

**Получение димерной формы трансаминазы из *Thermobaculum Terrenum* и анализ её каталитических свойств.**

**Научный руководитель – Ракитина Татьяна Владимировна**

*Комолов А.С.<sup>1</sup>, Бакунова А.К.<sup>2</sup>*

1 - Московский физико-технический институт, Москва, Россия, *E-mail: askomolov@mail.ru*; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Химический факультет, Кафедра химии природных соединений, Москва, Россия, *E-mail: albakunova@mail.ru*

При химическом синтезе органических соединений, используемых в качестве активных компонентов лекарств или биологически активных добавок, часто образуются их оптические изомеры, которые могут не усваиваться организмом и быть не пригодными для использования. В частности, такая проблема возникает при синтезе аминокислот. Для решения данной проблемы могут быть использованы ферменты класса трансаминаз (амино-трансфераз). Недавно, нами была получена и исследована PLP-зависимая трансаминаза IV типа из термофильной бактерии *Thermobaculum Terrenum* (ТаТТ). Было установлено, что данная трансаминаза обладает высокой термостабильностью и устойчивостью к воздействию органических растворителей. Кроме того, оказалось, что, в отличие от своих аналогов из других микроорганизмов, которые являются димерами, ТаТТ в растворе существует в виде гексамера. Так как роль четвертичной структуры ТаТТ для её активности и стабильности была непонятна, было решено попробовать получить димерную форму ТаТТ и изучить её основные характеристики.

Для достижения поставленной задачи было решено провести мутагенез ранее заклонированного гена ТаТТ методом Quick Change. Выбор аминокислотных остатков для замены проводили на основании молекулярно-динамических исследований, которые показали, что гексамер с заменами серии заряженных аминокислот на незаряженные может распадаться на 3 димера. Для полученных мутантных белков были определены каталитические свойства в реакции переноса аминокислотной группы с L-Leu на  $\alpha$ -кетоглутарат. Олигомерный состав мутантов определялся методами нативного электрофореза в полиакриламидном геле (Native-PAGE), а также методом гель-фильтрационной хроматографии. В результате данного исследования было показано, что активность фермента изменяется, с изменением олигомерного состава.