



УДК 577.152.344.042

ВЛИЯНИЕ СОПОЛИМЕРА N-ВИНИЛПИРРОЛИДОНА С
N,N,N,N-ТРИЭТИЛМЕТАКРИЛОИЛОКСИЭТИЛАММОНИЙИОДИДОМ
И ЕГО КОМПЛЕКСОВ С ДОДЕЦИЛСУЛЬФАТОМ НАТРИЯ
НА АКТИВНОСТЬ ТРИПСИНА

Копейкин В. В., Афанаскина Н. А.

Институт высокомолекулярных соединений Академии наук СССР, Ленинград

Обнаружено существенное изменение каталитической активности трипсина при гидролизе неспецифических сложноэфирных субстратов (*n*-нитрофенилацетата (S_1) и сополимера N-(2-гидроксипропил)метакриламида с *n*-нитрофениловым эфиром N-метакрилоилглицилфенилаланина (S_2)) в присутствии катионного полиэлектролита — сополимера N-винилпирролидона с N,N,N,N-триэтилметакрилоилоксиэтиламмониййодидом (I) — и его комплексов с SDS. Под действием реагента (I) гидролиз S_1 активируется по бесконкурентному типу, а S_2 — по смешанному. SDS является конкурентным ингибитором фермента ($K_i = 2,13 \cdot 10^{-4}$ М). При совместном действии SDS и (I) на трипсин наблюдается либо ингибирование фермента, либо его активация, причем эффект зависит от соотношения концентраций SDS и реагента (I) (в расчете на мономерное звено).

Катионные полиэлектролиты (КПЭ) на основе четвертичных аммониевых солей аминоалкилметакрилатов [1—3] и их комплексы с анионными ПАВ [4] эффективны как антимикробные вещества.

Известно, что как КПЭ [1—3, 5], так и анионные ПАВ, в частности додецилсульфат натрия [6—8], ингибируют некоторые бактериальные ферменты. Они могут влиять и на функционирование ферментов высших организмов. При этом КПЭ [5, 9—11] и SDS [12—15], как правило, являются ингибиторами, хотя известны также и случаи активации ферментов этими реагентами [16—20], причем активирующее действие SDS отмечено в основном в отношении ферментов, ассоциированных с мембранными структурами или другими биополимерами [18—20].

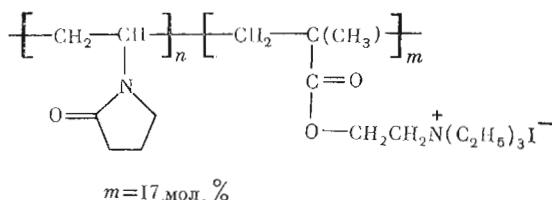
В биологических системах ферменты существуют преимущественно в иммобилизованном на субклеточных структурах состоянии [21], и их свойства отличаются от свойств изолированных ферментов. В связи с этим КПЭ можно рассматривать как модели катионных биополимеров, связывание с которыми может приводить к изменению свойств ферментов. Это подтверждается тем, что КПЭ, образуя электростатические комплексы с ферментами, сдвигают pH-оптимум активности ферментов в область более низких значений pH [5, 16], повышают стабильность ферментов к тепловой денатурации [5, 9] и химической инактивации [9, 10].

В свою очередь комплексы ферментов с КПЭ могут рассматриваться как модельные системы, позволяющие понять механизм регулирующего действия некоторых анионных ПАВ (например, желчных кислот [15] и SDS [18—20]) на активность мембраносвязанных ферментов.

Целью данной работы было выяснение влияния одного из катионных полиэлектролитов, сополимера N-винилпирролидона с N,N,N,N-триэтилметакрилоилоксиэтиламмониййодидом (I) и его комплексов с SDS, на активность пищеварительного фермента трипсина, который, хоть и является внеклеточным ферментом, тем не менее локализуется в организме животных на щеточной кайме энтероцитов [22]. В связи с этим в задачи

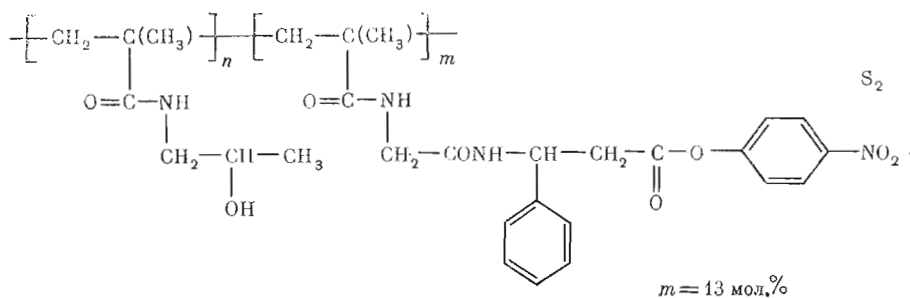
Сокращения: КПЭ — катионные полиэлектролиты, ПАВ — поверхностно-активные вещества, SDS — додецилсульфат натрия, ПЭК — полиэлектролитные комплексы.

исследования входило выяснение влияния КПЭ на кинетические свойства изолированного фермента при гидролизе субстратов различной природы и оценка влияния полиэлектролитных комплексов (I) — SDS различного состава на триптический гидролиз низкомолекулярного субстрата.



(I)

В качестве модельных субстратов для трипсина использовали *n*-нитрофенилацетат (S_1) и его полимерный аналог (S_2).



Равновесные и кинетические параметры фермента в присутствии эффекторов (I) и SDS, а также их комплексов (I) — SDS определяли с учетом спонтанного гидролиза субстратов в соответствии с классической схемой эффеции ферментов [23]. В контрольных экспериментах было установлено, что все эффекторы в широком диапазоне концентраций не оказывают влияния на спонтанный гидролиз S_1 и S_2 .

При триптическом гидролизе этих субстратов в присутствии сополимера (I) наблюдалось ускорение реакции. При различных концентрациях эффектора (I) зависимости в координатах Лайнуивера — Берка для ферментативного гидролиза субстрата S_1 имели вид семейства параллельных прямых (рис. 1), при этом в координатах Диксона зависимости ($1/v - [Э]$), соответствующие различным начальным концентрациям субстрата, имели вид гиперболических кривых, что отвечает бесконкурентному типу [23] активации фермента.

Для ферментативного гидролиза субстрата S_2 график в координатах Лайнуивера — Берка имел вид семейства прямых, пересекающихся в общей точке, которая находится в левом нижнем квадранте (рис. 1), что соответствует смешанному типу [23] активации фермента.

По величинам констант k_{cat} и $K_{\text{m(каж)}}$, найденным из зависимостей, представленных на рис. 1, графически [23] определяли константы прототирования (α и β) и активации (K_A) ферментативного гидролиза, которые представлены в таблице.

Как следует из кинетических данных, полимерный эффектор и субстраты независимо связываются с ферментом, однако сополимер (I) связывается с трипсином более эффективно, чем субстрат S_1 , и менее эффективно, чем полимерный субстрат S_2 . Определение максимального увеличения активности трипсина в присутствии (I), проведенное в модифицированных координатах Иди по известному методу [24], показало, что при гидролизе S_1 относительное увеличение скорости гидролиза втрое выше, чем при гидролизе полимерного субстрата S_2 .

В связи с тем что повышение активности ферментов в присутствии КПЭ может быть результатом изменения морфологии или микроокружения фермента, изменение конформации трипсина при взаимодействии с сопо-

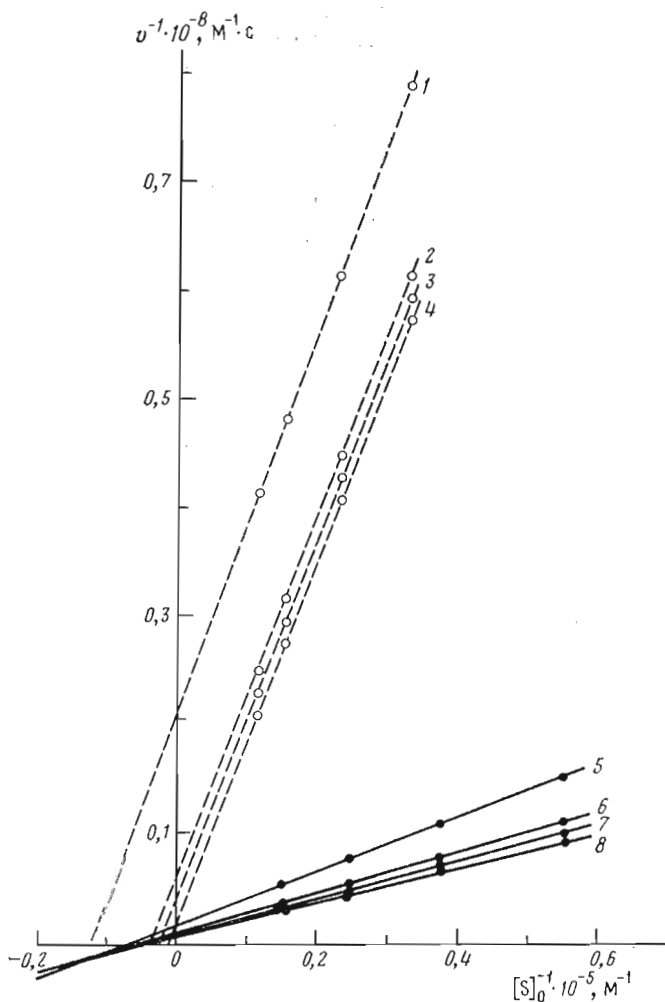


Рис. 1. Влияние сополимера (I) на триптический гидролиз низкомолекулярного субстрата S_1 (1—4) и полимерного субстрата S_2 (5—8). $[E]_0 = 6,50 \cdot 10^{-5}$ M, 37° C, pH 8. Концентрация (10^{-5} M) сополимера в растворе (в расчете на звенья катионного сомономера): 0 (1), 2 (2), 3,9 (3), 9,8 (4), 0 (5), 4,07 (6), 9,58 (7), 19,5 (8)

лимером (I) оценивали спектрофотометрически (рис. 2). При этом наблюдали очень слабый гипохромный эффект поглощения пептидных связей, вызываемый, как известно [25], увеличением доли параллельно ориентированных дипольных моментов пептидных групп белка при увеличении содержания α -спиральных структур.

В спектральной области 230—300 нм ($(33-43) \cdot 10^3$ cm^{-1}) триптофановые, тирозиновые и дисульфидные хромофоры трипсина также практически не претерпевали пертурбации, что указывало [25] на отсутствие изме-

**Равновесные и кинетические параметры триптического гидролиза
низкомолекулярного (S_1) и полимерного (S_2) субстратов**

37° C, 0,05 M трис-HCl-буфер, pH 8, $[E]_0 = 6,5 \cdot 10^{-5}$ M, активатор — сополимер (I)

| Субстрат | $K_S \cdot 10^4$, M | $k_2 \cdot 10^4$ с $^{-1}$ | $K_A \cdot 10^4$, M | α | β | r_{max}^* |
|----------|----------------------|----------------------------|----------------------|----------|---------|--------------------|
| S_1 | 0,78 | 7,03 | 6,64 | 8,8 | 8,8 | 11,2 \pm 0,1 |
| S_2 | 1,18 | 96,15 | 0,26 | 1,9 | 3,5 | 3,3 \pm 0,1 |

* r_{max} — максимально возможное относительное увеличение скорости ферментативного гидролиза в присутствии активатора.

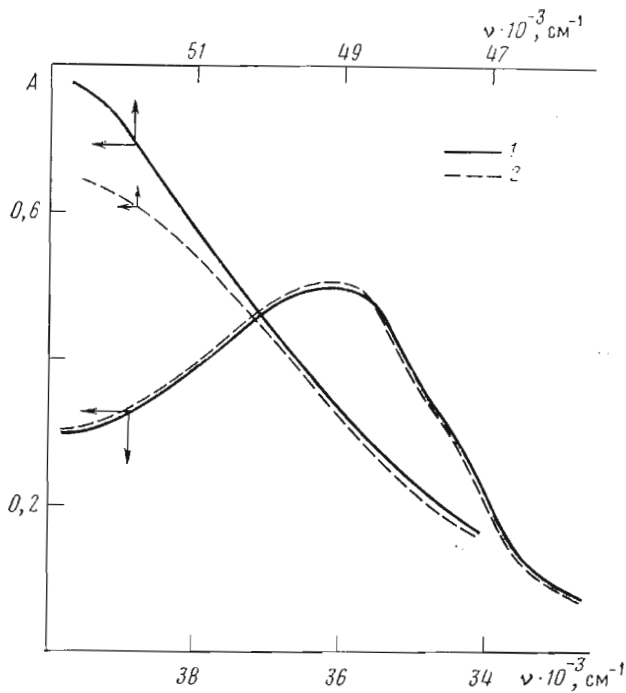


Рис. 2. УФ-спектры нативного трипсина (1) и его комплекса с сополимером (I) (2) в воде (рН 8,0). $[E] = 3,14 \text{ мкМ}$, $[Э] = 9,8 \cdot 10^{-5} \text{ М}$

нения нативной структуры фермента под действием эфффектора (I) и соответственно исключало влияние конформационных изменений трипсина в присутствии сополимера (I) на повышение его активности. Следует отметить, что другие КПЭ также практически не влияют на нативную структуру трипсина [9] и других ферментов [5, 10, 16], как это показано методами кругового дихроизма и дисперсии оптического вращения.

Увеличение активности трипсина вряд ли может быть результатом изменения локальной концентрации протонов и субстрата вблизи активного центра за счет их концентрирования на макромолекуле эфффектора, так как в данной работе ферментативный гидролиз изучали в области рН-оптимума трипсина [26], а введение поливинилпирролидона вместо сополимера (I) не оказывало влияния на скорость ферментативного гидролиза. Наиболее вероятно, что наблюдаемое повышение эфффективности действия трипсина в присутствии КПЭ является псевдоактивацией фермента, обусловленной повышением устойчивости трипсина к тепловой денатурации и автолизу в результате стабилизации конформации трипсина при комплексообразовании с сополимером (I).

Таким образом, проведенное исследование показало, что эфффективность промотирования ферментативного катализа сополимером (I) и тип эфффекции зависят от природы субстрата.

Изучение совместного влияния полимерного эфффектора (I) и SDS на активность трипсина как системы, моделирующей мембраносвязанный фермент, было проведено лишь с использованием низкомолекулярного субстрата S_1 . Поскольку SDS является сильным ингибитором трипсина [12, 13], можно было ожидать, что при совместном независимом действии (I) и SDS на фермент, активность трипсина должна снижаться при возрастании концентрации SDS и повышаться при увеличении концентрации активатора (I). Оказалось (рис. 3), что SDS является ингибитором конкурентного типа, характеризующимся величинами $K_i = 2,13 \cdot 10^{-4} \text{ М}$ и $\alpha = 23,8$. Однако, ввиду того что SDS образует полиэлектролитные комплексы (ПЭК) с эфффектором (I), в водных растворах возможна конкуренция за связывание SDS между КПЭ и ферментом. Известно, что комплексы

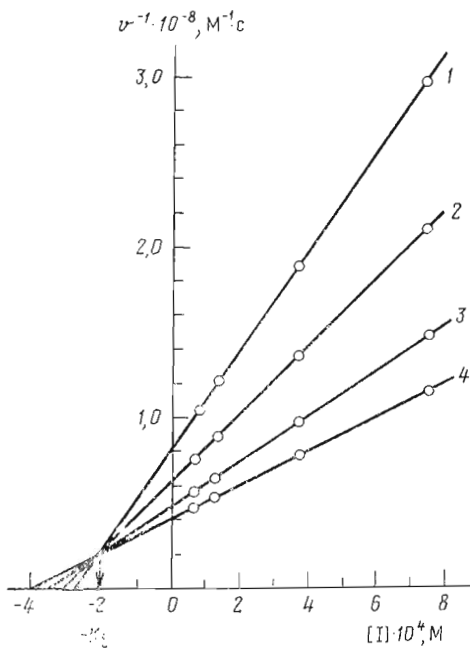


Рис. 3

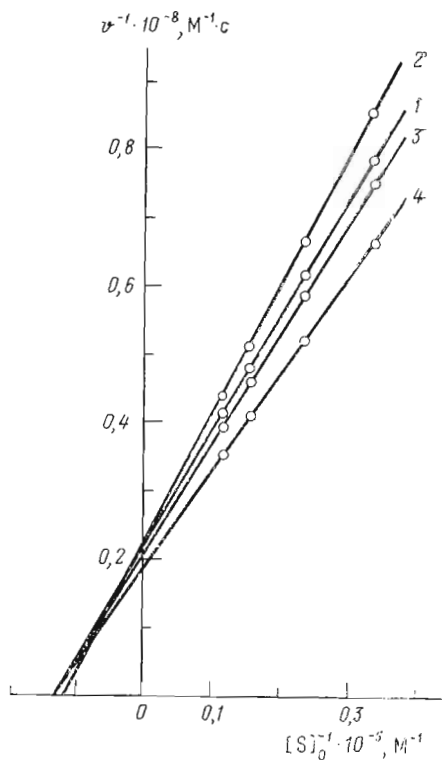


Рис. 4

Рис. 3. Определение в координатах Диксона константы конкурентного ингибирования и константы прототирования (α) гидролиза S_1 , катализируемого трипсином в присутствии додецилсульфата. 37°C , $\text{pH } 8$, $[E]_0 = 6,50 \cdot 10^{-5}\text{ M}$; $[S_1]$, 10^{-5} M : 2,98 (1), 4,26 (2), 6,39 (3), 8,52 (4)

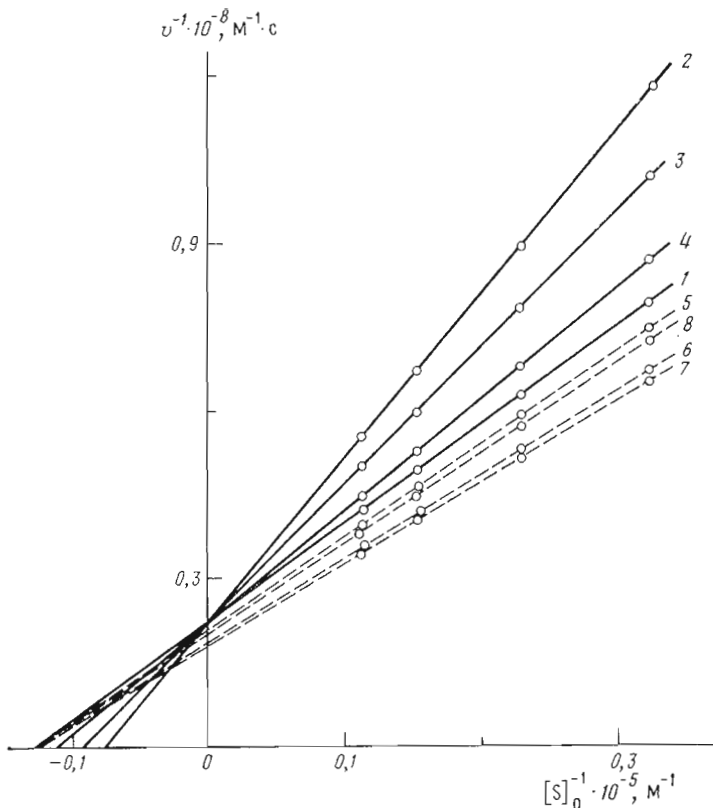
Рис. 4. Активация и ингибирование гидролиза S_1 , катализируемого трипсином, под действием комплексов (1) — SDS. 37°C , $\text{pH } 8$, $[E]_0 = 6,50 \cdot 10^{-5}\text{ M}$. Концентрации (1) (в расчете на катионный сомономер) $3,9 \cdot 10^{-5}\text{ M}$, SDS (10^{-5} M): 1 — 0, 2 — 1,95 ($\gamma = 0,5$), 3 — 3,9 ($\gamma = 1,0$), 4 — 15,6 ($\gamma = 4,0$)

(1) — SDS характеризуются различной стабильностью [27, 28] и микроокружением [29, 30] в воде, которые зависят от мольного отношения (γ) SDS и звеньев катионного сомономера в сополимере (1). Поэтому изучали совместное действие (1) и SDS на трипсин при $\gamma = 0,5$; 1,0 и 4,0, соответствующих ПЭК, максимально различающимся по своим физико-химическим свойствам [29, 30].

Влияние ПЭК (1) — SDS различного состава на триптический гидролиз S_1 при фиксированной концентрации (1) показано на рис. 4.

Видно, что величина γ для этих комплексов оказывает определяющее влияние на их функционирование в качестве эффекторов трипсина, причем ПЭК с $\gamma = 0,5$, ингибируют трипсин по конкурентному типу ($K_i = 1,54 \cdot 10^{-4}\text{ M}$, $\alpha = 35,5$), а ПЭК с $\gamma \geq 1$ активируют фермент даже при весьма высоких концентрациях потенциального ингибитора SDS и его избытке по отношению к катионным зарядам на сополимере (1). Близость величин K_i для свободного SDS и SDS в составе комплекса с (1) ($\gamma = 0,5$) указывает на то, что в трехкомпонентной взаимодействующей системе трипсин — (1) — SDS реализуется перенос ионов SDS от поликатиона (1) к ферменту, который, вероятно, протекает по кооперативному механизму [31, 32], так как эффективность ингибирующего действия SDS в составе ПЭК (рис. 5) возрастает по сравнению со свободным SDS (рис. 3).

Интересен тот факт, что ПЭК с $\gamma = 4,0$, являясь активатором трипсина некошкурентного типа (рис. 5), более эффективен как активатор, чем ПЭК с $\gamma = 1,0$. Это может быть только следствием того, что при увеличении значения γ от 0,5 до 4,0 стабильность ПЭК (1) — SDS возрастает. Как недавно было показано методом поляризованной люминесценции



Фиг. 5. Конкуренное ингибирование триптического гидролиза S_1 в присутствии комплекса (I) — SDS с $\gamma = 0,5$ (2—4) и неконкуренная активация той же реакции в присутствии комплекса (I) — SDS с $\gamma = 4,0$ (5—8). 37°C , pH 8, $[E]_0 = 6,5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$; $[\text{SDS}], 10^{-5} \text{ M}$ при $\gamma = 0,5$: 0 (1), 9,72 (2), 4,89 (3), 1,94 (4), при $\gamma = 4,0$: 3,9 (5), 9,76 (6), 15,22 (7), 38,8 (8)

[28], при увеличении величин γ для ПЭК (I) — SDS степень их заполнения анионами SDS увеличивается, причем стабильность комплексов сильно возрастает. Наблюдаемое снижение эффективности активации трипсина при значительном увеличении общей концентрации ПЭК (I) — SDS ($\gamma = 4,0$) можно объяснить формированием в растворе мицелл ПАВ, не связанных с поликатионом, и проявлением ингибиторных свойств молекул SDS.

Не исключено, что в активации ферментативного гидролиза катионными полиэлектролитами и полиэлектролитными комплексами ПАВ могут участвовать структурированные молекулы воды, входящие в состав фермент-эффекторных комплексов. Это предположение базируется на том, что в реальных биологических системах вода, участвующая в формировании комплексов белков с биополимерами (например, фермент-липидных ансамблей [33]), находится в гидратных оболочках полярных групп ПАВ в структурированном состоянии и имеет повышенную нуклеофильность [34]. Подобные эффекты структурирования (поляризации) молекул воды в гидратной оболочке изучаемых полимерных эффекторов трипсина также отмечены спектральными методами [28, 29].

Таким образом, проведенное исследование позволяет заключить, что катионные полиэлектролиты могут выступать в роли активаторов ферментов, а в многокомпонентных системах, включающих анионное ПАВ, КПЭ и фермент, одно и то же анионное ПАВ может оказывать как активирующее, так и ингибирующее действие на фермент, опосредованное главным образом его взаимодействием с КПЭ. При этом характер и тип эффекции фермента анионным ПАВ в присутствии КПЭ в основном зависит от концентрационных соотношений ингредиентов системы, определяющих формирование комплексов ПАВ с различной стабильностью,

структурой и микроокружением. Установление этого феномена на модельной системе может оказаться полезным для понимания существенных различий в действии SDS на изолированные ферменты [12—15] и ферменты, связанные с биополимерами [18—20], а также для понимания функционирования природных ПАВ [15] как регуляторов активности ферментов.

Авторы выражают глубокую благодарность Е. Ф. Панарину за ряд полезных рекомендаций, высказанных при подготовке статьи, а также М. В. Соловскому, любезно предоставившему нам образцы полимерного субстрата.

Экспериментальная часть

Для исследований использовали кристаллический трипсин (КФ 3.4.21.4; Spofa, ЧССР) после его 2-кратной очистки от продуктов автолиза гель-фильтрацией на сефадексе G-50 (элюент — 0,01 н. HCl) и последующей лиофилизацией. Активность очищенного трипсина контролировали при pH 7,6 и 25° С с использованием в качестве субстрата гидрохлорида этилового эфира N^α-бензоил-L-аргинина (Fluka, Швейцария) по увеличению поглощения раствора при 253 нм. Для кинетических измерений использовали трипсин с активностью не менее 7400 ед./мг. *n*-Нитрофенилацетат (Fluka, содержание основного вещества не менее 99%) использовали без дополнительной очистки. Полимерный субстрат — сополимер N-(2-гидроксипропил)метакриламида с *n*-нитрофениловым эфиром N-метакрилоилглицидфенилаланина с M_r 8,3 — использовали после дополнительной очистки ультрафильтрацией в этаноле.

Сополимер N-винилпирролидона и N,N,N-триэтилметакрилоилэтиламмонийиодида, а также его комплексы с SDS (Serva, ФРГ) получали как описано ранее [29]. Поливинилпирролидон (Loba Finechemie, Австрия) с M_r 23 очищали от примесей ультрафильтрацией в воде.

Кинетические измерения проводили на спектрофотометре M40 (Carl Zeiss, ГДР) в термостатируемых кюветах при $37,0 \pm 0,1^\circ$ С. В качестве буферного раствора использовали 0,05 М водный раствор трис-гидроксиэтиламинометана (Reanal, Венгрия), величину pH которого с учетом температуры (37° С) корректировали добавлением соляной кислоты. Точные навески растворов реагентов загружали в кюветы и после 10-мин. термостатирования вводили микропипеткой растворы субстрата в изопропанол так, чтобы концентрация спирта в реакционной массе не превышала 0,1%. Для расчетов использовали результаты не менее трех независимых измерений в идентичных условиях. При этом погрешность в определении констант скорости не превышала 3%. Спектральные измерения в области 190—230 нм проводили в токе азота, контролируя полноту устранения полос поглощения кислорода по специальной программе для микропроцессора прибора M40.

ЛИТЕРАТУРА

1. Заикина И. А., Панарин Е. Ф., Соловский М. В., Рубахина Т. Д. // Антибиотики. 1977. № 4. С. 427—431.
2. Panarin E. E., Solovskii M. V., Zaikina N. A., Afinogenov G. E. // Makromol. Chem., Suppl. 1985. V. 9. P. 25—33.
3. Куценко Н. Н., Кузина Э. А., Панарин Е. Ф., Гаврилова И. И. // Антибиотики и мед. биотехнология. 1986. № 6. С. 422—426.
4. Соловский М. В., Афиногенов Г. Е., Панарин Е. Ф., Костун Г. И. // Хим.-фармацевт. журн. 1980. № 11. С. 51—56.
5. Стрельцова Э. А., Швадас В. К., Максименко А. В., Клесов А. А., Браудо Е. Е., Толстогузов В. Б., Березин И. В. // Биоорг. химия. 1975. Т. 1. № 10. С. 1464—1469.
6. Афиногенов Г. Е., Панарин Е. Ф. // Антибиотики, 1976. № 10. С. 876—880.
7. Roterganz Y. // Enzymologia. 1964. V. 27. № 1. P. 8—13.
8. Елинов Н. П., Адель Эль Сокпарн // Микробиология. 1968. № 7. С. 637—641.
9. Кольцова С. В., Илларионова Н. Г., Панарин Е. Ф., Рудюковская Г. Д., Самсонов Г. В. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1975. № 3. С. 643—649.
10. Диков М. М., Осипов А. П., Егоров А. М., Березин И. В., Мустафаев М. И., Кири Ю. Э., Кабанов В. А. // Докл. АН СССР. 1979. Т. 248. № 5. С. 1260—1263.
11. Lawton J. V., Mekras C. I. // J. Pharm. Pharmacol. 1985. V. 37. P. 396—401.
12. Peck R. L. // J. Amer. Chem. Soc. 1942. V. 64. P. 487—490.
13. Bozal J., Calvet F. // An. quim. Real. soc. esp. fis. y quim. Ser. B. 1963. V. 59. № 9. P. 563—576.
14. Pitt-Rivers R. // Biochem. J. 1964. V. 90. № 3. P. 629—632.
15. Negero K. // Sen-i kako. Dyeing and Finish. 1975. V. 27. № 2. P. 76—82.
16. Dipontmier A., Merle-Autry L., Merle Y., Selegny A. // Makromol. Chem. 1986. V. 187. № 1. P. 211—221.
17. Цыганков А. Ю., Моторин Ю. А., Добрушкин А. Е., Вольфсон А. Д., Орловский А. Ф., Гладкий К. Л. // Биохимия. 1986. Т. 50. Вып. 4. С. 590—595.
18. Вавилова Г. Л. Изучение взаимодействия детергентов с Mg²⁺, K⁺, Na⁺-зависимой АТР-азой мембранных структур мозга. Автореф. дис. канд. мед. наук. Киев, 1974.

19. Торчинский Ю. М., Шпикитер В. О. // Докл. АН СССР. 1963. Т. 152. № 3. С. 751—753.
20. Хролинская Р. Е. // Тез. докл. Всес. симп. «Физиологическая роль поверхностно-активных веществ». Черновцы, 1975. С. 111—112.
21. Friedrich P. Supramolecular enzyme organization. Oxford: Pergamon Press, 1984. P. 204—273.
22. Уголев А. М. Мембранное пищеварение: полисубстратные процессы, организация и регуляция. Л.: Наука, 1972. С. 105—143.
23. Березин И. В., Клесов А. А. Практический курс химической и ферментативной кинетики. М.: МГУ, 1976. С. 79—84.
24. Erlanger V. F., Castelman H. // Biochim. et biophys. acta. 1964. V. 85. № 3. P. 507—509.
25. Калоус В., Павличек З. Биофизическая химия. М.: Мир, 1985. С. 47—83.
26. Vajda T., Szabo T. // Eur. J. Biochem. 1978. V. 85. № 1. P. 121—124.
27. Мусабеков К. Б., Спицина Н. И., Соловский М. В., Панарин Е. Ф., Ибрагимова О. С. // Вестн. АН КазССР. 1984. № 10. С. 42—47.
28. Паутов В. Д., Кирпач А. Б., Панарин Е. Ф., Гаврилова И. И., Кочеткова И. С. // Тез. докл. III Всес. конф. «Водорастворимые полимеры и их применение». Иркутск, 1987. С. 133.
29. Копейкин В. В., Афанакина Н. А., Фазиль Г. А., Сантурян Ю. Г. // Высокомолекул. соединения. 1987. Т. 29А. № 2. С. 370—376.
30. Копейкин В. В., Гаврилова И. И. // Высокомолекул. соединения. 1987. Т. 29А. № 2. С. 377—382.
31. Панарин Е. Ф., Афиногенов Г. Е., Горбунова О. П. // Антибиотики. 1977. № 6. С. 502—506.
32. Ануфриева Е. В., Панарин Е. Ф., Паутов В. Д., Семисотнов Г. В. // Высокомолекул. соединения. 1979. Т. 21Б. № 1. С. 50—53.
33. Hauser H. In: Water — a comprehensive treatise. V. 4 / Ed. Franks F. N. Y.—L.: Plenum Press, 1975. P. 209—304.
34. Левашов А. В., Хмельницкий Ю. Л., Клячко Н. Л., Мартинек К. // Биологические мембраны и мембраноактивные соединения / Ред. Ташмухамедов Б. А. Ташкент: ФАН, 1985. С. 39—68.

Поступила в редакцию
13.VII.1987
После доработки
28.X.1987

EFFECT OF COPOLYMER OF N-VINYLPYRROLIDONE AND N,N,N,N-TRIETHYLMETHACRYLOYLOXYETHYLAMMONIUM IODIDE AND ITS COMPLEXES WITH SODIUM DODECYL SULPHATE ON THE ACTIVITY OF TRYPSIN

КОПЕЙКИН В. В., АФАНАКИНА Н. А.

*Institute of Macromolecular Compounds,
Academy of Sciences of the USSR, Leningrad*

Alterations of catalytic activity of trypsin in the hydrolysis of non-specific ester substrates (*p*-nitrophenylacetate (S_1), copolymer of *p*-nitrophenyl ester of N-methacryloylglycylphenylalanine and N-(2-hydroxypropyl)methacrylamide (S_2)) in the presence of a cationic polyelectrolyte, copolymer of N-vinylpyrrolidone and N,N,N,N-triethylmethacryloyloxyethylammonium iodide, and its complexes with sodium dodecyl sulphate (SDS) have been detected. Enzymatic hydrolysis of S_1 was activated by the cationic polyelectrolyte non-competitively, whereas activation of the hydrolysis of a polymeric substrate was of mixed type. SDS in the tryptic hydrolysis of S_1 is a competitive inhibitor with $K_i = 2,13 \cdot 10^{-4}$ M (37°, pH 8,00). The combined action of SDS and the cationic polyelectrolyte on trypsin results either in inhibition or in activation of the enzyme, the type of the effect depending on the molar ratio (γ) of positive and negative charged units: at $\gamma=0,5$ the mixture is a competitive inhibitor of trypsin, at $\gamma 1,0-4,0$ a non-competitive activation occurs.