

Analiza warstw biomolekuł ureaza-IgG metodą TIRE

Kazimierz Dworecki¹, Ewa Tomal², Iwona Konieczna², Marcin Drabik¹,
Sławomir Wąsik¹, Jacek Semaniak¹

¹ Instytut Fizyki, Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach
ul. Świętokrzyska 15, 25-406 Kielce

² Instytut Biologii, Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach
ul. Świętokrzyska 15, 25-406 Kielce

Adsorpcja biomolekuł na powierzchni ciała stałego (np. złota, krzemu) lub na warstwie biomolekuł (np. ureazy) stanowi przedmiot wielu badań w medycynie, biotechnologii i biofizyce. Proces ten ma istotne znaczenie w poznaniu charakteru oddziaływań biomolekuł.

W niniejszej pracy prezentujemy wyniki badań warstw biomolekuł stanowiących efekt oddziaływań syntetycznego peptydu mimetyku konserwatywnego fragmentu ureaz bakteryjnych (SU) z przeciwciałami (PC) (immunoglobuliną G-IgG) otrzymaną z surowicy osób chorych na reumatoidalne zapalenie stawów a także otrzymaną z surowicy dawców krwi [1]. Ureaza jest powszechnym antygenem bakteryjnym. Działanie jej prowadzi do rozkładu mocznika powodując alkalizację kwasowego środowiska organizmu umożliwiając rozwój pewnych bakterii.

Badania warstw biomolekuł SU-PC prowadzono przy zastosowaniu techniki elipsometrii spektroskopowej w połączeniu z powierzchniowym rezonansem plazmonowym jako nieinwazyjnej optycznej metody badań (TIRE) [2,3]. Metoda ta umożliwia wyznaczenie: grubości, współczynnika refrakcji i gęstość powierzchniowej warstwy biomolekuł. Molekuły SU umiejscowione zostały na powierzchni złota o grubości 50nm pokrywającego płytkę ze szkła BK7. Otrzymaną w ten sposób płytkę z warstwą SU umieszczono w celi w której roztwór buforowy PC omywał powierzchnię warstwy molekuł SU z prędkością zapewniającą niezaburzoną immobilizację molekuł PC na warstwie SU. Proces immobilizacji molekuł PC na powierzchni warstwy molekuł SU odbywa się poprzez adsorpcyjne wiązanie tych molekuł. Dyfundujące do warstwy cząsteczki PC wiążą się z cząsteczkami SU stanowiących podłoże adsorpcyjne.

W prowadzonych badaniach mierzone były widma optyczne parametrów Ψ i Δ przy użyciu elipsometru SENTECH SE 800 w zakresie spektralnym 400-820 nm. Porównanie eksperymentalnych widm *psi i delta* z ich widmami teoretycznymi otrzymanymi na podstawie przyjętego modelu optycznego warstwy biomolekuł umożliwia precyzyjne wyznaczenie parametrów warstwy zaadsorbowanych molekuł PC. W prowadzonych badaniach stosowano wodne roztwory buforowe trzech różnych przeciwciał i o różnych stężeniach tj. PC1 - o stężeniach: 0.048 ng/ μ l i 0.097 ng/ μ l, PC2 - o stężeniach: 0.05 ng/ μ l i 0.10 ng/ μ l oraz PC3 - o stężeniach: 0.041 ng/ μ l i 0.082 ng/ μ l.

Analiza otrzymanych wyników badań warstw biomolekuł SU-PC wskazuje na zróżnicowaną siłę wiązania przeciwciał na podłożu syntetycznego peptydu.

Praca finansowana z grantu UJK BS 612414.

[1] I. Konieczna, P. Żarnowiec, W. Kaca, Curr. Protein Pept. Sci. **13**, 789 (2012)

[2] H. Arwin, Thin Solid Films, **519**, 2589 (2011)

[3] J. Glenska-Olender, S. Sek, K. Dworecki, W. Kaca, Eur. Biophys. J., **44**, 301 (2015)