

## СУБСТРАТНАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ АЛКОГОЛЬДЕГИДРОГЕНАЗЫ

*Золотарева Н.В., Лапина Г.П.*

Тверской государственный университет

Алкогольдегидрогеназа (АДГ) (КФ 1.1.1.1) — сульфгидрильный, металлоэнзим, содержащий 4 атома цинка. АДГ катализирует окисление ароматических и алифатических спиртов до соответствующих кетонов и альдегидов, используя при этом в качестве кофермента никотинамидадениндинуклеотид (NAD).

Цель данной работы — изучение структуры, строения, свойств и специфичности АДГ, а также молекулярных механизмов его действия и регуляции ферментативных процессов. Работа посвящена выделению, очистке и последующему изучению кинетических параметров АДГ. Нами использовались следующие методы: метод биуретовой реакции (для расчета концентрации выделенного фермента), фотометрический метод определения активности АДГ.

По данным литературы изучение АДГ показало, что молекула фермента имеет два активных центра. Из четырех атомов цинка два существенны для проявления каталитической активности, а два других выполняют, по-видимому, структурную функцию.

В настоящее время недостаточно изучен механизм отравлений живых организмов метанолом и этиленгликолем, а также выведение организма из состояния острой интоксикации этанолом и его аналогами, что в настоящее время очень актуально. Такое отравление — результат критического повышения в крови содержания альдегидов. Известно лишь, что образование критических количеств альдегидов можно избежать путем ингибирования активности АДГ. Известна способность подавлять активность АДГ рядом химических веществ. К числу известных ингибиторов АДГ относятся метиаден, аклюрацил, нирванол, тизериум и др. Влияние метиадена, аклюрацила, нирванола, тизериума на ферментативное поведение АДГ изучено в настоящей работе, на основе анализа измеренных и рассчитанных ферментативных параметров АДГ.

- 1.Щорс Е.С., Либинзон Р.Е. Биохимические аспекты алкоголизма// Химико-фармацевтический журнал. - 1978. - №7.-с. 3-13
- 2.Родионова Г.Е. Сметанникова Н.В. Субстратная специфичность алкогольдегидрогеназы // сб.тез. XVI Российская молодежная научная конференция “Проблемы теоретической и экспериментальной химии”, посвященная 85-летию со дня рождения профессора В.П. Кочергина Уральского Государственного Университета. Екатеринбург - 2006.-с.26
- 3.Родионова Г.Е. Сметанникова Н.В. Ферментативные характеристики алкогольдегидрогеназы // сб. тез. V научная конференция аспирантов и студентов химического факультета, посвященная 35-летию Тверского Государственного Университета. Тверь.- 2006. -с.30

## МОЛЕКУЛЯРНАЯ МАССА О-ДИФЕНОЛОКСИДАЗЫ ЛЬНА

Таланцева Ю.Н., Лихуща П.С., Малышук М.П., Лапина Г.П.

Тверской государственный университет

О-Дифенолоксидаза (о-ДФО) (К.Ф. 1.10.3.1) — фермент из класса оксидоредуктаз, действующий на дифенолы и родственные им соединения в качестве донора. Данная работа посвящена определению молекулярной массы о-ДФО биотканей льна.

Ферментный препарат выделяли из проростков льна-долгунца по методике, предложенной В.Д. Анисимовым, Т.Б. Кастальевой [1] с собственными модификациями.

Для определения различных ферментативных характеристик необходимо использовать гомогенный препарат о-ДФО. Методом гель-фильтрации через сефадекс G-75 была установлена гомогенность выделенного ферментного препарата (рис.1). Использование метода гель-фильтрации позволяет определить один из важнейших параметров — молекулярную массу изучаемого фермента по графику селективности [2]. Рассчитано значение молекулярной массы фермента, составившее  $60000 \pm 4200$ .

Электрофорез о-ДФО проводили на агарозе с использованием программы DenStar 4000 и подтвердили гомогенность фермента. Для определения молекулярной массы был построен калибровочный график по известным молекулярным массам трех белков-маркеров (коммерческие препараты): пероксидаза хрена (ПОХ); алкогольдегидрогеназа (АДГ); сывороточный альбумин человека (САЧ). По графику рассчитали значение молекулярной массы о-ДФО льна составившее  $58000 \pm 4060$  (рис.2).

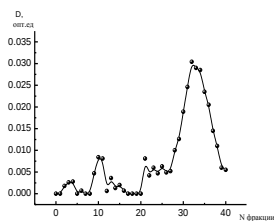


Рис.1. Кривая сбора фракций о-ДФО при гель-фильтрации через сефадекс G-75. Параметры колонки:  $H=55$  см,  $D=1$  см, элюирующий раствор 0,1 М хлористый натрий, скорость потока 12 мл/ч, фракции 3 мл,  $t=20^\circ\text{C}$ .

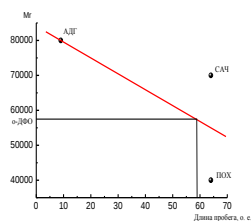


Рис.2. Калибровочный график для определения молекулярной массы о-ДФО