

МИНОБРНАУКИ РОССИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
Н.Г.ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра биохимии и биофизики

Работа выполнена на базе Учебно-научного центра
физико-химической биологии СГУ и ИБФРМ РАН

**СПОСОБНОСТЬ ПЕРОКСИДАЗ СОРГО К ОКИСЛЕНИЮ
ПОЛИЦИКЛИЧЕСКИХ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ**

АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ

Студентки 2 курса 241 группы

направления 06.04.01 «Биология»

Биологического факультета

Щербаковой Елизаветы Вадимовны.

Научный руководитель:

Доцент кафедры биохимии и
биофизики, к.б.н.

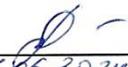


07.06.2024
(подпись, дата)

А.А.Галицкая

Научный консультант:

к.б.н., с.н.с. лаборатории экологической
биотехнологии ИБФРМ РАН



07.06.2024
(подпись, дата)

Е.В.Дубровская

Зав. кафедрой биохимии
и биофизики, д.б.н., профессор



07.06.2024
(подпись, дата)

С.А.Коннова

Саратов 2024

ВВЕДЕНИЕ

Окружающая человека среда перенасыщена различными загрязняющими веществами, оказывающими канцерогенное действие на все живые организмы. К распространенным персистентным поллютантам относят полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), которые образуются при частичном сжигании газа, нефти и нефтепродуктов, угля и древесины. Некоторые из растений обладают устойчивостью к действию такого рода загрязнителей благодаря активному участию в их жизни ферментов антиоксидантных систем, среди которых выделяют супероксиддисмутазную, пероксидазную, аскорбатпероксидазную и каталазную. Пероксидазная система трансформации широкого спектра поллютантов является одной из важнейших. В условиях поллютантного стресса продукция растительных пероксидаз увеличивается. При этом наибольшая их концентрация наблюдается в корневой части растений и в составе корневых экссудатов. Ризосфера является своего рода полигоном, в котором происходит обезвреживание пероксидазами загрязняющих веществ путем их перехода в наиболее растворимые формы. Снижение гидрофобности делает эти молекулы уязвимыми к действию внутриклеточных ферментов и микроорганизмов. Уже непосредственно в клетках растений и микроорганизмах осуществляется ферментативная трансформация, которая приводит к образованию менее токсичных метаболитов. В отличие от ризосферного обезвреживания, в котором на поллютант действие оказывает целый спектр организмов, ферментативная трансформация во многом зависит от характеристик загрязнителя и ферментативного состава организма.

Универсальность и распространенность растительных пероксидаз способствуют проявлению у растений потенциала в биотехнологической сфере, а именно в ремедиации почв и водоёмов, пострадавших от загрязнения ПАУ. Однако к наиболее изученным пероксидазам относят грибные, кристаллические структуры которых позволили предположить строение активного центра пероксидаз и механизм гетеролитического расщепления перекиси водорода в нём.

Растительные же пероксидазы изучены в меньшей степени. В силу недостатка данных об их участии в защите растений от токсичных загрязнений, а также реакциях окисления ими ПАУ, тема актуальна и по сей день.

Сорго веничное (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) является одной из пяти наиболее значимых сельскохозяйственных культур, возделываемых по всему миру. Это растение устойчиво к действию высоких температур и больших концентраций солей, что делает возможным его произрастание практически в любых почвах. Массовое распространение сорго обеспечивает возможность его широкого применения – от производства пищевых волокон до синтеза биоорганического топлива. Этот злак также обладает высоким биоремедиационным потенциалом и в условиях лабораторного эксперимента снижает концентрацию ПАУ на 21-98%.

Доминирующие изоформы пероксидаз сорго в литературе описаны в полной мере. Однако в условиях стресса продуцироваться могут и минорные изоформы, роль которых в детоксикации изучена в меньшей мере. В связи с этим для оценки способности растения противостоять поллютантному стрессу немаловажным является получение данных о ранее неизученных минорных изоформах пероксидаз.

Цель работы заключалась в характеристике способности пероксидаз сорго к окислению ряда нативных ПАУ на примере минорной катионной пероксидазы (МКП).

Для реализации поставленной цели были сформулированы задачи:

- 1) охарактеризовать лабильность пероксидаз сорго в зависимости от влияния эффекторов различной природы;
- 2) отработать методику получения электрофоретически гомогенного препарата высокоактивной МКП из проростков сорго;
- 3) охарактеризовать полученный препарат МКП, в том числе влияние на активность изменения рН и эффекторов различной природы;
- 4) оценить способность МКП к окислению ПАУ.

Структура магистерской работы. Работа состоит из списка сокращений, введения, основной части, заключения, выводов и списка использованных источников. Литературный обзор написан с использованием 131 источника, в нем рассмотрены следующие вопросы: общая характеристика пероксидаз растений, строение пероксидаз растений, функции пероксидаз растений, условия окисления субстратов пероксидазами растений; субстраты, окисляемые пероксидазами растений; окисление субстратов пероксидазами растений в присутствии H_2O_2 ; окисление субстратов пероксидазами растений в присутствии O_2 ; растения, для которых известны реакции окисления субстратов пероксидазами в присутствии O_2 .

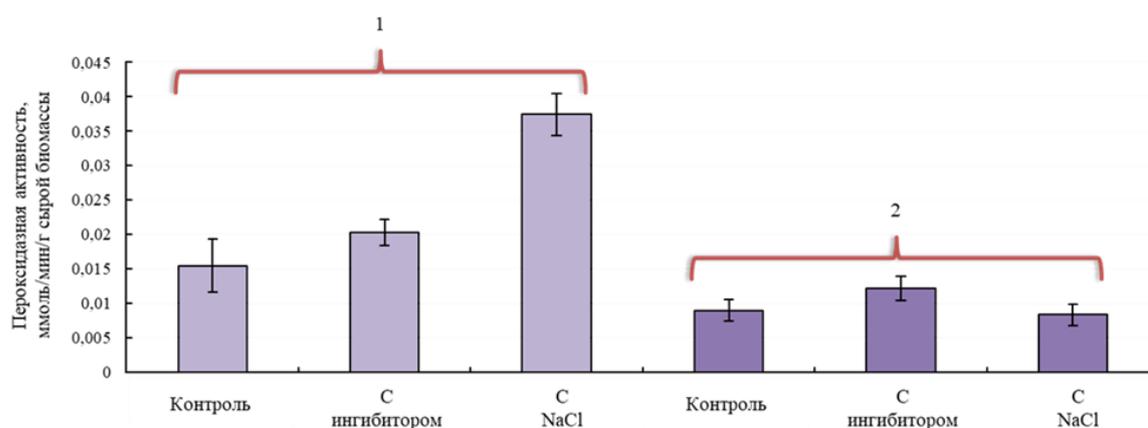
ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования. Объектом исследования являлись 5-суточные этиолированные проростки сорго веничного (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), выращенные в условиях лабораторного эксперимента. Семена сорго сорта «Капитал» и «Севилья» были предоставлены ФГБНУ РосНИИСК «Рос-сорго».

Далее в разделе описаны основные методы, использованные в работе: стерилизация семян, экстракция, высаливание, диализ, анионообменная хроматография, гель-фильтрация, концентрирование, электрофорез, спектрофотометрическое определение активности, определение концентрации белка методом Брэдфорда, определение оптимального значения pH при перекисном и оксидазном окислении субстратов с помощью буферных растворов по Макилвейну, определение сродства фермента к субстрату при перекисном и оксидазном окислении с помощью растворов с концентрацией 2,2'-азино-бис(3-этилбензотиазолин-6-сульфонат) аммония (АБТС) от 0,01 до 0,5 мкМ/мл.

Результаты и обсуждение. Метод стерилизации с использованием гипохлорита натрия в течение 30 минут обеспечил получение стерильных проростков, которые в последующем были гомогенизированы для получения ферментного препарата. В работе сравнивали два сорта сорго – «Капитал» и «Се-

вилья». Peroксидазная активность первого сорта превышала пероксидазную активность второго в контроле на 70%, в присутствии ингибитора протеаз (фенилметилсульфонил фторида) на 65%, при добавлении хлорида натрия в 3 раза. При этом для сорта «Капитал» прирост активности общего пула пероксидаз относительно контроля при добавлении ингибитора протеаз составил 30%, а при добавлении хлорида натрия примерно в 1,5 раза (рисунок 1). Для дальнейшей работы использовали сорт «Капитал», обладающий более высокой активностью.



1 – сорт «Капитал», 2 – сорт «Севилья»

Рисунок 1 – Влияние фенилметилсульфонил фторида (ингибитора протеаз) и хлорида натрия на пероксидазную активность общего пула пероксидаз сорго веничного (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) по отношению к 2,6-диметоксифенолу (ДМФ) при $p \leq 0,05$

Влияние неорганических загрязнителей на активность пероксидазной системы сорго определяли путем добавления в среду культивирования проростков хлоридов различных металлов. В общем пуле пероксидаз было выявлено как положительное, так и отрицательное влияние хлоридов металлов на их активность. В сравнении с контролем пероксидазная активность увеличивалась по отношению к 2,6-диметоксифенолу (ДМФ) и АБТС. Для ДМФ её прирост составил: 10, 25, 30 и 50% соответственно для железа, цинка, меди и магния, примерно в 1,5 и 2 раза активность увеличивалась при добавлении натрия и

марганца. В случае АБТС рост активности составил от 1,2 до 3 раз, она увеличивалась в ряду – цинк, медь, марганец, натрий, железо и магний. Спад активности относительно контроля по отношению к аскорбиновой кислоте (АСК) составлял от 5 до 95%, она уменьшалась в ряду – натрий, магний, марганец, медь, железо и цинк. Стоит отметить, что активность общего пула пероксидаз в присутствии хлорида натрия в среде культивирования значительно повышалась по отношению к ДМФ и АБТС и незначительно понижалась по отношению к АСК.

После пяти суток культивирования наблюдали изменения морфологии опытных образцов относительно контрольной культуры. Следует отметить, что при добавлении в среду хлорида железа некоторые проростки имели спиралевидный побег, при добавлении хлорида цинка прослеживался усиленный рост побеговой части проростка, а при добавлении хлорида натрия – усиленный рост его корневой части. Такие морфологические изменения для проростков сорго в литературе не описаны. Однако их наличие может свидетельствовать о нарушении метаболических путей при попадании в среду ионов различных металлов.

Общий пул пероксидаз выделяли из проростков, как из внутриклеточного содержимого, так и из клеточной стенки путем применения ультразвука. Изоформный состав образцов отличался и, что самое главное, в образце из клеточной стенки отсутствовала МКП. Таким образом было установлено, что она не связана с клеточной стенкой.

По окрашенному продукту окисления *o*-дианизидина (*o*-ДАЗ) характеризовали изоформный состав пероксидаз в неочищенном ферментном препарате. Он был представлен девятью формами с R_f 0,03, 0,09, 0,16, 0,25, 0,56, 0,59, 0,62, 0,72 и 0,78. Доминировали пероксидазы со значениями R_f 0,09 и 0,16. Добавление в среду культивирования проростков хлоридов металлов приводило к увеличению интенсивности полосы с R_f 0,62. ПАУ оказывали схожий эффект: доминировали четыре изоформы пероксидаз с R_f 0,56, 0,59, 0,72 и 0,78.

При изменении условий окружающей среды меняется и пероксидазный состав, что связано с активацией или ингибированием отдельных его изоформ. Подтверждением лабильности пероксидазной системы является изменение пероксидазного профиля проростков сорго под влиянием неорганических и органических эффекторов, затрагивающих состав доминирующих форм. При этом во всех вариантах присутствовала МКП, которая может играть важную роль в защите растения от действия различного рода загрязнения.

Было установлено, что при добавлении в среду культивирования проростков ионов натрия наблюдалась максимальная стимуляция активности выделенной МКП. Активность общего пула пероксидаз в их присутствии значительно повышалась по отношению к ДМФ и АБТС и незначительно понижалась по отношению к АСК. Поскольку в рамках данного исследования особый интерес представляло окисление АБТС, как органического соокислителя ПАУ, активность МКП анализировали именно по этому субстрату. В частности, было установлено, что окисление АБТС при наличии в среде проростков ионов натрия более чем в 7 раз превышала контрольные значения.

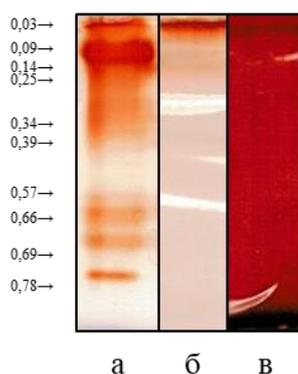
После грубой очистки ферментного препарата, которая включала высаливание и последующий диализ, активность пероксидаз сохранялась на достаточно высоком уровне, что позволило перейти к последующим этапам очистки. Ионообменная хроматография на колонке с сорбентом DEAE-Toyopearl не позволила выделить отдельные фракции пероксидаз. По этой причине был использован другой метод тонкой очистки, а именно гель-фильтрация на колонке с сорбентом Sephacryl S-200. Выявление разных изоформ фермента осуществляли по изменениям поглощения в УФ-спектре и пероксидазной активности в каждой фракции по отношению к АБТС. Необходимо отметить, что наибольшими показателями активности обладали 12-18 фракции, которые соответствовали объему элюции в 24-36 мл и первому пику пероксидазной активности, а также 24-30 фракции, которые соответствовали объему в 48-60 мл и второму пику пероксидазной активности.

Фракции 14, 16, 19, 24, 28 и 30, которые соответствовали объему в 28, 32, 38, 48, 56 и 60 мл, использовали для идентификации изоформ пероксидаз с помощью нативного гель-электрофореза.

При проведении нативного гель-электрофореза по образованию окрашенного продукта окисления *o*-ДАЗ были выявлены зоны пероксидазной активности с R_f , равной 0,03 (катионная изоформа пероксидаз); 0,18, 0,21 и 0,42 (минорные изоформы катионных пероксидаз); 0,54 и 0,66 (анионные изоформы пероксидаз).

Анализ данных, полученных с помощью нативного гель-электрофореза, позволяет сделать вывод о том, что:

- первому пику пероксидазной активности (фракции 14 и 16) соответствует выход катионной изоформы пероксидаз, не связавшейся с анионообменным носителем колонки;
- промежуточной между двумя пиками точке (фракция 19) соответствует выход минорных изоформ катионных пероксидаз;
- второму пику пероксидазной активности (фракции 24, 28 и 30) соответствует выход минорных, а также анионных изоформ пероксидаз, связавшихся с анионообменным носителем колонки.



- а – неочищенный образец, сконцентрированный на ячейке Amicon PM-10,
- б – фракция минорной катионной пероксидазы сорго (ПААГЭ по Орнштейну-Дэвису),
- в – фракция минорной катионной пероксидазы сорго (ПААГЭ по Laemmly)

Рисунок 2 – Изоформный состав фракций пероксидаз

Таким образом, сочетание фракционирования сульфатом аммония, диализа и гель-фильтрации позволило получить электрофоретически гомогенную МКП, Rf которой составляла 0,03 (рисунок 2). Полоса активности присутствовала во всех образцах и положение её оставалось неизменным.

Ранее из взрослых растений сорго были выделены и охарактеризованы анионные изоформы с различной Rf и катионная пероксидаза со значением Rf, равным 0,18. Катионная пероксидаза с Rf, равной 0,03, выделена впервые и представляла интерес для дальнейшего исследования. По этой причине фракции с ней были объединены между собой и сконцентрированы. Методом гель-фильтрации определяли молекулярную массу катионной изоформы, которая составляла 155 кДа. Данный показатель превышает средние значения молекулярных масс других растительных пероксидаз, которые варьируют в диапазоне от 17 до 84 кДа. Однако также описаны случаи получения ферментов с молекулярной массой 95 и 98 кДа, что связано с высокой степенью их гликозилирования. На субъединичный состав МКП указывали данные денатурирующего гель-электрофореза с додецилсульфатом натрия. Минимум три субъединицы входили в её состав, их молекулярная масса составляла 35, 25 и 16 кДа.

С использованием буферных растворов по Макилвейну была определена способность МКП окислять в присутствии и отсутствии перекиси водорода три субстрата в диапазоне рН 2,6-7,0. Максимальные показатели пероксидазной активности по отношению к ДМФ были получены при рН, равном 4,6, а максимальные показатели оксидазной активности – при рН, равном 7,0. Максимальные показатели пероксидазной активности по отношению к АБТС были обнаружены при рН, равном 2,6, а максимальные показатели оксидазной активности – при рН, равном 5,6. Максимальные показатели пероксидазной активности по отношению к АСК были получены при рН, равном 7,0, а максимальные показатели оксидазной активности – при рН, равном 4,0.

Сравнительный анализ пероксидазной и оксидазной активностей относительно заявленных субстратов показал, что МКП наиболее эффективно окисляла АСК, на что указывают значения в 1,3 и $2,0 \times 10^{-2}$ ΔА/час, соответственно.

Менее эффективно фермент проявлял себя в случае с АБТС, на что указывают значения в 1,1 и $6,2 \times 10^{-4}$ ΔА/час, соответственно. Самые низкие показатели активности относились к ДМФ, на что указывают значения в $4,5 \times 10^{-1}$ и $4,5 \times 10^{-4}$ ΔА/час, соответственно. При этом наиболее стабильными активности фермента были относительно АБТС, поскольку они сохранялись на достаточно высоком уровне на протяжении практически всего диапазона рН, как для реакций по пероксидазному пути, так и для реакций по оксидазному. По этой причине именно этот субстрат был выбран для характеристики кинетики реакций с МКП.

По отношению к ДМФ удельная пероксидазная активность составляла $4,2 \times 10^{-2}$ U/мг белка, а удельная оксидазная активность – $4,1 \times 10^{-5}$ U/мг белка. По отношению к АБТС удельная пероксидазная активность достигала $5,0 \times 10^{-2}$ U/мг белка, а удельная оксидазная активность – $2,8 \times 10^{-5}$ U/мг белка. По отношению к АСК удельная пероксидазная и оксидазная активности составляли $6,5 \times 10^{-1}$ и $9,6 \times 10^{-3}$ U/мг белка, соответственно. Стоит отметить, что вопреки ожидаемым результатам удельная оксидазная активность МКП относительно ДМФ превышала таковую относительно АБТС в 1,5 раза. Различная субстратная специфичность двух активностей пероксидаз расширяет спектр окисляемых токсикантов, что делает возможным инициацию пероксидазного цикла реакций продуктами оксидазного окисления пероксидаз.

Скорость пероксидазной реакции выходила на плато при концентрации субстрата, равной 0,4 мкмоль/мл, что позволило определить значения V_{max} и K_M . Было установлено, что V_{max} реакции по пероксидазному пути составляла $1,15 \times 10^{-2}$, $\frac{1}{2}V_{max} = 5,75 \times 10^{-3}$, а $K_M = 0,23$ мкмоль. Скорость оксидазной реакции МКП выходила на плато при концентрации субстрата, равной 0,65 мкмоль/мл, что позволило определить значения V_{max} и K_M . Было установлено, что V_{max} реакции по оксидазному пути составляла $3,97 \times 10^{-5}$, $\frac{1}{2}V_{max} = 1,98 \times 10^{-5}$, а $K_M = 0,32$ мкмоль. Полученные значения K_M позволяют в полной мере охарактеризовать сродство различных активностей МКП к АБТС. В реакции по

пероксидазному пути сродство фермента к субстрату практически в 1,5 раз больше, нежели чем в реакции по оксидазному пути.

Влияние неорганических загрязнителей на пероксидазную активность МКП определяли путем добавления в реакционную смесь азид натрия и хлорида магния. Добавление в смесь азид натрия приводило к убыли активности фермента на 30 и 40% соответственно для 0,5 и 1,5 мМ ингибитора. Добавление в смесь хлорида магния оказывало обратный эффект – прирост пероксидазной активности на 50 и 60% соответственно для 2 и 10 мМ активатора.

Влияние органических загрязнителей на активность пероксидазной системы сорго определяли путем добавления в среду трехкольцевых ПАУ. Среди эффекторов органической природы были выбраны трёхкольцевые ПАУ (фенантрен и антрацен) и дитиотреитол (ДТТ). Пероксидазная активность МКП из проростков, выращенных в среде с добавлением фенантрена, превышала контрольные значения в 2 раза. Эффект от антрацена был более выражен – прирост в 8 раз. ДТТ оказывал ингибирующее влияние и при $0,5 \times 10^{-2}$ мМ инактивировал фермент на 96% через 5 мин протекания реакции.

В соответствии с исследованием О. Omidiji с соавторами азид натрия вызывал ингибирование активности пероксидазы сорго на 70% при концентрации вещества 5 мМ. Эти данные соотносятся с теми, что были получены нами, поскольку уже при 1,5 мМ эффект ингибирования достигал 40%. По литературным данным хлорид магния, напротив, вызывал повышение активности фермента на 15% при концентрации вещества 2 мМ. Для МКП этот эффект оказался куда более выраженным, поскольку при 2 мМ хлорида активность увеличивалась на 50%. О. Omidiji с соавторами утверждает, что ДТТ в концентрации 5 мМ инактивирует пероксидазу сорго и вызывает снижение ее активности на 98%. Однако в случае МКП такая убыль была зафиксирована при куда меньшей концентрации в $0,5 \times 10^{-2}$ мМ. Эти отличия совместно с атипичным показателем молекулярной массы могут указывать на уникальность этого фермента относительно других пероксидаз растений.

Под влиянием очищенной МКП происходила убыль всех выбранных ПАУ, она составляла: 90, 80, 20 и 15% соответственно для антрацена, фенантрена, флуорантена и пирена.

На успех окисления антрацена также указывало увеличение концентрации продукта его неполного окисления – антрахинона. Важно отметить, что наиболее активно трансформации подвергались трехкольцевые ПАУ, убыль которых была в 5 раз больше, что особенно значимо, учитывая их более легкое поступление внутрь растения с водой.

Соответственно, можно сделать вывод, что МКП играет важную роль во внутриклеточной детоксификации ПАУ. При этом при анализе пероксидазного профиля корневых экссудатов сорго было установлено, что МКП была среди изоформ, проявляющих максимальную активность. Это дает основание предполагать, что ей принадлежит значимая роль во внеклеточной детоксикации ПАУ, в том числе и тяжелых, поступление которых внутрь растения затруднено липофильностью этих молекул.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе исследования было установлено, что ионы железа, меди, цинка, магния, марганца и натрия в концентрациях, превышающих ПДК в 10 раз, вызывали в проростках сорго окислительный стресс и влекли за собой активацию ферментов антиоксидантной системы, в том числе и пероксидаз. На это указывали многократно возросшие активности по отношению к ДМФ и АБТС. Спад активностей к АСК мог свидетельствовать о дезактивации аскорбатпероксидазной системы, как основной системы детоксикации растений, и активации альтернативных систем. В одной из таких могла быть задействована и неопи-санная ранее МКП.

Полученная в результате многочисленных этапов очистки МКП была идентифицирована при R_f , равной 0,03, а обнаруженная способность к пероксидазному и оксидазному окислению ряда соединений позволила установить для данной изоформы субстратный спектр и оптимумы pH для него. Наиболь-

шие показатели удельной активности у фермента были относительно АСК при рН, равном 7,0 для реакций по пероксидазному пути и 4,0 для реакций по оксидазному пути. При этом активность изоформы была наиболее стабильна по отношению к АБТС, который в дальнейшем использовали для характеристики её кинетики. Значения K_M , равные 0,23 и 0,32 мкмоль, соответственно, позволили сделать вывод о том, что сродство МКП к АБТС в случае пероксидазной реакции больше в 1,5 раза, чем в случае оксидазной. Широкий диапазон условий окружающей среды, в котором выделенная изоформа сохраняет свою активность на достаточно высоком уровне, обуславливает устойчивость сорго к отравляющему действию загрязняющих почву соединений.

На МКП оказывали влияние эффекторы различной природы – неорганические вещества и органические соединения. Помимо антрацена наибольший активирующий эффект оказал хлорид натрия, поэтому именно его добавляли в среду к проросткам сорго при культивировании. Поскольку ПАУ являются одними из наиболее персистентных поллютантов в реакционную смесь добавляли синтетическое органическое вещество – АБТС – в качестве медиатора. В последующем было охарактеризовано соокисление трёх- и четырёхкольцевых представителей нативных ПАУ: убыль составляла 90, 80, 20 и 15% соответственно для антрацена, фенантрена, флуорантена и пирена. Важно отметить, что наиболее активно трансформировались трёхкольцевые ПАУ, убыль которых превышала убыль четырёхкольцевых в 5 раз.

Таким образом, из проростков сорго веничного впервые выделена и охарактеризована МКП, которая наряду с пероксидазной обладает также и оксидазной активностью, что делает возможным инициацию пероксидазного цикла реакций продуктами оксидазного окисления. Обнаруженная стимуляция активности МКП в присутствии неорганических и органических загрязнителей и способность окислять ряд ПАУ свидетельствуют об её активном участии в защите растения в условиях загрязнения.

ВЫВОДЫ

1. Впервые получен электрофоретически гомогенный препарат минорной катионной пероксидазы (МКП) сорго веничного, для которой были определены молекулярная масса и субъединичный состав. Показано, что МКП имела две активности – пероксидазную и несвойственную данным ферментам оксидазную. Определены каталитические показатели по отношению к различным субстратам и при разных условиях прохождения реакции.

2. Показано, что пероксидазная активность МКП из проростков, выращенных в присутствии антрацена и фенантрена, возрастала по сравнению с контролем в 8 и 2 раза, соответственно. Ингибирующее влияние на активность фермента оказывал дитиотреитол (ДТТ), который при концентрации в $0,5 \times 10^{-2}$ мМ инактивировал фермент на 96% через 5 мин протекания реакции.

3. Показано, что МКП эффективно трансформировала нативные полициклические ароматические углеводороды (ПАУ) в присутствии медиатора – 2,2'-азино-бис(3-этилбензотиазолин-6-сульфоната) аммония (АБТС). Убыль трёхкольцевых представителей – фенантрена и антрацена – в 5 раз превышала убыль четырёхкольцевых – флуорантена и пирена – и составляла 80 и 90%, соответственно.

4. Показана лабильность изоформного состава пероксидаз сорго под влиянием эффекторов различной природы, которая сопровождалась переходом минорных изоформ пероксидаз в доминирующие. При добавлении ионов магния пероксидазная активность относительно АБТС возрастала в 3 раза, а при добавлении ионов железа и натрия – в 2 раза. Среди органических загрязнителей наибольшее влияние оказывал трёхкольцевой нативный ПАУ – антрацен, добавление которого в среду приводило к переходу минорной анионной пероксидазы с $R_f 0,57$ в доминирующую изоформу.

Е.В.Щуц