

Изменение энзиматической активности штамма-продуцента *Bacillus licheniformis* под воздействием разных концентраций этилметансульфоната (ЭМС)

Тихенко Ангелина
Студент (специалист)

Тюменский государственный университет, Институт биологии, Тюмень, Россия
E-mail: angelina.tihenko@gmail.com

На сегодняшний момент ферменты активно применяются в различных отраслях промышленности. С развитием биотехнологий микроорганизмы стали основными источниками ферментов, в частности, бактерии рода *Bacillus*. [1,3] Возникает необходимость поиска новых методик и подходов, применение которых выработку необходимых энзимов у бактерий. В случае с ЭМС, при его воздействии происходит алкилирование пуринов, а точнее гуанина, который обретает способность спариваться с тиминном, что приводит к транзиции [2]. Следовательно, актуальность настоящей работы заключается в воздействии химических мутагенов для увеличения продуктивности ферментов у промышленных штаммов.

Исследования проведены на базе Центра биотехнологии и генодиагностики Института биологии ТюмГУ в 2021-2022 гг. Объектом исследования служили образцы культуры *Bacillus licheniformis* (*B. licheniformis*). Промышленный штамм *B. licheniformis* САВІ был предоставлен в 2015 г. ООО «НИИ ПРОБИОТИКОВ» (г. Москва) и хранился при температуре -70 °С в коллекции Института Биологии ТюмГУ.

Для проведения мутагенеза использовали химический мутаген ЭМС (этилметансульфонат). Обработку культур *B. licheniformis* проводили в трех концентрациях ЭМС: 0,1%, 0,01%, 0,001% [4]. Опыт был проведен в трех повторах и с контрольной пробой без мутагена. Для проведения экспериментов на определение энзиматической активности были подготовлены 4 варианта опыта ферментативного раствора из колоний, обработанных разными концентрациями мутагена (0,1%, 0,01%, 0,001% и контроль). Было проведено три эксперимента на определение ксиланазной (Нельсону-Шомоди), протеазной (с помощью измерения количества белка по методу Бредфорда) и амилазной активностей (с помощью цветовой шкалы из лунок по степени разложения крахмала).

Проведенные опыты по определению ферментативной активности *B. licheniformis* с использованием разных концентраций ЭМС: 0,1%, 0,01% и 0,001% показали следующие результаты. Проведенные исследования не выявили различий в активности амилазы между мутантными вариантами и контролем. Не выявлено зависимости между концентрацией ЭМС и активностью протеазы. Во всех вариантах опыта выявлены достоверные различия в изменении протеазной активности *B. licheniformis* в зависимости от времени культивирования: различия между 5 мин. инкубации и 18 часами, между 60 мин. инкубации и 18 часами. ЭМС в концентрации 0,01% и 0,001% усиливает активность ксиланазы в сравнении с контролем: статистически достоверное увеличение активности ксиланазы отмечено с уменьшением концентрации мутагена.

Источники и литература

- 1) Бактерии рода *Bacillus* – активные продуценты гидролитических ферментов / Сафронова Л. А. [и др.] УжНУ «Говерла», 2006. №19. С. 155–159.
- 2) Повхан А. В., Сорока А. И. Изучение действия этилметансульфоната на кунжут в поколении М1 // Научно-технический бюллетень Института масличных культур НААН. 2013. Т. 19, №19. С. 26-30

- 3) Rey M.W. Complete genome sequence of industrial bacterium *Bacillus licheniformis* and comparisons with closely related *Bacillus* species // *Genome Biol*, 2004. Vol.5, №10. 77 p.
- 4) Заложук А.Д. Особенности химического мутагенеза, индуцированного этилметансульфонатом (ЭМС), у *Bacillus licheniformis* / под рук. Пак И.В. Тюмень: ТюмГУ, 2022. 58 с.