

ИЗСЛЕДВАНЕ НА КЛАСИЧЕСКИЯ *IN VITRO* ПОДХОД ЗА ПОЛУЧАВАНЕ НА РОМБОЕДРИЧНИ ИНСУЛИНОВИ КРИСТАЛИ, ЧРЕЗ ПОСТЪПКОВО pH-ТИТРУВАНЕ НА КРИСТАЛИЗАЦИОННИ РАЗТВОРИ

Ф. Ходжаоглу, ИФХ БАН

Резюме

В живите организми инсулинът се секретира под формата на наноразмерни ромбоедрични кристали, чиито градивни единици са инсулиновите хексамери, съдържащи цинкови йони. Инсулиновите молекули кристализират чрез разтварянето им в кисела среда и последваща промяна на pH на кристализационния разтвор над изоелектричната точка на този белтъчен хормон (pI 5.4). За изясняване на приноса на всеки един компонент от кристализационната система за промяна на pH на разтвора е проведена експериментална проверка на изследваните разтвори с помощта на pH измервания и титрувания, спектрофотометрично сканиране на разтворите и прилагане на метода на динамичното светоразсейване. Проведен е широк скрининг за сравняване на кристализационното поведение на две лиофилизирани субстанции – свински инсулин и човешки рекомбинантен инсулин. Приготвени са batch проби с различно съотношение на използвания буфер, в присъствие или отсъствие на ацетон. Предложена е универсална система за индексирание на резултатите от кристализационните проби и оценка на морфологията на наблюдаваните кристали и други белтъчни преципитати. По време на доклада ще бъдат дискутирани експерименталните резултати от приложените методи и условията, при които се наблюдава агрегация, поява на добре остенени кристали и други видове преципитати. На молекулно ниво ще бъдат дискутирани условията, при които се наблюдават мономери, хексамерни или по-големи молекулни агрегати, както и условията за получаване на монодисперсни разтвори.

Докладът се базира на публикацията: “Optimization of the classical method for nucleation and growth of rhombohedral insulin crystals by pH titration and screening”, F. Hodzhaoglu, M. Conejero, I. Dimitrov, J. Gavira, *Bulgarian Chemical Communications*, 48, Special Issue A (2016) 29-37.