

ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОТЕАЗИ *STREPTOMYCES* SP.

Н. Нідялкова¹, Л. Варбанець¹, К. Гаркава², Л. Трошина²

¹Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України
вул. Заболотного, 154, Київ 00143, Україна

²Національний авіаційний університет
просп. Космонавта Комарова, 1, Київ 00143, Україна
e-mail: Nidialkova@gmail.com

N. Nidialkova, L. Varbanets, K. Garkava, L. Troshina. CHARACTERISTICS OF *STREPTOMYCES* SP. PROTEASE. New protease isolated from *Streptomyces* sp. 12 was studied. The maximal specific proteolytic activity of purified protease was 538 U·mg of protein⁻¹, Mr is about 35.6 kDa and optimal conditions of hydrolysis give effect at pH 8.0 and temperature 50 °C. These enzyme properties permit to use it in creation of medicines for the treatment of the trophic ulcers, festering wounds, burns, and in the leather industry for skin softening.

Серед продуцентів протеаз важливе місце посідають ґрунтові мікроорганізми, які належать до різних таксономічних груп, але більшість із них представлена стрептоміцетами. Зацікавленість до них обумовлена тим, що вони здатні продукувати протеолітичні ензими із різною субстратною специфічністю, які є безпечними для використання у виготовленні продуктів харчування і лікарських засобів (FDA-approved or GRAS). Крім того, субстратна специфічність позаклітинних протеаз стрептоміцетів може бути використана у систематиці цих мікроорганізмів. Тому метою даної роботи було виділення й очищення протеази *Streptomyces* sp. 12, а також вивчення її фізико-хімічних властивостей, субстратної специфічності та функціональних груп активного центру. Цей штам раніше був відібраний у результаті скринінгу серед 45 штамів *Streptomyces* sp., виділених із ризосфери різних рослин.

Виділення протеази *Streptomyces* sp. 12 здійснювали фракціонуванням сульфатом амонію (90 % насичення), гель-фільтраційною та іонообмінною хроматографіями на TSK-гелях – Toyopearl HW-55, DEAE 650(M) і Sepharose 6B. У результаті очищення питома активність ензиму досягала 538 од·мг протеїну⁻¹, вихід його – 35,8 %. Із застосуванням протеїнів-маркерів було показано, що молекулярна маса досліджуваної протеази становить близько 35,6 кДа. Встановлено, що ензим *Streptomyces* sp. 12 проявляє високу специфічність до колагену, що може бути обумовлено спорідненістю протеази до амінокислотних залишків Gly і/або Pro, які переважають у структурі молекули колагену. Більш низьку активність ензим проявив до казеїну, альбуміну і желатину.

Визначення рН- і термооптимуму дії протеази показало, що ензим активно гідролізує колаген у лужній зоні рН з оптимумом при 8,0 та температурі 50 °C. Дослідження впливу групоспецифічних хімічних реагентів (0,01 M) показали, що колагеназна активність очищеної протеази *Streptomyces* sp. 12 не пригнічувалась інгібіторами серинових і аспарагінових протеаз, але повністю інгібувалась хелаторами: о-фенантроліном і ЕДТА, що свідчить про належність ензиму до групи металопротеаз.

Таким чином, вперше показано, що протеаза *Streptomyces* sp. 12, виділена з ризосфери кропиви, характеризується широкою субстратною специфічністю і гідролізує як легкорозчинні протеїни казеїн, альбумін і желатин, так і важкорозчинний – колаген, по відношенню до якого ензим проявляє найбільшу активність. Встановлено, що досліджуваний ензим є металопротеазою з молекулярною масою ~35,6 кДа. Оптимальними умовами її дії на колаген є рН 8,0 і температура 50 °C. Дані властивості протеази *Streptomyces* sp. 12 можуть бути використані при розробці лікарських препаратів, які використовуються у створенні медичних препаратів для лікування трофічних виразок, гнійних ран, опіків, а також у шкіряній промисловості для м'якшення шкіри.