

УДК 577.152.34:577.151.5

Нідялкова Н.А.

Институт мікробіології та вірусології ім. Д. К. Заболотного  
НАН України, Київ**ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕПТИДАЗИ *BACILLUS THURINGIENSIS*  
З ЕЛАСТОЛІТИЧНОЮ І ФІБРИНОЛІТИЧНОЮ ДІЄЮ**

На сьогоднішній день в світовій літературі описані продуценти пептидаз з еластолітичною і фібринолітичною дією, що належать до різних таксономічних груп мікроорганізмів, зокрема, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Vibrio*, *Aspergillus*, *Streptomyces* та інші. Раніше було отримано мутантний варіант *Bacillus thuringiensis* з підвищеним синтезом пептидази із згаданими вище властивостями. Пептидазу виділяли з комплексного ферментного препарату, отриманого шляхом осадження білків супернатанту культуральної рідини *Bacillus thuringiensis* сульфатом амонію 90% ступеня насичення. Очистку ферментного препарату здійснювали хроматографією на заряджених і нейтральних TSK-гелях. Активність очищеного ферментного препарату становила 100 Од/мг білка, що майже в 30 разів більше в порівнянні з супернатантом культуральної рідини. Молекулярна маса ферменту, визначена гель-фільтрацією на Sepharose 6B із використанням білків-маркерів (від 14 до 67 кДа), складала приблизно 28 кДа. Дослідження швидкості гідролізу ряду нативних субстратів показало, що пептидаза *B. thuringiensis* має широку субстратну специфічність і, крім еластину і фібрину, ефективно гідролізує ряд білкових субстратів - казеїн, гемоглобін, колаген і фібриноген. Показано, що ензим також із високою швидкістю гідролізує трипептиди із залишками ала, лей і фен в позиції P1, тобто проявляє субстратну специфічність, подібну до пептидаз субтилізинового типу. Крім того фермент гідролізує *n*-нітробензиловий ефір-ІМ-тозил аргініну, тобто володіє трипсинподібною естеразною активністю. Дослідження впливу групоспецифічних хімічних реагентів показало, що активність ензиму інгібує фенолметилсульфонілфторид (ФМСФ) майже на 100%, не впливають на активність тіолові реактиви: дитіотреїтол і *M*-етилmaleїмід, а також хелатуючі агенти. Оскільки ФМСФ є інгібітором практично всіх серинових пептидаз з трипсиноподібною специфічністю і ковалентно зв'язується з гістидином або серином активного центру, то можна припустити, що досліджувана пептидаза належить до групи пептидаз серинового типу. Наявність гістидину в активному центрі пептидази *B. thuringiensis* підтверджено даними реакції фотоокислення імідазольного кільця гістидину метиленовим синім. Встановлено, що активність ферменту необернено інгібується 1-[3-(диметиламіно)пропіл]-3-етилкарбодіімідом, який здатний зв'язувати каталітично активні карбоксильні групи ензимів, частіше за все це карбоксильні групи аспарагінової або глютамінової кислот. Отже пептидаза *B. thuringiensis* належить до групи пептидаз серинового типу. Скоріше за все це клан SB - клан серинових пептидаз субтилізинового типу, де каталітично активними залишками є тріада амінокислот аспарагін-серин-гістидин.

Науковий керівник – Л.Д.Варбанець, д.б.н., проф.