

Протеолитические ферменты мицелиальных грибов, ассоциированных с паукообразными.

Басалаева Д.Л.¹, Богомолова А.А.²

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра микробиологии, Москва, Россия, E-mail: dbasalaewa@yandex.ru; 2 - Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики», Москва, Россия, E-mail: aabogomolova_1@edu.hse.ru

На сегодняшний день проблема получения новых протеолитических ферментных препаратов, эффективных в отношении фибриллярных и глобулярных белков, остается актуальной. Наиболее широко протеолитические ферменты, эффективные в отношении фибриллярных и глобулярных белков, используются в пищевой, медицинской, косметологической и биотехнологической промышленности. В связи с этим важным является поиск и характеристика новых продуцентов протеолитических ферментов [1, 2].

Целью данной работы было выделение микромицетов, ассоциированных с паукообразными и первичный скрининг их протеолитической активности в отношении различных фибриллярных и глобулярных белков.

Для получения мицелиальных грибов использовали стандартную методику. Пауков растирали в стерильной фарфоровой ступке с добавлением стерильной дистиллированной воды и производили последовательные разведения гомогената до концентрации 10^{-3} м. к. / мл. Производили посев газоном по 100 мкл на чашки Петри с агаризованными питательными средами сусло-агар и Чапека-Докса с добавлением антибиотика. Посевы инкубировали при 28 °С в течение 4-7 суток [3].

Характеристику протеолитических свойств в отношении фибриллярных и глобулярных белков оценивали с использованием агаризованной питательной среды с источниками белковых субстратов. В качестве субстратов использовали желатин, казеин, кератин, эластин, гемоглобин и коллаген. Посев проводили уколом на чашку Петри и инкубировали при 28 °С в течение 2-4 суток. Учет проводили с визуализацией 0,08% раствором Кумасси G-250 в 3,5% хлорной кислоте. Результаты оценивали в энзиматических индексах EI - отношение диаметра зоны гидролиза субстрата к диаметру колонии исследуемого штамма.

В результате от паукообразных было выделено [1] 4 штамма микромицетов. Первичный скрининг их протеолитической активности показал, что 100% исследуемых штаммов оказались способны к гидролизу казеина, коллагена и желатина, 75% гидролизировали кератин и эластин, а 50% проявили активность в отношении глобулярного белка гемоглобина. Наиболее активно проявили себя штамм 1 в отношении эластина и гемоглобина ($EI_{\text{эластин}}=1,40$, $EI_{\text{гемоглобин}}=1,17$), штамм 2 в отношении казеина, желатина и кератина ($EI_{\text{казеин}}=2,33$, $EI_{\text{желатин}}=1,50$, $EI_{\text{кератин}}=1,58$), а в отношении коллагена наиболее активным оказался штамм 4 ($EI_{\text{коллаген}}=3,25$). Данные штаммы были идентифицированы с использованием физиолого-морфологических методов идентификации мицелиальных грибов. Штамм 1 был идентифицирован как *Penicillium aurantiogriseum* и является ассоциативным микромицетом сенокосца обыкновенного (*Phalangium opilio* L., 1758). От красного домового паука (*Nesticodes rufipes* Lucas, 1846) было выделено два штамма - штамм 2 относится к виду *Penicillium hirsutum*, а штамм 3 к виду *Penicillium expansum*. Штамм 4 был выделен от обыкновенного домашнего паука (*Parasteatoda tepidariorum*, C. L. Koch, 1841) и был идентифицирован как *Aspergillus unguis*.

Результаты исследований показали, что более 50% ассоциативных микромицетов различных паукообразных обладают протеолитическим потенциалом в отношении таких белков, как желатин, казеин, кератин, эластин, гемоглобин и коллаген. Таким образом, представители микобиоты паукообразных являются перспективными продуцентами протеолитических ферментов, эффективных в отношении фибриллярных и глобулярных белков.

Источники и литература

- 1) Скрининг продуцентов протеиназ с фибринолитической и коллагенолитической активностями среди микромицетов / Т. С. Шаркова [и др.] // Микробиология. — 2015. — Т. 84, № 3. — С. 316–322.
- 2) Евлахова, А. А. Энтомопатогенные грибы. Систематика, биология, практическое значение / А. А. Евлахова. - Л.: Наука, 1974. 260с.
- 3) Басалаева, Д. Л. Протеолитические ферменты мицелиальных грибов, ассоциированных с насекомыми / Д. Л. Басалаева, А. А. Богомолова, А. А. Осмоловский // Сборник тезисов V Всероссийской с международным участием школы-конференции студентов, аспирантов и молодых ученых Материалы и технологии XXI века. — Казань: Казань, 2022. — С. 66.