

## Identifikacija i karakterizacija nove plazmidno kodirane višebakrene oksidaze slične lakazama iz bakterije *Ochrobactrum* sp. BF15, izolirane iz sustava za biološko pročišćavanje poljoprivrednih otpadnih voda

### SAŽETAK

*Pozadina istraživanja.* Posljednjih su desetljeća lakaze (*p*-difenol:dioksidogen oksidoreduktaze; EC 1.10.3.2) privukle pažnju znanstvenika zbog raznolikosti moguće primjene u biotehnologiji i industriji. Lakaze mogu oksidirati različite organske i anorganske spojeve u biokatalizatore prikladne za biotehnološke procese. Iako se u industriji najčešće koriste lakaze iz plijesni, lakaze iz bakterija pokazale su veliki potencijal primjene jer djeluju na više raznih supstrata u različitim uvjetima. Svrha je ovoga rada bila opisati plazmidno kodiranu višebakrenu oksidazu sličnu lakazama iz bakterije *Ochrobactrum* sp. BF15, prethodno izolirane iz zagađenog tla.

*Eksperimentalni pristup.* Za identifikaciju novih gena za oksidazu sličnu lakazi u bakteriji *Ochrobactrum* sp. BF15 koristili smo *in silico* profil skrivenih Markovljevih modela. Da bismo okarakterizirali lakazu, proveli smo heterolognu ekspresiju gena u bakteriji *Escherichia coli*, pročistili enzim i mjerili njegovu aktivnost u supstratima karakterističnim za lakazu.

*Rezultati i zaključci.* Dobiveni profili skrivenih Markovljevih modela omogućili su identifikaciju nove oksidaze slične lakazi, koju smo nazvali Lac80. *In silico* analiza nove Lac80 pokazala je prisutnost triju konzerviranih domena bakrene oksidaze karakterističnih za lakaze s tri domene. Uspješno smo proveli heterolognu ekspresiju Lac80 u *E. coli*, čime nam je omogućeno pročišćavanje proteina za daljnju analizu aktivnosti. Od trinaest ispitanih supstrata tipičnih za lakazu, Lac80 je imao slabiju aktivnost u 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonskoj kiselini) (ABTS), pirokateholu, pirogalolu i vanilinskoj kiselini, te veću aktivnost u 2,6-dimetoksifenolu.

*Novina i znanstveni doprinos.* Dobiveni rezultati pokazuju da Lac80 može imati obećavajuću primjenu u industriji. U ovom je radu prikazan značaj lakaza iz bakterija te je naglašena važnost plazmida izoliranih iz okoliša kao vrijednih izvora novih gena koji kodiraju enzime za primjenu u biotehnološkim procesima.

**Ključne riječi:** višebakrene oksidaze slične lakazama, *Ochrobactrum*, sustav za biološko pročišćavanje, plazmid, biološka razgradnja, heterologna ekspresija