

КЕРАТИНИ: МЕТОДИ ЕКСТРАКЦІЇ ТА БІОМЕДИЧНІ АСПЕКТИ ЗАСТОСУВАННЯ

В. Михалюк, В. Гавриляк
vasylina.v.m@gmail.com

Інститут біології тварин НААН, м. Львів, Україна

Кератини — це високоспеціалізовані фібрилярні протеїни з унікальними біохімічними особливостями, а саме високим вмістом Сульфуру, здатністю до гідратації та самозбирання, м'якими умовами синтезу, ієрархічною будовою, мультифункціональністю і значним поширенням в природі. Сукупність цих властивостей робить їх перспективною матрицею для створення біоматеріалів медичного та біотехнологічного призначення.

Для збереження нативних властивостей цих протеїнів необхідною є екстракція методом розриву міжмолекулярних дисульфідних зв'язків зі збереженням ковалентних зв'язків поліпептидного ланцюга. Тому мета нашого дослідження полягала у визначенні ефективного «м'якого» способу екстракції кератинів з волосся людини. В експерименті використовували зразки хімічно необробленого волосся. Екстракцію проводили двома методами: денатурування-відновлення (Nakamura A., 2002) та сульфітолізу (Isarankura Na Ayutthaya S. et al., 2015). Згідно з першим методом, зразки волосся поміщали у 25 мМ трис-НСІ буфер (рН 8,5), що містив тіосечовину, сечовину та 2-меркаптоетанол. Інший метод передбачав застосування сечовини, додецилсульфату натрію та метабісульфіту натрію. Екстракцію кератинів проводили впродовж 72 год за температури 50 °С. Вміст протеїну в супернатанті визначали за методом Бредфорда, а аналіз протеїнового складу — методом електрофорезу в ПААГ в буферній системі Леммлі.

Отримані результати засвідчили, що ефективність екстракції кератинів з волосся людини була вдвічі вищою, коли до екстракційної суміші, яка містила сечовину та додецилсульфат натрію, додавали метабісульфіт натрію. Електрофоретичний аналіз кератинів, отриманих з волосся за використання різних екстракційних сумішей, показав наявність 2 смуг протеїнів із молекулярною масою 40–60 кДа, які належать до мікрофібрилярних протеїнів. Усі білкові розчини ліофілізували, а для підтвердження структури кератину використовували інфрачервону спектроскопію. ІЧ-спектри ліофілізатів кератинів показали, що застосовані методи екстракції дозволили отримати відновлений кератин, який за своїми характеристиками відповідає кератину волоса людини.

Згідно з літературними даними, водорозчинні протеїни, отримані вищевказаними методами, у численних дослідженнях продемонстрували успішність їх застосування як матеріал для створення тонких плівок, здатних підтримувати проліферацію фібробластів, губок, що іммобілізують біологічно активні речовини, гідрогелів, які сприяють регенерації периферичних нервів, та фільтрів для зв'язування важких металів.

Ключові слова: ВОЛОС, КЕРАТИНИ, ЕКСТРАКЦІЯ, БІОМАТЕРІАЛИ