

Особенности биосинтеза внеклеточных протеиназ штаммом *Bacillus subtilis* GM5

Научный руководитель – Марданова Айслу Миркасымовна

Хадиева Гузель Фанисовна

Студент (магистр)

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Кафедра микробиологии, Казань, Россия

E-mail: g.h95@mail.ru

Спорообразующие бактерии рода *Bacillus* являются эффективной альтернативой антибиотикам в качестве стимуляторов роста и ингибиторов патогенов в птицеводстве. Споры *Bacillus* способны выживать и прорасти в кишечнике, а вегетативные формы - образовывать биопленки, выделять антимикробные соединения и гидролитические ферменты, такие как протеазы, амилазы, целлюлазы и фитазы. В настоящее время экзогенные ферменты добавляются в корма цыплят с целью увеличения питательной ценности кормов. Например, применение протеаз в кормлении птицы целесообразно в рационах на основе сои с высоким уровнем растительного белка. Способность к синтезу гидролитических ферментов является важной характеристикой потенциальных пробиотиков.

Целью работы является характеристика биосинтеза внеклеточных протеиназ *Bacillus subtilis* GM5 на разных средах.

Материалы и методы. Для культивирования бактерий использовали среду LB и среду с добавлением 1% мальтозы. Бактерии культивировали в термостате-шейкере фирмы IKA®KS 4000 (Германия) при 37°C и интенсивности качания 200 об/мин. Протеолитическую активность определяли по расщеплению азоказеина (Sigma, США). Ингибиторный анализ проводили в присутствии 1.5 мМ 1.10-фенантролина (Serva, Германия), специфического ингибитора металлопротеиназ, и 1.5 мМ PMSF (Serva, Германия), специфического ингибитора сериновых протеиназ. Активность выражали в процентах относительно контроля - активности в отсутствие ингибиторов, которую принимали за 100%.

Результаты. Из ризосферы картофеля был выделен штамм *B. subtilis* GM5 с высокой антимикробной активностью в отношении *Salmonella Typhimurium* ATCC14028s. Штамм GM5 обладает амилазной, пектиназной, целлюлазной и фитатгидролизующей активностями. При исследовании динамики накопления внеклеточной протеолитической активности в культуральной жидкости *B. subtilis* GM5 обнаружили два пика активности: максимальная активность приходилась на интервалы времени 14-20 ч и 30-46 ч роста на среде с добавлением мальтозы и 16-20 ч и 34-40 ч роста на среде LB. Максимальное значение протеолитической активности в среде с добавлением мальтозы - 2.95 опт. ед. на 32 ч, в среде LB - 0.49 опт. ед. на 18 ч роста.

Ингибиторный анализ протеолитической активности в культуральной жидкости проводили на 20 ч роста бактерий и показали, что основная доля активности связана с действием сериновых протеиназ (68-75% от общей активности). На долю металлопротеиназ приходилось 25-30%.

Таким образом, штамм GM5 секретирует в среду сериновые и металлопротеиназы. Оптимальной средой для накопления протеиназ является среда с мальтозой. Способность штамма GM5 к синтезу внеклеточных протеиназ важна для улучшения перевариваемости кормов и повышения их усвояемости при использовании бактерий как пробиотиков.

Работа выполнена в рамках государственной программы повышения конкурентоспособности Казанского (Приволжского) федерального университета среди ведущих мировых научно-образовательных центров и поддержана грантом РНФ № 16-16-04062.