

УДК 636.32/38:677.31:577.1

## ВПЛИВ ДЕЯКИХ ВІДНОВНИКІВ НА СТУПІНЬ ЕКСТРАКЦІЇ КЕРАТИНУ ВОВНЯНИХ ВОЛОКОН

*В. В. Гавриляк*, д. біол. н., *В. В. Михалюк*, аспірант  
havvita@ukr.net

Інститут біології тварин НААН, м. Львів

Сьогодні інтенсивно створюються інноваційні біоматеріали, здатні відтворити механічну природу біологічних тканин, що особливо актуально для тканинної інженерії. Гідрогелі з природних полімерів мають широке застосування саме завдяки своїм унікальним властивостям: біосумісності, здатності до біодеградації, подібності до позаклітинного матриксу біологічної тканини.

До таких протеїнів, структура яких подібна до позаклітинного матриксу, відносять і кератини. На молекулярному рівні кератини відрізняються від інших структурних протеїнів високим вмістом цистину, а дисульфідні зв'язки забезпечують формування компактної тривимірної структури, яка надає їм стійкості до хімічних впливів та дії ензимів. Важливо відзначити, що кератини, виділені з вовни і людського волоса, містять такі мотиви, як аргінін-гліцин-аспарагінова кислота і лейцин-аспарагінова кислота-валін, що імітують ділянки для клітинної адгезії, характерні для позаклітинного матриксу.

У літературі наведені дані щодо екстрагування кератинів різного походження з наступним їх використанням для створення протеїнових матриць. У зв'язку з цим, мета наших досліджень полягала в отриманні екстракту кератинів із вовняних волокон та порівнянні впливу різних відновників на ступінь його екстракції.

Для дослідження використали зразки вовняних волокон з середнім діаметром 34 мкм, попередньо підготовлених для аналізу згідно із загальноприйнятими методами. Екстракцію кератину проводили впродовж 72 год за температури 50 °С год у буферній системі з додаванням як відновників низькомолекулярних спиртів 2-меркаптоетанолу, дитіотреїтолу, а також тіогліколевої кислоти. Вміст протеїну в супернатанті визначали за методом Бредфорда, а аналіз протеїнового складу — методом електрофорезу в ПААГ у буферній системі Леммлі.

Проведеними дослідженнями встановлено, що ступінь екстракції кератину з вовняних волокон суттєво залежить від відновника у складі екстракційної суміші. Так, вміст екстрагованого кератину за дії тіогліколевої кислоти не перевищував 1 мг/г, тоді як за використання 2-меркаптоетанолу вміст розчинного протеїну в екстрактах вовняних волокон коливався в межах 3–4 мг/мл. Заміна меркаптоетанолу на дитіотреїтол в екстракційній суміші підвищувала ефективність екстракції кератину вдвічі порівняно з меркаптоетанолом ( $P < 0,05$ ) і понад 6 разів ( $P < 0,001$ ) — порівняно з тіогліколевою кислотою.

Електрофоретичний аналіз екстрактів кератинів, отриманих в результаті використання різних відновників, показав наявність 2-х смуг протеїнів з молекулярною масою 40–60 кДа, які відповідають мікрофібрилярним протеїнам. У низькомолекулярній області виявлено смуги протеїнів із молекулярною масою 10–30 кДа, які характерні для кератин-асоційованих протеїнів. Отже, усі три способи екстрагування кератинів забезпечують отримання фракції мікрофібрилярних протеїнів, які є матрицею для створення гідрогелів, проте найефективнішим виявилось використання в екстракційній суміші дитіотреїтолу як відновника.