

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ШТАММОВ БАКТЕРИЙ С ЭСТЕРАЗНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Астраханов М.^{1,2}, Мусахметов А.¹, Кирибаева А.¹, Силаев Д.¹, Хасенов Б.^{1*}¹Национальный центр биотехнологии, Кургальжинское шоссе, 13/5, г. Астана, 010000, Казахстан²Евразийский Национальный Университет им. Гумилева, К.Сатпаева, 2, г. Астана, 010000, Казахстан

*Корреспондент автор: Хасенов Б., khassenov@biocenter.kz

АБСТРАКТ

На территории ТОО «Экополигон» в г. Астана в местах скопления бытовых отходов были собраны образцы почвы, из которых было выделено 10 изолятов микроорганизмов. Идентификация выделенных изолятов была проведена на основании культурально-морфологических признаков, протеомного профиля рибосомальных белков, и молекулярно-генетических данных. Исследования показали, что все изоляты способны к утилизации Tween-20 и Tween-80, что свидетельствует о наличии эстеразной активности. Штамм *Aeromonas veronii* Tw8.1 на основании скрининга по утилизации трибутирина показал наибольшую эстеразную активность. Экстрацеллюлярная эстераза из *Aeromonas veronii* Tw8.1 проявляет субстратную специфичность относительно *n*-нитрофенил октаноата и *n*-нитрофенил ацетата, активна в диапазоне температур 40-60°C и pH 8-12. Максимальная активность эстеразы из *Aeromonas veronii* Tw8.1 установлена при 50°C и pH 11. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования штамма *Aeromonas veronii* Tw8.1 в качестве продуцента эстеразы.

Ключевые слова: бактерия, штамм, *Aeromonas veronii*, фермент, эстераза.

ВВЕДЕНИЕ

Эстеразы (ЕС 3.1.1.1) и липазы (ЕС 3.1.1.3) являются гидролитическими ферментами, которые катализируют гидролиз и трансэтерификацию эфиров жирных кислот [1]. Липазы и эстеразы представляют собой серингидролазы, имеют сходную структуру в форме α/β -гидролазной складки [2] и общую каталитическую триаду (Ser-His-Asp/Glu) в активном сайте [1]. Эстеразы отличаются от липаз кинетическими параметрами и субстратной специфичностью [3]: эстеразы расщепляют водорастворимые эфиры жирных кислот с короткой цепью ($C < 10$), тогда как липазы предпочитают нерастворимые в воде субстраты, обычно триглицериды с длинной цепью ($C > 10$) [4].

Эстеразы и липазы являются распространенными в природе ферментами, встречаются в растениях, животных и микроорганизмах [5], так как играют важную роль в клеточном метаболизме. Значение этих ферментов в промышленности трудно переоценить, особенно востребованными являются ферменты микробного происхождения в силу их высокой активности в широком диапазоне температур и pH, устойчивости к воздействию агрессивных веществ. В частности, микробные липазы и эстеразы используют в производстве биотоплива, изделий косметической, пищевой и фармацевтической промышленности [6]. Среди промышленных продуцентов эстераз известны штаммы бактерий *Aeromonas*, *Streptomyces*, *Pseudomonas* и *Bacillus* [7], но продолжают поиски новых штаммов-продуцентов микробных липаз и эстераз с желаемыми каталитическими свойствами для промышленного использования.

Микроорганизмы, выделенные из окружающей среды, являются источниками разнообразных ферментов, имеющих большое промышленное значение [8]. Эстеразы

являясь одними из востребованных ферментов активно изучаются исследователями. В литературе встречаются данные о бактериальных эстеразах активных в диапазоне температур 30-60°C. Например, температурный оптимум при 45°C установлен у эстеразы из *Alteromonas* sp. 39-G1 [1], максимальную активность проявляет при 60°C эстераза из *Geobacillus* sp. JM6 [9], при 30°C - экстрацеллюлярная эстераза из *Bacillus* sp. JR3 [9]. В сравнении ферментами из данных штаммов, эстераза из *Aeromonas veronii* Tw8.1 обладает хорошими температурными показателями. В исследованиях авторов приводятся данные о показателях ферментативной активности эстераз при различных значениях pH, например эстеразы из *Geobacillus* sp. JM6 и *Alteromonas* sp. 39-G1 имеют оптимум pH при 7,5 и 8,0 соответственно и активны в диапазоне 6,0-9,0, в то время как эстераза из *Aeromonas veronii* Tw8.1 демонстрирует большую активность в щелочной среде при pH 8-12.

Таким образом, можно отметить, что отобранный на основании скрининга штамм *Aeromonas veronii* Tw8.1 имеет перспективу применения в качестве продуцента эстеразы, которая в свою очередь будет иметь большое прикладное значение.

В настоящей работе представлены результаты по выделению, скринингу и идентификации штаммов с выраженной эстеразной активностью. Целью работы являлся отбор наиболее активного штамма и определение его биохимических свойств.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Питательные среды

Выделение и культивирование бактериальных штаммов из образцов почвы проводили с использованием базальной агаризованной среды следующего состава:

0,5% NaCl, 0,5% пептона, 0,1 % CaCl₂, 2 % агара. В данной среде в качестве источника углерода использовали Tween 20 и Tween 80. Культивирование выделенных штаммов бактерий проводили на питательном агаре и бульоне (Himedia, Индия) и в питательной среде Леннокс бульон (Broth-Lennox): 0,5% дрожжевого экстракта, 1% триптона, 0,5% NaCl.

2.2 Выделение бактерий из почвы

Образцы почвы были собраны из мест скопления бытовых отходов г. Астана на территории ТОО «Экополигон». Выделение чистых культур микроорганизмов проводили методом серийных разведений в плотной питательной среде. Для этого 1 грамм почвы суспендировали в 0,9 мл раствора 0,9 % NaCl, затем разбавляли в 10⁴ раз. Суспензию в объеме 100 мкл распределяли на базальной агаризованной среде, содержащей 1 % Tween 20 и инкубировали в течение 72 часов при 37°C. Подтверждением эстеразной активности являлись зоны помутнения вокруг колоний, образовавшиеся в результате осаждения кальция. Колонии с наибольшим проявлением активности были отобраны и пересеяны на питательный агар, чистоту колоний проверяли окрашиванием по Граму и световой микроскопией.

2.3 Идентификация штаммов

Идентификацию штаммов проводили по протеомному профилю бактерий с использованием технологии MALDI-ToF-масс-спектрометрии на приборе Biotyper производства Bruker (Германия) и путем секвенирования по консервативному локусу – фрагмента 16S рРНК.

Для этого ДНК из бактериальных штаммов выделяли с использованием набора Genomic DNA purification kit (Thermo scientific) по протоколу производителя. Фрагмент гена 16S рРНК амплифицировали из геномной ДНК бактерий с использованием олигонуклеотидов 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') и 1492R (5'-TACGGTTACCTTGTACGACTT-3'). Состав ПЦР: 100 нг геномной ДНК, 2,5 мкл 10X Taq буфера, 2,5 мМ смесь дезоксинуклеозидтрифосфатов, 10 мкМ каждого олигонуклеотида, 0,5 Ед Taq ДНК полимеразы, 1,5 мкМ MgCl₂, безнуклеазной водой доводили объем до 25 мкл. Условия ПЦР: денатурация 1 цикл 95°C в течение 5 мин; 30 циклов - 95°C в течение 1 минута, 55°C в течение 1 минуты, 72°C в течение 1,5 минуты; 1 цикл - 72°C в течение 10 минут. Очистку амплифицированных генов от компонентов реакционной смеси проводили с помощью хлороформной экстракции с последующим осаждением этанолом.

Секвенирование гена 16S РНК проводили по методу Сэнгера [10] с использованием BigDye™ Terminator v3.1 (Applied Biosystems, США) в соответствии с протоколом производителя. Разделение фрагментов гена проводили с помощью автоматического секвенатора ABI 3730xl (Applied Biosystems, США). Анализ хроматограмм и сравнение с референтными последовательностями проводили с использованием пакета программ VectorNTI и базы данных NCBI.

2.4 Скрининг штаммов по эстеразной активности

Для отбора штаммов с эстеразной активностью,

бактериальные культуры растили в питательной среде Леннокс бульона в шейкере-инкубаторе в течение 24 ч при 37°C, после чего 1 мл культуры вносили в среду следующего состава: 0,05 мМ CaCl₂, 0,01 мМ MnSO₄, 40 мМ фосфат калия, 1 % трибутирина и инкубировали при 37°C, встряхивании 180 об/мин, в течение 120 часов. После инкубации клетки осаждали центрифугированием при 4°C, 6000 x g в течение 7 минут, а культуральную жидкость пропускали через фильтр с размером пор 0,22 мкм и использовали для определения эстеразной активности.

2.5 Определение эстеразной активности

Эстеразную активность против сложных эфиров p-нитрофенила определяли путем измерения количества p-нитрофенола, высвободившегося в результате каталитического гидролиза [11]. Для этого 1 мМ субстрата 4-нитрофенил октаноата (Thermo Scientific, США) растворяли в 100 мМ буфере, содержащем 20 мМ NaCl и 0,1 % (об/об) Тритон X-100. К 975 мкл раствора добавляли 25 мкл ферментного раствора и инкубировали при 30°C в течение 15 минут. Поглощение измеряли при длине волны 405 нм с помощью спектрофотометра UV-1900i (Shimadzu, Япония). Одну единицу активности эстеразы определяли как количество фермента, высвобождающего 1 мкмоль p-нитрофенола в минуту.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Сбор материала и выделение штаммов

С территории ТОО «Экополигон» были собраны образцы почвы, из которых было выделено 10 бактериальных изолятов. Отбор штаммов был проведен на агаризованной базальной среде с Tween 20 и Tween 80. Образующие зоны с кальциевыми помутнениями свидетельствуют о потенциальной эстеразной активности штаммов (рисунок 1).

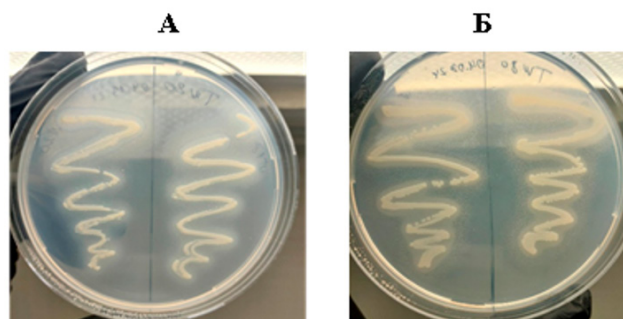


Рисунок 1 – Колонии бактерий, выросшие на базальной агаризованной среде с добавлением Tween 20 (А) и Tween 80

3.2 Идентификация штаммов

На питательном агаре бактериальные изоляты образовывали колонии бежевого (светлого) цвета диаметром 1–2 мм с неровными краями, вязкой консистенции. Анализ нуклеотидной последовательности гена 16S РНК и сличение с базой данных NCBI, в сочетании с результатами протеомного профиля рибосомальных белков, полученных с помощью Biotyper показал, что изоляты принадлежат видам: *Bacillus megaterium*, *Bacillus simplex*, *Yersinia intermedia*, *Aeromonas veronii*, *Serratia liquefaciens* (таблица 1).

Таблица 1 – Результаты по видовой идентификации бактериальных изолятов, выделенных из образцов почвы ТОО «Экополигон»

Изолят	Секвенирование фрагмента 16S рРНК		MALDI-ToF Biotyper	
	Видовое наименование штамма	% идентичности	Видовое наименование штамма	Score
N1	<i>Bacillus megaterium</i>	96,55	<i>Bacillus megaterium</i>	2,09
E2	<i>Yersinia intermedia</i>	97,32	<i>Yersinia intermedia</i>	2,336
E3	<i>Yersinia intermedia</i>	97,63	<i>Yersinia intermedia</i>	2,249
N5	<i>Serratia liquefaciens</i>	85	<i>Serratia liquefaciens</i>	2,19
N6	<i>Bacillus simplex</i>	97	<i>Bacillus simplex</i>	2,002
Tw3	<i>Bacillus megaterium</i>	97	<i>Bacillus megaterium</i>	2,044
Tw8.1	<i>Aeromonas veronii</i>	97	<i>Aeromonas veronii</i>	2,154
Tw8.2	<i>Aeromonas veronii</i>	98	<i>Aeromonas veronii</i>	2,122
Tw10	<i>Bacillus megaterium</i>	98	<i>Bacillus megaterium</i>	1,906
Gr3	<i>Bacillus licheniformis</i>	98	<i>Bacillus thuringiensis</i>	1,927

3.3 Скрининг штаммов по проявлению эстеразной активности

После культивирования бактериальных штаммов на среде, содержащей 1% трибутирин была получена культуральная жидкость. Анализ культуральной жидкости штаммов проводили на агаризованной среде с добавлением 4-нитрофенил октаноата (Thermo Scientific), США) и 4-нитрофенил ацетата (Thermo Scientific). В чашках Петри с агаризованной средой (1 % агар) и 1 % 4-нитрофенил октаноата или 4-нитрофенил ацетата вырезали лунки диаметром 10 мм, и в лунки вносили 50 мкл культуральной жидкости. После инкубации при 37°C и 20 минут визуально были отмечены зоны пожелтения на агаризованной среде, содержащей 4-нитрофенил октаноат и 4-нитрофенил ацетат, свидетельствующий о высвобождении п-нитрофенола вследствие гидролиза исходных субстратов под действием бактериальной эстеразы. Наиболее выраженную эстеразную активность показали два штамма *Aeromonas veronii* Tw8.1 и *Aeromonas veronii* Tw8.2 (рисунок 2). Для дальнейших исследований использовали штамм *Aeromonas veronii* Tw8.1, для которого отмечена более высокая эстеразная активность.

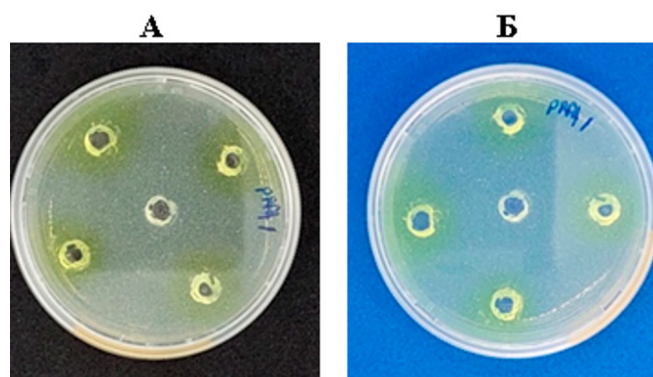


Рисунок 2 – Анализ культуральной жидкости штаммов *Aeromonas veronii* Tw8.1 и Tw8.2 на агаризованной среде с добавлением 1 % 4-нитрофенил октаноата (А) и 4-нитрофенил ацетата (Б)

3.4 Исследование биохимических свойств эстеразы штамма *Aeromonas veronii* Tw8.1

Штамм *Aeromonas veronii* Tw8.1 культивировали в

Леннокс бульоне (ЛБ) с добавлением 1% трибутирина при 37°C в течение 120 часов и встряхивании 180 об/мин. Фильтрованную культуральную жидкость штамма концентрировали в двадцать раз с использованием центрифужного концентратора Pierce™ Protein Concentrator, 10K MWCO (Thermo Scientific). Полученный концентрат использовали для изучения биохимических свойств фермента.

Определение pH оптимума эстеразы проводили при 30°C в различных буферных системах в диапазоне значений pH 4-12: натрий-ацетатный буфер (pH 4,0-5,5), фосфатный буфер (pH 6,0-8,5), глицин-NaOH (pH 9,0-12,0). Зависимость активности эстеразы от температуры определяли в диапазоне температур 30-70°C при оптимальном значении pH. Максимальную ферментативную активность оценивали как 100%-ную активность, а полученные результаты при различных pH и температуре оценивали как активность относительно максимальной.

Оптимальное значение pH для эстеразы (рисунок 3А) было отмечено при значении pH=11.

Эстераза *Aeromonas veronii* Tw8.1 проявляет большую часть активности (более 70 %) в диапазоне pH 8-12. Максимальная эстеразная активность (рисунок 3Б) была отмечена при температуре 50°C, более 70% ферментативной активности наблюдается в диапазоне температур 40-60°C.

Таким образом, можно отметить, что отобранный на основании скрининга штамм *Aeromonas veronii* Tw8.1 имеет перспективу применения в качестве продуцента эстеразы, которая в свою очередь будет иметь большое прикладное значение.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Из образцов почвы, собранной на территории ТОО «Экополигон», где происходит сбор бытовых отходов города Астаны, выделено 10 бактериальных изолятов, которые на основании культурально-морфологических, протеомных и молекулярно-генетических данных были идентифицированы как представители *Bacillus megaterium*, *Bacillus simplex*, *Yersinia intermedia*, *Aeromonas veronii*, *Serratia liquefaciens*. Среди 10 штаммов, на

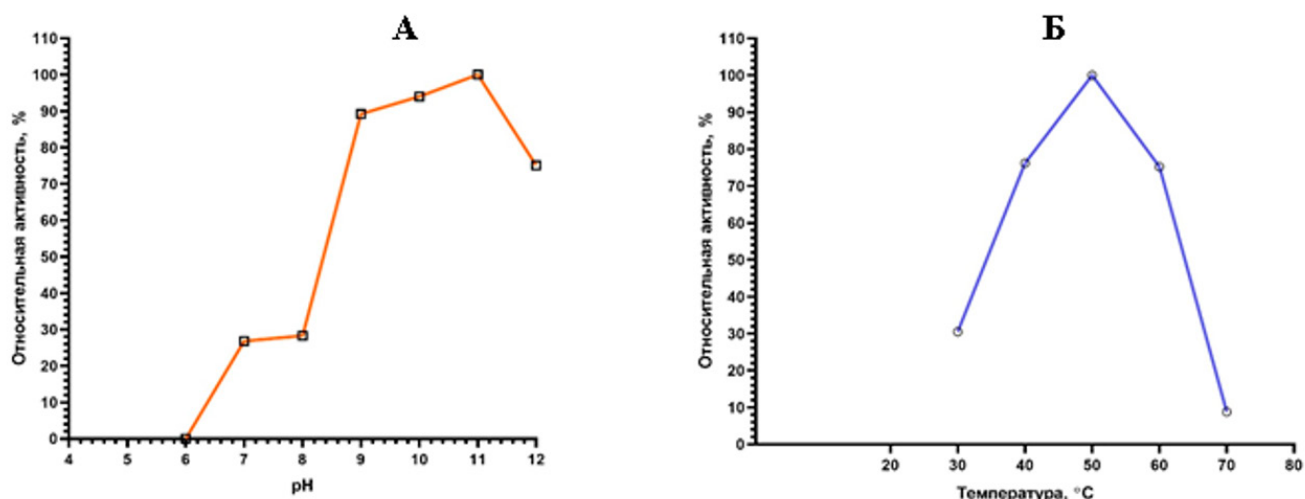


Рисунок 3 – Влияние pH (А) и температуры (Б) на эстеразную активность штамма *Aeromonas veronii* Tw8.1

основании скрининга по утилизации трибутирина отобран штамм *Aeromonas veronii* Tw8.1. Изучение биохимических свойств показал, что эстераза из *Aeromonas veronii* Tw8.1 активна в диапазоне температур 30–60°C и pH 8–12, обладает максимальной активностью при 50°C и значении pH 11. Полученные результаты предполагают дальнейшее изучение как самого штамма *Aeromonas veronii* Tw8.1, так и секретируемого дынным штаммом эстеразы.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Эти исследования были профинансированы Комитетом науки Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан (грант № AP19679339).

ЛИТЕРАТУРА

1. Won, S.J., Jeong, H.B., Kim, H.K. Characterization of Novel Salt-Tolerant Esterase Isolated from the Marine Bacterium *Alteromonas* sp. 39-G1 // *Journal of microbiology and biotechnology*. – 2020. – Vol. 30(2). – P. 216–225. <https://doi.org/10.4014/jmb.1907.07057>.
2. Nardini, M., Dijkstra, B.W. Alpha/beta hydrolase fold enzymes: the family keeps growing // *Current opinion in structural biology*. – 1999. – Vol. 9(6). – P. 732–737. [https://doi.org/10.1016/s0959-440x\(99\)00037-8](https://doi.org/10.1016/s0959-440x(99)00037-8).
3. Chahinian, H., Sarda, L. Distinction between esterases and lipases: comparative biochemical properties of sequence-related carboxylesterases // *Protein and peptide letters*. – 2009. – Vol. 16(10). – P. 1149–1161. <https://doi.org/10.2174/092986609789071333>.
4. Kumar, A., Dhar, K., Kanwar, S.S., Arora, P.K. Lipase catalysis in organic solvents: advantages and applications // *Biological procedures online*. – 2016. – Vol. 18. – P. 2. <https://doi.org/10.1186/s12575-016-0033-2>.
5. Castro, F.F., Pinheiro, A.B.P., Gerhardt, E.C.M., Oliveira, M.A.S., Barbosa-Tessmann, I.P. Production, purification, and characterization of a novel serine-esterase from *Aspergillus westerdijkiae* // *Journal of basic microbiology*.

– 2018. – Vol. 58(2). – P. 131–143. <https://doi.org/10.1002/jobm.201700509>.

6. Ng, A.M.J., Zhang, H., Nguyen, G.K.T. Zymography for Picogram Detection of Lipase and Esterase Activities // *Molecules* (Basel, Switzerland). – 2021. – Vol. 26(6). – P. 1542. <https://doi.org/10.3390/molecules26061542>.

7. Yu, N., Yang, J.C., Yin, G.T., Li, R.S., Zou, W.T., He, C. Identification and characterization of a novel esterase from *Thauera* sp. // *Biotechnology and applied biochemistry*. – 2018. – Vol. 65(5). – P. 748–755. <https://doi.org/10.1002/bab.1659>.

8. Katsimpouras, C., Stephanopoulos, G. Enzymes in biotechnology: Critical platform technologies for bioprocess development // *Current opinion in biotechnology*. – 2021. – Vol. 69. – P. 91–102. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2020.12.003>.

9. Ribera, J., Estupiñán, M., Fuentes, A., Fillat, A., Martínez, J., Diaz, P. *Bacillus* sp. JR3 esterase LipJ: A new mesophilic enzyme showing traces of a thermophilic past // *PloS one*. – 2017. – Vol. 12(7). – P. e0181029. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181029>.

10. Sanger, F., Nicklen, S., Coulson, A.R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 1977. – Vol. 74(12). – P. 5463–5467. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>.

11. Zhu, Y., Zheng, W., Ni, H., Liu, H., Xiao, A., Cai, H. Molecular cloning and characterization of a new and highly thermostable esterase from *Geobacillus* sp. JM6 // *Journal of basic microbiology*. – 2015. – Vol. 55(10). – P. 1219–1231. <https://doi.org/10.1002/jobm.201500081>.

REFERENCES

1. Won, S.J., Jeong, H.B., Kim, H.K. Characterization of Novel Salt-Tolerant Esterase Isolated from the Marine Bacterium *Alteromonas* sp. 39-G1 // *Journal of microbiology and biotechnology*. – 2020. – Vol. 30(2). – P. 216–225. <https://doi.org/10.4014/jmb.1907.07057>.
2. Nardini, M., Dijkstra, B.W. Alpha/beta hydrolase fold enzymes: the family keeps growing // *Current opinion in structural biology*. – 1999. – Vol. 9(6). – P. 732–737. [https://doi.org/10.1016/s0959-440x\(99\)00037-8](https://doi.org/10.1016/s0959-440x(99)00037-8).

doi.org/10.1016/s0959-440x(99)00037-8.

3. Chahinian, H., Sarda, L. Distinction between esterases and lipases: comparative biochemical properties of sequence-related carboxylesterases // Protein and peptide letters. – 2009. – Vol. 16(10). – P. 1149-1161. <https://doi.org/10.2174/092986609789071333>.

4. Kumar, A., Dhar, K., Kanwar, S.S., Arora, P.K. Lipase catalysis in organic solvents: advantages and applications // Biological procedures online. – 2016. – Vol. 18. – P. 2. <https://doi.org/10.1186/s12575-016-0033-2>.

5. Castro, F.F., Pinheiro, A.B.P., Gerhardt, E.C.M., Oliveira, M.A.S., Barbosa-Tessmann, I.P. Production, purification, and characterization of a novel serine-esterase from *Aspergillus westerdijkiae* // Journal of basic microbiology. – 2018. – Vol. 58(2). – P. 131-143. <https://doi.org/10.1002/jobm.201700509>.

6. Ng, A.M.J., Zhang, H., Nguyen, G.K.T. Zymography for Picogram Detection of Lipase and Esterase Activities // Molecules (Basel, Switzerland). – 2021. – Vol. 26(6). – P. 1542. <https://doi.org/10.3390/molecules26061542>.

7. Yu, N., Yang, J.C., Yin, G.T., Li, R.S., Zou, W.T., He, C. Identification and characterization of a novel esterase from *Thauera* sp. // Biotechnology and applied biochemistry.

– 2018. – Vol. 65(5). – P. 748-755. <https://doi.org/10.1002/bab.1659>.

8. Katsimpouras, C., Stephanopoulos, G. Enzymes in biotechnology: Critical platform technologies for bioprocess development // Current opinion in biotechnology. – 2021. – Vol. 69. – P. 91-102. <https://doi.org/10.1016/j.cop-bio.2020.12.003>.

9. Ribera, J., Estupiñán, M., Fuentes, A., Fillat, A., Martínez, J., Diaz, P. *Bacillus* sp. JR3 esterase LipJ: A new mesophilic enzyme showing traces of a thermophilic past // PloS one. – 2017. – Vol. 12(7). – P. e0181029. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181029>.

10. Sanger, F., Nicklen, S., Coulson, A.R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 1977. – Vol. 74(12). – P. 5463-5467. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>.

11. Zhu, Y., Zheng, W., Ni, H., Liu, H., Xiao, A., Cai, H. Molecular cloning and characterization of a new and highly thermostable esterase from *Geobacillus* sp. JM6 // Journal of basic microbiology. – 2015. – Vol. 55(10). – P. 1219-1231. <https://doi.org/10.1002/jobm.201500081>.

UDC: 577.1;579.6

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF BACTERIAL STRAINS WITH ESTERASE ACTIVITY

Astrakhanov M.^{1,2}, Musakhmetov A.¹, Kiribaeva A.¹, Silaev D.¹, Khasenov B.^{1*}

¹ National Center of Biotechnology, Kurgalzhinskoye Highway, 13/5, Astana, 010000, Kazakhstan

² Gumilyov Eurasian National University, K. Satpayev, 2, Astana, 010000, Kazakhstan

* Corresponding Author: Khasenov B., khasenov@biocenter.kz

ABSTRACT

Soil samples were collected from areas of household waste accumulation at LLP «Ekopoligon» in Astana, from which 10 microbial isolates were obtained. Identification of these isolates was based on cultural-morphological characteristics, the proteomic profile of ribosomal proteins, and molecular-genetic data. The studies revealed that all isolates could utilize Tween-20 and Tween-80, indicating the presence of esterase activity. Strain *Aeromonas veronii* Tw8.1 exhibited the highest esterase activity in screening for tributyrin utilization. The extracellular esterase from *Aeromonas veronii* Tw8.1 demonstrated substrate specificity for p-nitrophenyl octanoate and p-nitrophenyl acetate, and was active within a temperature range of 40-60°C and a pH range of 8-12. The maximum esterase activity from *Aeromonas veronii* Tw8.1 was observed at 50°C and pH 11. These results suggest the potential of using *Aeromonas veronii* Tw8.1 as an esterase producer.

Keywords: bacterium, strain, *Aeromonas veronii*, enzyme, esterase.

ӘОЖ: 577.1;579.6

ЭСТЕРАЗА БЕЛСЕНДІЛІГІ БАР БАКТЕРИЯ ШТАММДАРЫН БӨЛІП АЛУ ЖӘНЕ АНЫҚТАУ

Астраханов М.^{1,2}, Мусахметов А.¹, Кирибаева А.¹, Силаев Д.¹, Хасенов Б.^{1*}

¹ Ұлттық биотехнология орталығы, Кургалжынское тас жолы, 13/5, Астана, 010000, Қазақстан

² Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Қ.Сәтбаев, 2, Астана, 010000, Қазақстан

*Корреспондент автор: Хасенов Б., khasenov@biocenter.kz

АНДАТПА

Астана қаласындағы «Экополигон» ЖШС аумағында тұрмыстық қалдықтар жинақталған жерлерден топырақ үлгілері алынып, олардан микроорганизмдердің 10 изоляты бөлініп алынды. Оқшауланған изоляттарды идентификациялау культуралық және морфологиялық сипаттамалары, рибосомалық ақуыздардың протеомдық профилі және молекулалық-генетикалық деректер негізінде жүзеге асырылды. Зерттеулер барлық изоляттардың Tween-20 және Tween-80 қолдануға қабілеттілігі көрсетілді, бұл эстеразалық белсенділіктің болуын көрсетеді. Трибутиринді пайдалану скринингіне негізделген *Aeromonas veronii* Tw8.1 штаммы эстеразаның ең жоғары белсенділігін көрсетті. *Aeromonas veronii* Tw8.1-ден алынған жасушадан тыс эстераза р-нитрофенил октанат пен р-нитрофенилацетат үшін субстрат ерекшелігін және 40-60°C және рН 8-12 температура диапазонында белсенділігі көрсетілді. *Aeromonas veronii* Tw8.1-ден алынған эстеразаның максималды белсенділігі 50°C және рН 11 кезінде белгіленді. Алынған нәтижелер *Aeromonas veronii* Tw8.1 штаммының эстеразды өндіруші ретінде пайдалану уәдесін көрсетеді.

Түйін сөздер: бактерия, штамм, *Aeromonas veronii*, фермент, эстераза.