

# ИЗУЧЕНИЕ КИНЕТИКИ ТЕРМОИНАКТИВАЦИИ ОКСИДАЗЫ D-АСПАРАГИНОВОЙ КИСЛОТЫ ИЗ ДРОЖЖЕЙ *OGATAEA POLYMORPHA* DL1.

<sup>1</sup>Ушакова Ю.А., <sup>1,2</sup>Атрошенко Д.Л., <sup>1,2,3</sup>Тишков В.И.

1 - Химический факультет Московского государственного университета имени М.В.

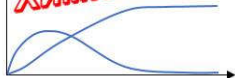
Ломоносова, Москва, Россия;

2 - ООО «Инновации и высокие технологии МГУ», Москва, Россия;

3 - ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, Россия;



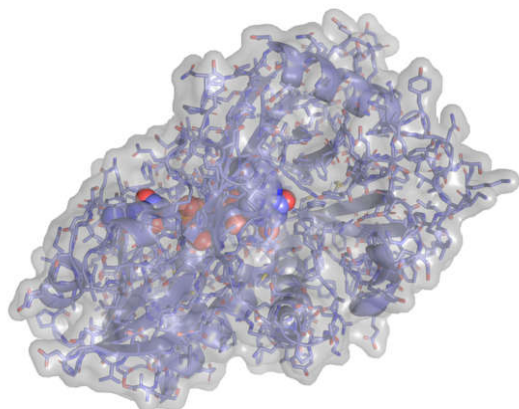
ХимКин 2019



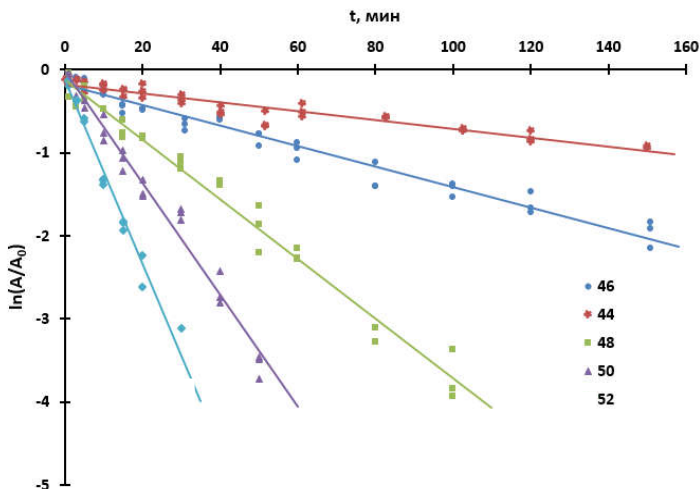
## Оксидаза D-аспарагиновой кислоты из дрожжей *Ogataea polymorpha* DL1 (OraDASPO)

Оксидаза D-аспарагиновой кислоты (DASPO, EC 1.4.3.1) – это фермент, который окисляет D-аспарагиновую кислоту в оксалоацетат с образованием пероксида водорода и иона аммония. Фермент содержит молекулу флавинадениндинуклеотида в качестве кофактора.

Кроме D-аспарагиновой кислоты DASPO также проявляет высокую активность к D-глутаминовой кислоте. С остальными D-аминокислотами DASPO практически не взаимодействует.



## Температурная стабильность OraDASPO при различных температурах

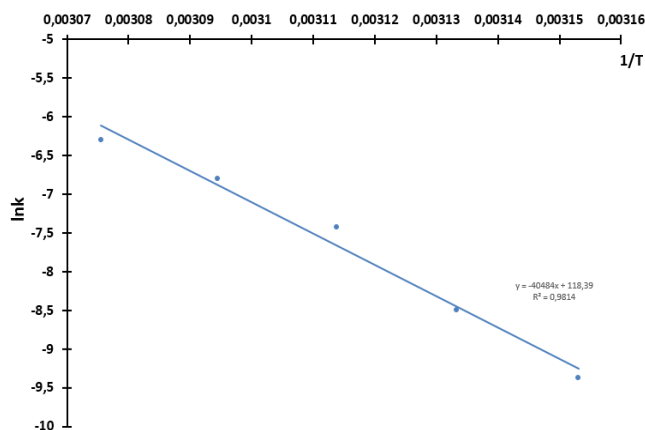


## Изучение кинетики инактивации OraDASPO

В данной работе была исследована температурная стабильность OraDASPO с использованием кинетики термоинактивации. Инактивацию фермента проводили при повышенных температурах в 20 мМ NaPB pH 7,0 с добавлением 10 об% глицерина. Из полученных данных были определены константы скорости инактивации и был предложен механизм термоинактивации OraDASPO.

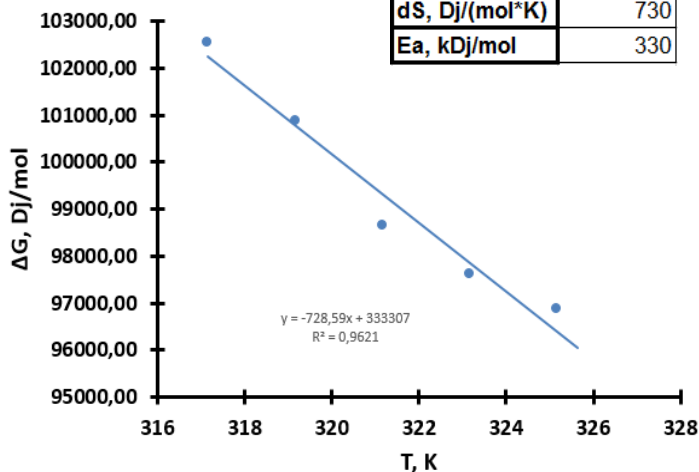
T, °C	k, 1/min	k, 1/s	T, K	1/T, K <sup>-1</sup>	ln(k)	ln(k/T)
44	0,0051	0,000085	317,15	0,00315308	-9,37286	-15,1322
46	0,0123	0,000205	319,15	0,00313332	-8,4925	-14,2582
48	0,0359	0,000598	321,15	0,00311381	-7,42136	-13,1933
50	0,0671	0,001118	323,15	0,00309454	-6,79592	-12,574
52	0,1103	0,001838	325,15	0,0030755	-6,2989	-12,0832

## Температурная зависимость константы скорости реакции



## Термодинамические параметры процесса инактивации OraDASPO

dH, kJ/mol	330
dS, Dj/(mol*K)	730
Ea, kDj/mol	330



## Выводы:

1. Изучен механизм термоинактивации оксидазы D-аспарагиновой кислоты из дрожжей *Ogataea polymorpha* DL1. Показано, что экспериментальные зависимости остаточной активности от времени описываются экспоненциальной моделью.
2. Определены значения константы скорости процесса температурной инактивации OraDASPO. Уменьшение температурной стабильности OraDASPO обусловлено уменьшением энергии Гиббса процесса инактивации.
3. Определены термодинамические параметры температурной инактивации для OraDASPO. Полученные значения соответствуют процессам, связанным с необратимой денатурацией белковой глобулы.

Работа выполнена при поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (грант №18-34-00594 мол\_а)