**Свойства трансаминазы из *Blastococcus saxobsidens* в реакциях с D-аминокислотами и R-аминами**

***Петрова Е.С.,1 Шилова С.А.1,2, Попов В.О.2,3, Безсуднова Е.Ю.2***

*Студент, 5 курс специалитета*

*1Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,*

*химический факультет, Москва, Россия*

*2Институт биохимии им. А.Н. Баха ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, Россия*

*3Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,*

*Биологический факультет, Москва, Россия*

*E-mail: lispetrova@gmail.com*

Трансаминазы (ТА) – это пиридоксаль-5’-фосфат (PLP)-зависимые ферменты, катализирующие стереоселективный и обратимый перенос аминогруппы с аминокислоты / амина на кетокислоту / кетон с образованием новых амино и кетосоединений [1]. По типу укладки PLP-связывающего домена ТА относятся к I и IV типам. По типу субстратной специфичности ТА IV типа включают три подсемейства: трансаминазы D-аминокислот (DAAT, D-amino acid aminotransferase), трансаминазы разветвленных L-аминокислот (BCAT, branched-chain amino acid aminotransferase) и трансаминазы *(R)*-аминов (R-TA, (*R*)-amine:pyruvate transaminase). Субстратная специфичность ТА определяется свойствами аминокислотных остатков, образующих активный центр. Для всех трех вышеперечисленных подсемейств были описаны характеристические мотивы аминокислотных последовательностей, определяющие специфичность ТА [2].

В данной работе охарактеризована ТА из *Blastococcus saxobsidens* (Blasa), характеристические мотивы которой отличаются от описанных ранее. Синтетический ген Blasa клонировали в плазмиду pET-21d, рекомбинантную форму фермента экспрессировали в клетках *E. coli* с His-tag на N-концеи выделяли с помощью металл-хелатной хроматографии.

В результате анализа каталитических свойств Blasa было установлено, что фермент активен как в реакциях с D-аминокислотами, так и в реакциях с первичными (*R*)-аминами. Переаминирование D-аминокислот характеризуется pH - оптимумом 8-9, деаминирование первичных (*R*)-аминов оптимально при рН 9. Температурный оптимум реакций с D-аминокислотами составил 40°С, реакций с первичными (*R*)-аминами – 30°С. При этом активность Blasa в реакциях с (*R*)-аминами ниже, чем в реакциях с D-аминокислотами. Для реакций *D-Glutamate + Pyruvate* и *(R)‑1‑phenylethylamine + Pyruvate*, катализируемых Blasa, *kcat* составили 7.5 ± 0.3 с-1 и 0.074 ± 0.003 c-1, соответственно. Проанализирована термостабильность Blasa в рабочих буферах (50 мМ К-фосфат, рН 8.0 и 50 мМ CHES pH 9.0), операционная стабильность Blasa в присутствии субстратов, а также влияние добавок на стабильность фермента. Обнаружено, что в рабочих условиях через 65 часов остаточная активность Blasa без добавок составила 20%, в присутствии 10% ДМСО – 80%, а в присутствии 10 и 20% глицерина – 10%.

*Работа поддержана грантом* РНФ № 19-14-00164.

**Литература**

1. Bezsudnova E. Y., Popov V. O., Boyko K. M. Structural insight into the substrate specificity of PLP fold type IV transaminases // Applied Microbiology and Biotechnology volume. 2020. Vol. 104. P. 2343–2357.

2. Höhne M., Schätzle S., Jochens H., Robins K., Bornscheuer U. T. Rational assignment of key motifs for function guides in silico enzyme identification // Nature Chemical Biology. 2010. Vol. 6 (11). P. 807–813.