

Оценка действия отдельных классов токсических веществ на активность трипсина

Научный руководитель – Есимбекова Елена Николаевна

Анташкевич Анна Андреевна

Студент (магистр)

Сибирский федеральный университет, Институт фундаментальной биологии и биотехнологии, Кафедра биофизики, Красноярск, Россия

E-mail: anneantand@gmail.com

В настоящее время более 159 миллионов веществ внесены в Химическую реферативную службу (Chemical Abstract Service, CAS), причем этот список ежедневно обновляется. Поэтому, крайне важным в настоящее время является поиск аналитических систем, пригодных как для экспрессной оценки токсичности новых веществ, так и контроля состояния окружающей среды. Высокой чувствительностью к действию различных классов токсических веществ обладают ферментативные системы [1]. Это позволяет использовать их в качестве основы метода обнаружения загрязнителей в окружающей среде [2]. Протеолитический фермент трипсин потенциально может быть использован для оценки безопасности сред, загрязненных токсичными веществами, а также для анализа безопасности новых материалов и веществ. Целью работы является оценка возможности применения трипсина в качестве маркера загрязнения окружающей среды токсическими веществами разных классов. В работе были определены закономерности действия тяжелых металлов, пестицидов и хинонов на активность трипсина, а также подобраны условия проведения анализа, обеспечивающие максимальную чувствительность трипсина к выбранным классам веществ.

Анализ активности трипсина в присутствии и отсутствие (контроль) токсикантов проводили спектрофотометрическим методом по скорости гидролиза трипсином своего субстрата БАЭЭ (α -N-бензоил-L-аргинин этиловый эфир), вычисленной путем регистрации изменений оптической плотности исследуемой пробы во времени при длине волны 253 нм. Критерием воздействия исследуемой пробы на активность фермента считали ингибирование скорости гидролиза БАЭЭ в присутствии токсикантов на 20% и более по сравнению с активностью фермента в контрольной пробе.

Показано, что ингибирующий эффект на активность трипсина увеличивается в ряду $As < Ni < \text{толухинон} < \text{метрибузин} < \text{феноксапроп-П-этил} < Cu < 1,4\text{-бензохинон} < \text{сорбат калия}$. В присутствии Mn и Cr наблюдается стимулирующий эффект: активность трипсина увеличивается на 38%. Модификация методики анализа путем введения дополнительной процедуры инкубации фермента в анализируемом растворе и уменьшения количества трипсина до 5,53 mU позволило увеличить чувствительность метода к действию Mn, Cu, Cr, Ni, As, пестицидов метрибузина и феноксопроп-П-этила, бензо- и толухинона. Таким образом, трипсин может быть использован в качестве маркера загрязнения окружающей среды токсическими веществами, но разработанная методика имеет ограничения к использованию.

Источники и литература

- 1) Amine A., Arduini F., Moscone D., Palleschi G. Recent advances in biosensors based on enzyme inhibition // Biosens. Bioelectron. 2016. Vol. 76. P. 180–194.
- 2) Van Dyk J. S., Pletschke B. Review on the use of enzymes for the detection of organochlorine, organophosphate and carbamate pesticides in the environment // Chemosphere. 2011. Vol. 82. I. 3. P. 291–307.