

Е.О. Ромоданова,  
Т.С. Дюбко,  
Т.Ф. Морозова,  
В.О. Тіманюк

Харківський національний  
університет ім. В.Н. Каразіна,  
Інститут проблем кріобіології  
і кріомедицини НАН України,  
м. Харків,

Національний  
фармацевтичний університет,  
м. Харків

## Спектральні характеристики водних розчинів сироваткового альбуміну бика при низькоенергетичному лазерному опромінюванні компонентів розчину

Spectral characteristics of BSA aqueous solutions  
at low-energy laser irradiation  
of solution components

**Цель работы:** Сравнительное исследование влияния низкоэнергетического лазерного облучения (НЭЛО) на водные растворы сывороточного альбумина быка (САБ) и растворы САБ, приготовленные на облученной НЭЛО воде, методами флуоресцентной спектроскопии.

**Материалы и методы:** Проанализированы вторые производные спектров флуоресценции (2ПДФ) и синхронные спектры флуоресценции (ССФ) САБ.

**Результаты:** Конформационное состояние САБ изменяется как при непосредственном облучении белкового раствора НЭЛО, так и при растворении белка на предварительно облученной НЭЛО воде. Эти изменения отражаются на параметрах спектров собственной флуоресценции белка, их производных, а также производных спектров поглощения и на синхронных спектрах САБ.

**Выводы:** Установлено, что НЭЛО приводит к изменению конформационного состояния САБ, регистрируемого методами флуоресцентной спектроскопии.

Обнаруженные изменения конформации САБ, растворенного на облученной НЭЛО воде, и их сходство с изменениями, наблюдаемыми при действии лазера на водный раствор белка, позволяют предположить, что одним из путей влияния НЭЛО на биомолекулу может быть его непосредственное воздействие на структуру растворителя (воды).

**Ключевые слова:** САБ, конформация, облучение, лазер, растворитель, флуоресценция.

**Objective:** Comparative study of low energy laser irradiation (LELI) effect on bovine serum albumin (BSA) water solutions and BSA solutions, prepared using LELI irradiated water with fluorescence spectroscopy methods.

**Materials and Methods:** The BSA fluorescence spectra second derivatives (2DFS) and fluorescence synchronous spectra (FSS) were analyzed.

**Results:** BSA conformational state changed both in case of protein solution direct irradiation by LELI and when protein was dissolved into the water that was previously exposed to LELI. These changes were reflected in the parameters of protein 2DFS and FSS spectra.

**Conclusion:** It is established, that LELI effect results in BSA conformational changes, registered by fluorescence spectroscopy methods. The BSA dissolved on LELI irradiated water conformational changes and their similarity to changes observed at the laser action on protein water solution allow to assume, that one of the ways of LELI influence on biomacromolecules can be its direct influence on the solvent (water) structure.

**Key words:** BSA, conformation, irradiation, laser, solvent, fluorescence.

У медичній практиці отримано багато переконливих даних відносно універсальної лікувальної дії низькоенергетичного лазерного опромінення (НЕЛО) на всі рівні регуляції гомеостазу — субмолекулярний, внутріклітинний, тканинний, органний, системний і організаційний [1]. Низькоенергетичне лазерне опромінення виявляє властивості іорегулятора фізіологічних функцій організму, нейроендокринної, ендокринної та клітинної біохемічної активності. Лазеротерапія сприяє корекції імунного статусу при антибіотико- і хемотерапії, підвищує поріг граничних фізичних навантажень, справляє радіопротекторний ефект [2].

Поряд із цим у літературі констатують факт відсутності розуміння механізмів впливу НЕЛО на організм [3], що викликає труднощі в уніфікації підходів до дозування та прогнозування реакцій відповіді організму [4] і взагалі сприяє негативному ставленню деяких клініцистів до НЕЛО [3]. Це цілком підтверджує правило: без гарної теорії не може бути гарної практики [5], і робить актуальним завдання вивчення механізмів взаємодії лазерного опромінення з біологічними структурами на молекулярному рівні. Зокрема, незважаючи на ряд отриманих експериментальних даних, в яких показано, що НЕЛО впливає на між-

клітинні взаємодії [6], функціональний потенціал клітин та інше [7, 8], нині найменш дослідженими залишаються проблеми сприйняття клітинами НЕЛО, а також відсутні чіткі уявлення про акцепцію або рецепцію квантів світла [9]. Останніми роками чимало уваги приділяють здатності НЕЛО ініціювати вільнорадикальні реакції, які можуть впливати на процеси ПОЛ і активність ферментів у клітинах [8, 10, 11]. Водночас досі не розв'язані питання про роль води в реалізації механізмів біологічної дії НЕЛО. В роботі [12] зроблено припущення, що водний компонент системи є первинною мішенню дії електромагнітного випромінення (ЕМВ).

Відомо, що вода утворює динамічну тетраедричну сітку молекул, поєднаних водневими зв'язками. Ця сітка може спонтанно перебудовуватися внаслідок теплового руху [13–15]. Стан і властивості води суттєво змінюються в поверхневих шарах і в обмежених об'ємах, розміри яких близькі до ефективного діаметра молекули, коли переважають короткодіючі сили відштовхування. При цьому тетраедричні структури водневих зв'язків викривлюються, молекули намагаються розташуватися паралельно поверхні (обмежувальній площині), з'являється орієнтаційна впорядкованість з утворенням багатшарових структур, тобто система набуває властивостей рідких кристалів, будова яких залежить від розмірів обмежувальної системи і виду взаємодії води з межами [16]. Вважають, що поблизу гідрофобної поверхні структура приграничних шарів води наближається до структури льоду, тоді як поблизу гідрофільної поверхні вона аналогічна структурі вільної («об'ємної») води [17]. Деякі автори, однак, припускають, що поблизу заряджених полярних груп молекули води «впорядковуються», а на незаряджених поверхнях — «розпушуються» [18]. Така система виявляється чутливою до дії зовнішніх факторів [19–23], в тому числі електричних, магнітних і електромагнітних полів у широкому частотному діапазоні.

При експериментальних дослідженнях і теоретичному вивченні основну увагу приділяють питанням змінення структури і властивостей води під дією зовнішніх полів, механізмам поширення впливу поглиненої енергії в обсязі роз-

чину, процесам поглинання ЕМВ у вузькому приповерхневому шарі рідини та проблемам релаксації змінених властивостей системи після зняття зовнішнього поля [15, 24–26]. Основні результати експериментальних робіт дозволяють твердити, що реакція водних розчинів на зовнішнє поле суттєво залежить від складу розчину в момент включення поля. Динамічна квазірешітка води характеризується більшим діапазоном набору енергій, що визначає можливість поглинання широкого спектра енергії ЕМВ, а система водневих зв'язків може брати участь у передаванні енергії збудження молекулам розчиненої сполуки чи дефектам структури самої води. Після зняття поля процес релаксації триває близько двох годин і має квазіколивальний характер [26]. Тривалість і складність динаміки перехідних процесів дозволяють розглядати воду і водні розчини як нерівноважні системи, здатні до самоорганізації.

Недостатню дослідженість впливу електричних, магнітних і електромагнітних полів на структуру і властивості води визначає ще одна причина [16, 27]. Вона пов'язана з тим, що абсолютно чистої води в природі не існує — вода завжди містить домішки газів, іонів розчинених солей та інших речовин. Домішки суттєво впливають на властивості води [27], а властивості водних систем залежать від зовнішніх умов — температури, тиску, електромагнітного поля. Тому при аналізі властивостей реальної водної системи належить урахувати її повний склад.

Відомо, що вода відіграє вирішальну роль в утворенні і функціонуванні основних структур клітин. Зміни властивостей води можуть спричинитися до змін будови [28–31] і функціонального стану розчинених у ній біологічно важливих структур [32, 33].

Метою даної роботи є порівняльне дослідження впливу НЕЛО на водні розчини сироваткового альбуміну бика (САБ) і розчини САБ, приготовлені на опроміненій НЕЛО воді, методами флуоресцентної спектроскопії.

## Методика дослідження

Об'єктом дослідження були розчини САБ, фракція V («Sigma», США), приготовлені на дистильованій воді (рН 5,5) у кінцевій концентрації 6 мг/мл. Експерименти були виконані на 6 паралельних зразках білка.

Опромінювання виконували за допомогою гелій-неонового лазера з довжиною хвилі 632,8 нм, потужністю 25 мВт упродовж 5 хв [34].

Спектри флуоресценції білка реєстрували при температурі 22 °С на спектрофлуориметрі «Hitachi F-4010» (Японія) з автоматичною корекцією спектрів, ширинах вхідної і вихідної щілин монохроматора 5 і 5 нм відповідно та ході сканування монохроматора 0,2 нм. Спектри накопичували протягом 2 с. Спектри флуоресценції реєстрували одразу після опромінювання чи розчинення САБ на опроміненій воді.

Синхронні спектри флуоресценції білка [35] отримували при скануванні довжин хвиль збудження від 260 до 310 нм і довжин хвиль емісії від 280 до 330 нм. Оптимальний синхронний спектр спостерігався при спектральному зсуві монохроматорів, що дорівнював 20 нм. Приладова похибка всіх спектральних вимірювань не перевищувала  $\pm 0,5$  нм.

Аналіз спектрів виконували у програмі Microcal Origin 6.0. При статистичній обробці даних [36] використовували програмний пакет «Статграф».

## Результати та їх обговорення

У водному розчині молекула альбуміну гнучка і спроможна набувати різноманітної форми, що відбивається на її розмірах [37]. Альбумін може утворювати димери і схильний до агрегації ковалентної та нековалентної природи [37]. Сироватковий альбумін бика має два залишки триптофану на відміну від альбуміну людини, до складу якого входить один триптофан і 18 залишків тирозину [38–40]. Спектри випромінення власних хромофорів білка перетинаються, що утруднює їх аналіз. Крім того, в альбуміні тирозини дуже загашені, і тому в спектрі флуоресценції тирозиновий внесок значно слабший порівняно з флуоресценцією триптофанів [38, 39].

У даній роботі був виконаний аналіз других похідних спектрів флуоресценції (2ПСФ) зразків, що досліджувалися. Вони були використані через те, що порівняно із оригінальними спектрами дозволяють отримати детальнішу інформацію про стан мікрооточення ароматичних залишків білків, а в деяких випадках — ще й розділити внесок тирозинових і триптофанових складових у сумарний спектр. Застосування 2ПСФ для білків, флуоресценція яких зумовлена переважно триптофановими залишками, виправдане також і тому, що спектри флуоресценції триптофану мають значно більшу напівширину порівняно зі спектрами флуоресценції триптофану і положення їх максимумів можна визначити з меншою точністю, ніж у випадку спектрів поглинання [38].

Встановлено, що 2ПСФ триптофанових залишків ( $\lambda_{зб.} = 296$  нм) контрольних зразків САБ у водних розчинах при різних способах приготування вихідних неопромінених розчинів є досить стабільними. Довжини хвиль основних мінімумів 2ПСФ відповідають  $338 \pm 1,1$  і  $358 \pm 1,9$  нм. При збудженні флуоресценції тирозинових і триптофанових залишків ( $\lambda_{зб.} = 280$  нм) (рис. 1) положення 2ПСФ у шкалі довжин хвиль відповідає  $336 \pm 5$  і  $353 \pm 6,5$  нм, а значення інтенсивностей піків для окремих зразків більш варіабельні, ніж при збудженні світлом із довжиною хвилі 296 нм. При цьому більшу стабільність положення піків 2ПСФ, ніж їх інтенсивностей, можна розглядати як непрямий доказ того, що на положення максимумів спектрів випромінення досить сильно впливають дисперсійні сили, тоді як для інтенсивності випромінення більш значущими є впливи локального, індивідуального мікрооточення амінокислотних залишків. Ці припущення не суперечать відомим літературним даним [41].

Обробка розчинів САБ НЕЛО і розчинення білка на воді, обробленій НЕЛО, спричиняють змінення флуоресценції і 2ПСФ ( $\lambda_{зб.} = 296$  і 280 нм) у ділянці 325–350 нм, що більш помітно при приготуванні САБ на опроміненій воді. Виявлені відмінності 2ПСФ для контрольних і приготовлених на опроміненій воді розчинів білка зберігаються впродовж кількох годин після опромінювання. На рис. 1 наведені характерні 2ПСФ САБ після розчинення у воді, обробленій НЕЛО, одразу і через 40 хв після опромінювання.

Віднесення спектральних смуг 2ПСФ САБ до поглинання триптофанових або тирозинових залишків було виконано за допомогою методу синхронного сканування флуоресценції (ССФ), який дозволяє розділяти їх чіткіше [35, 42]. Нами були отримані синхронні спектри для контрольних зразків, опромінених розчинів САБ і розчинів САБ, приготовлених на опроміненій воді. Доведені до однакової інтенсивності в максимумі при 295 нм типові синхронні спектри для тирозинової і короткохвильової триптофанової компонент спектрів флуоресценції показані на рис. 2. Можна побачити, що ССФ білка, розчиненого в обробленій лазером

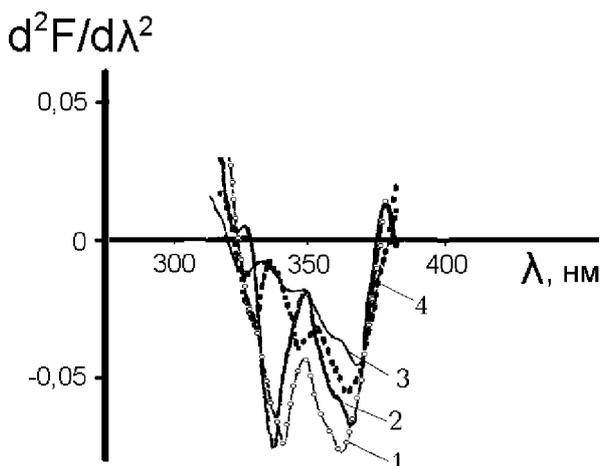


Рис. 1 — Вплив НЕЛО на 2ПСФ САБ ( $\lambda_{\text{вб.}} = 280$  нм): 1 — САБ (контроль); 2 — САБ, опромінений НЕЛО; 3 — САБ, приготовлений на опроміненій воді (спектр записаний одразу після приготування розчину); 4 — те ж саме, запис через 40 хв. По осі ординат відкладені значення других похідних пікових інтенсивностей флуоресценції ( $d^2F/d\lambda^2$ ), по осі абсцис — довжини хвиль ( $\lambda$ ) у нанометрах

Fig. 1 — The influence of LELI on 2DFS BSA ( $\lambda_{\text{вб.}} = 280$  nm): 1 — BSA (control); 2 — BSA exposed to LELI; 3 — BSA prepared using irradiated water (the spectrum was recorded immediately after the solution preparation); 4 — the same, recorded 40 min later. The axis of ordinates: values of other derivatives of peak fluorescence intensities ( $d^2F/d\lambda^2$ ); the axis of abscissae: wave length ( $\lambda$ ), nm

воді, відрізняється від ССФ контрольних зразків у ділянках 280–290 і 315–330 нм. Для зразків, у яких лазером обробляли водний розчин білка, простежується тенденція до появи на ССФ особливостей у спектральній ділянці 315–330 нм. Імовірно, що змінення флуоресценції САБ в опроміненій воді й при опромінуванні водного розчину білка принципово однотипові, однак при опромінуванні водних розчинів білка їх складніше зафіксувати внаслідок можливих компенсаційних взаємодій у системі вода — білок, існування яких відзначається в літературі, наприклад, при нагріванні водно-білкових розчинів [38].

Отже, у використаних нами умовах експериментів ССФ білка, розчиненого в обробленій лазером воді (1), відрізняється від ССФ для контрольних зразків (2) і дещо менше, але також відрізняється від ССФ для зразків, у яких лазером обробляли водний розчин білка (3).

Аналіз різницевого спектру ССФ свідчить, що в (3), порівняно із (2) і (1), менше або взагалі відсутній внесок тирозинових залишків із флуоресценцією в ділянці 282–288 нм і, можливо, з'являються більш довгохвильові спек-

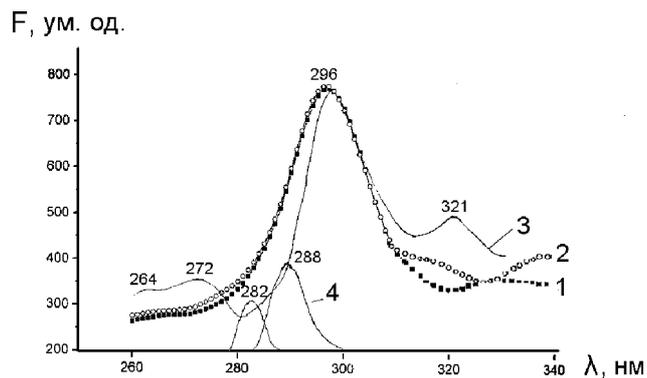


Рис. 2 — Вплив НЕЛО на ССФ тирозинових залишків САБ при скануванні збудження від 260 до 310 нм і випромінювання від 280 до 330 нм: 1 — САБ (контроль); 2 — розчин САБ, опромінений НЕЛО; 3 — САБ, приготовлений на опроміненій воді; 4 — різницевий спектр (3–1). По осі ординат відкладені пікові інтенсивності флуоресценції (F) в умовних одиницях, по осі абсцис — довжини хвиль ( $\lambda$ ) у нанометрах

Fig. 2 — The influence of LELI on SFS at excitation scanning from 260 to 310 nm and irradiation of 280–330 nm; 1 — BSA (control); 2 — BSA solution exposed to LELI; 3 — BSA prepared using irradiated water; 4 — difference spectrum (3–1). The axis of ordinates: peak fluorescence intensities (F); the axis of abscissae — wave length ( $\lambda$ ), nm

тральні форми з максимумами в ділянці 305–308 нм. При цьому розкладання різницевого спектру ССФ (3) і (1) на складові виявляє гетерогенність випромінювальних тирозинів у білку. Для триптофанових залишків у (3) відзначається поява флуоресценції в ділянці 320–330 нм, яка слабо виявляється і в (2). Таким чином, ССФ не тільки підтверджують результати, отримані при аналізі 2ПСФ, але й дозволяють розглядати зміни, що спостерігаються в 2ПСФ, за рахунок двох процесів: (1) поява в САБ, розчиненому на опроміненій воді, триптофанових залишків із більш короткохвильовим спектром флуоресценції, ніж у контролі, і (2) змінення спектрів флуоресценції тирозинових залишків головним чином за рахунок утрати короткохвильового випромінювання. Спектри поглинання і збудження САБ свідчать, що на довжинах хвиль близько 282 і 288 нм поглинаються ароматичні амінокислотні залишки білка. Це дозволяє припустити, що тирозинові залишки САБ не виявляються в спектрах флуоресценції в ділянці 280–290 нм з причини гасіння флуоресценції поглинальними групами, які знаходяться у їх найближчому мікро-

оточенні. Оскільки зменшення інтенсивності флуоресценції тирозинових залишків в межах 282–288 нм супроводжується деяким підсиленням флуоресценції в ділянці 305–315 нм, можна припустити, що ця флуоресценція належить до триптофанових залишків САБ.

Відомо, що для триптофанів із флуоресценцією при 308 нм характерна відсутність взаємодії з розчинником, оточення вкрай малорухливе, в ньому відсутні потенційні акцептори Н-зв'язку, а донори зайняті в підтримці  $\beta$ -структури білкової компоненти [43, 44]. Проте в триптофанів з флуоресценцією при 330 нм оточення вважається рухливішим. На відстані до 5,5 Е існують як донори, так і акцептори водню, які встигають утворити спочатку один, а потім і другий водневий зв'язок зі збудженими індолями кільцями [38, 43]. Існує думка, що триптофанові залишки з флуоресценцією близько 340–355 нм перебувають у водному оточенні [44, 45]. Отже, якщо флуоресценція при 305–320 нм і належить до триптофанів САБ, то це пов'язане, ймовірно, з випроміненням триптофану, який міститься всередині глобули.

Інтерпретувати отримані результати складно. Появу короткохвильової триптофанової флуоресценції (дані щодо ССФ і флуоресценції) зазвичай інтерпретують як переміщення триптофанових залишків у більш гідрофобне мікрооточення [44, 45]. З цього погляду можна припустити, що конформаційний стан частини макромолекул САБ, розчинених в обробленій лазером воді, створює можливості для переміщення частини залишків триптофану з більш полярного в більш гідрофобне мікрооточення всередині глобули білка. Гасіння флуоресценції частини тирозинових залишків паралельно з появою додаткової короткохвильової триптофанової флуоресценції може свідчити про перенесення енергії випромінення з тирозинових на внутріглобулярні залишки триптофану. Це можливо при перерозподілі тирозинових залишків, розташованих на поверхні та всередині глобули. При обробці НЕЛО частина тирозинових залишків може утворювати нові або втрачати попередні водневі зв'язки через зміни умови взаємодії з водою. На користь цих припущень свідчить, наприклад,

те, що тирозинові залишки, які поглинають світло в ділянці 280–290 нм, при утворенні водневих зв'язків змінюють свої спектральні характеристики [38], а флуоресценція тирозину в межах 300–315 нм може бути зумовлена його йонізованою формою [45].

Як підсумок аналізу отриманих результатів можна відзначити, що факт певних змін спектральних характеристик САБ як при розчиненні його в опроміненій воді, так і при опромінюванні розчину білка на даному етапі не викликає сумніву. Однак для вирішення питання про природу спостережуваних змін конформації САБ потрібні додаткові експерименти. На даному етапі ми схильні вважати, що зміни флуоресценції САБ пов'язані з деякою компактизацією глобули білка внаслідок перерозподілу системи водневих зв'язків у кооперативних шарах «гідратна вода — білок», що може спричинюватися змінами гідратної оболонки білка в результаті впливу НЕЛО на сітку водневих зв'язків у структурі розчинника («вільної» води), які близькі за розміром до довжини хвилі лазерного збудження.

Таким чином, незважаючи на те, що конкретний механізм впливу НЕЛО на воду залишається досі остаточно не з'ясованим, на наш погляд, отримані в роботі експериментальні дані свідчать на користь підтвердження гіпотези, згідно з якою водний компонент біологічної системи є первинною мішенню дії електромагнітного випромінення. Ймовірно, що цей ефект є одним із проявів загального впливу ЕМВ на біологічну матерію, який відбивається на всіх рівнях її організації, від молекулярного і клітинного до організменого.

## Висновки

1. Встановлено, що НЕЛО приводить до змін конформаційного стану САБ, які реєструються методами флуоресцентної спектроскопії.
2. Виявлені зміни конформації САБ, розчиненого на опроміненій НЕЛО воді, та їх подібність до змін, спостережуваних при дії лазера на водний розчин білка, дозволяють припустити, що одним з основних шляхів впливу НЕЛО на біомакромолекули може бути його безпосередня дія на структуру розчинника (води).

## Література

1. Москаленко В.Ф., Горбань Е.Н., Коробов А.М. // *Фотобиол. и фотомед.* — 2001. — Вып. 1, 2. — С. 6–7.
2. Низкоинтенсивная лазерная терапия / Под ред. С.В. Московина, В.А. Буйлина. — М.: ООО «Фирма «Техника». — 2000. — 724 с.
3. Самойлов Н.Г. // *Фотобиол. и фотомед.* — 2000. — Вып. 1, 2. — С. 76–83.
4. Джужа Т.В. // *Там же.* — С. 17–23.
5. Васильев Н.В., Коробов А.М., Коляда Т.И., Шахбазов В.Г. // *Там же.* — 1998. — Вып. 1. — С. 12–16.
6. Мостовников В.А., Мостовникова Г.Р., Плавский В.Ю., Плавская Л.Г. // *Матер. V съезда Белорусского обществ. объедин. фотобиологов и биофизиков.* — Минск: Ин-т фотобиол. НАН Беларуси, 2002. — Т. 83.
7. Клебанов Г.И., Теселкин Ю.О., Бабенкова И.В. и др. // *Бюл. эксперим. биол. и мед.* — 1997. — № 4. — С. 395–398.
8. Клебанов Г.И., Полтанов Е.А., Владимиров Ю.А. // *Биофиз.* — 2003. — Т. 48, вып. 3. — С. 462–473.
9. Самойлов Н.Г. // *Фотобиол. и фотомедиц.* — 1988. — Вып. 1. — С. 89–94.
10. Осипов А.Н., Борисенко Г.Г., Казаринов К.Д., Владимиров Ю.А. // *Вестн. Рос. Акад. мед. наук.* — 2000. — № 4. — С. 48–52.
11. Горбатенкова Е.А., Владимиров Ю.А., Парамонов Н.В., Азизова О.А. // *Бюл. эксперим. биол. и мед.* — 1989. — Т. 107, вып. 3. — С. 302–305.
12. Хургин Ю.И. и др. *Медико-биологические аспекты миллиметрового излучения.* — Харьков: ИРЭ АН СССР, 1987.
13. Мищенко К.П., Полторацкий Г.М. *Термодинамика и строение водных и неводных растворов электролитов.* — М.: Химия, 1973. — 328 с.
14. Антонченко В.Я., Давыдов А.С., Ильин В.В. *Основы физики воды.* — К.: Наук. думка, 1991. — 667 с.
15. Лобышев В.И., Рыжиков В.Д., Шихлинская Р.Э., Мазурова Т.Н. // *Биофиз.* — 1994. — Т. 34, вып. 4. — С. 565–570.
16. Антонченко В.Я. *Макроскопическая теория воды в порах мембран.* — К.: Наук. думка, 1983. — 160 с.
17. Derjaguin B.V., Churaev M.V. // *Progr. Surface Sci.* — 1981. — Vol. 114. — P. 69–130.
18. Сохадзе В.М., Мревлишвили Г.М., Есипова Н.Г. // *Биофиз.* — 1990. — Т. 35, вып. 3. — С. 410–414.
19. Степанян Р. // *Там же.* — 1999. — Т. 42, вып. 2. — С. 197–203.
20. Генкин М.В., Блюменфельд Л.А. // *Там же.* — 1997. — Т. 42, вып. 1.
21. Пономарев О.А., Фесенко Е.Е. // *Там же.* — 2000. — Т. 45, вып. 3. — С. 359–398.
22. Казаченко В.Н., Фесенко Е.Е., Кочетков К.В., Черемша Н.К. // *Там же.* — 2000. — Т. 45, вып. 3. — С. 359–398.
23. Казаченко В.Н., Дерюгина С.Н., Кочетков К.В., Фесенко Е.Е. // *Там же.* — Т. 44, вып. 5. — С. 796–805.
24. Карнаузов А.В., Пономарев В.О. // *Биомед. технологии и радиоэлектроника.* — 2001. — № 8. — С. 23–31.
25. Лобышев В.И., Рыжиков Б.Д., Шихлинская Р.Э. // *Журн. физич. химии.* — 1990. — Т. 64. — С. 2817–2819.
26. Лобышев В.И., Рыжиков Б.Д., Шихлинская Р.Э. // *Биофиз.* — 1998. — Т. 43, вып. 4. — С. 710–715.
27. Хиппель П., Шлейх Т. // *Структура и стабильность биологических макромолекул.* — М.: Мир, 1973. — С. 320.
28. Новиков В.В., Кувичкин В.В., Фесенко Е.Е. // *Биофиз.* — Т. 44, вып. 2. — С. 224–230.
29. Кувичкин В.В., Новиков В.В., Алюшев Ф.К., Еремин С.М., Марков И.А., Тен Ю.А. // *Там же.* — 2001. — Т. 46, вып. 1. — С. 43–45.
30. Фесенко Е.Е., Новиков В.В., Кувичкин В.В., Яблокова Е.В. // *Там же.* — 2000. — Т. 45, вып. 2. — С. 232–239.
31. Трикуленко О.В. *Структура гидрофобного ядра та каталітичні властивості глобулярних білків.* — Львів: Світ, 1993. — 62 с.
32. Дмитриев Л.Ф. // *Успехи соврем. биол.* — 2001. — Т. 211, № 5. — С. 419–428.
33. Мажуль В.М., Зайцева Е.М., Щербин Д.Г. // *Биофиз.* — 2000. — Т. 45, вып. 6. — С. 965–984.
34. Ромоданова Э.О., Дюбко Т.С., Морозова Т.Ф., Рошаль О.Д., Дістанов В.Б., Гуркаленко Ю.О. // *Фізіол. журн.* — 2003. — Т. 49, № 42. — С. 96–99.
35. Векшин Н.Л. // *Биофиз.* — 1996. — Т. 41, вып. 6. — С. 1176–1179.
36. Лакин Г.Ф. *Биометрия.* — М.: Высш. шк., 1990. — 352 с.
37. Кисилев М.А., Грызунов Ю.А., Добрецов Г.Е., Комарова М.Н. // *Биофиз.* — 2001. — Т. 45, вып. 3. — С. 423–427.
38. Демченко А.П. *Ультрафиолетовая спектродиффузия и структура белков.* — К.: Наук. думка, 1981. — 208 с.
39. *Альбумин сыворотки крови в клинической медицине* / Под ред. Ю.А. Грызунова и Г.Е. Добрецова. — М.: ИРИУС, 1994. — 226 с.
40. *Альбумин сыворотки крови в клинической медицине. Книга 2* / Под ред. Ю.А. Грызунова и Г.Е. Добрецова. — М.: ГЭОТАР, 1998. — 440 с.
41. Баренбойм Г.М., Доманский А.Н., Туроверов К.К. *Люминесценция биополимеров и клеток.* — М.-Л.: Наука, 1966. — 233 с.
42. Lloyd G.V., Evett I.W. // *Analyt. chem.* — 1977. — Vol. 49, № 12. — P. 1710.
43. Решетняк Я.К., Буриштейн Э.А. // *Биофиз.* — 1997. — Т. 42, вып. 2. — С. 293–299.
44. Буриштейн Э.А. *Собственная люминесценция белка. (Природа и применение)* // *Биофизика.* — М.: ВИНТИ АН СССР, 1977. — Т. 7. — 189 с.
45. Демченко А.П. *Люминесценция и динамика структуры белков.* — К.: Наук. думка, 1988. — 277 с.

Надходження до редакції 15.01.2004.

Прийнято 20.01.2004.

Адреса для листування:

Ромоданова Елла Олексіївна,  
кафедра медичної і біологічної фізики ХНУ ім. В.Н. Каразіна,  
пл. Свободи, 4, Харків, 61077, Україна