

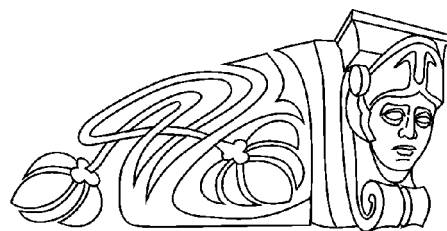


Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Физика. 2023. Т. 23, вып. 1. С. 37–45
Izvestiya of Saratov University. Physics, 2023, vol. 23, iss. 1, pp. 37–45
<https://fizika.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1817-3020-2023-23-1-37-45>, EDN: DLHAFH

Научная статья
УДК 60:543.645.6:535.375.55

Анализ белковых фракций водорастворимых пептидов методом динамического рассеяния света



О. С. Ларионова¹✉, Я. Б. Древо¹, В. А. Ханадеев^{1,2}, С. В. Горшунова¹, Е. С. Козлов¹, С. В. Ларионов¹

¹Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н. И. Вавилова, Россия, 410012, г. Саратов, пр-кт им. Петра Столыпина, зд. 4, стр. 3

²Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ «Саратовский научный центр РАН» (ИБФРМ РАН), Россия, 410049, г. Саратов, просп. Энтузиастов, д. 13

Ларионова Ольга Сергеевна, доктор биологических наук, заведующий кафедрой микробиологии и биотехнологии, larioнова1@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5457-0306>

Древо Ярослав Борисович, кандидат химических наук, доцент кафедры микробиологии и биотехнологии, drevko@list.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4007-2140>

Ханадеев Виталий Андреевич, кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник лаборатории нанобиотехнологии, khanadeev@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3404-5402>

Горшунова Софья Владимировна, аспирант 3-го года обучения кафедры микробиологии и биотехнологии, Gorshunova.s.v@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9199-6071>

Козлов Евгений Сергеевич, студент 5-го курса, jkrus19@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8009-4411>

Ларионов Сергей Васильевич, доктор ветеринарных наук, член-корреспондент РАН, профессор кафедры «Болезни животных и ветеринарно-санитарная экспертиза», larioinov.sgau@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5024-161X>

Аннотация. Представлен анализ исследования белковых фракций водорастворимых пептидов из личинок *Musca domestica* методом динамического рассеяния света. Целью данной работы явилось изучение белковых фракций водорастворимых пептидов, выделенных из личинок *Musca domestica* методом динамического рассеяния света. Следует отметить, что подбор оптимальных методов анализа и контроля прототипов антибактериальных препаратов на основе антимикробных пептидов позволит сократить время проведения исследований и обеспечит точность полученных результатов. Установлено, что все анализируемые пептиды обладали достаточной стабильностью в водной среде, что подтверждается значениями дзета-потенциала от -11.2 до -12 мВ. При изучении пептидов в концентрации 666 мкг/мл с молекулярной массой менее 3.5 кДа выявлено, что их размер находился в интервале $68-142$ нм; с молекулярной массой $3.5-7$ кДа – $43-68$ нм; с молекулярной массой $7-14$ кДа – $43-105$ нм; с молекулярной массой более 14 кДа – $79-190$ нм. Показано использование метода динамического рассеяния света для контроля и анализа белковых фракций водорастворимых пептидов. Использование данного метода позволит сократить время проведения анализа, выявлять микропримеси, обеспечит простоту исполнения и почти полное отсутствие расходного материала.

Ключевые слова: водорастворимые пептиды, динамическое рассеяние света, дзета-потенциал

Благодарности: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-26-00167, <https://rscf.ru/project/22-26-00167/>

Для цитирования: Ларионова О. С., Древо Я. Б., Ханадеев В. А., Горшунова С. В., Козлов Е. С., Ларионов С. В. Анализ белковых фракций водорастворимых пептидов методом динамического рассеяния света // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Физика. 2023. Т. 23, вып. 1. С. 37–45. <https://doi.org/10.18500/1817-3020-2023-23-1-37-45>, EDN: DLHAFH

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

Analysis of protein fractions of water-soluble peptides by dynamic light scattering

O. S. Larioнова¹✉, Y. B. Drevko¹, V. A. Khanadeev^{1,2}, S. V. Gorshunova¹, E. S. Kozlov¹, S. V. Larioнов¹

¹Federal State Budgetary Educational University of Higher Education "Saratov State University of genetics, biotechnology and engineering named after N. I. Vavilov", 4 zd. 3 str. Petra Stolypina prosp., Saratov 410012, Russia

²Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Saratov Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences (IBPPM RAS), 13 Prospekt Entuziastov, Saratov 410049, Russia

© Ларионова О. С., Древо Я. Б., Ханадеев В. А., Горшунова С. В., Козлов Е. С., Ларионов С. В., 2023



Olga S. Larionova¹, larionova1@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5457-0306>
Yaroslav B. Drevko¹, drevko@list.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4007-2140>
Vitaly A. Khanadeev^{1,2}, khanadeev@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3404-5402>
Sofia V. Gorshunova¹, Gorshunova.s.v@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9199-6071>
Evgeny S. Kozlov¹, jkrus19@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8009-4411>
Sergey V. Larionov¹, larionov.sgau@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5024-161X>

Abstract. Background and Objectives: Currently, antimicrobial peptides are one of the main sources of alternative antibiotics because they can easily interact with bacterial peptidoglycan by penetrating or dissolving biofilms with minimal side effects. However, from a practical point of view, questions remain open about choosing the optimal method for obtaining and scaling the process of isolating peptides from insect biomass, as well as analyzing drug prototypes. In this regard, the search for methods of analysis and control of protein fractions of water-soluble peptides used for the subsequent development of antibacterial drugs based on them is an urgent task. The aim of this work was to study the protein fractions of water-soluble peptides isolated from *Musca domestica* larvae by dynamic light scattering. **Materials and Methods:** The results of the study of fractions of water-soluble peptides from *Musca domestica* larvae by dynamic light scattering are presented. The selection of optimal methods for the analysis and control of prototypes of antibacterial drugs based on antimicrobial peptides will reduce the time of research and ensure the accuracy of the results obtained. **Results:** It has been found that all the analyzed peptides have a sufficiently high stability in the aqueous medium which is confirmed by values of the zeta potential from -11.2 mV to -12 mV. The peptides at a concentration of $666 \mu\text{g/ml}$ with a molecular weight of less than 3.5 kDa, it has been found that their size was in the range of $68-142$ nm; with a molecular weight of $3.5-7$ kDa – $43-68$ nm; with a molecular weight of $7-14$ kDa – $43-105$ nm; with a molecular weight of more than 14 kDa – $79-190$ nm. The use of the dynamic light scattering method for the control and analysis of protein fractions of water-soluble peptides is established. The use of this method will reduce the time of analysis, identify micro-impurities, ensure simplicity of execution and almost complete absence of consumables. **Conclusion:** Use of dynamic light scattering is justified as a fast method of analyzing the obtained fractions of peptides, establishing the absence of trace impurities. Taking into account the almost complete absence of consumables, reduced analysis time and ease of execution in comparison with high-performance liquid chromatography, this detection method can be successfully used in everyday practice.

Keywords: water-soluble peptides, dynamic light scattering, zeta potential

Acknowledgments: The research was carried out at the expense of the grant of the Russian Science Foundation No. 22-26-00167, <https://rscf.ru/project/22-26-00167/>

For citation: Larionova O. S., Drevko Y. B., Khanadeev V. A., Gorshunova S. V., Kozlov E. S., Larionov S. V. Analysis of protein fractions of water-soluble peptides by dynamic light scattering. *Izvestiya of Saratov University. Physics*, 2023, vol. 23, iss. 1, pp. 37–45 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1817-3020-2023-23-1-37-45>, EDN: DLHAFH

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

Введение

Распространение патогенных микроорганизмов с множественной лекарственной устойчивостью вызывает проблемы использования существующих антибактериальных препаратов.

В настоящее время одними из основных источников альтернативных антибиотиков являются антимикробные пептиды. Большинство выделенных антимикробных пептидов проявляют активность в отношении бактерий, грибов, некоторых паразитов и вирусов, а также оказывают синергический эффект с обычными антибиотиками, представляя возможность для комбинированной терапии. Кроме того, эти пептиды также проявляют регуляторную активность в отношении кишечной микробиоты и считаются индукторами роста [1]. Антимикробные пептиды являются многообещающей альтернативой обычным антибиотикам, поскольку они могут легко взаимодействовать с бактериальным пептидогликаном путем проникновения или растворения биопленок с минимальными побочными эффектами [2]. Среди различных источников антимикробных пептидов, обладающих высокой антимикробной ак-

тивностью к широкому спектру микроорганизмов, одними из наиболее перспективных являются насекомые.

Однако с практической точки зрения остаются открытыми вопросы по выбору оптимального способа получения и масштабированию процесса выделения пептидов из биомассы насекомых, а также анализа прототипов препаратов [3, 4]. На данный момент времени в научной практике наиболее часто для контроля размера частиц используются методы электронной микроскопии и динамического рассеяния света, также для косвенной идентификации частиц возможно применение методов электрофореза, хроматографии и масс-спектрометрии. Однако методы хроматографии, масс-спектрометрии и электронной микроскопии дорогостоящи, а электрофорез является трудозатратным, наиболее оптимальным по трудозатратам и стоимости является метод динамического рассеяния света. Согласно литературным данным метод динамического рассеяния света применялся для анализа наночастиц, белков [3, 5].

Целью данной работы явилось изучение белковых фракций водорастворимых пептидов, вы-



деленных из личинок *Musca domestica* методом динамического рассеяния света. Следовательно, поиск методов анализа и контроля белковых фракций водорастворимых пептидов, используемых для последующей разработки антибактериальных препаратов на их основе, является актуальной задачей.

1. Материалы и методы

Фракции водорастворимых пептидов получали из биомассы личинок *M. domestica* методом холодной экстракции с предварительной гомогенизацией их биомассы. Затем белковые фракции разделяли методом диализа с использованием диализных мембран (MEMBRA-CEL, Франция) размером менее 3.5 кДа, 3.5–7 кДа, 7–14 кДа, более 14 кДа. По завершению данного процесса получили 4 образца. Содержание белка в исследуемых фракциях определяли по методу Лоури на спектрофотометре «ShimadzuUV-1280» (Shimadzu Corporation, Япония) при длине волны 450 нм, разделение пептидов проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на хроматографе Стайер Аквилон (Аквилон, Россия) с УФ-детектором и колонке Phenomenex BioSep-SEC-s2000 при использовании в качестве элюента дистиллированной воды и скорости потока 1 мл/мин и длине волны 254 нм. Изучение размера полученных пептидов после разделения на диализных мембранах проводили методом динамического рассеяния света (ДРС) на приборе Zetasizer (Malvern Instruments Великобритания). Все измерения проводились в 10-миллиметровой кювете, в качестве растворителя использовали дистиллированную воду.

Исследования проводили на базе центра коллективного пользования «Симбиоз» с применением научного оборудования в области физико-химической биологии и нанобиотехнологии Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Саратовский научный центр Российской академии наук».

2. Результаты и их обсуждение

Физическая основа метода динамического рассеяния света связана с доплеровским сдвигом частоты рассеянного излучения за счет различных типов теплового движения, например поступательной и вращательной диффузии частиц или макромолекул как целого объекта и сложного

внутреннего движения полимерных цепей [5–7]. На практике подавляющий вклад в измеряемый флуктуационный сигнал вносит поступательная (трансляционная) диффузия. Реально измеряемой в эксперименте величиной является не рассеянное поле, а интенсивность света. Среднее значение регистрируемого тока на фотоумножителе пропорционально средней интенсивности излучения и не содержит информации о спектре рассеянного света [8–11]. Суть метода заключается в том, что с помощью фотоумножителя измеряется не сам спектр рассеянного поля, а спектр мощности (интенсивности) флуктуаций фототока, пропорциональных интенсивности излучения [12–17]. Однозначная связь между этими характеристиками имеется только в случае гауссовой статистики регистрируемого излучения, т. е., когда оно является суперпозицией большого числа статистически независимых полей. В случае рассеяния на сферических частицах автокорреляционная функция флуктуаций интенсивности рассеянного света представляет собой спадающую экспоненту с постоянной времени, пропорциональной коэффициенту диффузии частиц и квадрату модуля вектора рассеяния [18–21]. Соответственно метод динамического рассеяния света может использоваться как для определения размера пептидов, так и определения стабильности их водных растворов, что связано с достаточно широким применением данного метода анализа во многих областях и является проработанным методом как с широким теоретическим базисом, так и большим практическим применением в научных исследованиях.

В рамках проведенных исследований установлено, что все пептиды обладают достаточной стабильностью в водной среде, что подтверждается значениями дзета-потенциала от –11.2 до –12 мВ [22] (табл. 1).

Для установления размера пептидов в растворе и нивелирования эффектов взаимного накладывания сигналов проводились измерения каждого образца в двух концентрациях – 666 и 66 мкг/мл.

Так, для образца, полученного при диализе через мембрану 3.5 кДа и имеющего молекулярную массу пептидов менее 3.5 кДа, установлено, что при концентрации 666 мкг/мл размер белков находился в интервале от 68 до 142 нм, а при концентрации 66 мкг/мл – 255–458 нм (рис. 1).

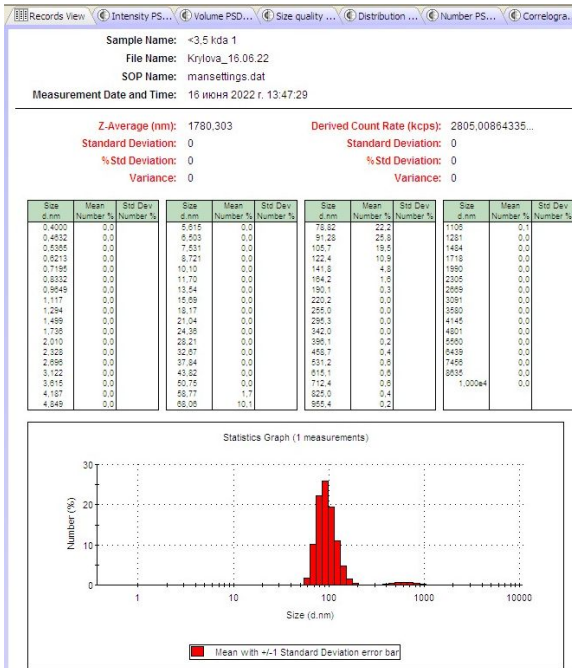
При анализе пептидов с молекулярной массой 3.5–7 кДа установлено, что при концентрации 666 мкг/мл размер белков соответствовал



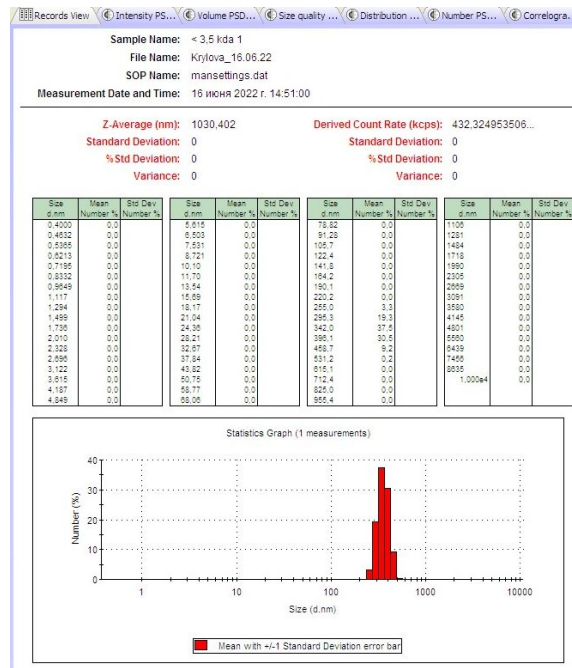
Таблица 1 / Table 1

Дзета-потенциал фракций пептидов
Zeta potential of peptide fractions

№ фракции	Молекулярная масса, кДа	Дзета-потенциал, мВ
1	Менее 3.5	-12.0
2	3.5–7	-11.4
3	7–14	-11.2
4	Более 14	-11.4



a/a



б/б

Рис. 1. Результаты исследования методом ДРС белка менее 3.5 кДа при концентрации 666 мкг/мл (а) и при концентрации 66 мкг/мл (б)

Fig. 1. Results of the study by the DLS method of protein less than 3.5 kDa and a concentration of 666 µg/ml (a) and a concentration of 66 µg/ml (b)

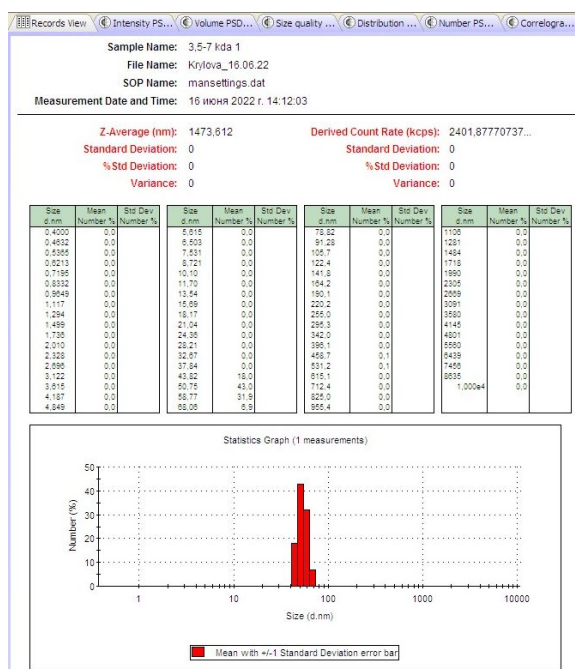
43–68 нм, а при концентрации 66 мкг/мл – 0.96–1.5 нм (рис. 2).

Образец с молекулярной массой 7–14 кДа при концентрации 666 мкг/мл имел размер 43–105 нм, а при концентрации 66 мкг/мл – 1.5–2 нм (рис. 3).

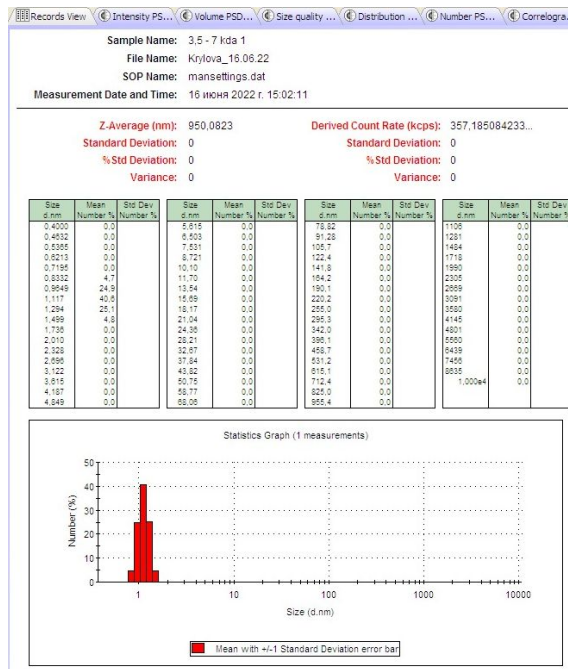
В образце с молекулярной массой более 14 кДа при концентрации 666 мкг/мл размер белков соответствовал 79–190 нм, а при концентрации 66 мкг/мл – 531–825 нм (рис. 4, табл. 2).

Как видно из табл. 2, в концентрации 66 мкг/мл определение размера пептидов не оказывается возможным, что связано, скорее всего, с недостаточным количеством частиц в растворе для накопления статистически достоверного значения интенсивности света, о чем свиде-

тельствуют неоднозначные и принципиальные различия в получаемых размерах. Однако в концентрации 666 мкг/мл видна достаточно достоверная картина, которую можно связать с различным строением получаемых пептидов и наличием различного диэлектрического слоя. Эти результаты коррелируют с хроматографическими данными полученными нами ранее при анализе пептидов методом ВЭЖХ [23], что установлено хроматограммами с одинаковым временем удерживания. Подтверждение результатов при помощи двух независимых физико-химических методов анализа позволяют с высокой уверенностью говорить о возможности использования метода ДРС для контроля и анализа белковых фракций.



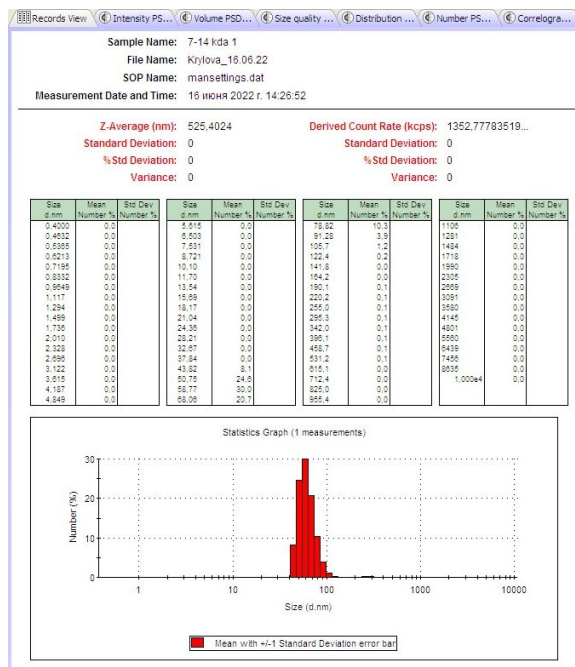
a/a



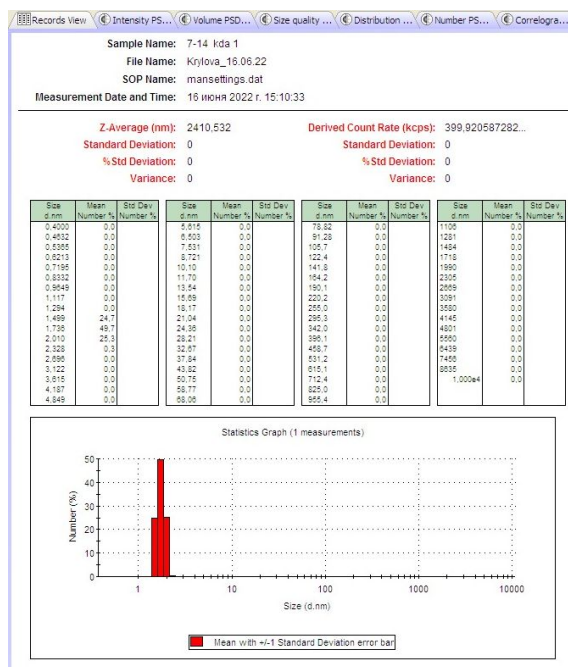
b/b

Рис. 2. Результаты исследования методом ДРС белка менее 3.5–7 кДа при концентрации 666 мкг/мл (а) и при концентрации 66 мкг/мл (б)

Fig. 2. Results of the study by the DLS method of protein less than 3.5–7 kDa and a concentration of 666 µg/ml (a) and a concentration of 66 µg/ml (b)



a/a



b/b

Рис. 3. Результаты исследования методом ДРС белка менее 7–14 кДа при концентрации 666 мкг/мл (а) и при концентрации 66 мкг/мл (б)

Fig. 3. Results of the study by the DLS method of protein less than 7–14 kDa and a concentration of 666 µg/ml (a) and a concentration of 66 µg/ml (b)

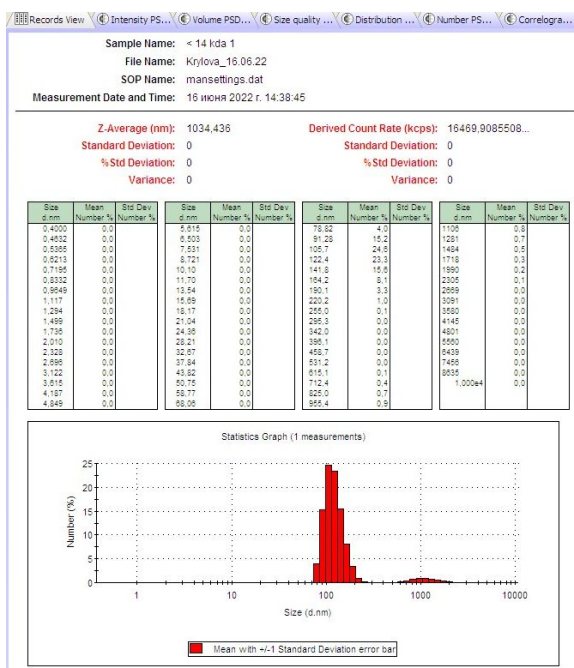


Таблица 2 / Table 2

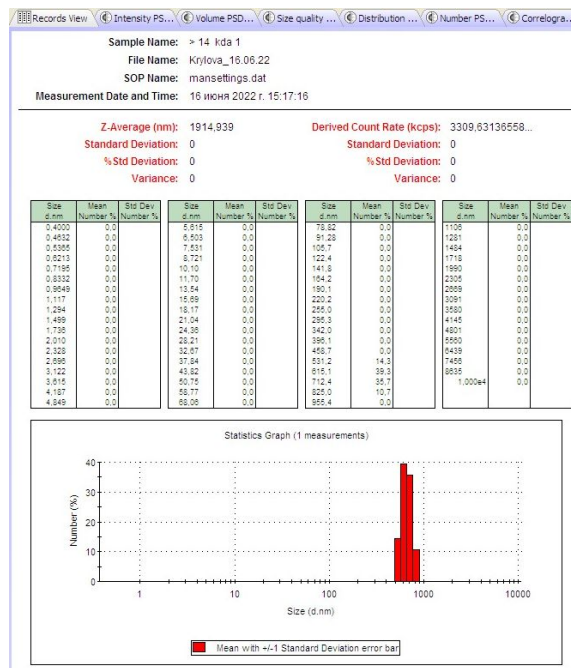
Размер пептидов в зависимости от молекулярной массы фракций

The size of peptides depending on the molecular weight of fractions

№ фракции	Молекулярная масса, кДа	Пептид в концентрации 666 мкг/мл, нм	Пептид в концентрации 66 мкг/мл, нм
1	Менее 3,5	68–142	255–458
2	3,5–7	43–68	0,96–1,5
3	7–14	43–105	1,5–2
4	Более 14	79–190	531–825



a/a



б/б

Рис. 4. Результаты исследования методом ДРС белка более 14 кДа при концентрации 666 мкг/мл (а) и при концентрации 66 мкг/мл (б)

Fig. 4. Results of the study by the DLS method of protein more than 14 kDa and a concentration of 666 μg/ml (a) and a concentration of 66 μg/ml (b)

Заключение

Использование метода динамического рассеяния света оправдано в качестве быстрого метода анализа полученных фракций пептидов, установления отсутствия микропримесей [24, 25]. Почти полное отсутствие расходного материала, сокращение времени анализа и простота исполнения в сравнении с ВЭЖХ позволяют усиленно использовать метод детектирования в повседневной практике [26]. Кроме того, метод динамического рассеяния света позволит установить примесь микрочастиц. Это невозможно осуществить при помощи хроматографического анализа, что показывает несомненную ценность метода динамического рассеяния света, поскольку наличие микропримесей может пагубно сказаться на ко-

нечной продукции и возможности ее применения в качестве лекарственного препарата.

Список литературы

1. Valdez-Miramontes C. E., De Haro-Acosta J., Aréchiga-Flores C. F., Verdiguél-Fernández L., Rivas-Santiago B. Antimicrobial peptides in domestic animals and their applications in veterinary medicine // Peptides. 2021. Vol. 142. Article number 170576. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2021.170576>
2. Aamra H., Khan Farooq-Ahmad, Jahan H., Zafar M., Ali H., Farzana S. Synthesis of novel benzimidazole containing antimicrobial peptides (AMPs) with significant inhibitory effect on multidrug resistant strain of Salmonella typhimurium // Synth. Com. 2021. Vol. 51, № 23. P. 3620–3628. <https://doi.org/10.1080/00397911.2021.1986841>



3. Berne B. J., Pecora R. *Dynamic Light Scattering: With Applications to Chemistry, Biology, and Physics*. USA, Mineola, N.Y. : Dover Publ., 2000. 384 p. <https://doi.org/10.1021/ed054pA430.1>
4. Pecora R. *Dynamic Light Scattering – applications of Photon Correlation Spectroscopy*. N.Y. ; L. : Plenum Press, 1985. 420 p. <https://doi.org/10.1002/bbpc.19870910455>
5. Attri A. K., Minton A. P. New methods for measuring macromolecular interactions in solution via static light scattering: Basic methodology and application to nonassociating and self-associating proteins // *Anal. Biochem. : Meth. Biol. Sci.* 2005. Vol. 337. P. 103–110. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2004.09.045>
6. Thurston G. M. Liquid-liquid phase separation and static light scattering of concentrated ternary mixtures of bovine alpha and gammaB crystallins // *J. Chem. Phys.* 2006. Vol. 124. Article number 134909. <https://doi.org/10.1063/1.2168451>
7. António M., Lima T., Vitorino R. L., Daniel-da-Silva A. Label-free dynamic light scattering assay for C-reactive protein detection using magnetic nanoparticles // *Anal. Chim. Acta.* 2022. Vol. 1222, № 9. Article number 340169. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2022.340169>
8. Holloway L., Roche A., Marzouk S., Uddin S., Ke P., Ekizoglou S., Curtis R. Determination of Protein-Protein Interactions at High Co-Solvent Concentrations Using Static and Dynamic Light Scattering // *J. Pharm. Sci.* 2020. Vol. 109, № 9. P. 2699–2709. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2020.05.023>
9. Vasil'eva I. A., Anarbaev R. O., Moor N. A., Lavrik O. I. Dynamic light scattering study of base excision DNA repair proteins and their complexes // *Biochim. et Bioph. Acta (BBA) – Prot. Proteom.* 2019. Vol. 1867, № 3. P. 297–305. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2018.10.009>
10. Fukushima K., Okada A., Sasaki K., Kishimoto S., Fukushima S., Hamori M., Nishimura A., Shibata N., Shirai T., Terauchi R., Kubo T., Sugioka N. Population Pharmacokinetic-Toxicodynamic Modeling and Simulation of Cisplatin-Induced Acute Renal Injury in Rats: Effect of Dosing Rate on Nephrotoxicity // *J. of Pharm. Sci.* 2016. Vol. 105, № 1. P. 324–332. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2015.10.022>
11. Meyer W. V., Smart A. E., Wegdam G. H., Brown R. G. W. Photon correlation and scattering: Introduction to the feature issue // *Appl. Opt.* 2006. Vol. 45. P. 2149–2154. <https://doi.org/10.1364/AO.45.002149>
12. Mahatnirunkul T., Tomlinson D. C., McPherson M. J., Millner P. A. One-step gold nanoparticle size-shift assay using synthetic binding proteins and dynamic light scattering // *Sensors and Actuators B: Chemical.* 2022. Vol. 361. Article number 131709. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2022.131709>
13. Khan S. A., Degrasse J. A., Yakes B. J., Croley T. R. Rapid and sensitive detection of cholera toxin using gold nanoparticle-based simple colorimetric and dynamic light scattering assay // *Anal. Chim. Acta.* 2015. Vol. 892. P. 167–174. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.08.029>
14. Miao X., Ling L., Shuai X. Sensitive detection of glucose in human serum with oligonucleotide modified gold nanoparticles by using dynamic light scattering technique // *Biosens. Bioelectron.* 2013. Vol. 41. P. 880–883. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2012.09.015>
15. Li-na M. A., Dian-jun L. I. U., Zhen-xin W. Gold nanoparticle-based dynamic light scattering assay for mercury ion detection // *Chin. J. Anal. Chem.* 2014. Vol. 42, iss. 3. P. 332–336.
16. Alami A. El., Lagarde F., Huo Q., Zheng T., Baitoul M., Daniel P. Acetylcholine and acetylcholinesterase inhibitors detection using gold nanoparticles coupled with dynamic light scattering // *Sensors Int.* 2020. Vol. 1. Article number 100007. <https://doi.org/10.1016/j.sintl.2020.100007>
17. Zheng X. T., Goh W. L., Yeow P., Lane D. P., Ghadessy F. J., Tan Y. N. Ultrasensitive dynamic light scattering based nanobiosensor for rapid anticancer drug screening // *Sensor. Actuator. B Chem.* 2019. Vol. 279. P. 79–86. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.09.088>
18. Levin A. D., Ringaci A., Alenichev M. K., Drozhzhennikova E. B., Shevchenko K. G., Cherkasov V. R., Nikitin M. P., Nikitin P. I. Dynamic light scattering biosensing based on analyte-induced inhibition of nanoparticle aggregation // *Anal. Bioanal. Chem.* 2020. Vol. 412. P. 3423–3431. <https://doi.org/10.1007/s00216-020-02605-9>
19. Levin A. D., Filimonov I. S., Alenichev M. K., Goidina T. A. Mathematical modeling of nanosensor systems based on dynamic light scattering // *Nano Technol. Russ.* 2018. Vol. 13. P. 406–413. <https://doi.org/10.1134/S1995078018040092>
20. Сергеева И. А., Хитрина К. А., Крот А. Р., Сукнева А. В., Петрова Г. П. Исследование взаимодействия и динамики молекул в растворах коллагена и коллагеназы методом динамического рассеяния света // *Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия : Физика.* 2017. Т. 17, вып. 3. С. 171–178. <https://doi.org/10.18500/1817-3020-2017-17-3-171-178>
21. Witten K. G., Bretschneider J. C., Eckert T., Richtering W., Simon U. Assembly of DNA-functionalized gold nanoparticles studied by UV/Vis-spectroscopy and dynamic light scattering // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2008. Vol. 10. P. 1870–1875. <https://doi.org/10.1039/b719762d>
22. Bhattacharjee S. DLS and zeta potential – What they are and what they are not? // *J. Contr. Release.* 2016. Vol. 235. P. 337–351. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.06.017>
23. Крылова Л. С., Древко Б. И., Фауст Е. А., Ремизов Е. К., Смирнова К. Ю., Древко Я. Б., Бородин М. А., Осина Т. С., Ларионова О. С. ФГБОУ ВО Саратовский государственный аграрный университет имени Н. И. Вавилова. Композиция антимикробных пептидов, полученных из личинок *Musca domestica*, и способ ее получения. Патент № 2714128 С1, МПК А61К35/64; Заявл. 04.12.18; Опубл. 12.02.20.
24. Van der Zande B. M. I., Dhont Jan K. G., Bohmer Marcel R., Philipse A. P. Colloidal dispersions of gold rods characterized by dynamic light scattering and electrophoresis // *Langmuir.* 2000. Vol. 16. P. 459–464. <https://doi.org/10.1021/la990043x>
25. Liu X., Huo Q. A. Washing-free and amplifi cation-free one-step homogeneous assay for protein detection using gold nanoparticle probes and dynamic light scattering //



J. Immunol. Methods. 2009. Vol. 349. P. 38–44. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2009.07.015>

26. Хлебцов Б. Н., Пылаев Т. Е., Ханадеев В. А., Хлебцов Н. Г. Применение спектроскопии поглощения и динамического рассеяния света в исследованиях систем золотых наночастиц + ДНК // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия : Физика. 2017. Т. 17, вып. 3. С. 136–149. <https://doi.org/10.18500/1817-3020-2017-17-3-136-149>

References

- Valdez-Miramontes C. E., De Haro-Acosta J., Aréchiga-Flores C. F., Verdiguél-Fernández L., Rivas-Santiago B. Antimicrobial peptides in domestic animals and their applications in veterinary medicine. *Peptides*, 2021, vol. 142, article no. 170576. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2021.170576>
- Aamra H., Khan Farooq-Ahmad, Jahan H., Zafar M., Ali H., Farzana S. Synthesis of novel benzimidazole containing antimicrobial peptides (AMPs) with significant inhibitory effect on multidrug resistant strain of *Salmonella typhimurium*. *Synth. Comm.*, 2021, vol. 51, no. 23, pp. 3620–3628. <https://doi.org/10.1080/00397911.2021.1986841>
- Berne B. J., Pecora R. *Dynamic Light Scattering: With Applications to Chemistry, Biology, and Physics*. USA, Dover Publ., Mineola, N. Y., 2000. 384 p. <https://doi.org/10.1021/ed054pA430.1>
- Pecora R. *Dynamic Light Scattering – applications of Photon Correlation Spectroscopy*. Plenum Press, 1985. 420 p. <https://doi.org/10.1002/bbpc.19870910455>
- Attri A. K., Minton A. P. New methods for measuring macromolecular interactions in solution via static light scattering: Basic methodology and application to nonassociating and self-associating proteins. *Anal. Biochem. : Meth. Biol. Sci.*, 2005, vol. 337, pp. 103–110. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2004.09.045>
- Thurston G. M. Liquid-liquid phase separation and static light scattering of concentrated ternary mixtures of bovine alpha and gammaB crystallins. *J. Chem. Phys.*, 2006, vol. 124, article no. 134909. <https://doi.org/10.1063/1.2168451>
- António M., Lima T., Vitorino R. L., Daniel-da-Silva A. Label-free dynamic light scattering assay for C-reactive protein detection using magnetic nanoparticles. *Anal. Chim. Acta*, 2022, vol. 1222, no. 9, article no. 340169. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2022.340169>
- Holloway L., Roche A., Marzouk S., Uddin S., Ke P., Ekizoglou S., Curtis R. Determination of Protein-Protein Interactions at High Co-Solvent Concentrations Using Static and Dynamic Light Scattering. *J. Pharm. Sci.*, 2020, vol. 109, no. 9, pp. 2699–2709. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2020.05.023>
- Vasil'eva I. A., Anarbaev R. O., Moor N. A., Lavrik O. I. Dynamic light scattering study of base excision DNA repair proteins and their complexes. *Biochim. Biophys. Acta (BBA) – Prot. Proteom.*, 2019, vol. 1867, no. 3, pp. 297–305. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2018.10.009>
- Fukushima K., Okada A., Sasaki K., Kishimoto S., Fukushima S., Hamori M., Nishimura A., Shibata N., Shirai T., Terauchi R., Kubo T., Sugioka N. Population Pharmacokinetic-Toxicodynamic Modeling and Simulation of Cisplatin-Induced Acute Renal Injury in Rats: Effect of Dosing Rate on Nephrotoxicity. *J. of Pharm. Sci.*, 2016, vol. 105, no. 1, pp. 324–332. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2015.10.022>
- Meyer W. V., Smart A. E., Wegdam G. H., Brown R. G. W. Photon correlation and scattering: Introduction to the feature issue. *Appl. Opt.*, 2006, vol. 45, pp. 2149–2154. <https://doi.org/10.1364/AO.45.002149>
- Mahatnirunkul T., Tomlinson D. C., McPherson M. J., Millner P. A. One-step gold nanoparticle size-shift assay using synthetic binding proteins and dynamic light scattering. *Sensors and Actuators B : Chemical*, 2022, vol. 361, article no. 131709. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2022.131709>
- Khan S. A., Degrasse J. A., Yakes B. J., Croley T. R. Rapid and sensitive detection of cholera toxin using gold nanoparticle-based simple colorimetric and dynamic light scattering assay. *Anal. Chim. Acta*, 2015, vol. 892, pp. 167–174. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.08.029>
- Miao X., Ling L., Shuai X. Sensitive detection of glucose in human serum with oligonucleotide modified gold nanoparticles by using dynamic light scattering technique. *Biosens. Bioelectron.*, 2013, vol. 41, pp. 880–883. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2012.09.015>
- Li-na M. A., Dian-jun L. I. U., Zhen-xin W. Gold nanoparticle-based dynamic light scattering assay for mercury ion detection. *Chin. J. Anal. Chem.*, 2014, vol. 42, iss. 3, pp. 332–336.
- Alami A. El., Lagarde F., Huo Q., Zheng T., Baitoul M., Daniel P. Acetylcholine and acetylcholinesterase inhibitors detection using gold nanoparticles coupled with dynamic light scattering. *Sensors Int.*, 2020, vol. 1, article no. 100007. <https://doi.org/10.1016/j.sintl.2020.100007>
- Zheng X. T., Goh W. L., Yeow P., Lane D. P., Ghadessy F. J., Tan Y. N. Ultrasensitive dynamic light scattering based nanobiosensor for rapid anticancer drug screening. *Sensor. Actuator. B Chem.*, 2019, vol. 279, pp. 79–86. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.09.088>
- Levin A. D., Ringaci A., Alenichev M. K., Drozhzhennikova E. B., Shevchenko K. G., Cherkasov V. R., Nikitin M. P., Nikitin P. I. Dynamic light scattering biosensing based on analyte-induced inhibition of nanoparticle aggregation. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2020, vol. 412, pp. 3423–3431. <https://doi.org/10.1007/s00216-020-02605-9>
- Levin A. D., Filimonov I. S., Alenichev M. K., Goidina T. A. Mathematical modeling of nanosensor systems based on dynamic light scattering. *Nano Technol. Russ.*, 2018, vol. 13, pp. 406–413. <https://doi.org/10.1134/S1995078018040092>
- Sergeeva I. A., Khitrina K. A., Krot A. R., Sukneva A. V., Petrova G. P. Investigation of the Interaction and Dynamics of Collagen and Collagenase Molecules in Solutions by Dynamic Light Scattering. *Izvestiya of Saratov University. Physics*, 2017, vol. 17, iss. 3, pp. 171–178 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1817-3020-2017-17-3-171-178>
- Witten K. G., Bretschneider J. C., Eckert T., Richter-Wing W., Simon U. Assembly of DNA-functionalized gold



- nanoparticles studied by UV/Vis-spectroscopy and dynamic light scattering. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2008, vol. 10, pp. 1870–1875. <https://doi.org/10.1039/b719762d>
22. Bhattacharjee S. DLS and zeta potential – What they are and what they are not? *J. Contr. Release*, 2016, vol. 235, pp. 337–351. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.06.017>
23. Krylova L. S., Drevko B. I., Faust E. A., Remizov E. K., Smirnova K. Yu., Drevko Ya. B., Borodina M. A., Osina T. S., Larionova O. S. Saratov State Vavilov Agrarian University. *Composition of antimicrobial peptides obtained from Musca domestica larvae and method of its preparation*. Patent RF no. RU 2714128 C1 (in Russian).
24. Van der Zande B. M. I., Dhont Jan K. G., Bohmer Marcel R., Philipse A. P. Colloidal dispersions of gold rods characterized by dynamic light scattering and electrophoresis. *Langmuir*, 2000, vol. 16, pp. 459–464. <https://doi.org/10.1021/la990043x>
25. Liu X., Huo Q. A washing-free and amplification-free one-step homogeneous assay for protein detection using gold nanoparticle probes and dynamic light scattering. *J. Immunol. Meth.*, 2009, vol. 349, pp. 38–44. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2009.07.015>
26. Khlebtsov B. N., Pylaev T. E., Khanadeev V. A., Khlebtsov N. G. Application of Dynamic Light Scattering and Absorption Spectroscopy to Studies of Systems with Colloidal Gold Nanoparticles + DNA. *Izvestiya of Saratov University. Physics*, 2017, vol. 17, iss. 3, pp. 136–149 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1817-3020-2017-17-3-136-149>

Поступила в редакцию 30.08.2022; одобрена после рецензирования 15.09.2022; принята к публикации 05.10.2022
The article was submitted 30.08.2022; approved after reviewing 15.09.2022; accepted for publication 05.10.2022