

Мутантная оксидаза D-аминокислот с улучшенными кинетическими свойствами

Хороненкова Светлана Владимировна

аспирант

Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия

E-mail: svkhor@enz.chem.msu.ru

Оксидаза D-аминокислот является FAD-содержащим ферментом (КФ 1.4.3.3, DAAO) и катализирует окислительное дезаминирование D-аминокислот в соответствующие α -кетокислоты. DAAO играет важную роль в процессах жизнедеятельности микроорганизмов и млекопитающих. На практике этот фермент используется для синтеза цефалоспориновых антибиотиков различных поколений, получения α -кетокислот и не природных L-аминокислот из недорогих рацемических смесей и для детекции D-аминокислот в сложных образцах.

Среди оксидаз D-аминокислот из различных источников наиболее перспективной является DAAO из дрожжей *Trigonopsis variabilis* (TvDAAO). Это связано с ее высокой термостабильностью и сродством к FAD, а также самой высокой среди оксидаз D-аминокислот активностью с цефалоспорином C, что и определяет ее использование в биосинтезе антибиотиков.

В нашей лаборатории был клонирован ген оксидазы D-аминокислот из дрожжей *T. variabilis* и получен рекомбинантный фермент. С целью улучшения кинетических свойств рекомбинантной TvDAAO методом направленного мутагенеза был получен точечный мутант TvDAAO M1. В результате сравнения субстратной специфичности рекомбинантной и мутантной форм было выяснено, что в случае таких субстратов, как D-лейцин, D-треонин, D-триптофан, D-тирозин, D-серин и цефалоспорин C наблюдается существенное (в несколько раз) увеличение каталитической активности для TvDAAO M1, для остальных изученных субстратов кинетические свойства мутантной формы сравнимы с таковыми же для рекомбинантного фермента.