

ПОРИСТЫЕ МИКРОЧАСТИЦЫ КАТАЛАЗЫ, ПОЛУЧЕННЫЕ НА ОСНОВЕ ВАТЕРИТА CaCO_3

М.А. Тагирова, Н.Г. Балабушевич, Н.Л. Клячко, Д.В. Володькин

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

В настоящее время пористые микросферы ватерита широко применяются в качестве контейнеров для включения биологически активных веществ и основы для создания полимерных многослойных капсул. Среди полиморфных форм CaCO_3 ватерит обладает высокой удельной поверхностью, контролируемым размером частиц и мезопористой внутренней структурой [1].

Для высокоэффективного включения белков различной природы в микросферы ватерита активно используют соосаждение при формировании частиц [2–3].

В качестве белка для исследования включения в микросферы ватерита выбрана высокомолекулярная каталаза (250 кДа, рI 5,4). Каталаза относится к ферментам класса оксидоредуктаз, является хромопротеидом, имеющим в качестве простетической (небелковой) группы окисленный гемм, и состоит из четырех идентичных субъединиц с молекулярной массой около 60 кДа [4].

Цель работы – получение пористых микрочастиц каталазы с использованием микросфер ватерита.

Микросферы ватерита получали по стандартной методике смешиванием растворов CaCl_2 и Na_2CO_3 в присутствии каталазы в концентрации 4 мг/мл [3] с последующей инкубацией и промывкой от не связанного белка. Включение белка в микросферы определяли путем измерения оптической плотности при 280 нм в промыточных и надосадочных растворах. Варьируя мольное соотношение глутарового альдегида по отношению к каталазе (от 10/1 до 900/1), проводили сшивание аминокислотных групп белка в микросферах ватерита и растворяли CaCO_3 -матрицу с использованием этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА). Активность фермента спектрофотометрически измеряли путем мониторинга скорости разложения перекиси водорода при 240 нм. Сохранение удельной активности каталазы в микросферах рассчитывали как соотношение между активностью фермента после растворения микросфер в ЭДТА и нативной каталазы в равной концентрации в фосфатном буфере (рН 7,0). Подобраны условия обработки глутаровым альдегидом и растворения CaCO_3 , позволяющие добиться наибольшего включения белка при сохранении высокой удельной активности фермента.

В результате исследования проведено включение каталазы методом соосаждения в микросферы ватерита, подобраны условия сшивания аминокислотных групп каталазы глутаровым альдегидом в порах ватерита и растворения CaCO_3 -матрицы, получены и охарактеризованы пористые микрочастицы каталазы. Выявлено, что процесс сшивания микросфер глутаровым альдегидом влияет на включение и на сохранение удельной активности каталазы в микросферах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Volodkin, D. CaCO_3 templated micro-beads and – capsules for bioapplications // *Advances in Colloid and Interface Science*. – 2014. – Vol.207. – P.306–324.
2. Sharma, S., Verma, A., Teja, B.V., Pandey, G., Mittapelly, N., Trivedi, R., Mishra, P.R. An insight into functionalized calcium based inorganic nanomaterials in biomedicine: Trends and transitions // *Colloids Surf B Biointerfaces*. – 2015. – Vol.133. – P.120–139.
3. Feoktistova N.A., Vikulina A.S., Balabushevich N.G., Skirtach A.G., Volodkin D. Bioactivity of catalase loading into vaterite CaCO_3 crystals via adsorption and co-synthesis // *Materials and Design*. – 2020. – Vol.185. – P.1–9.
4. Ścibior, D., Czczot, H. Catalase: structure, properties, functions // *Postepy Hig Med Dosw*. – 2006. – Vol.60. – P.170–180.