

ИНСТИТУТ МИКРОБИОЛОГИИ НАН БЕЛАРУСИ
Лаборатория ферментов

**Глицеролселективные ферменты как
компоненты диагностического набора для
детекции триглицеридов**

**Glycerolselective enzymes are as components of a
diagnostic kit for triglycerides detection**

Научный сотрудник
Демешко Ольга

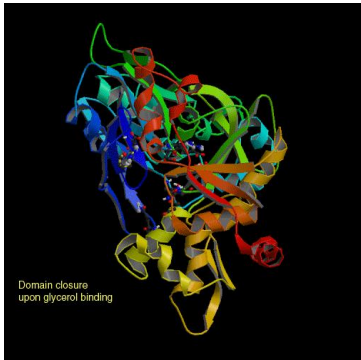
Минск 2020

Глицерол – это один из метаболитов спиртового брожения, который определяет вкусовые качества алкогольных напитков, является добавкой ряда пищевых продуктов и применяется в качестве смазочного материала. В настоящее время в связи с возросшим его использованием определение концентрации глицерола становится важной задачей аналитической биотехнологии.

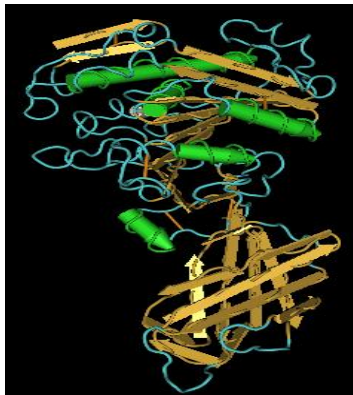
Всемирной организацией здравоохранения в качестве одного из индикаторов риска осложнений различных заболеваний рекомендовано исследование липидного спектра крови, включающего определение концентрации триглицеридов и свободного глицерола.



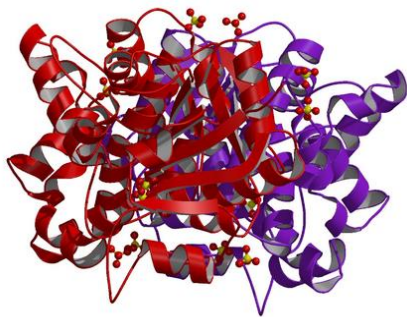
Наиболее точными методами определения глицерола и триглицеридов являются энзиматические методы. Именно они применяются для детекции вышеуказанных соединений в различных отраслях промышленности и клинической диагностике. Энзиматическое определение глицерола и триглицеридов основано на каскаде реакций:



Глицеролкиназа



Липаза



Глицерол-3-фосфатоксидаза



Конструирование рекомбинантных штаммов-продуцентов глицеролкиназы и глицерол-3-фосфатоксидазы

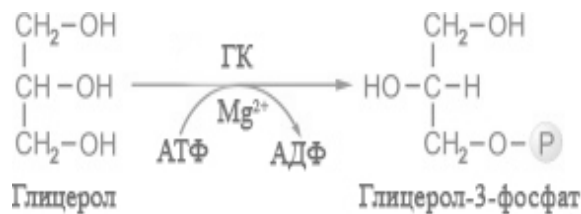


Рис. 1 – Реакция фосфорилирования глицерола, катализируемая ГК

Реакции, катализируемые глицеролкиназой и глицерол-3-фосфатоксидазой, в сопряженной реакции осуществляют перенос фосфатной группы от АТФ на глицерол с получением глицерол-3-фосфата (рис. 1), который затем окисляется до дигидроксиацетонфосфата и пероксида водорода (рис. 2)

Выделены и клонированы в *E. coli* BL 21 (DE3) в составе плазмиды pET42a (+) в гомо- и гетерологичных системах гены, кодирующие:

- глицеролкиназу (ГК) *E. coli* K12
- глицерол-3-фосфатоксидазу (ГТФОх) *Enterococcus faecalis* и *Pediococcus* sp.

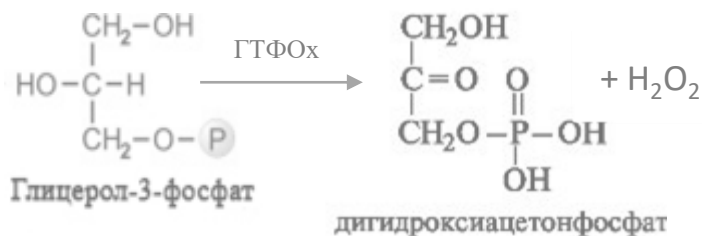


Рис. 2 – Реакция окисления глицерол-3-фосфата, катализируемая ГТФОх

Глицеролкиназу и глицерол-3-фосфатоксидазу применяют в лабораторной диагностике для определения концентрации триглицеридов и глицерола – маркеров метаболических нарушений липидного обмена

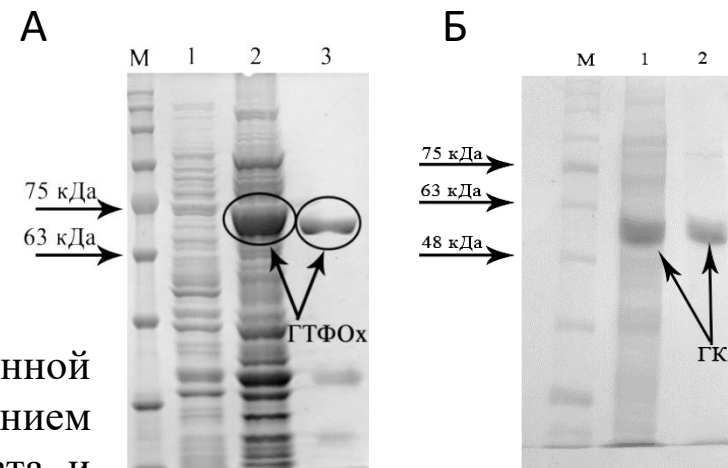


Рис. 3 – Электрофореграмма в SDS-ПААГ белков, синтезируемых: *E. coli* pGlpOx Ent5 – продуцентом ГТФОх (А) до (1) и после индукции ИПТГ (2); 3 – очищенная ГТФОх; *E. coli* pGlpK1 – продуцентом ГК (Б) в условиях индукции ИПТГ (1); 2 – очищенная ГК; М – маркеры молекулярной массы белков

Получены генно-инженерные штаммы *E. coli* pGlpK1 и *E. coli* pGlpOx Ent5, которые экспрессируют каталитически активные ГК и ГТФОх (рис. 3).

По эффективности синтеза ферментов генно-инженерные штаммы не уступают известным зарубежным аналогам и в 10–20 раз превосходят исходные природные штаммы.

Спасибо за внимание!

Институт микробиологии НАН Беларуси

г. Минск, ул. ак. Купревича, 2
demeshkoo@mail.ru