

Активность и характеристика целлюлолитических ферментов почвенных актиномицетов

Научный руководитель – Бирюков Михаил Владимирович

Никандрова Арина Александровна

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет

почвоведения, Москва, Россия

E-mail: arinanikandrova@mail.ru

В настоящее время все больше возрастает интерес к ферментативному разложению целлюлозной биомассы, которая является распространенным и возобновляемым природным ресурсом. Основным деструктором данного биополимера является комплекс ферментов - целлюлаз, которые относятся к классу гидролитических ферментов. Различные бактерии используются для производства целлюлолитических ферментов, и актиномицеты не исключение [1]. Они являются потенциальными производителями целлюлолитического комплекса ферментов и участвуют в распаде целлюлозной биомассы, которая является основным источником глюкозы.

Целью работы было исследование активности и характеристик целлюлаз, выделенных из культуральных жидкостей двух актиномицетных штаммов - *Amycolatopsis sp. strain A23* и *Streptomyces sp. strain Pe6*. Белковые фракции из этих культуральных жидкостей осаждались $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ различной концентрации. Для визуализации активности целлюлолитических ферментов использовался метод зимографии [2], основанный на электрофорезе образцов в полиакриламидном геле с добавлением карбоксиметилцеллюлозы, которая является субстратом для выделенных целлюлаз, с последующим окрашиванием Конго красным. Опыт показал, что активность целлюлаз, полученных из культуральной жидкости штамма *Pe6* намного выше, чем из штамма *A23*, так как полосы деструкции субстрата контрастнее и выражены в большей степени. Также исследовалось влияние температуры на активность целлюлолитических ферментов. Для этого было взято два образца штамма *Pe6*, один из которых нагревался до 95°C в течение 5 минут. При этом белок, из которого состоит фермент, денатурирует, но не полностью, и имеет способность к ренатурации. Зимография показала, что активность нагретого образца меньше, так как полоса в полиакриламидном геле, образовавшаяся после распада карбоксиметилцеллюлозы была менее контрастная.

В качестве исследуемой характеристики выделенных целлюлолитических ферментов была взята молекулярная масса. Определяли ее с помощью электрофореза в 12,5% полиакриламидном геле без добавления карбоксиметилцеллюлозы с последующим окрашиванием красителем Coomassie Blue R250. При сравнении полученных полос от образцов с белковыми маркерами молекулярных масс можно сделать вывод, что молекулярные массы выделенных целлюлолитических ферментов находятся в пределах от 50 до 70 kDa.

Данные, полученные в ходе работы, показывают, что целлюлолитические ферменты, выделенные из разных штаммов почвенных актиномицетов различны по своей активности, и такой внешний фактор, как температура, также может оказывать влияние на ферментативную активность целлюлолитического комплекса.

Источники и литература

- 1) Eugene Rosenberg, Edward F. DeLong, Stephen Lor et al. The Prokaryotes. Actinobacteria. Germany; Heidelberg, 2014.

- 2) 2. Thomas M. Wood, K. Mahalingeshwara Bhat. Methods for measuring cellulose activities// Methods in Enzymology. United State, 1988. С. 87-112.