**Влияние ультразвука и гамма-излучения на ферментативные и коллоидные свойства щелочной фосфатазы**

***Михайлов Г.С., Саранцев А.В.***

*Аспирант, 1 год обучения.*

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,*

*химический факультет, Москва, Россия*

*E-mail: georgii.mikhailov@chemistry.msu.ru*

Ультразвук (УЗ) и ионизирующее излучение могут оказывать негативные воздействия на биологические объекты, и результат такого воздействия зависит от многих факторов. Особенно трудно предсказать последствия в случае их комбинированного действия, так как может наблюдаться неаддитивность эффектов. Щелочная фосфатаза (ЩФ) представляет собой распространенный фермент, характерный для многих живых организмов, при этом имеющий минимальные мутации в области активного центра, что делает её удобным объектом для оценки эффектов и постэффектов внешних воздействий и их комбинаций. Целью данной работы является определить последствия комбинированного воздействия γ-излучения и УЗ на ЩФ кишки теленка.

Исследована инактивация ЩФ γ-излучением и УЗ в индивидуальном и комбинированном варианте. Комбинированное действие осуществляли на линейном участке зависимости ферментативная активность – время: 30 мин УЗ (2 параллельных излучателя частотой 0.88 и 2.64 МГц, интенсивность 2 Вт/см2), 120 мин γ‑излучения (равномерно установленные вокруг образца источники 137Cs, мощность дозы 1.7 Гр/мин). Обнаружено различие в снижении ферментативной активности для разных последовательностей воздействия: для последовательности УЗ→γ снижение ферментативной активности было на 17% больше, чем при аддитивном сложении эффектов; тогда как при γ→УЗ наблюдался субаддитивный эффект величиной 19%. При этом с помощью метода кругового дихроизма не обнаружили значительных изменений вторичной структуры белка ни при одной комбинации воздействий.

Для определения, меняются ли коллоидные свойства ЩФ, использовали метод сцинтиллирующей фазы. Для этого в фермент ввели тритиевую метку с помощью метода термической активации трития. [3H]ЩФ очистили диализом против воды и экстракцией толуолом. Был получен меченный тритием препарат ЩФ с удельной радиоактивностью 0.44 мКи/мг. Было показано, что меченый препарат обладал практически такой же ферментативной активностью, как и исходный.

С помощью метода сцинтиллирующей фазы было найдено, что изотерма адсорбции ЩФ на границе раздела фаз в системе толуол-вода может быть описана уравнением, аналогичным уравнению Ленгмюра. Адсорбция в области насыщения достигала величины 3.2 ± 0.3 мг/м2., а коэффициент распределения составил (6.9 ± 0.2) ∙ 10-3. Было найдено, что воздействие УЗ приводило к уменьшению коэффициента распределения фермента между фазами на 25% При γ-облучении наблюдалось увеличение предельной адсорбции на 47%. При комбинированном воздействии происходило увеличение коэффициента распределения на 17%, но изменение адсорбции, по-видимому, связано только действием γ-излучения, так как достигало схожей величины. Были проведены также тензиометрические измерения межфазного натяжения системы водный раствор ЩФ-толуол методом висящей капли. При всех комбинациях воздействия наблюдали возрастание двумерного давления в системе.

Таким образом, в результате индивидуальных и комбинированных воздействий γ-излучения и УЗ обнаружено снижение ферментативной активности ЩФ, причем комбинированное воздействие не обладало свойством аддитивности. Изменение гидрофобных и поверхностно-активных свойств ЩФ происходило по-разному в условиях УЗ и γ-излучения, что открывает перспективы в целенаправленном регулировании этих свойств подбором условий обработки.