

*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
«Ставропольский государственный медицинский университет»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации*



# **БИОТЕХНОЛОГИЯ: ВЗГЛЯД В БУДУЩЕЕ**

**МАТЕРИАЛЫ VII МЕЖДУНАРОДНОЙ  
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ**

Часть 1–я

Федеральное государственное бюджетное образовательное  
учреждение высшего образования  
«Ставропольский государственный медицинский университет»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации

---

# **БИОТЕХНОЛОГИЯ: ВЗГЛЯД В БУДУЩЕЕ**

МАТЕРИАЛЫ VII МЕЖДУНАРОДНОЙ  
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ

Часть 1–я

Ставрополь, 2021

УДК 574.6 : 577.1 (061.3)  
ББК 35. 662 Я 431  
Б 63

**БИОТЕХНОЛОГИЯ: ВЗГЛЯД В БУДУЩЕЕ:** Материалы VII междунар. науч.-  
практ. конф. – Ч.1. – Ставрополь: Изд-во СтГМУ, 2021. Ч.1. – с. 202

ISBN

**Члены редакционной коллегии:**

**А. Б. Ходжаян** д. м. н., профессор;  
**В. И. Заерко** – д. вет. н.;  
**Н. А. Федько** – д. м. н., профессор;  
**К. С. Эльбекьян** – д. б. н., профессор;  
**М. В. Топчий** – к. б. н., доцент;  
**Т. М. Чурилова** – к. б. н., доцент.

**Ответственный редактор:**

– В.Н. Мажаров, к.мед.н., доцент, и.о. проректора по учебной деятельности

В сборнике представлены материалы VII международной научно-практической конференции по перспективным проблемам биотехнологии лекарственных средств, актуальным вопросам экологической, пищевой, медицинской биотехнологии, химии, биологии, экологии, медицинской диагностики.

**Рецензент:**

**Е. В. Щетинин** – д. м. н., проректор по научной и инновационной работе, профессор.

УДК 574.6 : 577.1 (061.3)  
ББК 35. 662 Я 431  
Б 63

*Рекомендовано к печати редакционно-издательским советом СтГМУ.  
Материалы публикуются в авторской редакции*

© Ставропольский государственный  
медицинский университет, 2021

ISBN

*Кульгавеня А.Д., Никандров В.Н.*

**ВЛИЯНИЕ АДЕНОЗИНТРИФОСФАТА И НЕОРГАНИЧЕСКОГО  
ОРТОФОСФАТА НА КАЗЕИНОЛИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ  
ГОМОГЕНАТОВ МИЦЕЛИЯ КУЛЬТУРЫ *PLEUROTUS OSTREATUS***

Актуальность. В последние десятилетия выявлен существенный дефицит белка в рационе питания населения. Более того, на кормовые, семенные и непищевые цели может направляться до 28% белка, потенциально пригодного в пищу человека. К тому же стоимость

высококачественных животных белков непрерывно растет. К 2050 году мировому сообществу потребуется 1.250 миллионов тонн мяса и молочных продуктов в год. Одним из альтернативных источников являются грибы, содержащие 30–50% белков с аминокислотным составом сопоставимым с рекомендациями ФАО (FAO) [1, 2].

Глубинное культивирование съедобных базидиальных грибов, включая вешенку обыкновенную – *Pleurotus ostreatus* (хотя она и уступала некоторым другим грибам по содержанию белка в биомассе), было начато более 70 лет назад [3].

Как мы уже отмечали, интенсификация технологии получения обогащенного белками мицелия настоятельно диктует необходимость уяснения биологии этого продуцента и, в частности, систем регуляции метаболизма и жизнедеятельности, к числу которых относится протеолиз [4].

Судя по расщеплению желатина, казеина, гемоглобина, рН-зависимости их расщепления и действию группоспецифических ингибиторов протеиназ у *Pleurotus ostreatus* имеется многоплановый набор протеиназ, включающих сериновые, цистеиновые, аспартильные и металлозависимые. При этом максимальная казеинолитическая активность протеиназ вешенки проявилась при рН 2,8, 5,2 и 8,2 [5].

Среди метаболической регуляции протеолитических процессов были описаны феномены подавления активности аденозинтрифосфатом (АТФ) и «фосфатный эффект» [4, 6]. В отношении протеиназ вешенки, судя по литературе, подобные исследования не проводились.

Цель настоящей работы – уяснить проявление этих феноменов при расщеплении казеина протеиназами мицелия вешенки.

Материалы и методы. В работе использовали бактоагар (Melford, USA), АТФ-динатриевую соль (Carl Roth, Германия), казеин по Гаммерстену (Россия). Остальные реактивы были квалификации «хч» производства стран СНГ.

Исследования выполнены на «диком» штамме *Pleurotus ostreatus* [5].

Глубинное культивирование мицелия вешенки вели на картофельно-сахарозной среде в конических стеклянных колбах емкостью 500 мл при температуре 27 °С в течение 14 сут. на качалке модели Wise Shake SHO-2D и режиме перемешивания – 70 об/мин. как описано нами в предыдущей статье [5]. По окончании культивирования мицелий гриба отмывали, максимально просушивали на фильтровальной бумаге, навески по 0,5 г помещали в пробирки типа эппендорфа.

Протеолитическую активность определяли по расщеплению белков-субстратов в тонком слое агарового геля как подробно описано ранее [7]. В качестве растворителя при приготовлении белок-агаровых пластин использовали 0,15 М раствор NaCl рН 7,4. Для исследования мицелий (0,5 г) гомогенизировали в 0,5 мл бидистиллированной воды при 4 °С и центрифугировали при 4 °С и 8000 об/мин в течение 10 мин. К образцам осветленного гомогената добавляли 0,2 М ацетатный буфер рН 2,8 или 5,2

или 0,1 М боратный буфер рН 8,2. Неорганический ортофосфат ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$  или  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) или АТФ вносили в исследуемые образцы до конечной концентрации 0,001–0,06 М или  $10^{-8}$ – $10^{-2}$  М соответственно.

Все исследования проведены не менее, чем четырехкратно. Результаты обработаны статистически с использованием программ *Statistica 6.0* по *t*-критерию Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. Добавление неорганического ортофосфата вызвало рост казеинолитической активности протеиназ вешенки при рН 8,2 лишь на 21% (рисунок).

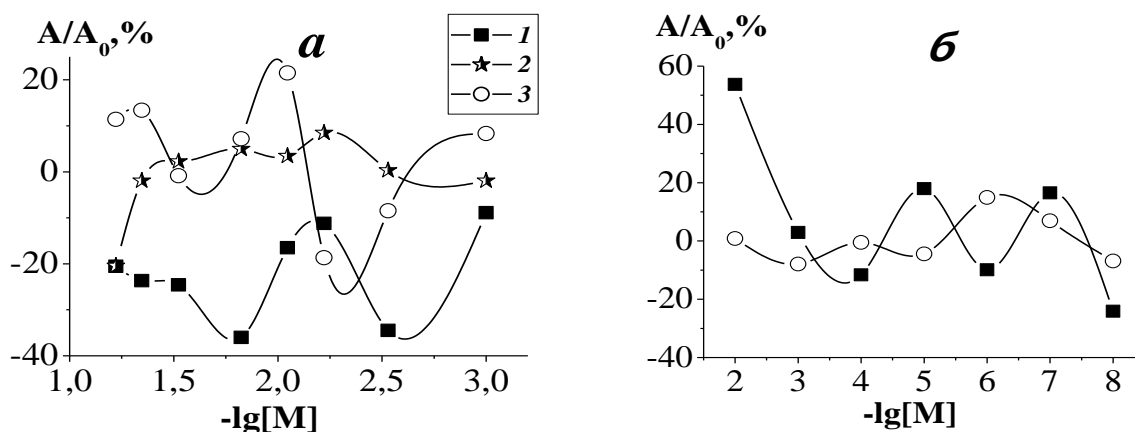


Рисунок – Влияние ионов неорганического ортофосфата (а) и аденозинтрифосфата (б) на расщепление казеина гомогенатами мицелия *Pleurotus ostreatus* при рН 2,8 (1), 5,2 (2) и 8,2 (3)

В ряде остальных случаев наблюдали отсутствие эффекта или даже подавление казеинолиза, достигавшее 36%. Введение в реакционную систему АТФ сопровождалось умеренным угнетением протеолитической активности как раз при рН 2,8 – на 30%. Как было отмечено ранее, эффект АТФ и ортофосфата зависит от вида протеиназы, а также белка субстрата [6]. Это позволяет думать, что при использовании других белков в качестве субстратов эффекты неорганического фосфата или АТФ могут быть значительно демонстративнее. В предыдущих статьях на низкоскоростном супернатанте гомогенатов клеток *Chlorella vulgaris* и культуральной жидкости выделенного из зерна *Aspergillus sp.* было показано проявление обоих упомянутых феноменов. Однако это проявление имело свои особенности [8, 9].

Заключение. Приведенный небольшой фрагмент исследований, разумеется, не может служить каким-либо опровержением феноменов ингибирования реакций протеолиза АТФ или «фосфатного эффекта» в протеолизе. Он лишь является иллюстрацией того, насколько многообразен «мир» протеиназ и протеолитических процессов. Поскольку эффекты АТФ и неорганического ортофосфата существенно зависят от используемого белка-субстрата, в данном аспекте логично продолжение работ с иными белками для протеиназ *P. ostreatus*.

### Список использованной литературы

1. Кудинов П.И. Современное состояние и структура мировых ресурсов растительного белка / П.И. Кудинов, Т.В. Щеколдина, А.С. Слизькая // Изв. вузов. – Пищ. технол, 2012. – № 5–6. – С. 7–10.
2. Ritala A., Häkkinen S.T., Toivari M., Wiebe M.G. Single cell protein – state of the art, industrial landscape and patents 2001–2016. *Frontiers in Microbiol.*, 2017. – Vol. 8. art. 2009. – P. 1–18.
3. Стахеев И.В., Коломиец Э.И., Здор Н.А. Биотехнология малотоннажного производства микробного протеина. Минск: Навука і тэхніка, 1991. – 264 с.
4. Nikandrov V.N., Pyzhova N.S. Some unusual manifestation of proteolysis. *Cellular and Molecular Biology*, 2006. – vol. 52, № 4. – P. 30–39.
5. Кульгавеня А.Д. Протеолитическая активность мицелиальной культуры гриба вешенка обыкновенная *Pleurotus ostreatus* при глубинном культивировании / А.Д. Кульгавеня, В.Н. Никандров // Вестник Полесского государственного университета. – Сер. Природоведения, 2020. – № 1. – С. 12–23.
6. Пыжова Н.С. Влияние биогенных фосфатов на расщепление белков протеиназами и функцию активаторов плазминогена / Н.С. Пыжова, В.Н. Никандров // Биоорг. Химия, 2008. – Т. 34, № 3. – С. 382–391.
7. Никандров В.Н. Методы исследования протеолиза / В.Н. Никандров, Н.С. Пыжова / Современные проблемы биохимии. Методы исследований. – Минск: Выш. шк., 2013. – С. 132–157.
8. Никандров В.Н. Физико-химические особенности реализации протеолитических процессов клетки *Chlorella vulgaris* / В.Н. Никандров, И.А. Ильючик // Актуальные вопросы биологической физики и химии, 2018. – Т. 3, № 3. – С. 654–664.
9. Ильючик И.А. О проявлении «фосфатного эффекта» в протеолизе: расщепление белков протеиназами культуральной жидкости *Aspergillus sp.* в присутствии неорганического ортофосфата. Менделеевские чтения-2019 / И.А. Ильючик, В.Н. Никандров // Сб. матер. республ. науч.-практ. конф. по химии и хим. образованию». – Брест, 2019. – С. 61–66.

РАЗДЕЛ IV  
ПИЩЕВАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ

|  |  |
|--|--|
| <i>Авдуев И.С., Исмаилов А.А.</i><br>Исследование термоустойчивости молочнокислых бактерий при сквашивании молока в различных температурных режимах  |  |
| <i>Асембаева Э.К., Сейдахметова З.Ж.</i><br>Влияние процесса ферментации на процесс получения напитка с пребиотическими свойствами   |  |
| <i>Белокурова Е.В., Саргсян М.А.</i><br>Перспективы расширения ассортимента хлебобулочных безглютеновых изделий  |  |
| <i>Бубырь И.В.</i><br>Производства слабосоленой продукции из лососевых видов рыб   |  |
| <i>Вечер О.В., Кузнецов М. В.</i><br>Влияние ультразвука на дисперсный состав козьего молока   |  |
| <i>Волкова А.В., Власова Е.А.</i><br>Оценка качества мороженой рыбы  |  |
| <i>Грачева А.А., Власова Е.А.</i><br>Оценка сорбционной способности кальцийсодержащего каркасного соединения для очистки растительных масел  |  |
| <i>Коваль Д.К., Власова Е.А.</i><br>Влияние ферментов на показатели качества карамельной патоки  |  |
| <i>Кульгавеня А.Д., Никандров В.Н.</i><br>Влияние аденозинтрифосфата и неорганического ортофосфата на казеинолитическую активность гомогенатов мицелия культуры <i>Pleurotus ostreatus</i> |  |
| <i>Павлюкевич Д.С., Панова Н.В.</i><br>Применение концентрата энокрасителя для окрашивания отделочных полуфабрикатов   |  |
| <i>Панова Н.В.</i><br>Современные биотехнологии для создания новых пищевых продуктов   |  |
| <i>Подорожная И.В., Ветохин С.С.</i><br>Сравнительная оценка кислотностей ряженки, изготовленных из сухой закваски в лабораторных условиях, с требованиями стандарта                       |  |
| <i>Попов Е.С., Пожидаева Е.А.,<br/>Шолин В.А., Черкасова Н.С.</i><br>Исследование пребиотических свойств отечественных растительных биокорректоров   |  |
| <i>Попов Е.С., Разинкова Т.А.,<br/>Шолин В.А., Власенко Б.Н.</i><br>Исследование процесса получения низколактозных пробиотических пищевых систем   |  |