

ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ СЕНСОРЫ АМИЛОИДНЫХ ФИБРИЛЛ НА ОСНОВЕ ПРОИЗВОДНЫХ ТИОФЛАВИНА Т

Степура В.И.¹, Гоголева С.Д.¹, Лавыш А.В.¹, Маскевич А.А.¹, Луговский А.А.²,
Тихомиров С.А.³, Буганов О.В.³, Baruah K.⁴, Sarma B.-K.⁴

¹Гродненский госуниверситет им. Я. Купалы, Гродно, Беларусь

²Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

³Институт физики им. Б.И. Степанова, Минск, Беларусь

⁴Shiv Nadar University, Dadri, Uttar Pradesh, India

Широко известно, что образование нерастворимых фибриллообразных агрегатов белков, так называемых амилоидных фибрилл (АФ), связано с нарушениями в процессе фолдинга белковых макромолекул и сопутствует ряду нейродегенеративных заболеваний. Определение концентрации АФ *in vitro* часто производится флуоресцентным методом с использованием зонда тиюфлавина Т (ThT), проявляющего свойства флуоресцентного молекулярного ротора (ФМР) [1]. Под ФМР понимают молекулы, для которых характерна сильная зависимость квантового выхода флуоресценции от вязкости микроокружения вследствие протекания в возбужденном состоянии конформационных изменений, в частности взаимного поворота молекулярных фрагментов, сопровождаемого переносом заряда (ТИСТ-процесс).

Нами изучены флуоресцентные свойства ряда бензотиазол-анилиновых производных ThT, отличающихся наличием метильных и метоксильных заместителей при атомах азота аминокгруппы и бензотиазольного цикла, а также в 6-ом положении бензотиазола. Обнаружено, что важным фактором, влияющим на величину усиления интенсивности флуоресценции при связывании с АФ является наличие метильной группы при атоме азота бензотиазола. Производные с N-метилированным бензотиазолом (ThT, KB-06, N-Me-BTA-2) находятся в катионной форме при нейтральных значениях pH и рост интенсивности при связывании с АФ составляет ~3 порядка. Производные с деметилированным атомом азота бензотиазола (BTA-0, BTA-1, BTA-2 и 6-Me-BTA-2) характеризуются более низким коэффициентом усиления интенсивности флуоресценции (~100 раз) при связывании с АФ и проявляют сенсорные свойства при низких pH [2]. Были оценены пределы обнаружения АФ из инсулина, которые оказались равными LOD(АФ)~ 0.05 нг/мкл при использовании ThT и KB-06 в качестве сенсоров. Сопоставление результатов измерений квантовых выходов и кинетики флуоресценции для производных ThT в одинаковых экспериментальных условиях позволяет выявить влияние молекулярной структуры и природы заместителей на величину константы скорости безызлучательного процесса дезактивации возбужденного состояния. По мере увеличения размера фрагментов (если введение заместителей не влияет существенно на π -электронную систему хромофора, а также на донорные и акцепторные свойства фрагментов, например для ряда N-Me-BTA-2, ThT, KB-06,) скорость ТИСТ- процесса замедляется. Данная информация важна для осуществления направленного синтеза флуоресцентных зондов на основе ФМР с заданными свойствами и позволяет подстраивать параметры чувствительности флуоресценции зондов для разных диапазонов микровязкостей. Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ (грант Ф17ИНДГ-008) и программы Конвергенция (задание 3.04).

Библиографические ссылки

1. Stsiapura, V.I., et al., Thioflavin T as a Molecular Rotor: Fluorescent Properties of Thioflavin T in Solvents // J Phys Chem B. 2008. Vol. 112. P. 15893-15902.
2. Gogoleva, S.D., et al., Neutral derivatives of Thioflavin T do not exhibit viscosity-dependent fluorescence // J Photochem Photobiol A.: Chem. 2018. Vol. 358. P. 76-91.