

Инкапсуляция лактазы в полиэлектролитные микрокапсулы

Научный руководитель – Тихоненко Сергей Алексеевич

Чебыжин Юрий Сергеевич

Аспирант

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия

E-mail: hf_95@mail.ru

По данным на 2023 год более половины населения Земли страдает недостаточным уровнем секреции активной формы фермента лактазы в тонком кишечнике, что приводит к непереносимости лактозы. Пероральный прием лактазы является эффективным терапевтическим подходом для решения этой проблемы, однако, низкие значения pH желудочного сока и протеолитические ферменты ЖКТ приводят к быстрой инактивации принятого фермента, что значительно снижает эффективность терапии и вынуждает принимать препарат перед каждым приемом пищи. Инкапсуляция лактазы в полиэлектролитные микрокапсулы, в перспективе, может устранить эти недостатки и поможет закрепить фермент в тонком кишечнике.

Полиэлектролитные микрокапсулы (ПМК) — супрамолекулярные системы, состоящие из противоположно заряженных полиэлектролитов, нанесённых на микрочастицы методом поочерёдной адсорбции. Благодаря полупроницаемости полиэлектролитной оболочки сохраняется доступ субстрата к инкапсулированному ферменту, который при этом защищён от действия протеаз организма и агрессивной внешней среды, что значительно увеличивает его стабильность и увеличивает продолжительность эффекта терапии.

Первым этапом создания ПМК было приготовление микросферолитов CaCO_3 содержащих лактазу, на которые затем методом поочередной адсорбции наносились полиаллил-амин (ПАА) и постиролсульфонат (ПСС). Последним этапом происходит растворение сферолитов в 0.2 М ЭДТА. Для измерения активности лактазы использовался электрод Кларка.

Используя описанный выше метод, были созданы ПМК, содержащие около 800 U лактазы на 10^9 микрокапсул с сохранением ее активности. Константа Михаэлиса инкапсулированного фермента составляет 93 мМ, у свободного она равняется 34 мМ.

Так как в ЖКТ человека pH может варьироваться от 2 до 8, а ионная сила принимать значение до эквивалента 0.8 М NaCl, нам необходимо было убедиться, что инкапсулированная лактаза не ингибируется в таких условиях.

Было выяснено, что при проведении ферментативной реакции в растворах с pH = 2.0 свободная и инкапсулированная лактаза полностью ингибируется. В то же время, если проинкубировать ПМК с лактазой при таком значении pH в течение 6 часов, а затем провести ферментативную реакцию в растворах с pH = 5, то ее активность возрастет на 30%. Инкубация свободного и инкапсулированного фермента в щелочных условиях (pH = 8.0) в течение того же времени не приводит к значительным изменениям его активности.

Было показано, что свободная лактаза теряет 20%, 60% и 70% своей активности при 0.1, 0.5 и 1.0 М NaCl соответственно, однако инкапсулированная лактаза при инкубации в таких концентрациях NaCl в течение 6 часов не ингибируется.

Полученные нами результаты показывают, что инкапсулированная форма лактазы более стабильна в условиях, близких к условиям в ЖКТ, чем свободная, что подтверждает возможность использования ее для заместительной терапии.