

КОНКУРЕНТНОЕ СВЯЗЫВАНИЕ СПИН-МЕЧЕНОЙ ЖИРНОЙ КИСЛОТЫ СЫВОРОТОЧНЫМ АЛЬБУМИНОМ И КЛАСТЕРАМИ НАНОЧАСТИЦ ШУНГИТОВОГО УГЛЕРОДА

Рожков С.П., Горюнов А.С.

*ФГБУН Институт биологии Карельского научного центра РАН,
Петрозаводск, Россия*

При взаимодействии растворимого белка с наноструктурами возникает целый ряд физиологически потенциально значимых эффектов: от окислительно-восстановительных до структурных. Среди них – влияние на связывание и обмен лигандов, что представляет интерес как с биомедицинской, так и природоохранной точек зрения. Сывороточный альбумин (СА), участвуя в транспорте жирных кислот (ЖК) в плазме крови, отличается неполным и переменным насыщением ЖК центров их связывания на белке. Изучение взаимодействия СА с таким малоизученным, но все более широко применяемым в различных технологиях наноматериалом, как водная нанодисперсия шунгитового углерода (ShC), представляет интерес для выяснения возможностей использования ShC для воздействия на перенос ЖК. Одной из наиболее информативных и непосредственных возможностей такого исследования является наблюдение методом ЭПР спин-зонда за динамическим поведением спин-меченной ЖК, вводимой в соответствующие системы.

В работе использовали гидрофобный спин-зонд на основе стеариновой ЖК 5-DOXIL (5DSA). Зонд вводили в стабильные водные дисперсии наночастиц ShC с исходной концентрацией углерода 0,1 мг/мл. Дисперсии, приготовленные по методике [1], охарактеризованные методами спектрофотометрии UV-Vis, рамановского рассеяния, динамического светорассеяния, были получены от фирмы Карбон-релиз. Средний размер нанокластеров ShC - 50 нм при нейтральных значениях pH (Nanosizer NanoZS, Malvern). Спектры регистрировались на радиоспектрометре ЭПР Bruker EMX с термостатируемой ячейкой резонатора (± 0.2 °C) в диапазоне температур от 7 до 60 °C. Амплитуда модуляции 1 Гс и СВЧ мощность 12,6 мВт не вызывали насыщения и искажения сигнала. Параметр анизотропии определяется отношением интенсивностей низкополевых и высокополевых компонент к центральной, а время корреляции $\tau^{\text{эфф}}$ - отношением низкополевых и высокополевых компонент с учетом ширины линий ΔH [2].

Спин-зонд растворялся в хлороформе, хлороформ выпаривался и на пленку наносилась дисперсия ShC, либо раствор сывороточного альбумина быка (САБ). При этом часть зонда переходила в дисперсию нанокластеров ShC или СА. В отсутствие ShC или белка зонд в раствор не переходил. В результате в спектре с ShC наблюдаются три узких линии с различной амплитудой компонент, отражающих быстрое анизотропное вращение зонда, что соответствует спектру зонда 5DSA в изотропной фазе жидкого кристалла [3]. Параметр анизотропии изменялся с температурой практически линейно от 0,3 до 0,9, а параметр порядка не превышал значения 0,15. Это указывает на быстрое вращение кольца с NO группой, вокруг молекулярной оси y , перпендикулярной NO связи радикала и p_z орбитали атома азота, с временем корреляции $\tau_{\perp}$ [3].

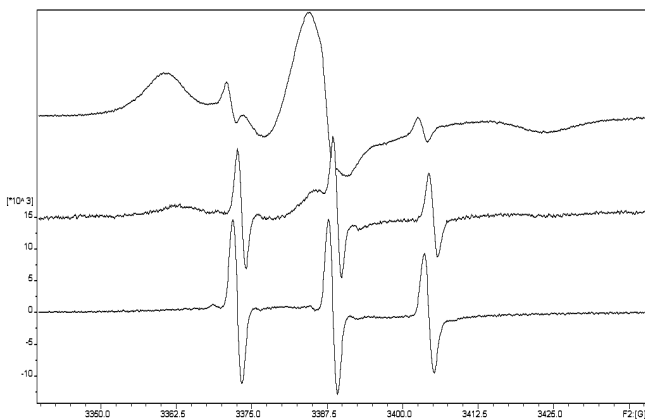


Рисунок - Экспериментальные спектры ЭПР дисперсий, содержащих спиновый зонд 5DSA. Сверху вниз: САБ; САБ+ShC; ShC.

На рисунке представлены спектры ЭПР 5DSA в комплексе с САБ, в смешанной дисперсии САБ+ShC и в дисперсии с ShC. Оказалось, что нанокластеры ShC и молекулы САБ способны конкурировать за адсорбцию 5DSA: при избытке в дисперсии САБ, 5DSA преимущественно сорбируется на САБ, но с ростом концентрации ShC идет перераспределение зонда в сторону его сорбции на кластерах ShC (средний спектр на рисунке).

Константа изотропной сверхтонкой структуры $2a_0$, равная расстоянию между крайними острыми компонентами спектра, свидетельствует,

что более полярным является окружение зонда, сорбированного на САБ, а наименее полярным - в системе САБ+ShC. Вероятно, это обусловлено тем, что молекулы САБ, образуя корону на кластерах ShC, экранируют микроокружение зонда от взаимодействия с растворителем.

Зависимости амплитуды низкочастотной компоненты спектра ЭПР 5DSA от мощности СВЧ ведут себя одинаково в образцах с ShC и с САБ, но различаются в ShC+САБ (сильнее насыщение), указывая на обмен между двумя спиновыми подсистемами в САБ+ShC, вероятно, в связи с образованием белковой короны.

Анализ температурной зависимости $1/\tau^{\text{эф}}$ зонда показывает, что для систем с САБ и ShC кривые имеют выраженную сигмоидную форму. Это может быть связано с фазовым переходом типа жидкость-жидкость в этих системах в диапазоне физиологических температур [1,4]. Для системы САБ+ShC эта зависимость - линейная, что указывает на отсутствие фазового перехода в смешанной системе САБ+ShC.

Таким образом, по данным ЭПР спин-зонда сродство 5DSA к ShCNP, обладающему большой удельной поверхностью [1], высокое. При этом обмен белком между короной ShCNP и раствором обуславливает обратимый перенос ЖК между САБ и ShC, чему также способствовало бы частичное разворачивание конформации САБ, наблюдающееся по разным данным при взаимодействии с другими наноструктурами.

Литература

1. Rozhkova N.N. Natural graphene-based shungite nanocarbon / N.N. Rozhkova, S.P. Rozhkov, A.S. Goryunov // Carbon Nanomaterials Sourcebook: Graphene, Fullerenes, Nanotubes, and Nanodiamonds. Vol.1. / Ed. K.D.Sattler, Boca Raton. - London, New York: CRC Press Inc. (Taylor & Francis Group), 2016. - P.151-174.
2. Лихтенштейн Г.И. Метод спиновых меток в молекулярной биологии. М.: Наука. - 1974. - 256 с.
3. Arcioni A. Electron Spin Resonance study of order and dynamics in a nematic liquid crystal containing a dispersed aerosol / A. Arcioni, C. Bacchiocchi, L. Grossi [et al.] // J. Phys. Chem. B – 2002. – V.106. – P.9245-9251.
4. Rozhkov S.P. Thermodynamic study of protein phases formation and clustering in model water-protein-salt solutions / S.P. Rozhkov, A.S. Goryunov // Biophys. Chem. – 2010. - V.151. - P.22-28.