

БИОСИНТЕТИЧЕСКАЯ СПОСОБНОСТЬ ШТАММА *STREPTOMYCES SPECIES 170* – ПРОДУЦЕНТА ИНГИБИТОРА ГЛИКОЗИДАЗ В ПРОЦЕССЕ ДЛИТЕЛЬНОГО НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОГО ХРАНЕНИЯ

Непомнящий А.П. (Университет ИТМО. ВНИИПД – Филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН), **Шарова Н.Ю.** (Университет ИТМО. ВНИИПД – Филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН) **Научный руководитель: д.т.н., профессор РАН Шарова Н.Ю.** (Университет ИТМО. ВНИИПД – Филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН)

В процессе исследования была выявлена биосинтетическая способность штамма *Streptomyces species 170* продуцента ингибитора гликозидаз в процессе длительного низкотемпературного хранения (-18°C). В данном исследовании представлены результаты, полученные за периоды хранения – 12 и 15 месяцев. Основной показатель, характеризующий биосинтетическую способность – ингибиторная активность штамма по отношению к свиной панкреатической амилазе.

Введение. На данный момент существует множество препаратов, снижающих уровень сахара в крови и предотвращающих гипергликемию, свойственную для больных сахарным диабетом. Разновидностью таких препаратов, по механизму воздействия являются ингибиторы гликозидаз, продуцентом которых является штамм *Streptomyces species 170*.

Объектом исследований являлся штамм *Streptomyces species 170*, хранящийся в течение 12 и 15 мес при температуре -18°C в растворах глицерина (15%), хлорида натрия (0,9%) и на агаризованной среде Чапека при температуре $+4^{\circ}\text{C}$. Культивирование проводилось в условиях шейкера-инкубатора Multitron при температуре $+29^{\circ}\text{C}$ и скорости вращения 160 об/мин. Состав сред для культивирования содержал гидролизат кукурузного крахмала в качестве основного источника углерода и неорганические соли.

Цель работы заключалась в определении биосинтетической способности штамма *Streptomyces species 170* по показателю активности ингибитора гликозидаз и выявить наиболее предпочтительные условия хранения.

Основная часть. Исследуемый штамм *Streptomyces species 170* является продуцентом ингибитора гликозидаз, в связи с чем его биосинтетическую способность оценивали по ингибиторной активности. В качестве ингибируемого фермента использовали свиную панкреатическую амилазу в виду ее схожести с гликозил-гидролазой данного типа, вырабатываемой панкреасом человека.

Спустя 12 мес хранения наибольшая активность наблюдалась на 2 сут культивирования у клеток, хранившихся при низкой температуре (-18°C) в среде с добавлением глицерина в концентрации 15 % и в среде с добавлением 0,9 %-ного раствора хлорида натрия, что составило (2670 ± 400) ЕИ/см³. В то время как клетки, хранившиеся при положительной температуре (4°C) показали наибольшую активность после 1 сут культивирования, что составило (2620 ± 400) ЕИ/см³. Наблюдалось различие максимумов ингибиторной активности относительно времени культивирования. Наибольшая ингибиторная активность клеток, хранившихся в различных условиях, находилась на одном уровне. Данные результаты отражают целесообразность хранения клеток штамма в среде с добавлением проникающего криопротектора, который позволяет сохранить жизнеспособные клетки в процессе длительного низкотемпературного хранения. Биосинтетическая способность клеток, хранящихся в растворе с содержанием 15 %

глицерина, сохраняется на более высоком уровне по сравнению с другими условиями хранения данного штамма. Это обусловлено тем, что глицерин является криопротектором проникающего действия и изменяет структуру воды вне клеток, а также воздействует на проницаемость клеточных мембран, что позволяет сохранить наиболее жизнеспособные клетки и обеспечивает их биосинтетическую способность.

По истечении 15 мес хранения наибольшую ингибиторную активность по отношению к свиной панкреатической амилазе проявили клетки штамма *Streptomyces sp.* 170, хранившиеся при температуре 4 °С. Пик активности выявлен на вторые сутки культивирования и составил (3370±500) ЕИ/см³. У конидий, хранившихся в 15 %-ном растворе глицерина и 0,9 %-ном растворе хлорида натрия пики активности также выявлены на вторые сутки биотехнологического процесса. Показатель составил соответственно (2800±400) ЕИ/см³ и (2600±400) ЕИ/см³.

В процессе хранения клеток штамма на протяжении 15 мес наблюдалось повышение ингибиторной активности по отношению к свиной панкреатической амилазе у клеток, хранившихся на агаризованной среде при температуре +4°С по сравнению с клетками, хранившимися в среде с добавлением 15% глицерина и в среде с добавлением 0,9% хлорида натрия. Данное явление может быть обусловлено низкой генетической стабильностью штамма ввиду воздействия на него пониженных температур. У клеток, хранившихся в среде с добавлением 15% глицерина и в среде с добавлением 0,9% хлорида натрия, активность ингибитора гликозидаз осталась на прежнем уровне.

Выводы. В результате проведенных исследований выявлено, что при хранении штамма *Streptomyces sp.* 170 при температуре -18 °С в среде, содержащей глицерин в концентрации 15 %, и в 0,9 %-ном растворе хлорида натрия, ингибиторная активность по отношению к свиной панкреатической α-амилазе на пике ингибиторной активности, а именно на 2 сут. культивирования, остается в пределах ингибиторной активности клеток, хранившихся при положительной температуре (4 °С).

Непомнящий А.П. (автор)

Шарова Н.Ю. (научный руководитель)