

## РАЗДЕЛ «БИОХИМИЯ И КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА»

### АНАЛИЗ АФФИНИТЕТА СВЯЗЫВАНИЯ И ИЗМЕНЕНИЙ В ИНТЕРФЕЙСЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ БЕЛКА p16<sup>INK4A</sup> МУТАНТНОГО ТИПА R87W С CDK6

Андреев П.Ю., Стикина С.А., Махина В.А.

Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко  
Кафедра онкологии

*Актуальность.* Человеческий ген CDKN2A, кодирующий белок p16<sup>INK4A</sup>, расположен в цитогенетическом локусе 9 аутосомы, который подвержен высокой частоте мутагенеза. Описано несколько десятков миссенс-мутаций, сопровождающихся заменой одного аминокислотного остатка в полипептидной цепи p16<sup>INK4A</sup>, в результате которых связывающая активность белка в отношении CDK4 снижается. В то же время влияние аминокислотных замен на аффинитет связывания p16<sup>INK4A</sup> со своим преобладающим лигандом CDK6 требует дополнительных уточнений в свете важнейшей роли комплекса p16/CDK6 в регуляции митотической активности эукариотических клеток. В настоящей работе рассмотрены биологические последствия замены аргинина в 87 позиции полипептидной цепи на триптофан в контексте аффинности мутантного типа p16<sup>INK4A</sup> к CDK6.

*Цель.* Анализ изменений в аффинитете связывания и интерфейсе взаимодействия белка p16<sup>INK4A</sup> мутантного типа R87W с преобладающей циклин-зависимой киназой CDK6.

*Материалы и методы.* Методами структурной биоинформатики и компьютерной биологии были проанализированы структурно-функциональные последствия замены аргинина на триптофан в 87 положении полипептидной цепи белка p16<sup>INK4A</sup> в контексте образования молекулярного комплекса с циклин-зависимой киназой CDK6.

*Результаты.* Было установлено, что замена аминокислотного остатка R87W сопровождается изменениями во вторичной конформации, физико-химических свойствах p16<sup>INK4A</sup>, а также в интерфейсе его взаимодействия с CDK6. Предсказанные значения  $\Delta G$  связывания и константы диссоциации p16/CDK6  $\approx -9.94$  kcal/mol и  $\approx 5.12e-08$  M соответственно, в то время как предсказанные значения  $\Delta G$  связывания и константы диссоциации мутантного типа p16R87W/CDK6  $\approx -9.49$  kcal/mol и  $\approx 1.10e-07$  M соответственно. *Заключение.* В результате транзиции пиримидин > пиримидин в позиции 21971100 аутосомы 9 человека, которая соответствует экзону E2 гена CDKN2A, имеет место миссенс-мутация, сущность которой состоит в несинонимичной замене цитозина на тимин в кодирующей цепи гена, вследствие которой в матричной цепи появляется комплементарный тимину нуклеотид аденин. Таким образом, элонгация первичного транскрипта сопровождается образованием единственного триптофан-кодирующего кодона UGG. В конечном счёте, происходит замена R87W в полипептидной цепи белка p16<sup>INK4A</sup>, приводящая к изменениям его вторичной конформации, физико-химических свойств и энергетических профилей интерфейса взаимодействия с CDK6.

*Заключение.* Результаты настоящего исследования *in silico* демонстрируют снижение аффинитета связывания опухолевого супрессора p16<sup>INK4A</sup> мутантного типа R87W с циклин-зависимой киназой CDK6, иллюстрируя важность консервации аминокислотного контекста в области предпетлевого витка восходящей  $\alpha$ -спирали 3 анкиринового повтора в свете ингибирования белком p16<sup>INK4A</sup> транзиции G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> и G<sub>1</sub>/S периодов интерфазы.

*Ключевые слова:* CDKN2A; p16; однонуклеотидный полиморфизм; мутация; транзиция; несинонимичная замена; регуляция пролиферативной активности.

*Актуальность.* Ген CDKN2A человека расположен на коротком плече аутосомы 9 в цитогенетическом локусе 9p21.3. Нуклеотидный контекст гена занимает  $\approx 27$  kB, соответствуя положениям 21967752-21995324 хромосомы. Благодаря наличию альтернативных рамок считывания и смежных транскрибирующихся регионов CDKN2A кодирует два основных

белковых продукта: p16 и p14(ARF), включающиеся в сигнальные пути RB1 и p53 соответственно [1]. Архитектура первичного транскрипта p14(ARF) соответствует E1 $\beta$ -E1 $\alpha$ -E2-E3-3. Экзоны E2 и E3 являются общими кодирующими регионами для p16 и p14, в то время как проксимальные E1 $\beta$  и E1 $\alpha$  уникальны лишь для первичного транскрипта p14, при сплайсинге которого эксцизируется E1 $\alpha$ . Нуклеотидная организация первичного транскрипта p16 сводится к тандемной аранжировке экзонов E1 $\alpha$ -E2-E3, при этом инициация транскрипции реализуется с помощью отдельной промоторной области, находящейся в пределах E1 $\alpha$  [2, 3]. По данным UniProt интерактом p16 насчитывает 8 бинарных белок-белковых взаимодействий, среди которых циклин-зависимые киназы CDK4 и CDK6, вовлечённые в сигнальный путь Rb, в то время как p14 не образует димерные комплексы с указанными киназами, однако количественно превосходит интерактом p16, взаимодействуя с 12 молекулярными структурами, в числе которых CDK5RAP3 и MDM2, за счёт чего участвует в регуляции каскада p53 [4]. Циклин-зависимые киназы 4 и 6, димеризуясь с циклином D, индуцируют прохождение клеткой точек рестрикции, обеспечивая её выход из покоящейся фазы G<sub>0</sub> в интерфазный пресинтетический период G<sub>1</sub>, а также переход в фазу S [5]. Димерный комплекс CDK4/6-CycD представляет собой холоэнзим, в котором CycD является активирующей субъединицей, а CDK4/6 — каталитической, которая фосфорилирует белок Rb по серильным и треонильным остаткам с участием АТФ. По-видимому, в основе ингибирования белком p16 фосфорилирующей функции циклин-зависимых киназ лежит экранирование АТФ-связывающей полости CDK6, катализирующей отщепление  $\gamma$ -фосфата от АТФ и его перенос на серильные и треонильные остатки Rb. Подобная пространственная организация комплекса CDK6/p16 делает стерическое взаимодействие АТФ с каталитическим доменом CDK6 невозможным [6]. В гиперфосфорилированном состоянии Rb диссоциирует из комплекса E2F/DP1/Rb, активируя транскрипционный фактор E2F, связывающийся с промоторными репертуарами генов, которые обеспечивают транзицию G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> и G<sub>1</sub>/S. Связывание p16 с CDK4/6 ингибирует каталитическую функцию киназ, в связи с чем Rb находится в гипофосфорилированном состоянии, в котором сохраняет способность ингибировать фактор транскрипции E2F [7, 8]. Белок p14, взаимодействуя с MDM2, препятствует деградации p53, иницирующего экспрессию p21. В свою очередь p21 ингибирует киназы CDK2/1, CDK1, CDK4 и CDK6 [5]. Таким образом, биологические функции белков p16 и p14 перекрываются в ингибировании пролиферативной активности клеток. Кроме того, в цитогенетическом локусе 9p21.3 дистальнее к центромере хромосомы 9 расположен ген CDKN2B, кодирующий белок p15, который аналогично p16 ингибирует CDK4 и CDK6 [4]. Таким образом, в аутосоме 9 сконцентрирован кластер генов, белковые продукты которых участвуют в регуляции клеточного цикла за счёт угнетения митотической активности, и описаны как супрессоры пролиферации бластотрансформированных клеток. В то же время локус 9p21.3 характеризуется высокой частотой мутагенеза, подвергаясь частым делециям, в том числе и гомозиготным; потере гетерозиготности; эпигенетическим преобразованиям, среди которых гиперметилирование промотора и различные гистоновые модификации [2, 7]. Описано широкое разнообразие миссенс-мутаций белка p16, заключающихся в замене одного аминокислотного остатка в цепи на другой, а также делеции и дубликации, сопровождающиеся сдвигом рамки считывания. Имеются экспериментальные данные, демонстрирующие неравнозначность мономерных замен в контексте аффинитета связывания мутантных типов белка с CDK4, согласно которым происходят полная или частичная потеря связывающей активности p16 в отношении CDK4. С другой стороны, согласно данным UniProt, преобладающим молекулярным комплексом является p16/CDK6, в отношении которого требуются дополнительные уточнения в контексте аффинитета связывания мутантных типов p16.

Цель. Анализ влияния миссенс-мутации R87W в полипептидной цепи p16 на манеру его фолдинга, а также аффинитет связывания с циклин-зависимой киназой CDK6 и изменений в их интерфейсе взаимодействия, имеющие место в связи с данной заменой.

Материалы и методы. Расчёт физико-химических свойств дикого и мутантного (R87W) типов p16 и его стабильности. На сервере VOLPES был выполнен мультипараметрический анализ физико-химических свойств белка p16 дикого и мутантного типов: изоэлектрическая точка (pI); молекулярная масса в моноизотопном протонированном состоянии (mW, kDa); заряд молекул при нейтральном водородном показателе и при различных значениях pH; площадь поверхности, доступная для растворителя. Значение изменения свободной энергии денатурации (Unfolding Free Energy Change  $\Delta\Delta G$ , kcal mol<sup>-1</sup>) было получено по средствам сервера PremPS. Предсказание вторичной и третичной структур мутантного p16 (R87W). На сервере JPred4 была предсказана вторичная конформация p16 мутантного типа R87W независимыми алгоритмами Jnetpred, JNETSOL25, JNETSOL5, JNETSOL0, JNETHMM, JNETPSSM. Трёхмерная модель p16 мутантного типа R87W была получена с помощью ab initio предсказания молекулярной структуры на сервере QUARK. С помощью приложения UCSF Chimera V. 1.15 была построена карта Рамачандрана (Ramachandran plot). С помощью сервера QUARK была получена трёхмерная модель мутантного p16, предсказанная ab initio. Выравнивание вторичных структур p16 дикого и мутантного (R87W) типов. В целях оценки топологической схожести и манеры укладки цепей была выполнена суперпозиция вторичных структур в приложении UCSF Chimera V. 1.15 и на сервере TM-score с учётом показателей TM и RMSD, являющихся важными критериями в валидации гомологичности выравниваемых молекулярных объектов. Молекулярный докинг мутантного p16 (R87W) с CDK6 и анализ их интерфейса взаимодействия. На сервере HDOCK был выполнен молекулярный докинг предварительно протонированных по средствам приложения Chimera p16 мутантного типа (предсказан) с экспериментальной структурой CDK6 из PDB 1BI7. Анализ интерфейса взаимодействия дикого и мутантного типов p16 с CDK6. Из базы данных RCSB PDB была взята молекулярная структура комплекса p16/CDK6 (PDB 1BI7, рентгеновская кристаллография с разрешением 3,40 Å) в формате PDB. С помощью программного обеспечения UCSF Chimera V. 1.15 и сервера PIMA был выполнен анализ интерфейсов p16/CDK6 и p16(R87W)/CDK6. Компаративный анализ аффинитета связывания дикого и мутантного p16 (R87W) с CDK6. С помощью сервера PPA-Pred2 были получены данные о свободной энергии связывания ( $\Delta G$ , kcal/mol) и константе диссоциации (Kd, M) комплексов p16/CDK6 и p16(R87W)/CDK6.

Результаты. Причина замены аргинина в 87 положении полипептидной цепи p16 является миссенс-мутация в позиции 21971100 аутосомы 9 человека, в основе которой лежит замена типа транзиции пиримидин > пиримидин: CGG > TGG. Таким образом, в матричной цепи появляется триплет ACC, который при элонгации мРНК приводит к образованию комплементарного ему UGG, – единственного триптофан-кодирующего кодона. Несмотря на тот факт, что по данным dbSNP транзиция CGG > TGG описывается как аллельная вариация гена [9], экспериментально установлено, что связывание p16(R87W) с CDK4 снижается на 26% [10], отражая влияние однонуклеотидного полиморфизма гена CDKN2A на реализацию биологической функции p16. Анализ эволюционной консервативности ортологов позвоночных демонстрирует низкую степень видовой вариативности аминокислотного контекста в позициях, соответствующих Arg87 человека, наводя на мысль о том, что высокий уровень консервации этого остатка носит не случайный характер в эволюции видов. Физико-химические свойства дикого типа p16: mW в моноизотопном протонированном состоянии  $\approx$  16.52 kDa; pI = 5.5; Grand average of hydropathicity (GRAVY) = -0.235. Заряд молекулы при pH = 9: -7.09; pH = 7.4: -5.6; pH = 5: +3.3. Физико-химические свойства мутантного типа p16: mW в моноизотопном протонированном состоянии  $\approx$  16.54 kDa; pI = 5.31; Grand average of

hydropathicity (GRAVY) = -0.212. Заряд молекулы при pH = 9: -8.09; pH = 7.4: -6.6; pH = 5: +2.34. Изменение свободной энергии денатурации ( $\Delta\Delta G$ ), индуцированное заменой R87W = 0.25 kcal/mol<sup>-1</sup>. Полученные данные иллюстрируют незначительные изменения молекулярной массы и изоэлектрической точки под влиянием мутации. Тем не менее, заряды мутантной формы в диапазоне pH (5-9) находятся в очевидном рассогласовании с таковыми у дикого типа. С помощью предиктивных алгоритмов определения вторичной конформации полипептидной цепи был установлен факт изменения укладки восходящей NH<sub>2</sub>-концевой спирали третьего анкиринового повтора в мутантном типе p16. Согласно алгоритмам JNETSOL25 и JNETSOL5, предпетлевой участок, который соответствует Trp87, находится в деспирализованном состоянии, конформация которого не имеет регулярный характер. Карта Рамачандрана (Ramachandran plot) представляет собой надёжный инструмент для двухмерной визуализации конформационной принадлежности аминокислотных остатков в полипептидной цепи. Центральная идея метода основывается на предсказании характера вторичной укладки белка в зависимости от значений торсионных углов  $\phi$  и  $\psi$ . Классическая правозакрученная  $\alpha$ -спираль Полинга-Кори-Брэнсона, являющаяся одним из типов регулярной конформации цепи, широко представлена во вторичной структуре белка p16, образуя анкириновые повторы (n=4). Каждый из повторов имеет следующую архитектуру:  $\alpha$ -спираль/петля/ $\alpha$ -спираль. Вместе с тем известно, что  $\alpha$ -спирали присущи средние значения  $\angle\phi \approx -60^\circ$  и  $\angle\psi \approx -40^\circ$ . Карта Рамачандрана, построенная для p16 дикого типа (PDB 1BI7) демонстрирует следующие значения торсионных углов R87:  $\angle\phi \approx -57.3^\circ$ ;  $\angle\psi \approx -47.7^\circ$ . Значения торсионных углов W87 в предсказанной ab initio модели p16 составляют:  $\angle\phi \approx -121.9^\circ$ ;  $\angle\psi \approx -46.2^\circ$ . Таким образом,  $\angle\phi$  триптофана в 87 положении полипептидной цепи p16 мутантного типа существенно отличается от усреднённого значения  $\angle\phi$ , характерного для правозакрученной  $\alpha$ -спирали ( $\approx -60^\circ$ ). Суперпозиция мутантного и дикого типов p16 также иллюстрирует изменение вторичной укладки в области 87 позиции цепи в виде деспирализации. На сервере TM-score были установлены значения показателя RMSD в суперпозиции (1.32 Å) и TM-score (0.8879). Диапазон значений TM-score соответствует 0.17-1.0, где 0.17 характерен для выравнивания случайных структур, а 1.0 соответствует полному совпадению вторичных конформаций. Показатель RMSD для близких гомологов не должен превышать 3.0. В процессе анализа интерфейсов взаимодействия дикого и мутантного p16 с CDK6 выявляется факт изменения энергетических профилей связей в комплексе p16(R87W)/CDK6 в сторону его дестабилизации. Энергия водородных связей в комплексах p16/CDK6 и p16(R87W)/CDK6  $\approx -105.6938$  и  $-81.4032$  kJ/mol соответственно; энергия электростатических взаимодействий в комплексах p16/CDK6 и p16(R87W)/CDK6  $\approx -175.4985$  и  $-171.1285$  kJ/mol соответственно; энергия ван-дер-Ваальсовых взаимодействий в комплексах p16/CDK6 и p16(R87W)/CDK6  $\approx -406.314$  и  $-406.368$  kJ/mol соответственно; энергия всех типов взаимодействий в комплексах p16/CDK6 и p16(R87W)/CDK6  $\approx -687.5063$  и  $-658.8997$  kJ/mol соответственно. Предсказанная  $\Delta G$  связывания p16/CDK6  $\approx -9.94$  kcal/mol; предсказанная Kd комплекса p16/CDK6  $\approx 5.12e-08$  M. Предсказанная  $\Delta G$  связывания p16R87W/CDK6  $\approx -9.49$  kcal/mol; предсказанная Kd комплекса p16R87W/CDK6  $\approx 1.10e-07$  M. Таким образом, на основании параметров  $\Delta G$ , Kd и компаративном анализе энергетических профилей комплексов дикого и мутантного типов с CDK6 очевиден факт снижения аффинитета связывания мутантного типа p16R87W с циклин-зависимой киназой CDK6.

Обсуждение. Белок p16 принадлежит к числу содержащих анкириновые повторы, минимальный структурный элемент которых представлен двумя  $\alpha$ -спиралями Полинга-Кори-Брэнсона, соединённые между собой петлёй. Доменная организация p16 практически полностью представлена четырьмя анкириновыми повторами, за исключением нерегулярной укладки вторичной структуры первых 10 NH<sub>2</sub>-концевых аминокислотных остатков и последних 22 на карбоксильном конце. В качестве анализируемой мутации рассматривалась

замена остатка Arg87, находящегося на интерфейсе взаимодействия с CDK6 (PDB 1BI7), на триптофан. Arg87 в p16 дикого типа расположен на NH<sub>2</sub>-конце восходящей спирали 3 анкиринового повтора (ANK3) в пределах предпетлевого витка. Под влиянием мутации происходят изменения вторичной конформации белка, состоящие в частичной деспирализации в области восходящей петли 3 анкиринового повтора; изменяются физико-химические свойства молекулы и энергетические профили химических связей с CDK6 в сторону дестабилизации комплекса. Было установлено, что замена R87W снижает аффинитет белка к CDK6.

**Заключение.** Циклин-зависимый ингибитор серин-треониновых киназ p16 играет важную роль в регуляции перехода эукариотических клеток в пресинтетическую и синтетическую фазы клеточного цикла. Тем не менее, генетический локус 9p21.3, в котором расположен ген белка p16 (CDKN2A) характеризуется высокой частотой мутагенеза: делециям, дупликациям и однонуклеотидному полиморфизму. Описано несколько десятков миссенс-мутаций, результирующих изменениями аминокислотного контекста p16, которые неравнозначны в отношении аффинитета белка к циклин-зависимой киназе CDK4. Тем не менее, CDK4 является не единственным нативным лигандом p16, интерактом которого насчитывает 8 бинарных белок-белковых взаимодействий. В это число входит и функционально близкая CDK4 циклин-зависимая киназа CDK6, комплекс которой с p16 является преобладающим. В то же время, количество фактического материала и экспериментальных сведений, отражающих аффинитет связывания мутантных типов p16 с CDK6 в настоящее время недостаточно. В этой связи исследования, находящиеся в плоскости общебиологической парадигмы взаимосвязи структуры и функции, особенно актуальны в отношении мутантных типов p16 и образования их молекулярных комплексов с одним из основных лигандов — CDK6. В рамках текущего исследования *in silico* было установлено, что в результате замены аргинина на триптофан в полипептидной цепи белка p16 происходят изменения его вторичной конформации и физико-химических свойств, в результате которых снижается аффинитет к циклин-зависимой киназе CDK6 и изменяется их интерфейс взаимодействия. Таким образом, мутация R87W, снижает аффинитет связывания p16 не только с CDK4, но и с CDK6.

*Список литературы:*

1. Hamosh A, Amberger JS, Bocchini C, Scott AF, Rasmussen SA. Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM®): Victor McKusick's magnum opus. *Am J Med Genet A.* 2021;185(11):3259-3265. doi:10.1002/ajmg.a.62407
2. Zhao R, Choi BY, Lee MH, Bode AM, Dong Z. Implications of Genetic and Epigenetic Alterations of CDKN2A (p16<sup>INK4a</sup>) in Cancer. *EBioMedicine.* 2016;8:30-39. doi:10.1016/j.ebiom.2016.04.017
3. Quelle DE, Zindy F, Ashmun RA, Sherr CJ. Alternative reading frames of the INK4a tumor suppressor gene encode two unrelated proteins capable of inducing cell cycle arrest. *Cell.* 1995;83(6):993-1000. doi:10.1016/0092-8674(95)90214-7
4. UniProt Consortium. UniProt: the universal protein knowledgebase in 2021. *Nucleic Acids Res.* 2021;49(D1):D480-D489. doi:10.1093/nar/gkaa1100
5. Pisano M, Arru C, Serra M, et al. Antiproliferative activity of vanadium compounds: effects on the major malignant melanoma molecular pathways. *Metallomics.* 2019;11(10):1687-1699. doi:10.1039/c9mt00174c
6. Russo AA, Tong L, Lee JO, Jeffrey PD, Pavletich NP. Structural basis for inhibition of the cyclin-dependent kinase Cdk6 by the tumour suppressor p16<sup>INK4a</sup>. *Nature.* 1998;395(6699):237-243. doi:10.1038/26155
7. Nebenfuhr S, Bellutti F, Sxcl V. Cdk6: At the interface of Rb and p53. *Mol Cell Oncol.* 2018;5(5):e1511206. Published 2018 Sep 5. doi:10.1080/23723556.2018.1511206
8. Gil J, Peters G. Regulation of the INK4b-ARF-INK4a tumour suppressor locus: all for one or one for all. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2006;7(9):667-677. doi:10.1038/nrm1987
9. Sherry ST, Ward M, Sirotkin K. dbSNP-database for single nucleotide polymorphisms and other classes of minor genetic variation. *Genome Res.* 1999;9(8):677-679.

10. Kannengiesser C, Brookes S, del Arroyo AG, et al. Functional, structural, and genetic evaluation of 20 CDKN2A germ line mutations identified in melanoma-prone families or patients. *Hum Mutat.* 2009;30(4):564-574. doi:10.1002/humu.20845

## **ОСОБЕННОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БРОМТИМОЛОВОГО СИНЕГО В КАЧЕСТВЕ ИНДИКАТОРА В ТЕСТ-СИСТЕМЕ ДЛЯ ЭКСПРЕСС-ДИАГНОСТИКИ НАЛИЧИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ МОЧЕПОЛОВЫХ ПУТЕЙ У ЖЕНЩИН**

*Золотухин В.О*

Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко  
Кафедра клинической лабораторной диагностики

*Аннотация: Актуальность: в настоящее время проводится большое количество медицинских исследований, в которых используется метод рН-метрии. Методики оценки кислотность биологических жидкостей очень проблематичны и ограничиваются оценкой кислотно-основного состояния мочи и крови, однако сейчас разработаны много методов неинвазивной оценки концентрации ионов водорода в различных тканях и жидкостях организма.*

*Цель: исследования - определение механизмов взаимодействия бромтимолового синего и тест-системы для экспресс-диагностики заболеваний мочеполовых путей.*

*Материалы и методы: Исследование проводилось на носителе основой которого являлось хлопковое волокно с целлюлозным наполнителем. Было показано, что на сорбционную способность целлюлозы влияют рН среды, ионная сила природа растворителя, температура.*

*Результаты: были выявлены механизмы взаимодействия бромтимолового синего и тест-системы, идентифицированы условия фиксации бромтимолового синего на целлюлозе и исследована длительность сохранения свойств полученного чипа во времени*

*Ключевые слова: экспресс-диагностика; заболевания мочеполовых путей; бромтимоловый синий; рН-метрия*

Актуальность: в настоящее время проводится большое количество медицинских исследований, в которых используется метод рН-метрии. Методики оценки кислотность биологических жидкостей очень проблематичны и ограничиваются оценкой кислотно-основного состояния мочи и крови, однако сейчас разработаны много методов неинвазивной оценки концентрации ионов водорода в различных тканях и жидкостях организма.[1]. Для определения значений рН растворов используют два основных метода [2,3]. Сейчас активно используется применение различных химически активных веществ изменяющих свой цвет при нахождении в среде с определенной концентрацией ионов водорода. Также большое распространение получил потенциометрический метод определения кислотности. Данный метод используется в интрагастральной рН-метрии для длительной регистрации рН желудочного сока при использовании различных фармакосекреторных проб [1,3]. Определение кислотности биологических жидкостей (желудочного сока, слюны, лимфы, мочи) широко используется в диагностике различных заболеваний [2,4]. Нами была предложена тест-система для непрерывного определения рН вагинальной жидкости. Тест-система включает адсорбированный чип, подготовку и ввод пробы, отклик, обработку данных, анализ данных чипа [4].

Цель: в данной работе было проведено определение механизмов взаимодействия бромтимолового синего и тест-системы для экспресс-диагностики заболеваний мочеполовых путей и подбор оптимальных условий фиксации бромтимолового синего на целлюлозе.

Материалы и методы: Исследование проводилось на носителе, основой которого являлось хлопковое волокно с целлюлозным наполнителем. В качестве носителя были