

ЗМЭНЫ Ў БЯЛКОВАЙ СТРУКТУРЫ АЛЬБУМІНА І ТРАМБІНА ПАД УПЛЫВАМ АМФІФІЛЬНЫХ ФОСФАТНА-СОЛЕВЫХ БУФЭРАў

Церахава М.М.¹, Магіера Я.², Іонаў М.², Ціў Дж.³, Мажараль Ж.-П.³, Брышэўска М.², Шчарбін Д.Г.¹

¹*Інстытут біяфізікі і клетачнай інжынерыі НАН Беларусі, Мінск, Беларусь*

²*Лодзінскі Універсітэт, Лодзь, Польшча*

³*Нацыянальны цэнтр навуковых даследаванняў, Тулуза, Францыя*

Амфіфільныя дэндроны з'яўляюцца звышразгалінаванымі монадысперснымі сінтэтычнымі наначасткамі, якія па сваёй структуры нагадваюць асобныя галіны дэндрымераў. Узаемадзеянні ў водным раствору паміж такімі галінамі забяспечваюцца наяўнасцю гідрафобных факальных груп у пункце пачатку разгалінавання дэндронаў, што дазваляе ім утвараць у водным асяроддзі міцэлападобныя структуры. На супрацьлеглым баку асобных малекул дэндроны нясуць тэрмінальныя групы – як правіла, гідрафільныя, якія забяспечваюць узаемадзеянні гэтых наначастак з навакольным асяроддзем, у тым ліку, з клеткамі. Хімічная мадыфікацыя факальных і тэрмінальных груп, а таксама будовы саміх галін дазваляе варыяваць іх біяхімічныя ўласцівасці, што і даследуецца ў дадзенай працы на прыкладзе даследавання ўплыву розных па хімічнай структуры амфіфільных дэндронаў на другасную структуру і канфармацыю чалавечых альбуміну і трамбіну.

Даследаванні амфіфільных дэндроны адрозніваліся па генерацыі (першая і другая) і будове тэрмінальных і факальных груп. Уплыў амфіфільных дэндронаў на альбумін і трамбін быў даследаваны з дапамогай метадаў тушэння трыптафанавай флуарэсцэнцыі і кругавога дыхраізму. Для даследаванняў выкарыстоўваліся бялкі сывараткі крыві: чалавечы сываратачны альбумін і чалавечы трамбін. Растворы бялкоў для даследавання трыптафанавай флуарэсцэнцыі рыхтаваліся ў фасфатна-селевым буферы, рН 7,4, для кругавога дыхраізму – у фасфатным буферы, рН 7,4. Канцэнтрацыі амфіфільных дэндронаў складалі ад 0 да 10 мкМ.

Даследаванне тушэння трыптафанавай флуарэсцэнцыі дазволіла ацаніць ступень уплыву амфіфільных дэндронаў на канфармацыю амльбуміну і трамбіну, бо змены ў бялкавай глобуле прыводзяць да змен у выхадзе флуарэсцэнцыі, што звязана са змяненнем гідрафобнасці мікраасяроддзя трыптафанілаў у яе складзе. У выніку даследавання было выяўлена, што ўплыў амфіфільных дэндронаў на канфармацыю белковых малекул у першую чаргу залежыць ад будовы тэрмінальных груп. Так пад уплывам дэндронаў з піперыдзінавымі тэрмінальнымі групамі графік тушэння флуарэсцэнцыі выходзіў на плато ўжо пры канцэнтрацыі дэндронаў ~4 мкМ, прычым інтэнсіўнасць складала ~40% адносна кантролю, тады як у выпадку з піралідзінавымі выхад на плато адбываўся пры канцэнтрацыі не менш за 5 мкМ, і яго інтэнсіўнасць складала не больш за 20% адносна кантролю. Таксама дэндроны з піперыдзінавымі тэрмінальнымі групамі прыводзілі да зрушэння палажэння максімуму флуарэсцэнцыі ў кароткахвалёвую вобласць.

Метад кругавога дыхраізму выкарыстоўваецца для даследавання аптычна актыўных малекул, што дазваляе ўскосна ацаніць змены ў другаснай структуры бялковых малекул. У выніку даследавання высветлілася, што ўплыў амфіфільных дэндронаў на другасную структуру бялкоў у найбольшай ступені вызначае іх генерацыя. Так дэндроны другой генерацыі мацней змянялі другасную структуру бялкоў, чым дэндроны першай генерацыі, а таксама агулам уплыў дэндронаў на малекулы трамбіну быў меншым, чым на малекулы альбуміну.

Дадзенае даследаванне падтрыманае Беларускай рэспубліканскай фундаментаальных даследаванняў і Дзяржакамітэтам РБ па навуцы і тэхналогіях, грант Б20СЛКГ-002.