

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра биохимии

КУРКАЧ
Анастасия Сергеевна

**ВЫДЕЛЕНИЕ, ОЧИСТКА И ХАРАКТЕРИСТИКА ФИЗИКО-
ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ТИРОЗИНАЗЫ ИЗ ГРИБОВ**
AGARICUS BISPORUS

Дипломная работа

Научный руководитель:
заведующий НИЛ биохимии обмена
веществ, кандидат биологических
наук, доцент М.В. Шолух

Допущена к защите

« ____ » _____ 2024 г.

Зав. кафедрой биохимии

кандидат биологических наук, доцент И.В. Семак

Минск, 2024

РЕФЕРАТ

Дипломная работа, 55 страницы, 34 рисунка, 8 таблиц, 54 источника.

ГРИБНАЯ ТИРОЗИНАЗА, ОЧИСТКА, *AGARICUS BISPORUS*, МЕЛАНИНЫ

Цель работы: получить высокоочищенный препарат грибной тирозиназы с высокой активностью.

Объект исследования: тирозиназа из грибов *Agaricus bisporus*.

Методы исследования: спектрофотометрические, хроматографические, электрофоретические, флуориметрические.

В результате работы из грибов *Agaricus bisporus* была выделена тирозиназа в гомогенном состоянии и свободная от меланинов. Очистка проводилась методом ионообменной хроматографии на DEAE-целлюлозе и медь-хелатной хроматографии на предварительно связанных с медью матрицах: сефарозе и высокогидроксилированных полиметакрилатных полимерных частицах TOYOPEARL HW-65. Определена величина K_m для тирозина ($K_m = 0,10$ мМ). Удельная активность выделенного фермента составила 1494 Ед/мг белка. Согласно спектрам флуоресценции тирозиназа сохранила третичную структуру. Методом SDS-электрофореза в полиакриламидном геле подтверждена субъединичная структура фермента.

Область применения результатов: биохимия, биохимическая фармакология, биохимия лекарственных препаратов, медицина, биотехнология.

РЭФЕРАТ

Дыпломная праца, 55 старонак, 34 малюнка, 8 табліц, 54 крыніцы.

ГРЫБНАЯ ТЫРАЗІНАЗА, АЧЫСТКА, *AGARICUS BISPORUS*, МЕЛАНІНЫ

Мэта працы: здабыць высакіаачышчаны прэпарат грыбной тыразіназы з высокай актыўнасцю.

Аб'ект даследавання: тыразіназа з грибоў *Agaricus bisporus*.

Метады даследавання: спектрафатометрычныя, храматаграфічныя, электрофарэтычныя, флуарыметрычныя.

У выніку працы з грибоў *Agaricus bisporus* была выдзелена тыразіназа ў гамагенным стане і свабодная ад меланінаў. Ачыстка праводзілася метадам іонаабменнай храматаграфіі на DEAE-цэлюлозе і медзь-хелатнай храматаграфіі на папярэдне звязаных з меддзю матрыцах: сефарозе і высокагідраксіляваных поліметакрылатных полімерных часцінках TOYOPEARL HW-65. Вызначана велічыня K_m для тыразіну ($K_m = 0,10$ мм). Удзельная актыўнасць выдзеленага ферменту склала 1494 Адз / мг бялку. Згодна з спектрам флуарэсцэнцыі тыразіназа захавала трацічную структуру. Метадам SDS-электрофарэзу ў поліакрыламідным гелі пацверджана субадзінкавая структура фермента.

Галіна выкарыстоўвання вынікаў: біяхімія, біяхімічная фармакалогія, біяхімія лекавых прэпаратаў, медыцына, біятэхналогія.

ABSTRACT

Thesis, 55 pages, 34 pictures, 8 tables, 54 sources.

MUSHROOM TYROSINASE, PURIFICATION, AGARICUS BISPORUS, MELANIN

The aim of research: obtain a highly purified preparation of mushroom tyrosinase with high activity.

The object of research: *Agaricus bisporus* mushroom tyrosinase

Research methods: spectrophotometric, chromatographic, electrophoretic, fluorimetric.

As a result of this work, tyrosinase was obtained from *Agaricus bisporus* mushrooms in a homogeneous state, free from melanins. Purification was carried out by ion exchange chromatography on DEAE cellulose and copper chelate chromatography on pre-copper matrices: Sepharose and highly hydroxylated polymethacrylate polymer particles TOYOPEARL HW-65. The K_m value for tyrosine was determined ($K_m = 0,10$ mM). The specific activity of the purified enzyme was 1494 U/mg protein. According to the fluorescence spectra, tyrosinase retained its native structure. The subunit structure of the enzyme was confirmed by SDS electrophoresis in polyacrylamide gel.

Application area: biochemistry, biochemical pharmacology, drug biochemistry, medicine, biotechnology.