

*Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Ставропольский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации*

БИОТЕХНОЛОГИЯ: ВЗГЛЯД В БУДУЩЕЕ

**МАТЕРИАЛЫ XI МЕЖДУНАРОДНОЙ
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ**

Часть II

Ставрополь, 2025

УДК 60(063)
ББК 35 30.600.6я431
Б 63

БИОТЕХНОЛОГИЯ: ВЗГЛЯД В БУДУЩЕЕ: материалы XI междунар. науч.-практ. конф. в двух частях. Часть II – Ставрополь: Изд-во СтГМУ, 2025. – 284 с.

ISBN 978-5-89822-911-5 (Ч. II – 284 с.)

ISBN 978-5-89822-910-8

Члены редакционной коллегии:

А.Б. Ходжаян – д. м. н., профессор;

Н.А. Фелько – д. м. н., профессор;

М.В. Топчий – к. б. н., доцент;

Т.М. Чурилова – к. б. н., доцент.

Ответственный редактор:

В.Н. Мажаров – к.м.н., доцент, ректор СтГМУ.

В сборнике представлены материалы XI международной научно-практической конференции по перспективным проблемам биотехнологии лекарственных средств, актуальным вопросам экологической, пищевой, медицинской биотехнологии, химии, биологии, экологии, медицинской диагностики, биоэтическим проблемам современной науки, особенностям преподавания в медицинском вузе.

Рецензенты:

Коробкеев А.А. – д.м.н., профессор, проректор по научной и инновационной работе Ставропольского государственного медицинского университета.

Жарникова И.В. – д.б.н., старший научный сотрудник, ведущий научный сотрудник научно-производственной лаборатории препаратов для диагностики особо опасных и других инфекций ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора.

УДК 60(063)
ББК 35 30.600.6я431
Б 63

Материалы публикуются в авторской редакции.

Рекомендовано к печати редакционно-издательским советом СтГМУ.

ISBN 978-5-89822-911-5 (Ч. II – 284 с.)
ISBN 978-5-89822-910-8

© Ставропольский государственный
медицинский университет, 2025

Спиридонова А.Л., Касимова А.Х., Романова Я.А.

Удмуртский государственный университет

**ВЛИЯНИЕ ФЕНОЛА НА СВЯЗЫВАЮЩУЮ СПОСОБНОСТЬ
БЫЧЬЕГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА**

Альбумин – важнейшая белковая фракция плазмы крови, его назначение в организме поливалентно, но основные физиологические функции три: транспортная, гемодинамическая и основной белковый резерв организма. Человеческий сывороточный альбумин широко используется в медицине в случаях шока различного генеза, острой кровопотери, поражения почек, ожогах, отека мозга, заболевания печени, сепсиса, острого повреждения легких и других [1]. Препараты альбумина крупного рогатого скота также могут быть полезны и эффективны для лечения и поддержки здоровья животных. Альтернативным источником для получения ветеринарных биопрепаратов на основе белков плазмы может служить боевская кровь. Несмотря на свой биологический потенциал, боевская кровь и побочные продукты мясокомбинатов считаются биоотходами и подлежат утилизации по причине потенциальной инфекционности.

При заготовке белковых препаратов из плазмы крови убойных животных требуется ее обеззараживание, чтобы гарантировать безопасность и эффективность получаемых продуктов. Для этого могут быть использованы термические методы, такие как нагревание или обработка ультрафиолетовым светом, фильтрация через специальные мембраны для удаления

микроорганизмов, а также применение ряда дезинфектантов. Дезинфицирующие средства влияют на белки, снижая эффективность и безопасность лекарств. Чтобы минимизировать вред, необходимо тщательно выбирать средства и оптимизировать заготовку сырья. Одним из возможных дезинфектантов может быть фенол (карболовая кислота), который является производным ароматическим углеводородом, в молекулах которого гидроксильная группа непосредственно связана с атомами углерода в бензольном кольце.

В медицине карболовая кислота применяется как местное прижигающее и болеутоляющее средство, в фармацевтической практике применяют для консервирования лекарственных веществ, сывороток и др. Фенол обладает бактериостатическим действием в концентрации 0,1 – 1 % и обладает бактерицидным/фунгицидным действием в концентрации 1 – 2 %. В данной работе была проведена оценка влияния фенола в различных концентрациях на связывающую способность бычьего сывороточного альбумина (БСА) по отношению к Cibacron Blue F3G-A.

Для проведения исследований использовали сывороточный альбумин быка - лиофилизированный препарат фирмы Sigma-Aldrich, с молекулярной массой 68 кДа и чистотой не менее 98 %. Так как альбумин, являясь основным транспортным белком крови, способен образовывать димеры и полимеры различного состава, для получения чистой мономерной формы проводили эксклюзионную хроматографию на сорбенте Sephacryl S-200. Сливали пробирочные фракции соответствующие объёму выхода БСА, проводили фракционирование 20 % ПЭГ-4000. Далее смешивали раствор мономерного БСА с различными концентрациями фенола в соотношении 1:1, и инкубировали 1 день при температуре 22 ± 2 °C. В качестве контроля образец в 0,02 М натрий-фосфатном буфере pH 7,1 $\pm$ 0,05.

Для остановки влияния фенола на БСА через 1 день инкубации проводили гель-филтрацию на сорбенте Sephadex G-25 в качестве элюента 0,02 М натрий-фосфатный буфер pH 7,1 $\pm$ 0,05. Завершающей стадией работы исследовалось связывающая способность альбумина с помощью аффинной хроматографии на сорбенте Affi-Gel Blue Media в режиме сорбции целевого белка. В качестве стартового буфера - 0,02 М натрий-фосфатный буфер pH 7,1 $\pm$ 0,05, буфер для десорбции - 0,02 М натрий-фосфатный буфер pH 7,1 $\pm$ 0,05 с добавлением 1,4 М NaCl. Все хроматографии проводили на хроматографической системе низкого давления BioLogic LP (Bio-Rad). Белковый спектр всех полученных фракций анализировали с помощью электрофоретического метода. Образцы исследовали диск-электрофорезом по Дэвису в модификации Лэммли в градиентном (5 - 20 %) ПААГ в диссоциирующих условиях.

На первом этапе исследования получена хроматографически мономерная и электрофоретически гомогенная фракция БСА. Результаты представлены на рисунке 1. Пробирочные фракции белка с 101 по 124 соответствуют объёму выхода альбумина. Данные фракции объединены и пересажены ПЭГ-4000, проведен электрофорез объединённого пика. В процессе фракционирования электрофоретическая чистота возросла с 73 % до 98 %.

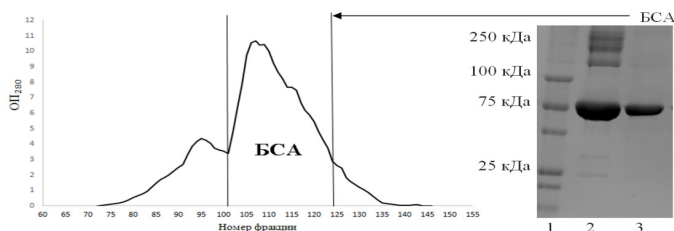


Рис. 1. Результаты выделения мономерной формы БСА

Примечание: 1 – калибрانت Precision Plus Protein All Blue Standards, 2 – препарат альбумина бычьего сывороточного, 3 – фракция БСА после эксклюзионной хроматографии

Важно отметить, что после добавления фенола 1 и 2 % не было выявлено осаждения белков и даже повышения показателей мутности образцов, ни сразу, ни через 24 часа инкубации. Через 1 день инкубации БСА в концентрациях фенола 1 и 2 % проводили очистку от дезинфектанта с помощью гель-хроматографии. По хроматографическим профилям, представленным на рисунке 2 видно, что на сорбенте Sephadex G-25 разделение молекул БСА и молекул фенола происходит эффективно.

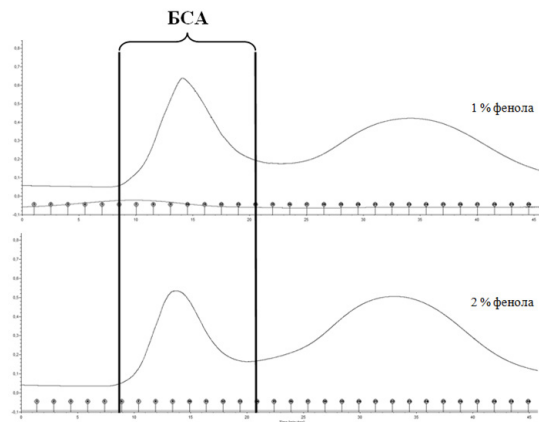


Рис. 2. Хроматографические профили очистки образцов от различных концентраций фенола

Образцы после обработки фенолом и гель-фильтрации далее концентрировали с помощью концентраторов (JetSpin Centrifugal Filter BIOFIL) до значений концентрации как в контрольном (без обработки фенолом) образце. Была проведена оценка связывающей способности БСА по отношению к Cibacron Blue F3G-A после воздействия фенола в концентрации 1 и 2 % с помощью аффинной хроматографии. Cibacron Blue – антрахиноновый краситель, используемый в качестве аффинного лиганда для селективного выделения и очистки альбуминов и других белков. Цибаcron связывается с БСА в определенном сайте связывания (предположительно, сайте Sudlow I) [2]. Оценивали количество связавшегося (второй пик) и не связавшегося (первый пик) с сорбентом белка. Результаты, представленные на рисунке 3, демонстрируют снижение доли связывающегося белка после обработки альбумина фенолом.

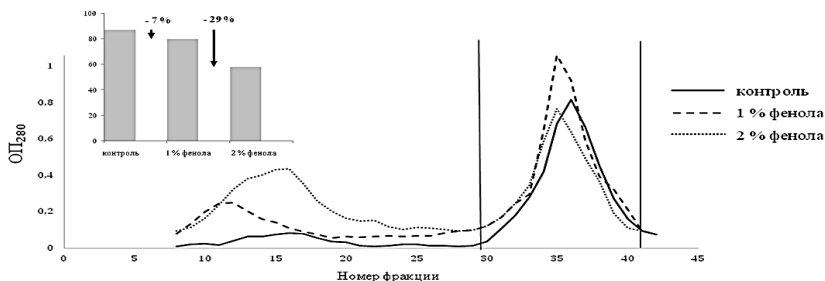


Рис. 3. Влияние фенола на связывающую способность БСА по отношению к Cibacron Blue F3G-A

Обработка 1 % фенола в течение 1 дня инкубации приводит к снижению связывающей способности БСА на 7 % по сравнению с контролем, увеличение концентрации фенола до 2 % приводит к снижению количества способного к связыванию белка в 4 раза. На основании проведенного исследования можно заключить, что увеличение концентрации фенола приводит к повышению доли не связанного белка. Это указывает на воздействие фенола на центры связывания альбумина. Известно, что взаимодействие сывороточного альбумина со свободными радикалами вызывает его окислительную модификацию, изменяющую функциональные свойства. Альбумин выступает одновременно источником и мишенью для свободных радикалов при патологии [3]. В то же время фенол может быть окислен до фе-

ноксильного радикала и потенциально может окислять белки прямым или опосредованным образом. Аминокислотные остатки, особенно восприимчивые к окислению фенольными радикалами, включают цистеин, метионин, тирозин, триптофан, гистидин и лизин.

В исследованиях Харман выявлено, что метадоксин может блокировать сайт Sudlow I, метадоксин схож с фенолом (малые молекулы с ароматическими структурами [4]. Можно предположить, что фенол снижает связывание цибаокрона с БСА, преимущественно взаимодействуя с сайтом Sudlow I (домен ПА), ключевую роль в котором играет триптофан (Trp213). Фенол, как ароматическое соединение, конкурирует с цибакроном за гидрофобный карман сайта. Дополнительно в присутствии катализаторов окисления, фенол может окислять триптофан, изменяя его микроокружение и ослабляя гидрофобное взаимодействие с цибакроном, эти эффекты приводят к увеличению несвязанного альбумина, не затрагивая его общую активность.

Для проведения более точного анализа связывающей способности бычьего сывороточного альбумина требуются проведение дальнейших статистических исследований, включающих тестирование не только фенола, но и других дезинфектантов.

Список использованной литературы

1. Глумчер Ф.С. Возможности применения альбумина в терапии критических состояний: современное состояние проблем / Ф. С. Глумчер // Медицина неотложных состояний, 2014. – № 2(57). – С. 65-73.
2. Balakrishnan A. Fluorescence studies on the binding of Cibacron Blue F3G-A to bovine serum albumin / Balakrishnan A., Subramanian E. // Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 1995. – V. 51(12). – P. 2245-2252.
3. Созарукова М.М. Сывороточный альбумин как источник и мишень свободных радикалов в патологии / М. М. Созарукова, Е. В. Проскурнина, Ю. А. Владимиров // Вестник Российского государственного медицинского университета, 2016. – №1. – С. 61-67.
4. Kour H. D. Insights into the Binding of Metadoxine with Bovine Serum Albumin: A Multi-Spectroscopic Investigation Combined with Molecular Docking / H. D.Kour, A. Pathania, A. R. Pathania. – Текст : электронный // Current Protein & Peptide Science. – 2024. – V. 26. – P. 213-225. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39473246/> (дата обращения: 03.03.2024).

БИОТЕХНОЛОГИЯ: ВЗГЛЯД В БУДУЩЕЕ

МАТЕРИАЛЫ XI МЕЖДУНАРОДНОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ

Часть II

Компьютерная верстка О. Г. Слисарь

Подписано в печать 22.05.2025 г.
Формат 60х84 ¹/₁₆. Бумага офсетная. Печать офсетная.
Гарнитура Times New Roman. Усл. печ. л. 16,5.
Заказ № 229. Тираж 30 экз.

**Ставропольский государственный медицинский университет,
355017, г. Ставрополь, ул. Мира, 310.**