ФНИ НА СУ „СВ. КЛИМЕНТ ОХРИДСКИ“

РЕЗЮМЕ НА НАУЧЕН ОТЧЕТ НА ИЗСЛЕДОВАТЕЛСКИ ПРОЕКТ

Договор **№ 80-10-100 от 11.04.2024** г.

**Тема:** Повърхностни свойства на трикомпонентни Лангмюирови монослоеве, изградени от бестрофин-1, фосфатидилхолин и сфингомиелин

**Вид на проекта**: тематичен проект

**Ръководител**: гл. ас. д-р Павел Видев

**Факултет/департамент/звено**: Биологически Факултет, кат. Биохимия

Основната цел на проекта е да създаването на трикомпонентни Лангмюирови монослоеве, съставени от белтъка hBest1 (калциево-зависим хлорен канал, който се среща в човешката ретина и нервна система) и липидите 1-олеил-2-палмитоил-sn—глицеро-3-фосфохолин (POPC) и сфингомиелин (SM). Изследването на повърхностните му характеристики дава информация за взаимодействията на hBest1 с отделните липиди, смесваемостта/фазовото разделяне и асоциацията на hBest1 в липидния компонент на монослоя, което е свързано с неговата структура, активност и функции.

За получаването на пречистен hBest1 бяха култивирани MDCKII клетки, стабилно експресиращи hBest1 с His-таг. Намножените клетки бяха лизирани и клетъчния лизат бе бе пречистен чрез молекулно-ситова хроматофрагия (FPLC system, LKB, Sweden). Фракциите, съдържащи His-tagged hBest1, бяха обединени в общ разтвор, който бе пречистен чрез афинитетна хроматография. Беше изолзвана HisTrap колона (GE Helthcare, BioScience AB, Sweden), наситена с Ni2+ йони. Тензиометричните показатели на монослоевете бяха определено чрез построяване на изотерми на свиване и хистерезисни криви с помощта на Лангмюирова везна (Kibron inc., Finland). Морфологията на монослоевете бе наблюдавана с помощта на микроскоп UltraBAM (Accurion GmbH, Гьотинген, Германия). Изследванията са проведени при постоянна температура от 35±2°С, а за водна субфаза беше използван физиологичен разтвор (0,9% NaCl) с или без добавени калциеви йони в концентрация 0,5 μM. За определяне на смесваемостта и промяната в средната площ за молекула бяха построени изотерми при различни молни съотношения на липидния и белтъчния компонент.

Получените резултати показват компактизиращия ефект на калциевите йони върху трикомпонентната система от hBest1/POPC/Sm, което може да се свърже с потенциалната конформационна промяна на белтъка в резултат от неговото активиране от страна на калция. Тази хипотеза се подкрепя от построенита изотерми, хистерезисни бримки и модулите на еластичност. Определянето на ΔA потвърждава значението на калция, който предизвиква компактизация на молекулите при по-малките изследвани молни части на белтъка. Промяната в свободната енергия също показва, че смесваемостта на hBest1 с липидния филм се подобрява при добавянето на калций. Наблюдаваните с помощта на BAM изборажения предполоагат, че в монослоя се образуват области с по-висока плъттност, които се дължат на взаимодействия на hBest1 със Sm.

Текущият проект подпомогна разработването на две дипломни работи в ОКС Бакалавър, а получените резулатти бяха представени на XXXIV МЕЖДУНАРОДНА ONLINE НАУЧНА КОНФЕРЕНЦИЯ, СЪЮЗ НА УЧЕНИТЕ – СТАРА ЗАГОРА, 06-07 юни 2024 год.