

Секция «Биоинженерия и биоинформатика»

Исследование поведения молекул лизоцима при иммобилизации в растворы полимеров

Декина Светлана Сергеевна

Кандидат наук

*Физико-химический институт им. А.В. Богатского НАН Украины, отдел
медицинской химии, Одесса, Украина*

E-mail: s.dekina@gmail.com

Нековалентные взаимодействия белковых биологически активных веществ (БАВ) с полимерными носителями представляют интерес, поскольку позволяют создавать стабильные, активные препараты пролонгированного действия с контролируемым высвобождением, направленным местом всасывания, разрабатывать новые пути их введения для использования в различных областях медицины

Целью работы являлось исследование поведения молекул лизоцима при иммобилизации в растворы желатина и натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы методом матрично активированной лазерной десорбции/ионизации (МАЛДИ).

В исследованиях использовали коммерческий препарат лизоцима яичного белка КФ 3.2.1.17 («Applichem», Бельгия), пищевой желатин (ГОСТ 11253-89), натриевую соль карбоксиметилцеллюлозы (Na-КМЦ) (Akucell AF 3265 пищ., Россия).

Гидролитическую активность лизоцима определяли бактериолитическим методом, используя в качестве субстрата ацетоновый порошок *Micrococcus lysodeikticus* (штамм 2665) [1]. Включение лизоцима (0,01 %) в водные растворы полимеров (0,5, 1,5, 6,0 %) проводили при следующих массовых отношениях: 1: 50, 1: 150, 1: 600 при температуре 30 оС, рН 6,2, перемешивая в течение 30 мин. Масс-спектрометрические исследования проводили на приборе Autoflex II (Bruker Daltonics Inc) методом МАЛДИ согласно [2].

Исследование активности лизоцима в растворах полимеров показало ее количественное сохранение вне зависимости от массовых отношений фермент: носитель. Так активность свободного лизоцима составила 62000 ± 4000 ед/мг фермента, включенного в растворы полимеров находилась в пределах $57970 \pm 2700 - 61860 \pm 3090$ ед/мг фермента.

Из данных литературы известно, что в водных растворах лизоцим образует олигомерные структуры за счет нековалентных взаимодействий, участвуя в молекулярных механизмах агрегатообразования [3]. Методом МАЛДИ подтверждено наличие ассоциатов лизоцима в водном растворе [4], при этом молекула фермента представлена как мономером с М.м. 14,225 кДа, так и в олигомерных формах от димера с М.м. 28,527 кДа до октамера с М.м. 114,845 кДа.

Показано, что в процессе иммобилизации лизоцима в желатин при увеличении массового отношения фермент: носитель наблюдается распад олигомерных ассоциатов на мономеры, аналогичная ситуация наблюдается и в случае Na-КМЦ.

Полученные результаты, затрагивающие молекулярные механизмы дезагрегации ассоциатов лизоцима, индуцируемой процессом иммобилизации в исследуемые полимеры, могут быть использованы при разработке эффективных препаратов лизоцима пролонгированного действия.

Литература

1. Левицкий А.П. Лизоцим вместо антибиотиков. Одесса: КР ОГТ. 2005.
2. Binkley S.L., Ziegler C.J., Herrick R.S. et al. Specific derivatization of lysozyme in aqueous solution with $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3^+$ Rowlett // Chem. Commun. 2010. V. 46. P. 1203-1205
3. Dai G. L., Yu Y., Kang Q., Hu W.R. Studying aggregate in lysozyme solution by atomic force microscope // Chinese Chemical Letters. 2004. № 10 (15). P. 1237-1240.
4. Декина С.С., Романовская И.И., Громовой Т.Ю. Влияние полимеров на процессы ассоциации молекул лизоцима // Biopolymers and cells. 2011. № 6 (27). P. 442-445

Слова благодарности

Автор выражает благодарность своему научному консультанту д.б.н. Ирине Игоревне Романовской и с.н.с., к.х.н. Тарасу Юрьевичу Громовому за неоценимую помощь в работе.