

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

*Мосиевич Д.В., Балабушевич Н.Г., Мишин П.И., Ле-Дейген И.М., Филатова Л.Ю.,
Панасенко О.М., Мурина М.А., Вахрушева Т.В., Баринов Н.А., Побегуц О.В., Галямина
М.А., Горудко И.В., Григорьева Д.В., Пашкевич К.Ф., Соколов А.В., Михальчик Е.В. (2025)*
Функциональные особенности комплексов лактоферрина и фукоидана в модельных
системах in vitro. Биомедицинская химия, **71**(5), 333-341.
DOI: 10.18097/PBMCR1613

1. IR spectroscopy of lactoferrin

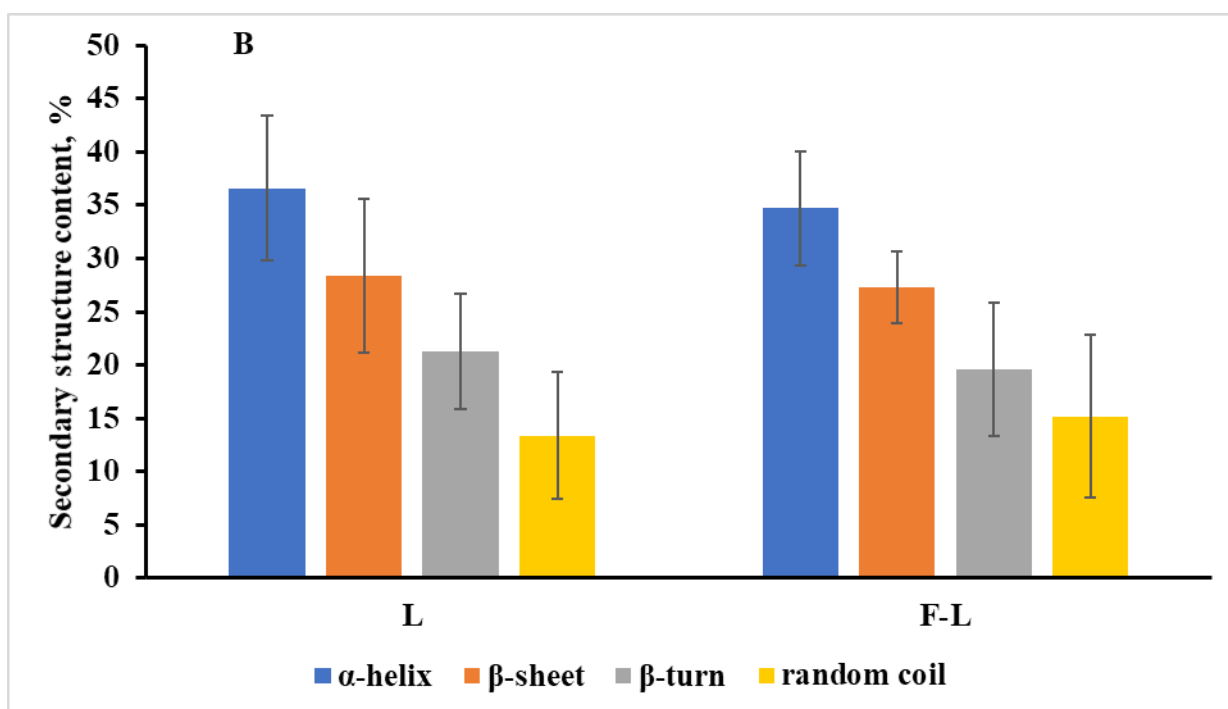
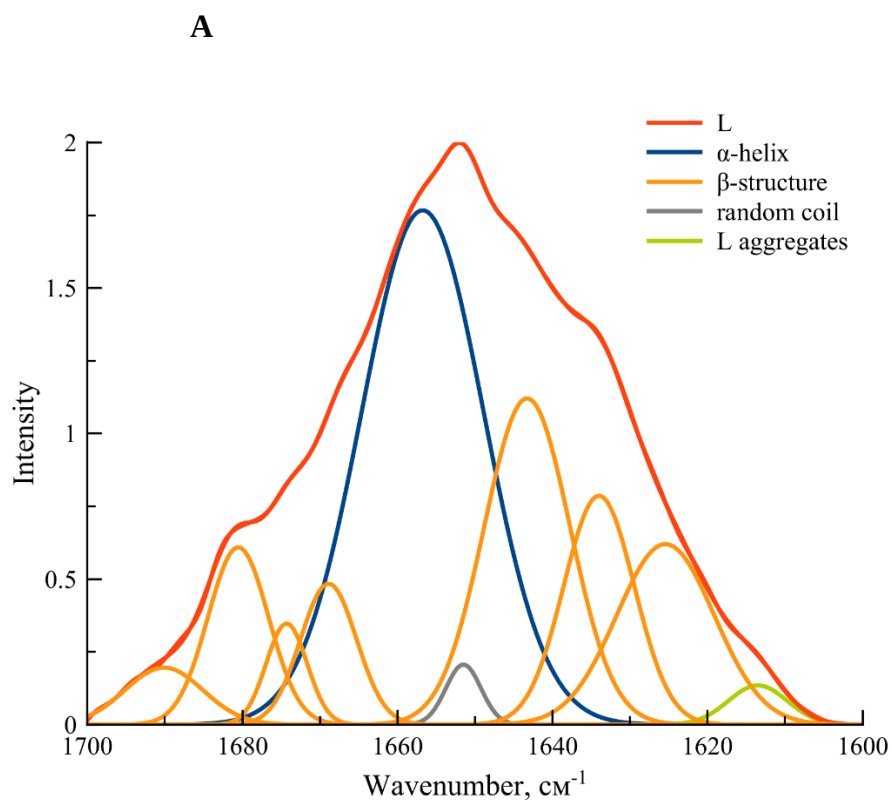


Рисунок S1. А, Б. Пример деконволюции спектров полосы Амид I для лактоферрина по данным ИК-спектроскопии (А) и характеристика вторичной структуры лактоферрина в комплексе с фукоиданом (Б) при концентрации лактоферрина 2,5 мг/мл, 0,05 М трис-буфере, pH 7,4.

Полосу поглощения Амид I 1600-1700 см^{-1} подвергали процедуре деконволюции по процедуре описанной [Yang H.]. Для этого спектры, полученные с помощью ИК-Фурье спектроскопии, подвергались корректировке базовой линии и сглаживанию, далее участок спектра, соответствующий области 1600-1700 см^{-1} , подвергался аппроксимации функцией Гаусса с помощью алгоритма Левенберга-Маквардта. Определение начальных пиков и их соотнесение со вторичными структурами делали по данным работы [Yang H.]. Сумма значений всех площадей пиков поглощения, соответствующих α -спиралям, β -структурам и неупорядоченным структурам, принималось за 100%. Максимум компоненты, соответствующей α -спиралям, лежит в интервале от 1653 до 1656 см^{-1} , неупорядоченным структурам – от 1647 до 1651 см^{-1} ; компоненты, соответствующие β -поворотам – от 1665 до 1668, от 1674 до 1677 см^{-1} , от 1679 до 1686 см^{-1} , а β -листам – от 1623 до 1624 см^{-1} , от 1633 до 1639 см^{-1} , от 1641 до 1643 см^{-1} .

Таким образом, в молекуле лактоферрина анализ вторичной структуры выявил наличие: α -спирали 36 %, β -листов 30 %, β -поворотов 20 и неупорядоченных структур (рандом) 14 %. Образование полиэлектролитного комплекса Ф-Л в результате инкубации лактоферрина с фукоиданом при массовом соотношении 1:1 в течение 30 мин не приводило к значительному разворачиванию молекулы белка.

**Yang H. et al. Obtaining information about protein secondary structures in aqueous solution using Fourier transform IR spectroscopy //Nature protocols. – 2015. – Т. 10. – №. 3. – С. 382-396.*

2. Tryptophan fluorescence of lactoferrin

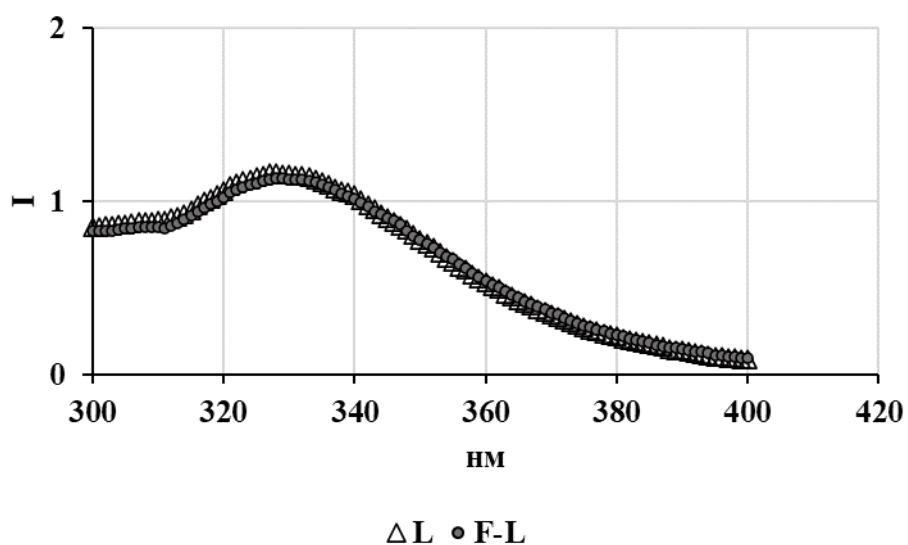


Рисунок S2. Спектры флуоресценции триптофана (длина волны возбуждения 280 нм) в растворе лактоферрина (Л) и в комплексе Ф-Л. Представлены средние значения 7 измерений.

3. ABTS-radical scavenging activity of fucoidan (F), lactoferrin (L) and F-L complex in 50 mM tris-HCl buffer at each component's concentration 0.5 mg mL⁻¹.

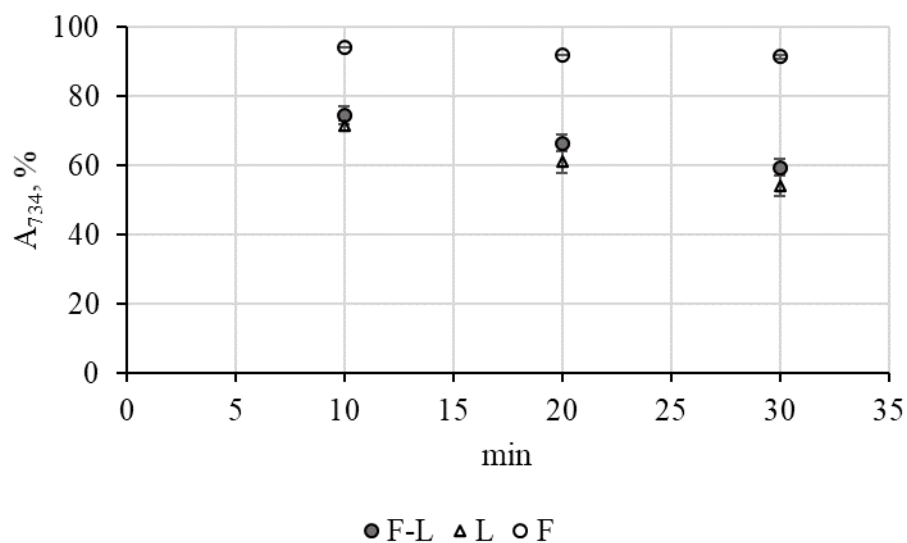


Рисунок S3. Динамика снижения поглощения раствора радикала ABTS в 50 mM трис-HCl буфере (pH 7,4) под действием фукоидана (Ф), лактоферрина (Л) и их комплекса Ф-Л. Концентрация каждого компонента составляла 0,5 мг/мл. Достоверных различий между лактоферрином и комплексом Ф-Л по данным четырех независимых экспериментов не выявлено.

4. Anticoagulant activity: effects of lactoferrin on fucoidan anticoagulant properties according to the assay of thrombin and prothrombin time.

Для определения протромбинового времени (ПВ) к 100 мкл бестромбоцитарной плазмы (БТП) добавляли фукоидан, лактоферрин или их комплекс в необходимой концентрации, инкубировали в течение 2 мин при 37 °С, затем вносили 200 мкл тромбопластин-кальциевой смеси, прогретой при 37 °С, и фиксировали время образования сгустка. Измерения были проведены на коагулометре СОЛАР CGL 2110 (Беларусь). Для определения ПВ использовали набор «Тромбопластин» НПО «Ренам» (Россия).

Для определения тромбинового времени (ТВ) к 150 мкл БТП добавляли фукоидан, лактоферрин или их комплекс в необходимой концентрации, инкубировали в течение 2 мин при 37 °С, затем вносили 150 мкл рабочего раствора тромбин-реагента и фиксировали время образования сгустка. Измерения были проведены на коагулометре СОЛАР CGL 2110 (Беларусь). Для определения ТВ использовали набор «Тромбин-реагент» НПО «Ренам» (Россия).

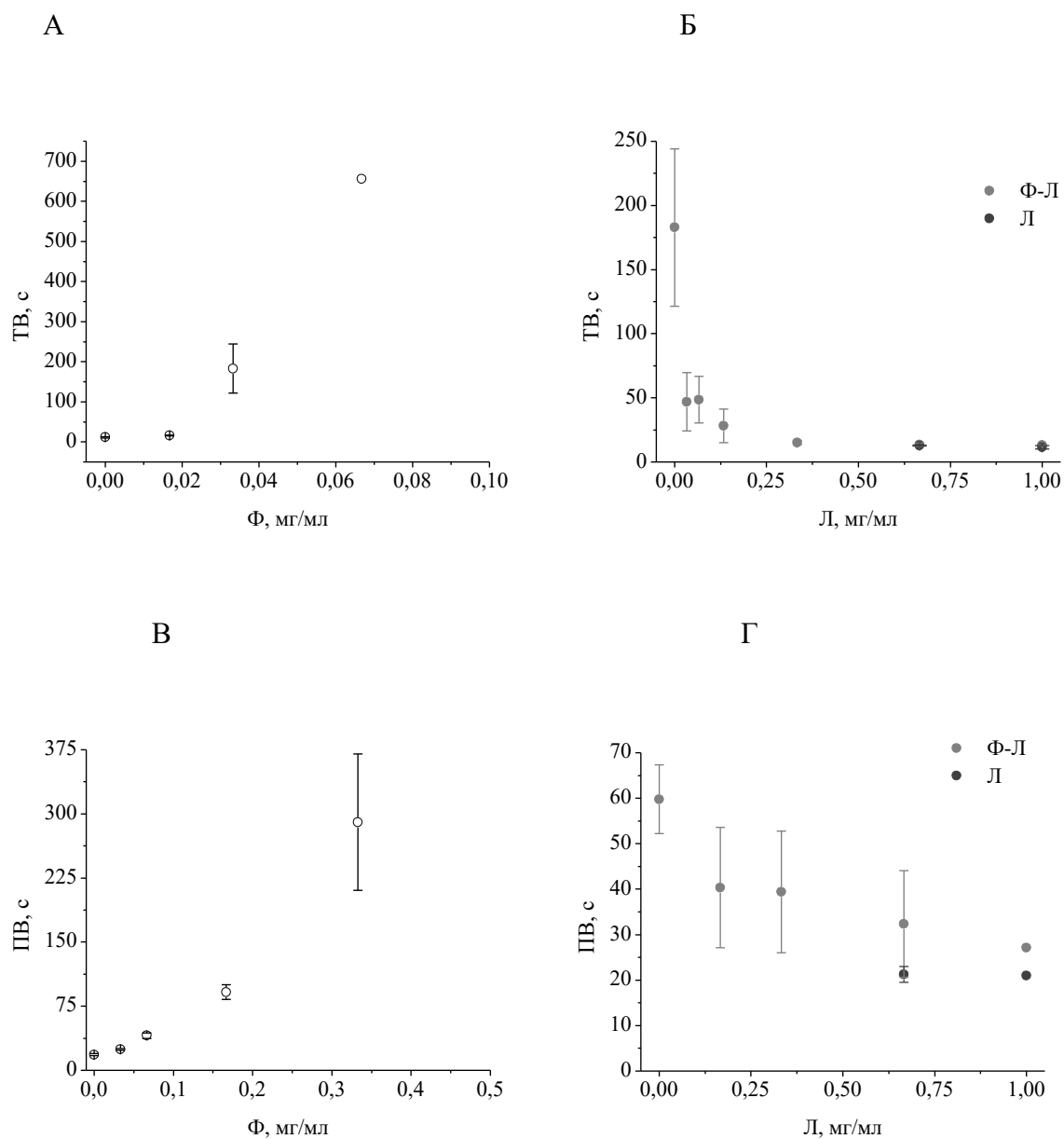


Рисунок S4. Зависимость тромбинового времени (ТВ): А – от концентрации фукоидана (Ф), Б – от концентрации лактоферрина (Л) отдельно и в комплексе с 0,033 мг/мл фукоидана (Ф-Л) и зависимость протромбинового времени (ПВ): В – от концентрации фукоидана (Ф), Г – от концентрации лактоферрина (Л) отдельно и в комплексе с 0,167 мг/мл фукоидана (Ф-Л).