

**ИЗУЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ НЕЙРАМИНИДАЗЫ ВИРУСА ГРИППА В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ И АГРЕГАТАХ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ.**Гребёнкина Н.С.<sup>1</sup>, Контаров Н.А.<sup>2</sup>, Юминова Н.В.<sup>3</sup><sup>1</sup>ФГУП «НПО «Микроген» Минздрава России*Кожевнический проезд, 4, стр. 3, г. Москва, РФ*<sup>2</sup>ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России*Малая Трубецкая ул., 8, стр. 2, Москва, РФ*<sup>3</sup>ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова*Малый Казенный пер., 5, Москва, РФ**e-mail: nataliagrebyo@mail.ru*

**Аннотация.** Известно, что функционирование многих белков и ферментов зависит от степени гидратации их поверхностей. Так, Хургиным Ю.И. с коллегами была показана зависимость активности альфа-химотрипсина от величины упругости паров воды. Влияние гидратации на функциональную активность вирусных антигенных белков на данный момент неизвестно. При этом гидратация может оказывать влияние на связывание того или иного антигенного белка с рецептором «клетки-мишени» и влиять на интерпретацию данных по определению активности антигенного белка.

**Ключевые слова:** степень гидратации, нейраминидаза (NA), модель адсорбции Брунауэра-Эммета-Теллера (БЭТ), поверхностно-активные вещества (ПАВ).

**STUDY ACTIVITY OF INFLUENZA NEURAMINIDASE IN AQUEOUS SOLUTION AND AGGREGATES SURFACTANTS.**Grebyonkina N.S.<sup>1</sup>, Kontarov N.A.<sup>2</sup>, Yuminova N.V.<sup>3</sup><sup>1</sup>FSUE NPO Microgen of the Russian Ministry of Health*Kozhevnikheskiy travel, 4, p. 3, Moscow, Russia*<sup>2</sup>I.M. Sechenov First Moscow State Medical University*Small Trubetskaya str., 8, bld. 2, Moscow, Russia*<sup>3</sup>Federal state budgetary institution "scientific research Institute of vaccines and sera" of I.I. Mechnikov RAMS*Small Kozenyi lane., 5, Moscow, Russia**e-mail: nataliagrebyo@mail.ru*

**Abstract.** It is known that the functioning of many proteins and enzymes depends on the degree of hydration of their surfaces. So, Jurginis Y.I. with colleagues was shown the dependence of the activity of alpha-chymotrypsin on the magnitude of elasticity of water vapor. The influence of hydration on the functional activity of the viral antigenic proteins is currently unknown. In this case, the hydration can influence the binding of particular antigenic protein to a receptor "target cells" and affect the interpretation of data to determine the activity of the antigenic protein.

**Key words:** degree of hydration, neuraminidase (NA), the model of the adsorption of the Brunauer-Emmett-Teller (BET), surfactants.

В наших исследованиях в качестве модели поверхностного антигенного вирусного белка была выбрана нейраминидаза вируса гриппа. По полученным в процессе проведения экспериментов данным были построены изотермы сорбции-десорбции паров воды (см. рис. 1), а также их линейные анаморфозы в координатах уравнения БЭТ (см. рис. 2).

Как видно из графика (см. рис. 1), максимальное связывание молекул воды наблюдалось при значении упругости паров  $p/p_s = 0,65$  и составило 8,66 мМ воды на 1 грамм NA, что соответствует 224 молекулам воды на 1 молекулу фермента. Минимальное связывание молекул воды наблюдалась при значении упругости паров воды 0,38 и составило 3,6 мМ воды на 1 грамм NA. При сопоставлении с расчетной площадью (S) тетрамера NA ( $S = 256 \text{ нм}^2$ ) и учитывая максимальную S проекции молекул воды можно сделать вывод о полном покрытии монослоем воды всей поверхности фермента.

Также видно, что изотермы сорбции и десорбции паров воды не совпадают, что связано с явлением гистерезиса, заключающегося в различном значении монослоя  $\alpha_m$  при сорбции и десорбции паров воды с поверхности фермента NA в виду высокой степени кооперативности образующейся гидратной оболочки.

С помощью линейных анаморфоз (см. рис. 2) были рассчитаны параметры уравнения БЭТ. Из полученных данных сделан вывод, что величина  $\alpha_m$  (емкость монослоя) соответствует совокупности молекул воды, связанных в первую очередь теми центрами, которые имеют большую энергию сорбции, по сравнению с энергией связанной воды, завершающих образование гидратной оболочки.

По полученным результатам можно сделать следующие выводы: фермент NA вируса гриппа подвергается гидратации, этот процесс обратимый. Ферментативная активность NA вируса гриппа зависит от степени гидратации поверхности фермента NA.

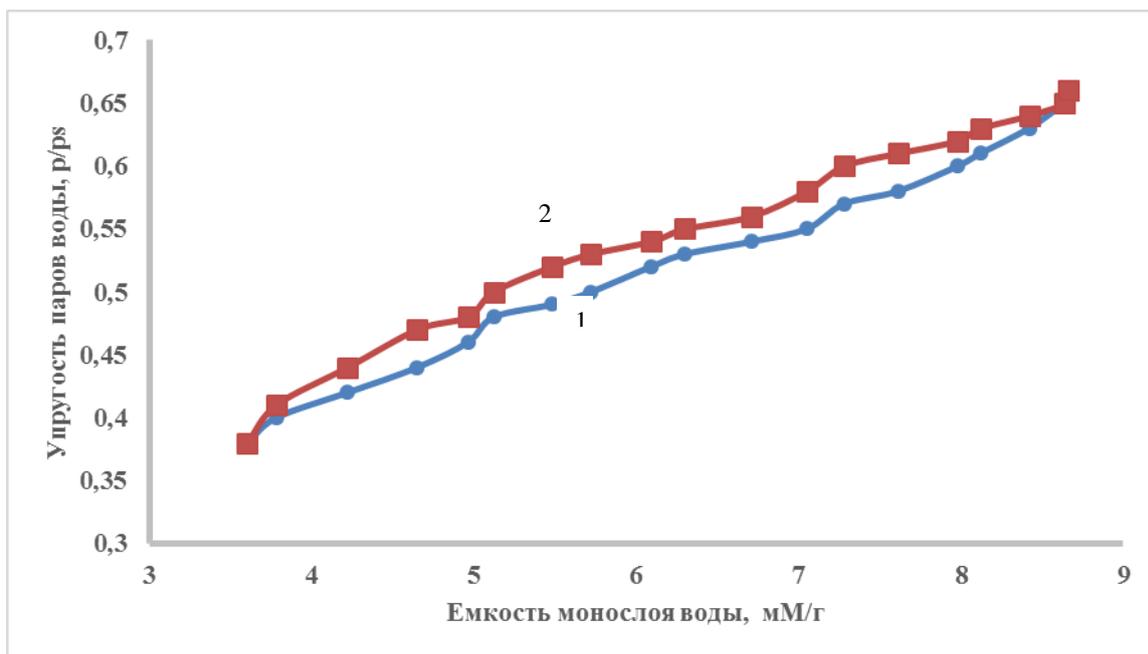


Рисунок 1 – Изотерма сорбции (1) и десорбции (2) паров воды NA вируса гриппа

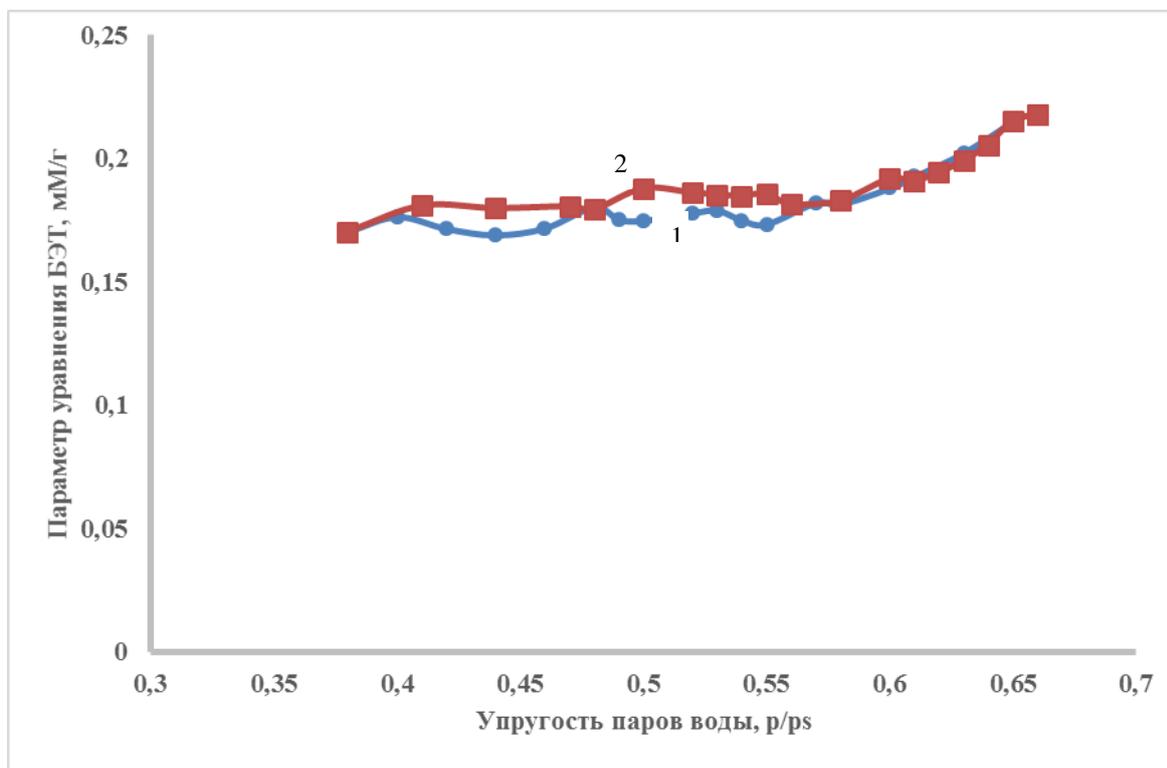


Рисунок 2 – Линейная анаморфоза изотермы сорбции (1) и десорбции (2) паров воды NA в координатах уравнения БЭТ

Изучение закономерностей катализа ферментами, солюбилизированными в органических растворителях с помощью обращенных мицелл поверхностно-активных веществ (ПАВ) позволяет выявлять пути регуляции активности данного фермента. Ведение воды в систему обращенных мицелл изменяет степень их гидратации, которая определяется следующим образом:

$$\omega_0 = [H_2O]/[ПАВ]$$

Зависимость каталитической активности нейраминидазы вируса гриппа, встроенной в систему обращенных мицелл из натриевой соли диизооктилового эфира сульфоянтарной кислоты (аэрозоль), от  $\omega_0$  имеет колоколообразный вид с максимумом активности фермента (см. рис. 3). Степень гидратации фермента в системе обращенных мицелл зависит от молекулярной массы белковой молекулы фермента и радиуса полости мицеллы. Указанные зависимости известны для молекул фермента, имеющих сферическую форму, однако нейраминидаза вируса гриппа имеет форму близкую к эллиптической. В таком случае оптимальное значение

$\omega_0$  зависит от типа упаковки молекул ПАВ в мицелле. Нами проведены исследования активности нейраминидазы от  $\omega_0$  для трех типов упаковки ПАВ: мицеллярной, гексагональной и ламеллярной. Наибольшее значение активности наблюдалось для мицеллярной упаковки ПАВ в мицеллах, при этом степень гидратации соответствовало значению  $\omega_0 = 30$  % по массе.

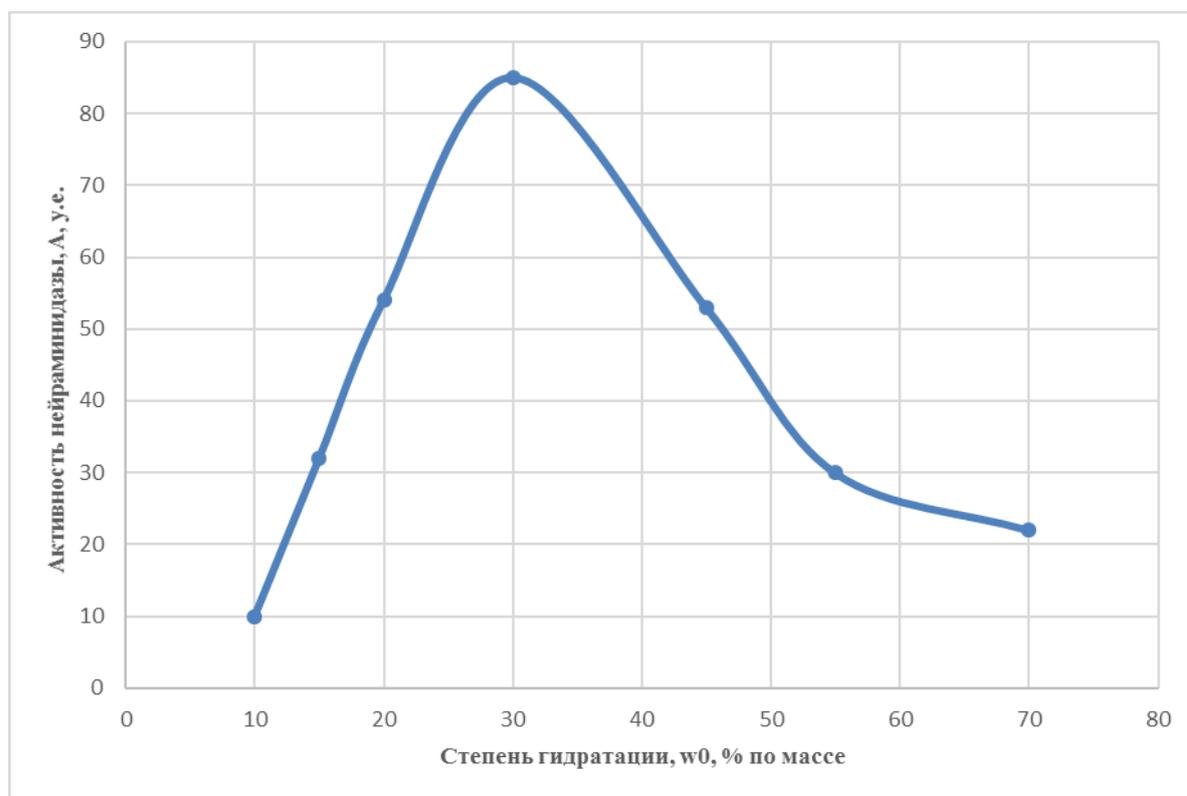


Рисунок 3 - Зависимость активности нейраминидазы вируса гриппа от степени гидратации в системе фермент-обратные мицеллы

**Список литературы / References:**

1. Остарман Л.А. *Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: Электрофорез и ультрацентрифугирование* (практическое пособие). М.: Наука, 1981, с. 288. [Ostarman L.A. *Methods of study of proteins and nucleic acids: Electrophoresis and Ultracentrifugation* (practical guide). Moscow: Nauka, 1981, p. 288. (In Russ.)]
2. Хургин Ю.И., Росляков В.Я., Клячко-Гурвич А.Л., Бруева Т.Р. Адсорбция паров воды  $\alpha$ -химотрипсином и лизоцимом. *Биохимия*, 1972, т. 37, с. 485-492. [Hurgin Yu.I., Roslyakov V.Ya., Klyachko-Gurvich A.L., Brueva T.R. The adsorption of water vapor by  $\alpha$ -chymotrypsin and lysozyme. *Biohimiy*, 1972, vol. 37, pp. 485-492. (In Russ.)]
3. Мейхи Б.В.Дж. *Вирусология: Методы*. М.: Мир, 1988, 192 с. [Meyhi B.V.Dzh. *Virusologiya: Metodyi*. Moscow: Mir, 1988, 192 p. (in Russ.)]
4. Tompa K., Bokor M., Verebelyi T., Tompa P. Water rotation barriers on protein molecular surfaces. *Chemical Physics*, 2015, vol. 448, pp. 15-25.
5. Walde P., Peng Q., Fadnavis N.W., Battistel E., Luisi P.L. Structure and activity of trypsin in reverse micelles. *Eur. J. Biochem*, 1988, vol. 173, pp. 401-409.
6. Mao Q., Walde P., Luisi P.L. Kinetic behaviour of  $\alpha$ -chymotrypsin in reverse micelles. *Eur. J. Biochem*, 1992, vol. 208, pp. 165-170.
7. Bru R., Walde P. Product inhibition of  $\alpha$ -chymotrypsin in reverse micelles. *Eur. J. Biochem*, 1991, vol. 199, pp. 95-103.