

ИЗУЧЕНИЕ КОЛЛЕКЦИОННЫХ ШТАММОВ МИКРОМИЦЕТОВ ДЛЯ ПОИСКА КУЛЬТУР С КОЛЛАГЕНОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ

З.К. Никитина

д.б.н., профессор, гл. науч. сотрудник,
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (Москва)
E-mail: nikitinaz@yandex.ru

И.К. Гордонова

к.б.н., вед. науч. сотрудник,
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (Москва)
E-mail: gordonova777@yandex.ru

Э.М. Насибов

аспирант,
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (Москва)

Актуальность. Изучение различных ферментов, синтезируемых микроорганизмами, и возможности их практического применения является одним из современных направлений биотехнологии. К числу таких ферментов относятся коллагеназы, которые находят широкое применение в ряде отраслей народного хозяйства, в медицинской практике, используются в научно-исследовательских целях. В связи с этим поиск новых отечественных продуцентов коллагенолитических ферментов является актуальной задачей современной биотехнологии.

Цель исследования. Изучение штаммов из коллекции микромицетов ФГБНУ "Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений" (ВИЛАР) для поиска культур, обладающих коллагенолитической активностью.

Материал и методы. Объектом исследования являлись 14 штаммов 13 видов микромицетов из коллекции микроорганизмов ФГБНУ ВИЛАР, относящиеся к родам *Aspergillus*, *Monilia*, *Penicillium*. Поверхностное культивирование микромицетов проводили на агаризованных средах Чапека, модифицированных заменой сахарозы на 2%-ный коллаген. Коллагеназную активность микроорганизмов оценивали по диаметру колоний, зон лизиса, радиальной скорости роста и индексам лизиса при культивировании на модифицированной среде. Статистическую обработку результатов, регрессионный и корреляционный анализ выполняли на персональном компьютере с помощью пакета статистических программ Microsoft Office Excel 2010.

Результаты. Проведенный скрининг коллекционных штаммов показал, что микромицеты росли на средах с заменой сахарозы на коллаген. Все исследованные культуры, кроме *Monilia implicata*, образовывали выраженные зоны лизиса на модифицированной среде, что свидетельствует об их способности секретировать коллагенолитические ферменты. Изучение гидролитической активности микроорганизмов, включающее определение скоростей роста и индексов лизиса, а также корреляционно-регрессионный анализ позволили выявить культуры, которые могут рассматриваться в качестве потенциальных продуцентов коллагеназ.

Выводы. Все изученные микроорганизмы обладали способностью к росту на средах с заменой сахарозы на коллаген. Обнаружены существенные видовые и штаммовые различия скоростей роста и гидролитической активности микромицетов при культивировании на модифицированной среде. На основании проведенного регрессионного и корреляционного анализа отобраны шесть штаммов, перспективных для дальнейшего изучения в качестве продуцентов коллагеназ.

Ключевые слова: микромицеты, коллаген, коллагеназы.

Для цитирования: Никитина З.К., Гордонова И.К., Насибов Э.М. Изучение коллекционных штаммов микромицетов для поиска культур с коллагенолитической активностью. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2020; 23(7): 22–29. <https://doi.org/10.29296/25877313-2020-07-04>

Среди протеолитических ферментов особое внимание привлекает коллагеназа – эндопептидаза, расщепляющая тройную спираль молекулы нерастворимого природного белка коллагена [1–4]. Достаточно давно проводятся исследования, направленные на разработку на основе этого фермента различных лекарственных средств и композиций для лечения ран и рубцов [5–9], ожогов [10]. Коллагеназы успешно применяются для лечения стенозов

гортани [11], офтальмологических заболеваний [2]. Ферменты, гидролизующие коллаген, используются в пищевой промышленности при изготовлении мясных изделий [12, 13], кормовых биодобавок [14], сухих белковых композиций [15], а также для получения культур животных клеток [16]. Источники для получения коллагеназ могут быть различными. Используются коллагеназы камчатского краба [5, 10–12.], некоторых микроорганизмов, в том

числе *Clostridium histolyticum* [1, 9, 17], однако биотехнология культивирования указанного микроорганизма имеет ряд особенностей, связанных с анаэробностью и высокой патогенностью культуры [17]. Имеются единичные сведения о получении рекомбинантных штаммов, синтезирующих коллагеназу [18]. Приведенные данные о возможности широкого использования коллагеназ в медицине и других областях жизнедеятельности человека, а также большое количество работ, посвященных указанной проблеме, делает актуальным изучение штаммов из коллекции микромицетов ФГБНУ ВИЛАР для поиска культур, обладающих коллагенолитической активностью, что и являлось целью настоящего исследования.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлись 14 штаммов 13 видов микромицетов из биокolleкции микроорганизмов ФГБНУ ВИЛАР, относящиеся к родам *Aspergillus*, *Monilia*, *Penicillium*: *A. niger* F51, *A. sydowii* F25, *A. terreus* F59, *M. implicata* F15, *P. brevicompactum* F37, 49, *P. camemberti* F45, *P. casei* F19, *P. claviforme* F32, *P. crustosum* F46, *P. hirsutum* F29, *P. malinovobranova* F3, *P. martensii* F63, *P. purpurescens* F18. Проводили поверхностное культивирование микромицетов на агаризованных средах Чапека, модифицированных заменой сахарозы на 2%-ный коллаген, при температуре 26 ± 1 °C, в темноте.

Микромицеты выращивали на скошенной поверхности агаризованной среды Чапека в течение 7 суток. Затем проводили посев тремя уколами на чашки Петри с модифицированной агаризованной средой. Протеазную активность микроорганизмов

оценивали по диаметру колоний и зон лизиса, радиальной скорости роста и индексам лизиса. Диаметр колоний и зон лизиса измеряли в двух перпендикулярных направлениях, рассчитывая индекс лизиса (Ил) по формуле

$$\text{Ил} = \text{Дл}^2 / \text{Дк}^2,$$

где Дл и Дк – средние диаметры зон лизиса и колоний соответственно.

Статистическую обработку результатов, регрессионный и корреляционный анализ проводили на персональном компьютере с помощью пакета статистических программ Microsoft Office Excel 2010.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что рост микроорганизмов на субстратах, содержащих нерастворимые белки в качестве единственного энергетического источника, позволяет судить об их потенциальной протеолитической активности. Появление зон лизиса белков вокруг колоний является показателем секреции ферментов в окружающую среду. В связи с этим на начальном этапе исследования фиксировались диаметры колоний и диаметры зон лизиса при культивировании микромицетов на средах с заменой сахарозы на коллаген (табл. 1, рис. 1).

Все изученные виды рода *Aspergillus* образовывали заметные колонии и зоны лизиса на агаризованных средах с заменой сахарозы на коллаген уже на начальных этапах культивирования. *A. niger* F51 имел наименьшие диаметры колоний на 3- и 4-е сутки культивирования, однако к 7-м суткам диаметры колоний у трех аспергилл были практически равны.

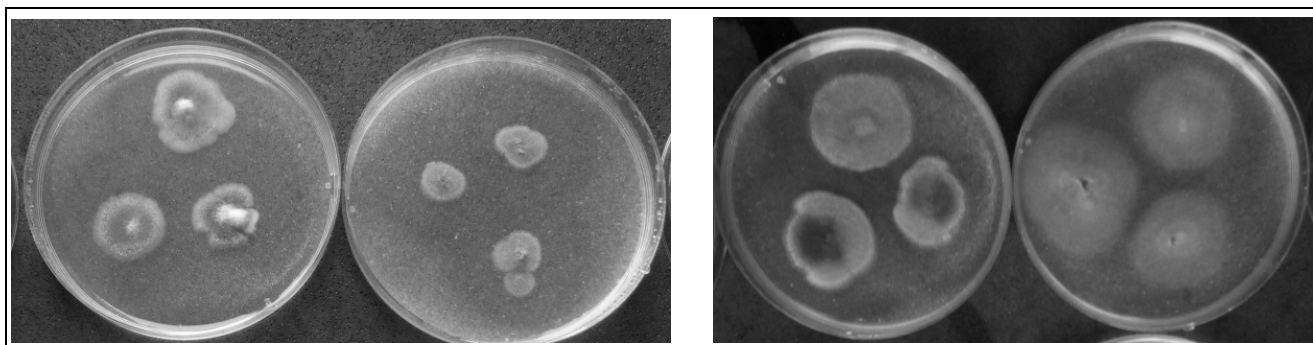


Рис. 1. Колонии и зоны лизиса микромицетов при культивировании в течение 7 суток на среде Чапека с заменой сахарозы на коллаген. Слева направо: *P. malinovobranova*, *P. purpurescens*, *A. terreus*, *P. crustosum*

Таблица 1. Параметры роста микромицетов при поверхностном культивировании на средах с заменой сахарозы на коллаген (мм)

№ штамма	Время культивирования, сутки									
	3-и		4-е		5-е		6-е		7-е	
	Дк	Дл	Дк	Дл	Дк	Дл	Дк	Дл	Дк	Дл
51	2,4	7,0	5,8	16,7	7,4	22,3	23,3	32,0	26,0	34,5
25	3,8	7,3	11,8	19,0	17,8	28,7	25,0	36,5	26,2	43,2
59	6,5	8,7	6,8	9,7	7,6	13,3	19,6	27,6	25,7	43,2
15	3,7	–	8,8	–	9,8	–	9,5	–	12,6	18,4
37	рн*	–	9,0	26,2	19	36,2	25,0	38,4	27,0	40,5
49	рн*	–	10,0	18,8	20,0	28,8	22,0	29,4	24,0	32,6
45	8,8	12,5	18,8	22,5	24,5	26,5	26,3	29,2	26,4	29,8
19	3,2	12,2	10,8	22,8	30,8	36,2	38,5	44,3	45,0	45,3
32	9,8	21,6	14,8	26,6	20,3	30,5	26,2	40,5	30,5	46,3
46	6,2	14,2	11,2	19,2	16,8	21,3	21,3	26,8	23,8	32,5
29	12,2	20,5	17,2	25,5	22,0	34,4	26,8	39,2	27,8	40,0
3	11,2	22,7	16,2	26,7	18,2	28,8	19,8	31,3	22,8	34,3
63	11,3	19,0	16,2	27,7	20,7	34,8	25,0	42,0	28,2	44,5
18	рн*	–	рн*	–	5,5	13,7	11,2	22,7	14,7	26,2

Примечание: здесь и далее * – рн – роста нет.

Все штаммы рода *Penicillium* также росли и образовывали зоны лизиса на модифицированных средах, однако активность роста и образования зон лизиса у различных видов и штаммов заметно отличалась. Наименьший протеолитический потенциал отмечен для *P. purpurescens* F18, рост которого начинался только на 5-е сутки, оставаясь на самом низком уровне по сравнению с другими видами до конца культивирования. Диаметр зон лизиса также был меньше, чем у других представителей рода *Penicillium*. Наиболее активно на начальных этапах культивирования росли три микромицета: *P. hirsutum* F29, *P. malinovobranova* F3 и *P. martensii* F63. Однако к 7-м суткам наибольшие диаметры колоний зафиксированы для *P. casei* F19 и *P. claviforme* F32, для них, также как и для *P. martensii* F63, отмечены наибольшие зоны лизиса на 7-е сутки. Два штамма *P. brevicompactum* начинали рост на модифицированной среде Чапека только к 4-м суткам культивирования, сразу образуя заметные зоны лизиса. К 6–7-м суткам диаметр и колоний, и зон лизиса был выше у штамма F37. Наименьший протеолитический потенциал обнаружен у *M. implicata* F15: рост культуры был крайне неактивным, а зоны лизиса обра-

зовывались только к 7-м суткам культивирования. Таким образом, все исследованные микромицеты могут использовать коллаген в качестве единственного энергетического источника, однако протеолитический потенциал отдельных видов и штаммов существенно различается.

Важным показателем для оценки способности микроорганизмов утилизировать трудно гидролизующие субстраты является скорость их роста на соответствующих средах. Анализ радиальных скоростей роста культур, приведенных в табл. 2, свидетельствует о различиях адаптационных потенциалов микромицетов.

Скорость роста *A. niger* F51 и *A. sydowii* F25 в процессе культивирования постепенно увеличивалась, достигая максимальных значений к 6–7-м суткам, что свидетельствует об адаптации культур к использованию трудно утилизируемых субстратов. Адаптация *A. terreus* F59 носила более сложный характер: сначала фиксировалось снижение скорости роста и только в конце культивирования происходило ее увеличение. У *P. hirsutum* F29, *P. malinovobranova* F3 и *P. martensii* F63 отмечены наибольшие начальные скорости роста, которые незначительно менялись в процессе культивиро-

вания, свидетельствуя о высоком и стабильном коллагенолитическом потенциале культур. Для *P. casei* F19 зафиксирована небольшая начальная скорость роста на модифицированной среде, однако, начиная с 5-х суток культивирования, она резко увеличивалась, превышая к 7-м суткам начальный показатель в 6 раз. Максимальные скорости роста у *P. camemberti* F45, *P. claviforme* F32 и *P. crustosum* F46 наблюдались на 5–6-е сутки культивирования, затем они не менялись или незначительно снижались (*P. crustosum* F46). У двух штаммов *P. brevicompactum* максимальные скорости роста также отмечены на 5–6-е сутки культивирования с последующим небольшим снижением. Наименьшая адаптация к росту на среде с заменой сахарозы на коллаген зафиксирована у *P. purpurescens* F18. Для этого микромицета, а также для представителя другого рода – *M. implicata* F15, зафиксированы минимальные скорости роста даже на последних этапах культивирования.

Анализ средних за время культивирования скоростей роста культур, приведенных на рис. 2, также свидетельствует о различиях адаптационных потенциалов микромицетов. Можно видеть, что средние скорости роста культур существенно различаются. Средние скорости роста у предста-

вителей рода *Aspergillus* различались незначительно. При этом максимальный показатель зафиксирован у *A. sedowii* F25.

У представителей рода *Penicillium* средняя скорость роста варьировала в более широком диапазоне: от 1,0 мм/сутки у *P. purpurescens* F18 до 4,6 мм/сутки у *P. casei* F19. В целом пенициллы характеризовались более высокими скоростями роста, чем аспергиллы, что может свидетельствовать об их более значительном адаптационном потенциале.

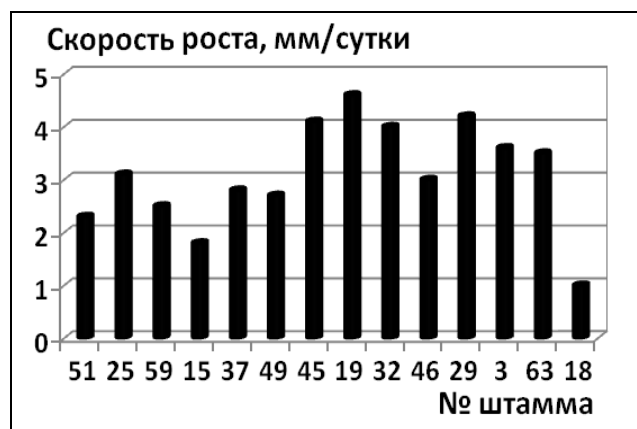


Рис. 2. Средняя скорость роста микромицетов при культивировании на среде с заменой сахарозы на коллаген

Таблица 2. Радиальная скорость роста микромицетов на агаризованной среде с заменой сахарозы на коллаген (мм/сутки)

№ штамма	Время культивирования, сутки				
	3-и	4-е	5-е	6-е	7-е
51	0,80	1,45	1,48	3,88	3,71
25	1,27	2,95	3,56	4,17	3,74
59	2,17	1,70	1,52	3,27	3,67
15	1,23	2,20	1,96	1,58	1,80
37	0	2,25	3,80	4,17	3,86
49	0	2,50	4,00	3,67	3,43
45	2,93	4,70	4,90	4,38	3,77
19	1,07	2,70	6,16	6,42	6,43
32	3,27	3,70	4,06	4,37	4,36
46	2,07	2,80	3,36	3,55	3,40
29	4,07	4,30	4,40	4,47	3,97
3	3,73	4,05	3,64	3,30	3,26
63	3,77	4,05	4,14	4,17	4,03
18	0	0	1,10	1,87	2,10

Таблица 3. Индексы лизиса микромицетов при поверхностном культивировании на средах с заменой сахарозы на коллаген

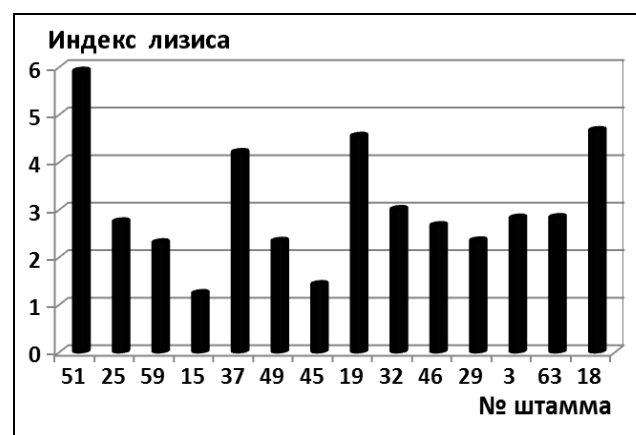
№ штамма	Время культивирования, сутки				
	3-и	4-е	5-е	6-е	7-е
51	8,51	8,29	9,08	1,89	1,76
25	3,69	2,59	2,59	2,13	2,72
59	1,79	2,04	3,06	1,98	2,83
15	1,0	1,0	1,0	1,0	2,13
37	рн	8,48	3,63	2,36	2,25
49	рн	3,53	2,07	1,78	1,85
45	2,01	1,43	1,17	1,23	1,27
19	14,54	4,46	1,38	1,32	1,01
32	4,86	3,23	2,26	2,39	2,30
46	5,25	2,94	1,61	1,58	1,87
29	2,82	2,20	2,45	2,14	2,07
3	4,11	2,72	2,50	2,50	2,26
63	2,83	2,91	2,83	2,82	2,49
18	рн	рн	6,17	4,11	3,18

Появление при культивировании на различных субстратах зон лизиса свидетельствует о секреции микроорганизмами ферментов, гидролизующих соответствующие субстраты [13]. Все исследованные грибы образовывали зоны лизиса на различных этапах культивирования (табл. 1), что позволяло рассчитать индексы лизиса для каждой культуры (табл. 3). Индекс лизиса определяется соотношением площади колонии и площади зоны лизиса и характеризует удельную протеолитическую активность культуры, так как площадь колонии пропорциональна ее биомассе, а площадь зоны лизиса – активности секретируемых гидролаз.

Из трех изученных видов рода *Aspergillus* наибольшие индексы лизиса зафиксированы для *A. niger* F51 на 3–5-е сутки культивирования, затем они резко снижались, что, по-видимому, связано с преобладанием процесса роста колоний над скоростью секреции протеиназ. Изменения в процессе культивирования индексов лизиса у двух других аспергилл были менее значительны и колебались в диапазоне от 3,5 до 2,0. Изученный штамм *M. implicata* F15 характеризовался низкими индексами лизиса.

Характерной особенностью почти всех представителей рода *Penicillium* является то, что максимальные индексы лизиса отмечены в самом начале роста колоний, затем они постепенно сни-

жались. Возможно, обнаруженный факт свидетельствует об интенсивной секреции протеиназ на начальных этапах культивирования, необходимой для адаптации культуры к трудно утилизируемому субстрату. Только у *P. martensii* F63 зафиксированы практически не изменяющиеся во время культивирования индексы лизиса. Следует отметить достаточно высокий индекс лизиса у микромицета *P. purpureascens*, для которого зафиксированы низкие скорости роста (табл. 2, рис. 2). Полученные результаты также позволяют рассматривать и эту культуру в качестве потенциального продуцента коллагенолитических ферментов.

**Рис. 3.** Средние индексы лизиса микромицетов на среде с заменой сахарозы на коллаген

При анализе средних индексов лизиса микромицетов за все время культивирования (рис. 3) следует отметить относительно большой диапазон изменения указанного показателя: от 5,91 у *A. niger* F51 до 1,23 у *M. implicata* F15. Два других вида, относящихся к роду *Aspergillus*, имели более низкие индексы лизиса, однако они были все-таки больше 2. Для представителей рода *Penicillium* трех штаммов зафиксированы индексы лизиса выше 4, у шести – выше 2 и только у одного штамма *P. camamberti* F45 указанный показатель равнялся 1,42. Необходимо отметить, что индексы лизиса у двух штаммов *P. brevicompactum* F7 и F49 различались в 1,8 раза, что подчеркивает важность учета не только видовых, но и штаммовых различий гидролитической активности микромицетов.

При проведении скрининговых исследований музейных культур основной целью является отбор перспективных штаммов-продуцентов для дальнейшего углубленного изучения коллагенолитического потенциала микроорганизмов. При этом важными показателями для отбора являются скорость роста, которая определяет количество биомассы, и индекс лизиса – показатель гидролитической активности. Проведенный регрессионный и корреляционный анализ фиксирует отрицательную корреляцию между скоростью роста и индексом лизиса при культивировании грибов на средах с коллагеном (рис. 4).

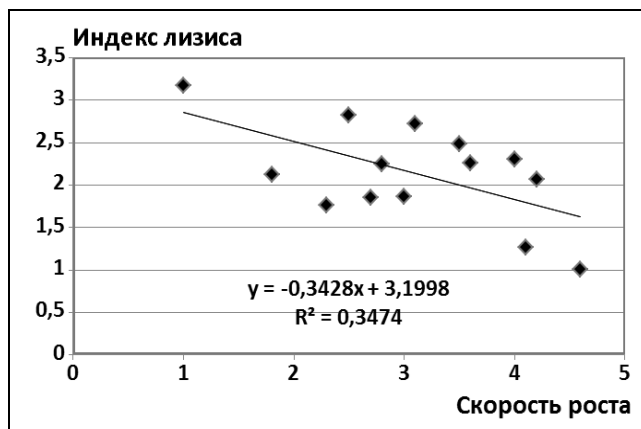


Рис. 4. Линия и уравнение линейной регрессии, показывающая соотношение между средней скоростью роста и индексом лизиса микромицетов (R^2 – коэффициент детерминации)

Коэффициент корреляции $r = -0,589$, значимость коэффициента корреляции $tp = 2,527 \geq t_{kp} = 2,145$ при уровне значимости 0,05, т.е. полученный коэффициент корреляции статистически

значим [19]. В связи с этим при выборе потенциальных продуцентов гидролаз целесообразно исключить штаммы с наименьшими и наибольшими индексами лизиса и скоростями роста.

В результате для дальнейших исследований выбраны шесть штаммов с индексами лизиса от 1,8 до 2,5 и скоростью роста от 2,3 до 3,6: *A. niger* F51, *P. brevicompactum* F37, 49, *P. crustosum* F46, *P. malinovobranova* F3, *P. martensii* F63.

ВЫВОДЫ

1. Все изученные микроорганизмы обладали способностью к росту на средах с заменой сахарозы на коллаген.
2. Обнаружены существенные видовые и штаммовые различия скоростей роста и гидролитической активности микромицетов при культивировании на модифицированной среде.
3. На основании проведенного регрессионного и корреляционного анализа отобраны шесть штаммов, перспективных для дальнейшего изучения в качестве продуцентов коллагеназ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Демина Н.С. Коллагенолитические ферменты синтезируемые микроорганизмами. Микробиология. 1996; 65(3): 293–304.
2. Применение коллагеназы в хирургическом лечении ретинальной отслойки сетчатки, осложненной пролиферативной витреоретинопатией. Автореф. ... канд. мед. наук, М. 2017. 21 с.
3. Мацелюх О.В., Варбанець Л.Д. Коллагенолітичні ферменти мікроорганізмів. Біотехнологія. 2008; 1(3): 13–23.
4. Можина Н.В., Руденская Г.Н. Коллагенолитический фермент патогенных микроорганизмов. Биомедицинская химия. 2004; 50(6): 539–553.
5. Иванкова Ю.О., Степанова Э.Ф. Разработка мази репаративного действия с коллагеназой камчатского краба. Успехи современного естествознания. 2014; 8: 161–162.
6. Бондарев С.В. Применение препаратов коллагеназы для лечения ран и рубцов кожи. Автореф. ... канд. мед. наук. СПб. 2008. 21 с.
7. Демина Н.С., Лысенко С.В., Кудряшов В.В., Семенов М.П., Блатун Л.А. Фармацевтическая композиция на основе коллагеназы микробного происхождения. Патент RU 2166950C1. 20.05. 2001. 12 с.
8. Демина Н.С. Субстанция для дерматологических лекарственных средств на основе коллагеназы микробного происхождения «ультрализин». Патент WO 2009/002209 A1. 31.12.2008. 9 с.
9. Колпакова, Е.Г. Получение очищенной коллагеназы *Clostridium histolyticum* и разработка мазей на ее основе. Автореф. ... дисс. канд. биол. наук. Пермь. 2001. 16 с.
10. Иванкова Ю.О., Абисалова И.Л., Локарев А.В. Морфологическая оценка эффективности мазей, содержащих фермент коллагеназу, на термический ожог в эксперименте. Фундаментальные исследования. 2012; 8(ч. 2): 466–469.
11. Кокорина В.Э., Обыденников Г.Т., Красников Ю.А. Применение коллагеназы КК для профилактики посттра-

- нимационных стенозов гортани и трахеи. Pacific Medical Journal. 2004; 1: 61–63.
12. Антипова Л.В., Подвигина Ю.Н., Косенко И.С. Применение ферментных препаратов в технологии производства мясных изделий. Современные проблемы науки и образования. 2008; 6: 134–135.
 13. Литвинова Е.В. Композит на основе биомодифицированного коллагенсодержащего сырья и растительных компонентов: получение, свойства использование в технологии мясных продуктов. Автореф. ... дисс. канд. техн. наук. М. 2015. 26 с.
 14. Шадрин Е.В., Максимова С.Н., Панчишина Е.М., Богданов В.Д., Тунгусов Н.Г. Обоснование условий биомодификации морских звезд при получении кормовой добавки. Известия ТИПРО. 2016; 187: 261–266.
 15. Омаров Р.С., Антипова Л.В., Шлыков С.Н. Получение сухой белковой композиции на основе модифицированной плазмы крови. Вестник КрасГАУ. 2019; 1: 149–156.
 16. Нуштаева А.А. Культуры онкотрансформированных клеток молочной железы и эндометрия для изучения опухолевой прогрессии и разработки терапевтических подходов. Автореф. ... дисс. канд. биол. наук. Новосибирск. 2019. 22 с.
 17. Конон А.Д., Петровский С.В., Шамбура М.Ю., Уварова А.В., Козлова Ю.О., Григорьева М.В., Москвичев Б.В. Особенности биотехнологий клостридиальных коллагеназ – перспективных ферментов медицинского назначения. Медицина экстремальных ситуаций. 2016; 2: 45–57.
 18. Махова А.А., Минаев М.Ю., Куликовский А.В., Вострикова Н.Л. Изучение ферментативной активности рекомбинантной металлопептидазы, предназначенной для применения в мясной промышленности. Вопросы питания. 2019; 88(4): 95–104.
 19. Ивченко Г.И., Медведев Ю.И. Математическая статистика: Учебник М.: Книжный дом «ЛИБРОКОМ». 2014. 352 с.

Поступила 27 апреля 2020 г.

MICROMYCETES COLLECTION STRAINS STUDY FOR SEARCH CULTURES WITH COLLAGENOLYTIC ACTIVITY

© Authors, 2020

Z.K. Nikitina

Dr.Sc. (Biol), Professor, All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (Moscow)

E-mail: nikitinaz@yandex.ru

I.K. Gordonova

Ph.D. (Biol), Leading Research Scientist, All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (Moscow)

E-mail: gordonova777@yandex.ru

E.M. Nasibov

Graduate student, All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (Moscow)

Relevance. The collagenase producers search is of great interest for various areas of human activity. The study of various enzymes synthesized by microorganisms and the possibility of their practical application is one of the most relevant areas of biotechnology. These biologically active compounds are widely used in a number of the national economy sectors, in medical practice and also in research purposes. These enzymes include collagenases, which are the part of medicines used to remove scars, keloids and in the treatment of burns and ulcers. However, in domestic medical practice, mainly imported drugs are used for these purposes.

Objective. The work is devoted to the search of these enzymes producers among the collection strains of mycelial fungi of All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants.

Material and methods. It was conducted with using of surface cultivation on media with the replacement of sucrose on collagen. It is known that the growth of microorganisms on substrates containing insoluble proteins as the only source of carbon allows us to estimate their potential proteolytic activity. The appearance of protein lysis zones around colonies is an indicator of enzyme secretion into the environment.

Results. The article shows that all studied mycelial fungi grew well on media with the replacement of easily metabolized carbohydrate on the collagen. During surface cultivation micromycetes formed lysis zones which indicates the synthesis and secretion of hydrolases into environment.

Conclusion. In the result of a detailed study of 14 fungal strains, as well as regression and correlation analysis, 6 micromycetes promising for study as collagenase producers were selected.

Key words: micromycetes, collagen, collagenases.

For citation: Nikitina Z.K., Gordonova I.K., Nasibov E.M. Micromycetes collection strains study for search cultures with collagenolytic activity. Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2020; 23(7): 22–29. <https://doi.org/10.29296/25877313-2020-07-04>

REFERENCES

1. Demina N.S. Kollagenoliticheskie fermenty sinteziruemye mikroorganizmami. Mikrobiologija. 1996; 65(3): 293–304.
2. Primenenie kollagenazy v hirurgicheskom lechenii regmatogennoj otslojki setchatki, oslozhnennoj proliferativnoj vitreoretinopatij. Avtoref. ... kand. med. nauk, M. 2017. 21 s.
3. Maceljuh O.V., Varbanec L.D. Kollagenolitichni fermenti mikroorganizmiv. Biotehnologija. 2008; 1(3): 13–23.
4. Mozhina N.V., Rudenskaja G.N. Kollagenoliticheski ferment patogennyh mikroorganizmov. Biomedicinskaja himija. 2004; 50(6): 539–553.
5. Ivankova Ju.O., Stepanova Je.F. Razrabotka mazi reparativnogo dejstvija s kollagenazoj kamchatskogo kraba. Uspehi sovremennogo estestvoznanija. 2014; 8: 161–162.

6. Bondarev S.V. Primenenie preparatov kollagenazy dlja lechenija ran i rubcov kozhi. Avtoref. ... kand. med. nauk. SPb. 2008. 21 s.
7. Demina N.S., Lysenko S.V., Kudrjashov V.V., Semenov M.P., Blatun L.A. Farmaceuticheskaja kompozicija na osnove kollagenazy mikrobnogo proishozhdenija. Patent RU 2166950C1. 20.05. 2001. 12 s.
8. Demina N.S. Substancija dlja dermatologicheskikh lekarstvennyh sredstv na osnove kollagenazy mikrobnogo proishozhdenija «ul'tralizin». Patent WO 2009/002209 A1. 31.12.2008. 9 s.
9. Kolpakova, E.G. Poluchenie ochishhennoj kollagenazy Clostridium histolyticum i razrabotka mazej na ee osnove. Avtoref. ... diss. kand. biol. nauk. Perm'. 2001. 16 s.
10. Ivankova Ju.O., Abisalova I.L., Lokarev A.V. Morfologicheskaja ocenka jeffektivnosti mazej, sodержashhих ferment kollagenazu, na termicheskij ozhog v jeksperimente. Fundamental'nye issledovanija. 2012; 8(ch. 2): 466–469.
11. Kokorina V.Je., Obydennikov G.T., Krasnikov Ju.A. Primenenie kollagenazy KK dlja profilaktiki postreanimacionnyh stenozov gortani i trahei. Pacific Medical Journal. 2004; 1: 61–63.
12. Antipova L.V., Podvigina Ju.N., Kosenko I.S. Primenenie fermentnyh preparatov v tehnologii proizvodstva mjasnyh izdelij. Sovremennye problemy nauki i obrazovanija. 2008; 6: 134–135.
13. Litvinova E.V. Kompozit na osnove biomodificirovannogo kollagensoderzhashhego syr'ja i rastitel'nyh komponentov: poluchenie, svojstva ispol'zovanie v tehnologii mjasnyh produktov. Avtoref. ... diss. kand. tehn. nauk. M. 2015. 26 s.
14. Shadrina E.V., Maksimova S.N., Panchishina E.M., Bogdanov V.D., Tungusov N.G. Obosnovanie uslovij biomodifikacii morskikh zvezd pri poluchenii kormovoj dobavki. Izvestija TINRO. 2016; 187: 261–266.
15. Omarov R.S., Antipova L.V., Shlykov S.N. Poluchenie suhoj belkovoј kompozicii na osnove modifirovannoj plazmy krovi. Vestnik KrasGAU. 2019; 1: 149–156.
16. Nushtaeva A.A. Kul'tury onkotransformirovannyh kletok molochnoj zhelezy i jendometrija dlja izuchenija opuholevoj progressii i razrabotki terapevticheskikh podhodov. Avtoref. ... diss. kand. biol. nauk. Novosibirsk. 2019. 22 s.
17. Konon A.D., Petrovskij S.V., Shamburova M.Ju., Uvarova A.V., Kozlova Ju.O., Grigor'eva M.V., Moskvichev B.V. Osobennosti biotehnologij klostridial'nyh kollagenaz – perspektivnyh fermentov medicinskogo naznachenija. Medicina jekstremal'nyh situacij. 2016; 2: 45–57.
18. Mahova A.A., Minaev M.Ju., Kulikovskij A.V., Vostrikova N.L. Izuchenie fermentativnoj aktivnosti rekombinantnoj metallopeptidazy, prednaznachenoj dlja primeneniya v mjasnoj promyshlennosti. Voprosy pitaniya. 2019; 88(4): 95–104.
19. Ivchenko G.I., Medvedev Ju.I. Matematicheskaja statistika: Uchebnik M.: Knizhnyj dom «LIBROKOM». 2014. 352 s.

Читайте в следующих номерах

***Чупров А.Д., Треушников В.М., Нотова С.В., Ким С.М.,
Маршинская О.В., Казакова Т.В.***

УРОВЕНЬ СТЕАРИЛ-КОЭНЗИМ-А-ДЕСАТУРАЗЫ В ХРУСТАЛИКАХ ГЛАЗ КРЫС ПРИ ПРОГРЕССИРОВАНИИ КАТАРАКТЫ

Малыгин А.С., Попов Н.С., Демидова М.А., Шатохина Н.А.

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ ВЭЖХ-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО ВАЛЬПРОЕВОЙ КИСЛОТЫ И 1,3,4-ТИАДИАЗОЛА В ПЛАЗМЕ КРОВИ КРОЛИКОВ ДЛЯ ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Колясникова К.Н., Аляева А.Г., Воронцова О.Н., Гудашева Т.А.

ИЗУЧЕНИЕ ВОВЛЕЧЕННОСТИ АМРА-РЕЦЕПТОРОВ В АНТИГИПОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ НЕЙРОПЕПТИДА ЦИКЛО-ПРОЛИЛГЛИЦИНА