



ПИСЬМА РЕДАКТОРУ

УДК 577.156.074

СИНТЕТИЧЕСКАЯ МАКРОМОЛЕКУЛЯРНАЯ МОДЕЛЬ ГИДРОЛАЗ, ОБЛАДАЮЩАЯ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ

*Латов В. К., Фастовская М. И., Слободяникова Л. С.,
Цырянкин В. А., Беликов В. М.*

Институт элементоорганических соединений Академии наук СССР, Москва

В последнее время появился ряд работ, посвященных синтетическим макромолекулярным моделям ферментов, способных гидролизовать сложные эфиры, разрушать H_2O_2 [1—4]. Нами синтезирован макромолекулярный катализатор, обладающий протеолитической активностью. Катализатор получен взаимодействием сополимера стирола и малеинового ангидрида со смесями гистидина, серина и фенилаланина в диметилформамиде с последующим осаждением продукта реакции 1 н. HCl по методике [5]. Независимо от соотношения взятых для синтеза аминокислот, казеинолитической активностью (от 0,1 до 4,8 ед.) обладали катализаторы, содержащие как гистидин, серин и фенилаланин, так и только гистидин и фенилаланин (таблица). Полученные катализаторы растворимы в кетонах, тетрагидрофуране, диметоксиэтаноле, метилцеллозольве, смесях спиртов с диоксаном, диметилформамиде, диметилсульфоксиде и воде, имеют оптимум казеинолитической активности при pH 8,0—8,2 (рис. 1). При высоких концентрациях казеина наблюдается субстратное ингибирование (рис. 2). В фосфатных буферных растворах активность катализатора увеличивается с увеличением ионной силы от 0,01 до 1,0 М.

Свойства катализатора в зависимости от соотношения аминокислот, взятых для его синтеза

Аминокислоты, моль/моль			Активность *	
Pis	Ser	Phe	тип	единиц
			Протеолитическая	
1	1	—		0,1
1	1	1		0,2
1	1	2		1,7
1	1	4		3,3
1	1	8		4,8
1	—	1		1,3
1	—	5		3,9
—	—	1		0
1	1	8		Лецитазная
1	1	8	Амилитическая	0

* См. «Экспериментальную часть».

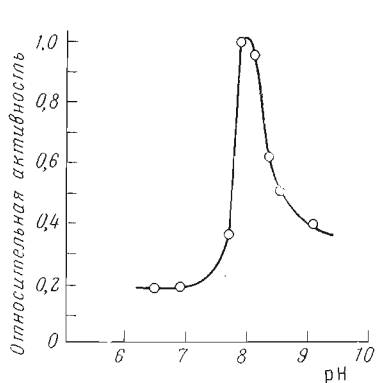


Рис. 1

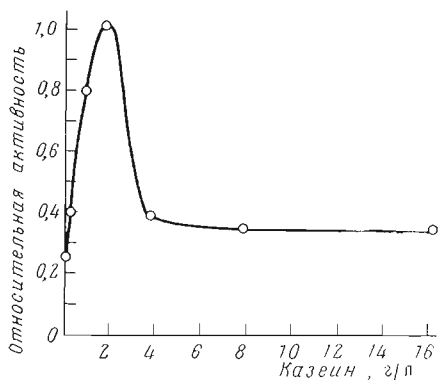


Рис. 2

Рис. 1. Зависимость от pH казеинолитической активности катализатора (10 мг/мл), полученного при молярном соотношении гистидина, серина и фенилаланина 1 : 1 : 2 (0,25 М фосфатный буфер, 25°, 20% раствор казеина)

Рис. 2. Зависимость казеинолитической активности катализатора (10 мг/мл), полученного при молярном соотношении гистидина, серина и фенилаланина 1 : 1 : 2, от концентрации казеина (0,25 М фосфатный буфер, pH 8,0; 25°)

Катализаторы обладали также ацилазной активностью, но не обладали амилолитической активностью (таблица).

При препаративном гидролизе казеина (pH 8,0; 50°, 6 ч) получен гидролизат, содержащий пептиды с молекулярным весом 700—800 и не содержащий свободных аминокислот.

Экспериментальная часть

Протеолитическую активность с казеином в качестве субстрата определяли по работе [6]. Единицей активности обладает такое количество ферментного препарата, которое за 1 мин (30°) превращает в неосаждаемое трихлоруксусной кислотой состояние казеинат натрия в количестве, соответствующем 1 мкмоль тирозина. В этих единицах активность трипсина составляет 1545 ед./г [7].

Ацилазную активность определяли по работе [8]. Число единиц ацилазной активности соответствует количеству микромолей метионина, которое освобождается в присутствии 1 мг ферментного препарата из N-ацетил-D,L-метионина. Ацилазная активность *Aspergillus aminoacylase*, определенная по этому методу, составляла 37,2 ед.

Амилолитическую активность с крахмалом в качестве субстрата определяли по работе [9].

ЛИТЕРАТУРА

1. Overberger G. G., Pacansky T. J., Lee J., Pierce T. S., Yaroslavsky A. (1974) J. Polym. Sci., Polym. Symp. № 46, 209—225.
2. Кабанов В. А. (1971) Ж. Всес. хим. о-ва им. Д. И. Менделеева, 16, 4—16.
3. Пичежецкий В. С., Кабанов В. А. (1970) Докл. АН СССР, 190, 853—859.
4. Morawetz H. (1969) in Advances in Catalysis, 20, 341—371.
5. Латов В. К., Бабиевский К. К. (1972) Изв. АН СССР. Сер. хим., 2036—2041.
Инструкция по техническому и микробиологическому контролю производства препаратов при поверхностном культивировании плесневых грибов (1972) Главмикробиопром при СМ СССР, ВНИИспитезбелок, 170—185.
7. Васильева Р. П., Евтихов П. П., Богорад Г. В. (1976) Микробиол. пром-сть, № 4, 23—26.
8. Tosa T., Mori T., Fuse N., Chibata I. (1966) Enzymologia, 31, 214—217.
9. Окунаки К. (1963) в кн. Аналитические методы белковой химии (Орехович В. Н., ред.), с. 60, Изд-во инстр. лит., М.

Поступило в редакцию
15.VI.1976
После доработки
1.IX.1976