

Секция «Биоинженерия и Физико-химическая биология»

Поиск новых глютен-гидролаз грибного происхождения и изучение их биохимических свойств

Научный руководитель – Осмоловский Александр Андреевич

Ездова Анастасия Александровна

Студент (бакалавр)

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

E-mail: ezdova.a@gmail.com

В последние годы наблюдается рост интереса к безглютеновым продуктам из-за увеличения случаев непереносимости глютена. Целиакией страдает около 1% населения, другими глютен-ассоциированными заболеваниями еще 1-6% [2]. Протеазы микробного происхождения являются наиболее распространенными, в 2023 году они занимали 60% от мирового рынка ферментов [1]. Ферментативное расщепление глютенaзами грибного происхождения является перспективным решением для производства безопасных безглютеновых продуктов.

Данная работа направлена на поиск новых продуцентов глютен-гидролаз среди грибов вида *Fusarium*, патогенов культур, обладающих высокой ферментативной активностью к глютену. А также исследование их ферментативной активности в условиях твердофазного культивирования.

Объектами исследования являются два природных штамма рода *Fusarium*. Для морфологической идентификации проводилось культивирование на средах Rose Bengal Agar with Chloramphenicol, Potato Dextrose Agar, Czapek Yeast Autolysate Agar, Yeast Extract Agar, Dichloran Glycerol Agar, Malt Extract Agar. Для молекулярно-генетической идентификации проводилось выделение ДНК с добавлением стоматологического песка в beadbeater, также использовались магнитные частицы ("Yeast", Raissol). После проводилось секвенирование полученных проб ДНК, идентификация по гену EF (фактор элонгации).

Для определения суток с максимальной ферментативной активностью проводили твердофазное культивирование в течение 5 суток на вермикулите с добавлением жидкой питательной среды, содержащей глютен. Снятие динамики проводилось под контролем субстратов глиадин и азоказеина. Также для определения общей и специфической по отношению к глютену активностей проводили зимографию с казеином и глютенaзом.

В результате проведения молекулярно-генетической и морфологической идентификации были определены два вида рода *Fusarium*: культуры относятся к комплексу видов *F. incarnatum-equiseti*, для различения штаммов используются обозначения K1 и K2. В результате проведенной работы были определены сутки с максимальной общей протеолитической активностью: для K2 максимум активности приходился на 5 сутки культивирования, для K1 на 3 сутки, соответственно. Максимальная активность по отношению к глиадину у обеих культур приходилась на 3 сутки культивирования. При помощи электрофоретических методов было выявлено наличие специфически активных к глиадину протеаз для каждой суток в динамике. Результаты электрофореза для K1 показали, что концентрация присутствующей глютенaзы растет пропорционально времени культивации, для K2 наибольшее количество глютенaзы наблюдалось в первые два.

Источники и литература

- 1) Adetunji A. I. et al. Microbial proteases: A next generation green catalyst for industrial, environmental and biomedical sustainability // Food Materials Research. – 2023. – Т. 3. – №. 1.

- 2) Lionetti E. et al. Celiac disease from a global perspective //Best practice & research Clinical gastroenterology. – 2015. – Т. 29. – №. 3. – С. 365-379.