

1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:
Καινοτομίες και Προοπτικές
22-23 Σεπτεμβρίου 2023

ΝΑΝΟΣΚΟΠΙΚΑ ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΛΥΣΟΖΥΜΗΣ ΜΕ ΑΣΤΕΡΟΕΙΔΕΙΣ ΠΟΛΥΗΛΕΚΤΡΟΛΥΤΕΣ ΠΟΛΥ(ΜΕΘΑΚΡΥΛΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ)

Μαρία Καραγιάννη, Δήμητρα Φωτάκη, Στέργιος Πίσπας

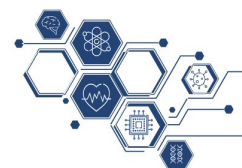
Ινστιτούτο Θεωρητικής και Φυσικής Χημείας, Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών,
Βασιλέως Κωνσταντίνου 48, 11635, Αθήνα



Διοργανωτές

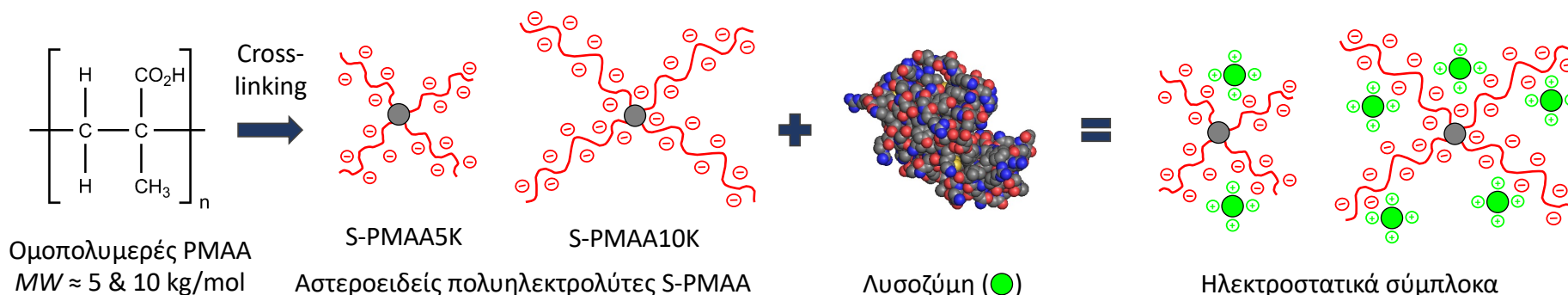


1. Εισαγωγή – Σκοπός

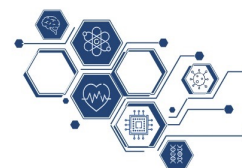


1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:
Καινοτομίες και Προοπτικές
22-23 Σεπτεμβρίου 2023

- Η ηλεκτροστατική σύμπλεξη μεταξύ πολυηλεκτρολυτών και πρωτεϊνών αποτελεί εκτεταμένο πεδίο έρευνας καθώς μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανάπτυξη λειτουργικών νανοδομών που περιέχουν πρωτεΐνες με πιθανή χρήση σε διάφορες νανο-βιοτεχνολογικές εφαρμογές, όπως η χορήγηση φαρμάκων πρωτεϊνικής φύσης, ο διαχωρισμός βιομακρομορίων, η τροποποίηση επιφανειών κ.λπ.
- Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η επίδραση της δομής και διαμόρφωσης του πολυηλεκτρολύτη στην ενσωμάτωση των πρωτεϊνικών μορίων. Συγκεκριμένα, οι αστεροειδείς πολυηλεκτρολύτες που αποτελούν μια ιδιαίτερη και αρκετά ενδιαφέρουσα κατηγορία πολυμερικής αρχιτεκτονικής, προσφέρουν αρκετά πλεονεκτήματα λόγω της σταθερής μορφολογίας τους που δεν επηρεάζεται από τις εξωτερικές συνθήκες.
- Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση της ηλεκτροστατικής αλληλεπίδρασης της λυσοζύμης (LYZ), ενός καλά μελετημένου ενζύμου με γνωστή αντιμικροβιακή δράση, με πολυηλεκτρολύτες πολυ(μεθακρυλικού οξέος) (PMAA) αστεροειδούς διαμόρφωσης και διαφορετικού μοριακού βάρους (S-PMAA5K και S-PMAA10K).



2. Μέθοδοι και Υλικά



1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:
Καινοτομίες και Προοπτικές
22-23 Σεπτεμβρίου 2023

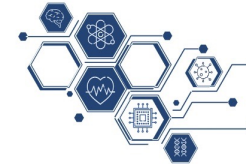
Παρασκευή συμπλόκων

Κατάλληλες ποσότητες ενός διαλύματος **λυσοζύμης (LYZ)** συγκέντρωσης **1 mg/ml** προστέθηκαν σε **2 ml** διαλύματος **S-PMAA (5K & 10K)** συγκέντρωσης **0.05 mg/ml** και μετέπειτα πραγματοποιήθηκε αραίωση στον ίδιο τελικό όγκο των **15 ml**, έτσι ώστε $\text{mol}[+]/\text{mol}[-] = 0.5 - 2$ ενώ $C_{\text{S-PMAA}} = \text{σταθερή}$

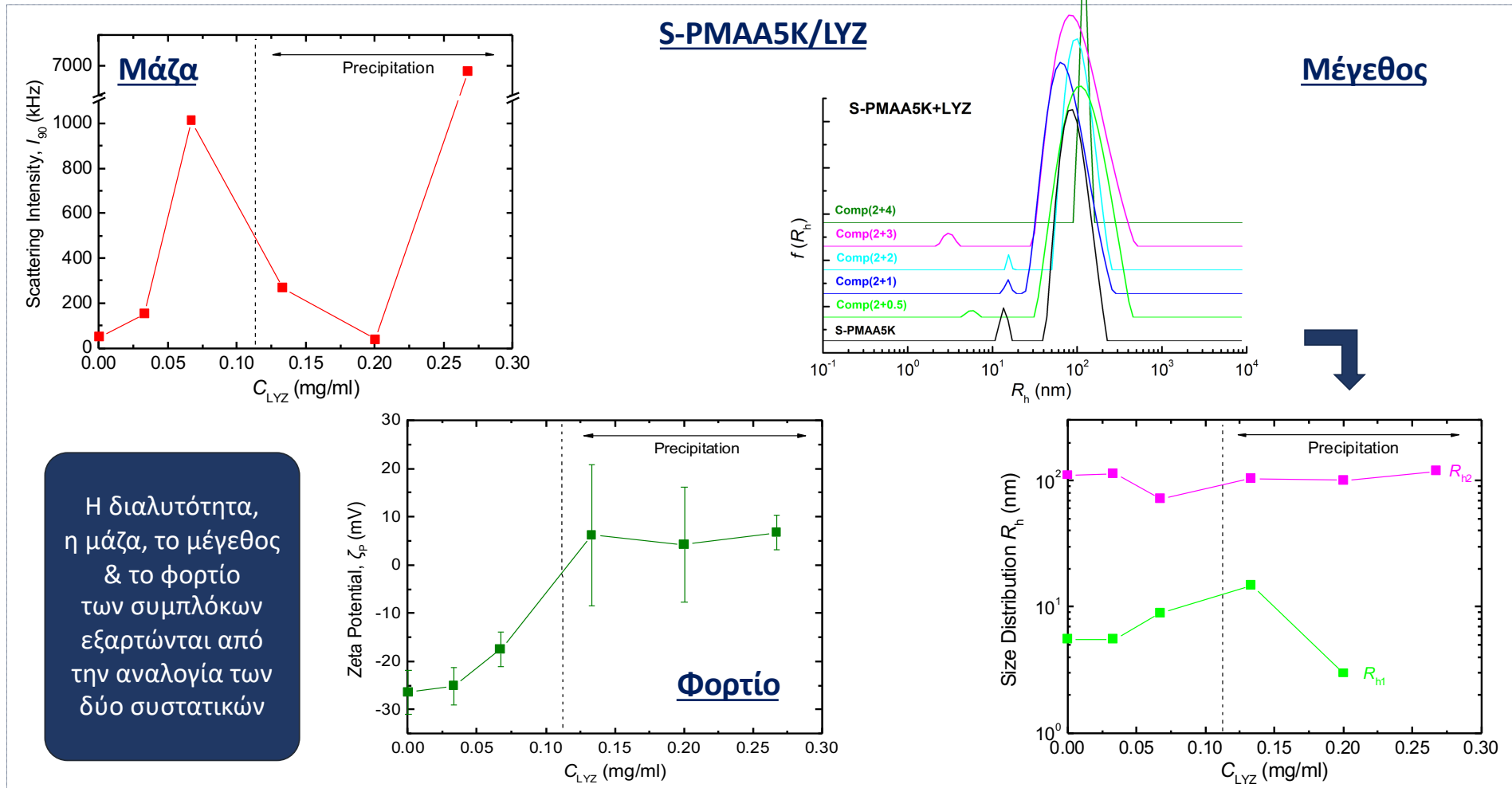
Sample Name	$C_{\text{S-PMAA}}$ ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	C_{LYZ} (mg/ml)	$\text{mol}[+]/\text{mol}[-]$
Comp(2+0.5)	6.7	0.03	0.5
Comp(2+1)		0.07	0.7
Comp(2+2)		0.13	1
Comp(2+3)		0.20	1.5
Comp(2+4)		0.27	2

Για τα διαλύματα των συμπλόκων με $\text{mol}[+]/\text{mol}[-] \geq 1$ παρατηρήθηκε διφασικός διαχωρισμός/καθίζηση

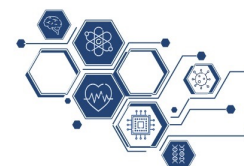
3. Αποτελέσματα – Ιδιότητες σε διάλυμα I



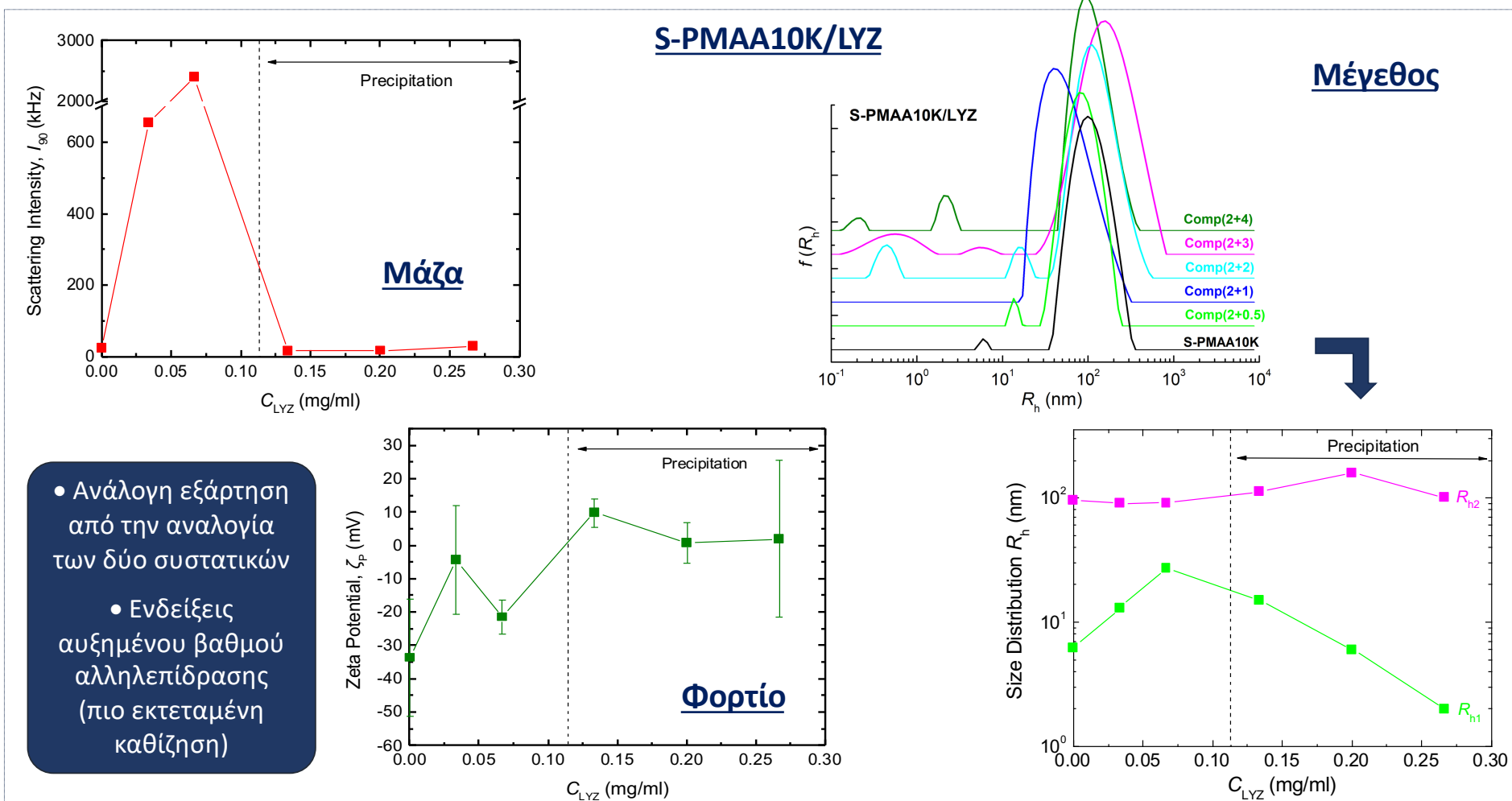
1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:
Καινοτομίες και Προοπτικές
22-23 Σεπτεμβρίου 2023



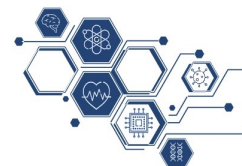
4. Αποτελέσματα – Ιδιότητες σε διάλυμα II



1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:
Καινοτομίες και Προοπτικές
22-23 Σεπτεμβρίου 2023



5. Αποτελέσματα – Μορφολογία

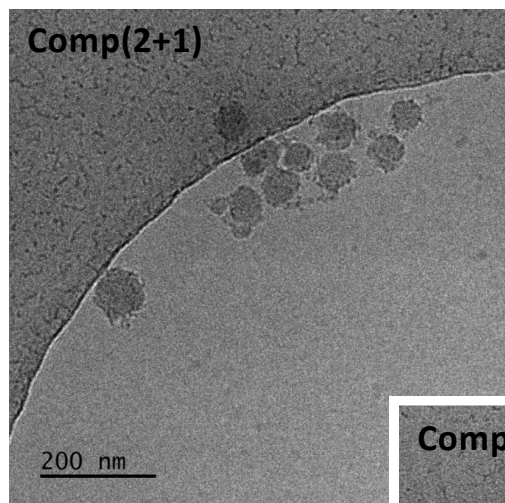


1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:
Καινοτομίες και Προοπτικές
22-23 Σεπτεμβρίου 2023

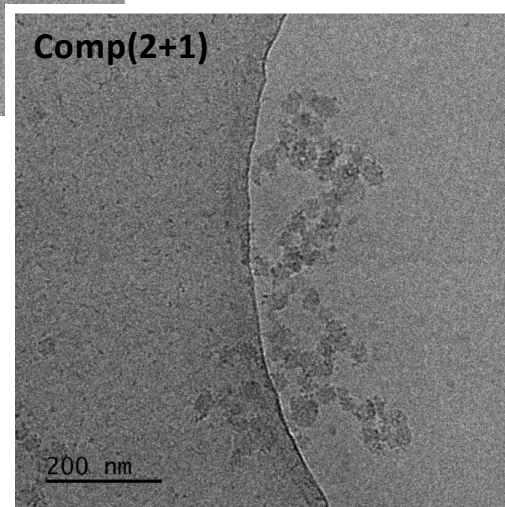
Cryo-TEM

AFM

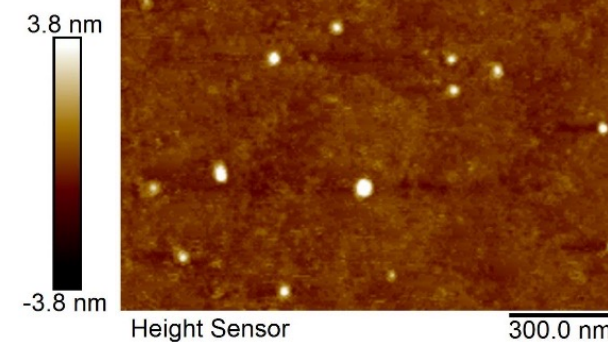
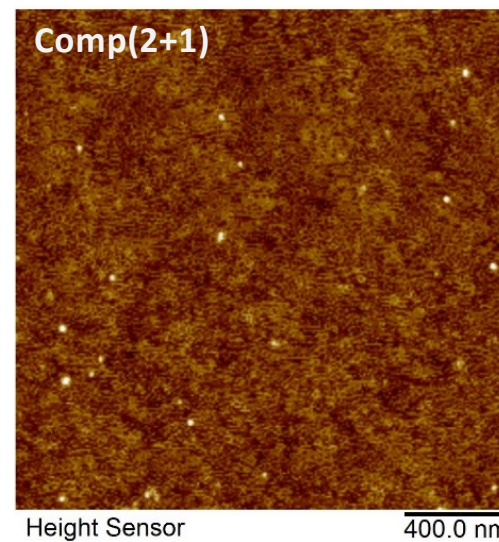
S-PMAA5K/LYZ



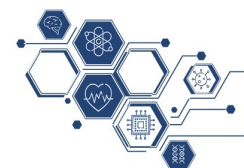
S-PMAA10K/LYZ



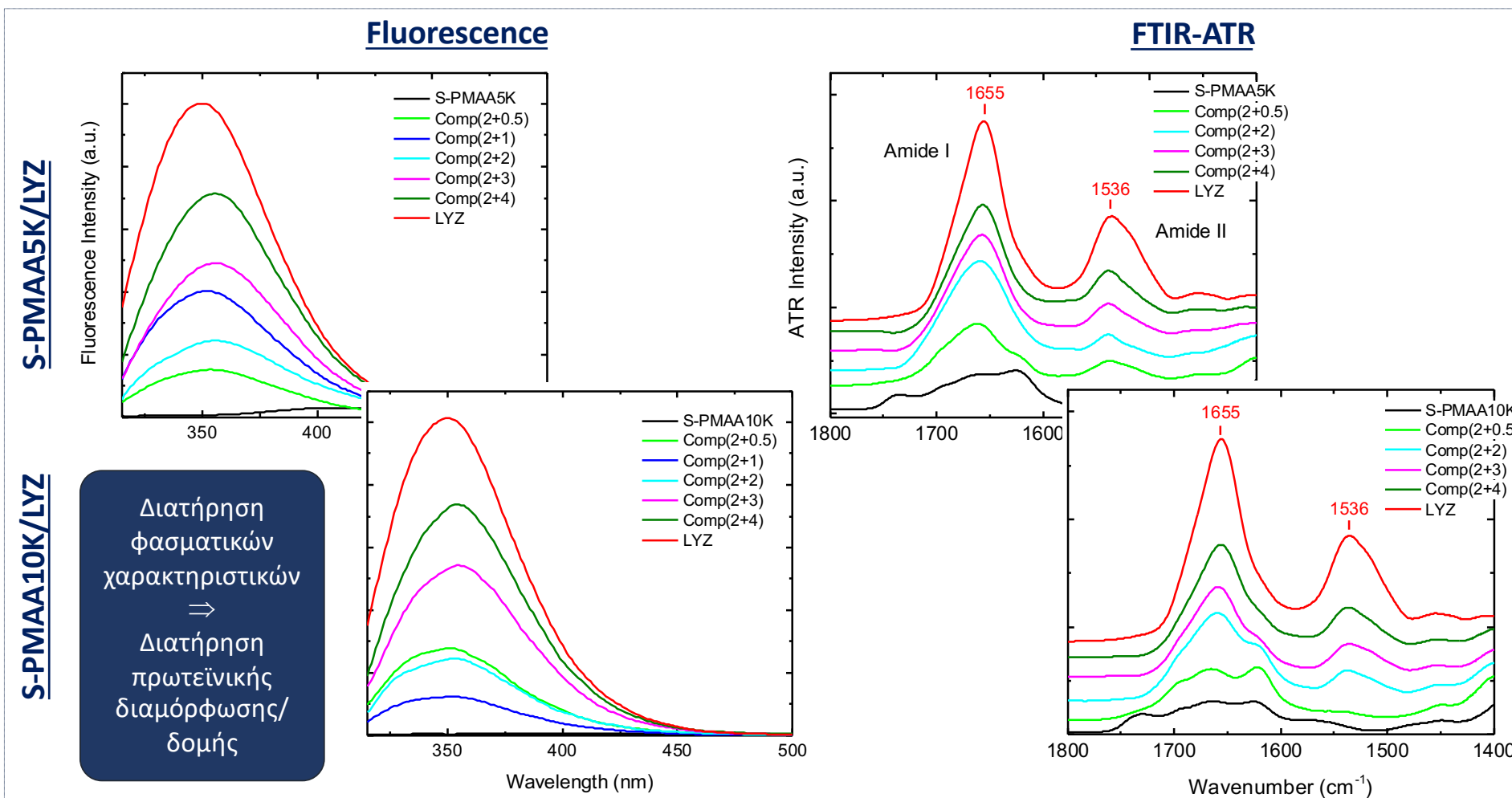
Σφαιρικές,
συμπαγείς,
ομοιογενείς
μορφολογίες



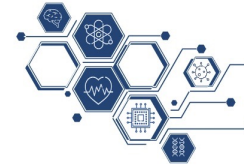
6. Αποτελέσματα – Δομή πρωτεΐνης



1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:
Καινοτομίες και Προοπτικές
22-23 Σεπτεμβρίου 2023



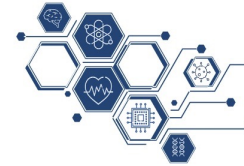
7. Συμπεράσματα



1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:
Καινοτομίες και Προοπτικές
22-23 Σεπτεμβρίου 2023

- Νανοσκοπικά σύμπλοκα παρασκευάστηκαν μέσω ηλεκτροστατικής αλληλεπίδρασης της λυσοζύμης με δύο αστεροειδείς πολυηλεκτρολύτες πολύ(μεθακρυλικού οξέος) διαφορετικού μοριακού βάρους (S-PMAA5K & S-PMAA10K) σε διαφορετικές αναλογίες ανάμειξης.
- Μετρήσεις δυναμικής σκέδασης φωτός (DLS) για τα δείγματα S-PMAA κατέδειξαν την ύπαρξη δύο πληθυσμών στο διάλυμα, υποδεικνύοντας το σχηματισμό συσσωματωμάτων μεταξύ των αστεροειδών πολυηλεκτρολυτών.
- Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά (διαλυτότητα, μάζα, μέγεθος και φορτίο) των σχηματιζόμενων συμπλόκων εξαρτώνται κυρίως από τη συγκέντρωση της πρωτεΐνης, καθώς και από το μοριακό βάρος του αστεροειδούς πολυηλεκτρολύτη. Καθώς η περιεκτικότητα της λυσοζύμης αυξάνεται, τα σύμπλοκα παρουσιάζουν μειωμένη διαλυτότητα (που εκδηλώνεται ως καθίζηση), πιθανώς λόγω της εκτεταμένης εξουδετέρωσης φορτίων που οδηγεί σε δευτερογενή συσσωμάτωση, η οποία είναι περισσότερο εκτεταμένη στην περίπτωση του δείγματος S-PMAA10K.
- Η διαμόρφωση των σχηματιζόμενων συμπλόκων διερευνήθηκε μέσω μικροσκοπικών τεχνικών Cryo-TEM και AFM, οι οποίες έδειξαν σφαιρικές, συμπαγείς, ομοιογενείς μορφολογίες.
- Φασματοσκοπικές μετρήσεις φθορισμού και μέσου υπερύθρου επιβεβαίωσαν ότι κατά τη συμπλοκοποίηση δεν λαμβάνουν χώρα σημαντικές δομικές αλλαγές της πρωτεΐνης.

8. Ευχαριστίες



1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:
Καινοτομίες και Προοπτικές
22-23 Σεπτεμβρίου 2023

- **Μετρήσεις Cryo-TEM:**

Aleksander Forys & Barbara Trzebicka,

Centre of Polymer and Carbon Materials, Polish Academy of Sciences, Zabrze, Poland

- **Μετρήσεις AFM:**

Krasimira Rusinova-Ilieva, Emi Haladjova & Stanislav Rangelov,

Institute of Polymers, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria

Ευχαριστώ για την προσοχή σας!