**Взаємодія фібрилярного лізоциму з модельними мембранами**

*Михайлюта М.С. (науковий керівник – проф. Трусова В.М.)*

Більшість так званих амілоїдних захворювань, до числа яких відносяться нейродегенеративні хвороби, діабет 2 типу, ревматоїдний артрит, тощо виникають в результаті неправильного згортання білка. Це пов’язано з формуванням амілоїдних фібрил в організмі людини [1,2]. Велика кількість недавніх досліджень засвідчила, що бактерицидні та амілоїдогенні властивості білка лізоциму залежать від його мембранотропної дії. Це робить особливо актуальним дослідження впливу фібрилярного лізоциму на властивості модельних мембран. Саме тому мета даної роботи полягала у з’ясуванні молекулярних механізмів утворення комплексів лізоциму з модельними мембранами.

Об’єктами дослідження було обрано фібрилярна та нативна форми білка лізоциму. В якості модельних мембран використовували мультиламелярні ліпосоми із фосфатидилхоліну з молярною часткою аніонного ліпіду кардіоліпіну 5% та 20%, а також ліпосоми, що містили 30мол% холестерину та 5 мол% кардіоліпіну.

З використанням методу мікроелектрофорезу [3] проведено дослідження впливу нативного і фібрилярного лізоциму на електрокінетичні властивості негативно заряджених мультиламелярних ліпосом із нейтрального ліпіду фосфатидилхоліну, аніонного ліпіду кардіоліпіну та холестерину. При варіюванні молярного співвідношення ліпід:білок (Lout/P) визначено такі параметри, як електрофоретична рухливість ліпідних везикул, дзета-потенціал, поверхневий потенціал та поверхнева густина заряду ліпідного бішару. Результати показали немонотонну залежність електрокінетичних параметрів від співвідношення L/P (яке варіювалось у межах 2174 – 43) для нативного та фібрилярного лізоциму, що вказує на можливість багатошарової адсорбції обох форм білка. Також знайдено константи зв’язування білка з ліпосомами за формулою:

 ,

де-концентрація білка -поверхнева густина заряду у контролі та у присутності білка -константа зв’язування білка з фосфоліпідами -кількість зв’язаних ліпідів на одну молекулу білка -загальна площа ліпосом [4]. Виявилося, що значення константи зв’язування фібрил з ліпосомами була нижча, ніж у нативного лізоциму. Це свідчить про більший ефект мономерів та олігомерів лізоциму на фізико-хімічні властивості бішару.

Аналіз вібронної структури спектрів флуоресценції пірену показав, що фібрилярний лізоцим спричиняє зростання ступеня гідратації ліпосомальних мембран без холестерина, в той час як нативний білок не впливав на цей параметр. Крім того, виявлено підвищення ступеня ексимеризації пірену при зв’язуванні обох форм лізоциму з ліпосомами, які містили 20 мол% кардіоліпіну, що свідчить про зростання вільного об’єму мембрани та зменшення щільності пакування ліпідних молекул, однак при введенні холестерину до складу ліпосом спостерігались протилежні зміни цього параметру, причому дія фібрилярного білка була більш вираженою.

Результати даної роботи є корисними для більш глибокого розуміння токсичної дії амілоїдних фібрил.

Список літератури:

1. M. Stefani, Protein misfolding and aggregation: new examples in medicine and biology of the dark side of the protein world / M. Stefani // Biochim. Biophys. Acta. – 2004. – V. 1739. – P. 5-25.
2. E. Zerovnik, Amyloid-fibril formation. Proposed mechanisms and relevance to conformational disease / E. Zerovnik // Eur. J. Biochem. – 2002. – V. 269. – P. 3362-3371.
3. G. Cevc, Membrane electrostatics/ G. Cevc // Biochim. Biophys. Acta. – 1990. – V. 1031. – P. 311-382.
4. Горбенко Г.П. Моделі адсорбції / Горбенко Г.П. // Методичні вказівки. -Х.: ХНУ імені В.Н. Каразіна, 2007.- 40 с.