

ВЛИЯНИЕ СОСТАВА И ИОННОЙ СИЛЫ БУФЕРНЫХ СИСТЕМ НА СТАБИЛЬНОСТЬ БИОГИБРИДА LDH-Hb

Слоистые двойные гидроксиды (LDH) являются особым классом ионообменных минералов широко распространенных в природе, которые в определенных условиях могут быть получены искусственно в лаборатории. Плоскостная структура данных минералов представлена двумя слоями гидроксидов различных металлов, между которыми располагается слой анионов и молекул воды. Уникальным свойством LDH является его способность к замещению анионов внутреннего слоя на заряженные биологические молекулы, например белки и нуклеиновые кислоты, что может быть использовано для иммобилизации и доставки данных соединений во внутренние компартменты клетки. На наш взгляд особый интерес может представлять использование наноразмерных биогбридов этого минерала с гемоглобином в качестве катализатора ряда химических реакций трансформации ксенобиотиков.

Иммобилизация ряда ферментов в слоистые двойные гидроксиды может приводить не только к увеличению скорости катализируемых реакций, но и увеличению операционной стабильности иммобилизованного фермента. Каталитическая эффективность гемоглобина в составе комплекса LDH-Hb в реакциях трансформации ксенобиотиков в присутствии H_2O , зависит от величины pH среды. С другой стороны на стабильность данного биогбрида в буферной системе в значительной степени может влиять величина ионной силы используемого буфера.

LDH получали методом соосаждения хлоридов магния и алюминия с гидроокисью натрия при постоянном перемешивании и контролируемом значении pH. Методом электронной микроскопии показано, что полученные

нами наночастицы LDH имеют дискообразную форму с диаметром, составляющем 40-80 нм, при толщине диска 3–5 нм.

Биогибрид получали методом ионного обмена LDH с гемоглобином. Установлено, что предельная емкость частиц LDH для гемоглобина составляет величину, лежащую в пределах 0,336-0,672 мг Hb на 1 мг сухого вещества LDH.

Влияние ионной силы калий-фосфатного буфера (КФБ) pH 7,4 и Tris-HCl буфера pH 7,4 на стабильность LDH-Hb оценивали по высвобождению гемоглобина из LDH-Hb биогбридов посредством инкубации суспензии биогбрида LDH-Hb в растворах соответствующего буфера с возрастающей молярностью. Количество элюированного из комплекса LDH-Hb оксигемоглобина в супернатанте определяли спектрофотометрически.

Показано, что буферная система Tris-HCl pH 7,4 в широком диапазоне концентраций практически не оказывает влияния на стабильность биогбрида LDH-Hb. Напротив, КФБ существенно влияет на стабильность биогбрида LDH-Hb. Комплекс LDH-Hb проявляет заметную стабильность в КФБ только при неполной загрузке LDH белком (0,336 мг HbA₁ на 1 мг сухих частиц LDH) и молярности буфера, не превышающей 10 мМ. Таким образом, буферная система Tris-HCl pH 7,4 является наиболее удобной для последующей характеристики каталитических свойств гемоглобина в составе комплекса LDH-Hb в реакциях трансформации ксенобиотиков в присутствии H₂O₂.

Slapik V. M., Makarova T. P., Bokut S. B.

INFLUENCE OF COMPOSITION AND IONIC STRENGTH OF THE BUFFER SYSTEMS ON THE BIOHYBRID LDH-HB STABILITY

The coprecipitation and ion exchange method permit to obtain layered double hydroxide and hemoglobin biohybrid. It is shown that Tris-HCl buffer is the most convenient system for studying the catalytic activity of hemoglobin immobilized in LDH in biotransformation reactions.