ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ И ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ СВОЙСТВА ПЕРОКСИДАЗ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Лапина Г.П., Шарилина Н.С., Малыщик М.П.

Тверской государственный университет

Тверь, Россия

Последние десятилетия пероксидазу изучают в связи с различными функционально-биохимическими показателями. Получен обширный экспериментальный материал, свидетельствующий о связи пероксидазы с целым рядом метаболических превращений, происходящих в клетке. Однако физико-химические характеристики растительных пероксидаз строго специфичны и требуют детального исследования.

Нами выделены и исследованы пероксидазы корня Аира болотного и льна. Установлена различная экстрагирующая способность пероксидазы корня Аира болотного при варьировании pH экстрагирующего буфера. Рассчитана доля пероксидазы во фракции суммарных белков, составившая 94% при pH экстрагирующей системы 4,4; 91% (pH 5,4); 92% (pH 7,4). Получены экстракты пероксидазы корня Аира болотного и определено содержание фермента, составившее: 4,8 г/л (pH 4,4); 1,0г/л (pH 5,4); 6,8 г/л (pH 7,4). Методом электрофореза на целлогеле впервые было определено значение молекулярной массы пероксидазы корня Аира болотного при различных значениях pH. Различные значения pH среды формируют различные (от 2 до 4 молекул фермента) ассоциаты пероксидазных молекул.

Определено содержание пероксидазы льна в экстрагирующем растворе (ацетатный буфер pH 5,7), которое составило $1{,}26 \cdot 10^{-10}$ моль/л. Показана зависимость ферментативного поведения фермента от pH среды на основе определения и анализа значений ферментативных характеристик: K_m, K_{kat} и V_{max}. Установлено, что скорость реакции пероксидазного окисления определяется pH водного раствора. Изучено влияние ионной силы раствора на кинетические особенности ферментативного процесса с использованием расчетного метода определения важнейших каталитических параметров пероксидазы льна. Рассчитаны важнейшие ферментативные характеристики пероксидазы: Km, Vmax, Kkat, -при варьировании ионной силы ацетатного буфера от 0,001 М до 0,3 М. Найдены и обсуждены специфические закономерности изменений K_m и V_{max} в изучаемом интервале ионных сил. Выявлено влияние электростатических взаимодействий на формирование фермент-субстратного комплекса и на образование более развернутой (денатурированной) формы биокатализатора, катализирующего ферментативную реакцию.