

ВПЛИВ ГІДРОКСИЛВМІСНИХ ОРГАНІЧНИХ РОЗЧИННИКІВ НА АКТИВНІСТЬ ЛАККАЗИ *TRAMETES VERSICOLOR*

*Книжник І. А.*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

knyzhnyk.i@donnu.edu.ua

Лаккази є ферментами грибів, рослин, бактерій, лишайників, комах, які розрізняються за своєю будовою та каталітичними характеристиками у залежності від джерела, з якого вони були виділені. Більшість неприродних субстратів лакказ є гідрофобними сполуками, тому використання органічних розчинників є обов'язковою вимогою при розробці біокаталітичних процедур за їх участі. Однак присутність розчинників у реакційній суміші може призводити до руйнування внутрішньо молекулярних водневих зв'язків, різкої зміни третинної структури білка і деформації геометрії активного центра. Наслідком таких механізмів може бути різке падіння каталітичної активності або денатурація та повна дезактивація ферментів. Отже, для підтримки високої ефективності біокаталізаторів необхідно ретельно підбирати розчинник, досліджувати його вплив на фермент, враховувати баланс між активністю біокаталізатору та розчинністю субстрату.

У роботі проведено дослідження стабільності грибною лаккази *Trametes versicolor* за концентрації 120 мкг·мл⁻¹ у присутності гідроксилвмісних органічних розчинників у реакційній суміші. Активність ферменту визначали спектрофотометрично, слідкуючи за накопиченням катіон-радикала 2,2'-азино-біс-(3-етилбензотіазолін-6-сульфонові кислоти (ABTS^{•+}) за λ_{\max} 420 нм (ϵ 36000 л/моль·см) за температури 35 °С. Відносну активність ферменту (%) в присутності органічних розчинників визначали порівняно з розчином ферменту у цитратно-фосфатному буфері рН 4.5 за різних співвідношень розчинника і води. На Рис. показано

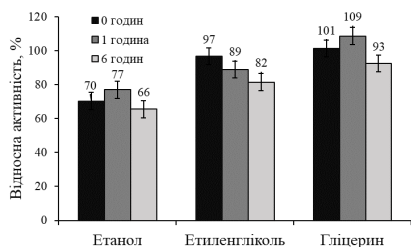


Рис. Вплив 10 об.% органічних розчинників на активність лаккази *Trametes versicolor*

діаграму зміни активності лаккази при додаванні 10 мол.% етанолу, етиленгліколю і гліцерину через 0, 1 та 6 годин інкубації. З діаграми видно, що досліджувані розчинники по різному впливають на активність лаккази. У присутності етанолу спостерігається падіння активності ферменту до 66 % через 6 годин інкубації. Додавання 10 мол.% етиленгліколю слабо впливає на стабільність лаккази. Як видно з наведених даних, гліцерин проявляє позитивний вплив через 1 годину інкубації – спостерігається збільшення активності ферменту на 9 %, але через 6 годин активність зменшується на 7 % відносно контрольного зразка. Отримані результати свідчать про зростання залишкової активності лаккази *Trametes versicolor* при збільшенні гідроксильних груп у молекулі розчинника. Спостережувані зміни активності лаккази можуть бути результатом конформаційної перебудови білка та стабілізації активного центра ферменту через здатність полігідроксильних розчинників утворювати множинні водневі зв'язки з амінокислотними залишками лаккази. Проведені дослідження показують, що при правильному виборі розчинника можна підтримувати ефективність біокаталізу на високому рівні, що дасть змогу розширити субстратну специфічність та підвищити технологічну цінність ферменту.