

БІОТЕХНОЛОГІЯ ОДЕРЖАННЯ ФЕРМЕНТА ПЕНІЦИЛІН G АЦИЛАЗИ

Тарасов Б.О., Бєлих І.А.

*Національний технічний університет
«Харківський політехнічний інститут», м. Харків*

В даний час відома велика кількість ацилаз, які використовуються у промисловості як біокатализатори для виробництва антибіотиків, а також відіграють ключову роль в утворенні біоплівки патогенними штамми мікроорганізмів. Пеніцилін ацилаза була вперше відкрита у 1960 році [1].

Пеніцилін G ацилаза – це фермент, представляє собою гетеродімер, який включає в себе малу α -субодиницю і велику β -субодиницю. Вперше ген пеніцилін G ацилази був клонований та секвенований в 1997 році [2] за допомогою бактерії *Flcaligenes Faecalis* ATCC 19018. Була визначена маса α -субодиниці і великої β -субодиниці мас-спектроскопією – 23,0 і 62,7 кДа; довжина спейсера при цьому склала 37 амінокислотних залишків, довжина сигнального пептида – 26 амінокислотних залишків. Фермент пеніцилін G ацилаза (PGA) широко використовується в промисловості як основа біокатализатора для гідролізу пеніциліна G [2, 3].

Метою роботи є опис промислового культивування пеніцилін G ацилази за допомогою рекомбінантного штаму *E. coli* BL21(DE3)/pMD704. Цей спосіб забезпечить отримання в промисловій кількості препарат ECORGA.

Даний спосіб передбачає вирощування інокуляту на основі штаму *E. coli* BL21(DE3)/pMD704 до середини логарифмічної фази росту на поживному середовищі з глюкозою при температурі 38 °С, перемішуванні 200 об/хв впродовж 3–5 годин, засів ферментера інокулятом, подальше культивування штаму у ферментері при 22–23 °С на середовищі, яке містить вуглевод, азот та неорганічні солі, при концентрації розчиненого кисню 80–90 % при максимальній швидкості перемішування 1200 об/хв, максимальному рівні аерації на 1 об'єм повітря/хв. Після культивування отриману біомасу осаджують, руйнують. Кінцевий продукт (ECORGA) вилучають у вигляді ферментної пасти осаджуванням за допомогою поліетиленгліколю [3].

Висновки: даний спосіб дозволяє підвищити вихід біомаси і функціонально активної пеніцилін G ацилази з одиниці об'єму культурального середовища. В підсумку отримують препарат ECORGA, який є придатним для отримання біокатализаторів процесів синтезу цефалоспоринів.

Література:

1. Clarige C.A., Gourevitch A., Lein J. Bacterial penicillin amidase. // Nature 1960. V. 187. P. 237–238.
2. Verheart R. M., Riemens A.S., van der Laan J.M., van Duin J., Quax W. J. Milecular cloning and analysis of the gene encoding the thermostavle penicillin G acylase from *Alcaligenes faecalis*. // Appl. Environ. Microbiol. 1997 V. 63. № 9. P. 3412–3418.
3. Parmar A. et al. Advances in enzymatic transformation of penicillins to 6-aminopenicillanic acid (6-APA) // Biotechnol. Adv. Elsevier Science Ltd, 2000. Vol. 18, № 4. P. 289–301.