

ПОШУК АЛЬТЕРНАТИВНИХ ДЖЕРЕЛ ПРОТЕОЛІТИЧНИХ ФЕРМЕНТІВ ДЛЯ БІОТЕХНОЛОГІЧНОГО ЗАСТОСУВАННЯ

Бурлаченко К.М.¹, Ракша Н.Г.¹, Маєвська Т.М.², Савчук О.М.¹

¹Навчально-науковий центр «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, м. Київ, Україна

²ТОВ «Науково-виробничий центр «Форель», Україна
katya.burlachenko.99@gmail.com, nkudina@ukr.net, forel2016@gmail.com,
olexiy.savchuk@ukr.net

Темпи розвитку біотехнології, інженерної ензимології дозволяють вдосконалювати методи отримання та стабілізації ферментів. У сучасній промисловості дуже велике значення мають ферменти класу гідролаз, а особливо протеолітичні ферменти. Їх активно використовують у харчовій промисловості, медицині, під час виробництва синтетичних м'яких засобів. Однією з ключових проблем для організації промислового виробництва ферментних препаратів, в першу чергу протеолітичної дії, є пошук нових, доступних та економічно рентабельних джерел сировини. Наразі ферменти одержують переважно шляхом мікробіологічного синтезу, проте важливим джерелом для такого виробництва можуть бути відходи рибної промисловості, зокрема вторинна сировина прісноводних риб. Промислова переробка прісноводних риб зазвичай включає видалення органів шлунково-кишкового тракту. Часто відходи досягають 50% від вихідної маси сировини і не менше 20% з цих відходів складають травні органи – пілоричні придатки, шлунок, кишківник та ін. Доволі раціональним може бути підхід більш повного використання усіх частин тіла риб, тобто застосування систем глибокої безвідходної переробки сировини. Більш того, реалізація та розширення ферментних технологій потребує створення вітчизняних ферментних препаратів високої якості, що виявляють максимальну ферментативну активність та специфічність дії. Таким чином, на сьогоднішній день актуальним є пошук дешевих і доступних джерел сировини для отримання таких промислово важливих препаратів, як ферментні препарати. І тут в якості сировини можуть виступати відходи обробки риб. Відповідно, актуальним є пошук видів риб, травні органи яких мають високу протеолітичну активність, а також методів та умов отримання та очистки ферментів.

Метою даної роботи було проведення попереднього скринінгу наявності протеолітичної активності у пілоричних придатках форелі річкової та розробка методологічних підходів щодо отримання протеолітичних ферментів для їх подальшого застосування у відповідних секторах промисловості. Сировину (пілоричні придатки) механічно подрібнювали, після чого розчинні білки екстрагували із застосуванням 0,1 М трис-НСІ буфера, рН 7,4, що містив 0,26 М NaCl, 0,1 % тритон Х100 та 0,15 мМ ЕДТА у розрахунку 5 мл буфера на 10 грам сировини. Після 60 хв екстракції за постійного перемішування, осад віддаляла центрифугуванням (30 хв, 10 000 g), а надосадову рідину піддавали ліофілізації. Використовуючи методи електрофоретичного аналізу (одновимірний диск-електрофорез у поліакриламідному гелі з додаванням додецилсульфату натрію та ензим-електрофорез із заполімеризованими у розділяючий гель високомолекулярними білковими субстратами) було показано наявність у досліджуваній сировині певних гідролітичних активностей, зокрема показано здатність розщеплювати колаген, желатин та фібриноген. Отриманні дані також дозволили виявити декілька протеаз з цими цільовими активностями та розрахувати приблизно їх молекулярні маси. Використовуючи специфічний хромогенний субстрат було кількісно обраховано сумарну питому протеолітичну активність отриманого екстракту.

Отриманні попередні дані стосовно наявності у досліджуваному матеріалі протеолітичних ферментів з різною субстратною специфічністю свідчать про перспективу створення на його основі ферментних препаратів з цільовими активностями для подальшого застосування у різних галузях промисловості.