УДК 579.6

**РАЗРАБОТКА ПОДХОДОВ К ВЫДЕЛЕНИЮ БЕЛКА ИЗ ОТРАБОТАННОГО
РАСТВОРА ПРОЦЕССА ЭКСТРАКЦИИ ПОЛИГИДРОКСИАЛКАНТОВ ИЗ
БИОМАССЫ *S. necator* H16**

Исаева П.А. (ИТМО), Кузнецова А. П. (ИТМО)

**Научный руководитель — кандидат биологических наук, доцент Аль-Шехадат Р.И.
(ИТМО)**

Введение. Одним из продуктивных штаммов, производящих биоразлагаемые полигидроксиалканоаты (ПГА) является *S. necator* H16 (*Cupriavidus necator* H 16 (VKПМ В-3359)). Штамм *S. necator* H16 является грамотрицательной водородоокисляющей бактерией, которая может расти как в аэробных, так и в анаэробных средах [1,2]. В условиях стресса бактерии начинают накапливать ПГА как форму хранения углерода и других питательных веществ. В процессе производства ПГА, кроме получения гранул полимера, может производиться извлечение и других полезных соединений. Так, например, возможно извлечение полисахаридов, аминокислот, белков [3]. Получение дополнительных продуктов процесса позволяет сделать производство ПГА более экономически выгодным. Вместе с полимером выделяется большое количество побочных продуктов, в том числе белков, которые могут составлять около 50% сухого веса клетки [4]. Такая большая концентрация белков является причиной перспективности их выделения и дальнейшего использования. Также такой подход соответствует принципам экономики замкнутого цикла.

Основная часть. Штамм *S. necator* H16, как и многие водородоокисляющие грамотрицательные бактерии, является перспективным продуцентом и источником белка [3]. Подобные бактерии используются для направленного получения белка [5], однако содержание белка в составе клетки позволяет рассматривать штамм как самостоятельный независимый источник белковых продуктов [4]. Белки, высвобождающиеся из клетки штамма-продуцента при экстракции полимера, могут быть выделены и использованы далее для дальнейшего производства реагентов, пищевых и кормовых добавок или препаратов [5]. В ходе исследования был разработан подход для определения и выделения белка. На начальном этапе был исследован общий белок и его аминокислотный состав, а также охарактеризована целесообразность выделения определенных белков путем оценки относительного процентного соотношения содержания белка в начальном растворе. Был проведен эксперимент на основе электрофореза в полиакриламидном геле, в котором были подобраны условия электрофореза, а также условия подготовки проб. Ввиду неизвестности белкового состава раствора параметры дальнейших методов подбирались постепенно и изначальный план изменялся в соответствии с получаемыми результатами. Также были использованы следующие методы: метод Бредфорда для определения количества общего белка, определение аминокислотного состава, определение коэффициента эффективности белка (КЭБ) и аминокислотного сора, фракционирование, определение ИЭТ белка, хроматография.

Выводы. В результате исследования проведен анализ белка из раствора неизвестного состава, разработана методика его выделения и очистки. Определены молекулярные массы белка, а также то, как в перспективе данные белки могут быть использованы.

Список использованных источников:

1. Wang, Y., Cui, L., Ding, L. et al. Unlocking the potential of *Cupriavidus necator* H16
2. as a platform for bioproducts production from carbon dioxide. *World J Microbiol Biotechnol* 40, 389 (2024). <https://doi.org/10.1007/s11274-024-04200-x>.
3. Morlino M.S., García R.S, Savio F., Zampieri G., Morosinotto T., Treu L., Campanaro S. *Cupriavidus necator* as a platform for polyhydroxyalkanoate production: An overview of strains,

metabolism, and modeling approaches. *Biotechnology Advances*, Vol. 69, 2023, 108264, ISSN 0734-9750, <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2023.108264>.

4. Егорова Е.К. Синтез основных и запасных внутриклеточных макромолекул бактериями *Cupriavidus necator* В-10646.: дис. канд. био. наук: 06.04.01.: защищена 18.06.21.: утв. 22.06.21. / Красноярск, 2021. - 54 с. - Библиогр.: с.45-53.

5. Yadav B, Chavan S, Atmakuri A, Tyagi RD, Drogui P. A review on recovery of proteins from industrial wastewaters with special emphasis on PHA production process: Sustainable circular bioeconomy process development. *Bioresour Technol.* 2020 Dec;317:124006. doi: 10.1016/j.biortech.2020.124006.

6. Ismail S, Giacinti G, Raynaud CD, Cameleyre X, Alfenore S, Guillouet S, Gorret N. Impact of the environmental parameters on single cell protein production and composition by *Cupriavidus necator*. *J Biotechnol.* 2024 Jun 10;388:83-95. doi: 10.1016/j.jbiotec.2024.04.009