

УДК 577.15

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ ДЕСОРБЦИИ ЦИСТЕИНОВЫХ ПРОТЕАЗ С МАТРИЦЫ ХИТОЗАНА**В.А. Королева¹, М.Г. Холявка², В.Г. Артюхов²**¹ Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко МЗ РФ, Воронеж, Россия² Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

Результаты современной биотехнологии активно используются в медицинской практике. Протеолитические ферменты являются достаточно перспективными в данном направлении. На их основе производятся препараты для заживления ран и пролежней, для лечения желудочно-кишечных заболеваний, в качестве альтернативы антибиотикам. Фицин (КФ 3.4.22.3), папаин (КФ 3.4.22.2) и бромелин (КФ 3.4.22.32) являются тиолсодержащими протеазами растительного происхождения. Известно, что нативные ферменты быстро инактивируются различными факторами, минимизации действия которых способствует иммобилизация энзимов на нерастворимых носителях. Хитозан является подходящей матрицей для адсорбции биокатализаторов и сам обладает различными клиническими свойствами. Иммобилизация может осуществляться различными способами, например, ковалентными или физическими методами. Адсорбция относится к физическим методам иммобилизации. При использовании данного способа возможна контролируемая десорбция энзима с матрицы полисахарида, что позволяет создавать препараты с пролонгированным действием.

Цель работы – исследование процессов десорбции фицина, папаина и бромелина с матрицы хитозана.

В качестве объектов исследования использовали фицин, папаин и бромелин (Sigma-Aldrich). В качестве носителя применяли кислоторастворимый средномолекулярный хитозан ($M_r = 200$ кДа) (ЗАО «Биопрогресс»). Иммобилизацию ферментов на хитозане осуществляли методом простой адсорбции. Десорбцию биокатализаторов проводили в течение 48 часов (в 0,05 М трис-НСl буфере с рН 7,5 и 0,9 % NaCl) с последующим измерением содержания белка в растворе методом Лоури.

Десорбция фицина с матрицы хитозана в 50 мМ трис-НСl буфере (рН 7,5) после 48 часов инкубации не превышала 21 %. Напротив, в физиологическом растворе (0,9 % NaCl) 78 % белка диссоциировало в раствор в течение 2 суток.

При экспозиции иммобилизованного на хитозане папаина в течение 2 суток в 50 мМ трис-НСl буфере (рН 7,5) в раствор высвобождается 50 % энзима, в то время как при использовании 0,9 % NaCl в среде детектируется 70 % папаина.

При исследовании десорбции бромелина с хитозана в 50 мМ трис-НСl буфере (рН 7,5) наблюдалась диссоциация 24 % белка после 48 часов инкубации, а в условиях физиологического раствора – 80 %.

Таким образом, иммобилизованные на матрице хитозана ферментные препараты можно использовать в качестве лекарственных средств с пролонгируемым действием за счет контролируемой десорбции сорбата с поверхности сорбента.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 16–34–01141 конкурса РФФИ мол_а.