

Д. О. Антонов<sup>1</sup>, Е. Г. Ковалева<sup>1</sup>, Н. А. Чумакова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Уральский федеральный университет  
им. первого Президента России Б. Н. Ельцина,  
620078, Россия, г. Екатеринбург, ул. Мира, 28,  
d.o.antonov@urfu.ru,

<sup>2</sup>Московский Государственный Университет им. М. В. Ломоносова  
119991, Россия, Москва, Ленинские горы, 1,  
harmonic2011@yandex.ru

## МЕТОД ЭПР СПИНОВЫХ МЕТОК В ИССЛЕДОВАНИИ ЛИЗОЦИМА, ИММОБИЛИЗОВАННОГО НА НАНОТРУБКАХ ГАЛЛУАЗИТА\*

**Ключевые слова:** спиновые метки, ЭПР, лизоцим, иммобилизация, галлуазит.

Иммобилизация ферментов на твёрдом носителе имеет важное значение в их промышленном, медицинском и пищевом применении, так как позволяет снизить затраты путём повторного использования гетерогенных ферментативных катализаторов [3], а также свести к минимуму загрязнение субстрата белками. Перспективным оксидным носителем природного происхождения является галлуазит – алюмосиликат, представляющий собой полые нанотрубки размером 5–10 нм и внутренним диаметром 10–15 нм, внешняя часть нанотрубки состоит из оксида кремния, а внутренняя – из оксида алюминия [1]. Для изучения процесса иммобилизации был использован метод электронного парамагнитного резонанса (ЭПР), который позволяет наблюдать парамагнитные молекулы, находящиеся внутри непарамагнитной матрицы любой морфологии. Для этого лизоцим был ковалентно соединён со спин-меткой (стабильным нитроксильным радикалом) в положении his-15 [2].

Спектры ЭПР регистрировали на спектрометре Bruker EMX-500 Plus. Спектры моделировали с учётом как вращательной подвижности молекул белка, так и подвижности парамагнитного фрагмента относительно белковой молекулы (либрационное движение) при помощи программы ODFR4 [4], разработанной проф. А. Х. Воробьевым (Химический факультет МГУ).

Спектры см-лизоцима, иммобилизованного на всех галлуазитных нанотрубках, представляют собой сумму двух сигналов. Оба сигнала принадлежат см-лизоциму, при этом подвижность белковой глобулы в обоих

случаях находится вблизи жёсткого предела для спектроскопии ЭПР X-диапазона (коэффициент вращательной диффузии не превышает  $5 \times 10^6 \text{ c}^{-1}$ ); различие в сигналах обусловлено, в основном, подвижностью парамагнитной метки.

Результаты моделирования сигналов ЭПР см-лизоцима на оксидных подложках приведены в таблице. Один тип иммобилизованных молекул (молекулы типа I) характеризуется теми же амплитудами либраций нитроксильного фрагмента, какие были определены для раствора см-лизоцима в буферном растворе. Второй тип молекул (молекулы типа II) имеет значительно более низкие амплитуды либраций. Наличие двух типов иммобилизованных молекул, по-видимому, можно интерпретировать следующим образом. В том случае, когда белок сорбируется спин-меченым доменом на поверхности, мы наблюдаем уменьшение подвижности метки. В случае сорбции белка на поверхности другими доменами, мы наблюдаем сохранение либрационного движения нитроксильного фрагмента. Исходя из взаимного расположения активного центра фермента и парамагнитной метки в молекуле см-лизоцима, можно заключить, что именно молекулы фермента, обращённые активным центром к раствору и, следовательно, проявляющие ферментативную активность, дают сигнал ЭПР второго типа. Таким образом, численный анализ спектров ЭПР позволяет определить долю активного фермента, иммобилизованного на пористую поверхность носителя.

*Таблица*

Результаты моделирования спин-меченого лизоцима, иммобилизованного на поверхности галлуазитовых нанотрубок

Carrier	Type of Immobilization	Type of Sygnal	Diff.Tensor $\cdot 10^6$	Lib X $\pm 1^\circ$	Lib $\pm 1^\circ$	Lib Z $\pm 1^\circ$	Conten $\pm 3, \%$
HNT	Sorption	I	1.0	62	34	45	32
		II	1.0	26	26	26	68
	Серия А	I	2.8	62	34	45	64
		II	2.8	32	32	32	36
	Серия В	I	7.6	62	34	45	75
		II	7.6	29	29	29	25

#### Список литературы

1. Lvov Y., Wang W., Zhang L et al. // *Advanced Materials*. 2016. Vol. 28, № 6. P. 1227–1250.
2. Artyukh R. I., Kachalova G. S., Samaryanov B. A. et al. // *Molecular Biology*. Vol. 29, № 1. P. 87–93.
3. Sheldon R. A. // *Advanced Synthesis and Catalysis*. 2007. Vol. 349, № 8–9. P. 1289–1307.

4. Vorobiev A. K., Bogdanov A. V., Yankova T. S. et al. // Journal of Physical Chemistry B. 2019. Vol. 123, № 27. P. 5875–5891.

*\* Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 19-33-50073 мол\_нр и 18-29-12129 мк.*

УДК 577.35

**А. Д. Докучаев<sup>1</sup>, С. Ю. Хамзин<sup>1,2</sup>, О. Э. Соловьева<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Институт иммунологии и физиологии УрО РАН,  
620049, Россия, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, 106,

<sup>2</sup>Уральский федеральный университет  
им. первого Президента России Б. Н. Ельцина,  
620078, Россия, г. Екатеринбург, ул. Мира, 28

## **IN SILICO ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ФУНКЦИЮ СЕРДЕЧНЫХ КЛЕТОК ПРИ СТАРЕНИИ\***

**Ключевые слова:** математическое моделирование функции сердечной клетки, популяция моделей клетки, кардиотоксичность.

Методы популяционного моделирования позволяют отразить естественную вариабельность поведения клеток в живой природе и демонстрируют высокий предсказательный потенциал при изучении механизмов аритмогенности и кардиотоксичности фармакологических веществ [1].

В качестве референтной модели электромеханической активности кардиомиоцитов использовалась оригинальная модель TP+M [2]. Для формирования физиологически допустимой популяции моделей клеток варьировался ряд параметров модели в широком диапазоне (по аналогии с [1]): 6 параметров, описывающих проводимость основных ионных каналов, 2 параметра максимальной скорости работы  $\text{Na}^+\text{-K}^+$  (NKX) и  $\text{Na}^+\text{-Ca}^{2+}$  (NCX) обменников и 1 параметр скорости поглощения свободного кальция насосом SERCA ( $V_{\max\_up}$ ). Была сгенерирована начальная популяция в 20 000 моделей виртуальных кардиомиоцитов. Модели, в которых биомаркеры, характеризующие электрическую активность, динамику свободного внутриклеточного кальция и развиваемую силу в клетках, выходили за допустимые физиологические диапазоны, были затем отбракованы. Полученная контрольная популяция виртуальных клеток насчитывала 240 моделей.