**Определение аспарагиназной активности *in vitro* и *in vivo*: сравнительный анализ методов и влияние различных форм фермента**

***Злотников И.Д., Кудряшова Е.В.***

*Студент, 5 курс специалитета*

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,*

*химический факультет, Москва, Россия*

*E–mail:* *izlotnikov2003@yandex.ru*

Аспарагиназа (АСП) – ключевой фермент в лечении онкологических заболеваний, особенно лейкозов. АСП катализирует реакцию гидролиза аспарагина (Asn), от которого критически зависимы лейкозные клетки, в отличие от нормальных. Точное определение АСП активности *in vitro* и *in vivo* важно для мониторинга эффективности терапии и разработки новых лекарственных форм. Исследование посвящено оптимизации методов определения активности АСП, включая определение предела обнаружения, интервала линейности и влияния матрицы образца (цельная кровь vs. сыворотка). Мы сравниваем различные формы АСП: аптечные *E. coli* аспарагиназу (EcA) от производителей «Верофарм» и «Медак», аспарагиназу *Erwinia carotovora* (EwA) и её модифицированные формуляции (EwA-полиаминные конъюгаты и наногели с гепарином).

Активность АСП определялась двумя методами: инфракрасной спектроскопией (ИК, рис. 1) с использованием 5-30 мМ аспарагина (Asn) в качестве субстрата и флуориметрией с 0.5-5 мМ Asp-AMC (флуоресцентный субстрат, производное аминометилкумарина). Определялось количество введенного и обнаруженного фермента.



Рис. 1. Пример ИК спектров каталитического гидролиза 10 мМ Asn ферментом EcA Медак (20 мкг/мл). PBS (0.01M, pH 7.4). T = 37 °C.

Получены данные о минимальной детектируемой активности АСП: 1 МЕ/мл – методом ИК спектроскопии, 0,1 МЕ/мл – методом флуориметрии). Установлены интервалы линейности, оптимальные условия измерения (сыворотка крови без разбавления) и влияние концентрации субстрата (1 мМ для флуориметрии и более 20 мМ для ИК спектроскопии оптимально). Проведен сравнительный анализ калибровочных кривых для различных форм АСП. Таким образом, представлены оптимизированные методы определения активности АСП *in vitro* и *in vivo*. Полученные данные важны для изучения фармакокинетики препаратов АСП и валидации терапевтической эффективности.

*Работа поддержана Российским научным фондом, грант № 24-25-00104. Работа выполнена с использованием оборудования (ИК микроскоп МИКРАН-3 (Simex, Новосибирск, Россия), ИК спектрометр Bruker Tensor 27 (Bruker, Германия), Jasco J-815 спектрометр кругового дихроизма (JASCO, Япония), Атомно-силовой микроскоп NTEGRA II (NT-MDT Spectrum Instruments, Россия) программы развития Московского государственного университета.*