

## ВЛИЯНИЕ ИОНОВ МАРГАНЦА (II) НА ТРИПТОФАНОВУЮ ФЛЮОРЕСЦЕНЦИЮ ТРАНСГЕННОГО ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ЛАКТОФЕРРИНА

*Т.А. Хрусталёва<sup>2</sup>, В.В. Хрусталёв<sup>1</sup>, Ю.А. Рудниченко<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> *Белорусский государственный медицинский университет,*

<sup>2</sup> *Институт физиологии НАН Беларуси*

**Введение.** Лактоферрин – это полифункциональный белок, осуществляющий перенос ионов железа  $Fe^{3+}$ , содержащийся в плазме крови и, практически, во всех экзокринных секретах млекопитающих (в молоке, слюне, желчи, слезах, секрете поджелудочной железы) [3]. Известно, что с лактоферрином связываются и другие ионы, в том числе ионы марганца двухвалентного  $Mn^{2+}$  [1]. Однако информация о том, как именно происходит связывание  $Mn^{2+}$  с лактоферрином, отсутствует.

**Цель исследования:** установить характер взаимодействия ионов  $Mn^{2+}$  с лактоферрином методом избирательного тушения флюоресценции.

**Задачи исследования:** 1) сравнение  $Mn^{2+}$  с такими стандартными «тушителями» флюоресценции, как катион  $Cs^+$  и анион  $I^-$ ; 2) установление характера влияния анионов ( $Cl^-$  и  $SO_4^{2-}$ ) на связывание ионов  $Mn^{2+}$  лактоферрином.

**Материал и методы исследований.** В качестве материалов в исследовании были использованы: трансгенный человеческий лактоферрин (степень очистки 95%), трис-буфер 0,1М с  $pH=7,4$  (Thermo Scientific, США), соли (х.ч.):  $KCl$ ,  $K_2SO_4$ ,  $CsCl$ ,  $KI$ ,  $MnSO_4 \cdot 5H_2O$ ,  $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ .

Раствор лактоферрина в 0,1М трис-буфере  $pH=7,4$  (3 мл) титровали 1М растворами солей в том же буфере (10 порций по 40 мкл). В случае с  $K_2SO_4$  использовали 0,5М раствор, так как получить 1М раствор этой соли невозможно. Спектры флюоресценции измеряли с помощью спектрофлюориметра Hitachi 650-60 (Япония). Длина волны возбуждения – 296 нм, максимум флюоресценции ( $\lambda$ Ионы  $Mn^{2+}$  связываются с лактоферрином за счёт взаимодействия со связанными в специфических сайтах анионами  $Cl^-$  и  $SO_4^{2-}$ .

Раствор  $MnCl_2$  снижает интенсивность флюоресценции остатков триптофана в лактоферрине сильнее, чем раствор  $MnSO_4$ , что свидетельствует о том, что хлорид-ионы играют значительную роль в координации ионов  $Mn^{2+}$  лактоферрином.

## THE INFLUENCE OF MANGANESE (II) IONS ON THE TRYPTOPHAN FLUORESCENCE OF HUMAN TRANSGENIC LACTOFERRINE

*T.A. Khrustaleva, V.V. Khrustalev, Y.A. Rudnichenko*

We showed that  $Mn^{2+}$  quenches tryptophan lactoferrin fluorescence in an anion-like manner comparable with  $I^-$  ions. Solution of  $MnCl_2$  is a stronger quencher than solution of  $MnSO_4$ . It means that  $Mn^{2+}$  binds  $Cl^-$  or  $SO_4^{2-}$  anions which are already bound by lactoferrin

### Литература.

1. Davidson L. A. Fe-saturation and proteolysis of human lactoferrin: effect on brush-border receptor-mediated uptake of Fe and Mn / L. A. Davidson, B. Lonnerdal // *Am. J. Physiol.* – 1989. – Vol.257. – P. 930-934.
2. Fragment-based identification of determinants of conformational and spectroscopic change at the ricin active site / J. H. Carra [et al.] // *BMC Struct. Biol.* – 2007. – Vol. 7. –N.72.
3. Levay P. F. Lactoferrin: a general review / P. F. Levay, M. Viljoen // *Haematologica.* – 1995. – Vol.80, P. 252-267.
4. Topics in fluorescence spectroscopy: Biochemical applications / J. R. Lakowicz [et al.] // Kluwer Academic Publishers. – 2002.