

**ЦИТОЗОЛЬНІ КАРБОКСИЛЕСТЕРАЗИ З ПЕЧІНКИ СВИНІ І  
ГЕПАТОПАНКРЕАСА *RAPANA VENOSA*  
Шестеренко Є.А.<sup>1</sup>, Шестеренко Ю.А.<sup>1</sup>, Рудненко А.А.<sup>2</sup>, Топтиков В.А.<sup>1</sup>, Декіна С.С.<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup>Фізико-хімічний інститут ім. О.В. Богатського НАН України,  
Люстдорфська дор., 86, Одеса, Україна, 65080

<sup>2</sup>Одеський національний університет імені І.І.Мечнікова  
вул. Змієнка Всеволода, 2, Одеса, Україна, 65082

<sup>3</sup>Європейська лабораторія молекулярної біології,  
Мейерхофштрассе 1, В-69117 Гейдельберг, Німеччина  
[shesterenko.ea@gmail.com](mailto:shesterenko.ea@gmail.com)

Карбоксилестерази (КЕ) (КФ 3.1.1.1) є групою ензимів, що каталізують гідроліз естерного, амідного та тіоестерного зв'язків в молекулах різної структури. КЕ печінки свині, що мають широку субстратну специфічність і високу енантіоселективність, є найбільш досліджуваними ензимами для отримання енантіомерів лікарських речовин [1]. Однак, дуже актуальним є отримання нових КЕ з більш економічних джерел. Хижий моллюск *Rapana venosa*, що загрожує екосистемі Чорного моря, є перспективним джерелом біологічно активних речовин, включно з ензимами.

Відомо, що КЕ присутні як в ендоплазматичному ретикулумі, так і в цитозолі гепатоцитів. Мікросомальні КЕ тварин і людини найбільш широко охарактеризовані. Проте, в ряді випадків, цитозольні КЕ є більш важливими ензимами метаболізму естерів. Таким чином, дослідження властивостей та ферментативної активності цитозольних КЕ з різних джерел є актуальним завданням.

Мета даного дослідження – розробка способу отримання та порівняння біохімічних особливостей цитозольних карбоксилестераз з печінки свині і гепатопанкреаса *Rapana venosa*.

Нами було розроблено спосіб отримання цитозольних КЕ з печінки свині і гепатопанкреаса *Rapana venosa*, що полягає в отриманні цитозольної фракції методом низькошвидкісної седиментації в присутності іонів  $Ca^{2+}$ , дробному осадженні сульфатом амонію, та подальшій двостадійній колонковій хроматографії з використанням як носіїв сефадексу (G-200 і G-100, відповідно для КЕ з печінки і гепатопанкреаса) та ДЕАЕ-сефарози.

В результаті отримано високоочищені ензими, вивчено вміст білку та питому активність препаратів. Вміст білку складав 1,1 і 0,71 мг/см<sup>3</sup>, для КЕ печінки свині і гепатопанкреаса *Rapana venosa*, відповідно. Питома активність препаратів: 730,0 і 0,559 нмоль/мг білка за хв, відповідно.

Належність отриманих ензимів до родини КЕ підтверджена повним пригніченням їх естеразної активності селективним інгібітором КЕ ди-(п-нітрофеніл)-фосфатом.

За допомогою SDS-електрофорезу а ПААГ встановлена молекулярна маса (м.м.) отриманих ензимів. Встановлено, що м.м. карбоксилестерази печінки свині склала 61,8 кДа, а м.м. ензиму гепатопанкреаса *Rapana venosa* – 57,2 кДа.

Відомо, що КЕ ссавців можуть мають олігомерну природу і складатися з 3 субодиниць. Для визначення кількості субодиниць отриманих ензимів провели нативний (неденатуруючий) електрофорез в ПААГ. Встановлено, що без денатурації виділений ензим цитозольної фракції печінки свині має молекулярну масу ~180 кДа, що відповідає 3 субодиницям молекули. Також показано, що ензим цитозольної фракції гепатопанкреаса *Rapana venosa* має монмерну структуру з молекулярною масою ~57 кДа. Також на електрофореграмі присутня слабка полоса з М.м 120 кДа, що має естеразну активність. Це може свідчити про присутність невеликої кількості димеру ензиму в препараті.

Таким чином, отримано високоочищені карбоксилестерази з цитозолу печінки свині і гепатопанкреаса *Rapana venosa* з високою естеразною активністю. Вивчені їх біохімічні характеристики, молекулярна маса та субодинична структура.