

ВЛИЯНИЕ УФ-ИЗЛУЧЕНИЯ В ПРИСУТСТВИИ МЕТИЛЕНОВОГО СИНЕГО НА ПРОЦЕССЫ ФОТОМОДУЛЯЦИИ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ПАПАИНА, ФИЦИНА, БРОМЕЛИНА, СВОБОДНЫХ И ИММОБИЛИЗОВАННЫХ НА МАТРИЦЕ ХИТОЗАНА

М.Г. Холявка¹, С.М. Панкова^{1,2}, С.С. Ольшанникова¹, В.А. Королева^{1,2}, В.Г. Артюхов¹

¹ ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», г. Воронеж, Россия

² ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко», г. 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. Существуют вещества, характеризующиеся фотосенсибилизирующей активностью, например, метиленовый синий. В связи с этим исследование веществ, обладающих фотопротекторными свойствами, весьма актуально. В качестве такого агента могут выступать хитозаны и их производные. Целью нашего исследования было изучение влияния ультрафиолетового излучения в присутствии фотосенсибилизатора на фотомодуляцию ферментативной активности цистеиновых протеаз, как свободных, так и иммобилизованных на матрице хитозана. В качестве объектов исследования были выбраны фицин, папаин, бромелин фирмы «Sigma-Aldrich», субстратом для гидролиза служил бычий сывороточный альбумин (БСА) фирмы «Sigma-Aldrich», носителями для иммобилизации – два вида хитозана с молекулярными массами 200 и 350 кДа, синтезированных ЗАО «Биопрогресс». Иммобилизацию протеаз осуществляли адсорбционным методом. Определение количества белка в препаратах и их активности проводили модифицированным методом Лоури [1]. Растворы метиленового синего использовали в трех концентрациях 10^{-4} , 5×10^{-5} , 10^{-5} моль/л. 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 [2]. Установлено, что по степени фоточувствительности цистеиновые протеазы можно расположить в следующий ряд: бромелин → фицин → папаин. Иммобилизация на матрице хитозана приводит к повышению стабильности гетерогенных биокатализаторов по отношению к УФ-облучению по сравнению со свободными энзимами. Иммобилизованные цистеиновые протеазы, облученные без добавления красителя в диапазоне доз 151–6040 Дж/м², сохраняют свою каталитическую способность до 90 %, свободные – до 60 %. При облучении в присутствии метиленового синего иммобилизованные ферментные препараты сохраняют свою активность до 80 %, в то время как свободные – до 30 %. Таким образом, матрица хитозана в присутствии фотосенсибилизатора (метиленового синего) проявляет фотопротекторные свойства, способствующие сохранению каталитической способности энзимов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 21–74–20053.

Литература

1. Логинова О.О. и др. Подбор методики количественного определения трипсина, иммобилизованного на матрице хитозана, и его каталитической активности. // Вестник ВГУ. Серия: «Химия. Биология. Фармация». 2013. № 2. С. 116–119.
2. Холявка М.Г., Артюхов В.Г., Сазыкина С.М. Исследование процессов УФ-модификации свободного и иммобилизованного трипсина // Радиационная биология. Радиоэкология. 2017. Т. 57. № 1. С. 66–70.