

ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ ИНУЛИНАЗ МЕТОДАМИ ИК-СПЕКТРОСКОПИИ И КОМПЬЮТЕРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

Холявка М.Г., Ковалева Т.А., Артюхов В.Г.

ФГБОУ ВПО Воронежский государственный университет, биолого-почвенный ф-т,
каф. биофизики и биотехнологии, Россия, 394006, г. Воронеж, Университетская пл. 1,
тел.: +7(4732)208-586, факс: +7(4732)208-755, e-mail: holyavka@rambler.ru

Инулиназа (2,1-β-D-фруктан-фруктаногидролаза, КФ 3.2.1.7) гидролизует инулин и другие фруктозосодержащие полимеры, действуя на гликозидные связи их молекул, в связи с чем может использоваться для получения фруктозы из инулинсодержащего растительного сырья.

Целью работы было изучение структурной организации инулиназ методами инфракрасной спектроскопии и компьютерного моделирования.

Объектами наших исследований были инулиназы из *Kluyveromyces marxianus* Y-303 и *Aspergillus awamori* ВКМФ 2250.

Наиболее важной в случае исследования ферментов является задача определения конформации их полипептидных цепей. Используя закон Бугера-Ламберта-Бера, по ИК-спектрам мы определили соотношение типов вторичной структуры для инулиназ, выделенных из обоих продуцентов. Установлено, что фермент из *Kluyveromyces marxianus* Y-303 имеет более упорядоченную структуру: у него наблюдается меньшая протяженность нерегулярных участков (на 12 %) и большая протяженность α-спиралей (на 2,5 %) и β-слоев (на 9,5 %), по сравнению с инулиназой из *Aspergillus awamori* ВКМФ 2250.

Чтобы объяснить тенденцию инулиназы из *Kluyveromyces marxianus* к большей упорядоченности, по сравнению с ферментом из *Aspergillus awamori*, мы проанализировали сведения об их первичных структурах, полученных в National Center for Biotechnology Information (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Entrez>).

Известно, что к спиралеобразующим аминокислотным остаткам относятся аланин, валин, лейцин, метионин, гистидин, фенилаланин, а к спиралеразрушающим - глицин, пролин, тирозин. Для инулиназы из *Kluyveromyces marxianus* характерно меньшее (на 0,43 %) количество спиралеобразующих и меньшее (на 1,54 %) количество спиралеразрушающих аминокислотных остатков, по сравнению с инулиназой из *Aspergillus awamori*.

Таким образом, при анализе аминокислотных последовательностей трудно четко определить, какая из исследуемых нами инулиназ будет иметь более жесткую молекулярную конформацию. Однако анализ вторичных структур инулиназ, выделенных из *Kluyveromyces marxianus* Y-303 и *Aspergillus awamori* ВКМФ 2250, позволяет сделать предположение о большей упорядоченности белковой глобулы фермента дрожжей, а, следовательно, об ее более высоком уровне устойчивости к различным денатурирующим воздействиям, что является важнейшей характеристикой для ферментов промышленного назначения.