

# КОНФОРМАЦИЯ ФИБРИНОГЕНА ПРИ АДСОРБЦИИ НА РАЗЛИЧНЫЕ ПОДЛОЖКИ

А.Сушко<sup>1,2</sup>, Е.Завьялова<sup>1,3</sup>, А.Копылов<sup>1</sup>, И.Яминский<sup>1,2</sup>  
ann.sushko@gmail.com

Фибриноген – крупный (340 кДа) фибриллярный белок плазмы крови, играющий ключевую роль в процессе ее свертывания, состоящий из трех глобулярных доменов, связанных между собой участками альфа-спиралей, причем краевые домены белка несколько крупнее центрального. Фибриноген имеет довольно высокую концентрацию в крови (9 мкМ), он также способен быстро адсорбироваться на различные поверхности [1], что необходимо учитывать при разработке биосовместимых имплантатов.

Проведен ряд исследований, показавших, что на разных подложках фибриноген принимает различные конформации, однако количество адсорбируемого материала зависит от типа поверхности не так сильно, как для некоторых других белков [2].

Чтобы понять механизм формирования на поверхности тех или иных структур, необходимы данные о поведении фибриногена на разных подложках. При помощи атомно-силовой микроскопии проведено исследование конформаций фибриногена на чистой слюде, на графите и на слюде, обработанной гексаметилдисилазаном –  $(\text{CH}_3)_3\text{-Si-NH-Si-(CH}_3)_3$ .

На основе полученных изображений можно сделать вывод, что адсорбированный на поверхность свежесколотой слюды фибриноген сохраняет трехдоменную структуру наиболее полно. На рис.1 приведено изображение фибриногена на слюде. Большинство молекул визуализируются как пара близкорасположенных шариков высотой  $(2,2 \pm 0,4)$  нм. Расстояние между их центрами

в среднем  $(20 \pm 4)$  нм, общая длина молекулы –  $(42 \pm 7)$  нм, а высота перемычки –  $(1,1 \pm 0,5)$  нм. Важно отметить, что острие зонда АСМ имеет радиус закругления порядка 10–15 нм, вследствие чего область центрального домена молекулы не может быть четко прорисована. Вероятнее всего, именно по этой причине не удается наблюдать истинную трехдоменную структуру, а четко различаются только два крайних домена и перемычка между ними. В то же время некоторые молекулы сильнее рас-

тянуты по поверхности слюды и на них отчетливо видны все три домена.

Поскольку графит имеет сложную с точки зрения физики и химии поверхность, образующую при скалывании относительно большое количество ступеней на единицу площади, на нем белок ведет себя совершенно иначе (рис.2). Поверхность графита – гидрофобная, поэтому белок сильно вытягивается, причем в результате взаимодействия со ступенями на подложке его молекулы ориентируются в направ-

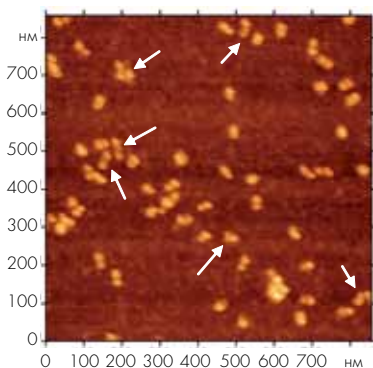


Рис.1. АСМ-изображение молекул фибриногена на слюде. Стрелками помечены молекулы, в которых видны все три глобулярных домена белка

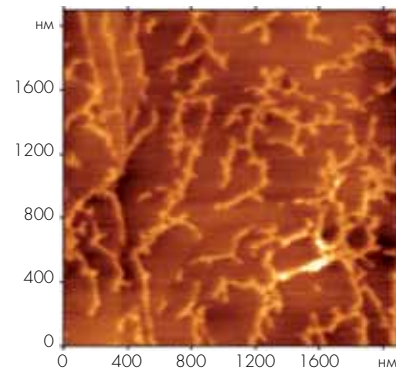


Рис.2. АСМ-изображение молекул фибриногена на графите. Молекулы ориентированы по направлению ступеней на поверхности подложки

<sup>1</sup> МГУ им. М.В.Ломоносова.

<sup>2</sup> Центр перспективных технологий.

<sup>3</sup> АПТО-ФАРМ.

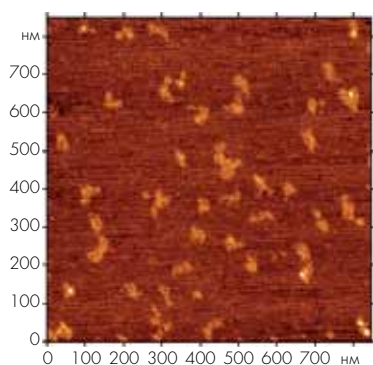


Рис.3. АСМ-изображение молекул фибриногена на слюде, модифицированной гексаметилдисилазаном

лении этих ступеней. Высота молекул в таких агрегатах –  $(2,0 \pm 0,5)$  нм. Отдельно лежащие фрагменты нитей, представляющие, по всей видимости, индивидуальные молекулы, имеют длину  $(72 \pm 24)$  нм. Аналогичные результаты по атомно-силовой микроскопии

фибриногена на графите приведены и в работе [3].

Третья использованная подложка – модифицированная слюда, полученная при выдержке свежесколотой слюды в течение 10 ч в парах гексаметилдисилазана, после чего на ее поверхность наносился белок. После такой обработки слюда приобретает гидрофобные свойства, и белок легко разворачивается и полностью (в некоторых случаях частично) теряет свою трехдоменную структуру (рис.3), причем высота наблюдаемых объектов составляет  $(1,2 \pm 0,4)$  нм.

Таким образом, показано, что при адсорбции на гидрофильную поверхность фибриноген сохраняет свою структуру, а при адсорбции на гидрофобную – структура доменов разрушается, и молекула расплывается по поверхности. При этом на графите площадь контакта молекулы

с поверхностью наибольшая, когда она располагается на ступени, поскольку это энергетически наиболее выгодно. В результате большинство молекул оказывается ориентировано вдоль ступеней подложки.

#### Литература

1. P.Cacciafesta, A.D.L.Humphris, K.D.Jandt, M.J.Miles. Human Plasma Fibrinogen Adsorption on Ultraflat Titanium Oxide Surfaces Studied with Atomic Force Microscopy, *Langmuir*, 2000, v.16, p.8167–8175.
2. Feng L., Andrade J.D. Structure and Adsorption Properties of Fibrinogen, *ACS Symp. Ser.*, 1995, v.602, p.66–79.
3. K.L.Marchin, C.L.Berrie. Conformational Changes in the Plasma Protein Fibrinogen upon Adsorption to Graphite and Mica Investigated by Atomic Force Microscopy, *Langmuir*, 2003, v.19, p.9883–9888.