

ЧОРНІ ДРІЖДЖОПОДІБНІ ГРИБИ ЯК ПОТУЖНІ ДЖЕРЕЛА БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ СПЛУК, ПЕРСПЕКТИВНИХ ДЛЯ ВИКОРИСТАННЯ В МЕДИЦИНІ ТА БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ГАЛУЗЯХ

Кондратюк Т.О., Берегова Т.В.
Київський національний університет імені Тараса Шевченка,
ННЦ «Інститут біології та медицини»

Вектор розвитку сучасної біотехнології спрямований на використання потенціалу різних мікроорганізмів для отримання біологічно активних сплук (БАС). Виробництво пігментів мікроорганізмів є однією із нових галузей досліджень та привертає увагу як екологічно безпечна та економічна альтернатива хімічному виробництву.

Відомо, що пігментам меланінам притаманний широкий спектр біологічної дії: антиоксидантний, цитопротекторний, фото- і радіопротекторний тощо, вони можуть використовуватися як сорбенти низки радіонуклідів та важких металів. Показано, що грибні меланіни проявляють потужний антибактеріальний вплив на грамнегативні бактерії *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Vibrio parahaemolyticus* та грампозитивні бактерії *Listeria monocytogenes*, *Bacillus megaterium*, *Staphylococcus aureus*. Це дозволило авторам Xu C. et al. [11] дійти висновку, що досліджений ними грибний меланін може застосовуватися як потенційний природний бактериостатичний агент в харчовій та фармацевтичній галузях. В роботі Manivasagan et al. [7] запропоновано використовувати природний меланін в якості нового наноносія для доставки ліків (при рН-залежному вивільненні лікарського препарату).

Цінним джерелом пігментів, зокрема меланіну, є мікроскопічні гриби [2, 4, 9], які мають, зокрема, низку переваг над рослинами та тваринами (з яких отримують пігменти), оскільки розвиток мікроміцетів-продуцентів не залежить від сезонних обмежень, вони не конкурують за місцезростання з іншими організмами та можуть активно розвиватися в дешевому культуральному середовищі, паралельно синтезуючи пігменти у необхідній (високій) кількості. Це робить такий біопроект економічно вигідним в промисловому масштабі [2, 3, 6]. Серед грибів, здатних до синтезу меланіну, особливе місце посідають чорні дріжджоподібні гриби (ЧДГ), перспективні для використання в медичній галузі [8].

О'єктом наших багатопланових і багаторічних досліджень є ЧДГ *Pseudonadsoniella brunnea* Т.О.Кондратюк et S.У. Кондр. (Basidiomycota, Agaricomycotina, Agaricomycetes, Polyporales, Meripilaceae). *P. brunnea* FCKU зберігається в Колекції мікроскопічних грибів ННЦ "Інститут біології та медицини" Київського національного університету імені Тараса Шевченка (міжнародний акронім колекції FCKU). Як продуцент меланіну штам *P. brunnea* зареєстрований у Депозитарії Державного науково-контрольного Інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів під № 607. Принциповою відмінністю *P. brunnea* є виділення пігменту в культуральне середовище, що значно полегшує процес його виділення. Попередні дослідження, проведені щодо з'ясування властивостей меланіну, продуцентом якого є *P. brunnea*, вказують та доводять його антиоксидантну, стрес-адаптогенну, дерматотропну, ранозагоювальну, антибактеріальну, антифітопатогенну дію тощо [5, 10].

Необхідно також підкреслити, що ЧДГ *P. brunnea* використовуються

в якості продуценту для отримання меланіну як субстанції для ветеринарного препарату «Мелавіт», який застосовується як профілактичний, імуномодулюючий, лікувальний засіб. В Україні аналогічних розробок немає. Запровадження лікарських та ветеринарних препаратів (профілактичного, імуномодулюючого, лікувального спрямування) на основі меланіну – це створення умов для забезпечення здоров'я людей та тварин.

Аналіз літературних даних свідчить, що не існує стандартних методів культивування мікроскопічних грибів, які синтезують меланін. На синтез цього пігменту грибами впливають, як таксономічна приналежність продуцента, так і склад живильних середовищ та умови культивування. Головним спрямуванням досліджень з визначення оптимальних параметрів для збільшення виходу меланіну є подальше великомасштабне виробництво даного пігменту для застосування в медицині, різних біотехнологічних галузях тощо. Отже, проведення досліджень з визначення оптимальних умов культивування ЧДГ *P. brunnea* та інтенсифікації процесу отримання меланіну як субстанції для різних препаратів є актуальними питаннями.

Нами визначено оптимальні умови синтезу меланіну штамом *P. brunnea* 470 FCKU в залежності від кількості L-тирозину та вмісту джерела вуглецю (редукуючих цукрів) в культуральному середовищі. В дослідженнях використовували стандартне рідке живильне середовище Malt extract broth (МЕВ, виробництва HiMedia Laboratories, Індія та Conda, Іспанія) та рідке живильне середовище, основною складовою якого є ячмінно-солодовий екстракт (ЯСЕ №3 виробництва "Крохмалепродукти України"). Концентрацію джерела вуглецю (вуглеводів) в розчині ячмінно-солодового екстракту встановлювали на рівні 2,0; 4,0; 6,0 та 8,0% за ареометром-цукрометром АСТ-2. З урахуванням даних щодо слабкої розчинності L-тирозину (0,05г тирозину/100г розчину за температури +25°C) в культуральні середовища L-Тирозин додавали в кількості 0,01, 0,025 та 0,05%. З метою отримання меланіну культивування *P. brunnea* здійснюється глибинним способом за чіткого контролю рН=1-1,5. Таке значення рН є оптимальним для отримання кінцевого продукту. Виділення меланіну із культурального середовища *P. brunnea* здійснювали відповідно Регламенту «Отримання меланіну з антарктичних чорних дріжджоподібних грибів *P. brunnea* на основі ТУ У 15.9-30034243-004:2005 із змінами назви штаму, доповненнями та змінами в пп. 2.2.1, 2.2.3, 5.9.3».

В результаті проведених досліджень нами встановлено, що кількість синтезованого меланіну штамом *P. brunnea* 470 FCKU залежить від кількості внесеного в культуральне середовище L-тирозину та кількості джерела вуглецю. Оптимальними визнані середовища із вмістом 0,05% L-тирозину та 2,4-2,52% редукуючих цукрів. Нами показано, що культивування штаму *P. brunnea* 470 FCKU за низьких показників рН (1-1,5), низького вмісту джерела вуглецю в живильному середовищі із додаванням 0,05% L-Тирозину призводить до реалізації захисної функції штаму *P. brunnea*, яка проявляється шляхом виділення меланіну в культуральне середовище [1].

Методичні підходи, що застосовуються нами для отримання меланіну з культурального середовища *P. brunnea*, виключають використання високих температур, тиску (автоклавування), застосування етилового спирту, атмосфери азоту, механічних втручань тощо, що унеможливорює негативний вплив на структуру меланіну, значно спрощує і полегшує процес виділення цього біополімеру та дозволяє в результаті отримати висо-

коякісний продукт, який є перспективною субстанцією для ряду лікарських препаратів з численними позитивними властивостями та робить його перспективним для широкого застосування в фармацевтичній галузі.

Література

1. Кондратюк Т.О. Залежність синтезу меланіну чорними дріжджами *Pseudonadsoniella brunnea* від кількості джерела вуглецю в культуральному середовищі / Т.О. Кондратюк, Т.В. Берегова, Т.В. Акуленко, В.В. Верещака // *ScienceRise: Biological Science*. – 2019. – №3 (18). – С. 4-8, 38-40.
2. Akilandeswari P. Exploration of industrially important pigments from soil fungi / P. Akilandeswari, B.V. Pradeep // *Appl Microbiol Biotechnol*. – 2016. – 100 (4) – P. 1631-643.
3. Dufossé L. Filamentous fungi are largescale producers of pigments and colorants for the food industry / L. Dufossé, M. Fouillaud, Y. Caro, SAS. Mapari, N. Sutthiwong // *Curr Opin Biotechnol*. – 2014. – 26. – P. 56-61.
4. Eisenman H.C. Synthesis and assembly of fungal melanin // H.C. Eisenman, A. Casadevall // *Appl. Microbiol. Biotechnol*. – 2012. – 93(3). – P. 931-940.
5. Kondratiuk T. Antibacterial and antifungal influence of a melanin producer *Pseudonadsoniella brunnea* culture fluid / T. Kondratiuk, T. Beregova, L. Ostapchenko // *Antimicrobial activity of natural substances. First Edition* / Eds. Tomasz M. Karpiński, Artur Adamczak. – Publisher Joanna Bródka JB Books. – Poznań, Poland. – 2017. – P. 2-19.
6. Kumar A. Microbial pigments: Production and their applications in various industries / A. Kumar, HS. Vishwakarma, J. Singh, M. Kumar // *Int J Pharm Chem Biol Sci*. – 2015. – 5 (1) – P. 203-212.
7. Manivasagan Panchanathan Isolation and Characterization of Biologically Active Melanin From *Actinoalloteichus* Sp. MA-32 /Panchanathan Manivasagan , Jayachandran Venkatesan, Kalimuthu Senthilkumar, Kannan Sivakumar, Se-Kwon Kim // *Int. J. Biol. Macromol*. – 2013. – 58. – P. 263-74.
8. Plonka P. Melanin synthesis in microorganisms – Biotechnological and medical aspects /P. Plonka, M. Grabacka // *Acta biochimica Polonica*. – 2006. – 53(3). – P. 429-443.
9. Souza P.N. Production and chemical characterization of pigments in filamentous fungi / P.N. Souza, T.L. Grigoletto, L.A. de Moraes L.M., L.H. Abreu Guimarães, C. Santos, L.R. Galvão, P.G. Cardoso // *Microbiology*. – 2016. – 162 (1). – P. 12-22.
10. Taburets O.V. The Effect of "Melanin-Gel" on the Wound Healing / O.V. Taburets, O.O. Morgaienko, T.O. Kondratyuk, T.V. Beregova, L.I. Ostapchenko // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences (RJPBCS)*. – 2016. – 7 (3). – P. 2031-2038.
11. Xu Can Antibacterial activity and a membrane damage mechanism of *Lachnum* YM30 melanin against *Vibrio parahaemolyticus* and *Staphylococcus aureus* / Xu Can, Li Jinglei, Yang Liuqing, Fang Shi, Yang Liu, Ye Ming // *Food Control*. – 2017. – Vol. 73, Part B. – P. 1445-1451.