

4. Navarro, A., Boveris, A. (2009). Brain mitochondrial dysfunction and oxidative damage in Parkinson's disease. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 41 (6), 517–521. doi: 10.1007/s10863-009-9250-6
5. Zenkov, M. K., Lankin, V. Z., Menshykova, Je. B. (2001). *Okysljuval'nyj stres*. Moscow: Nauka, 342.
6. Tarasov, N. I., Tepljakov, A. T., Malahovich, E. V. et. al. (2002). Sostojanie perekisnogo okislenija lipidov, antioksidantnoj zashhity krovi u bol'nyh infarktomiokarda, otjagoshhennym nedostatochnost'ju krovoobrashhenija. *Terapevticheskij arhiv*, 12, 12–15.
7. Zozulja, Ju. A., Baraboj, V. A., Sutkovej, D. A. (2002). Rol' perekysnogo okysnennja lipidiv i antyoksydantnoi systemy u patogenezi puhlyn golovnogo mozku (ogljad literatury ta vlasnyh doslidzhen'). *Zhurnal AMNU*, 8 (1), 26–40.
8. Sin'ko, L. N., Zozulja, Ju. A. (2000). Rol' oksida azota v patogeneze gliom. *Jeksperimental'naja onkologija*, 22 (4), 246–250.
9. Cirak, B., Inci, S., Palaoglu, S., Bertan, V. (2003). Lipid peroxidation in cerebral tumors. *Clinica Chimica Acta*, 327 (1-2), 103–107. doi: 10.1016/s0009-8981(02)00334-0
10. Jeong, J. I., Lee, Y. W., Kim, Y. K. (2003). Chemical hypoxia-induced cell death in human glioma cells: role of reactive oxygen species, ATP depletion, mitochondrial damage and Ca^{2+} . *Neurochemical Research*, 28 (8), 1201–1211.
11. Leaver, H. A., Williams, J. R., Smith, C. (2004). Intracellular oxidation by human glioma cell populations: effect of arachidonic acid. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 70 (5), 449–453. doi: 10.1016/j.plefa.2003.09.005
12. Gavrilov, V. P., Gavrilova, A. R., Majorova, I. G. (1987). Metodika opredelenija malonovogo dial'degida v syrovatke krovi. *Vopr.med.himii*, 1, 118–122.

Дата надходження рукопису 14.10.2016

Шелест Дмитро Васильович, аспірант, кафедра біохімії, ННЦ «Інститут біології та медицини», Київський національний університет імені Тараса Шевченка, вул. Володимирська, 64/13, м. Київ, Україна, 01601

E-mail: diemondos@gmail.com

Колодій Ольга Вікторівна, кафедра біохімії, ННЦ «Інститут біології та медицини», Київський національний університет імені Тараса Шевченка, вул. Володимирська, 64/13, м. Київ, Україна, 01601

E-mail: kolotiiolga@gmail.com

Свиридова Катерина Олексіївна, кафедра біохімії, ННЦ «Інститут біології та медицини», Київський національний університет імені Тараса Шевченка, вул. Володимирська, 64/13, м. Київ, Україна, 01601

E-mail: kathybiologist@gmail.com

Гарманчук Людмила Василівна, доктор біологічних наук, професор, кафедра фундаментальної медицини, ННЦ «Інститут біології та медицини», Київський національний університет імені Тараса Шевченка, вул. Володимирська, 64/13, м. Київ, Україна, 01601

E-mail: liudmyla_garmanchuk@ukr.net

УДК 577.152.1

СКРИНІНГ ШТАМІВ МІКРОСКОПІЧНИХ ГРИБІВ – ПРОДУЦЕНТІВ ЛАККАЗИ

© О. М. Демків, С. Я. Банах, С. В. Притула, Г. З. Гайда, М. В. Гончар

*Здійснено скринінг штамів мікроскопічних грибів за здатністю до синтезу лаккази та відібрано краці продуценти позаклітинного ферменту – штами *Stachybotris chartarum* та *Monilinia fructicola*. Вперше показано здатність гриба *S. chartarum* екскреторно продукувати лакказу, оптимізовано умови культивування клітин цього штаму, в аналітичній кількості одержано цільовий фермент та встановлено молекулярну масу субодиниці лаккази (50 кДа)*

Ключові слова: мікроскопічні гриби, скринінг продуцентів, лаккази, штам *Stachybotris chartarum*, умови культивування

*The screening of fungal strains on a capability to laccase synthesis was carried out and the best producers of extracellular enzyme – *Stachybotris chartarum* and *Monilinia fructicola* strains were selected. The ability of the fungus *S. chartarum* to produce laccase extracellularly was demonstrated in the first time, the optimal conditions for cultivation of the cells were selected, analytical quantity of a goal enzyme was obtained and the molecular mass of laccase subunit was determined (50 kDa)*

Keywords: fungi, screening of producing strains, laccase, *Stachybotris chartarum* strain, cultivation conditions

1. Вступ

Виробництво ферментних препаратів у всьому світі є одним з провідних напрямів біотехнології. Ферментні препарати широко використовуються в різних галузях харчової та легкої промисловості, в медицині, сільському господарстві, охороні навколишнього середовища, аналітичних дослідженнях і т. ін. Тому проблема отримання значної кількості ферментних препаратів, використовуючи відносно прості економічно вигідні технологічні операції, є надзвичайно актуальною. Препарати грибних лакказ і їх іммобілізовані форми використовуються для текстильної, харчової, косметичної та інших галузей промисловості, при очищенні стічних вод, що містять фенольні сполуки, в органічному синтезі, у виробництві миючих засобів, для створення антимікробних композицій, в імуноферментному аналізі. Крім того, що лакказа є практично важливим ферментом, який використовують в різних біотехнологічних процесах, цей фермент викликає великий інтерес з точки зору фундаментальних досліджень її структури і механізму каталітичної дії.

Пошук ефективних продуцентів лаккази з метою розробки економічно вигідної технології одержання високоактивних препаратів позаклітинних форм ферменту є актуальним напрямком біотехнологічних досліджень.

2. Літературний огляд

Фермент лаккази є одним з небагатьох ферментів, які вивчалися, починаючи з дев'ятнадцятого століття, але і досі залишається предметом фундаментальних та прикладних досліджень [1–3]. Йосіда вперше одержав лакказу з ексудату Японського дерева *Rhus vernicifera* в 1883 році. Бертран і Лаборд в 1896 р. вперше продемонстрували, що лакказа є грибним ферментом [2].

Лаккази (бензендіол:оксиген оксиредуктази, п-діфенолоксидази (КФ 1.10.3.2) знайдено в рослинах, комах, грибах і бактеріях. Відомо, що лакказу продукують фітопатогенні, ґрунтові та дереворуйнуючі аскоміцети. Але основними продуцентами лаккази є вищі гриби-базидіоміцети [3–6]. Широко вивчаються як продуценти лаккази гриби роду *Phanerochaete*, що викликають білу гниль деревини.

Лакказа містить 4 атоми міді, тому є членом групи синіх мідних білків (оксидази), серед яких є оксидази ссавців, зокрема, білок плазми крові церулоплазміні. Більшість грибних лакказ є мономерними, димерними або тетрамерними глікопротеїнами [1, 2, 7–9]. Вони приймають участь в процесах глікозилування, відіграють певну роль в секреції, сприятливості до протеолітичної деградації, утриманні міді і термічної стабільності. Склад лакказних глікопротеїнів може змінюватися в залежності від складу середовища, через це вони можуть бути гетерогенними [8]. На біосинтез та активність фермента великий вплив мають умови культивування – рН, температура, склад середовища тощо [8–11].

Великий інтерес як у фундаментальному, так і у прикладному плані, представляє субстратна специфічність лаккази. Цей фермент здатен каталізувати окислення широкого спектру органічних і неорганічних субстратів, включаючи моно-, ди- і поліфеноли,

амінофеноли, метоксифеноли, ароматичні аміни та аскорбати. Окиснення органічних сполук протікає по вільно-радикальному механізму, який в даний час до кінця не вивчений [1, 7–9].

Надзвичайні здатності лаккази, як оксидоредуктази, окисляти фенольні сполуки та відновлювати молекулярний кисень до води спричиняє підвищений інтерес науковців та спонукає їх до докладного вивчення цього ферменту [1, 8, 12]. Насамперед, актуальним є пошук мікробних продуцентів ферменту з новими фізико-хімічними властивостями, пов'язаний з широким прикладним аспектом аналітичного та біотехнологічного використання лаккази [1–3, 12].

Лакказу використовують в різних галузях промисловості, а саме в целюлозно-паперовій промисловості для делігніфікації паперової пульпи, в текстильній промисловості для відбілювання тканин, в харчовій і косметичній промисловостях – для детоксикації та знебарвлення стічних вод, в органічному синтезі – для біодеградації ксенобіотиків, для створення антимікробних композицій, при отриманні деревоволокнистих плит, дерев'яних блоків і картону без застосування токсичних речовин, при виробництві миючих засобів, при розробці катодів біопаливних елементів [1, 4–6, 12]. Лакказа є перспективним біоелементом у біосенсоріці, зокрема, для аналізу фенольних сполук в стічних водах промислових підприємств, а також для визначення антиоксидантної активності червоних вин [1, 12].

3. Мета та задачі дослідження

Метою нашого дослідження було знайти ефективний продуцент лаккази серед колекційних штамів мікроскопічних грибів.

Для досягнення поставленої мети були вирішені наступні задачі:

1. Здійснити скринінг колекційних штамів мікроскопічних грибів на здатність продукувати лакказу.
2. Вибрати найефективніший продуцент позаклітинного ферменту та дослідити оптимальні умови його культивування.
3. В аналітичній кількості одержати препарат лаккази та охарактеризувати його головні властивості.

4. Матеріали та методи досліджень

У роботі використовували штами мікроскопічних грибів (табл. 1) із музеїв культур мікроорганізмів тих закладів, де працюють або навчаються автори статті: Інститут біології клітини НАН України (ІАНУ), Львівський національний університет ім. Івана Франка (ЛНУ), Жешувський університет, Польща (ЖУ).

Штами мікроорганізмів вирощували в мінеральному середовищі наступного складу (г/л): KNO_3 – 2,5 г, KH_2PO_4 – 2 г, NaCl – 0,5 г, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,5 г, мінеральні елементи – 2 мл, дріжджовий екстракт – 0,2 г, які розчиняли на дистильованій воді. Джерелом карбону залежно від мети експерименту були: гліцерол – 10 г, глюкоза – 10 г, мальтоза – 10 г, вирощували при 25 °C або 28 °C у колбах об'ємом 500 мл на шейкері при постійній аерації (150 та 200 об./хв).

В залежності від мети експерименту використовували клітини або культуральну рідину (КР). Проводили якісний та кількісний аналіз активності лак-

кази у безклітинному екстракті (БЕ) та КР досліджуваних штамів за використання – 5 мМ АБТС (2, 2'-азино-бис(3-етилбензотіазолин-6-сульфонат) [12]. В основі методу визначення лежить здатність ферменту окислювати субстрат АБТС, що супроводжується утворенням забарвленого продукту реакції. Питому активність ферменту виражали в мкмоль субстрату (продукту), витраченого (утвореного) за 1 хв в перерахунок на 1 мг білка за стандартних умов реакції (мкмоль·хв⁻¹·мг⁻¹).

Концентрацію білка в БЕ і КР визначали методом Лоурі.

Електрофоретичні дослідження білків у поліакриламідному гелі (ПААГ) здійснювали за нативних та денатуруючих умов на приладі VE-2M «Хелікон» (Москва). Візуалізацію зон активності лаккази за появою забарвленого продукту реакції проводили методом окиснення АБТС у пластинці 10 % поліакриламідного гелю (ПААГ), після розділення білків сконцентрованої культуральної рідини (КР) за нативних умов електрофорезу.

Молекулярну масу субодиниць ферменту визначали методом SDS-електрофорезу в 15 % ПААГ за Леммлі. Для цього з полоски непрофарбованого нативного гелю, яка містила активний фермент,

елюювали білок шляхом кип'ятіння подрібненого ПААГ протягом 5 хв в буфері з 5 % SDS та 10 мМ дитіотриетолом.

Статистичне опрацювання результатів проводили з використанням програмних пакетів Microsoft Excel та Origin.

5. Результати дослідження та їх обговорення

З метою пошуку потенційного продуцента лаккази було здійснено скринінг штамів мікроскопічних грибів. Для цього клітини різних штамів вирощували у мінеральному середовищі з 1 % глюкозою, та 0,05 % дріжджовим екстрактом протягом 3-х діб. Наявність внутрішньоклітинної та позаклітинної лаккази у досліджуваних штамів визначали через 2 та 3 доби культивування за використання АБТС. Як видно з результатів, поданих у табл.1, гриби *B. aclada*, *S. salmonicolor* та *S. chartarum* здатні накопичувати внутрішньоклітинну лакказу.

Позаклітинну активність лаккази (ПАЛ) виявили у штамів *M. fructicola*, *S. chartarum* та *B. aclada*. На рис. 1 представлені результати по кількісному визначенню ПАЛ у цих штамів. Як видно з рисунку, ПАЛ у *M. fructicola* була у 4,5 та 27 разів вищою, ніж у *S. chartarum* та *B. aclada*, відповідно.

Таблиця 1

Активність лаккази у досліджуваних штамів мікроскопічних грибів

Штам/музей закладу	Час культивування		Позаклітинна	
	2 доба	3 доба	2 доба	3 доба
<i>Botrytis aclada</i> /ЖУ	–	±	–	+
<i>Botrytis allii</i> /БК	–	–	–	–
<i>Monilinia fructicola</i> /ЖУ	–	–	+	+
<i>Sporobolomyces salmonicolor</i> /ЖУ	–	+	–	–
<i>Torula sp</i> /ЖУ	–	–	–	–
<i>Stachybotris chartarum</i> /ЖУ	+	+	+	+
<i>Aureobasidium pullulans</i> /ЖУ	–	–	–	–
<i>Chaetomium globosum</i> /ЖУ	–	–	–	–
<i>Trichothocium roseum</i> /ЛНУ	–	–	–	±
<i>Absidia glauca</i> /ЖУ	–	–	–	–
<i>Oidium lactis</i> /ЛНУ	–	–	–	–
<i>Trichoderma lignorum</i> /ЛНУ	–	+	±	±
<i>Aspergillus oryzae</i> /ЛНУ	–	–	–	–
<i>Fusarium oxysporum</i> /ЖУ	–	–	–	±
<i>Fusarium sp.</i> /ЛНУ	–	±	±	±
<i>Penicillium chrysogenum</i> / ЛНУ	–	+	±	±

Примітка: «+» – спостерігаємо появу забарвлення; «±» – забарвлення не є інтенсивним; «–» – не спостерігаємо появу забарвлення

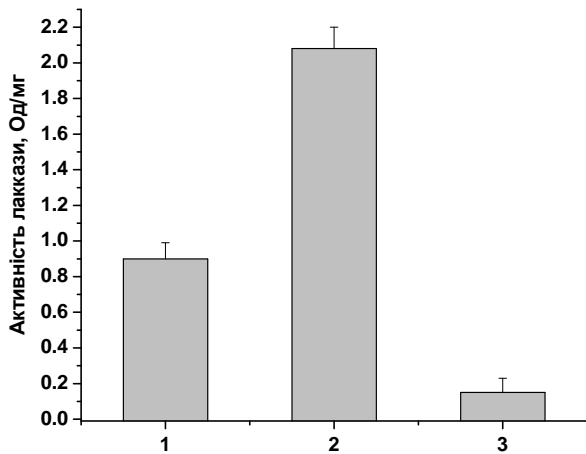


Рис. 1. Позаклітинна активність лаккази на третю добу культивування клітин *Stachybotris chartarum* (1); *Monilinia fructicola* (2); *Botrytis aclada* (3)

Досліджували вплив умов (хімічного складу середовища та часу) культивування штама *S. chartarum* на активність лаккази. Для цього клітини вирощували протягом двох діб на мінімальному середовищі за використання різних джерел карбону: гліцеролу, мальтози, етанолу та глюкози (рис. 2, а). Як видно з представлених результатів, найвища активність спостерігається на середовищах, що містили 1 % мальтози або глюкози. При дослідженні впливу часу культивування, ми аналізували активність позаклітинної лаккази протягом 8 діб росту на різних середовищах (рис. 2, б).

На другу добу культивування у штама *S. chartarum* спостерігали найвищу активність лаккази (0,93 Од/мг та 1,01 Од/мг) на середовищах з глюкозою та мальтозою, відповідно. При культивуванні на середовищі з гліцеролом найвища активність лаккази досягала на 3 добу культивування, проте вона була нижчою у 5 разів, ніж на середовищах із глюкозою або мальтозою.

Отримані дані добре корелюють з результатами візуалізації ПАЛ, наведеними на електрофореграмі (рис. 3, а). Після електрофоретичного (ЕФ) фракціонування в ПААГ за нативних умов зразків сконцентрованих культуральних рідин (КР), пластинку гелю було оброблено хромогенним субстратом АБТС. Найбільш інтенсивно забарвлену зону ПАЛ було виявлено у зразках КР клітин, що росли на середовищі з 1 % мальтозою (КР/мальтоза).

ЕФ характеристики препаратів лаккази *S. chartarum* за денатуруючих умов (у 15 % SDS-ПААГ) та результати визначення молекулярної маси субодиниці ферменту представлено на рис. 3, б. Зразок елюату з гелю проявив на електрофореграмі одну зону (доріжка 4), яка відповідає молекулярній масі приблизно 50 кДа. Розрахунок молекулярної маси субодиниці ферменту проводили шляхом порівняння ЕФ рухливостей дослідженого білка та маркерних білків у ПААГ. В табл. 2 представлено результати нашого дослідження у порівнянні із даними літератури.

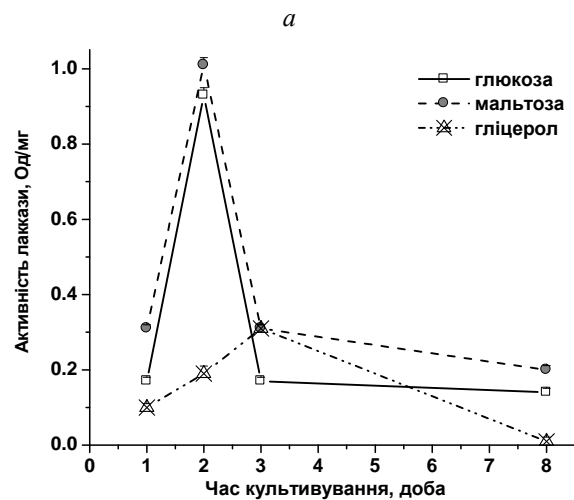
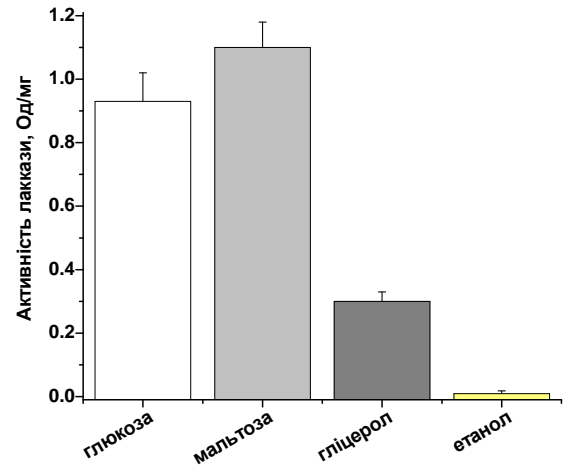


Рис. 2. Вплив умов культивування на питому активність позаклітинної лаккази у штама *Stachybotris chartarum*: а – 1 % джерело карбону у середовищі; б – час культивування

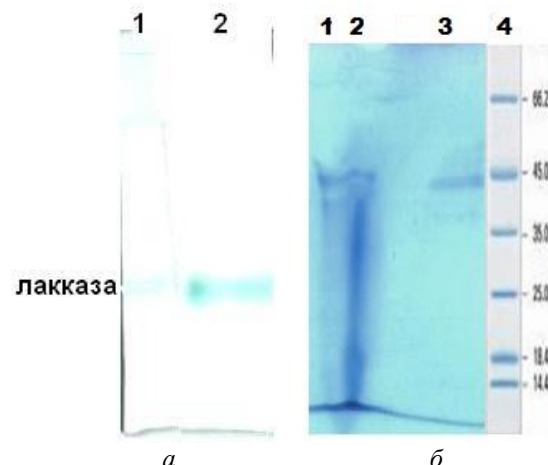


Рис. 3. Електрофореграми сконцентрованих зразків КР: а – візуалізація зон ПАЛ у 10 % ПААГ. 1 – КР/глюкоза, 2 – КР/мальтоза; б – характеристика препаратів лаккази за денатуруючих умов у 15 % SDS-ПААГ визначення молекулярної маси субодиниці лаккази. 1 – осад КР/глюкоза, 2 – осад КР/мальтоза; 3 – елюат із нативного гелю; 4 – маркери молекулярної маси, кДа

Властивості лакказ з різних штамів грибів

Штам/посилання	Кількість ізозимів	Молекулярна маса, кДа
<i>Trametes multicolor</i> [8]	5	63
<i>Ganoderma lucidum</i> [8]	3	65–68
<i>Pleurotus ostreatus</i> [8]	1	67
<i>Chaetomium subvermispora</i> [8]	2	71
<i>Русноporus cinnabarinus</i> [8]	1	81
<i>Trichoderma</i> [8]	1	71
<i>Neurospora crassa</i> [8]	1	65
<i>Coriolus hirsutus</i> [8]	1	55
<i>Coriolopsis fulvocinerea</i> [9]	1	64
<i>Cerrena maxima</i> [9]	1	70
<i>Trametes hirsuta</i> [9]	1	67
<i>Trametes ochracea</i> [9]	1	65
<i>S. chartarum</i> - наші дані	–	50

Як видно з табл. 2, молекулярна маса субодиноці лаккази штаму *S. chartarum* є близькою відповідним значенням інших грибів. Таким чином, нами вперше показано здатність грибу *S. chartarum* екскреторно продукувати лакказу та визначено молекулярну масу субодиноці цього ферменту.

7. Висновки

1. Здійснено скринінг штамів мікроскопічних грибів за здатністю до синтезу лаккази та відібрано кращі продуценти позаклітинного ферменту – штами *Stachybotris chartarum* та *Monilinia fructicola*.

2. Вперше показано здатність гриба *S. chartarum* екскреторно продукувати лактазу.

3. Оптимізовано умови культивування штаму *S. chartarum*: найвища активність позаклітинної лаккази спостерігається на другу добу росту при культивуванні на середовищі, яке містило мальтозу або глюкозу як джерела карбону.

4. Методом електрофорезу в поліакриламідному гелі встановлено молекулярну масу позаклітинної лаккази (50 кДа), отриманої в аналітичній кількості з клітин гриба *S. chartarum*.

Подяка

Роботу виконано за фінансової підтримки в рамках проекту МОН України «Дослідження нових композиційних матеріалів з іонно-синтезованими металевими наночастинками для сенсорики»

Література

1. Piscitelli, A. Fungal laccases: structure, function and application [Text] / A. Piscitelli, C. Pezzella, V. Lettera, P. Giardina, V. Faraco, G. Sannia // Fungal Enzymes: Progress and Prospects. – 2013. – P. 113–151. doi: 10.1201/b15247-6

2. Levine, W. G. Laccase, a review. In: The biochemistry of copper [Text] / W. G. Levine. – New York: Academic Press Inc., 1965. – P. 371–385.

3. Kües, U. Fungal enzymes for environmental management [Text] / U. Kües // Current opinion in biotechnology. – 2015. – Vol. 33. – P. 268–278. doi: 10.1016/j.copbio.2015.03.006

4. Brijwani, K. Fungal laccases: production, function, and applications in food processing [Text] / K. Brijwani,

A. Rigdon, P. V. Vadlani // Enzyme Research. – 2010. – Vol. 2010. – P. 1–10. doi: 10.4061/2010/149748

5. Viswanath, B. Fungal laccases and their applications in bioremediation [Text] / B. Viswanath, B. Rajesh, A. Jannardhan, A. P. Kumar, G. Narasimha // Enzyme research. – 2014. – Vol. 2014. – P. 1–21. doi: 10.1155/2014/163242

6. Couto, S. R. Industrial and biotechnological applications of laccases: a review [Text] / S. R. Couto, J. L. T. Herrera // Biotechnology advances. – 2006. – Vol. 24, Issue 5. – P. 500–513. doi: 10.1016/j.biotechadv.2006.04.003

7. Moin, S. F. Laccase enzymes: purification, structure to catalysis and tailoring [Text] / S. F. Moin, M. N. Omar // Protein and peptide letters. – 2014. – Vol. 21, Issue 8. – P. 707–713. doi: 10.2174/09298665113209990058

8. Madhavi, V. Laccase: properties and applications [Text] / V. Madhavi, S. S. Lele // BioResources. – 2009. – Vol. 4, Issue 4. – P. 1694–1717. – Available at: <http://ncsu.edu/bioresources>

9. Shleev, S. V. Comparison of physico-chemical characteristics of four laccases from different basidiomycetes [Text] / S. V. Shleev, O. V. Morozova, O. V. Nikitina, E. S. Gorshina, T. V. Rusinova, V. A. Serezhenkov et. al. // Biochimie. – 2004. – Vol. 86, Issue 9-10. – P. 693–703. doi: 10.1016/j.biochi.2004.08.005

10. Valle, J. S. Optimum conditions for inducing laccase production in *Lentinus crinitus* [Text] / J. S. Valle, L. P. Vandenberghe, T. T. Santana, P. H. Almeida, A. M. Pereira, G. A. Linde et. al. // Genetics and Molecular Research. – 2014. – Vol. 13, Issue 4. – P. 8544–8551. doi: 10.4238/2014.october.20.31

11. Khan, M. Extracellular laccase from *Pleurotus sajorajaju*: Fermentative conditions and influence of nitrogenous sources [Text] / M. Khan, R. Motiar, M. Ray, L. Ray, A. K. Guha // Indian Journal of Biotechnology. – 2016. – Vol. 15. – P. 230–235.

12. El-Fakharany, E. M. T. Production and Application of Extracellular Laccase Produced by *Fusarium oxysporum* [Text] / E. M. T. El-Fakharany, M. Esmail, A. M. Hassan, T. H. Taha // International Journal of Agriculture & Biology. – 2016. – Vol. 18, Issue 5. – P. 939–947. doi: 10.17957/IJAB/15.0190

References

1. Piscitelli, A., Pezzella, C., Lettera, V., Giardina, P., Faraco, V., Sannia, G. (2013). Fungal Laccases. Fungal Enzymes, 113–151. doi: 10.1201/b15247-6

2. Levine, W. G. (1965). Laccase, a review. In: The biochemistry of copper New York: Academic Press Inc., 371–385.

3. Kűes, U. (2015). Fungal enzymes for environmental management. *Current Opinion in Biotechnology*, 33, 268–278. doi: 10.1016/j.copbio.2015.03.006
4. Brijwani, K., Rigdon, A., Vadlani, P. V. (2010). Fungal Laccases: Production, Function, and Applications in Food Processing. *Enzyme Research*, 2010, 1–10. doi: 10.4061/2010/149748
5. Viswanath, B., Rajesh, B., Janardhan, A., Kumar, A. P., Narasimha, G. (2014). Fungal Laccases and Their Applications in Bioremediation. *Enzyme Research*, 2014, 1–21. doi: 10.1155/2014/163242
6. Rodriguez Couto, S., Toca Herrera, J. L. (2006). Industrial and biotechnological applications of laccases: A review. *Biotechnology Advances*, 24 (5), 500–513. doi: 10.1016/j.biotechadv.2006.04.003
7. Moin, S., Omar, M. (2013). Laccase Enzymes: Purification, Structure to Catalysis and Tailoring. *PPL*, 21 (8), 707–713. doi: 10.2174/09298665113209990058
8. Madhavi, V., Lele, S. S. Laccase: properties and applications. (2009). *BioResources*, 4 (4), 1694–1717. Available at: <http://ncsu.edu/bioresources>
9. Shleev, S. V., Morozova, O. V., Nikitina, O. V., Gorshina, E. S., Rusinova, T. V., Serezhnikov, V. A. et. al. (2004). Comparison of physico-chemical characteristics of four laccases from different basidiomycetes. *Biochimie*, 86 (9-10), 693–703. doi: 10.1016/j.biochi.2004.08.005
10. Valle, J. S., Vandenberghe, L. P. S., Santana, T. T., Almeida, P. H., Pereira, A. M., Linde, G. A. et. al. (2014). Optimum conditions for inducing laccase production in *Lentinus crinitus*. *Genetics and Molecular Research*, 13 (4), 8544–8551. doi: 10.4238/2014.october.20.31
11. Khan, M., Motiar, R., Ray, M., Ray, L., Guha, A. K. (2016). Extracellular laccase from *Pleurotus sajor-caju*: Fermentative conditions and influence of nitrogenous sources. *Indian Journal of Biotechnology*, 15, 230–235.
12. El-Fakharany, E. M., Hassan, M. A., Taha, T. H. (2016). Production and Application of Extracellular Laccase Produced by *Fusarium oxysporum* EMT. *International Journal of Agriculture and Biology*, 18 (05), 939–947. doi: 10.17957/ijab/15.0190

Дата надходження рукопису 05.10.2016

Демків Ольга Михайлівна, кандидат біологічних наук, Відділ аналітичної біотехнології, молодший науковий співробітник, Інститут біології клітини НАН України, вул. Драгоманова, 14/16, м. Львів, Україна, 79005

E-mail: demkiv@yahoo.com

Банаш Соломія Ярославівна, Львівський національний університет ім. Івана Франка, вул. Грушевського, 4, м. Львів, Україна, 79005

E-mail: solomia31@gmail.com

Притула Сергій Вікторович, Львівський національний університет ім. Івана Франка, вул. Грушевського, 4, м. Львів, Україна, 79005

E-mail: SergioRapak@ukr.net

Гайда Галина Зуфарівна, кандидат хімічних наук, Відділ аналітичної біотехнології, старший науковий співробітник, Інститут біології клітини НАН України, вул. Драгоманова, 14/16, м. Львів, Україна, 79005

E-mail: galina.gayda@gmail.com

Гончар Михайло Васильович, доктор біологічних наук, професор, завідувач відділу, відділ аналітичної біотехнології, Інститут біології клітини НАН України, вул. Драгоманова, 14/16, м. Львів, Україна, 79005; науковий консультант, Інститут прикладної біотехнології і фундаментальних наук, Жешувський університет, вул. Соколовська, 26, пмт. Кольбушова, Польша, 36-100

E-mail: mykhailo1952@gmail.com

УДК 577.12:57.044

ГЛУТАТІОНОВА СИСТЕМА КЛІТИН СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ СПОЖИВАННІ ПІДВИЩЕНОЇ КІЛЬКОСТІ NaCl

© М. О. Тимошенко, О. О. Кравченко, Л. М. Гайда

Розглядаються особливості функціонування глутатіонової системи клітин слизової оболонки шлунка при експериментальному споживанні підвищеної кількості NaCl. Результати відображають зміни внутрішньоклітинного окисно-відновного стану, – переважання прооксидантних умов та зниження глутатіонредуктазної активності як в період безпосереднього впливу даного чинника, так і протягом двотижневої його відміни, що вказує на можливий довготривалий вплив на клітинний метаболізм

Ключові слова: глутатіон, глутатіонредуктаза, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа, слизова оболонка шлунка, хлорид натрію

The glutathione system functioning features in gastric mucosa cells under experimental consumption of increased NaCl amount were considered. The prevalence of oxidative state and decreased glutathione reductase activity were found both during the impact of this factor and its two-week cancellation that might have been indicating a long-term effect on cellular metabolism

Keywords: glutathione, glutathione reductase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, gastric mucosa, sodium chloride