

Материалы XVIII международной
научной конференции

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ И ХИМИИ



БФФХ - 2023



СЕВАСТОПОЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ



СЕВАСТОПОЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

СЕВАСТОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ М.В. ЛОМОНОСОВА

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ
БИОЛОГИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ И ХИМИИ**

БФФХ – 2023

*Материалы XVIII международной научной конференции
г. Севастополь, 11-15 сентября 2023 г.*

**MODERN TRENDS IN BIOLOGICAL PHYSICS AND CHEMISTRY
BPPC – 2023**

*Proceedings of XVIII International Scientific Conference
Sevastopol, 11-15 of September, 2023*

Севастополь 2023

Целью настоящей работы являлось исследование особенностей взаимодействия цистеиновой протеазы бромелина (КФ 3.4.22.32) с водорастворимыми производными хитозана – карбоксиметилхитозаном, *N*-(2-гидроксипропил)-3-триметиламмоний хитозаном, сульфатом хитозана и ацетатом хитозана – при ее иммобилизации и выявление структурных особенностей и каталитических свойств полученных комплексов.

Методом молекулярного докинга выявлено, что сульфат хитозана и карбоксиметилхитозан образуют наибольшее количество водородных связей с бромелином по сравнению с ацетатом хитозана и *N*-(2-гидроксипропил)-3-триметиламмоний хитозаном, что приводит к более высокому выходу иммобилизации по белку на этих полимерах (до 58 и 65% соответственно). Кроме того, все рассматриваемые модификации хитозана, кроме *N*-(2-гидроксипропил)-3-триметиламмоний хитозана, образуют водородные связи с His158, расположенным в активном центре бромелина, что, по-видимому, объясняет значительное снижение активности биокатализаторов по сравнению с раствором свободного энзима. *N*-(2-гидроксипропил)-3-триметиламмоний хитозан проявляет только слабые физические взаимодействия с His158, что, возможно, модулирует структуру активного центра бромелина и приводит к повышению его общей протеазной активности до 208 % и до 158% удельной активности. Исследование указанных комплексов методом ИК-спектроскопии показало, что взаимодействие между *N*-(2-гидроксипропил)-3-триметиламмоний хитозаном и бромелином не оказывает значительного влияния на вторичную структуру фермента.

Таким образом, получены биокатализаторы на основе бромелина с различной протеазной активностью и исследованы особенности образования фермент-полисахаридного комплекса. Учитывая высокие перспективы применения цистеиновых протеаз в составах по уходу за ранами различной этиологии, полученные данные могут быть использованы при разработке инновационных мультифункциональных ранозаживляющих материалах.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект № 21-74-20053.

1. Holyavka M.G., Artyukhov V.G., Kondratyev M.S. et al. In silico design of high-affinity ligands for the immobilization of inulinase // *Computers in Biology and Medicine*, 2016, vol. 71, pp. 198-204, doi: 10.1016/j.compbiomed.2016.02.015.

2. Ковалева Т.А., Холявка М.Г., Артюхов В.Г. Характеристика инулиназ. пути регулирования и стабилизации их активности // *Биотехнология*, 2012, № 1, С. 43-63.

3. Холявка М.Г., Ковалёва Т.А., Хрупина Е.А. и др. Создание гетерогенного ферментного препарата на основе иммобилизованной инулиназы из *Helianthus tuberosus* // *Биотехнология*, 2012, № 6, с. 31-42.

4. Ol'shannikova S.S., Red'ko Y.A., Lavlinskaya M.S. et al. Preparation of papain complexes with chitosan microparticles and evaluation of their stability using the enzyme activity level // *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2022, vol. 55, no. 11, pp. 1240-1244, doi: 10.1007/s11094-022-02564-8.

5. Sorokin A.V., Olshannikova S.S., Lavlinskaya M.S. et al. Chitosan graft copolymers with n-vinylimidazole as promising matrices for immobilization of bromelain, ficin, and papain // *Polymers*, 2022, vol. 14, no. 11, article no. 2279, doi: 10.3390/polym14112279.

КОМПЛЕКСЫ ЖЕЛЕЗА (III) С КАТЕХИНОМ И ИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С ДНК Complexes of Iron (III) with Catechin and their Interaction with DNA

Никитин Д.А., Касьяненко Н.А.

Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, РФ, st075754@student.spbu.ru

Флавоноиды, которые содержатся в растительном сырье (чае, красном вине, плодах и ягодах), в последнее время привлекают интерес в связи с их включением в состав медицинских препаратов, отличающихся биосовместимостью и низкой токсичностью. Среди флавоноидов наиболее перспективными соединениями в этой связи являются катехины, которые отвечают за антиоксидантные свойства этих продуктов. Биологическая активность катехинов широко описана в литературе: эти соединения обладают противовирусными, антибактериальными, противогрибковыми и даже противоопухолевыми свойствами (например, противоопухолевую активность показывает эпигаллокатехин галлат) [1]. В недавних исследованиях было показано усиление биологической активности у (+)-катехина в присутствии ионов железа [2]. В рамках проведенного исследования было запланировано изучить взаимодействие ионов железа (III) с (+)-катехином в растворе, а также рассмотреть возможность формирования комплексов, содержащих ДНК, железо и катехин одновременно.

В работе использовали методы ультрафиолетовой спектрофотометрии (использовали спектрофотометр СФ-2000, Россия), вискозиметрии (с помощью низкоградиентного ротационного вискозиметра типа Зимма-Крозерса), динамического рассеяния света (установка PhotoCor, Россия) и атомной силовой микроскопии (Nanoscope IV Bruker). Использовали коммерческие препараты фирмы Sigma Aldrich: высокомолекулярную тимусную ДНК, соль FeCl₃, (+)-катехин. Молекулярная масса ДНК M=12×10⁶ Да была определена вискозиметрически, Растворы солей FeCl₃, NaCl готовили из соответствующих насыщенных водных растворов, растворы (+)-катехина готовили по навеске.

Во всех исследуемых растворах концентрация NaCl составляла 0,005 М. Было показано, что Fe^{3+} и катехин взаимодействуют в водно-солевых растворах, причем в растворе происходит формирование дискретных наночастиц, гидродинамический радиус которых, согласно данным метода динамического светорассеяния, составлял (40 ± 10) нм и (200 ± 50) нм. Существование таких наночастиц подтверждается данными атомной силовой микроскопии. Оптическая плотность растворов катехина возрастала по мере добавления всё больших концентраций хлорида железа, однако вычисленные спектры поглощения катехина говорят об отсутствии изменений в электронной структуре его хромофоров, то есть связывание катехинов и ионов железа происходит, видимо, по боковым гидроксигруппам катехина.

Катехин в условиях эксперимента не взаимодействует с отрицательно заряженной ДНК. Действительно, ни анализ спектров поглощения ДНК в присутствии различных концентраций катехина, ни вискозиметрия не выявили какого-либо взаимодействия между компонентами. Вместе с тем, ионы Fe^{3+} хорошо связываются с ДНК. При определенных концентрациях ионов железа в растворах ДНК макромолекула конденсируется, а затем при $C(Fe^{3+}) > 4 \times 10^{-3}$ М ДНК выпадает в осадок.

При формировании трёхкомпонентных систем (ДНК-катехин-железо) было показано, что порядок смешивания компонентов отражается на итоговом результате. При этом совокупность данных разных методов указывала на формирование комплексов, в которых ДНК контактировала и с ионами железа, и с катехином.

Результаты методов низкоградиентной вискозиметрии и динамического рассеяния света показывают, что размера клубка ДНК в растворах с ионами железа падают. Это может быть следствием изменения полиэлектролитного набухания макромолекулы при связывании с ионами железа. Вязкость же растворов ДНК в присутствии катехинов не изменилась, что показывает отсутствие взаимодействия между этими молекулами. В тройных системах размеры ДНК отличались и от наблюдаемых при ее комплексообразовании с ионами железа без катехина, и от размеров ДНК в присутствии катехина, что указывает на формирование комплексов ДНК-катехин-железо.

Таким образом, было показано, что молекула ДНК не вступает во взаимодействие с молекулами катехина в растворе, однако она способна образовывать комплексы с катехином в присутствии ионов трёхвалентного железа.

1. Cadoná F.C., Dantas R.F., de Mello G.H., Silva-Jr F.P. Natural products targeting into cancer hallmarks: An update on caffeine, theobromine, and (+)-catechin // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2021, pp. 1-20, doi:10.1080/10408398.2021.1913091.

2. Manna M.S., Saha P., Ghoshal A.K. Iron complexation of pharmaceutical catechins through selective separation // *RSC Advances*, 2014, vol. 4, pp. 26247-26250, doi: 10.1039/c4ra03683b.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ИНГИБИРУЮЩИХ ЭФФЕКТОВ ГИПОМАГНИТНОГО ПОЛЯ И КОМБИНИРОВАННЫХ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ НА ПРОДУКЦИЮ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА (АФК) НЕЙТРОФИЛАМИ

Comparative Analysis of the Inhibitory Effects of Hypomagnetic Field and Combined Magnetic Fields on the Production of Reactive Oxygen Species (ROS) by Neutrophils

Новиков В.В.¹, Яблокова Е.В.¹, Шаев И.А.¹, Новикова Н.И.², Фесенко Е.Е.¹

¹ Институт биофизики клетк РАН – обособленное подразделение ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН», г. Пушкино, РФ, docmag@mail.ru

² Филиал Института биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, г. Пушкино, РФ

Ранее мы показали, что в результате пребывания нейтрофилов в ослабленном (в ~ 2500 раз) с помощью системы магнитных экранов геомагнитном поле (ГМП) фоновая продукция активных форм кислорода (АФК) в них существенно снижалась [1]. Эти результаты были получены методами флуоресцентной спектроскопии с использованием проникающих в клетку флуоресцентных зондов (дихлордигидрофлуоресцеина-диацетата и дигидрородамина 123), а также методом хемиллюминесцентного анализа с использованием люцигенина [2], активатора хемиллюминесценции, относительно селективного для супероксидного радикала. При добавке малых концентраций (< 1 мкМ) активаторов респираторного взрыва, формируемого пептида N-formyl-Met-Leu-Phe или форболового эфира форбол-12-меристат-13-ацетата, в случае детекции флуоресцентным методом этот эффект гипомангнитного поля (гипоМП) сохранялся, но по величине соответствовал эффектам, полученным в опытах без этих активаторов [1]. На основании этих результатов было сложно сделать однозначные выводы об основных источниках АФК, реагирующих на изменение этих магнитных условий. Далее с использованием ингибиторного анализа мы показали, что добавка динитрофенола - разобшителя окисления и фосфорилирования в митохондриях практически полностью нивелирует различия в продукции АФК между контрольными (ГМП) и опытными (гипоМП) группами, в отличие от дифенилйодония – неспецифического ингибитора НАДФН-оксидазы, добавка которого приводила к снижению продукции АФК в обоих случаях и сохранению различий между контролем и опытом [2]. Также на величину эффекта гипоМП влияла добавка ротенона (ингибитора 1