

## Изучение свойств мутантных форм пенициллинацилазы из *E.coli*

**Ясная А.С.<sup>2</sup>, Ямскова О.В.<sup>1,3</sup>, Хороненкова С.В.<sup>2</sup>**

аспирант

<sup>1</sup>Факультет Биоинженерии и биоинформатики, <sup>2</sup>Химический факультет и

<sup>3</sup>НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского

Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

E-mail:anna.yasnaya@gmail.com

Пенициллинацилаза (КФ 3.5.1.11, ПА) представляет собой фермент, относящийся к классу гидролаз, подклассу амидогидролаз. ПА была открыта и охарактеризована, как катализатор гидролиза амидной связи в антибиотиках пенициллинового ряда. В настоящее время ПА из *Escherichia coli* применяется при получении полусинтетических β-лактамных антибиотиков — пенициллинов и цефалоспоринов. Кроме того, ПА из *E.coli* обладает широкой субстратной специфичностью и высокой стереоспецифичностью, что делает возможным её применение в тонком органическом синтезе для получения оптически чистых соединений и разделения энантиомеров из рацемической смеси.

В данной работе был получен, выделен и охарактеризован двойной мутант ПА, содержащий замены в положениях α149 и β384. Кроме того, нами были оптимизированы условия культивирования штаммов продуцентов, выделены в гомогенном виде и изучены каталитические свойства четырех точечных мутантов ПА по положению.

Точечные мутанты ПА, содержащие лизин и аргинин, и двойной мутант в реакции гидролиза специфического субстрата *n*-нитро-*m*-карбоксиянилида фенилуксусной кислоты (NIPAB) обладают большей (в несколько раз) каталитической активностью по сравнению с ПА дикого типа (wt-ПА). Каталитическая активность и стереоселективность большинства рассмотренных мутантов ПА в реакции гидролиза фенилацетильного производного аспарагиновой кислоты близка к таковой для wt-ПА.

Наиболее стабильной мутантной формой ПА при повышенной температуре (50°C) или повышенном значении pH (10,3) является мутант, содержащий глутаминовую кислоту в положении α149, а наименее стабильными являются одноточечные мутанты, содержащие лизин и аргинин.

В реакции синтеза ампициллина методом ацильного переноса активированного донора DPGA (D-фенилглицинамид) на 6-APA (6-аминопеницилановая кислота) наибольшее соотношение начальных скоростей синтеза и гидролиза наблюдается для лизинового и аргининового одноточечного мутанта, а также для двойного мутанта. Дальнейшие исследования нацелены на изучение возможности применения данных мутантных форм ПА для биокаталитического синтеза полусинтетических антибиотиков.

Работа поддержана грантом РФФИ 07-08-00696.