

**Динамика изменения ферментативной активности внеклеточных протеаз
Aspergillus ustus при различных способах культивирования**

Научный руководитель – Лавренова Виктория Николаевна

Сырцева Софья Андреевна

Выпускник (бакалавр)

Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики», Москва,
Россия

E-mail: Sonya200903@gmail.com

Одним из самых востребованных классов ферментов на биотехнологическом рынке являются протеазы, катализирующие гидролиз пептидных связей. В связи с осмотрофным типом питания грибы секретируют в среду множество различных протеолитических ферментов. Широкое разнообразие этих ферментов обуславливает их востребованность в промышленности, медицине и биотехнологии. В связи с растущими потребностями рынка существует необходимость в поиске новых продуцентов и анализе секретируемых ими ферментов.

Ранее была показана способность мицелиального гриба *Aspergillus ustus* секретировать протеазы, высокоактивные в отношении фибриллярных белков [1]. В настоящей работе было исследовано влияние различных методов культивирования и составов сред на способность *A. ustus* продуцировать протеазы. В течение 5 дней культура выращивалась в глубинных условиях или в условиях твердофазного культивирования на вермикулите на ферментационных средах с основным составом в % (м/о): глюкоза 3,0; глицерин 7,0; NaCl 0,05; KH_2PO_4 0,05; MgSO_4 0,05; ZnSO_4 0,01. В разных экспериментах в среды дополнительно добавляли источники азота: NaNO_3 0,7; гидролизат рыбной муки (ГРМ) 0,7; ГРМ 0,25+коллаген 0,45; ГРМ 0,25+казеин 0,45; NaNO_3 0,25+казеин 0,45; NaNO_3 0,25+коллаген 0,45; казеин 0,7; коллаген 0,7. Ферментативная активность культуральных жидкостей определялась с помощью реакций с азоказеином при pH 8, 6 и 4.

Ферментативная активность культуральной жидкости оказалась выше при твердофазном культивировании на всех средах. Наиболее значимые активности обнаружены на средах, содержащих ГРМ+коллаген и NaNO_3 +казеин. Наименьшая активность при глубинном культивировании наблюдалась на среде с отсутствием источников азота, при твердофазном – на средах с NaNO_3 и с отсутствием источников азота. Такие результаты могут быть связаны с явлением катаболитной репрессии, при которой синтез и секреция внеклеточных протеаз подавляются при наличии в среде низкомолекулярных источников азота (NaNO_3) и увеличиваются при наличии высокомолекулярных (ГРМ, коллаген). При глубинном культивировании азоказеиноподобная активность наблюдалась при всех pH субстрата, однако после культивирования на вермикулите оказалось, что внеклеточные протеазы наиболее активны при pH 8 и наименее при pH 4, что может означать секрецию микромицетом высокоактивных слабощелочных и нейтральных протеаз. Таким образом, в ходе настоящей работы были выявлены наиболее подходящие условия культивирования *A. ustus* для получения высокоактивных внеклеточных протеаз, а также предсказан оптимальный pH для функционирования ферментов культуральной жидкости.

Источники и литература

- 1) 1. Popova EA et al. Properties of extracellular proteinase of the micromycete *Aspergillus ustus* 1 and its high activity during fibrillary-proteins hydrolysis //Applied Biochemistry and Microbiology. – 2021. – Т. 57. – С. 200-205.