

СЕКЦІЯ 7. БІОХІМІЯ ТА МОЛЕКУЛЯРНА БІОЛОГІЯ

УДК 582.661.21:[577.325:581.12

ОЦІНЮВАННЯ КАРБОНАГІДРАЗНОЇ АКТИВНОСТІ У РОСЛИННОГО БІЛКА *ATRIPLEX SAGITTATA*

I.С. Горбенко¹, А.В. Котинський²

^{1,2}Національний університет харчових технологій, вул. Володимирська, 68, Київ, 01601, Україна

Актуальність теми пов'язана з такими глобальними проблемами, як зміни клімату, збільшення викидів та концентрації вуглекислого газу (CO₂). Тому необхідно вивчити механізм секвестрації (CO₂) для виявлення високої ефективності карбонангідразної активності (КА) у рослин. Наукові дослідження проведені з використанням тваринного білка, підтвердили, що дана технологія, відкриває перспективи застосування механізму для вловлювання сполук вуглецю. Висока активність цих ферментів у рослинних тканинах, особливо в листках та механізми їх участі у фіксації CO₂ вивчені не достатньо [1].

Різні типи КА є ферментами, які присутні в усіх живих організмах і каталізують оборотну реакцію гідратації CO₂, прискорюючи реакцію поглинання CO₂. Рослинні КА, присутні у величезній кількості рослин, але їх здатність до впливу стимулювання CO₂ потребують додаткового дослідження.

Об'єктом дослідження слугували отримані сумарні білкові фракції з рослини *Atriplex sagittata* Bork..

Метою дослідження було за допомогою проведення експерименту перевірити здатності карбонангідразного ферменту із виділеної рослинної білкової фракції *Atriplex sagittata* B., визначити та оцінити активність за умов високої концентрації CO₂ та різних температур для рослинної КА. Оскільки даний вид є досить поширеним, але недостатньо вивченим, необхідно оцінити можливості подальших екологічних досліджень та здійснити вивчення перспективності застосування рослинних КА для технології поглинання CO₂. Рослинні КА присутні в листках у великих кількостях представлені численними формами, але їх здатність стимулювати поглинання CO₂ недостатньо досліджена.

Види *Atriplex* є представниками родини *Amaranthaceae*, який складається з близько 300 видів, серед яких містяться рослини з C₃ - фотосинтезом, так і C₄ - фотосинтезом. Місцем поширення роду *Atriplex*, рослини *A. sagittata* є Центральна, а також Східна Європа до Центральної Азії. Вид теплолюбний, стійкий до посухи та засоленості ґрунту та підходять для використання з метою відновлення деградованих посушливих та напів посушливих земель [2].

Для дослідження ми використовували свіжозібраний рослинний об'єкт зібраний у місті Києві, 2024 році. Щоб отримати сумарні білкові фракції рослини та здійснення первинного очищення дотримувалися методу *Makino* [3].

Після методу центрифугування для подальшого аналізу отриманий білок охолоджують. При визначенні в екстракції концентрації загальних білків *A. sagittata*, оптичну щільність білку виміряли за методикою *Bradford* [4].

Вимірювання здатності КА в сумарних білкових фракціях досліджуваного

об'єкту здійснювали за методом *Capasso*. В умовах використання крижаної бані у попередньо охолоджені дві пробірки, додавали 1 мл 25 мМ *tris-SO₄* (рН 8,3), що містив бромтимоловий синій барвник. До однієї пробірки додавали 20 мкг розчин білку, а в другу пробірку додавали еквівалентну кількість буфера як контрольну [5].

Встановлено, що за умови додавання до білку рослини 20 % гліцерину, КА залишається при заморожуванні та розморожуванні. Спостерігали зміну забарвлення під час проведення КА у буферному розчині з білком, для цього досліду відміряли по 20 мкг білку без гліцерину, результати були розраховані в одиницях *Wilbur-Anderson* (WAU). Швидкість реакції після наступних температур становила: 0°C від 1,06 до 1,46 WAU/мг; після перебуванні 40 °C у термостаті до 25 год. від 0,48 до 0,68 WAU/мг та за умов перебування до 93 год. КА не відбувається від -0,3 до -1 WAU/мг; при 60°C до 3 год. 0,07 до 0 WAU/мг. При додаванні до білку 20 % гліцерину для досягнення тривалішого зберігання, КА при 0°C: від 0,68 до 0,39 WAU/мг; після 20 год. у термостаті при 40 °C від 0,14 до 0,20 WAU/мг; до 2 год. при 60°C від 0,03 WAU до -0,01 WAU .

Отже, згідно з результатами дослідження, враховуючи всі отримані дані після аналізу білку *A. sagittata* було виявлено чутливість рослинного білку і КА, яка залежить від впливу температури і часу перебування у термостаті. Встановлено, що при високій температурі, КА зменшується, а за умови додавання до білку 20 % гліцерину і витримування при температурі 40 °C спостерігали збереження КА в досліджуваному об'єкті.

Література

1. Chaf, A.; Hassania, K. E.; Essamadib, A.; Yildirim Ç. S., Mavi A. Efficient sequestration of carbon dioxide into calcium carbonate using a novel carbonic anhydrase purified from liver of camel (*Camelus dromedarius*) [Online] 2020.

2. Royal Botanic Gardens, Kew.

<https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:164128-1#distributions>

3. Makino, A.; Sakashita, H.; Hidema, J.; Mae, T.; Ojima, K.; Osmond, B. Distinctive Responses of Ribulose-1,5-Bisphosphate Carboxylase and Carbonic Anhydrase in Wheat Leaves to Nitrogen Nutrition and their Possible Relationships to CO₂-Transfer Resistance [Online] 1992, vol. 100, pp. 1737-1743. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.100.4.1737>

4. Bradford, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, [Online] 1976, vol. 72(1-2), pp. 248-254.

5. Capasso, C.; De Luca, V.; Carginale, V.; Cannio, R.; Rossi, M. Biochemical

properties of a novel and highly thermostable bacterial α carbonic anhydrase from *Sulfurihydrogenibium yellowstonense*. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* [Online] 2012, vol. 27, pp. 892-897. Doi: <https://doi.org/10.3109/14756366.2012.703185>