

УДК 535.37

**Бордун І. М. , Пташник В. В. , Сардига М. В. (Україна, Львів),
Дмитруха Н. М. , Короленко Т. К. (Україна, Київ)**

ДОСЛІДЖЕННЯ ФЛУОРЕСЦЕНЦІЇ РОЗЧИНІВ АЛЬБУМІНУ З НАНОЧАСТИНКАМИ

У сучасному світі методи отримання та застосування наночастинок відкривають нові можливості у багатьох напрямках діяльності людини завдяки унікальним хімічним, фізичним, біологічним, фармакологічним властивостям наночастинок. З іншого боку, темпи впровадження нанотехнологій у повсякденне життя перевершують швидкість досліджень їх впливу на живі організми. Взаємодія наночастинок з нуклеїновими кислотами, білками та клітинами спричинює зміни їх функціональної активності, а також викликає реакцію імунної системи організму, що в свою чергу може бути небезпечним для здоров'я людини і довкілля. Тому питання безпеки наноматеріалів на сьогодні є актуальним.

Серед існуючих оптичних методів досліджень флуоресценція є одними з найчутливіших методів аналізу біологічних зразків, тому метою даної роботи було дослідження взаємодії між молекулами білка альбуміну та наночастинами Купруму і Феруму флуоресцентним методом.

Для приготування розчинів використовувався людський альбумін у концентрації 10 г/л. Для досліджень цей розчин розводився бідистильованою водою до концентрації 1 г/л. До такого розчину додавали відповідно розчин наночастинок Феруму (усереднені розміри 40 нм) концентрацією 10 мг/мл, цитрат Феруму (усереднені розміри 200 нм) концентрацією 1 мг/мл, наночастинок Купруму (усереднені розміри 20 нм) та цитрат Купруму (усереднені розміри 200 нм) концентрацією 2 мг/мл. Отримані розчини інкубували за кімнатної температури впродовж 2 годин, поміщали у кварцові кювети з довжиною оптичного ходу 10 мм і проводили вимірювання спектрів флуоресценції за допомогою спектрофлуориметра Solar CM 2203. Довжина хвилі збудження становила 280 нм.

Відомо, що бідистильована вода практично не флуоресціює. При додаванні до такої води білка альбуміну і при збудженні розчину у області поглинання складових білка спостерігається досить інтенсивна власна флуоресценція з максимумом у області 340 нм. Флуоресценція білка визначається виключно флуоресценцією ароматичних амінокислот, які входять до його складу. Сиворотковий альбумін має 33 залишки фенілаланіна, 18 залишків тіроzinу і лише один залишок триптофана, який і флуоресціює на цій довжині хвилі, тому що вся енергія збудження передається йому. Білки у розчині є поліелектролітами, у яких переважають сили кулонівського відштовхування. При попаданні наночастинок чи іонів металів у такі розчини буде відбуватися їх взаємодія з різними групами на поверхні білка, нейтралізуючи поверхневий заряд макромолекул. У такому випадку характер взаємодії білкових макромолекул визначатиметься конкуренцією сил диполь-дипольного притягання і сил кулонівського відштовхування. При додаванні до розчину альбуміну наночастинок Феруму спостерігається на порядок слабша флуоресценція, ніж у розчині білка. Це викликано тим, що іони Феруму найчастіше характеризуються як гасники флуоресценції. Зауважимо, що наночастинки Феруму досить активно окиснюються, тому мають велику кількість поверхневих окислів. При додаванні альбуміну енергія збудження передається на ці наночастинки, викликаючи зростання їх свічення. Цитрат Феруму добре розчиняється у воді, його розчин практично не флуоресціює. При денатурації білка, який активно взаємодіє з іонами Феруму, що мають великий іонний радіус, спостерігається суттєве – майже на порядок – зростання інтенсивності флуоресценції цитрату Феруму. Цитрат Купруму взаємодіє з білком набагато слабше, що проявляється у незначній зміні спектрів флуоресценції. У випадку обох цитратів власна флуоресценція альбуміну не спостерігається.

Підсумовуючи вищесказане, можна зробити висновок, що зміна характеру свічення альбуміну при взаємодії з наночастинами і зменшення власного свічення триптофана зумовлено денатуруючою дією наночастинок металів. Ці конформаційні зміни альбуміну під дією наночастинок металів можуть призвести до порушення функціональної активності цього білка у живих організмах.