

**Агрегация лизоцима на твердой подложке в условиях,
при которых лизоцим не агрегирует в растворе**

Украинцев Егор Владиславович

аспирант

Московский Государственный Университет, Физический Факультет

E-mail: ukraintseve@mail.ru

Киселев Глеб Александрович

аспирант

Московский Государственный Университет, Физический Факультет

Кудринский Алексей Александрович

аспирант

Московский Государственный Университет, Химический Факультет

Лисичкин Георгий Васильевич

доктор химических наук, профессор

Московский Государственный Университет, Химический Факультет

Яминский Игорь Владимирович

доктор физико-математических наук, профессор

Московский Государственный Университет, Физический Факультет

Атомно-силовой микроскоп (АСМ) является мощным инструментом для исследования структуры поверхности различных объектов и определения сил межмолекулярного взаимодействия [1]. В настоящей работе продемонстрирована возможность использования АСМ для изучения динамики процессов в поверхностном слое. Предложенный метод основан на том, что молекулы, закрепленные на поверхности кантилевера для АСМ, взаимодействующие между собой, вызывают дополнительное поверхностное натяжение и изгибают кантилевер. Целью настоящей работы являлось изучение влияния рН на межмолекулярные взаимодействия между молекулами лизоцима, иммобилизованными на различных поверхностях с помощью АСМ.

Для иммобилизации лизоцима из белка куриных яиц на золотой поверхности кантилевер был обработан последовательно 50 мМ раствором 4-аминотиофенола в метаноле в течение 17 часов, 5% водным раствором глутарового альдегида в течение 2 часов, и раствором лизоцима (10мг/мл) в ацетатном буферном растворе (150 мМ, рН = 4,5) в течение 1 часа. Для блокировки непрореагировавших альдегидных групп кантилевер был обработан буферным раствором на основе трис-(гидрокси-метиламинометана) (рН = 4.5) в течение 1 часа. Для иммобилизации лизоцима на кремниевой поверхности кантилевер модифицировался вначале 167 мкМ раствором 3-аминопропилсилатрана в воде в течение 1 часа, а затем растворами глутарового альдегида и лизоцима как описано выше.

Нанесение лизоцима на золотую и кремниевую поверхности кантилевера атомно-силового микроскопа и последующее помещение модифицированного кантилевера на время порядка несколько часов в глициновый буферный раствор с рН=3 при комнатной температуре приводит к его изгибу в сторону золота и кремния соответственно, при этом, по данным атомно-силового микроскопии на поверхности происходит образование фибрилл лизоцима длиной 0,5 мкм и высотой 3 нм. Аналогичный эксперимент, проведенный при рН=4,5 в ацетатном буферном растворе показал, что при этом рН лизоцим не агрегирует. Через сутки фибриллы достигают 10 мкм в длину и 10 нм в высоту. Аналогичные явления наблюдаются на поверхности слюды, с нанесенным на нее лизоцимом.

Согласно [2, 3] агрегация лизоцима в растворе с образованием фибрилл происходит при $\text{pH} \leq 3,8$ и температуре $t \geq 57$ С. Таким образом, иммобилизованный лизоцим агрегирует при более низкой температуре, чем в растворе.

1. Y.L. Lyubchenko, A. Kransnoslobodtsev, L.S. Shlyakhtenko, E. Ukraintsev, T.O. Zaikova, J.F.W. Keana // *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* 2005. V. 1, P. 300.
2. L.N. Arnaudov, R. de Vries // *Biophys J.* 2005. V. 88. P. 515.

3. C. McAllister, M. Karymov, Y. Kawano, A.Y. Lushnikov, A. Mikheikin, V.N. Uversky and Y.L. Lyubchenko // J. Mol. Biol. 2005. V. 354. № 5. P. 1028.