

ПРИРОДНЫЕ ПОЛИСАХАРИДЫ ПЕКТИН И ФУКОИДАН СНИЖАЮТ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИЮ СИСТЕМЫ ЛЮЦИФЕРИН-ЛЮЦИФЕРАЗА

Р. Х. Фирова¹, Д. В. Мосиевич^{1,2}, Н. Г. Балабушевич², О. М. Панасенко¹,
Е. В. Михальчик¹

¹ФНКЦ физико-химической медицины им. Ю.М. Лопухина ФМБА, Москва, Россия

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Люциферазу используют непосредственно для измерения уровня АТФ, а ее ген встраивают в качестве репортерного в геном клеток растений, бактерий и млекопитающих. Активность люциферазы в клеточных лизатах удобно измерять методом хемилюминесценции (ХЛ). Для правильной интерпретации результатов важно исключать эффекты, связанные с воздействием на фермент компонентов, содержащихся в среде измерений. Пектин и фукоидан входят в состав клеток растений и водорослей, а их биологическая активность, в том числе, при включении в нано- и микроносители для доставки белков и других препаратов, служит объектом многочисленных исследований.

Целью нашей работы была оценка эффектов природных полисахаридов – коммерческих пектина из яблок и фукоидана из *Fucus vesiculosus* на активность люциферазы светляков *Luci $\acute{o}$ la mingrelica* («Люмтек», Россия) в модельной бесклеточной системе *in vitro*. К раствору смеси люциферин-люцифераза в 0,05 М Трис буферном растворе (рН 7,8), содержащему 5 мМ MgCl₂, добавляли полисахариды в разных концентрациях, регистрировали кинетику ХЛ и оценивали их эффекты по степени снижения ХЛ относительно контроля. В параллельных экспериментах индуцировали ХЛ ответ добавкой АТФ к раствору смеси люциферин-люцифераза, а затем вносили полисахариды и оценивали снижение ХЛ за 5 мин относительно исходного уровня, что позволило получать более воспроизводимые результаты. Независимо от схемы анализа, было зарегистрировано снижение ХЛ под действием пектина (C₅₀≈0.5 мг/мл) и фукоидана (C₅₀≈0.05 мг/мл). При добавлении в пробы с полисахаридами 5 мг/мл бычьего сывороточного альбумина (БСА, рI 4,9) или лактоферрина (рI 8,0–8,5) ингибирующие эффекты полисахаридов проявлялись в меньшей степени и зависели от концентрации белка. Лактоферрин сильнее, чем БСА, препятствовал ингибирующему действию полисахаридов. Следует отметить, что для уменьшения ингибирующего эффекта фукоидана требовались более высокие концентрации БСА и лактоферрина, чем для пектина. По-видимому, ингибирование люциферазы (рI 6,2–6,3) анионными полисахаридами происходит вследствие полиэлектролитных взаимодействий и зависит от природы полисахарида, поскольку эффекты фукоидана были выражены значительно сильнее, чем эффекты пектина. Фукоидан относится к сульфатированным полисахаридам и имеет ζ-потенциал равный -56 мВ, тогда как пектин содержит карбоксильные группы, и его ζ-потенциал составляет -20 мВ. Эти особенности могут в значительной степени обуславливать выявленные в настоящей работе различия в реакции этих полисахаридов с белками (люциферазой, БСА и лактоферрином). Полученные результаты впервые показали возможность ингибирования люциферин-люциферазной реакции структурными полисахаридами клеток растений и водорослей, предположительно, в результате белково-полисахаридного взаимодействия.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 23-45-10026), с использованием оборудования, приобретенного на средства Программы развития МГУ имени М.В. Ломоносова и средств по регистрационной теме 121041500039-8.