

**Секция «Биоинженерия и биоинформатика»**

**ИССЛЕДОВАНИЕ ИММОБИЛИЗАЦИИ ПРОТЕАЗЫ С *Acetomonium chrysogenum* В БИОГЕЛЬ «ЛАМИДАН»**

*Декина Светлана Сергеевна*

*Кандидат наук*

*Физико-химический институт им. А.В. Богатского НАН Украины, отдел*

*медицинской химии, Одесса, Украина*

*E-mail: s.dekina@gmail.com*

Задача создания перевязочных материалов, обладающих пролонгированным комплексным биологическим действием, эффективность применения которых обусловлена их высокой сорбционной способностью, эластичностью, драпируемостью, воздухопроницаемостью, является актуальной. На основе природного биогеля «Ламидан» из *Laminaria japonica Aresch*, в состав которого входят альгинат натрия, микроэлементы, аминокислоты, фукоксантин, органический йод, селен, кальций, магний, железо, цинк, витамины (А, В, С, D, Е, К, РР и др.), обладающего профилактическими и лечебными свойствами, разработано текстильное раневое покрытие с иммобилизованным ферментным препаратом протеазой С из *Acetomonium chrysogenum 291-1* с протеолитической активностью по N- $\alpha$ -бензоил-D,L-аргинин-n-нитроанилида гидрохлориду 473 ед/г.

Учитывая гетерогенность используемого в работе фермента, представляло интерес изучить его белково-фракционный состав методом SDS-электрофореза в 10 % ПААГ. В электрофоретическом спектре протеазы идентифицируются тринадцать белковых фракций в диапазоне молекулярных масс до 43 кДа. Молекулярные массы основных белков 10 – 16 кДа (49,42 %), 18 – 20 кДа (20,03 %) и 24 – 43 кДа (30,59 %).

Методом нативного электрофореза в 10 % ПААГ в системе Орнштейна и Дэвиса показано, что 65 % белка препарата обладает протеолитической активностью. Протеаза С представляет собой гетерогенную смесь белков как кислой, так и основной природы, что объясняет высокое сохранение активности при иммобилизации в обладающий высокой ионной силой «Ламидан».

Исследование реологических свойств растворов альгината натрия с протеазой С показало уменьшение вязкости полимера на 10-12 % при добавлении фермента, что может свидетельствовать об образовании белкового ассоциата за счет ионных взаимодействий и происходящей при этом компактизации молекул.

Получены эластичные текстильные покрытия площадью 36 см<sup>2</sup>, толщиной 0,35 мм с содержанием фермента 40 мг/г препарата, отличающиеся количественным включением фермента и 100 % сохранением протеолитической активности на протяжении 1,5 лет хранения (0 - 4 °С).

Исследование свойств иммобилизованного препарата показало сохранение основных физико-химических свойств фермента, а именно, рН-оптимума (8,0), термооптимума (50 °С). Отмечено увеличение рН-стабильности фермента в условиях раневого содержимого при рН 5,5, тогда как свободная протеаза С в этих условиях практически не функционирует.

При сравнении констант термоинактивации свободной и иммобилизованной протеазы С, рассчитанных по тангенсу угла наклона прямой графика зависимости натураль-

ного логарифма величин остаточной активности препаратов от времени, установлено, что иммобилизованный фермент более устойчив к действию высоких температур, чем его свободная форма ( $0,176 \text{ мин}^{-1}$  и  $0,209 \text{ мин}^{-1}$ , соответственно).

Полученная иммобилизованная протеаза С - препарат пролонгированного действия, сохраняющий высокую протеолитическую активность на протяжении длительного времени (24 ч).