

ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ УФ-ИЗЛУЧЕНИЯ НА СВОБОДНЫЕ И ИММОБИЛИЗОВАННЫЕ НА МАТРИЦЕ ХИТОЗАНА ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТЫ

Панкова С.М., Нехаев И.С., Дьяченко П.А., Холявка М.Г., Артюхов В.Г.

Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

Защита от негативных эффектов ультрафиолетового излучения является значимой проблемой современной медицины. Накоплены сведения о влиянии УФ-лучей на различные структуры кожи, изучены механизмы развития дерматозов, чувствительных к ультрафиолетовому облучению. В связи с этим исследование веществ, обладающих фотопротекторными свойствами, весьма актуально. В качестве такого агента могут выступать хитозаны и их производные. Целью экспериментов было изучение влияния ультрафиолетового излучения на фотомодуляцию ферментативной активности протеаз, как свободных, так и иммобилизованных на матрице хитозана.

В качестве объектов исследования были выбраны трипсин быка фирмы “MP biomedical”, коллагеназа, фицин, папаин, бромелин фирмы «Sigma-Aldrich», субстратом для гидролиза служил бычий сывороточный альбумин (БСА) фирмы «Sigma-Aldrich», носителями для иммобилизации – два вида хитозана, синтезированных ЗАО «Биопрогресс»: пищевой хитозан и сукцинат хитозана. Иммобилизацию протеаз осуществляли адсорбционным методом [1]. Определение количества белка в препаратах и их активности проводили модифицированным методом Лоури [1]. УФ-облучение растворов свободных и иммобилизованных протеаз проводили с помощью ртутно-кварцевой лампы типа ДРТ-400 через светофильтр УФС-1 с полосой пропускания 240–390 нм. Дозы облучения составляли: 151, 453, 755, 1510, 3020, 4530 и 6040 Дж/м². Статистическую обработку полученных результатов проводили с применением *t*-критерия Стьюдента при $p < 0.05$.

В результате проведенного исследования было выявлено, что каталитическая активность молекул свободных ферментов под воздействием УФ-света подвержена изменению в большей степени, чем в иммобилизованном состоянии. Инактивация свободных протеаз происходит при использовании доз 1510 и 3020 Дж/м², активность трипсина и папаина снижается на 30%, фицина – на 10%, наиболее устойчивыми к действию УФ-излучения оказались бромелин и коллагеназа их каталитическая способность снижается на 8 и 3% соответственно. Таким образом, по степени fotocувствительности протеазы можно расположить в следующий ряд: коллагеназа → бромелин → фицин → папаин → трипсин. При действии УФ-излучения на иммобилизованные препараты ферментов снижение активности зарегистрировано при использовании доз облучения 4530 и 6040 Дж/м². Следовательно, иммобилизация на матрице хитозана приводит к повышению стабильности гетерогенных биокатализаторов по отношению к действию УФ-света по сравнению со свободными энзимами. Наше исследование свидетельствует о фотопротекторном эффекте матрицы хитозана, который может быть обусловлен следующими причинами: молекулы ферментов при взаимодействии с матрицей хитозана образуют фоторезистентные комплексы; молекулы хитозана экранируют активные фотопродукты свободнорадикальной природы, предотвращая фотоокисление определенного числа аминокислот изученных ферментов при воздействии УФ-облучения.

Библиографические ссылки

1. Логинова О.О., Холявка М.Г., Артюхов В.Г., Беленова А.С. Разработка методики получения гетерогенного биокатализатора на основе трипсина // *Фундамент. исслед.* 2013. Т. 11 (часть 3). С. 484–487.