

БИОТЕХНОЛОГИЯ ОБРАЗОВАНИЯ ПОЛИСАХАРИДОВ ЛЕКАРСТВЕННЫМИ ГРИБАМИ

Пучкова Т.А., Бабицкая В.Г., Щерба В.В., Смирнов Д.А.

Институт микробиологии НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь, micomp@mbio.bas-net.by

Интенсивное изучение химических и фармакологических свойств полисахаридов в настоящее время обусловлено перспективностью их использования в качестве лекарственных средств. Наиболее широко в медицине применяются полисахариды бактерий и дрожжей. В то же время, высшие базидиальные грибы не получили широкого распространения как продуценты этих соединений, хотя полисахариды некоторых из них обладают иммуностимулирующей и противоопухолевой активностями, низкой токсичностью и используются в странах Юго-Восточной Азии при лечении некоторых онкологических и хронических инфекционных заболеваний, при иммунодефицитах. На основе полисахаридов грибов в Японии выпускается ряд лекарственных препаратов: лентинан, получаемый из плодовых тел *Lentinus edodes*, шизофиллан из *Schizophyllum commune*, PSK и PSP из *Coriolus versicolor*, ганодеран из *Ganoderma lucidum* [1]. Большинство иммуномодулирующих и противоопухолевых полисахаридов являются глюканами, имеющими β -(1 \rightarrow 3)-гликозидные связи в главной цепи и β -(1 \rightarrow 6) – в ответвлениях, или гликопротеиновыми комплексами. Имеются данные о зависимости их иммуностимулирующей активности от природы химической связи, молекулярной массы и конформационных особенностей. Поскольку процесс получения плодовых тел довольно длительный и трудоёмкий, содержание полисахаридов в них относительно невысокое (3,5-4,0% от сухих веществ у *G. lucidum* и 2,5-3,0% – у *L. edodes*), особый интерес вызывает получение полисахаридов из мицелия, выращенного методом погружённого культивирования на подобранных жидких питательных средах и культурального фильтрата, а также изучение их физико-химических свойств.

В работе использовались грибы *G. lucidum*, *L. edodes* и *Crinipellis schevczenkovi*. Глубинный мицелий грибов выращивали на глюкозо-пептонной и модифицированной глюкозо-пептонной средах в колбах Эрленмейера на качалке (180 об/мин) и в лабораторных ферментерах АК-10. Температура культивирования - 15-35⁰ С, время – 4-7 суток. Внутриклеточные полисахариды определяли по [2], внеклеточные выделяли из культуральной жидкости по [3].

Изучение влияния компонентов питательной среды показало, что лучшими для роста и образования полисахаридов грибами *G. lucidum*, *L. edodes* и *C. schevczenkovi* оказались глюкоза, лактоза и крахмал, из источников азота, которые вносили в среду на фоне 0,2% кукурузного экстракта, – пептон и сульфат аммония. Выход полисахаридов увеличивался с повышением содержания в среде источника углерода. Значительно увеличивалось и количество биомассы. Однако максимальное значение эффективности биосинтеза, рассчитанное как отношение массы полученных полисахаридов к массе внесённого источника углерода, получено при выращивании грибов в средах с 30 г/л глюкозы или лактозы. Увеличение концентрации источника углерода с 30 до 50 г/л не приводило к существенному повышению уровня как экзо-, так и эндополисахаридов. Более того, в некоторых случаях их выход даже уменьшался. Наибольший выход эндополисахаридов получен при соотношении С:N, близком к 18, экзополисахаридов – к 25. Экономический коэффициент использования источника углерода на биосинтез экзополисахаридов составил 26,3-45,0%, эндополисахаридов – 7,0-12,0%. Проведенные

исследования позволили оптимизировать составы питательных сред для роста грибов и активного образования ими полисахаридов.

Оптимальной для роста и образования эндополисахаридов *G. lucidum* оказалась температура 27-30⁰ С, *C. schevczenkovi* - 30⁰ С и *L. edodes* - 25⁰ С. Синтез экзополисахаридов происходит при более широком диапазоне температур. Как показали исследования, грибы могут расти при начальных значениях рН среды от 3,0 до 7,5 и выше. Лучшим для накопления биомассы и образования полисахаридов являлся исходный рН среды 5,5-6,0 для *G. lucidum*, 6,0-6,5 – для *C. schevczenkovi*, 5,0-6,0 – для *L. edodes*. На процесс погружённого культивирования базидиальных грибов большое влияние оказывали условия аэрации. Наибольший выход мицелия достигается при более высокой, полисахаридов – при более низкой аэрации. Оптимальное соотношение между ростом грибов, образованием полисахаридов и технологическими параметрами стадии выделения конечного продукта достигается при аэрации 1,0-1,5 л/л среды/мин и перемешивании 100 об/мин.

Таким образом, оптимизация питательных сред и подбор условий культивирования позволили увеличить выход биомассы в 1,4-1,8 раз, повысить синтез экзополисахаридов в 1,7-2,8 раз, эндополисахаридов – в 1,4-2,1 раза (таблица).

Таблица

Увеличение образования биомассы и полисахаридов за счёт оптимизации питательной среды и подбора условий культивирования

Гриб	Биомасса, г/л		Эндополисахариды, %		Экзополисахариды, г/л	
	1*	2*	1*	2*	1*	2*
<i>G. lucidum</i>	7,3	10,5	7,3	12,6	2,2	6,2
<i>L. edodes</i>	7,9	12,0	3,2	6,9	2,8	4,8
<i>C. schevczenkovi</i>	9,9	18,5	5,8	8,1	2,4	4,6

Примечания: 1* – на стандартной глюкозо-пептонной среде

2* – на оптимизированной среде

Полученные на оптимизированных средах экзо- и эндополисахариды *G. lucidum*, *L. edodes* и *C. schevczenkovi* являются пептидогликанами, содержащими 1,2-8,2% белка. В их составе имеются низко- (10 кДа) и высокомолекулярные (200-500 кДа) фракции. Полисахариды являются разветвленными гликанами, содержащими α и β гликозидные связи. Основная цепь представлена глюканами с C₁→C₃, боковые цепи – гликанами с C₁→C₄ и C₁→C₆ гликозидными связями. По соотношению мономеров, конфигурации моносахаридов, молекулярной структуре и физико-химическим свойствам полисахариды глубинного мицелия и культуральной жидкости исследованных грибов аналогичны полисахаридам (β -(1→3)-D глюканам) плодовых тел (лентинан, ганодеран), составляющим основу ряда лекарственных средств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Mizuno T. The extraction and development of antitumor-active polysaccharides from medicinal mushrooms in Japan // Int. J. of Medicinal Mushrooms. - 1999. - Vol. 1. - P. 9-29.
2. Tang Y.J., Zhong J.J. Fed-batch fermentation of *Ganoderma lucidum* for hyperproduction of polysaccharide and ganoderic acid // Enzyme and Microbial Technology. – 2002. – Vol. 31. – P. 20-28.
3. Exopolysaccharides of some medicinal mushrooms: production and composition / V.G. Babitskaya, V.V. Scherba, N.Y. Mitropolskaya, N.A. Bisko // Int. J. of Medicinal Mushrooms. - 2000. - Vol. 2. - P. 51-54.