

3. Тюпа, Д. В. Биосорбция тяжелых металлов и биоформирование наночастиц серебра устойчивыми к металлам микроорганизмами : автореф. дис. ... канд. биолог. наук : 03.01.06 / Д. В. Тюпа. – М., 2014. – 20 с.

4. Green Synthesis of Metallic Nanoparticles via Biological Entities / M. Shah [et al.] // Materials. – 2015. – 8. – P. 7278-7308.

5. Synthesis of nanoparticles by microorganisms and their application in enhancing microbiological reaction rates / X. Zhang [et al.] // Chemosphere. – 2011. – 82. – P. 489-494.

УДК 579.22:577.152.1

Т. В. Семашко, вед. науч. сотр., канд. биол. наук;
Л. А. Жуковская, ст. науч. сотр., канд. биол. наук
(Институт микробиологии НАН Беларуси, г. Минск)

ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА НА ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ГЛЮКОЗООКСИДАЗЫ *PENICILLIUM ADAMETZII* С МЕДИАТОРАМИ РАЗЛИЧНОЙ ПРИРОДЫ

Среди биологически активных веществ микроорганизмов особое место занимают ферменты – регуляторы активности метаболических процессов в клетке. Исследование ферментов, их синтеза, активности и функциональной значимости необходимо для установления контрольных механизмов клеточного метаболизма с целью наиболее эффективного использования биосинтетического аппарата микроорганизмов-продуцентов и создания современных биотехнологий получения и применения продуктов микробиологического синтеза. Ферменты необходимы для заместительной и противовоспалительной терапии, перспективно их использование в качестве промежуточных и вспомогательных средств при получении ряда фармацевтических препаратов. Благодаря высокой чувствительности и специфичности действия, ферменты являются уникальными аналитическими реагентами, применяемыми в клинической диагностике – в ферментных, иммуноферментных анализах, а также в биосенсорах.

Особый интерес для практического использования представляют ферменты класса оксидоредуктаз, такие как глюкозооксидаза.

Глюкозооксидаза (КФ 1.1.3.4) широко используется в пищевой, химической промышленности. Она синтезируется мицелиальными грибами, преимущественно родов *Aspergillus* и *Penicillium*. Это незаменимый фермент в клинической диагностике, позволяющий определить содержание глюкозы в биологических жидкостях. Детекция глю-

kozy в крови – один из самых распространенных методов анализа, назначаемых пациентам [1].

Использование новейших наноматериалов позволяет улучшить каталитические характеристики ферментов, а также технические параметры (чувствительность и селективность) устройств, изготовленных на их основе. Многими научными группами во всем мире разрабатываются подходы к созданию сенсорных элементов с использованием нанотехнологий. На настоящий момент это одно из самых перспективных направлений исследований [2-4].

Цель работы – анализ влияния наночастиц серебра на взаимодействие глюкозооксидазы *Penicillium adametzii* ЛФ F-2044.1 с медиаторами различной природы (далее *P. adametzii*).

Объектом исследования был ферментный препарат глюкозооксидазы гриба *P. adametzii*. Для его получения гриб выращивали на жидкой питательной среде оптимизированного состава. Очистку фермента осуществляли методом ионообменной хроматографии на колонке при использовании в качестве сорбента DEAE-ceramic (Германия). В результате очистки получен препарат глюкозооксидазы с удельной активностью 96 ед/мг. В качестве медиаторов глюкозооксидазы использовали $C_{10}H_{10}Fe$, $C_{16}H_{18}N_2SO_4$, $C_{15}H_{17}ClN_4$, $C_{16}H_{18}ClN_3S$. Размер используемых в опытах наночастиц серебра составлял 6-12 нм.

Результаты зависимости кинетических параметров взаимодействия фермента с избранными медиаторами приведены в таблице.

Таблица - Влияние медиаторов и наночастиц серебра на активность глюкозооксидазы

| Медиатор | Кинетические параметры | Кинетические параметры | |
|-----------------------|-----------------------------|------------------------|----------------------------------|
| | | без наночастиц | с добавлением наночастиц серебра |
| 1 | 2 | 3 | 4 |
| $C_{10}H_{10}Fe$ | $V_{max}, 10^{-6} M/c$ | 17,2 | 16,2 |
| | K_m, mM | 21,7 | 19,1 |
| | k_{kat}, c^{-1} | 1433,3 | 1349,9 |
| | $k_{kat}/K_m, M^{-1}c^{-1}$ | 66052,2 | 70677,8 |
| $C_{16}H_{18}N_2SO_4$ | $V_{max}, 10^{-6} M/c$ | 14,5 | 12,3 |
| | K_m, mM | 10,5 | 7,5 |
| | k_{kat}, c^{-1} | 1115,4 | 1025,0 |
| | $k_{kat}/K_m, M^{-1}c^{-1}$ | 106227,1 | 136661,2 |
| $C_{15}H_{17}ClN_4$ | $V_{max}, 10^{-6} M/c$ | 11,6 | 9,4 |
| | K_m, mM | 12,8 | 8,1 |
| | k_{kat}, c^{-1} | 1160,0 | 783,3 |
| | $k_{kat}/K_m, M^{-1}c^{-1}$ | 90625,0 | 96704,0 |

Продолжение таблицы

| 1 | 2 | 3 | 4 |
|----------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|---------|----------|
| C ₁₆ H ₁₈ ClN ₃ S | V _{max} , 10 ⁻⁶ М/с | 13,6 | 10,1 |
| | K _m , mM | 12,7 | 8,1 |
| | k kat,с ⁻¹ | 1133,3 | 841,6 |
| | k kat/K _m , М ⁻¹ с ⁻¹ | 89238,8 | 103905,3 |
| Контроль | V _{max} , 10 ⁻⁶ М/с | 15,6 | 11,0 |
| | K _m , mM | 14,6 | 9,1 |
| | k kat,с ⁻¹ | 1300,0 | 916,6 |
| | k kat/K _m , М ⁻¹ с ⁻¹ | 89041,1 | 100728,6 |

Установлено, что при использовании наночастиц серебра максимальная скорость окисления (V_{max}) глюкозы уменьшалась на 6-29 %. Показатели сродства фермента к субстрату (K_m) и эффективности окисления глюкозы (k kat/K_m) возрастали на 12-38 и 7-29 % соответственно. Лучшие результаты по эффективности окисления глюкозы (106227,1 М⁻¹с⁻¹ и 136661,2 М⁻¹с⁻¹) получены при использовании в качестве медиатора C₁₆H₁₈N₂SO₄.

Таким образом, проведен анализ влияния наночастиц серебра на глюкозооксидазу *P. adametzii* и ее взаимодействие с медиаторами. Наиболее эффективным по степени окисления глюкозы является C₁₆H₁₈N₂SO₄. Показано, что наночастицы серебра снижают V_{max}, но увеличивают K_m и k kat/K_m.

Работа выполнена в рамках проекта Б19УЗБГ-006, финансируемого ГКНТ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Glucose oxidase – an overview / S.B. Bankar [et al.] // Biotechnol. Adv. – 2009. – Vol. 27. – P. 489–501.
2. A review on functionalized gold nanoparticles for biosensing applications / S. Zeng [et al] // Plasmonics. – 2011. – Vol. 6. – P. 491–506.
3. Weiss, P.S. Nanoscience and nanotechnology: present and future / P.S.Weiss // ACS Nano. – 2010. – Vol. 4, N. 4. – P. 1771–1772.
4. Preparation of silver nanoparticles by pulse sonoelectrochemical method and studying their characteristics / L.V. Vu [et al.] // J. Phys. Conf. Ser. – 2009. – Vol. 187. – P. 1–9.