

СТАБІЛЬНІСТЬ ЛАККАЗИ *TRAMETES VERSICOLOR* У ПРИСУТНОСТІ ТЕМПО

Гордєєва Т. О.¹, Гордєєва І. О.^{1,2}, Куш О. В.^{1,2}, Шендрик О. М.¹

¹Донецький національний університет імені Василя Стуса, Вінниця, Україна

²Інститут фізико-органічної хімії і вуглехімії ім. Л. М. Литвиненка НАН України, Київ, Україна

t.hordieva@donnu.edu.ua

Лаккази грибів білої гнилі є універсальними ферментами, що можуть окислювати широкий спектр природних і синтетичних хімічних речовин завдяки високому окисно-відновному потенціалу. Поєднання лакказ з медіаторами, які здатні передавати електрони від субстрату на фермент, дозволяє розширяти спектр застосування біокаталізаторів. Відомим медіатором лакказ є 2,2',6,6'-тетраметилпіперидин-1-оксил (ТЕМПО), який проявляє високу медіаторну ефективність у процесах біосинтезу органічних сполук та біодеградації лігніну та екополлютантів.

Одна з основних проблем при розробці біотехнологій за участі лакказ і ТЕМПО є інактивація ферменту під впливом медіатору. У роботі проведено дослідження стабільності лаккази *Trametes versicolor* у присутності ТЕМПО у діапазоні концентрацій медіатору від 0 до 1.5 мМ і постійній концентрації ферменту 0.12 У·мл⁻¹ протягом 96 годин інкубації за 35 °С. Активність ферменту визначали методом УФ-спектроскопії з використанням 2,2'-азино-біс-(3-етилбензотіазолін-6-сульфонові кислоти) (АВТС). Слідкували за накопиченням катіон-радикала АВТС^{•+} при довжині хвилі 420 нм (ε 36000 М⁻¹·см⁻¹).

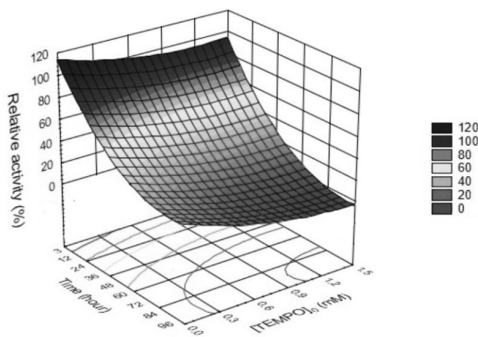


Рис. Поверхня відгуку активності лаккази *Trametes versicolor* від початкової концентрації ТЕМПО та часу

У результаті незалежних експериментів було отримано 96 точок (див. Рис.), за якими побудовано поверхню відгуку активності лаккази від початкової концентрації ТЕМПО та часу. 3D-моделювання дозволило отримати прогнозу кількісну оцінку зміни ферментативної активності під впливом ТЕМПО. Отримані дані свідчать про те, що після 4 діб інкубації у цитратно-фосфатному буферному розчині за рН 4.5 за відсутності ТЕМПО зберігається 32 % від вихідної лакказної активності. Спостережуване падіння стабільності лаккази *T. versicolor*

відбувається через інгібування ферменту лимонною кислотою у складі буферного розчину, яка може утворювати комплекси з іонами Купруму в активному центрі лаккази і блокувати внутрішню молекулярну передачу електронів. Додавання ТЕМПО різко знижує активність лаккази. У присутності 1.5 мМ ТЕМПО через 96 годин фермент повністю дезактивується. При зниженні концентрації медіатора до 0.5 мМ відносна активність лаккази через 12 і 96 годин інкубації складає 85 % і 9 %, відповідно. При додаванні 0.1 мМ ТЕМПО зберігається 85 % (6 годин) і 13 % (96 годин) активності ферменту. Отримані результати можуть бути використані для оптимізації процесів за участі біокаталітичної системи *T. versicolor* лаккази/ТЕМПО/O₂.