

УДК 547.422:612.111.11:577.31:599.735.51.723.2

ВПЛИВ 1,2-ПРОПАНДІОЛУ НА КОНФОРМАЦІЙНУ СТАБІЛЬНІСТЬ ГЕМОГЛОБІНУ БИКА І КОНЯ

Ю. С. Говорова, к. біол. н., *О. В. Зінченко*, д. біол. н., *О. М. Боброва*, к. біол. н.,
О. А. Нардід, д. біол. н., *С. В. Рєпіна*, к. біол. н., *П. Ю. Улізко*
 yu.govorova7@gmail.com

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків, Україна

Одним із сучасних напрямів у ветеринарній медицині, який інтенсивно розвивається, є дослідження зберігання крові тварин (K. Yagi, M. Holovauchuk, 2016). Для довгострокового збереження компонентів крові людини успішно використовуються різні протоколи кріоконсервування. На жаль, для крові тварин таких підходів недостатньо. Відомо, що на різних етапах технології кріоконсервування відбуваються різні порушення структури біологічних об'єктів, які можуть призвести до летальних пошкоджень після відігріву. Тому дослідження впливу кріопротекторів на структурні характеристики макромолекул, зокрема білків, дедалі більше привертає увагу дослідників. Однією з таких характеристик є конформаційна стабільність білків у присутності кріозахисних агентів, яка може оцінюватися за допомогою аналізу термоденатурації.

Гемоглобін є одним з найважливіших функціональних білків крові. Гемоглобіни різних тварин мають видову специфічність (M. Sanyal et al., 2013; N. Kamariah et al., 2014). Гемоглобіни ссавців можуть бути розділені на 2 групи: з високою спорідненістю до кисню завдяки наявності 2,3-діфосфогліцерату (2,3-ДФГ) та з низькою спорідненістю до кисню, де дія 2,3-ДФГ обмежена чи взагалі не впливає на спорідненість гемоглобіну до кисню. Гризуни, примати, коні належать до першої групи, а бики, вівці, кішки — до другої. Крім того, гемоглобіни тварин відрізняються кількістю амінокислот у α - і β -ланцюгах (V. Grant, 1985). Тому метою нашої роботи було дослідження впливу кріопротектора 1,2-пропандіолу (1,2-ПД), який застосовується для кріоконсервування крові людини, концентрацією від 0 до 40 % на конформаційну стабільність гемоглобіну бика та коня.

Дослідження термоденатурації білків проводили на диференціальному сканувальному адіабатичному калориметрі ДАСМ-4. Параметри термоденатурації гемоглобіну тварин розраховувались за допомогою відповідних термограм. Термограми реєстрували при нагріванні зі швидкістю 1 °C/хв при надлишковому тискові 2,5 атм. Область сканування температури — 20–100 °C. Зразки крові тварин стабілізували консервантом «Глюгіцер» («Біофарма», Україна). Розчин гемоглобіну отримували за стандартною методикою, яка передбачає відмивання еритроцитів, їх гемоліз (5 мМ натрій-фосфатний буферний розчин, рН 7,8) і центрифугування для видалення стромы еритроцитів. Далі проводили центрифугування при 27500 g протягом 15 хв. Отриманий розчин розподіляли на надосад і осад. Супернатант є розчином гемоглобіну. Розчини кріопротектора різних концентрацій готували зважуванням на аналітичних вагах. Час інкубування гемоглобіну з 1,2-ПД — 1 год.

Денатурація гемоглобіну тварин є незворотною, тому для її аналізу використовуються як термодинамічний, так і кінетичний підходи. Нами були розраховані такі параметри денатурації білків: температура, зміна калориметричної ентальпії, енергія активації, а також побудовані залежності зміни температури та ентальпії денатурації від концентрації кріопротектора. Додавання до розчинів гемоглобіну 1,2-ПД, на нашу думку, сприяє зміні міжмолекулярних взаємодій в досліджуваних системах, спричиняючи зміну термостабільності гемоглобіну і сприяючи денатураційним процесам. Так, зі зростанням концентрації кріопротектора значення температури денатурації та калориметричної ентальпії знижуються. Порівняльний аналіз термоденатурації гемоглобіну бика та коня показав, що більш термостабільним до дослідженого кріопротектора є гемоглобін коня.