

**РАЗРАБОТКА МИКРОРЕАКТОРА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ АФФИННОГО
ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ БЕЛКОВЫХ И ПОЛИНУКЛЕОТИДНЫХ МАКРОМОЛЕКУЛ
С ОПТИЧЕСКИМ МОНИТОРИНГОМ КИНЕТИКИ РЕАКЦИИ.
ПРОЕКТ № 164**

Координатор: д-р биол. наук Соленов Е. И.
Исполнители: ИЦиГ, ИФП, КТИ ПМ СО РАН

Цель проекта. Основной целью проекта являлось изучение принципиальной возможности мониторинга кинетики процесса специфического связывания биологических макромолекул в гетерофазной системе путем регистрации динамики поглощения УФ-излучения и разработки принципов микрореактора для этих процессов.

Исследование поглощения света молекулярным монослоем в модельной биохимической системе кортикостерон—транскортин. Кортикостерон — гормон коры надпочечников человека и высших животных участвует в реакциях неспецифической адаптации организма при сильном стрессе, например, травматическом и постоперационном. Транскортин — транспортный белок плазмы крови, по-видимому, играет роль буферного белка для кортикостерона. На модельной биохимической системе кортикостерон—транскортин был определен масштаб изменения оптической плотности молекулярного монослоя при образовании аффинного комплекса на прозрачных для УФ подложках. Проведен анализ спектра поглощения комплексов. Показано, что величина поглощения УФ на длине волны 240 нм, определяемая обратимо связанным стероидом, составляет около 10 % от поглощения монослоем сорбированного белка (рис. 1). Установлена плотность связывающих центров в данной системе как $1,0 \pm 0,15$ фмоль/мм². Показана принципиальная возможность осуществления оптического мониторинга аффинных реакций в гетерофазной системе на кварцевых подложках.

Исследование поглощения света молекулярным монослоем сорбированного белка в системе антиген—специфическое антите-

ло, созданной на основе МКП. На непрозрачных для УФ подложках стекло/белок и кремний/белок исследовали поглощение отраженного света в реакторах различных конструкций. Изучены конструкции со слоями белка, сорбированного на оптические поверхности и на поверхности микроканалов, полученных методом травления (МКП). Изучение оптических свойств бычьего сывороточного альбумина (БСА) проводили в системах, где белок был сорбирован на поверхность кварца, стекла и кремния. Анализ спектра поглощения комплексов в гетерофазной системе БСА—кварц показал, что максимум поглощения наблюдается при длинах волн около 210 нм, что соответствует пику поглощения пептидных связей.

Выявлен эффект увеличения поглощения проходящего через стеклянную МКП света после осаждения белка. Исследования влияния образования комплекса БСА со специфиче-

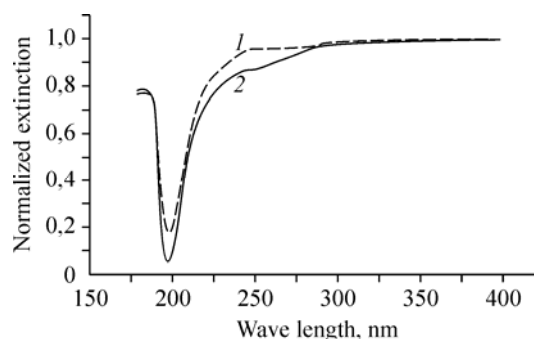
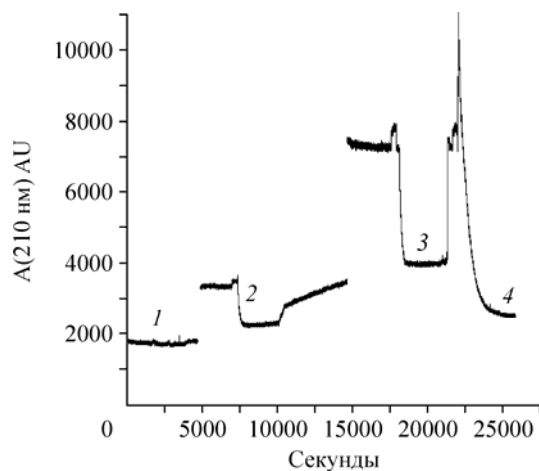


Рис. 1. Спектр поглощения комплекса транскортин—кортикостерон на поверхности кварца.
1 — транскортин, 2 — комплекс.

Fig. 1. Absorbance spectrum of transcortin—corticosterone complex on quartz support.
1 — transcortin, 2 — complex.



скими антителами выявили значительный, воспроизводимый эффект увеличения поглощения проходящего через МКП света до 40 %

Рис. 2. Поглощение света БСА и комплексами БСА—специфические антитела в каналах МКП.

1 — поглощение в отсутствие белка; 2 — БСА; 3 — комплексы БСА—антитела; 4 — элюция 0,1 н уксусной кислотой. Разрывами на графике обозначены периоды длительностью 18 ч.

Fig. 2. Absorbance of the light by BSA and complexes BSA—antibodies adsorbed in the channels of MCP.

1 — background absorbance; 2 — BSA; 3 — BSA-antibodies complexes; 4 — elution with 0.1 n acidic acid. Fractures — 18 hours periods.

от общего поглощения в системе после осаждения БСА (рис. 2). Сделано заключение о возможности оптического мониторинга образования аффинного белкового комплекса в микрореакторе на основе МКП.

Основные публикации

Соленов Е. И., Попов Л. К. Спектры поглощения комплексов кортикостерон—транскортин, сорбированных на кварцевых подложках// Матер. 3-й

Междисциплинарной конференции с международным участием «НБИТТ-21». Петрозаводск. 2004. С. 62.