



УТВЕРЖДАЮ
Директор Лаборатории
нейтронной физики им. И.М. Франка
В.Н. Швецов
2017 г.

ВЫПИСКА

из протокола заседания Научно-технического совета
НЭО НИКС ЛНФ от 7 сентября 2017 г.

Численный состав НТС – 15 человек.

ПРИСУТСТВОВАЛИ: 36 человек, из них 11 членов НТС.

СЛУШАЛИ: сообщение ГОРШКОВОЙ ЮЛИИ ЕВГЕНЬЕВНЫ о содержании, основных положениях и выводах диссертационной работы «СТРУКТУРА И ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ЛИПИДНЫХ МЕМБРАН В ПРИСУТСТВИИ ИОНОВ КАЛЬЦИЯ И ПОЛЯРНЫХ МОЛЕКУЛ ПО ДАННЫМ МАЛОУГЛОВОГО РАССЕЯНИЯ» на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 01.04.07 – Физика конденсированного состояния. Научный руководитель: кандидат физико-математических наук В.И. Горделий.

На обсуждении было отмечено, что работа отвечает требованиям, предъявляемым к диссертации на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук, и соответствует специальности 01.04.07 – Физика конденсированного состояния. Диссертация рекомендована к защите в диссертационном совете Д 720.001.06 при Лаборатории нейтронной физики и Лаборатории ядерных реакций ОИЯИ.

Заключение о диссертационной работе:

В диссертационной работе «Структура и взаимодействие липидных мембран в присутствии ионов кальция и полярных молекул по данным малоуглового рассеяния» представлены результаты детальных исследований влияния ионов Ca^{2+} и полярных молекул (диметилсульфоксида и диэтилсульфоксида) в широком диапазоне концентраций на структуру, фазовые переходы и межмембранные взаимодействия фосфатидилхолиновых мембран в избытке растворителя. Полученные результаты демонстрируют новые возможности метода малоуглового рассеяния нейтронов, в том числе в определении критической концентрации ионов кальция, при которой мультислойные везикулы ДМФХ (1,2-димиристоил-*sn*-глицеро-3-фосфатидилхолин) в избытке растворителя переходят из «связанного» состояния в «несвязанное», константы связывания двухвалентных катионов с липидным бислоем, а также ряда термодинамических параметров. Важным результатом работы является определение степени дегидратации липидного бислоя при взаимодействии сульфоксид-липид. Кроме того, на основе полученных данных о структурных переходах многослойных мембран в однослойные предложена модель слияния многослойных фосфатидилхолиновых мембран

в присутствии ионов кальция. Проведенные исследования впервые позволили проследить кинетику слияния фосфатидилхолиновых мембран, индуцируемого сульфоксидами, и определить факторы, влияющие на скорость и стабильность этого процесса, что является важным результатом как для понимания самого процесса слияния мембран, так и для практического применения полученных знаний в области биомедицины, биотехнологии, криосохранения биоматериалов, адресной доставки лекарств.

Основные результаты работы:

1. В результате исследования фазовых переходов ФХ мембран установлено, что уже незначительное содержание ионов кальция (0.1 мМ) в растворе $\text{CaCl}_2 \bullet 2\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$ приводит к росту температуры основного фазового перехода ДМФХ мембран. Увеличение мольной доли ДЭСО в растворе сульфоксид/вода: (1) приводит к значительному росту величины T_m ; (2) стабилизирует гелевую фазу при $X_{\text{ДЭСО}} \geq 0.2$, как и ДМСО; (3) уменьшает температурный диапазон перехода при $X_{\text{ДЭСО}} = 0.8$ до 1°C .
2. Определено, что переход МСВ ДМФХ (1.0 мас.%) в «несвязанное» состояние в присутствии ионов Ca^{2+} носит непрерывный характер как в ЖК, так и в гелевой фазе, и сопровождается формированием однослойных везикул с толщиной липидного бислоя, практически соответствующей толщине липидного бислоя для ОСВ в отсутствие ионов Ca^{2+} . Значения критических концентраций ионов Ca^{2+} , при которых наблюдается обсуждаемый переход, зависят от массовой доли липида в растворе $\text{CaCl}_2 \bullet 2\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$ и от температурных условий проведения эксперимента. Эти значения определены как: 0.33 и 0.37 мМ в L_β и L_α фазах, соответственно, при переходе системы из гелевой в ЖК фазу; $C_{\text{Ca}^{2+}} = 0.56$ мМ при переходе $L_\alpha \rightarrow L_\beta$ во всех исследуемых фазах.
3. Впервые по данным МУРН предложен способ определения константы связывания ионов Ca^{2+} с липидными мембранами: $K_{\text{Ca}^{2+}} = 22 \text{ M}^{-1}$ в гелевой фазе и $K_{\text{Ca}^{2+}} = 19 \text{ M}^{-1}$ в ЖК фазе; определен ряд физико-химических параметров в области перехода МСВ ДМФХ в «несвязанное» состояние: плотность поверхностного заряда $3.7 \cdot 10^{-2} \text{ Кл/м}^2$ при $T = 15^\circ\text{C}$ и $2.6 \cdot 10^{-2} \text{ Кл/м}^2$ при $T = 55^\circ\text{C}$, изменение энергии Гиббса составляет -7.4 кДж/моль в L_β фазе и -8.0 кДж/моль в L_α фазе; установлено, что процесс связывания ионов кальция с ДМФХ мембраной при $C_{\text{Ca}^{2+}} = C_{\text{Ca}^{2+}}^*$ является экзотермическим ($\Delta H = -3 \text{ кДж/моль}$, $\Delta S = 0.015 \text{ кДж/(моль}\cdot\text{K)}$); оценено изменение направления P^-N^+ диполя при связывании ионов Ca^{2+} ($0.4 \geq C_{\text{Ca}^{2+}} \geq 1.0 \text{ мМ}$) с полярной головой липидных молекул: 15° в ЖК фазе и 20.6° в гелевой фазе.
4. Установлено, что взаимодействие ДМСО-липид при $X_{\text{ДМСО}} = 0.2$ связано со значительной дегидратацией липидного бислоя. Использование дейтерированного ДМСО и метода вариации контраста по воде позволили впервые определить количество молекул ДМСО, сильно связанных с мембраной при $X_{\text{ДМСО}} = 0.2$. Их число равно 4, а общий объем таких молекул равен 430 \AA^3 .
5. Определено, что ДЭСО существенным образом уменьшает толщину липидного бислоя ФХ мембран: линейное уменьшение толщины однослойных везикул ДМФХ было обнаружено в диапазоне мольных долей 0-0.2 ДЭСО в растворе ДЭСО/ D_2O в

- L_{β} и L_{α} фазах, в то время как увеличение мольной доли ДМСО в растворе ДМСО/вода практически не влияет на толщину ОСВ в исследуемом диапазоне $X_{\text{ДМСО}}$ в L_{α} фазе.
6. Сравнительный анализ влияния ДЭСО и ДМСО на структуру и свойства липидных мембран позволил сделать вывод о важности гидрофобных взаимодействий при взаимодействии ДЭСО -липид.
 7. Спонтанные процессы МСВ \rightarrow ОСВ в присутствии ионов Ca^{2+} и ОСВ \rightarrow МСВ в присутствии сульфоксидов происходят путем слияния ФХ мембран. Показано, что слияние ФХ мембран, а также стабильность исходных и образованных систем зависят как от способа приготовления образцов, так и от температурных условий проведения эксперимента. Наиболее стабильной является система сформированных ОСВ ДМФХ в смеси $\text{CaCl}_2 \bullet 2\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$ при концентрации ионов кальция более 0.4 мМ. Система, которая возвращается в исходное состояние, испытывая переходы ОСВ \rightarrow МСВ в ЖК фазе и МСВ \rightarrow ОСВ в области фазового перехода $L_{\alpha} \rightarrow L_{\beta}$, соответствует ОСВ ДМФХ в D_2O при добавлении ДЭСО ($X_{\text{ДЭСО}} = 0.1$) в ЖК фазе.

Основные результаты, изложенные в диссертации, получены при значительном вкладе автора.

Результаты, представленные в работе, докладывались на международных и российских конференциях, на семинарах в отделе Нейтронных исследований конденсированных сред Лаборатории нейтронной физики им. И.М. Франка:

1. International SAS Workshop, **2006**, FLNP JINR, Dubna, Russia
2. XIX Совещание по использованию рассеяния нейтронов, **2006**, Обнинск, Россия
3. 4-th European Conference on Neutron Scattering, **2007**, Lund, Sweden
4. РСНЭ – НБИК 2009, **2009**, ИК РАН, РИЦ КИ, Москва, Россия
5. Всероссийская научная школа для молодежи «Современная нейтронография: фундаментальные и прикладные исследования функциональных и наноструктурированных материалов», ОИЯИ, **2010**, Дубна, Россия
6. 5th European conference on neutron scattering, **2011**, Prague, Czech Republic
7. SANS-YuMO user Meeting, May 27-30 **2011**, FLNP, JINR, Dubna, Russia
8. International Summer School and Workshop “Complex and Magnetic Soft Matter Systems: Physico-Mechanical Properties and Structure”, 3-7 September **2012**, Alushta, Ukraine
9. XXII СОВЕЩАНИЕ и Международная молодежная конференция по использованию рассеяния нейтронов в исследованиях конденсированного состояния (РНИКС-2012), ПИЯФ НИЦ «Курчатовский институт», 15 - 19 октября **2012**, Зеленогорск, Россия
10. II Международная конференция "Многомасштабное моделирование структур, строение вещества, наноматериалы и нанотехнологии", 11 – 14 ноября **2013**, Тула, Россия.
11. 17th International Seminar on “Neutron Scattering Investigation in Condensed Matter”, Adam Mickiewicz University, May **2014**, Poznan, Poland

12. International Conference "Condensed Matter Research at the IBR-2", **2014**, ЛНФ ОИЯИ, Дубна, РФ
13. Совещание и Молодёжная конференция по использованию рассеяния нейтронов и синхротронного излучения в конденсированных средах: РНСИ-КС-2014, **2014**, ФГБУ ПИЯФ, Гатчина, Россия
14. International Summer School and Workshop "Complex and Magnetic Soft Matter Systems: Physico-Mechanical Properties and Structure", **2014**, Joint Institute for Nuclear Research, Dubna, Russia
15. International workshop "Structure and Functions of Biomembranes", Joint Institute for Nuclear Research, Moscow Institute of Physics and Technology, **2014**, Dolgoprudny, Russia
16. 16th International Conference on Small-Angle Scattering (SAS-2015), 13 - 18 September, **2015**, Berlin, Germany
17. Workshop on Condensed matter research by means of neutron scattering methods - CMRNS Dubna, 4-7 July, **2015**, Constanta, Romania
18. International Conference "Condensed Matter Research at the IBR-2", 11-15 October **2015**, Dubna, Moscow region, Russia
19. XXIII Международная конференция "Математика. Компьютер. Образование.", 25-30 января **2016**, Дубна, Россия
20. Future of biology and soft matter research on reactor PIK, 14-16 May, **2017**, Peterhof, Russia
21. 3rd International Summer School and Workshop "Complex and Magnetic Soft Matter Systems: Physico-Mechanical Properties and Structure" – CMSMS'17, 28-30 June, **2017**, Dubna, Russian
22. WORKSHOP on Condensed matter research by means of neutron scattering methods (CMRNS-Dubna-2017), 14 - 16 July **2017**, Constanta, Romania.
23. 17th International Balkan Workshop on Applied Physics and Materials Science (IBWAP-2017), 11 - 14 July **2017**, Constanta, Romania.

Основное содержание диссертации опубликовано в работах:

1. **Горшкова Ю.Е.**, Горделий В.И., Исследование взаимодействия диметилсульфоксида с липидными мембранами с помощью малоуглового рассеяния нейтронов, (**2007**) Кристаллография, Т. 52, № 3, с. 560-563
2. Куклин А.И., Рогов А.Д., **Горшкова Ю.Е.**, Утробин П.К., Ковалев Ю.С., Рогачев А.В., Иваньков О.И., Кутузов С.А., Соловьев Д.В., Горделий В.И., Анализ спектров и потоков от криогенных и тепловых замедлителей нейтронов реактора ИБР-2 по результатам моделирования и экспериментов на установке малоуглового рассеяния ЮМО, (**2011**) Письма в ЭЧАЯ, т. 8, №2(165), с. 200-217.
3. **Gorshkova, Yu.E.**, Ivankov, O.I., Kuklin, A.I., Gordeliy, V.I. Investigation of DESO/LIPID membranes interaction by X-ray scattering (**2012**) IOP Conf. Series: Journal of Physics: Conf. Series, 351 (1), art. no. 012006. DOI: 10.1088/1742-6596/351/1/012006

4. **Gorshkova, Yu.E.** Fusion of unilamellar DMPC vesicles in presence of the sulfoxides: Effect of time and concentration (2015) Journal of Optoelectronics and Advanced Materials, 17 (9-10), pp. 1532-1537.
5. **Ю. Е. Горшкова, А. И. Куклин, В. И. Горделий,** Структура и фазовые переходы мультислойных везикул ДМФХ в присутствии ионов Ca^{2+} , (2016) Поверхность. Рентгеновские, синхротронные и нейтронные исследования, № 11, с. 34–45. DOI: 10.7868/S0207352816110068.
6. **Gorshkova, Yu.E., Ivankov, O.I.** Structure and phase transitions of the multilamellar DMPC membranes in presence of the DMSO and DESO sulfoxides (2017) IOP Conf. Series: Journal of Physics: Conf. Series 848, 012014. DOI: 10.1088/1742-6596/848/1/012014

ПОСТАНОВИЛИ:

1. Рекомендовать представленную ГОРШКОВОЙ ЮЛИЕЙ ЕВГЕНЬЕВНОЙ диссертацию на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 01.04.07 – Физика конденсированного состояния к защите в диссертационном совете Д 720.001.06 при Лаборатории нейтронной физики и Лаборатории ядерных реакций ОИЯИ.
2. Утвердить текст заключения о диссертационной работе ГОРШКОВОЙ ЮЛИИ ЕВГЕНЬЕВНЫ.

Председатель НТС НЭО НИКС ЛНФ



А.М. Балагуров

И.о. Секретаря НТС НЭО НИКС ЛНФ



В.И. Боднарчук

“Выписка верна”
Ученый секретарь ЛНФ ОИЯИ



Д. Худоба