

УДК 577.151

**СЕКРЕТИРУЕМАЯ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗА
BACILLUS INTERMEDIUS: ПОЛУЧЕНИЕ ГОМОГЕННОГО
ПРЕПАРАТА ФЕРМЕНТА И ИССЛЕДОВАНИЕ
ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ**

*Н.Л. Рудакова, А.Р. Сабирова, А.Р. Каюмов, А.М. Марданова,
Н.П. Балабан, М.Р. Шарипова*

Аннотация

Исследованы динамика роста и накопления протеолитической активности рекомбинантного штамма *Bacillus subtilis* BG 2036, несущего на плазмиде *pCM4* ген секретлируемой металлопротеиназы *Bacillus intermedius*. Разработан эффективный метод получения гомогенного препарата фермента из культуральной жидкости с применением гидрофобных сорбентов бацитрацин-силохрома и бутил-сефарозы. Изучены чувствительность металлопротеиназы к различным ингибиторам, влияние ионов двухвалентных металлов на активность фермента, а также некоторые физико-химические свойства.

Ключевые слова: металлопротеиназа, гомогенный белок, гидрофобный сорбент, *Bacillus subtilis*.

Введение

Секретируемые металлопротеиназы – особая группа протеолитических ферментов, выполняющих в клетке широкий спектр функций: от общих трофических до специфических регуляторных. Большой интерес для исследования представляют минорные металлопротеиназы, доля которых в общем пуле протеолитической активности не превышает 10%. Низкий уровень активности фермента может свидетельствовать о том, что белок выполняет специфическую функцию в клетках бактерий. В связи с этим представляет интерес исследование его физико-химических свойств и субстратной специфичности. Для решения этих задач необходимо разработать эффективный способ выделения белка и его очистки до гомогенного состояния.

При разработке метода выделения и очистки фермента перспективным является использование генно-инженерных штаммов, содержащих на плазмиде ген индивидуального фермента, что позволяет избежать контаминации белковых примесей при получении гомогенного препарата фермента.

Рекомбинантный штамм *B. subtilis* был получен путем трансформации плазмиды *pCM4*, несущей ген секретлируемой металлопротеиназы *B. intermedius*, в лабораторный протеазодефицитный штамм *B. subtilis* BG 2036, дефектный по собственным внеклеточным протеиназам. Использование модельного штамма позволило избежать наложения пула контаминирующих белков при получении гомогенного препарата