

Глютенразрушающие протеазы микромицетов рода *Aspergillus*.

Научный руководитель – Осмоловский Александр Андреевич

Лямина В.М.¹, Акьол А.²

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра микробиологии, Москва, Россия, E-mail: lyaminavm@mail.ru; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра микробиологии, Москва, Россия, E-mail: kutayakyol.ka@gmail.com

Наиболее распространенные нарушения здоровья, вызванные компонентами пищи, связаны с глютенем. К ним относятся целиакия и непереносимость глютена, являющиеся врожденными и неизлечимыми. Единственный способ контроля заболеваний - безглютеновая диета. Для этого в настоящее время актуальна разработка глютенразрушающих препаратов.

Целью данной работы является поиск глютенразрушающей протеазы отобранного как перспективного продуцента из рода *Aspergillus* с последующим выделением фермента.

Для этого в задачи вошел поиск биоинформатическими методами продуцентов протеаз, наиболее близких к существующим коммерческим глютеназам. Затем с помощью культуральных и биохимических методов - оценка и сравнение протеолитических активностей биоинформатически отобранных штаммов. А также анализ ферментов с помощью методов электрофореза и выделение и очистка глютенразрушающих протеаз.

Для выбора представителей, способных к продукции интересующих протеаз, использовались базы данных BRENDA и PDB, инструменты Fasta и Protein BLAST.

На следующем этапе проводилось глубинное культивирование в течение 12 суток в колбах Эрленмейера с постоянным перемешиванием, в среде с глютенем в качестве индуктора секреции глютенолитических протеаз. Активности гидролиза глютена и общая протеолитическая оценивались по результатам спектрофотометрии реакционных смесей после проведения ферментативных реакций культуральных жидкостей с глютенем и азоказеином, соответственно. Зимография проводилась в двух вариациях состава разделяющего геля: с глютенем и желатином.

Наиболее схожими с глютеназами последовательностями оказались протеазы *Aspergillus carbonarius*, *A. parasiticus*, *A. tubingensis*. При глубинном культивировании наибольшую активность и ранее всего наступающий ее пик показал *A. parasiticus*.

При проведении зимографии наибольшую эффективность гидролиза глютена показал *A. parasiticus*.

Было проведено получение комплексного препарата внеклеточных белков *A. parasiticus*.