

ИССЛЕДОВАНИЕ ХАРАКТЕРИСТИК ИММОБИЛИЗОВАННОЙ СОВМЕСТНО СО СТАБИЛИЗАТОРАМИ БИФЕРМЕНТНОЙ СИСТЕМЫ НАДН:ФМН- ОКСИДОРЕДУКТАЗА-ЛЮЦИФЕРАЗА

Лоншакова В.И.

Научный руководитель – к. б. н. Есимбекова Е.Н.

Сибирский федеральный университет

В настоящее время для решения различных задач экологического мониторинга широко применяются методы с использованием реагентов, основанных на ферментах светящихся бактерий. Одним из наиболее перспективных реагентов является препарат «Энзимолум», представляющий собой включенную в крахмальный гель совместно с субстратами биферментную систему светящихся бактерий. Однако иммобилизованный реагент при хранении (~1 год при 4⁰С) теряет активность почти в 5 раз. Внесение в состав иммобилизованного реагента специализированных добавок может привести к дополнительной стабилизации ферментов, что позволит улучшить характеристики многокомпонентного иммобилизованного реагента.

Целью работы является разработка многокомпонентного иммобилизованного реагента на основе биферментной системы светящихся бактерий НАДН:ФМН-оксидоредуктаза-люцифераза, отличающегося высокой активностью и длительным сроком хранения при обеспечении высокой чувствительности к действию токсических веществ.

Варьировали содержание в реагенте стабилизаторов (ДТТ, БСА, меркаптоэтанол). Концентрация стабилизаторов выбиралась на основании исследований проведенных ранее для растворимых ферментов. Реагент представляет собой высушенный диск диаметром 6-7 мм, сухой вес $1,5 \pm 0,2$ мг. Количество люциферазы в диске: 0,2 мкг.

Активность реагента определяли по величине максимальной интенсивности свечения I_{\max} (выраженной в условных единицах), константе спада $k_{\text{сп}}$ и времени выхода свечения на максимум T_{\max} , в реакционной смеси следующего состава: иммобилизованный реагент, 300 мкл дистиллированной воды, 10 мкл $5 \cdot 10^{-4}$ М раствора ФМН.

Показано, что включение в состав иммобилизованного многокомпонентного реагента стабилизаторов ферментов позволяет существенно увеличить интенсивность свечения реагента. При включении в состав реагента ДТТ, меркаптоэтанола или БСА интенсивность свечения увеличивается в 1,5, 1,5 и 3 раза соответственно.

Наибольший стабилизирующий эффект при сохранении чувствительности к действию токсических веществ наблюдается при внесении в иммобилизованный реагент $1 \cdot 10^{-4}$ М дитиотрейтола.