

Очистка і фізико-хімічні властивості протеаз *Bacillus sp.* IMV B-7883

Гудзенко О. В., Варбанець Л. Д.

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАНУ, Київ

Важливими промисловими ферментами, синтезованими різними типами мікроорганізмів, а також деякими рослинами і тканинами тварин, є протеази. Проте мікроорганізми через їх швидкий ріст і простоту культивування є кращими продуцентами ферментів. Протеази використовуються у виробництві миючих засобів (для видалення білкових забруднень); в текстильній промисловості для обробки вовняних, шовкових і шкіряних виробів і поліпшення їх споживчих властивостей, для зневолосіння шкір при виробництві шкіри; в різних галузях харчової промисловості для отримання білкових гідролізатів, для розм'якшення м'яса і риби, для отримання клеїв; у сільському господарстві — як кормова добавка, а також для утилізації пир'я та виробництва з нього кормової продукції. Представники *Bacillus* є одними з найкращих продуцентів протеаз, вивчених досі, оскільки вони виявляють такі властивості, як широка субстратна специфічність, значна активність, стабільність, короткий період ферментації та низька вартість.

Раніше ми показали, що штам *Bacillus sp.* IMV B-7883 синтезує складний позаклітинний протеазний комплекс, який проявляє, зокрема, еластолітичну та фібриногенолітичну дію. Метою роботи було виділити та очистити ці ферменти із супернатанту культуральної рідини штаму-продуцента *Bacillus sp.* IMV B-7883, а також вивчити їх фізико-хімічні властивості та субстратну специфічність. Виділення та очищення протеолітичного комплексу *Bacillus sp.* IMV B-7883 проводили класичними біохімічними методами: осадженням супернатанту культуральної рідини сульфатом амонію 90% насиченості, гель-проникною та іонообмінною хроматографією та рехроматографією на Sepharose 6B. У результаті активність еластази підвищилась у 63,6 раза (4138 од/мг білка), а фібриногенолітична активність — у 44,07 раза (833 од/мг білка). Як і ферменти інших відомих виробників, досліджувані протеази мали низьку молекулярну масу 23 і 20 кДа відповідно для протеази з еластолітичною та фібриногенолітичною активністю. На відміну від описаних у літературі еластаз, які є лужними протеазами, фермент з еластазною активністю мав рН-оптимум 7,0, тоді як фермент з фібриногенолітичною активністю був лужною протеазою з рН-оптимумом 8,0. Термооптимум обох протеаз знаходиться при 40°C.

Дослідження субстратної специфічності ферментів показали, що протеаза з еластазною активністю гідролізує лише еластин, тоді як протеаза з фібриногенолітичною активністю, крім фібриногену, виявляє специфічність також до фібрину та, у слідових кількостях, до колагену.