

## Молекулярно-биологическая и биохимическая характеристика внеклеточных протеаз термофильных бактериальных штаммов

© Романова<sup>+</sup> Мария Васильевна, Кузнецов Александр Евгеньевич  
и Белодед\* Андрей Васильевич

Кафедра биотехнологии. РХТУ им. Д.И. Менделеева. ул. Героев Панфиловцев, 20.  
г. Москва, 123480. Россия. Тел.: +7 (495) 495-23-79. E-mail: romanovamariav@gmail.com

\*Ведущий направление; <sup>+</sup>Поддерживающий переписку

**Ключевые слова:** термофильные бактерии, *Bacillus*, протеолитические ферменты, полимеразная цепная реакция в реальном времени, зимография, сериновые протеазы, металлопротеазы.

### Аннотация

Использование индивидуальных и комплексных ферментных препаратов, в том числе протеолитического действия, является одной из важнейших составляющих промышленных технологий, молекулярно-биологических исследований, медицинской диагностики и терапии. В качестве источников ферментов особое внимание привлекают микроорганизмы, поскольку они отличаются большим разнообразием, простой культивирования и восприимчивостью к генетическим модификациям по сравнению с источниками растительного и животного происхождения. Ферменты, выделенные из термофильных бактерий, характеризуются подходящим набором технологических свойств, таких как термостабильность, устойчивость к действию химических агентов и экстремальных значений pH. Например, бациллярные протеазы обладают высокой эффективностью и широкой субстратной специфичностью и успешно используются в производстве моющих средств, фармацевтической, пищевой и кормовой промышленности. В данной работе было проведено исследование профиля секретируемых протеаз штаммов термофильных бактерий, а также поиск у штаммов генов, ответственных за синтез внеклеточных протеолитических ферментов. Было установлено, что термофильные штаммы Кб.1.Гл.8, Кб.12.С.33 и Кб.12.Гл.35, предварительно идентифицированные как бактерии рода *Bacillus*, секретируют широкий спектр протеаз с массами от 15 до 63 кДа, среди которых обнаружены ферменты, способные с разной эффективностью гидролизовать желатин, казеин и гемоглобин. В ходе ингибиторного анализа у изучаемых штаммов были выявлены сериновые протеазы диапазона масс 33.5-57.0 кДа и металлопротеаза массой 28,2 кДа. При помощи ПЦР в реальном времени был проведен генетический скрининг термофильных штаммов Кб.1.Гл.8, Кб.12.С.33 и Кб.12.Гл.35 на наличие генов, кодирующих внеклеточные протеолитические ферменты, в результате которого у культур были обнаружены гены *bpr*, *aprE*, *mpr* и *nprB*, определяющие продукцию бациллопептидазы F, субтилизина E, глутамилспецифичной эндопептидазы и нейтральной цинкзависимой протеазы, которые широко распространены у бактерий *Bacillus subtilis* и родственных видов.