

ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ УРИДИНА НА ПАНКРЕАТИЧЕСКУЮ ФЛА₂ МЕТОДОМ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

Скоростецкая Л.А.¹, Герловский Д.О.¹, Ремеева Е.А.¹, Артемьева Ю.Н.¹,
Василевская Е.Д.², Биричевская Л.Л.³, Винтер М.А.³, Зинченко А.И.³,
Михайлопуло И.А.¹, Литвинко Н.М.¹

¹Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Беларусь, ²Белорусский государственный университет, Беларусь, ³Институт микробиологии НАН Беларуси, Беларусь

Фосфолипаза А₂ (КФ 3.1.1.4, ФЛА₂) – фермент, осуществляющий межфазный катализ. Поверхность раздела «липид—вода» играет существенную роль при выполнении фосфолипазами своей каталитической функции, как и другими липазами в отличие от большинства ферментов, осуществляющих катализ в свободном объеме [1]. Для прикрепления к межфазной поверхности фермент имеет специальный участок, топографически отличающийся от каталитического центра. В связи с этим ингибирование фермента различными агентами может осуществляться за счет взаимодействия с обоими центрами. Нами ранее обнаружено ингибирование в разной степени активности панкреатической ФЛА₂ конъюгатами фосфатидилэтаноламина с замещением аминного фрагмента на 2',3'-дидезоксицитидил и 9-[(2-гидроксиэтокси)метил]-гуанозил [2], а также установлено снижение активности ФЛА₂ под действием уридинсодержащего липонуклеотида. Цель работы – изучение действия уридина на активность ФЛА₂ для выяснения зависимости ингибиторных свойств уридинсодержащего липонуклеотида от нуклеозидной компоненты. Поверхность раздела «липид—вода» формировали в виде мицеллярной фазы фосфатидилхолина с дезоксихолатом натрия, поскольку в таком случае образуются смешанные мицеллы, в которых все молекулы субстрата максимально доступны ферменту. Для определения активности ФЛА₂ использовали дифференциальную спектроскопию. В качестве индикатора отщепления жирной кислоты, как продукта реакции, служили спектральные характеристики гемоглобина при его переходе в гемихром. Дифференциальные спектры регистрировали на спектрофотометре «Spectord UV VIS», Германия, в режиме пропускания (Т, 75-125%) в диапазоне длин волн 360-450 нм в соответствии с оптимизированной методикой. Активность фермента выражали как ΔD₄₀₅₋₄₂₃, поскольку количество отщепленной жирной кислоты при фосфолипазе пропорционально амплитуде дифференциального спектра. Показано, что активность панкреатической ФЛА₂ в присутствии уридина (0,27ОЕ) в 1,5 ниже, чем в его отсутствие (0,41ОЕ). Полученные результаты обсуждаются в свете возможного взаимодействия нуклеозидной компоненты липонуклеотидов с центром распознавания поверхности ФЛА₂ и требуют дальнейшего изучения действия этого эффектора на кинетическом уровне с использованием других надмолекулярных форм субстрата, например, липосом, как традиционной модели биологической мембраны. Работа выполнена при финансовой поддержке Национальной Академии Наук Беларуси (проект #116-12-03-2019).

Библиографические ссылки

1. Murakami, M. Novel functions of phospholipase A₂s: Overview/ M.Murakami // BBA - Molecular and Cell Biology of Lipids. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2019.02.005>.
2. Литвинко Н.М. и др. Патент ВУ №11905 Конъюгат фосфолипида с модифицированным нуклеозидом, фармацевтическая композиция и средство, повышающее устойчивость к действию панкреатической фосфолипазы. Дата опубликования 30.06.2009.