

ВПЛИВ СОЛЕЙ КУПРУМУ НА АКТИВНІСТЬ ЛАККАЗИ *TRAMETES VERSICOLOR*

*Атаманенко А. В.*¹, Гордєєва І. О.^{1,2}, Лєсїшина Ю. О.¹, Куц О. В.^{1,2}

¹Донецький національний університет імені Василя Стуса, Вінниця, Україна
²Інститут фізико-органічної хімії і вуглехімії ім. Л. М. Литвиненка НАН України, Київ, Україна
 atamanenko_a@donnu.edu.ua

Лаккази відіграють важливу роль у морфогенезі і біодеградації лігніну деревини грибами білої гнилі. Вони також відповідають за утворення пігменту в міцелії та плодових тілах, покращують міжклітинну адгезію. Лаккази забезпечують біосинтез клітинної стінки рослин, фітопатогенез, деградацію та гуміфікацію деревного матеріалу, склеротизацію комах. Виділену з рослинної сировини лакказу використовують для окисної детоксикації ксенобіотиків та забруднюючих речовин, знебарвлення барвників, відбілювання волокон тощо.

Іони Купруму відіграють важливу роль у процесах біоокислення за участю лакказ, оскільки містяться в активному центрі цього ферменту. Відомо, що додавання солей Купруму в поживне середовище при вирощуванні грибів стимулює продукцію лаккази, впливає на її активність та швидкість біодеградації сполук.

Для вивчення впливу іонів Купруму на активність лаккази *Trametes versicolor*, фермент інкубували у цитратно-фосфатному буферному розчині рН 4.5 у присутності 1 мМ $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ або CuSO_4 . Активність ферменту визначали методом УФ-спектроскопії з використанням 2,2'-азино-біс-(3-етилбензотіазолін-6-сульфонової кислоти) (ABTS). Слідкували за накопиченням катіон-радикала $\text{ABTS}^{*\cdot}$ при довжині хвилі 420 нм (ϵ 36000 $\text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$). Як стандарт використовували розчин ферменту у цитратно-фосфатній буферній системі рН 4.5 з аналогічною всім дослідом концентрацією 124 мкг/мл.

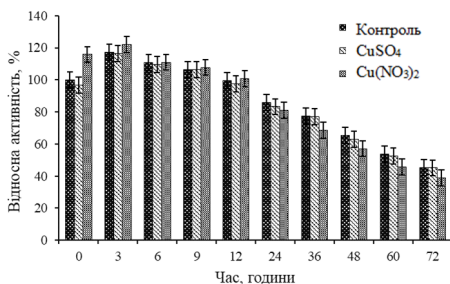


Рис. Залежність відносної активності лаккази від часу інкубації при додаванні 1 мМ CuSO_4 або $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$

З рисунку видно, що активність ферменту у присутності солей Купруму і без у часі збільшується і сягає максимальної відносної активності близько 120 % через 3 години інкубації. Такий ефект обумовлений конформаційними змінами глобули після розчинення ферменту для досягнення нативної структури і максимальної активності. Починаючи з 6 години інкубації спостерігається поступова втрата активності лаккази як у контрольному зразку, так і в присутності солей Купруму. Це може бути викликано інактивацією ферменту під дією солей буферної системи, зокрема, хелатуванням Купруму в активному центрі молекулами цитратної кислоти. Встановлено, що активність лаккази не знижується у присутності CuSO_4 порівняно з контрольним дослідом у буферному розчині протягом 72 годин інкубації за температури 35 °С. Наявність $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ не впливає на стабільність лаккази протягом 24 годин, але через 72 години додавання 1 мМ нітрату Купруму призводить до невеликого, але статистично значущого зниження активності ферменту на 6.3 % порівняно з контрольним зразком.