

Университетская гимназия МГУ
Биологический факультет МГУ имени М. В.
Ломоносова

Протеазы мицелиальных грибов для биодegradации отходов животноводства.

Научный руководитель проекта:
аспирант кафедры микробиологии
Биологического факультета
МГУ имени М.В.Ломоносова
Тиморшина С. Н.

Работу выполнил:
Пизин Максим Михайлович
учащийся 10 класса
Университетской гимназии
МГУ имени М.В.Ломоносова
г. Москва

Актуальность работы

Сжигание

загрязнение окружающей среды

углекислый газ,
вода

Захоранивание

длительное время, размножение патогенов

сложная смесь веществ

Химический гидролиз

высокая энергоемкость, использование опасных реактивов

аминокислоты и их производные

Производство перьевой муки

высокая энергоемкость (острый пар и высокое давление)

олигопептиды и аминокислоты

Биодеградация

сложность работы с живыми объектами и масштабирования процесса

олигопептиды и аминокислоты

Цель работы

Отобрать культуру микромицета, перспективную в качестве источника внеклеточных протеаз с кератинолитической активностью, применение которой возможно в биодegradации ОТХОДОВ ЖИВОТНОВОДСТВА.

Задачи

- Выбрать из коллекции кафедры микрибиологии культуры микромицетов для первичного скрининга, которые по данным из литературы являются наиболее перспективные в качестве источников протеиназ для биодеградации отходов животноводства;
- Провести первичный скрининг среди отобранных культур микромицетов на агаризованных средах разного состава, изучив потенциал различных микроскопических грибов в качестве продуцентов протеиназ с целевой активностью;
- Для культуры микромицета с наибольшей протеолитической активностью оценить специфичность внеклеточных ферментов по отношению к фибриллярным белкам.

Материалы и методы

Объектами исследования были микромицеты рода *Aspergillus*, выделенные из различных почв, лесных подстилок и листового опада на территориях средней полосы России, Камчатки и Вьетнама и полученные из коллекций кафедры микробиологии и кафедры микологии и альгологии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова. Всего в работе были использованы 8 штаммов микроскопических грибов.

Материалы и методы



Рис. 1.



Рис. 2.



Рис. 3.



Рис. 4.

Приготовление сред для культивирования микроорганизмов.

Материалы и методы



Рис.5. Высеивание штаммов микроскопических грибов методом истощающего штриха



Рис. 6. Культивирование микроорганизмов в термостате

Материалы и методы

- 7 дней культивирования при 28°C
- 10% раствор трихлоруксусной кислоты (ТХУ)
- Измерение диаметров колоний и зон гидролиза.

$$EI = d2/d1,$$

d1 – диаметр колонии (мм),

d2 – диаметр зоны гидролиза (мм).

Результаты исследования



Рис. 7. *Aspergillus alliaceus* 7dN1 на среде с козеином



Рис. 8. *Aspergillus crustosus* A29 на среде с козеином

Результаты исследования



Рис. 9. *Aspergillus raperi* A13 на среде с козеином



Рис. 10. *Aspergillus ochraceus* 247 на среде с казеином

Результаты исследования

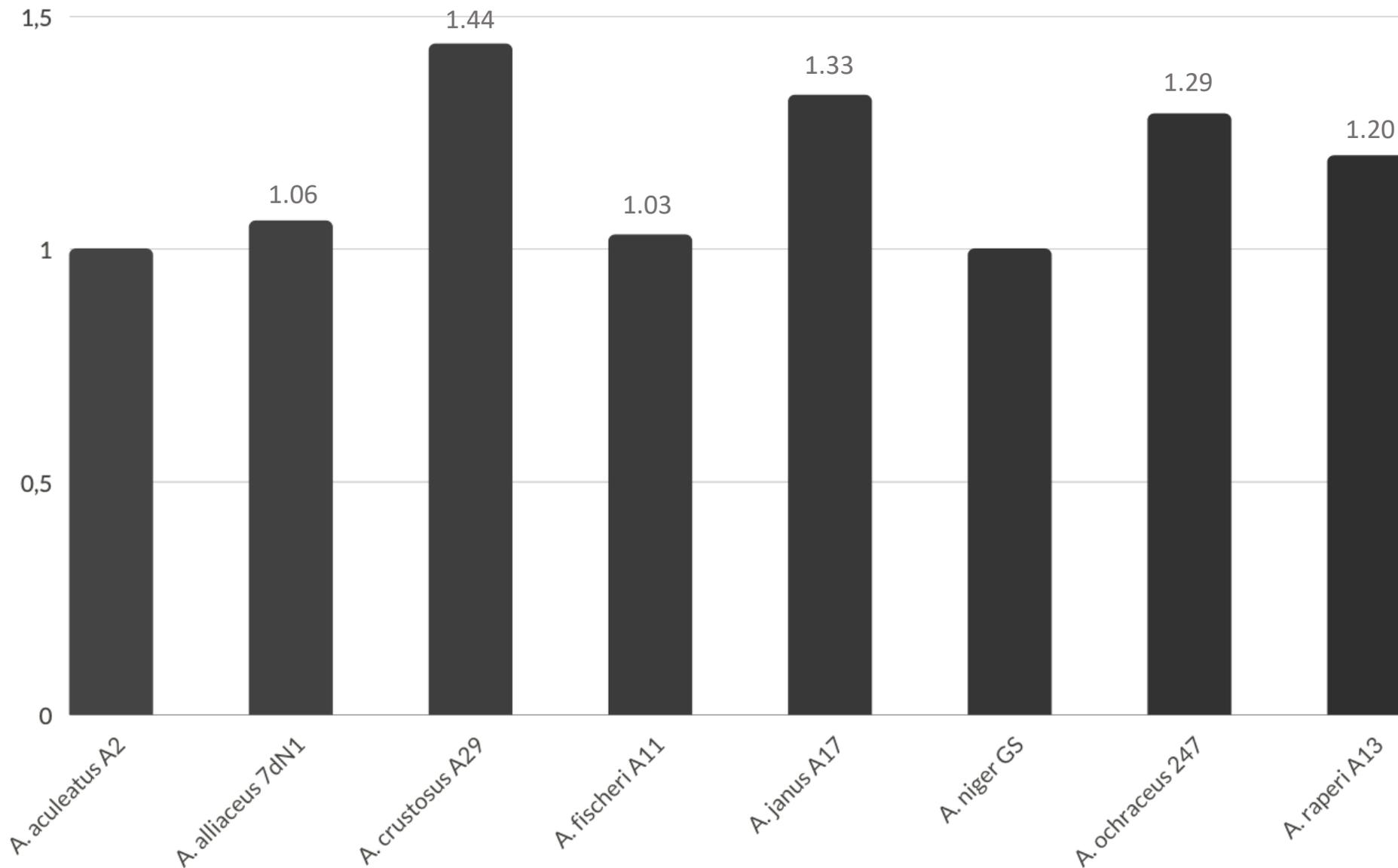


Рис. 11. Энзиматические индексы культур на среде с казеином

Результаты исследования

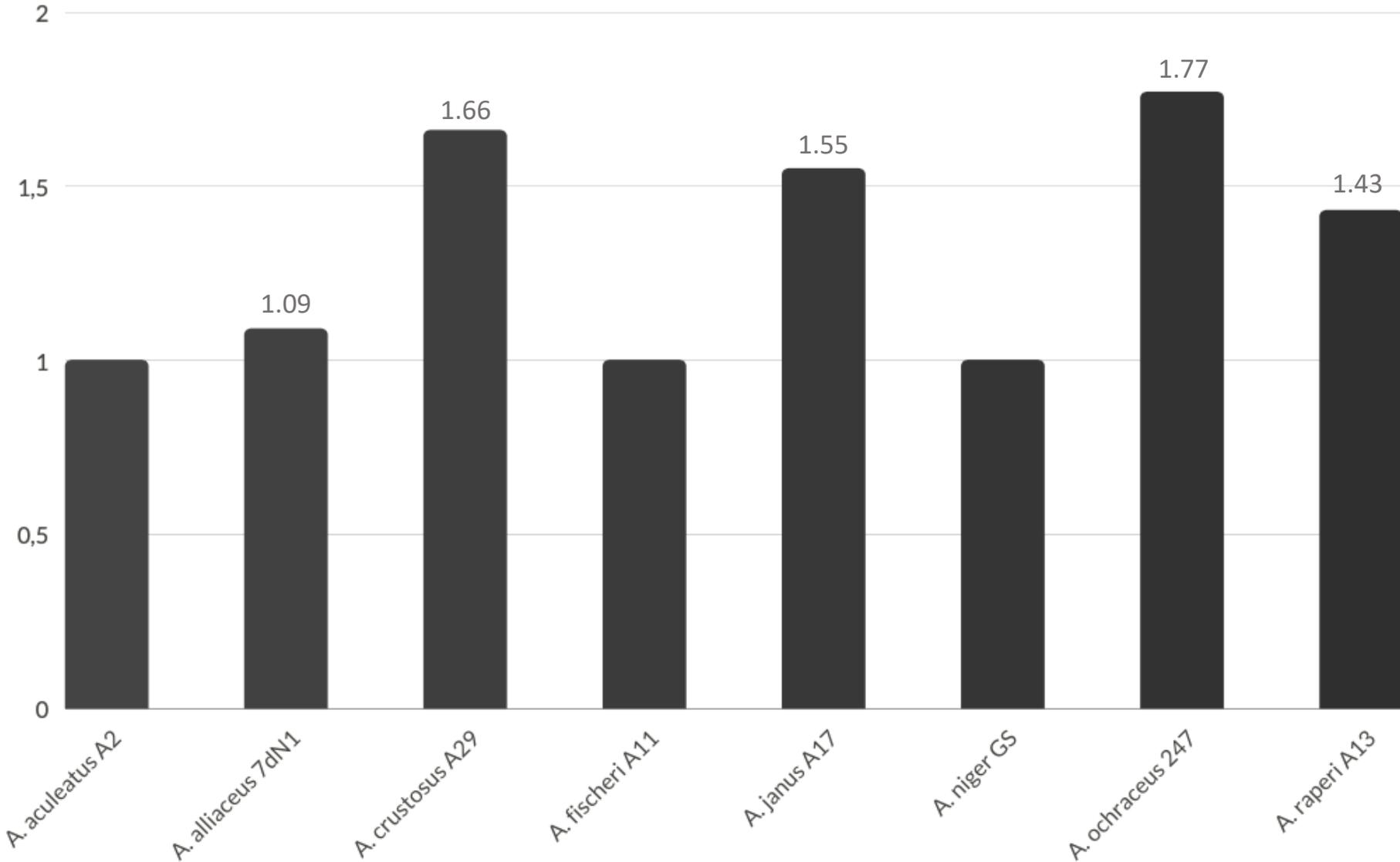


Рис. 12. Энзиматические индексы культур на среде с желатином

Результаты исследования

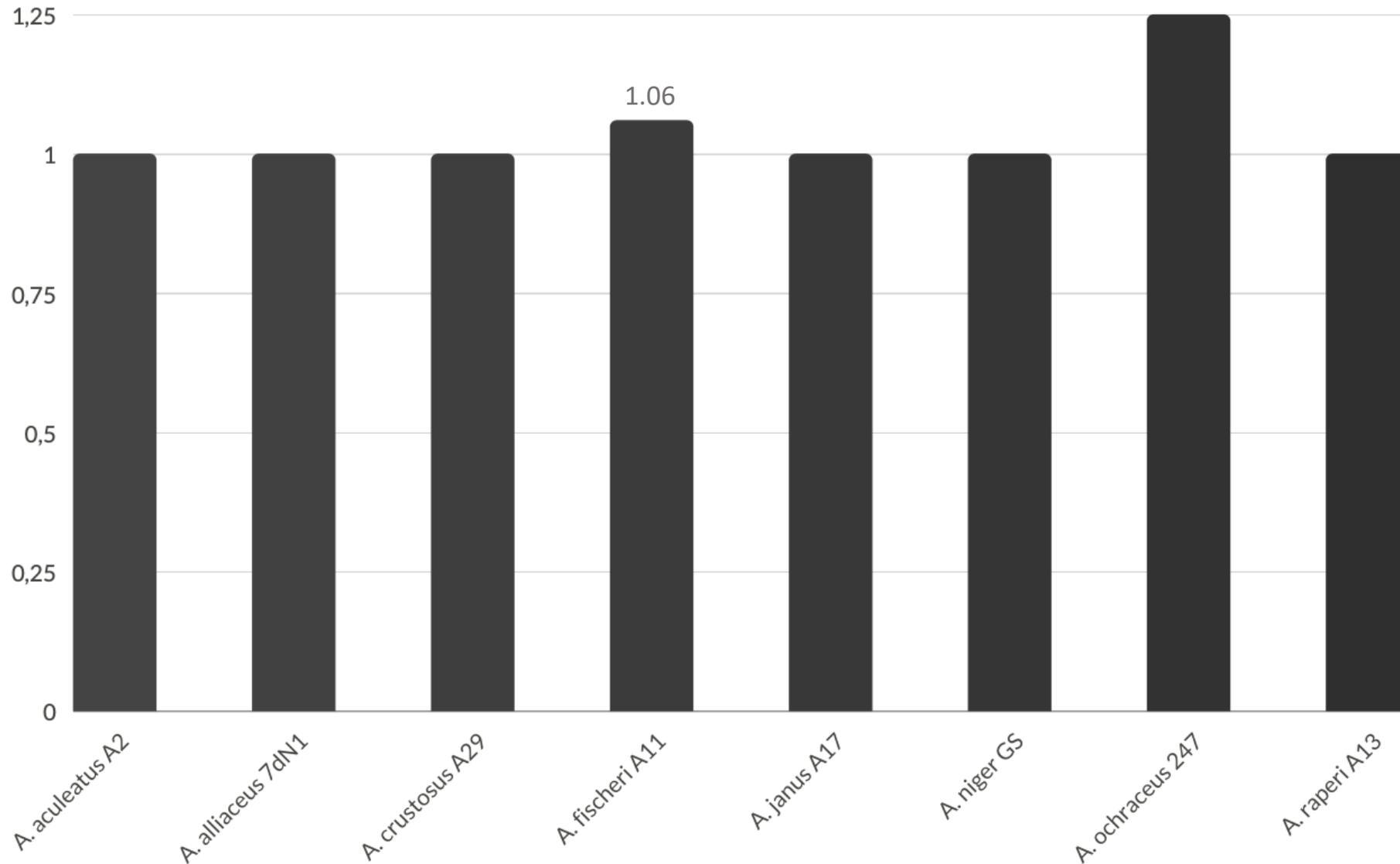


Рис. 13. Энзиматические индексы культур на среде с кератином

Результаты исследования

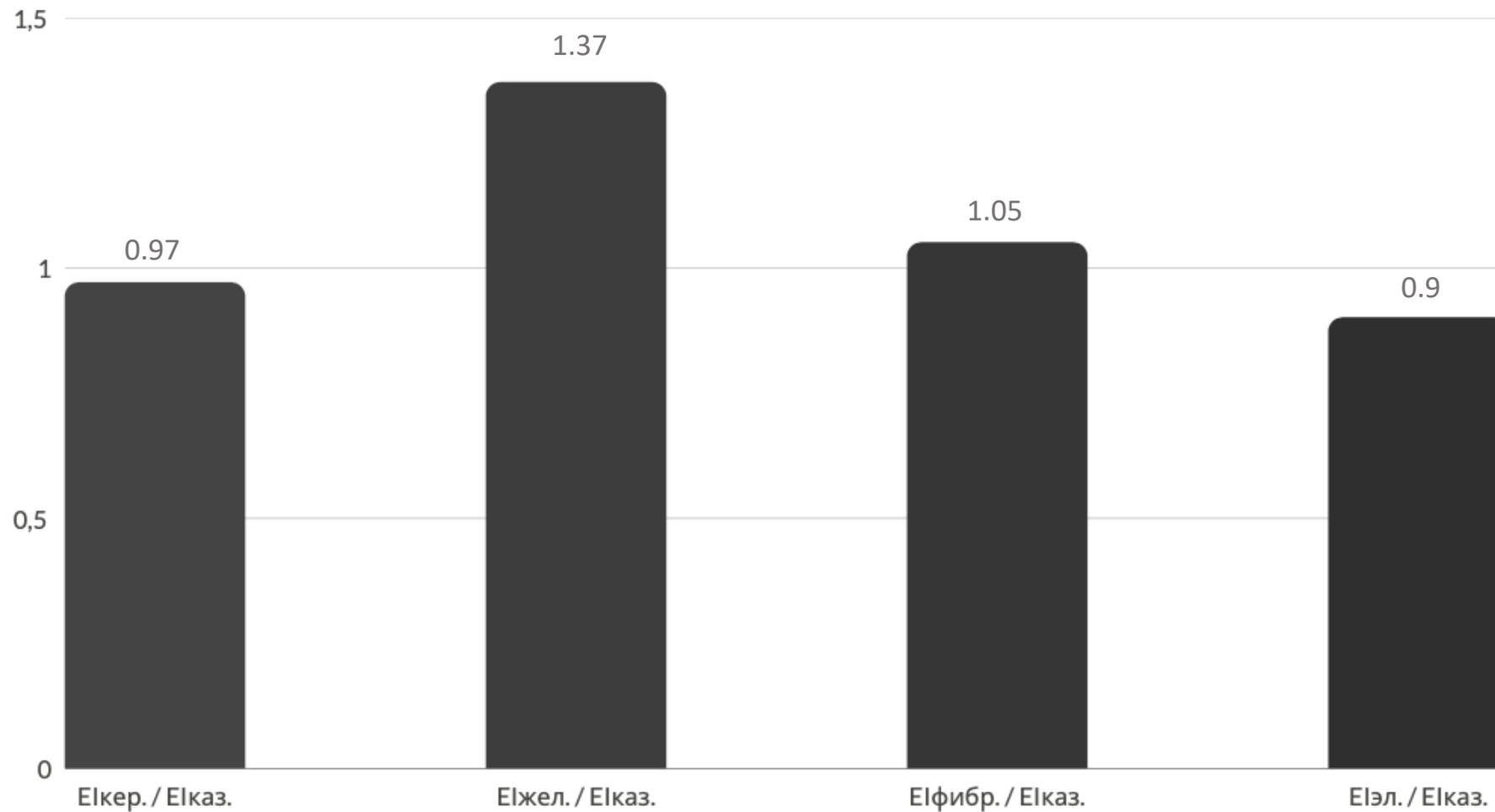


Рис. 12. Соотношения энзиматических индексов микромицета *A. ochraceus* 247

Выводы

- Микромицет *Aspergillus ochraceus* 247 является продуцентом внеклеточных протеиназ, активных по отношению к фибриллярным белкам;
- Протеиназы, образуемые микромицетом *Aspergillus ochraceus* 247, обладают высокой общей протеолитической активностью, широкой субстратной специфичностью и расщепляют такие фибриллярные белки, как кератин, фибрин и эластин, поэтому имеют высокий биотехнологический потенциал.