

## ВПЛИВ ОРГАНІЧНИХ РОЗЧИННИКІВ НА ТЕРМОСТАБІЛЬНІСТЬ ЛАККАЗИ *TRAMETES VERSICOLOR*

Книжник І. А.<sup>1</sup>, Гордєєва Т. О.<sup>1</sup>, Гордєєва І. О.<sup>1,2</sup>, Куц О. В.<sup>1,2</sup>, Шендрик О. М.<sup>1</sup>

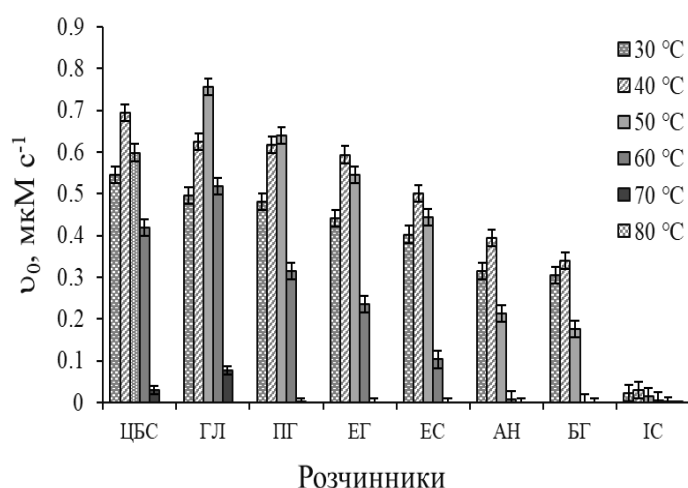
<sup>1</sup>Донецький національний університет імені Василя Стуса, Вінниця, Україна

<sup>2</sup>Інститут фізико-органічної хімії і вуглехімії ім. Л. М. Литвиненка НАН України, Київ, Україна, [knyzhnyk.i@donnu.edu.ua](mailto:knyzhnyk.i@donnu.edu.ua)

Ферментативний каталіз у водно-органічних розчинах відкрив нову область біотехнологічного застосування лакказ і лакказо-медіаторних систем, а також значно розширив потенційні можливості біокаталізаторів у таких областях застосування як синтез органічних сполук, біодеградація і детоксикація екополлютантів, відбілювання і модифікація целюлози, ферментативні біосенсори тощо. Дослідження впливу органічних розчинників на активність ферментів необхідні для встановлення оптимальних умов каталізованих ферментами перетворень, які неможливі у воді, але стають цілком здійснені та комерційно привабливі у водно-органічному середовищі. Метою роботи було дослідити вплив температури на лакказу *Trametes versicolor* у присутності 7-ми органічних розчинників різної структури, які змішуються з водою.

У роботі проведено дослідження стабільності грибною лаккази *Trametes versicolor* з концентрацією 120 мкг/мл у цитратно-фосфатному буфері (ЦФС) рН 4.5 у присутності 10 об.% органічних розчинників: гліцерину (ГЛ), пропіленгліколю (ПГ), етиленгліколю (ЕГ), етилового спирту (ЕС), ацетонітрилу (АН), бутилгліколю (БГ) та ізопропілового спирту (ІС) (Рис. 1). Активність ферменту визначали спектрофотометрично, слідкуючи за накопиченням катіон-радикала 2,2'-азино-біс(3-етилбензотіазолін-6-сульфонові кислоти (ABTS<sup>•+</sup>) за  $\lambda_{\max}$  420 нм ( $\epsilon$  36000 л/моль·см) в інтервалі температур 30 – 80 °С після 1 години інкубації. Як стандарт використовували розчин ферменту у ЦФС рН 4.5.

З результатів дослідження видно, що оптимум роботи лаккази *Trametes versicolor* у відсутності органічних розчинників спостерігається за температури 40 °С і повністю дезактивується при її підвищенні до 80 °С. Вимірювання швидкості накопичення ABTS<sup>•+</sup> у присутності розчинників показало, що використання гліцерину та пропіленгліколю приводить до підвищення термостабільності лаккази й оптимум її роботи спостерігається за температури 50 °С. Додавання багатоатомних спиртів (ГЛ, ПГ та ЕГ) не має негативного впливу на фермент на відміну від одноатомних спиртів (ЕС та ІС) та ацетонітрилу.



Використання ізопропілового спирту призводить до майже повної втрати каталітичної активності лакказою після 1 години інкубації за всіх досліджуваних температур. Це обумовлено наявністю ізопропільного радикала, який може брати участь у гідрофобних взаємодіях у молекулі ферменту, що призводить до зміни нативної конформації, а також зв'язуватись з активним центром лаккази.

**Рис. 1** Вплив 10 об.% органічних розчинників на термостабільність лаккази *Trametes versicolor*

Таким чином у роботі встановлено, що оптимум роботи ферменту майже не змінюється за наявності 10 об.% органічного розчинника та водно-органічні суміші можна використовувати в біотехнологічних цілях в інтервалі температур 30 – 50 °С.