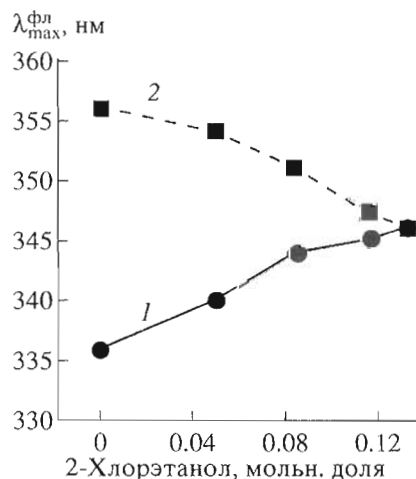
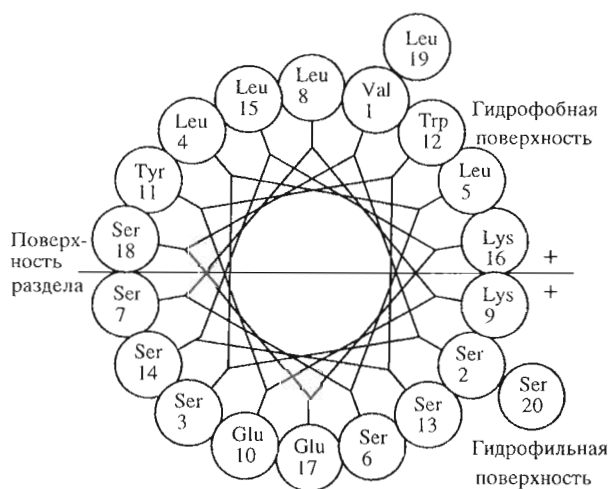


Рис. 3. (а) – LAP-20 в проекции “спирального колеса” Шиффера–Эдмонсона; (б) – зависимость положения максимумов флуоресценции апоА1 (1) и LAP-20 (2) от концентрации 2-хлорэтанола в буфере (рН 7.0) (по данным [72, 73]).

торый моделирует один амфифильный  $\alpha$ -спиральный участок [74–76] (рис. 3). По интенсивности флуоресценции при разных длинах волн можно судить о структурных переходах в молекулах полипептидов при изменении состава растворителя [77]. Линейная зависимость спектральных изменений LAP-20 от содержания 2-хлорэтанола свидетельствовала об отсутствии структурного перехода, а нелинейная зависимость в случае апоА1 – о его наличии [72, 73].

Химическая модификация лизиновых остатков широко используется в структурных исследованиях апоА1 [78]. Восстановительное метилирование лизиновых остатков апоА1 позволило получить препараты апоА1, содержащие [ $^{13}\text{C}$ ]метил- и [ $^{14}\text{C}$ ]метилмеченые лизиновые остатки. Исследование Спаркса и соавт. [54, 55], проведенное методом  $^{13}\text{C}$ -ЯМР, в частности, показало, что лизиновые остатки апоА1 можно разделить по крайней мере на шесть групп, различающихся по значению рК, причем лизиновые остатки N-концевой части наиболее конформационно свободны. Изучение связывания [ $^{14}\text{C}$ ]метил-апоА1 с липидным монослоем на поверхности раздела вода–воздух [79–83] показало, что площадь, занимаемая одной молекулой апоА1, зависит от поверхностного давления. Это указывает на возможность вытеснения амфифильных фрагментов апоА1 с поверхности раздела, а также не исключает образования белок-белковых гидрофобных складок. Метилирование [54, 55, 79–84] или дансильрование лизиновых остатков [85, 86] не влияет на спектры КД апоА1 в области пептидной полосы, на взаимодействие с фосфатидилхолином и на активацию аполипопротеином ЛХАТ.

Модификация лизиновых остатков стабильным радикалом 2,2,6,6-тетраметилпиперидинил-1-оксил-4-(2,4-дихлор-1,3,5-триазин-6-ил)-амином при рН 9.8 привела к препарату, содержащему 7 спиновых меток на молекулу апоА1 [87, 88]. Спектры ЭПР спин-меченого апоА1 в воде (рис. 4а, б, спектр 1) указывали на взаимодействие парамагнитных центров, локализованных в одной молекуле белка, спектры ЭПР в водных растворах 2-хлорэтанола (рис. 4а, б, спектр 2) демонстрировали отсутствие таких взаимодействий. Сравнение спектральных изменений, вызываемых 2-хлорэтанолом, с влиянием денатурирующих реагентов и различной ионной силы показало, что нет однозначной корреляции между степенью  $\alpha$ -спиральности и параметрами, характеризующими сближенность парамагнитных центров в молекуле спин-меченого апоА1. И 2-хлорэтанол, и высокие концентрации электролитов увеличивали  $\alpha$ -спиральность полипептидной цепи апоА1, однако их влияние на параметры спектров ЭПР было разным [88]. Отсутствие диполь-дипольного и спин-спинового обменного взаимодействия в спектрах

ЭПР спин-меченного апоА1 при высоких концентрациях 2-хлорэтанола указывало на то, что в этих условиях молекула апоА1 находится в полностью “развернутой” конформации (рис. 4в).

Как известно, расчетные методы не указывают на наличие в молекуле апоА1 протяженных гидрофобных участков, характерных для трансмембранных белков. Следовательно, в водных растворах гидрофобные контакты образованы неполярными поверхностями амфифильных  $\alpha$ -спиральных участков. Очевидно, что гидрофобный контакт между фрагментами одной полипептидной цепи приводит к образованию складок и петель, а контакт между фрагментами двух полипептидных цепей – к самоассоциации апоА1 в водных растворах [89, 90]. Исходя из того что значения  $\langle \mu_H \rangle$  для всех 11  $\alpha$ -спиральных участков молекулы апоА1 достаточно близки ( $0.23 < \langle \mu_H \rangle < 0.51$ , см. выше), вряд ли можно предполагать, что какие-то определенные фрагменты ответственны за образование гидрофобного белок-белкового контакта, а какие-то – за взаимодействие с липидами в составе ЛВП или мицеллярного комплекса апоА1-фосфатидилхолин [72, 87, 88].

## II. ОБРАЗОВАНИЕ КОМПЛЕКСОВ апоА1 С ФОСФАТИДИЛХОЛИНОМ

Мицеллярные комплексы не образуются при инкубации высушенного фосфатидилхолина с водным раствором аполипопротеина или амфифильного пептида. Проблемы в получении стабильных мицеллярных комплексов аполипопротеинов с фосфатидилхолинами объясняются низкой растворимостью фосфолипидов в воде. Для того чтобы получить мицеллярные структуры из фосфолипидов и аполипопротеинов, близкие по составу и размерам к природным липопротеинам, необходимо затратить дополнительную энергию на разрушение крупных бислоевых липидных агрегатов до малых мицелл. Три разных подхода к получению мицеллярных комплексов апоА1 с фосфатидилхолином схематически представлены на рис. 5а–5в.

**Метод 1** – ультразвуковая обработка дисперсии фосфатидилхолина с образованием моноламеллярных везикул и последующая фрагментация везикул молекулами аполипопротеина с образованием смешанных липидно-белковых мицелл. Согласно данным многочисленных публикаций [45, 85, 91–97], образование мицеллярных комплексов апоА1-фосфатидилхолин является сложным процессом (рис. 5а).

В одной из ранних работ Сегрест [98] на основании геометрических представлений постулировал, что комплекс аполипопротеина с фосфатидилхолином не может быть сферической мицеллой. Некоторые авторы [99–101], изучая

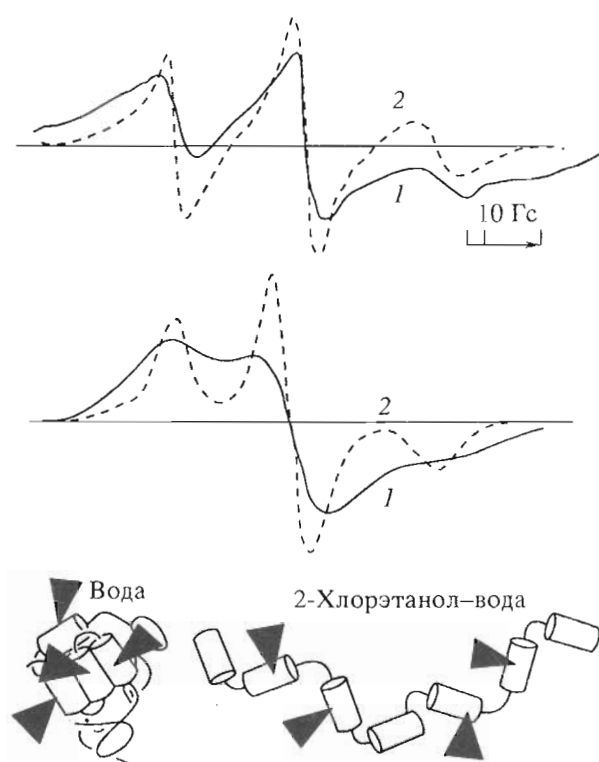
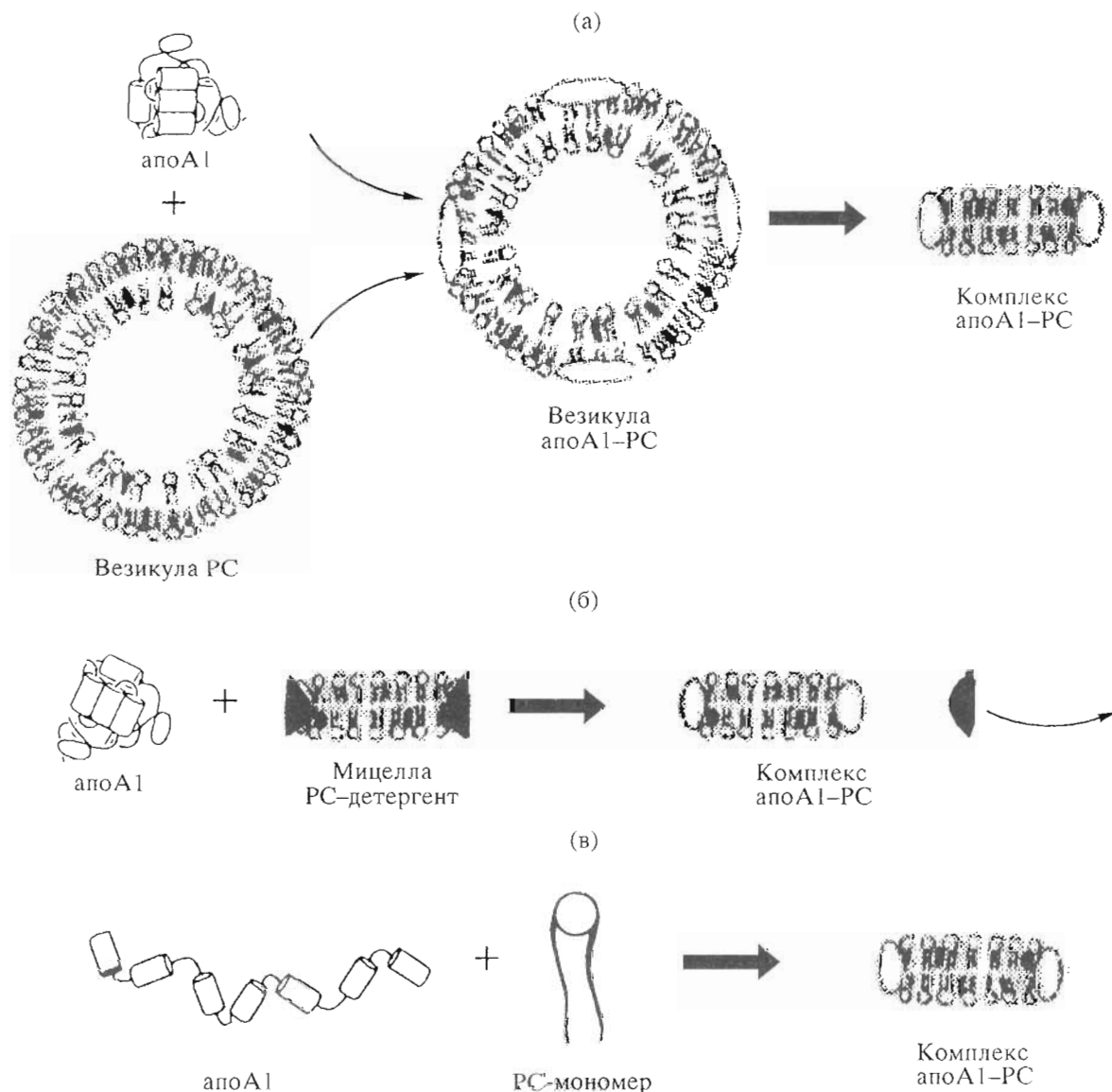


Рис. 4. Влияние 2-хлорэтанола на взаимодействия между парамагнитными центрами в молекуле спин-меченного апоА1 (по данным [87, 88]): спектры ЭПР спин-меченного апоА1 в воде (1) и 50% водном 2-хлорэтаноле (2) при 26°C (а), “порошковые” спектры при 77К (б): отношение  $d_1/d_2$  0.76 и 0.44 для спектров 1 и 2 соответственно [87]; (в) – схема, иллюстрирующая влияние 2-хлорэтанола на конформацию апоА1.

связывание апоА1 с везикулами DMPC при молярном соотношении компонентов 1 : 300 – 1 : 500, идентифицировали везикулярные комплексы. По данным  $^1\text{H}$ -ЯМР [102], в этих условиях в инкубационной смеси присутствовали как везикулы (возможно, не содержащие белка), так и смешанные бислоевые мицеллы. Позднее, Ибдах и соавт. [103] нашли условия, в которых везикулярные комплексы апоА1 с фосфатидилхолином могут быть выделены хроматографически.

Взаимодействие апоА1 с фосфолипидными везикулами принципиально отличается от адсорбции апоА1 на гидрофобной поверхности. Связывание апоА1 со стеклянными микросферами, покрытыми гидрофобным силиконовым полимером, было равновесным ( $\Delta G$  –9.1 ккал/моль апоА1) и подчинялось уравнению Лэнгмюра [104]. Взаимодействие апоА1 с моноламеллярными везикулами DMPC неравновесно и не может выражаться константой диссоциации комплекса [51]. Фазовый переход гель – жидкий кристалл, сопровождающийся значительным изменением молекулярного объема фосфатидилхолина, приводит к нарушениям упаковки бислоя, что способствует



**Рис. 5.** Методы образования дискообразных мицелл апоА1 с фосфатидилхолином: (а) – метод 1 (фрагментация фосфолипидных везикул молекулой аполипопротеина); (б) – метод 2 (взаимодействие смешанных мицелл фосфатидилхолин–детергент с аполипопротеином при одновременном удалении детергента); (в) – метод 3 (агрегация фосфолипидов в присутствии аполипопротеина из водно-органического раствора при повышении содержания воды).

связыванию молекулы белка и фрагментации везикулы. При добавлении апоА1 к везикулам DMPC скорость разрыва везикул, регистрируемая по светорассеянию, возрастает в 500–1000 раз (при температуре фазового перехода липида (23.9°C) по сравнению с 20 или 30°C) [92].

При взаимодействии апоА1 с везикулами фосфатидилхолина можно выделить по крайней мере три стадии, скорости которых существенно различаются: 1) быстрое “слабое связывание” с сохранением везикулы; 2) деградация везикул и образование гетерогенных по размеру мицеллярных структур; 3) медленная рекомбинация образовавшихся мицелл, приводящая к набору

мицелл, средние размеры которых определяются природой фосфатидилхолина и стехиометрическим отношением апоА1–фосфатидилхолин. Доннован и соавт. [105], исследуя рекомбинацию мицелл апоА1–DMPC методом малоуглового рентгеновского рассеяния, показали, что скорость рекомбинации мала даже при температуре фазового перехода DMPC и мицеллы апоА1–DMPC изменяют свои размеры в течение суток при 24°C.

**Метод 2** – солубилизация фосфатидилхолина детергентом с образованием смешанных мицелл фосфатидилхолин–детергент, инкубация полученных мицелл с аполипопротеином при одно-

временном удалении детергента диализом [106] (или, в случае использования в качестве детергента солей желчных кислот, сорбцией аниона желчной кислоты гидрофобным слабым ионообменником [107]) (рис. 5б).

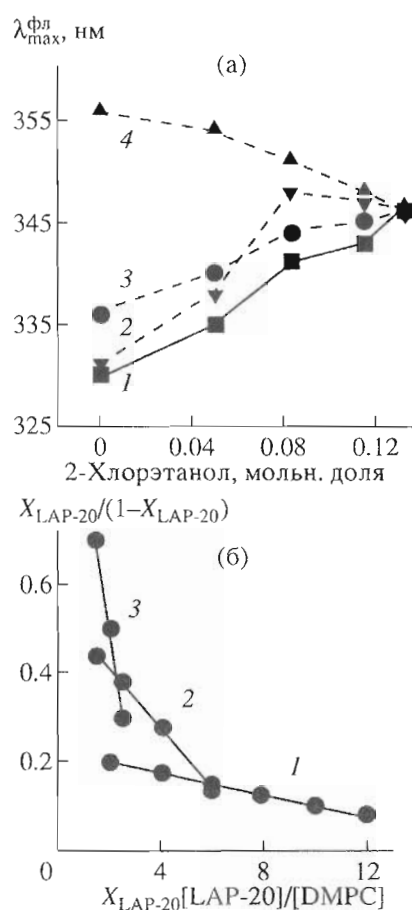
Многие работы [46, 55, 56, 60, 71, 97, 106–110] посвящены поиску оптимальных условий для получения комплексов апоА1 с различными фосфатидилхолинами и выбору структуры используемых детергентов. Интересный вывод можно сделать, сравнивая размеры и состав исходных детергент-фосфолипидных мицелл [106, 111, 112] и двухкомпонентных комплексов апоА1–фосфолипид, полученных после удаления детергента. Оказывается, что дискообразная форма мицеллы не меняется, причем среднее число молекул фосфатидилхолина в частице сохраняет тот же порядок. По-видимому, в оптимальных условиях комплексобразования, обеспечивающих максимальный выход белково-липидных мицеллярных комплексов, бислоем в мицелле не претерпевает существенных структурных перестроек. При этом образование комплекса, вероятно, является результатом замещения детергента, удаляемого диализом, аполипопротеином.

**Метод 3** – агрегация фосфолипидов с аполипопротеином из водно-органического раствора [68, 69, 72, 113]. В этом способе фосфолипид и аполипопротеин растворяют в подходящей смеси растворителей (2-хлорэтанол–вода или 2,2,2-трифторэтанол–вода), затем концентрацию органического растворителя снижают разбавлением смеси водой, диализом против воды или гель-фильтрацией в водном буфере, что приводит к образованию смешанных мицеллярных агрегатов (рис. 5в). Только при последнем подходе удается непосредственно следить за процессом комплексобразования апоА1, а также амфифильных пептидов с фосфатидилхолином спектральными методами [72, 73].

Титрование водой смешанного раствора LАP-20 или апоА1 и DMPC в водном 2-хлорэтаноле (при мольной доле последнего < 0.1) позволяет наблюдать образование белково-липидного комплекса по коротковолновому сдвигу максимума триптофановой флуоресценции (рис. 6а). В случае LАP-20, содержащего один остаток триптофана, можно рассчитать мольную долю пептида в составе комплекса с DMPC ( $X_{LAP-20}$ ) по формуле [73]

$$X_{LAP-20} = \frac{\lambda_1 - \lambda_2}{\lambda_1 - 330},$$

где  $\lambda_1$  – положение максимума флуоресценции LАP-20 при определенной концентрации 2-хлорэтанола,  $\lambda_2$  – то же в присутствии DMPC, 330 (нм) – положение максимума флуоресценции комплекса LАP-20 – DMPC в воде.



**Рис. 6.** Связывание апоА1 и LАP-20 с DMPC в водном 2-хлорэтаноле (по данным [72, 73]). (а) – зависимость максимума флуоресценции от концентрации 2-хлорэтанола: 1 – смесь апоА1–DMPC (1 : 100 моль/моль), 2 – смесь LАP-20–DMPC (1:100 моль/моль), 3 – апоА1, 4 – LАP-20. Аналогичные зависимости, полученные при разном молярном соотношении LАP-20 : DMPC (не приведены), позволяют рассчитать долю LАP-20 в комплексе с DMPC ( $X_{LAP-20}$ ); (б) – график Скэтчарда, показывающий содержание комплекса LАP-20 – DMPC при разных концентрациях DMPC и 2-хлорэтанола: при мольной доле 2-хлорэтанола 0.080 (1); 0.069 (2); 0.053 (3).

При одном и том же отношении LАP-20/DMPC концентрация комплекса тем выше, чем ниже содержание 2-хлорэтанола [73]. Из графика Скэтчарда (рис. 6б) следует, что концентрация комплекса LАP-20 – DMPC зависит от содержания DMPC в агрегатах (мицеллах), а не от общей концентрации липида. Это позволяет представить комплексобразование как увеличение содержания LАP-20 на границе раздела фаз липидная мицелла/вода – другими словами, как адсорбцию пептида на мицеллах DMPC.

Изучая взаимодействия пептидов серии WMAP с везикулами DMPC в воде методом тушения флуоресценции, МакЛин и соавт. [114] при-

**Таблица 1.** Изменение спектральных характеристик синтетических амфифильных пептидов при связывании с DMPC

Пептид	Последовательность	$\lambda_{\text{max}}^{\text{фл}}$ , нм		$\alpha$ -Спиральность, %		Литература
		-DMPC	+DMPC	-DMPC	+DMPC	
18A	DWLKAFYDKVAEKLKEAF	361	352	15	30	[17, 116]
18A-Pro-18A	DWLKAFYDKVAEKLKEAFP-DWLKAFYDKVAEKLKEAF	358	350	49	53	[17, 116]
18R	KWLDAFYKDVAKLEKAF	361	361	11	12	[17, 116]
des-Val <sup>10</sup> -18A	DWLKAFYDK-AEKLKEKF	362	362	12	20	[17, 116]
18Aa	AAADWLKAFYDKVAEKLKEAFAAA	352	333	9	46	[13]
18As	SSADWLKAFYDKVAEKLKEAFSSS	348	356	50	74	[13]
LAP-24	VSSLLSSLSSLKEYWSSLKESFS	350	338	0	82	[14]
LAP-20	VSSLLSSLKEYWSSLKEFSF	350	334	0	50	[14]
LAP-16	VSSLKEYWSSLKESFS	350	350	0	0	[14]
WMAP-18	suc-KLLEKLKELLEKLEWLK-CONH <sub>2</sub>	345	338	63	78	[19]
WMAP-10	suc-LLEKLEWLK-CONH <sub>2</sub>	346	338	8	28	[19]
WMAP-8	suc-EKLEWLK-CONH <sub>2</sub>	350	350	0	0	[19]

шли к выводу, что взаимодействие не может быть описано моделью двух состояний, поскольку в водной среде для не связанного с липидом пептида возможны как спиральная, так и неупорядоченная конформации. Позднее [115] те же авторы, смешивая пептиды серии WMAP с DMPC в присутствии 2,2,2-трифторэтанола, объяснили образование мицеллярного комплекса влиянием 2,2,2-трифторэтанола на самоассоциацию пептида, однако не привели данных о влиянии растворителя на степень ассоциации фосфатидилхолина.

В отличие от LAP-20, для которого в присутствии DMPC при данном содержании 2-хлорэтанола возможны два состояния – свободное и связанное, для апоА1 существует вероятность связывания с поверхностью мицеллы посредством различного числа амфифильных участков. Образование комплекса апоА1–DMPC происходит синфазно с агрегацией DMPC (рис. 6а). Аналогичный вывод был сделан [69] при оценке агрегации липидов в смеси вода – 2-хлорэтанол по спектру ЭПР спин-меченого фосфатидилхолина. Очевидно, для апоА1 существует набор конформаций, реализуемых в составе мицеллярного комплекса с DMPC.

### III. МИЦЕЛЛЯРНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ФОСФАТИДИЛХОЛИНА С КОРОТКИМИ АМФИФИЛЬНЫМИ ПЕПТИДАМИ

Исследования, проведенные с использованием синтетических модельных амфифильных пептидов или фрагментов природных аполипопротеинов, позволили сформулировать требования, которым должна удовлетворять аминокислотная последовательность для образования амфифиль-

ной  $\alpha$ -спирали, и продемонстрировали возможность связывания коротких амфифильных пептидов с липидами (обзоры 14, 16, 17, 20]). В большинстве работ сравнивали синтетические пептиды различной последовательности, длины и гидрофобности, оценивая изменения их спектральных характеристик (КД, флуоресценция) в водных растворах и в присутствии DMPC (табл. 1). Естественно, что эти изменения указывают лишь на сам факт комплексообразования, но не дают информации о структуре образовавшихся агрегатов.

Амфифильные пептиды серий 18A [13, 31, 32, 116–118], LAP [30, 73, 74, 119], WMAP [18, 19, 114, 115] и синтетические фрагменты апоА1 [20, 120, 121] образуют дискообразные смешанные мицеллы при инкубации с DMPC при температуре его фазового перехода. Однако комплексообразование пептидов с DMPC обычно изучали в присутствии избытка липида, а электронные микрофотографии пептидно-липидных мицелл получали в присутствии избытка пептида. Используя известную эмпирическую формулу [66], связывающую размеры дискообразной мицеллы и весовые отношения липида и амфифильного белка или пептида в смешанной мицелле,

$$D = 1.34 L/P + 2t$$

( $D$  – диаметр частиц,  $L/P$  – соотношение липид/белок,  $t$  – диаметр  $\alpha$ -спирального участка), можно рассчитать, что в состав дискообразного мицеллярного комплекса с DMPC включалось не более 30% амфифильного пептида (серии 18A), присутствующего в смеси. Очевидно, что в случае образования дискообразной пептидно-липидной ми-



целлы периметр диска должен быть насыщен адсорбированным пептидом, находящимся в равновесии с диссоциированным. Дискообразные мицеллы фосфатидилхолина с короткими амфифильными пептидами в отличие от комплексов фосфатидилхолина с природными аполипопротеинами не имели определенного стехиометрического состава. Некоторыми авторами [19, 76, 114, 122] было показано, что комплексы DMPC с короткими пептидами в отличие от комплексов апоА1–DMPC нестабильны в условиях гель-хроматографии. Оценка сродства амфифильного пептида к липиду в водной среде при помощи равновесной константы диссоциации (или по конкуренции с другой амфифильной молекулой) неправомочна, так как само существование дискообразных мицелл невозможно в отсутствие амфифильных молекул.

На основании исследования взаимодействия DMPC с пептидами серии 18А, различающимися распределением положительно и отрицательно заряженных аминокислот, Сегрестом и соавт. [6, 7] была предложена так называемая шноркельная модель упаковки амфифильного пептида в фосфолипидном слое ("snorkel hypothesis"). Согласно данной гипотезе, для оптимального связывания с фосфолипидом необходимо не только взаимодействие гидрофобных остатков пептида с ацильными цепями фосфатидилхолина, но и электростатическое взаимодействие полярных аминокислотных остатков с фосфохолиновым фрагментом липида (рис. 7). Можно отметить, что роль полярных взаимодействий в связывании аполипопротеинов с фосфолипидами обсуждалась еще в конце 70-х годов [123, 124], однако прямых экспериментальных подтверждений этому до сих пор не получено. В модели [6, 7] именно взаимодействием лизиновых остатков с фосфохолиновой группой объясняется оптимальная ориентация амфифильного пептида в липидном бислое при образовании комплекса. Но, как цитировалось выше, модификация лизиновых остатков апоА1 не влияет на связывание с фосфатидилхолином. Кроме того, Рейнго и соавт. [102] показали, что предпочтительная конформация полярной группы фосфатидилхолина в гидратированных фосфолипидных бислоях (синклиальная ориентация холиновой группы и антиперипланарная – С-С-О-Р- и Р-О-С-С-связей [125–128]) не изменяется в присутствии амфифильных белков и пептидов.

#### IV. РАЗМЕРЫ ДИСКООБРАЗНЫХ МИЦЕЛЛ И ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫЕ СВОЙСТВА апоА1

В настоящее время методы характеристики аполипопротеин-фосфолипидных комплексов хорошо разработаны, а данные, получаемые в различных лабораториях, как правило, согласуются

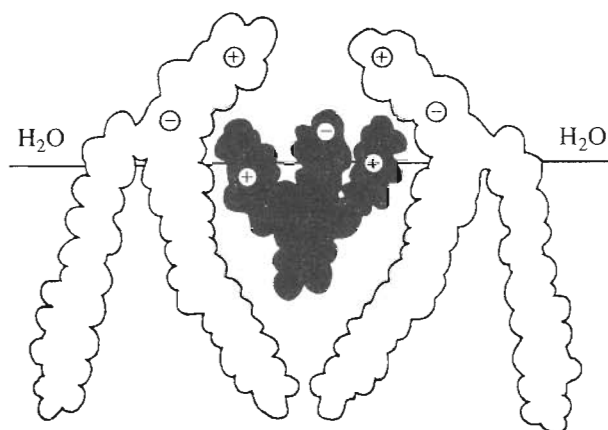


Рис. 7. Шноркельная модель упаковки амфифильного пептида в фосфолипидном слое (по данным [6, 7]).

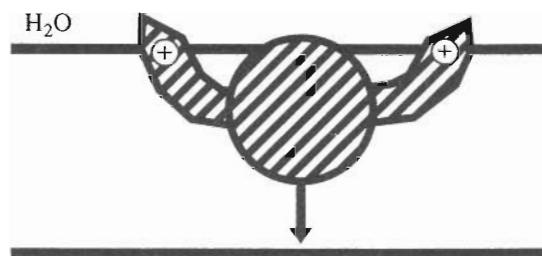


Рис. 8. Связывание амфифильного участка белка с липидным бислоем в модели [5–7]: круг представляет собой сечение  $\alpha$ -спирали, лизиновые "кластеры" обеспечивают перпендикулярную ориентацию гидрофобного момента ( $\mu$ ) (стрелка) относительно липидной поверхности.

между собой. В отличие от комплексов фосфатидилхолинов с короткими амфифильными пептидами дискообразные мицеллы апоА1–фосфатидилхолин, различающиеся стехиометрическим составом и размерами, могут быть выделены в виде гомогенных дискретных фракций. АпоА1 способен образовывать стабильные дискообразные комплексы разного размера и разного стехиометрического состава с одним и тем же индивидуальным фосфолипидом. Почему апоА1 способен стабилизировать дискообразные мицеллы, значительно различающиеся размером? Чем различаются липидно-белковые взаимодействия в составе мицелл различного размера? Несмотря на большое количество исследований в этой области, окончательного ответа на эти вопросы в настоящее время нет, а выводы, встречающиеся в публикациях, часто субъективны.

В упоминаемых выше моделях [5–7], описывающих связывание амфифильного белка с фосфатидилхолином, не учитывается вода, окружающая липидно-белковую мицеллу и в конечном счете заставляющая эту мицеллу существовать.

Таблица 2. Характеристика мицеллярных комплексов апоА1 – фосфатидилхолин

РС	Отношение РС : апоА1, моль/моль	Число молекул апоА1 в частице <i>n</i>	Диаметр, нм	Литература	Рассчитанные значения	
					$S_{A1}$ , нм <sup>2</sup>	<i>l</i> , нм
РС яичного желтка	85	2.5	10.6	[71, 122, 130]	1.24	1.2
	118	3.9	15.0	[130]	1.39	1.4
	163	5.4	20.2	[130]	1.65	1.6
	189	8.2	26.4	[130]	1.74	1.5
	20	2.0	7.2	[122]	0.85	1.8
	40	2.0	7.8	[122]	0.93	1.4
POPC	25	2.0	7.8	[71]	0.97	1.6
	85	2.0	9.6	[71]	1.32	1.2
	32	2.0	9.3	[55, 56]	1.28	2.4
	65	2.0	9.9	[55, 56]	1.41	1.6
	80	2.0	11.2	[55, 56]	1.68	1.4
	132	2.0	12.1	[55, 56]	1.88	1.2
DMPC	20	4.4	10.6	[129]	0.66	2.6
	40	3.7	10.8	[129]	0.90	1.7
	100	2.3	11.0	[129]	1.49	1.2
	250	4.7	20.0	[129]	1.92	1.0
DPPC	70	2.5	9.6	[131]	1.47	1.3
	104	1.8	11.0	[131]	2.03	1.3
	144	2.8	12.6	[131]	2.30	1.1
	264	3.3	16.8	[131]	2.13	1.2

Кроме того, образование контакта между гидрофобными остатками пептида и жирнокислотными остатками фосфатидилхолина, описываемое в рамках этих моделей, само по себе не вызывает формирования мицеллы. В самом деле, если расположить несколько амфифильных доменов на поверхности липида, как предлагается в работах [6, 7, 23], то суммарный гидрофобный момент, как сумма параллельных векторов  $\langle \mu \mathbf{N} \rangle$ , будет всегда направлен перпендикулярно плоскости липидного слоя (рис. 8). Для того чтобы его скомпенсировать, единственной возможностью является связывание амфифильных пептидов с обратной стороны слоя, т. е. образование протяженных плоских липидных бислоев с вкраплениями амфифильных молекул, а не дискообразных мицелл с белком, локализованным на боковой поверхности цилиндра. Другими словами, из модели [5–7] не следует, что мицелла должна иметь форму диска. Однако существование дискообразной мицеллы – экспериментальный факт. Для стабильной мицеллы суммарный гидрофобный момент всегда равен нулю, что может быть только в случае взаимной компенсации гидрофобных моментов всех компонентов мицеллы. А это означает, что параметры, характеризующие взаимное расположение амфифильных фрагментов белка на боковой

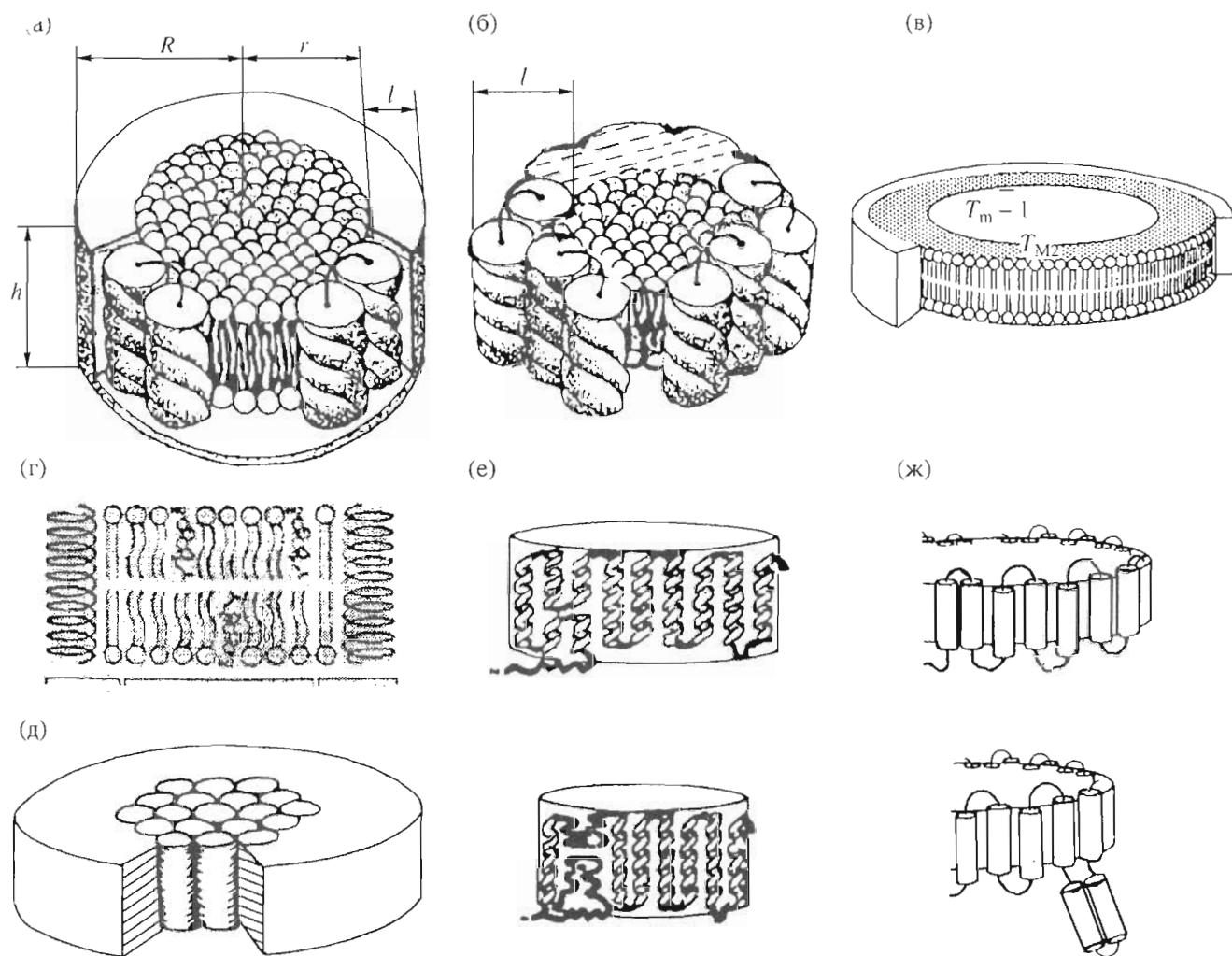
поверхности диска и кривизну боковой поверхности смешанной мицеллы, необходимо вводить в данную модель из независимого эксперимента. По-видимому, в качестве такого параметра можно использовать геометрические характеристики дискообразной мицеллы [129].

В табл. 2 представлены данные по стехиометрическому составу и размерам двухкомпонентных дискообразных мицеллярных комплексов апоА1 с фосфолипидами, полученные разными авторами. Диаметр диска варьирует от 7.2 до 25 нм, толщина составляет 3.8–5.5 нм и соответствует толщине гидратированного липидного бислоя; по данным электронной микроскопии, диски ассоциированы в протяженные стопки. Количество молекул аполипопротеина в частице рассчитано из стехиометрического состава или определено по методу [78]. Из данных табл. 2 можно сделать интересное заключение о поверхностно-активных свойствах апоА1 и участии белка в стабилизации смешанной мицеллы.

Площадь полной поверхности мицеллы  $S$  (рис. 9а) рассчитывается по формуле

$$S = 2\pi R(R + h),$$

где  $R$  – радиус,  $h$  – толщина диска.



**Рис. 9.** Дискообразная мицелла апоА1-фосфатидилхолин: (а) – комплекс апоА1-фосфатидилхолин (показаны геометрические параметры мицеллы по данным [87, 129]); (б) – малый комплекс апоА1-фосфатидилхолин (показана утолщенная белковая оболочка и белок-белковые гидрофобные складки в составе мицеллы, см. текст); (в) – два состояния фосфатидилхолина в комплексе апоА1-DMPC (по данным [117]: пограничный слой и внутренний цилиндр имеют различные значения теплоты фазового перехода  $T_m - 1$  и  $T_m - 2$ ); (г) – распределение холестерина в фосфолипидном компоненте дискообразной мицеллы; скорость десорбции холестерина из центральной части мицеллы меньше, чем из пограничного слоя [132]; (д) – “гипотетическая” малая мицелла апоА1-POPC (2:38); молекула фосфатидилхолина изображена в виде цилиндра; (е) – конформация апоА1 в составе “большого” и “малого” комплекса по данным Спаркса и соавт. [54]; показаны различия в конформации N-концевого фрагмента; (ж) – конформация апоА1 в составе “большого” и “малого” комплекса по данным Сегреста и соавт. [133,134]; показана часть дискообразной мицеллы, отличающаяся конформацией “шарнирного домена”.

Если каждая дискообразная мицелла содержит  $n$  молекул апоА1, то на одну молекулу апоА1 в составе мицеллы приходится поверхность, равная  $S_{A1}$ :

$$S_{A1} = S/n = 2\pi R(R + h)/n.$$

Поверхность связана со значением максимальной полезной работы детергента  $A_{max}$  известным соотношением

$$A_{max} = \sigma S$$

( $\sigma$  – коэффициент поверхностного натяжения), следовательно, параметр  $S_{A1}$  пропорционален

вкладу одной молекулы апоА1 в стабилизацию мицеллы. Такое представление не требует знания локализации белка в составе мицеллы, потому что учитывается только полная поверхность мицеллы: гидрофильные участки аполипопротеина и полярные группы фосфолипидов образуют одну общую поверхность  $S$ , являющуюся границей раздела вода-мицелла. Рассчитанные значения параметра  $S_{A1}$  введены в табл. 2. Видно, что значение параметра  $S_{A1}$  не является постоянной величиной, растет с увеличением размера комплекса и содержания липида. Следовательно, в боль-

ших комплексах каждая молекула apoA1 совершает большую работу по стабилизации поверхности и более растянута, чем в малых (рис. 9б).

Аналогичный вывод о поверхностно-активных свойствах apoA1 можно сделать, если использовать данные табл. 2 и результаты изучения локализации apoA1 в составе дискообразной мицеллы. Еще в классических исследованиях Аткинсона и соавт. [91, 135–137] методом малоуглового рентгеновского рассеяния было показано, что в дискообразных комплексах аполипопротеин расположен на периферии диска. Вопрос об ориентации пептидных фрагментов в комплексе неоднократно обсуждался в обзорной литературе [38, 40, 46, 47, 97]. Наиболее распространенная точка зрения – расположение амфифильных фрагментов белка параллельно ацильным цепям фосфатидилхолина – была подтверждена методом ИК-спектроскопии [59, 138]. Следовательно, можно оценить кажущуюся толщину белковой оболочки  $l$  в смешанной дискообразной мицелле с радиусом  $R$ , содержащей  $m$  молекул фосфатидилхолина (рис. 9а), по формуле

$$l = R - r = R - (am/2\pi)^{1/2}$$

( $R$  – радиус мицеллы,  $r$  – радиус внутреннего цилиндра, заполненного липидом,  $a$  – площадь поверхности, занимаемая “полярной головкой” одной молекулы фосфатидилхолина,  $m$  – число молекул фосфатидилхолина в мицелле), если: 1) считать цилиндры с радиусами  $R$  и  $r$  гладкими, 2) считать, что величина  $a$  для фосфатидилхолина, контактирующего или не контактирующего с белком, имеет одно и то же значение для липидов в составе больших и малых комплексов. Подставляя значение  $a$ , равное  $50 \text{ \AA}^2$  (среднее для площади, занимаемой “полярной головкой” одной молекулы фосфатидилхолина в гидратированных бислоях в жидкокристаллической фазе [127]), получаем кажущееся значение  $l$  для комплексов apoA1–фосфатидилхолин (табл. 2). Из табл. 2 следует, что в больших комплексах толщина белковой оболочки  $l$  примерно соответствует диаметру  $\alpha$ -спирали (1.2 нм), однако в малых комплексах величина  $l$  значительно больше.

Калориметрические исследования комплексов DMPC с синтетическими амфифильными пептидами, проведенные в лаборатории Сегреста [117], показали наличие двух состояний молекул DMPC в составе диска, что привело к модели “annular disc”, показанной на рис. 9в. Гидрофобный контакт ацильных цепей фосфатидилхолина с такими же остатками соседней молекулы фосфатидилхолина должен быть прочнее, чем контакт с гидрофобными остатками белка или пептида. Исследование [139] японских ученых, изучавших кооперативность адсорбции липидов на поверхности раздела фаз физиологический раствор–триолеин, показало, что связывание apoA1 (плазмы

крови свиньи) с фосфатидилхолином сильно снижает латеральное притяжение между молекулами фосфатидилхолина в монослое. Летиция и Филлипс [132], измеряя скорость десорбции холестерина из комплексов аполипопротеинов с фосфатидилхолином, нашли, что константа скорости первого порядка десорбции холестерина увеличивается при уменьшении диаметра комплекса. Очевидно: чем меньше диаметр диска, тем больше доля липида в пограничном слое. Из предложенной модели [132] следует, что десорбция из пограничного слоя проходит быстрее, чем из центральной части диска (рис. 9г). Все вышеприведенные данные позволяют считать, что гидрофобный контакт фосфатидилхолина с гидрофобной поверхностью амфифильного пептида “разрыхляет” упаковку липидов в пограничном слое.

Условия комплексообразования аполипопротеина с фосфолипидами (природа компонентов, их соотношение в инкубационной смеси, температура, скорость удаления детергента или органического растворителя) оказывают значительное влияние на размеры получаемых мицелл, т.е. образование мицеллы проходит в условиях кинетического контроля. Следовательно, можно ожидать, что конформационно-лабильный белок в составе комплекса примет ту конформацию, которая необходима для стабилизации мицеллы данного размера.

## V. КОНФОРМАЦИЯ apoA1 В “БОЛЬШИХ” И “МАЛЫХ” МИЦЕЛЛЯРНЫХ КОМПЛЕКСАХ

Сама возможность получения стабильных комплексов apoA1–фосфатидилхолин определенной стехиометрии долгое время была предметом дискуссии в литературе. Так, в работе [109] было введено понятие гидрофобного объема аполипопротеина, насыщаемого липидом при образовании комплекса. Считая дискообразные мицеллы термодинамически устойчивыми, некоторые авторы предлагали различные структурные модели для описания тех комплексов, которые они получали в конкретных экспериментальных условиях (обсуждение таких моделей см. в обзорах [16, 17, 38, 45–47]). Однако в настоящее время возможность получения различных по составу и размерам дискообразных мицелл из одних и тех же компонентов не вызывает сомнения.

Исследования Николса и соавт. [130, 140–142] показали, что малые комплексы apoA1–POPC (молярное соотношение < 1:70) всегда содержат две молекулы apoA1 на частицу, а более крупные – три, четыре или более молекул, причем наличие отдельных фракций при неденатурирующем гель-электрофорезе коррелирует с числом молекул apoA1 в мицелле. Комплексы DMPC с димером apoA1 (ковалентно “сшитым” обработкой

диметилсуберимидатом) представляли собой гомогенную, по данным градиентного гель-электрофореза, фракцию и содержали 150 молекул DMPC и один димер апоА1 на частицу [129]. Комплексы апоА1 с полиненасыщенными фосфатидилхолинами обычно имеют более низкое содержание липида по сравнению с комплексами апоА1–DMPC или апоА1–POPC, полученными в аналогичных условиях [46, 110].

Комплексы апоА1–POPC с диаметром 7.2 нм и относительно малым содержанием липида легко получают по методу 3. Эти мелкие мицеллы содержат две молекулы белка в каждой частице, имеют характерную дискообразную форму, хотя их “стэкинг” выражен слабее обычного. Стехиометрический состав комплексов 2 : 41 (моль/моль) в пределах ошибки измерения совпадает с составом “гипотетической” частицы, 2 : 38 (моль/моль), в которой 19 молекул POPC каждого слоя имеют гексагональную упаковку (рис. 9д). Очевидно, что в составе такой мицеллы большая часть липида связана с белком (по меньшей мере 24 молекулы POPC); в контакте с липидом не может находиться больше 12 амфифильных спиральных участков (из геометрических соображений); рассчитанное значение толщины белковой оболочки  $l$  вдвое превышает диаметр  $\alpha$ -спирального участка (табл.2).

Комплексы апоА1 с фосфатидилхолином (POPC или фосфатидилхолином яичного желтка), получаемые в присутствии холата Na (по методу 2) при различном соотношении белок – липид в инкубационной смеси, были использованы в нескольких лабораториях для разработки модели “малого” комплекса. Можно отметить, что “малые” комплексы, использовавшиеся в исследованиях Ионас и соавт. [56, 60, 71] или Спаркса и соавт. [54, 55], не были самыми мелкими, а “большие” не были самыми крупными из описанных в литературе.

Электрокинетические исследования, проведенные Спарксом и соавт. [55], показали, что крупные комплексы апоА1–POPC (1 : 128, моль/моль) мигрировали в агарозном геле в области  $\beta$ -подвижности (область подвижности ЛНП), а частицы апоА1–POPC (1 : 32, моль/моль) – в области  $\alpha$ -подвижности (область подвижности ЛВП). И плотность поверхностного заряда, и поверхностный потенциал для крупных комплексов ниже, чем для мелких, что, по данным авторов, обусловлено связыванием лизиновых остатков N-концевого фрагмента (12, 23, 77, 88) с липидом в составе больших комплексов и их гидратацией в составе малых. Низкотемпературные спектры ЭПР (при 77 К) комплексов спин-меченого апоА1 с DMPC (молярное соотношение 1 : 20, малый комплекс; 1 : 90, большой комплекс) достоверно различались по параметру  $d_{\parallel}/d$  [87], что указывало на

большую сближенность парамагнитных центров в малом комплексе. Ионас и соавт. [60, 71] показали, что ЛХАТ-зависимое ацилирование холестерина быстрее проходило в составе больших мицелл (диаметр 9.6 нм), чем в составе малых (диаметр 7.8 нм); эффективное значение  $K_m$  для малых комплексов было выше, чем для больших. Расчет содержания  $\alpha$ -спиральных участков из спектров КД показал, что в “больших” комплексах апоА1–POPC степень  $\alpha$ -спирализации (77%) выше, чем в “малых” (62%) [71]. Денатурация апоА1 в составе комплексов, вызываемая гидрохлоридом гуанидина, легче проходит в “малых” комплексах, чем в “больших” (значения  $\Delta G$  денатурации 1.4 и 3.0 ккал/моль апоА1 для комплексов 1 : 32 и 1 : 128 соответственно [71]). Наиболее чувствительна к денатурации гидрохлоридом гуанидина N-концевая часть апоА1 [54–56, 71].

На рис. 9е и 9ж представлены модели, описывающие различную конформацию апоА1 в составе “больших” и “малых” дискообразных комплексов. Согласно данным Спаркса и соавт. [55], в “малом” комплексе связь апоА1 с липидом осуществляется семью большими фрагментами C-концевой части (длиной 18–22 а. о.), а N-концевой фрагмент не имеет упорядоченной вторичной структуры и с липидом не взаимодействует. В “большом” комплексе связь осуществляется 11 фрагментами, причем 4 коротких  $\alpha$ -спиральных участка появляются в N-концевой и средней части цепи. Ионас и соавт. [71] предложили похожую модель, где апоА1 содержит 8  $\alpha$ -спиральных фрагментов в “большом” комплексе и 6 – в “малом”. В этих моделях все амфифильные  $\alpha$ -спиральные участки апоА1 участвуют в связывании с липидом.

Сегрест предлагал несколько иную модель, согласно которой в центральной части апоА1 существует специальный “шарнирный домен” (рис. 9ж). Первоначально понятие “шарнирного домена” было введено для объяснения различия конформации апоА1 в составе сферических глобул ЛВП<sub>2</sub> и ЛВП<sub>3</sub> [133], а позднее оно было привлечено, чтобы объяснить возможность существования стабильных дискообразных комплексов апоА1–фосфатидилхолин различного диаметра. Как видно из рис. 9ж, в этой модели “малого” комплекса предусматривается существование двух амфифильных спиральных участков, не связанных с липидом. Согласно расчетам, “шарнирный домен” расположен между 60-м и 120-м остатками и содержит два остатка триптофана. Если в “малых” комплексах “шарнирный домен” сольватирован водой, то это должно сказаться на спектрах триптофановой флуоресценции, поскольку изменяется окружение остатков Trp72 и Trp108. Хотя некоторые авторы и наблюдали небольшие различия (2–3 нм) в положении максимума флуоресценции триптофановых остатков апоА1 в составе “больших” и “малых” комплексов с POPC,

величина этого сдвига гораздо меньше, чем можно было ожидать при переходе в воду из неполярной фазы даже одного остатка триптофана. Кроме того, между двумя фрагментами, экспонированными в воду – N-концом и “шарнирным доменом” – находится участок 44–65, который должен быть всегда связан с поверхностью липида. Однако, по данным [6], в этой области локализован амфифильный участок типа G\* с относительно невысоким ( $\langle \mu \text{H} \rangle$  0.35) значением гидрофобного момента. В настоящее время большинство исследователей считают, что в составе комплекса с фосфолипидом несколько участков апоА1, имеющих  $\alpha$ -спиральную структуру во взаимодействии с липидом, по-видимому, не участвуют, однако вопрос о возможности “поворота шарнира” остается открытым.

Общим недостатком рассмотренных моделей является жесткое разделение дискообразных мицелл на “малые” и “большие”, постулирование различия конформаций апоА1 в составе большого и малого комплекса, а также игнорирование возможности кооперативного изменения поверхностно-активных свойств апоА1 в составе мицеллы. Все перечисленные выше модели описывают дискообразную частицу, содержащую две молекулы апоА1. Формально это должно приводить к двум возможным следствиям: 1) если каждая из двух молекул белка принимает конформацию независимо от другой, то должна быть промежуточная популяция частиц, в которой одна молекула имеет конформацию, характерную для “большого” комплекса, а другая – для “малого”, однако в цитируемых работах [54–56] наличия промежуточных частиц не показано; 2) если же в составе “малого” комплекса N-концевые фрагменты обеих молекул апоА1 экспонированы в воду или связаны друг с другом (как, возможно, в димере), то ожидаемое значение максимума флуоресценции малого комплекса должно быть не меньше 336 нм (как в мономере или олигомере делипидированного апоА1, а не 331–333 нм, как наблюдается). Кроме того, постулатом служит положение, что толщина белковой оболочки диска равна диаметру  $\alpha$ -спирального амфифильного участка пептидной цепи. Однако, как показано выше, для “малых” комплексов это несправедливо.

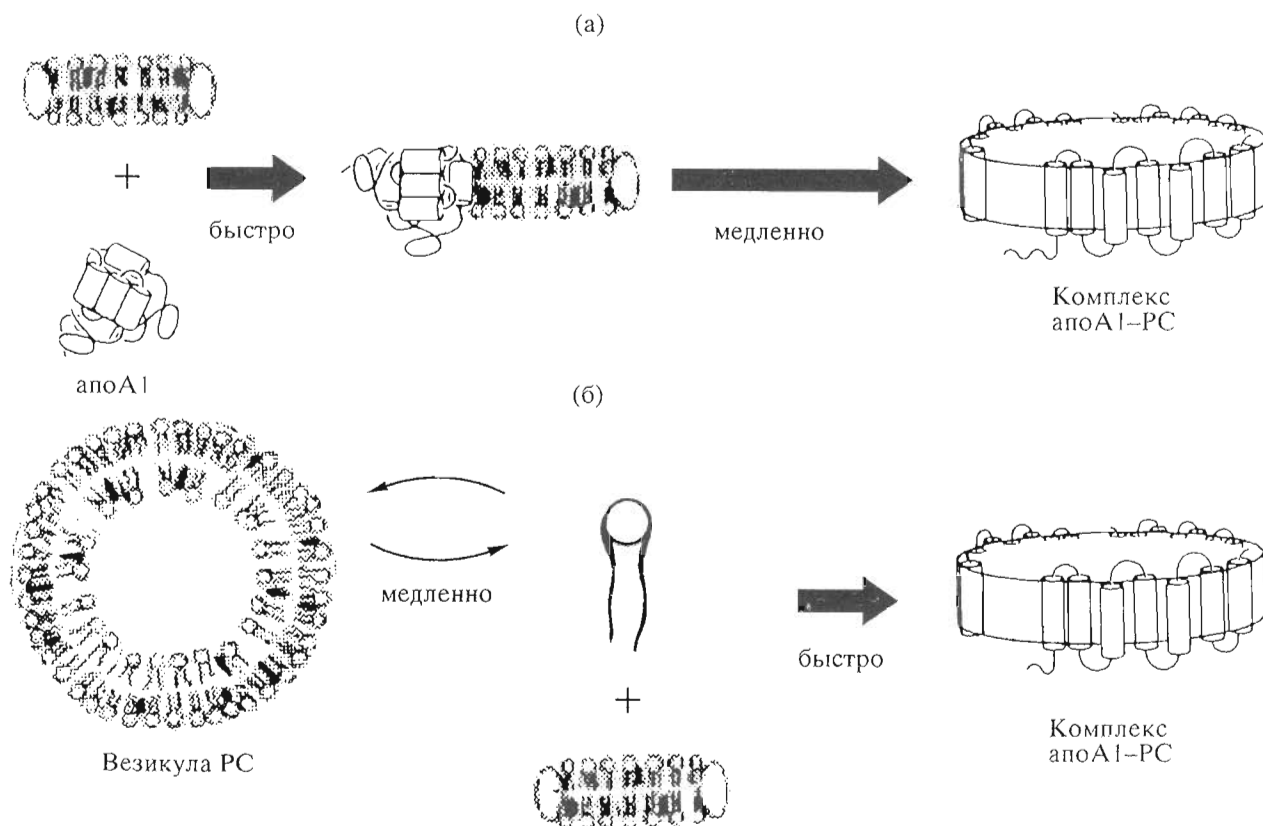
По-видимому, организация мицеллы, представленная на рис. 9б, не противоречит основным положениям остальных вышеупомянутых моделей, способна их дополнить, обобщить, а также внести коррективы. В самом деле: 1) конформация апоА1 на поверхности диска полностью определяется числом молекул фосфатидилхолина в мицелле; 2) изменение размера мицеллы может проходить кооперативно; 3) спектральные характеристики белка в составе больших и малых комплексов различаются незначительно; 4) в малом комплексе в связывании с липидом участвуют не

все амфифильные фрагменты, что и приводит к кажущемуся утолщению белкового слоя; 5) гидрофобные поверхности амфифильных участков, не связанные с липидом, образуют белок-белковую гидрофобную складку, причем для гидрофобной поверхности каждого из амфифильных участков существует возможность образования или белок-липидного или белок-белкового гидрофобного контакта; 6) амфифильные участки, не имеющие контакта с липидом (или имеющие слабый контакт), существуют в равновесии спираль-неупорядоченная структура; 7) в молекуле апоА1 не существует определенного пептидного фрагмента, конформация которого определяет размер комплекса.

Последняя модель отличается от обсуждаемых выше положениями 1, 2 и 7. В основе лежит тривиальное представление о том, что устойчивость дискообразной мицеллы апоА1-фосфатидилхолин определяется самоассоциацией фосфолипидов, а апоА1 лишь стабилизирует боковую поверхность мицеллы и предотвращает агрегацию фосфолипидов. В рамках данной модели возможно представить незначительные изменения липидного состава мицеллы, обусловленные связыванием или диссоциацией одной или нескольких молекул фосфатидилхолина. Подобные изменения невозможно описать в рамках моделей [54–56, 133]. В следующем разделе обсуждаются результаты кинетических исследований, подтверждающие справедливость высказанных положений.

## VI. ИЗМЕНЕНИЯ РАЗМЕРОВ И СТРУКТУРЫ МИЦЕЛЛЯРНЫХ КОМПЛЕКСОВ В МОДЕЛЬНЫХ (НЕФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ) СИСТЕМАХ

Еще в ранних исследованиях Толла и соавт. [66, 143–145] показано, что при инкубации с фосфолипидными липосомами частицы ЛВП увеличиваются в размерах, причем плотность частиц снижается. В работах Филлипса и соавт. [63, 64, 80, 83] показано, что концентрация апоА1 на поверхности раздела вода-воздух или в липидном монослое быстро изменяется при добавлении в раствор липопротеинов. Очевидно, состав частиц ЛВП при добавлении фосфолипидов изменяется. Хорошо известно, что делипидированные аполипопротеины (апоА2, апоЕ или радиоактивно меченый апоА1), добавленные в избытке к ЛВП, равновесно вытесняют апоА1 с поверхности липопротеина без заметного изменения размеров и липидного состава частицы ЛВП [40, 146, 147]. Несмотря на то что апоА2 имеет значение  $\Delta H$  ассоциации с DMPC большее по сравнению с апоА1, количественно вытеснить апоА1 из монослоя DMPC при добавлении апоА2 не удавалось [83]. Глобулярная частица ЛВП имеет “кор” из



**Рис. 10.** Схема, иллюстрирующая процессы рекомбинации комплекса апоА1–фосфатидилхолин (по данным [122]). (а) – взаимодействие комплекса апоА1–РОРС (1 : 100, моль/моль) с делипидированным апоА1; (б) – взаимодействие комплекса апоА1–РОРС (1:40, моль/моль) с везикулой фосфатидилхолина.

холестерильных эфиров и триглицеридов, стабилизирующий сферическую форму. Очевидно, что подобной стабилизации нет в дискообразной мицелле апоА1–фосфатидилхолин.

Структурные изменения белково-липидной мицеллы, вызванные изменением стехиометрического состава, принято называть рекомбинацией. Исследование рекомбинации дискообразных комплексов было проведено на простой модели [122]. Если комплексы апоА1–фосфатидилхолин, в которых амфифильные участки белка связаны с липидом, смешать с делипидированным апоА1, в котором амфифильные участки с липидом не связаны, то должно установиться новое равновесие и измениться стехиометрия комплекса. Аналогичные изменения должны происходить, если к малому комплексу апоА1–фосфатидилхолин, в котором часть амфифильных доменов белка не связана с липидом, добавить фосфолипид. Очевидно, что добавление любого из компонентов, входящих в состав комплекса, должно приводить к изменению химических потенциалов всех компонентов системы, при этом скорость образования новых мицелл будет опре-

деляться скоростью установления новых равновесных значений химических потенциалов.

Добавление к комплексу апоА1–РОРС (1 : 100) свободного апоА1, дансильрованного по двум остаткам лизина, приводило к быстрому распределению дансильного хромофора между мицеллами, однако размеры мицелл изменялись еще по крайней мере в течение суток (рис. 10а). Инкубация комплекса апоА1–РОРС с везикулами фосфатидилхолина (был использован спин-меченый фосфатидилхолин) приводила к встраиванию спин-меченого липида в мицеллу за 3 ч. Скорость установления равновесия имела нулевой порядок по концентрации спин-меченого фосфатидилхолина, увеличивалась в присутствии детергентов и не зависела от химического строения фосфатидилхолина, входившего в состав мицеллярного комплекса. Отсюда следует, что диссоциация молекулы фосфолипида из везикулы является стадией, лимитирующей скорость рекомбинации (рис. 10б). Исследование кинетики равновесного обмена радиоактивно меченого РОРС между комплексами апоЛВП–фосфатидилхолин яичного желтка в растворе и теми же комплексами, иммобилизованными на сефарозе [148] подтвердило,

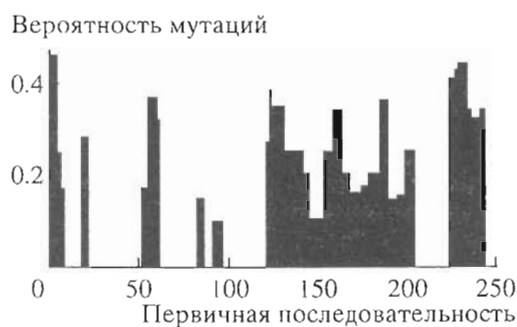


Рис. 11. Консервативные и варибельные участки молекулы апоА1 (по расчетам [34]).

что скоростью лимитирующей стадией рекомбинации мицеллярных комплексов является обмен фосфатидилхолина между мицеллами.

Изучение процессов, сопровождающих ЛХАТ-зависимое ацилирование холестерина в дискообразных мицеллах, проводилось в лабораториях Николса [149–153], Ионас [131, 154] и Бартера [155–157]. Во всех исследованиях было показано, что скорость превращения дискообразной мицеллы в сферическую зависит от присутствия фосфолипидных везикул или липопротеинов, способных выступать в качестве донора фосфолипидов. В работах Рай и Бартера было продемонстрировано, что в присутствии так называемого фактора конверсии липопротеинов (“conversion factor”) скорость изменения размеров природных липопротеинов и мицеллярных комплексов резко увеличивалась. Впоследствии оказалось, что фактор конверсии идентичен известному фосфолипидпереносящему белку PLTP (К.-А. Рай, А. Ионас, частное сообщение).

Приведенные данные говорят о том, что стадией, определяющей скорость рекомбинации аполипопротеин-фосфолипидных комплексов, является перенос фосфолипидных молекул через водную фазу. Значит, конформационные изменения апоА1 в составе мицеллы происходят быстро и, следовательно, конформация аполипопротеина в составе смешанной дискообразной мицеллы определяется количеством молекул фосфолипида в частице.

## VII. ЛОКАЛИЗАЦИЯ “ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ” УЧАСТКОВ В ПОЛИПЕПТИДНОЙ ЦЕПИ апоА1

На основании сравнения аминокислотных последовательностей апоА1 плазмы крови человека, бабуина, макаки, собаки, свиньи, коровы, крысы и кролика, Вайнберг [34] рассчитал варибельность отдельных участков молекулы апоА1 (рис. 11). Исходя из принципа [158], что частота мутаций разных участков равновероятна, но мутации, изменяющие основные функции белка, не-

жизнеспособны, Вайнберг пришел к выводу, что участки апоА1 8–33, 60–120 и 202–224, как наиболее консервативные, имеют свои особые функции.

Так, по мнению Вайнберга [34], участок 8–33 существен для самоассоциации белка, а также может быть важен для его связывания с некоторыми ферментами. Как упоминалось выше, по мнению Сегреста и соавторов в этой области расположен амфифильный фрагмент типа G\*, по мнению Спаркса – это конформационно подвижный фрагмент, имеющий  $\beta$ -структуру, а по мнению Ионас – это участок неупорядоченной структуры.

Участок 60–120 содержит два остатка пролина (Pro66 и Pro99) и три амфифильных  $\alpha$ -спиральных фрагмента. По данным Сегреста [6], в пределах этой области локализованы 22-членный амфифильный  $\alpha$ -спиральный участок типа A1 (66–87), 11- (88–98) и 22-членные (99–120) амфифильные  $\alpha$ -спиральные участки типа Y (с пространственно разделенными положительно- и отрицательно заряженными остатками на полярной поверхности спирали). Анантхарамайа и соавт. [134] считали, что этот фрагмент может быть наиболее вероятным кандидатом на роль “шарнирного домена” и принимает участие в активации ЛХАТ. Куртис и Смит [159] получили моноклональные антитела к фрагменту апоА1 (95–105) и нашли различия в связывании этих антител с ЛВП, делипидированным апоА1 и комплексом апоА1–фосфатидилхолин. В работе [160] показано, что в присутствии антител к фрагменту 95–105 активация ЛХАТ-зависимого ацилирования холестерина снижается. Марсель и соавт. [161], проводя эксперименты с антителами, указали на высокую конформационную подвижность участка 99–120.

Филдинг К. и Филдинг Ф. [162], напротив, локализовали консервативную часть “шарнирного домена” в области участков 143–164, а варибельные части – в области 121–142 и 165–187. Для объяснения роли апоА1 в активации ЛХАТ они предложили модель, в которой единственный амфифильный фрагмент ЛХАТ (151–174) взаимодействует с боковой поверхностью смешанной мицеллы апоА1–фосфатидилхолин – холестерин, вытесняя один из фрагментов апоА1. Поскольку стадией, лимитирующей скорость ЛХАТ-реакции на мицеллярном субстрате, является образование ацилфермента [97, 163], образование устойчивого комплекса ЛХАТ – мицелла вполне вероятно, однако из модели не следует, что в этом процессе участвует какой-либо определенный участок апоА1. Несколько лабораторий, используя метод направленного мутагенеза, получили препараты апоА1 с делециями фрагментов 148–186, 140–164 и 165–186 [164, 165]. Полученные мутанты не активировали ЛХАТ-зависимое ацилирование холестерина. Моноклональные антитела, специфичные к участкам апоА1 95–121, 96–



122, 135–148 и 149–186, ингибировали ЛХАТ-зависимое ацилирование холестерина в комплексах апоА1–фосфатидилхолин – холестерин [160, 166]. Де Лооф и соавт. [58], проведя сравнение гидрофобных моментов полипептидных последовательностей природных и синтетических активаторов ЛХАТ, заключили, что в активацию ЛХАТ включены четыре амфифильных фрагмента апоА1, локализованных в области 99–187. Джи и Йонас [167], проводя ограниченный протеолиз апоА1, выделили 22-кДа N-концевой фрагмент апоА1 (1–192), исследовали его взаимодействие с DMPC, POPC и DPPC, а также способность активировать ЛХАТ в составе комплексов апоА1(1–192) – POPC – холестерин. Размеры комплексов, полученные методом 2, были очень близки к размерам комплексов нативного апоА1, однако сами комплексы были менее стабильны. Фрагмент апоА1(1–192) активировал ЛХАТ сильнее, чем нативный апоА1, что не совпадает с выводами Работ [164–166].

Консервативный участок апоА1 202–224, по данным Нолте и Аткинсона [48], имеет высокое значение  $\langle \mu \text{H} \rangle$  и является “якорем” для кооперативного связывания с липидами всей С-концевой области апоА1. Природные и рекомбинантные мутации в этом участке влияют на взаимодействие апоА1 с липидами и на скорость ЛХАТ-зависимого ацилирования холестерина в мицеллярном комплексе, содержащем мутантный белок [168]. Рекомбинантный апоА1 с делецией участка 212–243 не образовывал дискообразных комплексов с фосфолипидами [164]. Аллан и соавт. [169] предположили, что участок 202–224 существен для связывания апоА1 и ЛВП с поверхностью клетки, а именно, с мембранным рецептором для апоА1. Хотя связывание апоА1, ЛВП, не содержащих апоЕ, и комплексов апоА1–фосфатидилхолин с клетками в культуре показано многими авторами [169–176], вопрос о самом существовании апоА1-рецептора остается открытым. Используя в основном технику лигандного блоттинга, применимость которой для идентификации мембранного рецептора к поверхностно-активному белку вызывает сомнения, различные авторы охарактеризовали совершенно разные белки (с молекулярной массой от <10 до 120 КДа) в качестве возможных кандидатов на роль апоА1-рецептора [177–182].

Ассман и соавт. в работе [44] привели перечень генетических дефектов, приводящих к дефициту апоА1, а также список 22 известных мутаций апоА1 человека. Большинство из мутаций не влияют на уровень липидов и липопротеинов в плазме и не коррелируют с клиническими показателями, однако замены Arg173 → Cys [183–186], Pro165 → Arg [187, 188], Gly26 → Arg [189], Lys107 → Met и Lys107 → 0 [168, 190] приводят к заметным изменениям содержания холестерина

в ЛВП, а также к аномалиям в структуре и метаболизме ЛВП. Замена Arg173 → Cys (апоА1<sub>(Милан)</sub>) приводит к снижению ЛХАТ-активирующей способности мутантного белка и образованию димера А1, соединенного дисульфидной связью. Замены Pro165 → Arg, Lys107 → Met и Lys107 → 0 снижают ЛХАТ-активирующую способность белка на 30–40% по сравнению с нормальным апоА1 [168, 188], причем делеция Lys107 сопровождается значительным снижением процента  $\alpha$ -спиральности. Замена Pro3 → Arg и Pro3 → His [187] препятствует превращению проапоА1 в апоА1. Как известно [191], апоА1 синтезируется в виде предшественника длиной 267 аминокислот, подвергается внутриклеточному процессингу с отщеплением 18-членного сигнального пептида, а затем шести-членный пептид Arg-His-Phe-Trp-Gln-Gln отщепляется с N-конца проапоА1 под действием неустановленной протеиназы и 243-членная последовательность апоА1 секретируется. Недавно МакГуайер, Дэвидсон и Йонас [192] сообщили о клонировании кДНК проапоА1 человека в *E. coli*. Выделенный с чистотой 99% клонированный проапоА1 активировал ЛХАТ с той же эффективностью, что и апоА1, а комплексы проапоА1–DMPC (полученные методом 2) по всем характеристикам совпадали с комплексом апоА1–DMPC.

В целом же можно сказать, что использование антител и метода направленного мутагенеза для исследования функциональных участков апоА1, хотя и подтвердило результаты более ранних экспериментов и теоретических расчетов, не дало принципиально новой информации.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ. ДАННЫЕ ОБ УЧАСТИИ апоА1 В ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ И МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ

Мицеллярные комплексы апоА1–фосфатидилхолин широко используются во многих лабораториях для изучения транспорта холестерина. При добавлении комплексов апоА1–фосфатидилхолин к клеткам в культуре часть холестерина на клеточной мембране включается в состав комплекса, при этом перенос холестерина описывается кинетикой обратимого процесса первого порядка, если концентрация холестерина выражена через отношение [холестерин]/[фосфолипид] в клетке и в среде, содержащей комплекс, что соответствует механизму свободной диффузии. Обсуждению этого вопроса посвящены обзоры [193–195].

Однако Филдинг и соавт. [162, 196] предлагали альтернативные механизмы обмена холестерина между клеточной мембраной и средой, включающие прямое взаимодействие клеточной мембраны с апоА1 в составе так называемых пре- $\beta$  ЛВП (предшественников ЛВП, имеющих пре- $\beta$ -элект-

рофоретическую подвижность в агарозном геле и по составу совпадающих с малыми комплексами апоА1–фосфатидилхолин – холестерин). Обмен холестерина между клетками в культуре и комплексами апоА1–фосфатидилхолин, изучавшийся в работах автора данного обзора и коллег [197–200], во всех случаях соответствовал механизму свободной диффузии, а эффектов пре- $\beta$ -мигрирующих ЛВП в захвате клеточного холестерина в наших экспериментах не было обнаружено. В настоящее время в литературе нет экспериментальных доказательств, что молекула холестерина может иметь сродство к апоА1 или другому аполипопротеину, а часто встречающиеся в медицинской литературе рассуждения о “холестеринакцепторных свойствах” или “антиатерогенном потенциале” ЛВП лишь констатируют тривиальный факт, что в многокомпонентной системе холестерин распределяется между частицами, содержащими фосфатидилхолин. Поскольку молекула апоА1 стабилизирует структуру липопротеина или мицеллярного комплекса, очевидно, ее роль ограничивается сольubilизацией липидов, в том числе холестерина, в водной фазе.

Уровень апоА1 в плазме крови человека коррелирует с содержанием холестерина во фракции ЛВП [1–4]. Наследственный дефицит апоА1, вызываемый нарушениями в структуре гена [201, 202], приводит к снижению ЛХАТ-активности и нарушениям в уровне липидов в плазме, ксантоматозам, атеросклерозу коронарных артерий. ЛВП, содержащие апоА1<sub>(Милан)</sub>, имеют нетипичный катаболизм и изменения в характеристиках подфракций (по данным седиментационного анализа). Брюс и соавт. [203] показали, что СЕТР (белок плазмы крови, катализирующий обмен неполярных липидов между липопротеинами) обладает высоким сродством к дискообразным (апоА1–РОРС) и сферическим (апоА1–РОРС–холестерин–холестерилOLEAT) комплексам. При образовании комплекса с дискообразными мицеллами СЕТР локализуется на боковой поверхности диска.

Как было показано в работе [139], холестерин ослабляет энергию латерального притяжения апоА1 и фосфатидилхолина в монослое, однако сам не имеет сродства к апоА1. Этим объясняется наблюдавшаяся многими авторами меньшая стабильность тройных комплексов апоА1–фосфатидилхолин–холестерин по сравнению с двухкомпонентными комплексами апоА1–фосфатидилхолин. В природных ЛВП и искусственных сферических аполипопротеин-липидных частицах, содержащих “ядро” из неполярных липидов, конформация апоА1 зависит от липидного состава частицы. Иммунохимические методы и данные протеолиза апоА1 в составе различных подфракций ЛВП подтвердили различие конформаций

апоА1 в составе разных глобулярных частиц. Этот вопрос обсуждался в обзоре [162].

Результаты нескольких работ указывают на то, что взаимодействие апоА1 и других амфифильных полипептидов с липидами клеточных мембран могут иметь физиологическое значение. Так, апоА1, синтетические амфифильные пептиды и ЛВП стабилизируют липосомы, приготовленные из диолеилфосфатидилэтанолamina и олеиновой кислоты [204]. Разрыв липосом альбумином предотвращался добавлением апоА1 или синтетического амфифильного пептида. Структура амфифильного пептида играет важную роль: пептид 18A-Pro-18A, два амфифильных 18-членных участка которого ассоциированы друг с другом [116], стабилизировал липосомы гораздо эффективнее пептида 18A-Ala-18A. Связывание поверхностно-активных молекул (апоА1 и амфифильных пептидов) с фосфолипидами мембран показано в экспериментах на культуре клеток [205]. В этой работе найдено, что апоА1 и амфифильные пептиды конкурируют с амфифильным участком гликопротеина ВИЧ за связывание с участком клеточной мембраны, что эффективно ингибирует взаимодействие вируса с клеткой.

Подводя итог, можно сказать, что участие апоА1 в физиологических и метаболических процессах, происходящих в плазме крови, сводится к способности этого белка, взаимодействуя с фосфолипидами, сольubilизировать липиды в виде смешанных с белком мицелл. В связывании с фосфатидилхолином участвует большая часть полипептидной цепи апоА1. АпоА1 способен сольubilизировать в водной среде липидные мицеллы разного размера, при этом поверхностно-активные свойства белка изменяются. Изменение поверхностно-активных свойств апоА1 сопровождается процессами переноса липидных молекул между липопротеинами, которые происходят в плазме крови и являются важнейшей частью липидного обмена в целом организме.

Автор глубоко признателен сотрудникам Кардиологического научного центра Н.В. Медведевой, А.Д. Морозкину и Н.Ю. Замаевой за оказанную помощь, критические замечания и обсуждение данного обзора. Автор также благодарен проф. Алексу Николсу (Калифорнийский университет, Беркли), в лаборатории которого проводилось сравнение размеров комплексов апоА1–фосфатидилхолин, полученных разными методами; проф. Джеймсу Спэрроу (Медицинский колледж Бэйлор, Хьюстон), любезно предоставившему пептид LAP-20; проф. Джоэлу Морриссетту (Медицинский колледж Бэйлор, Хьюстон) и проф. Ане Йонас (Университет штата Иллинойс, Урбана) за неформальное обсуждение проблемы липидно-белковых взаимодействий.

Автор благодарен Национальной программе "Атеросклероз" (грант N160) и компании Рон-Пуленк-Рорер, оказавшим финансовую поддержку в разные периоды выполнения экспериментальных исследований по данной теме.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Miller G.J. // Clinical and Metabolic Aspects of High Density Lipoproteins // Eds N.E. Miller, G.J. Miller. Amsterdam: Elsevier, 1984. P. 47–74.
2. Assmann G., Shulte H. // Lipid Metabolism Disorders and Coronary Heart Disease / Ed. G. Assmann. B.: MMV Medizin Verlag, 1993. P. 19–67.
3. Assmann G., Shulte H., von Eckardstein A., Huang Y. // Atherosclerosis. 1996. V. 124. P. 11–20.
4. Srinivasan S.R., Berenson G.S. // Clin. Chem. 1995. V. 41. P. 159–164.
5. Segrest J.P., Jackson R.L., Morrisett J.D., Gotto A.M. // FEBS Lett. 1974. V. 38. P. 247–253.
6. Segrest J.P., Jones M.K., De Loof H., Brouillette C.G., Venkatchalapathi Y.V., Anantharamaiah G.M. // J. Lipid Res. 1992. V. 33. P. 141–166.
7. Segrest J.P., De Loof H., Dohlman J.G., Brouillette C.G., Anantharamaiah G.M. // Proteins. 1990. V. 8. P. 103–117.
8. Anantharamaiah G.M., Jones M.K., Segrest J.P. // Amphipathic Helix / Ed. R.M. Epand. Boca Raton, FL.: CRC Press, 1993. P. 109–142.
9. Kaizer E.T., Kezdy F.J. // Science. 1984. V. 223. P. 249–255.
10. Engleman D.M., Henderson R., Mc Lachlan A.D., Wallace B.A. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1980. V. 77. P. 2023–2027.
11. Prediction of Protein Structure and the Principles of Protein Conformation / Ed. G. Fasman. N.Y.: Plenum Press, 1989.
12. Eisenberg D., Wesson M. // Biopolymers. 1990. V. 29. P. 171–177.
13. Kanellis P., Romans A.Y., Johnson B.J., Kercret H., Chiovetti R., Allen T.M., Segrest J.P. // J. Biol. Chem. 1980. V. 255. P. 11464–11472.
14. Sparrow J.T., Gotto A.M. // CRC Crit. Rev. Biochem. 1982. V. 13. P. 87–107.
15. Fukushima D., Yokoyama S., Kroon D.J., Ferenc J.K., Kaiser E.T. // J. Biol. Chem. 1980. V. 255. P. 10651–10657.
16. Pownall H.J., Morrisett J.D., Sparrow J.T., Smith L.C., Shepherd J., Jackson R.L., Gotto A.M. // Lipids. 1979. V. 14. P. 428–434.
17. Anantharamaiah G. M. // Methods Enzymol. 1987. V. 128. P. 627–647.
18. McLean L.R., Hagaman K.A., Owen T.J., Krstenansky J.L. // Biochemistry. 1991. V. 30. P. 31–37.
19. Krstenansky J.L., Owen T.J., Hagaman K.A., McLean L.R. // FEBS Lett. 1989. V. 242. P. 409–413.
20. Sparrow J.T., Gotto A.M. // Ann. N.Y. Acad. Sci. 1980. V. 348. P. 187–211.
21. Eisenberg D., Weiss R.M., Terwilliger T.C. // Nature. 1982. V. 299. P. 371–374.
22. Eisenberg D. // Annu. Rev. Biochem. 1984. V. 53. P. 595–623.
23. Jones M.K., Anantharamaiah G.M., Segrest J.P. // J. Lipid Res. 1992. V. 33. P. 287–296.
24. Luo C.C., Li W.H., Moore M.N., Chan L. // J. Mol. Biol. 1986. V. 187. P. 325–340.
25. Li W.H., Tanimura M., Luo C.C., Datta S., Chan L. // J. Lipid Res. 1988. V. 29. P. 245–272.
26. Lusis A.J. // J. Lipid Res. 1988. V. 29. P. 397–429.
27. Boguski M.S., Elshourbagy N.A., Taylor J.M., Gordon J.L. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1985. V. 82. P. 992–996.
28. Boguski M.S., Freeman M., Elshourbagy N.A., Taylor J.M., Gordon J.L. // J. Lipid Res. 1986. V. 27. P. 1011–1034.
29. Nakagawa S.H., Lau H.S.H., Kezdy F.J., Kaiser E.T. // J. Am. Chem. Soc. 1985. V. 107. P. 7087–7092.
30. Ponsin G., Hester L., Gotto A.M., Pownall H.J., Sparrow J.T. // J. Biol. Chem. 1986. V. 261. P. 9202–9205.
31. Anantharamaiah G.M., Venkatchalapathi Y.V., Brouillette C.G., Segrest J.P. // Arteriosclerosis. 1990. V. 10. P. 95–105.
32. Chung B.H., Anantharamaiah G.M., Brouillette C.G., Nishida T., Segrest J.P. // J. Biol. Chem. 1985. V. 260. P. 10256–10262.
33. Nicolosi R.J., Zannis V.I. // J. Lipid Res. 1984. V. 25. P. 879–887.
34. Weinberg R.B. // J. Lipid Res. 1994. V. 35. P. 2212–2222.
35. Zannis V.I., Kardasis D., Zanni E.E. // Adv. Hum. Genet. 1993. V. 21. P. 145–319.
36. Rouling R., von Eckardstein A., Funke H., Motti C., Fragiaco G.C., Nosedà G., Assmann G. // Arterioscl. Thromb. 1994. V. 14. P. 1915–1922.
37. Calabresi L., Vecchio G., Longhi R., Gianazza E., Palm G., Wadenstein H., Hammarstrom A., Olsson A., Karlstrom A., Seijtz E. // J. Biol. Chem. 1994. V. 269. P. 32168–32174.
38. Morrisett J.D., Jackson R.L., Gotto A.M. // Biochim. Biophys. Acta. 1977. V. 472. P. 93–133.
39. Gotto A.M. // The Thrombotic Processes in Atherosclerosis / Ed. A.B. Chandler. N.Y.: Plenum Press, 1978. P. 61–76.
40. Eisenberg S. // J. Lipid Res. 1984. V. 25. P. 1017–1058.
41. Mahley R.W., Innerarity T.L., Rall S.C., Weisgraber K.H. // J. Lipid Res. 1984. V. 25. P. 1277–1294.
42. Scanu A.M., Edelstein C., Shen B.W. // Lipid Protein Interaction / Eds P. Jost, O.H. Griffith. N.Y.: Wiley, 1982. V. 1. P. 259–278.
43. Tall A.R. // J. Clin. Invest. 1990. V. 86. P. 379–384.
44. Assmann G., von Eckardstein A., Funke H. // Circulation. 1993. V. 87 (III). P. 28–34.
45. Pownall H.J., Jackson R.L., Morrisett J.D., Gotto A.M. // Biochemistry of Atherosclerosis / Ed. A.M. Scanu. N.Y.: Marcel Dekker Inc., 1979. P. 123–143.
46. Jonas A. // J. Lipid Res. 1986. V. 27. P. 689–698.
47. Misharin A.Yu., Antonov I.V. // Soc. Med. Rev. Cardiol. / Eds E.I. Chazov, V.N. Smirnov. Boston MA: Harvard Acad. Publ. Ltd., 1987. V. 1. P. 211–233.

48. Nolte R.T., Atkinson D. // *Biophys. J.* 1992. V. 63. P. 1221–1239.
49. Gwynne J., Brewer H.B., Edelchoch H. // *J. Biol. Chem.* 1974. V. 249. P. 2411–2416.
50. Gwynne J., Brewer H.B., Edelchoch H. // *J. Biol. Chem.* 1975. V. 250. P. 2259–2274.
51. Reingoud D.J., Phillips M.C. // *Biochemistry.* 1982. V. 21. P. 2969–2976.
52. Scanu A.M., Teng T.-L. // *Biochemistry of Atherosclerosis*/ Ed. A.M. Scanu. N.Y.: Marcel Dekker Inc., 1979. P.107–122.
53. Eisenberg D., Weiss R.M., Terwilliger T.C. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1984. V.81. P. 140–141.
54. Sparks D.L., Phillips M.C., Lund-Katz S. // *J. Biol. Chem.* 1992. V. 267. P. 25830–25838.
55. Sparks D.L., Lund-Katz S., Phillips M.C. // *J. Biol. Chem.* 1992. V. 267. P. 25839–25847.
56. Jonas A., Kezdy K.E., Hefele Wald J. // *J. Biol. Chem.* 1989. V. 264. P. 4818–4824.
57. Jonas A., Steinmetz A., Churgay L. // *J. Biol. Chem.* 1993. V. 268. P. 1596–1602.
58. De Loof H., Rosseneu M., Brasseur R., Ruyschaert J.-M. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1987. V. 911. P. 45–52.
59. Brasseur R., De Meutter J., Vanloo B., Goormaghtigh E., Ruyschaert J.-M., Rosseneu M. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1990. V. 1043. P. 245–252.
60. Hefele Wald J., Krul E.S., Jonas A. // *J. Biol. Chem.* 1990. V. 265. P. 20037–20043.
61. Engelman D.M., Steitz T.A., Goldman A. // *Annu. Rev. Biophys. Chem.* 1985. V. 15. P. 321–353.
62. Krebs K.E., Phillips M.C. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1983. V. 754. P. 227–230.
63. Krebs K.E., Phillips M.C. // *FEBS Lett.* 1984. V. 175. P. 263–266.
64. Reingoud D.-J. // *Biochemistry.* 1984. V. 23. P. 726–734.
65. Tall A.R., Shipley G.G., Small D.M. // *J. Biol. Chem.* 1976. V. 251. P. 3749–3755.
66. Tall A.R., Small D.M., Deckelbaum R.J., Shipley G.G. // *J. Biol. Chem.* 1977. V. 252. P. 4701–4711.
67. Rose G.D., Geselowitz A.R., Lesser G.S., Lee R.H., Zehfus M.N. // *Science.* 1985. V. 229. P. 834–838.
68. Antonov I.V., Misharin A.Yu., Medvedeva N.V., Morozkin A.D. // 16-th FEBS Meeting. M., 1984. Abstracts. № 901.
69. Antonov I.V., Medvedeva N.V., Misharin A.Yu., Morozkin A.D., Ruuge E.K. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1985. V. 835. P. 50–57.
70. Mantullin W.W., Pownall H.J., Jameson D.M. // *Biochemistry.* 1986. V. 25. P. 8034–8042.
71. Jonas A., Hefele Wald J., Harms Toohill K.L., Krul E.S., Kezdy K.E. // *J. Biol. Chem.* 1990. V. 265. P. 22123–22129.
72. Мишарин А.Ю., Медведева Н.В., Бушмакина Н.Г., Антонов И.В., Бушуева Т.Л. // *Биоорганическая химия.* 1988. Т. 14. С. 1551–1556.
73. Zataeva N.Yu., Bushueva T.L., Misharin A.Yu., Sparrow J.T., Gotto A.M. // 2-nd International Symposium "Structure of Proteins and Peptides". Moscow-Puschino. 1992. Abstracts. P. 55.
74. Sparrow J.T. // *J. Org. Chem.* 1975. V. 41. P. 1350–1353.
75. Pownall H.J., Hu A., Gotto A.M., Albers J., Sparrow J.T. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1980. V. 77. P. 3154–3158.
76. Pownall H.J., Gotto A.M., Sparrow J. T. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1984. V. 793. P. 149–156.
77. Буриштейн Е.А. Собственная люминесценция белка. М.: ВИНТИ, сер. Биофизика. 1977. С. 120–125.
78. Swaney J.B., O'Brien K. // *J. Biol. Chem.* 1978. V. 253. P. 7069–7077.
79. Phillips M.C., Krebs K.E. // *Methods Enzymol.* 1986. V.128. P.387–403.
80. Krebs K.E., Ibdah J.A., Phillips M.C. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1988. V.959. P. 229–237.
81. Ibdah J.A., Phillips M.C. // *Biochemistry.* 1988. V.27. 7155–7162.
82. Ibdah J.A., Lund-Katz S., Phillips M.C. // *Biochemistry.* 1989. V.28. 1126–1133.
83. Ibdah J.A., Krebs K.E., Phillips M.C. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1989. V. 1004. P. 303.
84. Jonas A., Covinsky K.E., Sweeny S.A. // *Biochemistry.* 1985. V.24. P. 3508–3513.
85. Jonas A., Krainovich D.J. // *J. Biol. Chem.* 1977. V. 252. P. 2194–2199.
86. Jonas A., Drengler S.M., Patterson B.W. // *J. Biol. Chem.* 1980. V. 255. P. 2183–2189.
87. Медведева Н.В., Мишарин А.Ю. // *Биоорганическая химия.* 1991. Т.17. С. 60–65.
88. Медведева Н.В., Мишарин А.Ю. // *Биоорганическая химия.* 1996. Т.22. С. 415–419.
89. Vitelo L.B., Scanu A.M. // *J. Biol. Chem.* 1976. V. 251. P. 1131–1136.
90. Formisano S., Brewer H.B., Osborne J.S. // *J. Biol. Chem.* 1978. V. 253. P. 354–360.
91. Atkinson D., Smith H.M., Dickerson H.M., Austin J.P. // *Eur. J. Biochem.* 1976. V. 64. P. 541–547.
92. Pownall H.J., Massey J.B., Kusserow S.K., Gotto A.M. // *Biochemistry.* 1978. V. 17. P. 1183–1188.
93. Pownall H.J., Massey J.B., Kusserow S.K., Gotto A.M. // *Biochemistry.* 1979. V. 18. P. 574–579.
94. Pownall H.J., Pao Q., Hickson D., Sparrow J.T., Kusserow S.K., Massey J.B. // *Biochemistry.* 1981. V. 20. P. 6630–6635.
95. Jonas A., Mason W.R. // *Biochemistry.* 1981. P. 3801–3805.
96. Wetterau J.R., Jonas A. // *J. Biol. Chem.* 1982. V. 257. P. 10961–10966.
97. Jonas A. // *Methods Enzymol.* 1986. V. 128. P. 553–582.
98. Segrest J.P. // *FEBS Lett.* 1979. V. 106. P. 169–170.
99. Ho W.K.K., Nichols A. V. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1971. V. 231. P.185–193.
100. Chung J., Abano D.A., Fless G.M., Scanu A.M. // *J. Biol. Chem.* 1979. V.254. P. 7456–7464.
101. Yokoyama S., Fukushima D., Kupferberg J.P., Kezdy F.J., Kaiser E.T. // *J. Biol. Chem.* 1980. V. 255. P. 7333–7339.

102. Reingoud D. J., Lund-Katz S., Phillips M.C. // *Biochemistry*. 1982. V. 21. P. 2977–2983.
103. Ibdah J.A., Lund-Katz S., Phillips M.C. // *Biochemistry*. 1990. V. 29. P. 3472–3479.
104. Shen B.W. // *J. Biol. Chem.* 1985. V. 260. P. 1032–1039.
105. Donovan J.M., Benedek G.B., Carey M.C. // *Biochemistry*. 1987. V. 26. P. 8125–8133.
106. Matz C.E., Jonas A. // *J. Biol. Chem.* 1982. V. 257. P. 4535–4540.
107. Bonomo E.A., Swaney J.B. // *J. Lipid Res.* 1988. V. 27. P. 380–384.
108. Nichols A.V., Gong E.L., Blanche P.J., Forte T.M. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1983. V. 750. P. 353–364.
109. Reynolds J.A. // *Biochemistry*. 1984. V. 23. P. 1124–1129.
110. Zorich N.L., Kezdy K.E., Jonas A. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1987. V. 919. P. 181–189.
111. Helenius A., Simons K. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1975. V. 415. P. 29–79.
112. Tanford C., Reynolds J.A. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1976. V. 457. P. 133–170.
113. Антонов И.В., Замаева Н.Ю., Медведева Н.В., Мишарин А.Ю. // *Биоорганическая химия*. 1992. Т. 18. С. 1214–1220.
114. McLean L.R., Krstenansky J.L., Owen T.J., Eftink M.R., Hagaman K.A. // *Biochemistry*. 1989. V. 28. P. 8403–8410.
115. McLean L.R., Hagaman K.A., Owen T.J., Payne M.H., Davidson W.S., Krstenansky J.L. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1991. V. 1086. P. 106–114.
116. Anantharamaiah G.M., Jones J.L., Brouillette C.G., Schmidt C.F., Chung B.H., Brown A.S., Huges T.A., Segrest J.P. // *J. Biol. Chem.* 1985. V. 260. P. 10248–10255.
117. Brouillette C.G., Jones J.L., Ng C., Kercret H., Chung B.H., Segrest J.P. // *Biochemistry*. 1984. V. 23. P. 359–367.
118. Epand R.M., Gawish A., Ibdal M., Gupta K.B., Chen C.H., Segrest J.P., Anantharamaiah G.M. // *J. Biol. Chem.* 1987. V. 262. P. 9389–9396.
119. Ponsin G., Strong K., Gotto A.M., Sparrow J.T., Pownall H.J. // *Biochemistry*. 1984. V. 23. P. 5337–5342.
120. Kroon D.J., Kupferberg J.P., Kaiser E., Kezdy F.J. // *J. Am. Chem. Soc.* 1978. V. 100. P. 5975–5977.
121. Srinivas R.V., Venkatachalapathi Y.V., Zheng R., Owens R.J., Gupta K.B., Srinivas S.K., Anantharamaiah G.M., Segrest J.P., Compans R.W. // *J. Cell Biochem.* 1991. V. 45. P. 224–237.
122. Мишарин А.Ю., Замаева Н.Ю., Бушуйева Т.Л., Медведева Н.В. // *Биоорганическая химия*. 1991. Т. 17. С. 53–59.
123. Rossenue M., Soetewey F., Middelhoff G., Peeters H., Brown W.V. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1976. V. 441. P. 68–80.
124. Pownall H.J., Hsu F.J., Rossenue M., Peeters H., Gotto A.M., Jackson R.L. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1977. V. 488. P. 190–197.
125. Hauser H., Guyer W., Spiess M., Pasher I., Sundell S. // *J. Mol. Biol.* 1980. V. 137. P. 265–282.
126. Hauser H., Phillips M.C. // *Prog. Surf. Membr. Sci.* 1979. V. 13. P. 297–413.
127. Hauser H., Pasher I., Pearson R.H., Sundell S. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1981. V. 650. P. 21–51.
128. Leonard A., Dufourc E.J. // *Biochimie*. 1991. V. 73. P. 1295–1302.
129. Мишарин А.Ю., Замаева Н.Ю., Антонов И.В., Бушуйкина Н.Г., Медведева Н.В., Морозкин А.Д. // *Биоорганическая химия*. 1989. Т. 15. С. 773–780.
130. Nichols A.V., Krauss R.M., Musliner T.A. // *Methods Enzymol.* 1986. V. 128. P. 417–431.
131. Jonas A., Kezdy K.E., Williams M.I., Rye K.-A. // *J. Lipid Res.* 1988. V. 29. P. 1349–1358.
132. Letizia J. Y., Phillips M.C. // *Biochemistry*. 1991. V. 30. P. 866–873.
133. Cheng M.C., Segrest J.P., Albers J.J., Cone J.T., Brouillette C.G., Chung B.H., Kashyap M., Glasscock M.A., Anantharamaiah G.M. // *J. Lipid Res.* 1987. V. 28. P. 913–929.
134. Anantharamaiah G.M., Venkatachalapathi Y.V., Brouillette C.G., Segrest J.P. // *Arteriosclerosis*. 1990. V. 10. P. 95–105.
135. Atkinson D., Deckelbaum R.J., Small D.M., Shipley G.G. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1977. V. 74. P. 1042–1046.
136. Atkinson D., Small D.M., Shipley G.G. // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1980. V. 348. P. 77–86.
137. Atkinson D., Tall A.R., Small D.M., Mahley R.W. // *Biochemistry*. 1978. V. 17. P. 3930–3933.
138. Hefele Wald J., Goormaghtigh E., De Meutter J., Ruyesschaert J.M., Jonas A. // *J. Biol. Chem.* 1990. V. 265. P. 20044–20050.
139. Handa T., Saito H., Tanaka I., Kakee A., Tanaka K., Miyajima K. // *Biochemistry*. 1992. V. 31. P. 1415–1420.
140. Nichols A.V., Blanche P.J., Gong E.L. // *CRC Handbook of Electrophoresis* / Ed. L. Lewis. Boca Raton, FL.: CRC Press, 1983. V.3. P. 29–47.
141. Nichols A.V., Gong E.L., Blanche P.J., Forte T.M. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1983. V. 750. P. 353–364.
142. Nichols A.V. // *Advances in Cholesterol Research* / Eds M. Estefani, J.B. Swaney. Caldwell NJ.: Telford Press, 1990. P. 315–365.
143. Tall A.R., Small D.M. // *Nature*. 1977. V. 265. P. 163–164.
144. Tall A.R. // *J. Lipid Res.* 1980. V. 29. P. 361–367.
145. Tall A.R., Green P.H.R. // *J. Biol. Chem.* 1981. V. 256. P. 2035–2044.
146. Eisenberg S. // *Methods Enzymol.* 1986. V. 121. P. 347–366.
147. Lagocki P.A., Scanu A.M. // *J. Biol. Chem.* 1980. V. 255. P. 3701–3706.
148. Замаева Н.Ю., Антонов И.В., Мишарин А.Ю. // *Биоорганическая химия*. 1992. Т. 18. С. 1221–1228.
149. Sharokh Z., Nichols A.V. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1985. V. 837. P. 296–304.
150. Forte T.M., Ren C.L., Nordhausen R.W., Nichols A.V. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1985. V. 834. P. 386–395.

151. *Nichols A.V., Blanche P.J., Gong E.L., Shore V.G., Forte T.M.* // *Biochim. Biophys. Acta.* 1985. V. 834. P. 285–300.
152. *Nichols A.V., Gong E.L., Blanche P.J., Forte T.M., Shore V.G.* // *Biochim. Biophys. Acta.* 1984. V. 793. P. 325–337.
153. *Nichols A.V., Gong E.L., Blanche P.J., Forte T.M., Shore V.G.* // *J. Lipid Res.* 1987. V. 28. P. 719–732.
154. *Jonas A., McHugh H.T.* // *Biochim. Biophys. Acta.* 1984. V. 794. P. 361–372.
155. *Barter P.J., Hopkins G.J., Gorjatschko L.* // *Atherosclerosis.* 1985. V. 58. P. 97–107.
156. *Rye K.-A., Barter P.J.* // *Biochim. Biophys. Acta.* 1986. V. 875. P. 429–438.
157. *Barter P.J.* // *Curr. Opin. Lipidol.* 1993. V. 4. P. 210–217.
158. *Kimura M.* // *Nature.* 1968. V. 217. P. 624–626.
159. *Curtiss L.K., Smith R.S.* // *J. Biol. Chem.* 1988. V. 263. P. 13779–13785.
160. *Banka C.L., Bonnet D.J., Black A.S., Smith R.S., Curtiss L.K.* // *J. Biol. Chem.* 1991. V. 266. P. 23886–23892.
161. *Marcel Y., Provost P., Koa H., Rafai E., Vu Dac N., Fruchart J.C., Rassart E.* // *J. Biol. Chem.* 1991. V. 266. P. 3644–3653.
162. *Fielding C.J., Fielding P.E.* // *J. Lipid Res.* 1995. V. 36. P. 211–228.
163. *Jonas A.* // *Biochim. Biophys. Acta.* 1991. V. 1084. P. 205–220.
164. *Minnich A., Collet X., Rogani A., Cladaras C., Hamilton R.L., Fielding C.J., Zannis V.J.* // *J. Biol. Chem.* 1992. V. 267. P. 16553–16560.
165. *Sorci-Thomas M., Kearns M.W., Lee J.P.* // *J. Biol. Chem.* 1993. V. 268. P. 21403–21409.
166. *Meng Q.H., Calabresi L., Fruchart J. C., Marcel Y.* // *J. Biol. Chem.* 1993. V. 268. P. 16966–16973.
167. *Ji Y., Jonas A.* // *J. Biol. Chem.* 1995. V. 270. P. 11290–11297.
168. *Rall S.C., Weisgraber K.H., Mahley R.W., Ogawa I., Fielding C.J., Uttermann G., Haas J., Steinmetz A., Menzel H.J., Assmann G.* // *J. Biol. Chem.* 1984. V. 259. P. 10063–10070.
169. *Allan C.M., Fidge N.H., Kannelos J.* // *J. Biol. Chem.* 1992. V. 267. P. 13257–13261.
170. *Sviridov D.D., Misharin A.Yu., Safonova I.G., Bushmakina N.G., Repin V.S., Smirnov V.N.* // *Biochim. Biophys. Acta.* 1988. V. 963. P. 119–125.
171. *Morrison J.R., McPherson G.A., Fidge N.H.* // *J. Biol. Chem.* 1992. V. 267. P. 13205–13209.
172. *Brinton E.A., Oram J.F., Chen C.-H., Alpers J.J., Bierman E.L.* // *J. Biol. Chem.* 1986. V. 261. P. 495–503.
173. *Savion N., Gamliel A.* // *Arteriosclerosis.* 1988. V. 8. P. 178–186.
174. *Fidge N.H., Nestel P.J.* // *J. Biol. Chem.* 1985. V. 260. P. 3570–3575.
175. *Phillips M.C., Johnson W.J., Rothblatt G.H.* // *Biochim. Biophys. Acta.* 1987. V. 906. P. 223–276.
176. *Fidge N., Kagami A., O'Connor M.* // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1985. V. 129. P. 759–765.
177. *Graham D.L., Oram J.F.* // *J. Biol. Chem.* 1987. J. Biol. Chem. V. 262. P. 7439–7442.
178. *Monaco L., Bond H.M., Howell K.E., Cortese R.* // *EMBO J.* 1987. V. 6. P. 3253–3260.
179. *Keso L., Lukka M., Ehnholm C., Baumann M., Viikko P., Olkinuora M.* // *FEBS Lett.* 1987. V. 215. P. 105–108.
180. *Tozuka M., Fidge N.* // *Biochem. J.* 1989. V. 261. P. 239–244.
181. *Ferreri K., Menon K.M.J.* // *Endocrinology.* 1990. V. 126. P. 2137–2144.
182. *Barbaras R., Puchois P., Fruchart J.-C., Pradines-Figueres A., Ailhaud G.* // *Biochem. J.* 1990. V. 269. P. 767–773.
183. *Weisgraber K.H., Bersot T., Mahley R.W., Franceschini G., Sirtori C.R.* // *J. Biol. Chem.* 1983. V. 258. P. 2508–2513.
184. *Franceschini G., Vecchio G., Gianfranceschi G., Maggiani D., Sirtori C.R.* // *J. Biol. Chem.* 1985. V. 260. P. 16321–16325.
185. *Franceschini G., Calabresi L., Tosi C., Gianfranceschi G., Sirtori C.R., Nichols A.V.* // *J. Biol. Chem.* 1990. V. 265. P. 12224–12231.
186. *Franceschini G., Baio M., Calabresi L., Sirtori C.R., Cheung M.C.* // *Biochim. Biophys. Acta.* 1990. V. 1043. P. 1–6.
187. *Von Eckardstein A., Funke H., Henke A., Altland K., Benninghoven A., Assmann G.* // *J. Clin. Invest.* 1989. V. 84. P. 1722–1730.
188. *Jonas A., von Eckardstein A., Kezdy K.E., Steinmetz A., Assmann G.* // *J. Lipid Res.* 1991. V. 32. P. 95–106.
189. *Nichols W.C., Gregg R.E., Brewer H.B., Benson M.D.* // *Genomics.* 1990. V. 8. P. 313–323.
190. *Von Eckardstein A., Funke H., Walter M., Altland K., Benninghoven A., Assmann G.* // *J. Biol. Chem.* 1990. V. 265. P. 8610–8617.
191. *Zannis V.I., Karathanasis S.K., Keutmann H.T., Goldberger G., Breslow J.L.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1983. V. 80. P. 2574–2578.
192. *McGuire K.A., Davidson W.S., Jonas A.* // *J. Lipid Res.* 1996. V. 37. P. 1519–1528.
193. *Rothblatt G.H., Bamberger M., Phillips M.C.* // *Methods Enzymol.* 1986. V. 129. P. 628–644.
194. *Johnson W.J., Mahlberg F.H., Rothblatt G.H., Phillips M.C.* // *Biochim. Biophys. Acta.* 1991. V. 1085. P. 273–298.
195. *Rothblatt G.H., Mahlberg F.H., Johnson W.J., Phillips M.C.* // *J. Lipid Res.* 1992. V. 33. 1091–1097.
196. *Castro G.R., Fielding C.J.* // *Biochemistry.* 1988. V. 27. P. 25–29.
197. *Orehov A.N., Misharin A.Yu., Tertov V.V., Khashimov K.A., Pokrovsky S.N., Repin V.S., Smirnov V.N.* // *Lancet.* 1984. V. 8412. P. 1149–1150.
198. *Fuki I.V., Preobrazhensky S.N., Misharin A.Yu., Bushmakina N.G., Menshikov G.B., Repin V.S., Karpov R.S.* // *Biochim. Biophys. Acta.* 1989. V. 1001. P. 235–238.
199. *Misharin A.Yu., Medvedeva N.V., Zamaeva N.Yu., Morozkin A.D.* // “Lipostabil Investigators Meeting” sponsored by Rhone-Poulenc-Rorer. Moscow Region. November 1992. Abstracts. P. 21–22.

200. Misharin A.Yu., Zamaeva N.Yu., Medvedeva N.V., Morozkin A.D. // *Atherosclerosis*. 1994. V. 109. P. 38.
201. Ordovas J.M., Cassidy D.K., Civeira F., Bisgaier C.L., Schaefer E.J. // *J. Biol. Chem.* 1989. V. 264. P. 16339–16342.
202. Matsunaga T., Hiasa Y., Yanagi H., Maeda T., Hattori N., Yamakawa K., Yamaguchi Y., Tanaka I., Obara T., Hamaguchi H. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1991. V. 88. P. 2793–2797.
203. Bruce C., Davidson D.S., Kussie P., Lund-Katz S., Phillips M.C., Ghosh R., Tall A.R. // *J. Biol. Chem.* 1995. V. 270. P. 11532–11542.
204. Liu D., Huang L., Moore M.A., Anantharamaiah G.M., Segrest J.P. // *Biochemistry*. 1990. V. 29. P. 3637–3643.
205. Owens R.J., Anantharamaiah G.M., Kahlon J.B., Srinivas R.V., Compans R.W., Segrest J.P. // *J. Clin. Invest.* 1990. V. 86. P. 1142–1150.

## The Interaction of Apolipoprotein A1 with Phospholipids and the Structure of the Resulting Mixed Micelles

A. Yu. Misharin

*Institute of Experimental Cardiology, Russian Cardiological Research and Production Complex,  
Tretya Cherepkovskaya ul. 15A, Moscow, 121552 Russia*

The structural features of apolipoprotein A1 (apoA1) that provide for the formation of its stable micellar complexes with phosphatidylcholine are discussed. The results of studies on the secondary structure and functional properties of separate sites of the apoA1 polypeptide chain are analyzed. The preparation procedures for discoidal micellar complexes of apoA1 with phosphatidylcholine are discussed, and the characteristics of the complexes are described. The surface activity of apoA1 incorporated into the micellar complexes is characterized, and the recombination mechanisms of lipid-protein micelles in model systems are discussed. The data discussed indicate that all currently known structural-functional properties of apoA1 and its involvement in metabolic and physiological processes are completely determined by the surface activity of the amphiphilic fragments of its conformationally labile polypeptide chain.

*Key words: apolipoprotein A1, lipid-protein interaction, lipid-protein micellar complexes*