

Оценка продукции протеолитических ферментов представителями ассоциативной микобиоты черного садового муравья (*Lasius niger*, L. 1758) в условиях глубинного культивирования

Научный руководитель – Глинская Елена Владимировна

Стрельцова Валерия Валерьевна

Студент (бакалавр)

Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, Биологический факультет, Саратов, Россия
E-mail: Walerulja@yandex.ru

В настоящее время актуальной остается проблема получения новых протеолитических ферментных препаратов, эффективных в отношении фибриллярных и глобулярных белков. Они широко используются в медицинской и биотехнологической промышленности, поэтому является важным поиск и характеристика новых продуцентов протеаз [1].

Целью данной работы являлась оценка продукции протеолитических ферментов в условиях глубинного культивирования.

Объектами служили микромицеты *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus nomius* и *Penicillium aurantiogriseum*, которые выращивали в пробирках со скопленным агаром ((г/л): сусло - 40,0, агар - 18,0) в течение 7 суток при 28 °С. Затем культуры переносили в жидкую посевную среду ((г/л): сусло - 67,0, глюкоза - 20,0 и пептон - 1,0; pH 5,5-6,0) и культивировали в шейкер-инкубаторе ES-20/80 («BioSan», Латвия) в качалочных колбах объемом 750 мл в течение 2 суток при 200 об/мин, 28 °С. После этого 3 % биомассы стерильно переносили в две ферментационные среды для оценки протеолитической активности [2]. Состав (г/л) ферментационной среды 1 (ФС1): глицерин - 70,0, глюкоза - 30,0, ГРМ - 5,0, NaNO₃ - 2,0, MgSO₄ - 0,5 и KН₂PO₄ - 0,5; pH 5,5- 6,0. Состав (г/л) ферментационной среды 2 (ФС2): глюкоза - 35,0, ГРМ - 5,0, NaCl - 2,0, крахмал - 1,2, пептон - 5,0, MgSO₄ - 0,5 и KН₂PO₄ - 0,5; pH 5,5 - 6,0. Для изучения динамики накопления ферментов активные штаммы культивировали в течение шести суток в ФС1 и ФС2, ежедневно измеряя активность в отношении субстратов: азоказеина (Sigma, USA), азоколлагена (Sigma, USA), суспензии бычьего фибриногена (MP Biomedical, New Zealand). Культуральную жидкость отделяли от биомассы микромицета фильтрованием через фильтровальную бумагу («ФС», Россия).

В результате работы была определена общая протеолитическая, коллагеназная и фибринолитическая активности в культуральной жидкости исследуемых штаммов. Наибольшая активность в отношении субстрата азоказеина наблюдалась у *P. chrysogenum* на ФС1 на 4 сутки ($E_{азкас}=0,684$ усл.ед./мл), в отношении суспензии бычьего фибриногена максимум активности наблюдался у *P. aurantiogriseum* на ФС1 на 3 сутки ($E_{тип}=287,1$ мкмоль тир/мл/мин). Уровень продукции коллагеназ оказался значительно ниже, в сравнении с другими ферментами, что является преимуществом для использования протеаз данных штаммов в составе комплексных медицинских препаратов, поскольку отсутствие данной активности означает безопасность для тканей организма человека. Соответственно, наиболее подходящим, по результатам определения динамики накопления протеаз в культуральной жидкости после глубинного культивирования, является *P. chrysogenum* на ФС1 на 4 сутки культивирования.

Источники и литература

- 1) Евлахова, А. А. Энтомопатогенные грибы. Систематика, биология, практическое значение / А. А. Евлахова. - Л.: Наука, 1974. - 260с.

- 2) Combined microbiological approach to screening of producers of proteases with hemostasis system proteins activity among micromycetes / A. A. Osmolovskiy [et al.] // Biotechnology Reports. – 2018. – V.1, N 19. – P. 1-3.