

**АКВАФОТОМИКА И БЛИЖНЯЯ ИНФРАКРАСНАЯ (БИК)
СПЕКТРОСКОПИЯ ДЛЯ МОНИТОРИНГА СТРУКТУРНОЙ ЦЕЛОСТНОСТИ
БЕЛКОВЫХ МИКРОПУЗЫРЬКОВ В СИСТЕМАХ ДОСТАВКИ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ**

**Ю. А. Ладанова¹, А.О. Орлова¹, А.А. Суркова¹,
Научный руководитель – канд. хим. наук, в.н.с. Суркова А. А.¹**

¹Университет ИТМО

julia_ladanova@mail.ru

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 24-73-10191).

Введение

Белки являются ключевыми функциональными компонентами биологических и биотехнологических систем. Сохранение нативной пространственной структуры белка необходимо для поддержания его биологической активности, стабильности и предсказуемого поведения в растворе. Денатурация белка — нарушение вторичной, третичной и четвертичной структур под воздействием физических или химических факторов — может приводить к агрегации, потере функциональности и изменению взаимодействий с окружающей средой. Поэтому разработка методов быстрого контроля является важной задачей в биофизических исследованиях и производстве белковых препаратов [1].

Основная часть

Различные спектроскопические методы, такие как круговой дихроизм (КД), инфракрасная (ИК) и рамановская спектроскопия, широко применяются для анализа структуры белков. Спектроскопия кругового дихроизма широко используется для определения содержания вторичных структур в белковых растворах и мониторинга конформационных переходов, таких как денатурация [2]. Несмотря на высокую информативность, её практическое применение для контроля «in situ» часто ограничено строгими требованиями к оптической прозрачности образца, высокой стоимостью и сложностью оборудования.

Ближняя инфракрасная (БИК) спектроскопия является мощным неразрушающим аналитическим инструментом, обеспечивающим быстрый и точный анализ «in situ», и широко применяется для исследования водных и биологических систем. БИК-спектроскопия регистрирует обертоны и комбинационные полосы колебаний групп, участвующих в водородных связях (O–H, N–H, C–H), что делает её особенно чувствительной к составу и структуре сложных матриц. В исследованиях белков БИК-спектроскопия позволяет определять общее содержание белка и отслеживать термические эффекты, агрегацию и изменения свойств раствора [3]. Однако прямые спектральные сигналы белков в этой области слабы. В то же время метод обладает высокой чувствительностью к изменениям состояния водной матрицы, окружающей макромолекулу. Анализ этих изменений, лежащий в основе аквафотомики [4], позволяет косвенно, но с высокой чувствительностью выявлять конформационные переходы белка

(например, денатурацию и фолдинг), а также изучать молекулярные взаимодействия посредством мониторинга перестроек в гидратационной оболочке.

Выводы

Целью данной работы была оценка применимости БИК-спектроскопии в сочетании с хемометрикой и аквафотомикой для мониторинга структурных изменений бычьего сывороточного альбумина (БСА) при термическом воздействии. БСА исследовали в водном растворе, в системе на основе микропузырьков и в комплексах со стабилизирующими добавками (спермин и поливинилпирролидон). БИК-спектры анализировали методом главных компонент (МГК) для выявления ключевых факторов спектральной вариабельности и снижения размерности данных, дополняя анализ аквафотомным подходом для интерпретации изменений водной матрицы. Полученные результаты демонстрируют, что данная интегрированная методология является эффективным инструментом неразрушающего мониторинга денатурации белка и анализа стабилизирующего эффекта добавок в сложных водных системах.

Литература

1. Gooran N., Kopra K. Fluorescence-based protein stability monitoring—a review //International Journal of Molecular Sciences. 2024. Vol. 25, no. 3. P. 1764.
2. Jones C. Circular dichroism of biopharmaceutical proteins in a quality-regulated environment //Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2022. Vol. 219, P. 114945.
3. Beć K. B., Grabska J., Huck C. W. Near-infrared spectroscopy in bio-applications //Molecules. 2020. Vol. 25, no. 12. P. 2948.
4. Tsenkova R. et al. Essentials of aquaphotomics and its chemometrics approaches //Frontiers in chemistry. 2018. Vol. 6, P. 363.