

УДК 539.19: 538.113

КИНЕТИКА ГИБЕЛИ РАДИКАЛОВ В УФ-ОБЛУЧЕННОМ КЕРАТИНЕ ШЕРСТИ

Р.Б. АСЛАНОВ, О.К. ГАСЫМОВ, С.Р. НУРИЕВ,
Ш.В. МАМЕДОВ

Институт Физики АН Азербайджана,
Баку-143, пр.Г.Джавида 33
(Поступило 27.05.94)

Показано, что термическая рекомбинация радикалов в кератине шерстиносит ступенчатый характер и их кинетика состоит из двух фаз (быстрая и медленная). Это связано со вторичной структурой кератина. Установлено, что доля радикалов, участвующих в реакциях с большой константой скорости, соответствует степени упорядоченной области молекул кератина.

Морфологические участки шерстяного волокна состоят из луковицы, корня и стержня [1]. Основную часть шерсти составляет фибрillлярный белок кератин. Кератин составляет основу волос, ногтей, рогов и др. Еще в 30-х годах Эстбери У.Г. [2] обнаружил, что кератин различного происхождения дает характерные рентгенограммы, отвечающие структурам типа α -кератина, а в растянутых волосах наблюдается переход α -кератина в β -кератин. Кератин отличается от других фибрillлярных белков высоким содержанием серы (цистин + цистein - 12%). Изучению структуры кератина посвящено много работ. Показано, что кератин состоит из упорядоченной и неупорядоченной частей, однако, доля этих участков в нем не указана.

Темновая гибель радикалов в глобулярных белках, образующихся после γ - и УФ-облучения определяется их вторичной структурой [3, 4]. На этой основе разработан способ определения степени - спиральности глобулярных белков методом ЭПР [5, 6].

Гибель радикалов в фибрillлярных белках (фибронин шелка, коллаген), образующихся при УФ-облучении, происходит при более высоких температурах, чем в глобулярных. Однако, кинетика гибели радикалов, как и в глобулярных белках, определяется вторичной структурой. При облучении кератина шерсти УФ-светом при 77 К, кроме радикалов, образующихся в результате ионизации ароматических аминокислотных остатков, возникают, в заметном количестве, и радикалы RS^{\bullet} . Они образуются при разрыве дисульфидных связей. Радикалы RS^{\bullet} не являются общими для УФ-облученных белков и их относитель-

ная концентрация меняется в зависимости от содержания серы в белке. Это обстоятельство могло бы сказаться на кинетике гибели УФ-индущированных свободных радикалов.

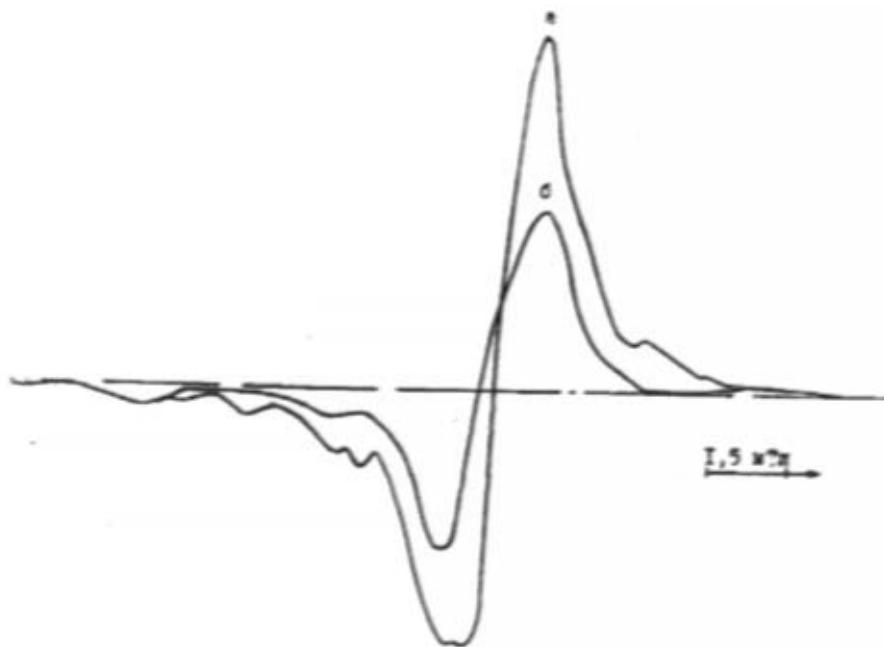


Рис. 1. Спектры ЭПР УФ-облученного при 77 К кератина шерсти (а) и его изменение при повышении температуры до 333 К в течение 20 мин. (б).

В данной работе изучена кинетика реакции гибели радикалов, УФ-индущированных в кератине шерсти.

МЕТОДИКА. Был исследован кератин шерсти. Кератин получали из шерсти кролика - альбиноса. Шерсть промывали в смеси хлороформ-метиловый спирт (2:1) в течение 6 часов при непрерывном встряхивании. Затем вымытая шерсть высушивалась при комнатной температуре. Были исследованы образцы двух типов: влажные и сухие.

Сухие образцы в количестве 4-5 г. помещали в кварцевую ампулу с внутренним диаметром 2 мм и плотно набивали, затем откачивали 30 минут при давлении $1,3 \text{ H/m}^2$ и запаивали.

Влажные образцы от сухих отличаются тем, что в момент заполнения в ампулу вводится дистиллированная вода и через сутки они откачивались при 77 К в течение 30 минут путем неоднократного размораживания. После этого образцы были запаяны. Облучение образ-

цов проводили сфокусированным светом ртутной лампы сверхвысокого давления мощностью 500 Вт (ДРШ-500) через стеклянный светофильтр УФС2 и водяной фильтр толщиной 5 см. Регистрацию спектров ЭПР проводили при 77 К. Кинетические кривые гибели радикалов построены по интегральной интенсивности следующим образом. Сперва записывали исходный спектр ЭПР УФ-облученного при 77 К кератина шерсти, а затем выдерживали образец при каждом значении температуры по 5 минут с повторением процедуры 8 раз.

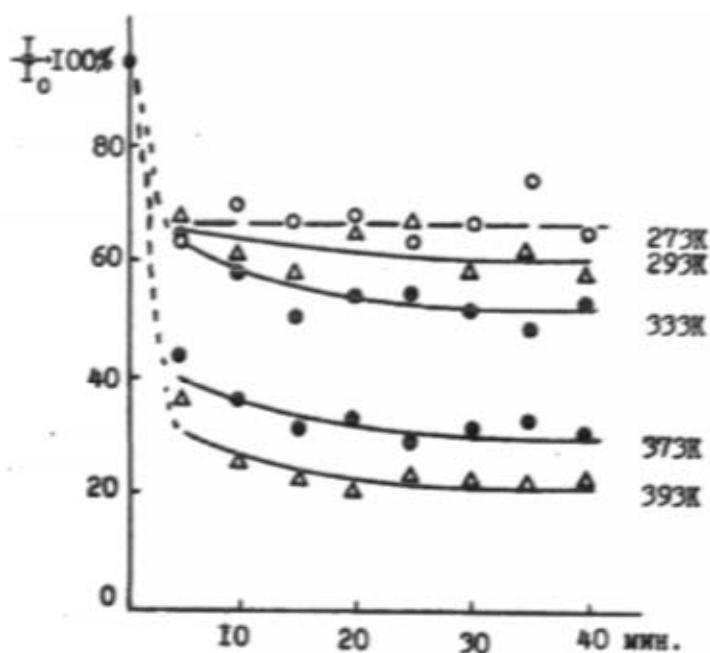


Рис. 2. Кинетические кривые реакции гибели радикалов, УФ-индуцированных при 77 К в кератине шерсти. I - интегральная интенсивность спектра ЭПР.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Как видно из рис. 1, при повышении температуры, наряду с изменением вида спектра ЭПР (при измененной общей ширине), уменьшается интегральная интенсивность. Однако, при повышении температуры до 333 К наблюдается также заметное увеличение количества серных радикалов. По-видимому, это связано с тем, что параллельно с рекомбинацией радикалов, протекает миграция определенной части свободной валентности на атом серы. При построении кинетических кривых гибели УФ-индуцированных радикалов в кератине шерсти (рис. 2), брали изменение суммарного количества всех радикалов. Из рисунка видно, что протекают

две разные по скорости реакции - быстрая и медленная, аналогично фибронину шелка и коллагену [7-9].

Как видно из семейства кинетических кривых (рис. 2), увеличение температуры приводит к снижению относительного стабильного уровня радикалов и росту количества радикалов, участвующих в быстрой и медленной реакциях. В интервале температур 333-393 К количество радикалов, участвующих в быстрой реакции увеличивается, а в медленной реакции - остается постоянным и составляет 30 %.

Ход термических реакций радикалов во влажных образцах идентичен с сухими образцами. Количество радикалов, участвующих в медленной реакции при этом составляет 20 %. По-видимому, это связано с тем, что при увлажнении белка доля упорядоченной части увеличивается.

Из анализа семейства кинетических кривых радикалов были построены общие кривые отжига всех радикалов (рис. 3), отжига радикалов, участвующих в быстрой (рис. 3.1) и медленной (рис. 3.2) реакциях.

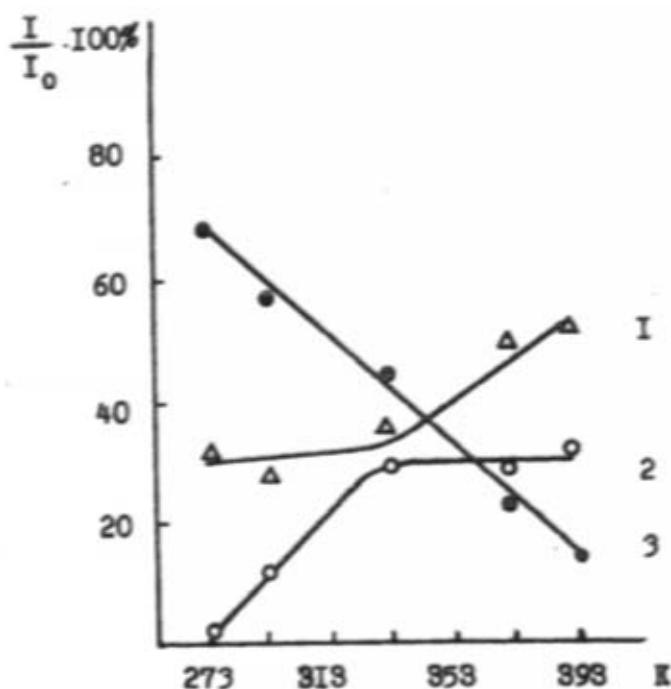


Рис. 3. Температурная зависимость доли исходного количества радикалов, участвующих в быстрой (3) и в медленной реакциях (2), и доли стабильных радикалов (1) в УФ-облученном при 77 К кератине шерсти. 1 - интегральная интенсивность спектров ЭПР при 77 К.

Видно, что отжиг свободных радикалов в кератине шерсти начинается при температуре ниже 273 К и заканчивается при 423 К, при которой реагируют все радикалы. Во влажных образцах все радикалы рекомбинируют при 273 К. В сухих образцах медленная реакция появляется при 273 К и заканчивается при 333 К (рис. 3.2). Количество радикалов, участвующих в медленной реакции, растет примерно до 333 К и составляет $(30 \pm 3)\%$, при последующем повышении температуры этот уровень остается постоянным. Быстрая реакция появляется ниже 273 К. Количество радикалов, участвующих в быстрой реакции, увеличивается с повышением температуры и заканчивается выше 393 К. Как видно из рис. 3, отжиг радикалов, УФ-индуцированных в кератине шерсти, происходит в широкой области значений температуры.

Сопоставление полученных данных с данными для глобуллярных и других фибриллярных белков (фибронин шелка, коллаген) позволяет сделать вывод о том, что две реакции гибели радикалов в УФ-облученном кератине шерсти также определяются наличием в нем областей двух типов, в которых пептидные цепи уложены по-разному.

В сухих образцах реакция радикалов в неупорядоченной части полностью протекает при 333 К, а во влажных - 243 К. Радикалы, связанные с упорядоченной частью, полностью реагируют 393 К в сухих образцах, а до 273 К - во влажных образцах. Так как доля медленно рекомбинирующих радикалов в кератине шерсти составляет 30 %, можно утверждать, что доля пептидных цепей, не входящих в α -структуру, также составляет 30 %. Следовательно, остальные 70 % указывают на долю пептидных цепей, находящихся в α -структуре.

Таким образом, ранее нами предложенный рекомбинационно-кинетический метод можно применять также для исследования структуры серосодержащих белков.

Литература

- Новородовская Т.С., Садова С.Ф. Химия и химическая технология шерсти. М.: Легпромбытиздат, 1986, с. 280.
- Полинг Л., Полинг П. Химия М., 1978, с. 683.
- Львов К.М. ДАН СССР, 1967, т. 174, с. 971.
- L'vov K.M., Kim Jn.A. Studiobiophysica, 1972, v. 33, p. 193.
- Каюшин Л.П., Львов К.М., Пулатова М.К. Исследование парамагнитных центров облученных белков. М., Наука, 1970, с. 263.
- L'vov K.M., Kim Jn.A. Biopolymers, 1975, v. 14, p. 83.
- Львов К.М., Асланов Р.Б., Есипова Н.Г. Биофизика, 1986, т. 31, с. 154.
- Львов К.М., Асланов Р.Б., Мамедов Ш.В. Биофизика, 1984, т. 29, в. 4, с. 537.
- Молекулярные механизмы биологического действия оптического излучения. М., Наука, 1988, с. 231.

R.B. Aslanov, O.K. Gasimov, S.R. Nuriyev, Ş.V. Mamedov

UB İŞIGLA ŞÜALANDIRILMIŞ YUN KERATININDƏ RADİKALLARIN MƏHV OLMA KİNETİKASI

Gösterilmiştir ki, yun keratininde radikalların termik rekombinasiyası pilləli xarakter daşıyır və onların kinetikası iki fazaldır (sür'ətli və yavaş). Müəyyen edilmişdir ki, bu, keratinin ikinci quruluşu ilə elaqedardır və böyük sür'ət sabiti olan reaksiyada işdətirək edən radikalların payı, zülal molekulunun nizamlılıq dərəcəsinə uyğundur.

R.B. Aslanov, O.K. Gasimov, S.R. Nuriev, Sh.V. Mamedov,
K.M. L'yov

KINETIC STUDY OF RADICALS IN UV-IRRADIATED KERATIN VOOL

It is shown that the thermal recombination of the radicals in the keratin wool has the step character and their kinetics consist of two phases (rapid and slow). Those properties are connected with the second structure of the keratin. It is established that part of the radicals, taking place in the reactions with the greater constant of the rate, corresponds to the degree of the ordering part of the keratin molecule.