

ВПЛИВ ІММОБІЛІЗОВАНОГО АЛЬБУМІНУ НА ВЛАСТИВОСТІ КОМПОЗИТІВ В СИСТЕМАХ З КЛІТИНАМИ

Н.Ю. Клименко, О.А. Новікова, Б.Г. Місчанчук, Н.П. Галаган

*Інститут хімії поверхні імені О.О. Чуйка Національної академії наук України
вул. Генерала Наумова 17, Київ, 03164, Україна, e-mail: nklymenko@ukr.net*

Досліджено адсорбцію аміноцукрів (N-ацетил-D-глюкозаміну та D-галактозаміну) на поверхні вихідного та модифікованого альбуміном кремнезему. Отримані композити мають різні ступені біоактивності щодо деконсервованих гамет бика. Побудовано ізотерми адсорбції та розраховано її параметри. Показано, що наявність CO- та CH₃-груп в молекулі N-ацетил-D-глюкозаміну сприяє зменшенню величини його адсорбції порівняно з D-галактозаміном. Встановлено зміну просторової орієнтації альбуміну при адсорбції N-ацетил-D-глюкозаміну на поверхні модифікованого білком кремнезему. У випадку D-галактозаміну подібних змін не відмічено. Доведено, що наявність альбуміну в композитах з аміноцукрами знижує біоактивність, на відміну від композитів без білка.

Вступ

В Інституті хімії поверхні ім. О.О. Чуйка НАН України було встановлено, що високодисперсний кремнезем (ВДК) при додаванні до середовищ із різними клітинами в межах певних концентрацій здатний стимулювати їх життєздатність [1]. При контакті безпосередньо з клітиною його частинки у вигляді агрегатів спонтанно розташовуються на клітинній поверхні. Для більш впорядкованого розташування на ній наноматеріалу при створенні на його основі композитів були використані деякі вуглеводи, які є не тільки енергоємними речовинами, але й розпізнавальними фрагментами біомолекул, зокрема рецепторів клітинної поверхні. Встановлено [2], що композити, одержані на їх основі, здатні оптимізувати кріосередовища в біотехнології довгострокового зберігання генофонду сільгосптварин. Це проявлялось в більшій пролонгації строків життя клітин, ніж при додаванні ВДК. Подібний ефект спостерігався і для композитів з білком бичачим сироватковим альбуміном (БСА) [3].

Раніше [4] були виконані дослідження по іммобілізації аміноцукрів N-ацетил-D-глюкозаміну (GlcNAc) та D-галактозаміну (D-GalN), які є термінальними фрагментами рецепторів клітинної поверхні. Вивчення їх здатності до адсорбції на поверхні ВДК, попередньо обробленій білком, не проводилось. Були підстави вважати, що можна отримати композити з білком та аміноцукрами з підсиленою біоактивністю. Тому метою даної роботи було вивчення адсорбційної здатності аміноцукрів (N-ацетил-D-глюкозаміну та D-галактозаміну) до поверхні вихідного та попередньо адсорбованого бичачим сироватковим альбуміном (БСА) ВДК, а також порівняльне дослідження отриманих композитів.

Експериментальна частина

В дослідженнях використовували попередньо прожарений (400 °С, 2 год) ВДК з $S_{\text{пит}} = 285 \text{ м}^2/\text{г}$ (Україна;), БСА (Mr~67000, фракція V; фірми «Fluka», США), GlcNAc (Mr=221,21; фірми «Sigma», США), D-GalN (Mr=179,2; фірми «Aldrich», США).

Адсорбцію БСА на поверхні ВДК проводили в статичних умовах при рН=4,8. Вихідна концентрація водного розчину альбуміну становила 1–14 мг/мл. Співвідношення адсорбент:адсорбат становило 10:1. Для досягнення адсорбційної

рівноваги розчин витримували 2 год при постійному перемішуванні. Тверду фазу відокремлювали центрифугуванням впродовж 10 хв при швидкості 4000 об/хв та висушували 4 доби в термостаті ТС-80М-2 при температурі 37 °С.

Величину адсорбції БСА на поверхні кремнеземів розраховували по різниці вихідної та рівноважної концентрації білка, яку визначали мікробіуретовим методом [5] з використанням фотоелектроколориметра КФК-2. Одержаний композит (ВДК/БСА) десорбували та висушували.

Адсорбцію аміноцукрів проводили на поверхні вихідного та попередньо модифікованого білком ВДК. Вихідні концентрації GlcNAc та D-GalN становили 0,2-1,6 мг/мл. Час адсорбції 2 год, співвідношення адсорбент:адсорбат — 10:1. Осад відділяли центрифугуванням та висушували при тих же умовах, що і при адсорбції БСА. Механічно подрібнені зразки (ВДК/аміноцукор, ВДК/БСА/аміноцукор) десорбували та після висушування використовували в наступних дослідженнях. Концентрацію аміноцукрів в надосадовій рідині визначали модифікованим методом Ельсона–Моргана [6] з використанням спектрофотометра Lambda-35 (Perkin-Elmer, США) при 450-650 нм.

Розрахунки величин граничної адсорбції та її параметрів виконані згідно [7, 8].

ІЧ-спектри отриманих композитів знімали на спектрометрі Thermo Nicolet Nexus FTIR в області 4000 – 400 см⁻¹. Для зменшення розсіювання ІЧ-випромінювання [9] зразки змішували з попередньо підсушеним КВг („Riedel-de Haen”, Франція, ч.д.а.) у співвідношенні 1:19 для білка та аміноцукрів, та 1:4 для досліджених композитів. Для обробки спектрів використовували програмне забезпечення фірми „Omnice”.

Мас-спектрометричні дослідження проводили методом температурно-програмованої десорбційної мас-спектрометрії (ТПД МС) на приладі МХ-7304А (Україна, Суми). Специфічні деталі та особливості методу ТПД МС розглянуті в роботах [10–12].

Біоактивність одержаних композитів визначали в лабораторних умовах методом лазерно-кореляційної спектроскопії на атестованому у складі сертифікованої лабораторії апаратно-програмному комплексі „Spectrolas Instruments Model LDS MQE” (Україна), який дозволяє вимірювати миттєві параметри руху рухливих клітин в їх популяції [1]. Даний прилад будує кореляційну функцію розсіяного лазерного світла на рухливих клітинах та дозволяє, завдяки спеціально розробленій програмі, порівнювати параметри руху гамет в контролі та дослідній пробі, які є загальноприйняті в галузі тваринництва. Для контролю використовували суспензію клітин без домішок композиту на відміну від дослідних проб. Значення параметрів в контролі приймається за 100%.

В даній роботі використані деконсервовані гамети биків, які були заморожені в стандартному лактозо-гліцериново-жовтковому кріосередовищі та люб'язно надані Національним банком генофонду тварин (Інститут розведення та генетики тварин НААН). Композити у вигляді суспензій в 2,9%-ному цитраті натрію додавали до розмороженої сперми у співвідношенні 3:1. Діапазон концентрацій становив 0,002–0,15%. Виміри параметрів руху клітин (кількість рухливих клітин, частота їх обертання, швидкість та енергія) проводили після інкубації суміші (37 °С, 1 год) під дією лазера з довжиною хвилі 632,8 нм в кюветі об'ємом 1 мл протягом 3 хв.

Результати та їх обговорення

На рис.1 представлено структурні формули досліджених аміноцукрів. Відмінність в їх будові зумовлена наявністю СО- та СН₃-груп в молекулі N-ацетил-D-глюкозаміну.



Рис. 1. Структурні формули N-ацетил-D-глюкозаміну (а) та D-галактозаміну (б).

Згідно [13] максимальна адсорбція БСА на поверхні кремнезему спостерігається при рН, близькому до ізоелектричної точки альбуміну (рН=4,8). Отримана ізотерма (рис. 2,а) має форму ленгмюрівського типу, що вказує на сильну взаємодію між адсорбатом та адсорбентом [14].

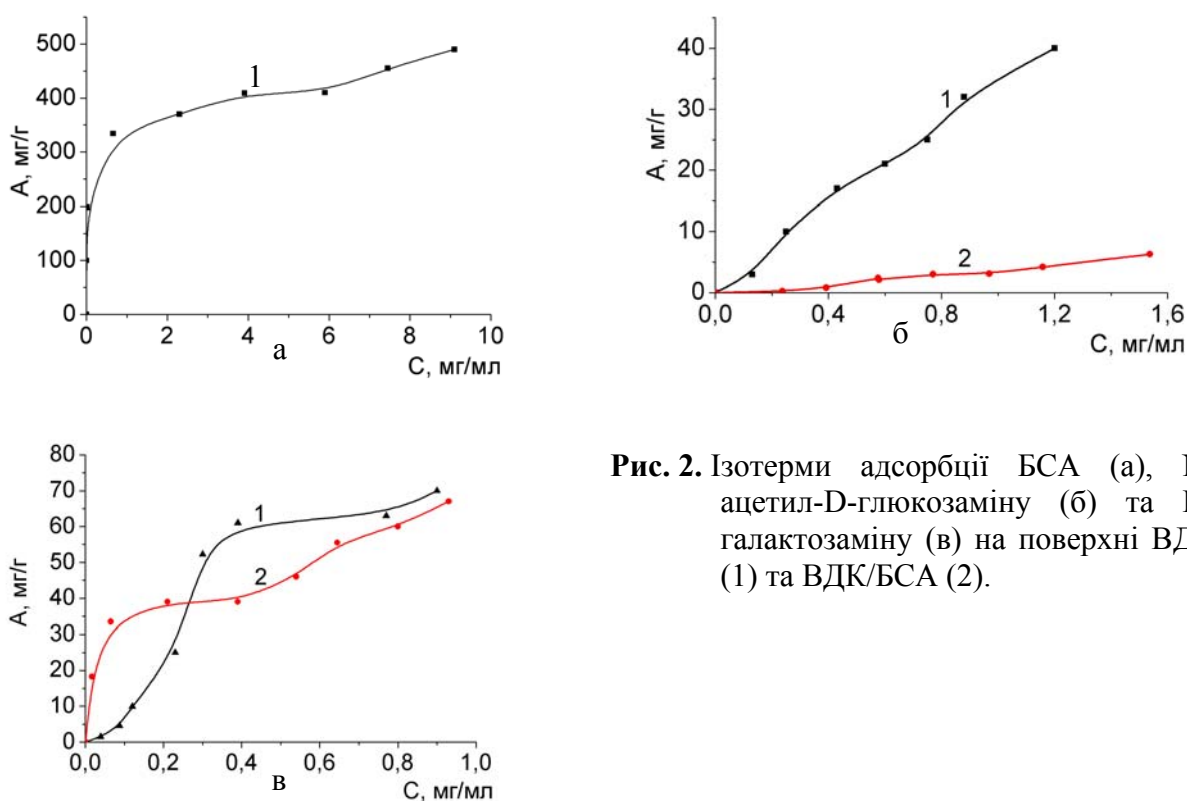


Рис. 2. Ізотерми адсорбції БСА (а), N-ацетил-D-глюкозаміну (б) та D-галактозаміну (в) на поверхні ВДК (1) та ВДК/БСА (2).

Максимальна адсорбція БСА (Γ_{∞}) складає 410,4 мг/г (таблиця). Десорбція БСА з поверхні ВДК не перевищує 10%. Причиною цього є полівалентне зв'язування глобул альбуміну з поверхнею кремнезему [15, 16].

Встановлено, що ізотерми адсорбції N-ацетил-D-глюкозаміну у всіх випадках (рис. 2,б) та D-галактозаміну на поверхні ВДК (рис. 2,в, крива 1) описуються ізотермами S-типу, що свідчить про міжмолекулярну взаємодію речовини в розчині та утворення при цьому асоціатів [14]. Перегини на ізотермі адсорбції можуть відповідати або за зміну орієнтації адсорбованих молекул, або за утворення полімолекулярних шарів [14, 17, 18]. Ізотерма адсорбції D-галактозаміну на ВДК/БСА (рис. 2,в, крива 2) відноситься до L-типу.

Таблиця Параметри адсорбції біомолекул на досліджених адсорбентах

Зразок	Γ_{∞} , мг/г	ω_{∞} , нм ²	σ , нм	θ , %	% десорбції	$-\Delta G$, кДж/моль	R
ВДК/БСА	410,4	77	0,9	73	10	29,55	0,9936
ВДК/GlcNAc	37,05	2,78	0,09	17	24	11,67	0,9754
ВДК/БСА/GlcNAc	3,51	7,77	0,03	5	28	13,49	0,9695
ВДК/D-GalN	59,85	1,41	0,14	27	24	11,21	0,9850
ВДК/БСА/D-GalN	37,44	0,94	0,2	40	19	12,44	0,9658

Розраховані параметри адсорбції біомолекул для кожного випадку представлені в таблиці. Максимальна адсорбція (Γ_{∞}) та ступінь заповнення поверхні (θ) порівняно з N-ацетил-D-глюкозаміном спостерігаються для D-галактозаміну на ВДК та ВДК/БСА. Це можна пояснити відсутністю в його складі СО- та СН₃-груп, що призводить до більш сильного утримання молекули аміноцукру на поверхні носія. Модифікування поверхні білком сприяє зменшенню адсорбції для D-галактозаміну (майже в 1,5 рази). Товщина поверхневого шару композитів (σ), що містять БСА та аміноцукор, значно нижче, ніж для ВДК/БСА. Це, скоріше за все, зумовлено заміщенням вуглеводів частини зв'язаної води в гідратній оболонці молекул альбуміну та зміною його конформації, що підтверджується літературними даними, пов'язаними з дослідженнями води на міжфазній границі [19, 20]. Менші значення товщини поверхневого шару для ВДК/БСА/GlcNAc порівняно з ВДК/БСА/D-GalN спричинені тим, що N-ацетил-D-глюкозамін при взаємодії з фрагментами білкових молекул, імовірно, блокує центри їх міжмолекулярного зв'язування. Встановлено, що площа, яку займає одна молекула в адсорбованому стані (ω_{∞}) для обох аміноцукрів досить висока. Вірогідно, це зв'язано з тим, що моношар містить певну кількість молекул води. Адже згідно з літературними даними [14] у розчинах цукри знаходяться в міцній гідратній оболонці, яка при адсорбції руйнується лише частково.

Десорбція обох аміноцукрів з поверхні ВДК рівна та не перевищує 24%, тобто структурні особливості їх будови не впливають на величину десорбції. Модифікування поверхні кремнезему білком зменшує величину десорбції D-галактозаміну майже в 1,5 рази на відміну від N-ацетил-D-глюкозаміну.

Для визначення ролі силанольних груп при адсорбції та змін в просторовому розташуванні БСА на поверхні носіїв був використаний метод ІЧ-спектроскопії. При інтерпретації отриманих даних ми використовували зміни інтенсивності смуги валентних ОН-коливань (3750 см⁻¹), а також смуг Амід I (1655 см⁻¹) та Амід II (1550 см⁻¹ - 1450 см⁻¹) (відповідно валентні С=О- та деформаційні N-H-коливання), характеристичних для оцінки в ІЧ-спектроскопії просторового розташування білків [21].

В ІЧ-спектрі вихідного кремнезему (рис. 3,а, крива 1) спостерігається смуга валентних ОН-коливань в області 3750 см⁻¹, що належить ізольованим (вільним) ОН-групам [9].

В результаті адсорбції альбуміну (рис. 3,а, крива 2) смуга 3750 см⁻¹ зникає, що свідчить про утворення водневого зв'язку між вільними силанольними групами поверхні та карбоксильними і аміногрупами адсорбованого білка [22]. Крім того, з'являється смуга валентних С = О- та N-H-коливань в областях поглинання Амід I та Амід II. При цьому спостерігається незначне зміщення смуги Амід I у високочастотну область (з 1655 до 1658 см⁻¹), що характерно для α -спіральної (згорнутої) структури білка [21], тобто при контакті з поверхнею ВДК не відбувається порушення глобулярної структури БСА.

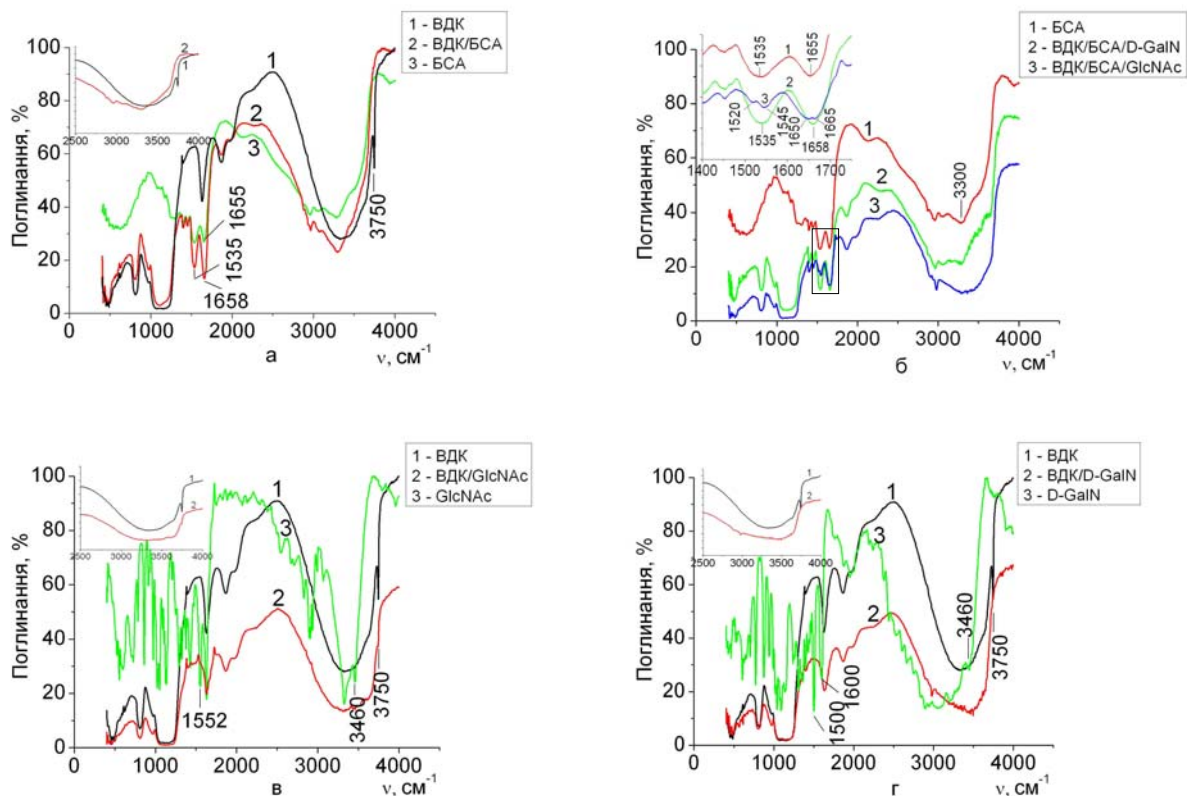


Рис. 3. ІЧ-спектри біомолекул, адсорбованих на поверхні вихідного та модифікованого альбуміном кремнезему.

Внаслідок адсорбції N-ацетил-D-глюкозаміну на ВДК (рис. 3,в, крива 2) смуга 3750 cm^{-1} дещо зменшується на відміну від D-галактозаміну (рис. 3,г, крива 2). При цьому в ІЧ-спектрі адсорбованого N-ацетил-D-глюкозаміну на поверхні ВДК/БСА (рис. 3,б, крива 3) встановлено зміщення смуги Амід I (при 1655 cm^{-1}) та Амід II (при 1535 cm^{-1}) у високо- ($1665, 1545\text{ cm}^{-1}$) та в низькочастотну ($1650, 1520\text{ cm}^{-1}$) області, що свідчить про зміну орієнтації молекули альбуміну при адсорбції N-ацетил-D-глюкозаміну. У випадку D-галактозаміну подібних змещень не спостерігається (рис.3,б, крива 2).

Для вивчення особливостей формування поверхневого шару композитів у відповідності з результатами по адсорбції та ІЧ-спектроскопії використаний метод ТПД МС. Раніше було встановлено [23], що пік 34 а.о.м. може бути тестовим для білкового шару. Це підтверджено також в роботі [24], де встановлена наявність того ж самого піку при закріпленні білка на іншому носії, а саме вуглецевому матеріалі.

На рис. 4 представлено вихідну концентрацію ($C_{\text{вих}}$) білка відповідних точок, вибраних для ТПД МС-досліджень з ізотерм адсорбції БСА. В мас-спектрі розкладу альбуміну в неадсорбованому стані (рис. 4а) спостерігається пік 34 а.о.м., поява якого зв'язується з молекулою сірководню, що утворюється внаслідок розкладу залишків сірковмісних амінокислот в складі білка. Адсорбція білка призводить до розширення максимуму термічного виділення 34 а.о.м. (рис. 4б), що зумовлено зменшенням кількості ОН-груп поверхні. Зменшення його інтенсивності визначається стабілізацією молекули білка.

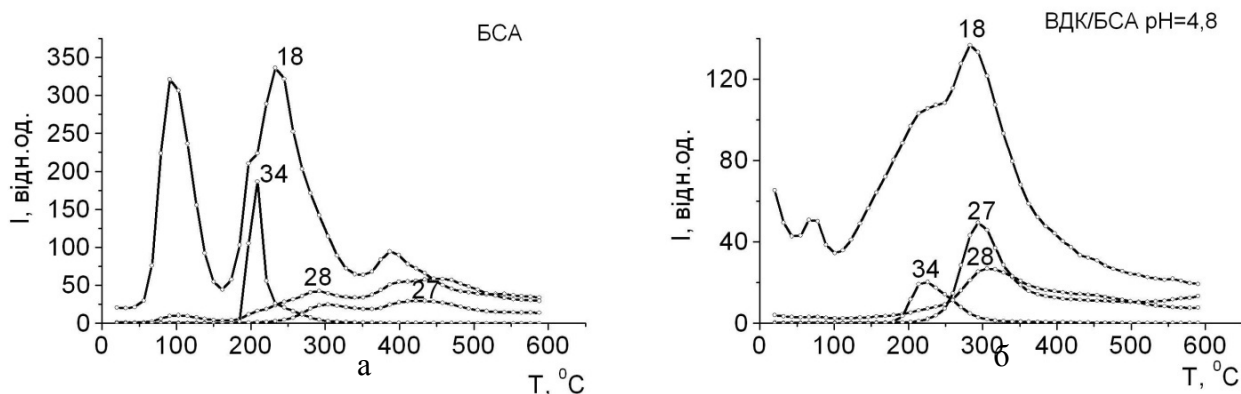


Рис. 4. Термограми розкладу зразків для компонент 18 (H_2O^+), 27 (C_2H_3^+ або HCN^+), 28 (CO^+), 34 (H_2S^+) а.о.м.

Термоліз обох аміноцукрів у конденсованому стані відбувається у вузькому діапазоні температур (від 100 до 200 °С) (рис. 5). Встановлено, що адсорбція аміноцукрів призводить до зміщення початку термолізу у низькотемпературну область та до розширення температурного діапазону термолізу (рис. 6), що зумовлено стабілізацією молекули на поверхні. Перша стадія термолізу N-ацетил-D-глюкозаміну спостерігається лише при адсорбції на ВДК, а друга – зміщується у високотемпературну область. При термолізі D-галактозаміну 31 а.о.м. спостерігається лише при адсорбції на ВДК, що зумовлено стабілізацією молекули аміноцукру на ВДК на відміну від ВДК/БСА. В усіх випадках попередньо модифікованих білком зразків при розкладі спостерігається утворення сірководню, що вказує на розклад білка в складі зразка. Отримані дані узгоджуються з розрахованими параметрами адсорбції та ІЧ-спектроскопічними дослідженнями.

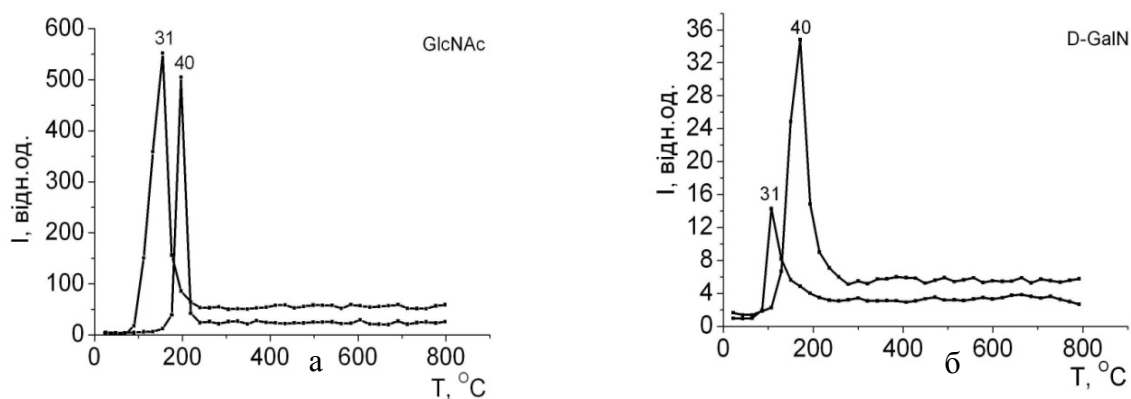


Рис. 5. Температурні залежності компонент мас-спектрів при термолізі N-ацетил-D-глюкозаміну (а) та D-галактозаміну (б) для масових чисел 31 та 40 а.о.м. (CH_2OH^+ і $\text{CH}_2=\text{C}=\text{CH}_2^+$ відповідно).

Згідно з результатами роботи [3] при досягненні граничної адсорбції більша частина молекул БСА розташовується всередині агломератів кремнезему, а на їх поверхні залишається частина ділянок, вільних від білка. При цьому забезпечується можливість безпосереднього контакту поверхні кремнезему з клітинами.

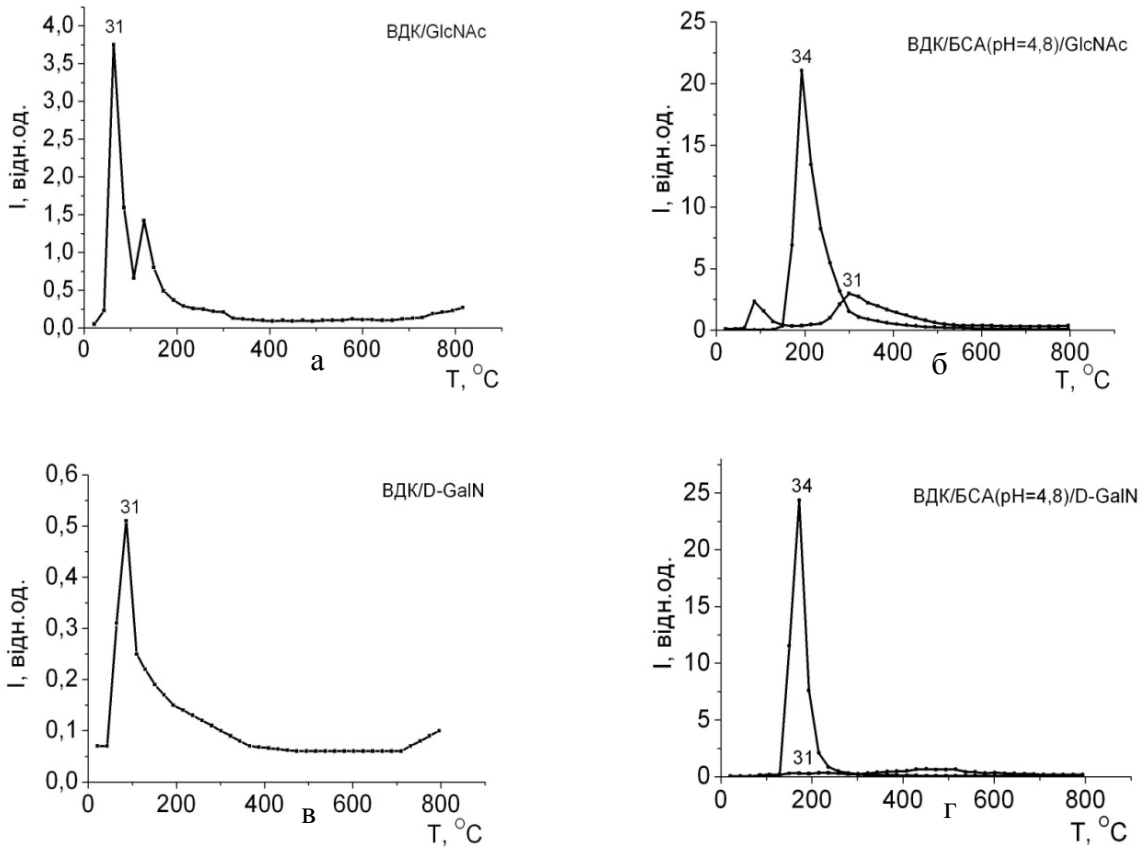


Рис. 6. Термічна деструкція аміноцукрів для компонент 31 (CH_2OH^+), 34 (H_2S^+), 40 ($\text{CH}_2=\text{C}=\text{CH}_2^+$) а.о.м.

При дослідженні параметрів руху деконсервованих гамет биків в присутності отриманих композитів (ВДК/БСА, ВДК/аміноцукор та ВДК/БСА/аміноцукор) відмічена їх біологічна активність в порівнянні з контролем. На рис. 7 представлені гістограми, що дозволяють порівняти біоактивність по « $\Sigma E_d / \Sigma E_k$ », який позначає сумарне значення енергії руху гамет биків, визначеної протягом всіх вимірів експерименту для кожної концентрації в дослідній (E_d) та контрольній (E_k) пробах.

Встановлено, що адсорбція БСА на ВДК збільшує енергію руху клітин майже в 1,5 рази при $C=0,01\%$ порівняно з вихідним кремнеземом. Однак при подальшому збільшенні концентрації композиту спостерігається зменшення активності гамет (рис. 7,а). Це, по-перше, може бути пов'язано з формуванням агрегатів клітина-частинка, в яких рух клітин ускладнений багатоцентровим зв'язуванням з ними частинок твердої фази. По-друге, згідно з [3], при контакті ВДК з кріосередовищем на його поверхні адсорбуються білкові молекули (або зв'язані з ними низькомолекулярні речовини), що екранують поверхню частинок. При цьому відбувається пасивація поверхні кремнезему, пов'язана з малою ймовірністю взаємодії з гаметами незахищеної білком поверхні частинок. При використанні композиту ВДК/БСА, агломерати якого насичені білком в умовах рівноважної адсорбції, малоймовірна його взаємодія з компонентами кріосередовища. Це пояснюється меншим адсорбційним потенціалом частинок по відношенню до білків кріосередовища на відміну від ВДК.

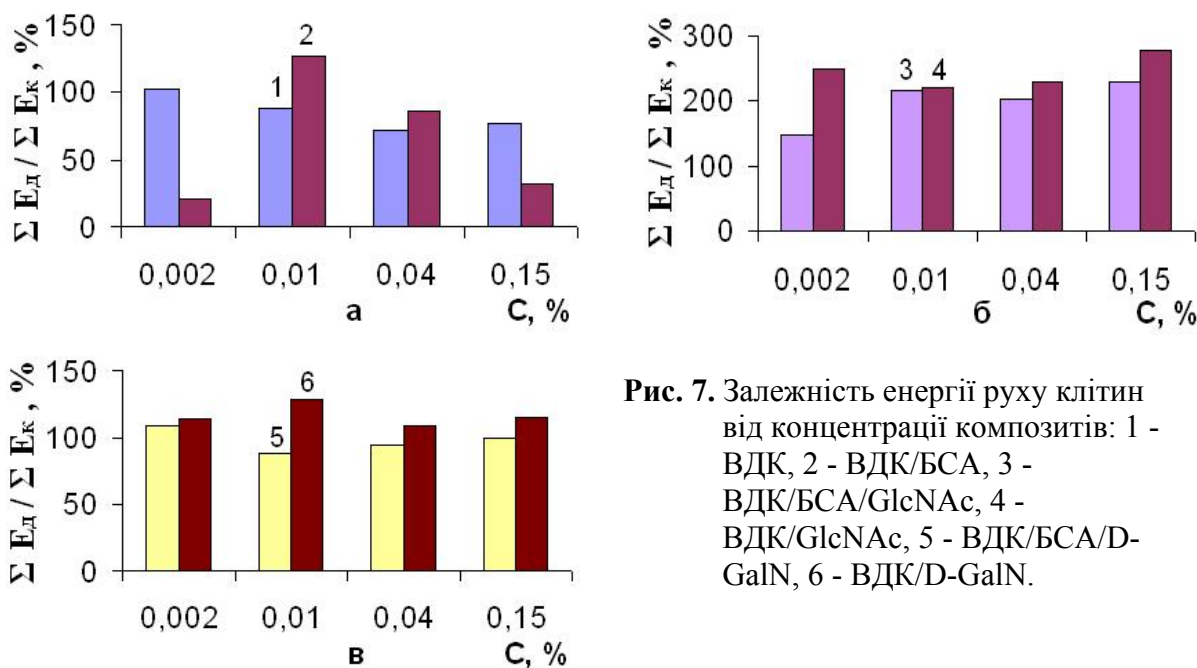


Рис. 7. Залежність енергії руху клітин від концентрації композитів: 1 - ВДК, 2 - ВДК/БСА, 3 - ВДК/БСА/GlcNAc, 4 - ВДК/GlcNAc, 5 - ВДК/БСА/D-GalN, 6 - ВДК/D-GalN.

Адсорбція обох аміноцукрів на поверхні ВДК та ВДК/БСА сприяє підвищенню активності гамет в діапазоні досліджених концентрацій порівняно з вихідними носіями (рис. 7,б та в). Ймовірно, це викликано взаємодією компонентів кріосередовища з молекулами аміноцукрів в складі композитів. Біоактивність композитів з N-ацетил-D-глюкозаміном приблизно в 2 рази вище, ніж у випадку D-галактозаміну. На наш погляд це пояснюється більшою спорідненістю до клітинної поверхні CH_3 -групи N-ацетил-D-глюкозаміну порівняно з NH_2 -групою D-галактозаміну. Ми очікували, що композити, в складі яких одночасно присутні альбумін та аміноцукри будуть мати підвищену біоактивність. Однак, як встановлено, попередня обробка поверхні ВДК білком дещо знижує рухливість гамет, що може бути пов'язано повним екрануванням молекулами БСА силанольних груп поверхні.

Висновки

Встановлено, що найбільша адсорбція на поверхні вихідного та модифікованого альбуміном кремнезему спостерігається для D-галактозаміну на відміну від N-ацетил-D-глюкозаміну, що зумовлено відмінностями в їх будові. Адсорбція N-ацетил-D-глюкозаміну на поверхні ВДК/БСА впливає на зміну орієнтації молекули альбуміну за рахунок наявності в складі аміноцукру CO - та CH_3 -груп. Показано, що біологічна активність композитів з N-ацетил-D-глюкозаміном приблизно в 2 рази вище, ніж у випадку D-галактозаміну, що узгоджується з одержаними адсорбційними, ІЧ-спектроскопічними та мас-спектрометричними даними. Доведено, що наявність БСА в композитах з аміноцукрами знижує біологічну активність в порівнянні з композитами без білка.

Література

1. Галаган Н.П., Власенко В.В., Настасієнко Н.С., Чуйко О.О. Дослідження впливу високодисперсного кремнезему, модифікованого поліолами, на життєздатність репродуктивних клітин методом фотон-кореляційної спектроскопії // Вісн. Харк. ун-ту, № 665. — Біофіз. вісн. — 2005. — Вип. 1 (15). — С. 94–98.
2. Vlasenko V.V., Galagan N.P., Kulik T.V., Pokrovskiy V.A. Studies on adsorption of carbohydrates on ultrafine silica surface by means of mass spectrometry and laser

- Doppler spectrometry // VII Polish-Ukrainian symp. „Theoretical and experimental studies of interfacial phenomena and their technological applications”, Lublin. – 15 – 18 september, 2003. – P. 312–314.
3. Галаган Н.П., Клименко Н.Ю., Новикова Е.А. Свойства нанобиокмполитов на основе белка, высокодисперсных кремнезема и титанокремнезема // Поверхность. – 2012. – Вып. 4(19). – С. 306–315.
 4. Кулик Т.В., Паляница Б.Б., Галаган Н.П. Молекулярна самоорганізація в системах нанорозмірні частинки - вуглеводи // Наносистеми, наноматеріали, нанотехнології. – 2003. – Т. 1, Вип. 2. – С. 681–690.
 5. Кочетов Г.А. Практическое руководство по энзимологии. – Москва: Высш. шк., 1980. – 215 с.
 6. Варбанец Л.Д., Здоровенко Г.М., Книрель Ю.А. Методы исследования эндотоксинов. – Киев: Наук. думка, 2006. – 239 с.
 7. Митрофанов П.П. Практикум по физической и коллоидной химии. – Москва: Медгиз, 1950. – 183 с.
 8. Айвазов Б.В. Практикум по химии поверхностных явлений и адсорбции. – Москва: Высш. шк., 1973. – 208 с.
 9. Литтл Л. Инфракрасные спектры адсорбированных молекул. – Москва: Мир, 1969. – 514 с.
 10. Pokrovskiy V.A. Temperature-programmed mass spectrometry of biomolecules in surface chemistry studies // Rapid Commun. Mass Spectrometry. – 1995. – V. 9. – P. 588–591.
 11. Pokrovskiy V.A. Temperature-programmed desorption mass spectrometry (TPD MS) of dispersed oxides // Adsorption Science & Technology. – 1997. – V. 14, №5. – P. 301–317.
 12. Pokrovskiy V.A. Temperature-programmed desorption mass spectrometry // Journal of Thermal Analysis and Calorimetry. – 2000. – V. 62. – P. 407–415.
 13. Holt P.F., Bowcott J.E.L. Adsorption of protein on silica surfaces // AMA Arch. Industrial hygiene and occupational medicine. – 1954. – V. 9. – P. 503–506.
 14. Адсорбция из растворов на поверхности твердых тел / Под ред. Г.Парфита, К.Рочестера. – Москва: Мир, 1986. – 488 с.
 15. Su T.J., Lu J.R., Thomas R.K., Cui Z.F. Effect of pH on adsorption of bovine serum albumin at the silica/water interface studied by neutron reflection // J. Phys. Chem. B. – 1999. – V. 103. – P. 3727–3736.
 16. Norde W., Giacomelli C.E. BSA structural changes during homomolecular exchange between the adsorbed and the dissolved states // Biotechnology. – 2000. – V. 79, №3. – P. 259–268.
 17. Gun'ko V.M., Klyueva A.V., Levchuk Y.N., Leboda R. Photon correlation spectroscopy investigations of proteins // Adv. Colloid Interf. Sci. – 2003. – V. 105. – P. 201–328.
 18. Norde W. Adsorption of proteins from solution at the solid-liquid interface // Adv. Colloid Interf. Sci. – 1986. – V. 25. – P. 267–340.
 19. Ругаль А.А., Барвинченко В.Н., Галаган Н.П., Сиора И.В., Туров В.В. Влияние сахаров на дегидратацию биополимерных молекул в процессе криоконсервирования // Проблемы криобиологии. – 2007. – Т. 17, №4. – С. 374–384.
 20. Гунько В.М., Туров В.В., Горбик П.П. Вода на межфазной границе. – Киев: Наук. думка, 2009. – 694 с.
 21. Чиргадзе Ю.Н. Инфракрасные спектры и структура полипептидов и белков. – Москва: Наука, 1965. – 134 с.

22. Тарасевич Ю.И., Монахова Л.И. Взаимодействие глобулярных белков с поверхностью кремнезема // Коллоид. журн. — 2002. — Т. 64, №4. — С. 535—540.
23. Клименко Н.Ю., Галаган Н.П., Мисчанчук Б.Г., Зарко В.І., Покровський В.О. Температурно-програмована десорбційна мас-спектрометрія бичачого сироваткового альбуміну в конденсованому стані і адсорбованого на поверхні високодисперсних оксидів // Химия, физика и технология поверхности. — 2008. — Вып. 14. — С. 456—466.
24. Gadiou R., Santos dos E.A., Vijayaraj M., Anselme K., Dentzer J., Soares G.A., Vix-Guterl C. // Temperature-programmed desorption as a tool for quantification of protein adsorption capacity in micro- and nanoporous materials // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. — 2009. — V. 73. — P. 168—174.

ВЛИЯНИЕ ИММОБИЛИЗИРОВАННОГО АЛЬБУМИНА НА СВОЙСТВА КОМПОЗИТОВ В СИСТЕМАХ С КЛЕТКАМИ

Н.Ю. Клименко, Е.А. Новикова, Б.Г. Мисчанчук, Н.П. Галаган

*Институт химии поверхности им. А.А. Чуйко Национальной академии наук Украины
ул. Генерала Наумова, 17, Киев, 03164, Украина, e-mail: nklymenko@ukr.net*

Исследована адсорбция аминсахаров (N-ацетил-D-глюкозамина и D-галактозамина) на поверхности исходного и модифицированного альбумином кремнезема. Полученные композиты обладают разной степенью биоактивности по отношению к деконсервированным гаметам быка. Построены изотермы адсорбции и рассчитаны ее параметры. Показано, что наличие СО- и СН₃-групп в молекуле N-ацетил-D-глюкозамина способствует уменьшению величины его адсорбции в сравнении с D-галактозамином. Установлено изменение пространственной ориентации альбумина при адсорбции N-ацетил-D-глюкозамина на поверхности модифицированного белком кремнезема. В случае D-галактозамина подобных изменений не отмечено. Доказано, что наличие альбумина в композитах с аминсахарами снижает биоактивность в отличие от композитов без белка.

EFFECT OF IMMOBILIZED ALBUMIN ON PROPERTIES OF COMPOSITES WITH CELLS CONTAINING SYSTEMS

N.Y. Klymenko, E.A. Novikova, B.G. Mischanchuk, N.P. Galagan

*Chuiko Institute of Surface Chemistry, National Academy of Sciences of Ukraine
General Naumov street 17, Kyiv, 03164, Ukraine, e-mail: nklymenko@ukr.net*

The adsorption of aminosugars (N-acetyl-D-glucosamine and D-galactosamine) on the surface of initial and modified by albumin ultrafine silica was investigated. Obtained composites possess various range of bioactivity with respect to deconserved bovine gametes. Isotherms of adsorption were obtained and parameters were calculated. It was shown that presence of CO- and CH₃-groups in a N-acetyl-D-glucosamine molecule reduced its adsorption in comparison with D-galactosamine. Change of space orientation of albumin was observed as a result of adsorption of N-acetyl-D-glucosamine on the surface of ultrafine silica modified by protein. In the case of D-galactosamine similar changes were not observed. It was proved that presence of albumin in composites with aminosugars reduced bioactivity unlike composites without protein.