

Клочко Л.В., кандидат химических наук, доцент

Вахитова В.Б., магистрант

Костанайский государственный университет им. А. Байтурсынова

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ МОДИФИКАТОРОВ НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТА

Исследование влияния разнообразных химических соединений на активность ферментов необходимо для более эффективного проведения производственных процессов. Анализ характера действия модификаторов на активность ферментов является одним из методов изучения механизмов ферментативного катализа [1].

Цель данной работы – изучение влияния модификаторов на процесс гидролитического расщепления крахмала амилазой лекарственного препарата мезим.

В процессе работы предстояло решить задачи: определить зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата; исследовать влияние электролитов на уровень активности амилазы; установить тип ингибирования; предложить метод реактивации ингибированного фермента.

Исследование влияния электролитов на активность амилазы проводилось по методу Вольгемута [2]. Метод основан на выявлении предельного разбавления раствора амилазы, при котором еще происходит в стандартных условиях расщепление определенного количества крахмала до ахродекстрина. Методом Вольгемута определены амилазные числа. Сравнивая величину амилазного числа фермента контрольной пробы со значениями амилазных чисел фермента с исследуемыми модификаторами, определили, что хлорид натрия является активатором амилазы, а сульфат меди – ингибитором (Таблица 1).

Таблица 1. Амилазные числа фермента амилазы препарата мезим

Контрольная проба	В присутствии 0,05% NaCl	В присутствии 0,05% CuSO ₄
256	2048	4

Кинетика ферментативного гидролиза крахмала изучалась по влиянию концентрации субстрата на скорость реакции без модификаторов и в их присутствии. Активность фермента определялась по времени образования промежуточного продукта гидролиза крахмала – ахродекстрина. Условную скорость реакции рассчитывали как величину обратную продолжительности гидролиза. График зависимости скорости реакции от концентрации субстрата в присутствии модификаторов и без них представлен на рисунке 1.

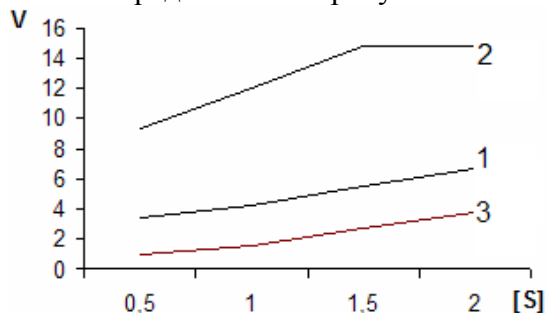


Рисунок 1. Влияние модификаторов на активность амилазы

- 1 – без модификаторов
- 2 – в присутствии 0,01% NaCl
- 3 – в присутствии 0,01% CuSO₄

Как видно из рисунка увеличение скорости реакции наблюдается при добавлении хлорида натрия, а уменьшение – при добавлении сульфата меди.

В случае контрольной пробы без модификаторов и в присутствии ингибитора скорость реакции прямо пропорциональна концентрации реагирующего соединения. Такой вид кинетических прямых характерен для реакций первого порядка.

В присутствии активатора график зависимости скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата состоит из двух участков. Скорость ферментативной реакции прямолинейно возрастает с увеличением концентрации субстрата до определенного значения (максимальная скорость). Максимальная скорость реакции достигается при насыщении активных центров субстратом. После достижения максимальной скорости скорость ферментативного гидролиза крахмала не зависит от концентрации. Это позволяет сделать вывод, что в интервале высоких концентраций субстрата ферментативная реакция протекает как реакция нулевого порядка. Увеличение скорости исследуемого процесса в присутствии активатора и достижение максимальной скорости при более низких концентрациях субстрата по сравнению с контрольной пробой и пробой с сульфатом меди можно объяснить предположениями: активатор стабилизирует конформацию ферментного белка, усиливая проявление его каталитических функций; происходит увеличение числа оборотов фермента.

С увеличением концентрации хлорида натрия в реакционной смеси скорость расщепления крахмала возрастает (Рисунок 2).

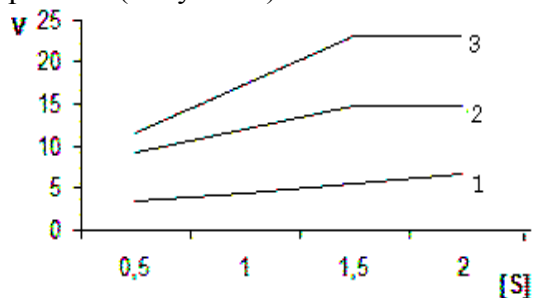


Рисунок 2. Зависимость скорости гидролиза крахмала амилазой от концентрации субстрата и активатора
1 – без активатора
2 – в присутствии 0,01% NaCl
3 – в присутствии 0,05% NaCl

С увеличением концентрации сульфата меди в реакционной смеси

скорость ферментативного гидролиза крахмала уменьшается (Рисунок 3).

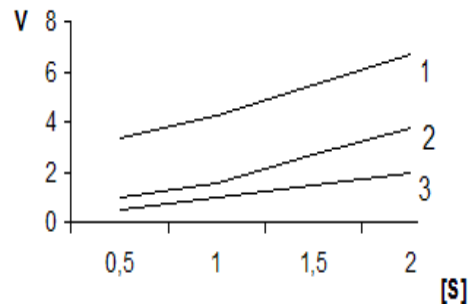


Рисунок 3. Инактивация амилазы сульфатом меди различной концентрации

- 1 – без ингибитора
2 – в присутствии 0,01% CuSO₄
3 – в присутствии 0,05% CuSO₄

На основании данных по исследованию влияния концентрации субстрата на скорость ферментативного гидролиза крахмала без ингибитора и в присутствии ингибитора построен график для определения ключевого кинетического потенциала – константы Михаэлиса – график Лайнуивера-Берка (график обратных величин). Характер ингибирования может быть выяснен с помощью этого графика [3]. На графике прямые пересекаются на оси ординат в одной точке, а на оси абсцисс точки пересечения прямых разные. Это означает, что величина константы Михаэлиса меняется с изменением концентрации ингибитора в реакционной смеси, а максимальная скорость реакции остается постоянной. Такая последовательность изменения величин характерна для конкурентного механизма ингибирования [4]. По-видимому, конкурентный ингибитор уменьшает скорость реакции путем снижения относительного количества фермента, связанного в комплекс с субстратом.

Снять действие ингибитора можно реактиваторами [5]. В качестве реактиватора использовали серосодержащую аминокислоту цистеин. Результаты кинетических исследований с реактиватором представлены на рисунке 4.

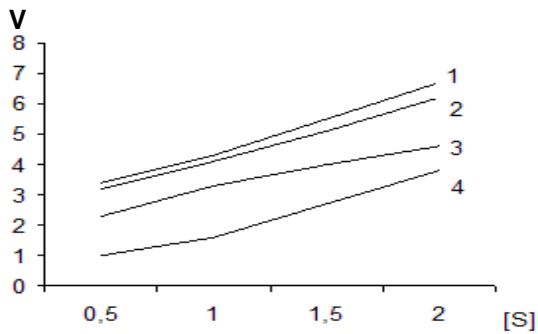


Рисунок 4. Реактивация цистеином ингибированной амилазы

- 1 – без ингибитора
 2 – 0,01% CuSO₄ + 0,003 г реактиватора
 3 – 0,01% CuSO₄ + 0,001 г реактиватора
 4 – в присутствии 0,01% CuSO₄

Как видно из рисунка цистеин восстанавливает активность ингибированного сульфатом меди фермента.

ВЫВОДЫ

1. Определена активность фермента класса гидролаз амилазы по величине амилазного числа.
2. Установлено модифицирующее влияние электролитов на активность фермента путем кинетических исследований.
3. Определен характер действия ингибитора.

Луцкая Г.М., магистрант

Костанайский государственный педагогический институт

4. Предложен метод реактивации ингибированного фермента.

ЛИТЕРАТУРА

1. Берхард С. Структура и функции ферментов. – М.: Мир, 1971.
2. Филиппович Ю.Б., Егорова Т.А., Севастьянова Г.А. Практикум по общей биохимии. – М.: Просвещение, 1975.
3. Строев Е. А. Биологическая химия. – М.: Высшая школа, 1986.
4. Уайт А., Хендлер Ф., Хиал Р., Леман И. Основы биохимии. – М.: Мир, 1981.
5. Мосолов В.В. Протеолитические ферменты. – М.: Наука, 1976.

Түйіндеме

Кинетикалық зерттеу әдісімен ферменттердің активтілігіне электролиттердің модификациялық әсері қарастырылған. Ингибиленген ферментті реактивациялау әдісі ұсынылған.

Conclusion

Modifying effect of electrolytes on pherment activity by means of kinetic research is studied. Method of reactivation of poisoning pherment is suggested.

О НЕПРИВОДИМЫХ ПРЕДСТАВЛЕНИЯХ АЛГЕБРЫ ЛИ $sl(2, F)$

Начало создания теории алгебр Ли относится к концу XIX в. Оно связано с именами таких математиков как Софус Ли, Картан, Киллинг и др.

В настоящее время изучение алгебры Ли достаточно хорошо продвинулось. Имеется множество источников, наиболее популярные - [1]-[4], и это далеко не весь список. Этот раздел математики продолжает бурно развиваться. Ведущую роль в алгебрах Ли играют полупростые алгебры, они полезны не только для определенных разделов математики, но и физики. Особое внимание в статье уделяется неприводимым представлениям. Они в

алгебре Ли занимают практически такое же место как и простые числа в теории чисел.

Статья посвящена изучению полупростых алгебр Ли, а именно представлению $sl(2, F)$.

В пункте 2 проверено, что

- соответствующие формулы из леммы 2 определяют неприводимое представление алгебры $sl(2, F)$; (Предложение 1)
- подпространство однородных многочленов степени m с соответствующим базисом инвариантно при действии алгебры