**Использование нанокластеров золота для выявления активности пектиназы**

***Сахина С.Я., 1 Якимов Н.П.,1 Семенова М.В.,1 Кудряшова Е.В.,1 Мелик-Нубаров Н.С.1***

*Студент, 3 курс специалитета*

*1Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,*

*химический факультет, Москва, Россия*

*E-mail:* *sofia.sakhina@chemistry.msu.ru*

Нанокластеры золота представляют собой комплексные соединения, содержащие 10 – 100 атомов металла в степени окисления 0 и +1 [1]. При стабилизации природным трипептидом глутатионом (SG) в качестве лиганда некоторые нанокластеры способны проявлять яркую флуоресценцию в голубом [2], красном[3] и даже ближнем ИК [4] спектральном диапазоне. При этом интенсивность флуоресценции может повышаться под действием многозарядных катионов, способствующих переносу заряда с лиганда-на-металл [5], но в присутствии полианионов этот эффект нивелируется. При расщеплении полианиона вновь наблюдается повышение флуоресценции. Данное свойство нанокластеров широко используется для анализа различных тяжёлых металлов [6] и катионных пептидов в биологических жидкостях [7], но в литературе нет данных об использовании данного подхода для выявления активности гидролаз, специфичных по отношению к анионным субстратам. В настоящей работе мы исследовали изменение флуоресценции нанокластеров Au22(SG)18 в присутствии электролитов и применили этот эффект для выявления каталитической активности пектиназы грибов.

Мы показали, что флуоресценция стабилизированных глутатионом нанокластеров золота Au22(SG)18 существенно увеличивается при взаимодействии с большим избытком поликатиона ионен-3,3. Этот эффект почти полностью нивелировался при добавлении природного полианиона пектина. По всей видимости, это объясняется вытеснением нанокластеров из комплекса с поликатионом, либо образованием тройных комплексов “Au22(SG)18-ионен-пектин”. Добавление пектиназы к тройной системе Au22(SG)18-ионен-пектин приводило к резкому снижению интенсивности рассеянного света, сопровождающемуся повышением флуоресцентного сигнала. Восстановление флуоресценции вызывается ферментативным расщеплением пектина, что приводит к снижению мутности системы и увеличению квантового выхода флуоресценции кластеров за счет образования комплекса с ионеном-3,3 нанокластеров под действием света. Данная закономерность была использована для оценки скорости катализируемого пектиназой гидролиза пектина. Удельная начальная скорость расщепления пектина, катализируемого пектиназой, составила 3.0 % пектина/мин на 1 мг фермента, и эффективная константа скорости ферментативного гидролиза составляла 0.032 ± 0.003 мин-1. Аналогичные данные были получены с помощью традиционного метода с использованием ДНС-реагента. Таким образом, этот подход к определению активности ферментов с помощью Au22(SG)18 позволяет корректно определять ферментативную активность пектиназы из грибов. Полученные результаты демонстрируют универсальность предлагаемого подхода к разработке молекулярных сенсоров, основанных на комплексах нанокластеров золота с заряженными биополимерами.

*Работа выполнена в рамках государственной программы «Современные проблемы химии и физикохимии полимеров № AAAA-A21-121011990022-4*

**Литература**

1. R. Jin, C. Zeng, M. Zhou and Y. Chen *Chem. Rev.* 2016, 116, 10346.
2. R. D. Corpuz, Y. Ishida and T. Yonezawa *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2016,18, 8773-8776.
3. Y. Yu, Z. Luo, D. M. Chevrier, et al. *J. Am. Chem. Soc.* 2014, 136, 1246.
4. I. Russier-Antoine, F. Bertorelle, M. Vojkovic, D. Rayane, et al. *Nanoscale* 2014, **6**, 13572.
5. E. M. Koskinen, P. O. Lipas and M. Manninen *Z. Phys. D* - *Atoms, Molecules and Clusters* 1995, 35, 285.
6. Q. Lai, Q. Liu, X. Duan, G. Wang and X. Su *Microchimica Acta* 2019, 186, 327
7. S. Li, P. Huang and F. Wu *New J. Chem*. 2017, 41, 717.