

КИНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИИ, КАТАЛИЗИРУЕМОЙ БУТИРИЛХОЛИЭСТЕРАЗАМИ, В ЗОЛЕ КРАХМАЛА

Научный руководитель – Лоншакова-Мукина Виктория Ивановна

Громова Алёна Алексеевна

Студент (магистр)

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

E-mail: alena-molnaya@mail.ru

Ферментативные процессы *in vitro* могут существенно отличаться от происходящих в живых клетках. Поэтому в исследованиях разработки биосенсоров и оптимизации условий ферментативных реакций в тест-системах применяются полимеры [2], такие как крахмал, способные образовывать коллоидные растворы и гелеобразные структуры, позволяющие имитировать условия, характерные для внутриклеточной среды клеток. Однако при использовании растворов крахмала возможны изменения активности фермента в результате взаимодействия белковой молекулы с веществом, формирующим среду. В данном исследовании проводится оценка влияния среды зелей крахмала на протекания реакций, катализируемых BChE, с помощью определения кинетических констант реакции и механизма ингибирования гидролиза субстрата BChE лошади в данных средах.

В работе использовали лиофилизированную BChE из лошадиной сыворотки (eBChE) и плазмы крови человека (hBChE), представленные в виде димера и тетрамера соответственно. Активность ферментов в растворах крахмала (0-9 мас.%) определяли по методу Элмана [1] на спектрофотометре UV-2600 («Shimadzu», Япония) при 25 °C. В качестве субстрата использовали S-бутирилтиохоллин йодид (S-BCh-I) с концентрациями [S] 5,6 – 5600 мкМ. Кинетические константы рассчитывались с помощью регрессионного анализа в Sigma Plot 11.0.

Максимальная скорость реакции, катализируемой eBChE в присутствии крахмала, не изменялась. Однако, константа Михаэлиса увеличивалась в 3,6 раз, что говорит об уменьшении сродства к субстрату. Максимальная скорость же реакции, катализируемой hBChE, в присутствии 3 мас.% крахмала снижалась в 13 раз, а константа Михаэлиса в 7 раз.

Показано, что в условиях ингибирования максимальная скорость реакции и константа Михаэлиса повышаются в зелях крахмала. В исследуемых условиях вне зависимости от ингибитора наблюдается смешанный тип ингибирования.

Дополнительные исследования зависимости скорости гидролиза S-BCh-I от вязкости модельных растворов глицерина и сахарозы доказало отсутствие диффузионного контроля в реакции, катализируемой бутирилхолинэстеразами. Таким образом, различия в кинетических параметрах реакций этих ферментов могут быть связаны с взаимодействием полисахаридов с молекулами фермента. Тип и количество этих взаимодействий, вероятно, зависят от четвертичной структуры белков.

Источники и литература

- 1) Ellman G.L. (1961) A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity / G. L. Ellman, K. D. Courtney, V. Andres, R. M. Featherstone // Biochem. Pharmacol., 7, 88-95.
- 2) Esimbekova, E.N.; Torgashina, I.G.; Nemtseva, E.V.; Kratasyuk, V.A. (2023) Enzymes Immobilized into Starch- and Gelatin-Based Hydrogels: Properties and Application in Inhibition Assay // Micromachines, 14, 2217.