

УДК 504.064.38.

СОЗДАНИЕ НЕОБХОДИМОЙ КОМПОНЕНТНОЙ БАЗЫ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ ТЕСТ-СИСТЕМ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ МЕТАНОЛА В РАЗЛИЧНЫХ ОБЪЕКТАХ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Гришин Д.В., Никитин А.В., Бирюков В.В.
(МЕУИЭ, Москва, Россия)

Ослабление контроля за производством разнообразных продуктов народного хозяйства приводит к поступлению критических количеств токсичных соединений различного происхождения в те или иные объекты окружающей среды, что может приводить к тотальному ухудшению экологической обстановки в крупных городах страны. К веществам такого рода можно отнести и метиловый спирт или метанол, который является сильным ядом, действующим преимущественно на нервную и сердечно-сосудистую системы. В организм человека он может проникнуть через дыхательные пути и даже через неповрежденную кожу. Особенно опасен прием метанола внутрь, поскольку 5-10 г его могут вызвать тяжелое отравление, а 30 г являются смертельной дозой.

Проблема контроля содержания метанола связана не только с ростом его промышленного крупнотоннажного производства и потребления в газовой промышленности, где данный спирт широко используется для предупреждения гидратообразования в системах сбора и подготовки газа, но и с нарушением технологии производства спиртов широкого потребления. Кроме того, отсутствие системы строго контроля в данной области привело к появлению огромного количества поддельных товаров народного потребления. Это касается, например, незамерзающей жидкости для автомобилей, при этом некачественная продукция оказывает негативное влияние не только на автомобиль, но и на окружающую среду и человека. К опасным относятся не только разнообразные подделки, но и бывшие когда-то качественными просроченные жидкости, разбавленные растворы, а также изготовленные на подпольных предприятиях дешевые «незамерзайки» на основе метанола, которые часто выдают за оригинал, приклеивая этикетки хорошо зарекомендовавших себя производителей. При покупке такой незамерзающей жидкости следует осознавать, что ядовитая «незамерзайка» может навредить не только людям в автомобиле, но и окружающей среде. Ведь если учитывать, что ежегодно используется более двухсот миллионов литров подобных жидкостей, а в атмосферу попадает около трети их отходов, то применение метанола становится уже не эфемерной, а реальной угрозой для окружающей среды, т.к. метанол аккумулируется в почве и в воде приводит к гибели сапрофитной микрофлоры и многих растений. При этом человек все ближе подходит к опасности отравиться метанолом, не только используя некачественную «незамерзайку», но и употребляя продукты, выращенные на ядовитой почве. Кроме того, увеличение концентрации метанола может привести к загрязнению воды, и таким образом метанол может попасть в ежедневный рацион населения посредством централизованного водоснабжения.

Всё сказанное выше является веским основанием для усиления контроля за уровнем метанола в окружающей среде и в пищевых продуктах, что возможно при создании эффективных тест-систем для определения данного соединения. Науке в настоящее время уже известен класс бактериальных ферментов называемых алкогольдегидрогеназами, способных осуществлять конверсию спиртов. На базе данных ферментов уже разработан ряд интересных подходов и тест-систем для определения уровня этанола. Однако подобных систем для идентификации метанола предложено не было.

На основании имеющихся данных, нами предложен принцип создания тест-систем для определения метанола на основе бактериальных метанолдегидрогеназ (рис.1.). На базе современных методов биотехнологии нами были получены генноинженерные конструкции метанолдегидрогеназы (MDH) из термофильного метилотрофного микроорганизма *Bacillus species*, а также, посредством технологии слитных генно-инженерных конструкций, был получен ген химерного белка объединяющий в одной рамке считывания как собственно ген MDH, так и нуклеотидную последовательность декстрансвязывающего домена, относящегося к классу tag-аффинных доменов.

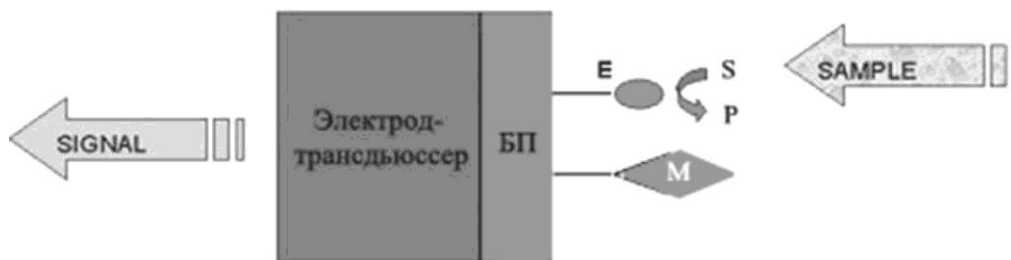
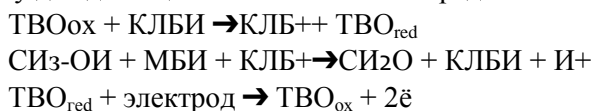


Рисунок 1 - Схема биосенсора для идентификации метанола:

Е – ферментметанолдегидрогеназа (МБИ), аффинно иммобилизованный на биополимере декстране (БП); М - медиатор переноса электрона; Б - субстрат (метанол); Р - продукт (формальдегид).

Благодаря подобной модификации метанолдегидрогеназа приобретает свойство самостоятельной аффинной биоспецифической сорбции на таких биополимерах как декстран.

Уникальные генно-инженерные конструкции, обладающие последовательностью фермента МБИ и способностью к аффинной сорбции на декстранах являются необходимой компонентной базой для создания биосенсоров для детекции метанола в окружающей среде и различных продуктах народного хозяйства. Приведённую выше биосенсорную систему для детекции метанола можно представить в виде следующей системы уравнений:



Так как метанолдегидрогеназа является НАД-зависимым ферментом, она гидролизует метиловый спирт до формальдегида при участии никотинамидадениндинуклеотида (УЛБ⁺), который в процессе окислительно-восстановительной реакции восстанавливается до КЛБИ. Кроме того следует отметить что в процессе реализации данного биосенсора необходимо присутствие так называемого медиатора переноса электрона, например толлуидинового синего (ТБО) (рис.1), который способствует коллекции и направленной передаче электронной пары редокс-системы на электрод.