

Inhibicija supstrata za proizvodnju tirozinaze s pomoću gljive *Lentinula boryana* (Berk. & Mont.) Pegler prekursorom dopamina (L-DOPA)

Sažetak

Provedena je preliminarna karakterizacija tirozinaze proizvedene brazilskim sojem gljive *Lentinula boryana*, radi procjene moguće primjene u biotehnologiji. Enzim je po mnogo čemu sličan tirozinazama drugih gljiva. Nakon karakterizacije sirovog ekstrakta, aktivnost tirozinaze bila je optimalna pri pH=6 i ne osobito termostabilna, s poluvremenom raspada od 10 i 1 min pri 50 i 60 °C. Enzim je pročišćen taloženjem pomoću amonijeva sulfata i ionskom kromatografijom na koloni DEAE-sefaroze, s prinosom od 33 % i faktorom obogaćivanja od 5,3. Primjenom metode SDS-PAGE dobivene su 3 trake pročišćenoga proizvoda, molekularne mase od 20, 27 i 47 kDa. Pokazatelji kinetike inhibicije supstrata tog proizvoda s L-DOPA (3,4-dihidroksi-L-fenilalaninom) iznosili su $K_M=1,9$ mM i $K_I=72$ mM. U istim uvjetima reakcije tirozinaza iz komercijalnih gljiva ponašala se prema Michales-Mentenovom modelu s vrijednošću $K_M=0,51$ mM. Iako ovim istraživanjem nije ustanovljeno da je tirozinaza iz gljive *L. boryana* najprikladnija za biotehnološku primjenu, ipak je pridonijelo spoznajom da L-DOPA utječe na inhibiciju supstrata enzima, što dosad nije bilo poznato.