

ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ УФ- И γ -ИЗЛУЧЕНИЯ НА НАТИВНЫЕ И ИММОБИЛИЗОВАННЫЕ ГИДРОЛАЗЫ

Ковалева Т.А., Холявка М.Г., Беленова А.С., Макарова Е.Л.

Воронежский государственный университет, Россия, E-MAIL: Tamara_Kovaleva@inbox.ru

В настоящее время недостаточно изучено воздействие УФ- и γ -излучения на физико-химические свойства иммобилизованных ферментов, хотя разрешение этих вопросов необходимо для промышленного применения биокатализаторов гетерогенного типа. Поэтому мы исследовали влияние УФ- и γ -излучения на каталитические свойства нативной и иммобилизованной на ионите АВ-17-2П инулиназы.

Показано, что зависимость каталитической активности свободной и иммобилизованной инулиназы от дозы γ -излучения носит экспоненциальный характер. При дозах от 40 до 120 Гр процессы инактивации свободного и иммобилизованного ферментов не отличались. При увеличении дозы до 160 Гр энзим, связанный с матрицей носителя, сохранял 20 % первоначальной каталитической способности. Нативная инулиназа при облучении в дозах 140 – 160 Гр полностью инактивировалась.

Известно, что при воздействии ионизирующей радиации белки претерпевают ряд превращений: конформационные модификации, не связанные с изменением молекулярной массы, но отражающиеся на физико-химических и каталитических свойствах ферментов; образование сшивок и агрегация молекул; деструкция макромолекулы с разрывом пептидных связей; химические превращения функциональных групп активного центра. Все эти нарушения тесно взаимосвязаны и сопровождаются денатурацией белковой молекулы.

Эксперименты свидетельствуют о том, что для инактивации как свободного, так и иммобилизованного фермента достаточно единичной ионизации, т.е. воздействия на него одной ионизирующей частицы или одного свободного радикала. Возможной причиной инактивации инулиназы является разворачивание молекулы вследствие разрушения -S-S- связей и модификации SH-групп, входящих в состав активного центра фермента.

Процесс инактивации нативной и иммобилизованной инулиназы при воздействии УФ-света описывается экспоненциальной зависимостью. Частичную потерю каталитической активности у свободного фермента мы наблюдали уже при облучении дозами 75,5-453 Дж/м², при дальнейшем увеличении дозы каталитическая способность инулиназы полностью исчезает. При действии ультрафиолета в дозах 906-1812 Дж/м², вероятно, происходит фотолиз аминокислотных остатков из микроокружения активного центра и участков полипептида, образующих гидрофобное ядро, что может приводить к нарушению глобулярной структуры.

При воздействии УФ-излучения в дозе 906 Дж/м² адсорбционно связанный фермент имеет остаточную активность 20 %, при ковалентной иммобилизации сохраняется более 40 % активности свободного фермента. Таким образом, иммобилизация на АВ-17-2П оказывает значительное влияние на устойчивость инулиназы к УФ излучению, что обусловлено повышением жесткости третичной структуры энзима при связывании его ионитом, а также влиянием матрицы на диффузию свободно-радикальных продуктов, возникающих при воздействии исследованных излучений на белковые образцы.

RESEARCH OF THE INFLUENCE OF UV AND γ -RADIATIONS ON THE NATIVE AND IMMOBILIZED HYDROLASES

Kovaleva T.A., Holyavka M.G., Belenova A.S., Makarova E.L.

Voronezh State University, Russia, Tamara_Kovaleva@inbox.ru

Stability of the inulinase in relation to UV and γ -radiations has been shown to increase with the immobilization of ion exchange AV-17-2P. The character of binding with the matrix affects greatly the stability of immobilized enzyme to this factors.