

АННОТАЦИЯ

диссертации на соискание ученой степени доктора философии (PhD) по образовательной программе 8D05105 – «Биотехнология»

Сандыбаева Сандуғаш Қалжанқызы

Выделение и скрининг потенциальных штаммов цианобактерий–продуцентов ценных пигментов для получения биологически активных добавок

Общая характеристика работы: Работа посвящена выделению и изучению активных штаммов цианобактерий–продуцентов ценных пигментов из различных термальных источников для получения биологически активных добавок.

Актуальность темы исследования:

Согласно последним данным Всемирной продовольственной программы, рекордное количество людей—349 миллионов в 79 странах—сталкиваются с острой нехваткой продовольствия. Их число продолжает увеличиваться настолько быстрыми темпами, что существующее финансирование вряд ли сможет удовлетворить их потребности. Это особенно актуально на фоне рекордного роста стоимости доставки продовольственной помощи, обусловленного удорожанием продуктов питания и топлива. Дополнительно усиливаются глобальные вызовы, включая энергетический кризис, проблемы продовольственной безопасности, рост заболеваемости, глобальное потепление и другие экологические факторы. Решение этих проблем требует подхода, который будет не только экономически жизнеспособным, но и устойчивым в долгосрочной перспективе.

В связи с этим пищевая индустрия сосредоточила усилия на разработке синтетических пищевых добавок, обусловленных их высокой стабильностью, яркими сенсорными характеристиками и относительно низкой себестоимостью. Однако растущая обеспокоенность потенциальным негативным воздействием синтетических компонентов на здоровье человека и окружающую среду, а также изменение потребительских предпочтений в сторону натуральных продуктов способствуют увеличению спроса на биологически безопасные и экологически чистые пищевые ингредиенты.

В данном контексте фототрофные микроорганизмы представляют значительный научный и биотехнологический интерес как источник коммерчески ценных биологически активных соединений. Они обладают исключительным биохимическим разнообразием, которое до настоящего времени остается недостаточно изученным. Клетки этих организмов содержат легкоусвояемые белки, липиды и полисахариды, уникальный комплекс биологически активных метаболитов, а также полиненасыщенные жирные кислоты (включая альфа- и гамма-линоленовую кислоты), каротиноиды, хлорофилл, фикоцианин, а также макро- и микроэлементы.

Особый интерес представляют цианобактерии—широко распространенные прокариоты, обитающие в различных экосистемах и обладающие высокой метаболической пластичностью. Они синтезируют

широкий спектр биологически активных соединений, обладающих антибактериальными, противогрибковыми, противовирусными и антиоксидантными свойствами, что делает их перспективными объектами для фармацевтической и сельскохозяйственной промышленности. В частности, особую ценность представляют природные пигменты, такие как хлорофиллы, каротиноиды (каротины и ксантофиллы) и фикобилипротеины (С-фикоцианин, аллофикоцианин и С-фикоэритрин). Эти соединения находят все большее применение в косметической, пищевой и текстильной промышленности благодаря их уникальным биохимическим свойствам и безопасному происхождению.

Хлорофилл является основным фотосинтетическим пигментом, ответственным за процесс кислородного фотосинтеза, и присутствует во всех фототрофных микроорганизмах. Каротиноиды могут выполнять как первичную, так и вторичную функцию, и их состав варьирует в зависимости от вида и условий культивирования. Среди коммерчески значимых каротиноидов наиболее известны астаксантин, лютеин и β -каротин. Фикобилипротеины, в свою очередь, являются уникальным классом светопоглощающих белков, встречающихся исключительно в цианобактериях и красных водорослях. Среди них наиболее изучены фикоцианин и фикоэритрин. Совокупность этих трех классов пигментов обеспечивает эффективное поглощение света цианобактериями в широком диапазоне видимого спектра. Благодаря своим физико-химическим свойствам и биологическим функциям, эти соединения представляют значительный интерес для биотехнологии.

Термофильные цианобактерии представляют научный интерес как аналог древних форм жизни на Земле и ценный источник термостабильных биомолекул. Их уникальные адаптации к экстремальным условиям, включая модифицированный липидный состав мембран с высоким содержанием насыщенных жирных кислот и выработку белков теплового шока, обеспечивают выживание при повышенных температурах и стабилизацию клеточных компонентов. Кроме того, термофильные цианобактерии обладают уникальными пигментными композициями, которые защищают их от интенсивного света и ультрафиолетового излучения, что делает их перспективными для применения в сельском хозяйстве, фармацевтике, нутрицевтике и биотопливной индустрии.

Однако, не все штаммы цианобактерий одинаково эффективны в производстве пигментов. Значительное влияние на их продуктивность оказывают условия культивирования. Следовательно, необходимо идентифицировать и отбирать потенциальные штаммы цианобактерий, которые являются эффективными производителями пигментов, а также оптимизировать условия их выращивания. Настоящее исследование направлено на расширение арсенала штаммов микроорганизмов, обладающих высоким потенциалом в пищевой промышленности и в производстве биологически активных добавок. Тема исследования актуальна, так как

решает важную научную и социальную проблему и способствует получению новых фундаментальных знаний, с последующим практически применением.

Цель исследования: Выделение и идентификация активных штаммов цианобактерий из термальных источников, изучение их морфолого-физиологических и биохимических свойств для получения ценных пигментов на основе их биомассы.

Задачи исследования:

1. Выделение и идентификация аксенических культур цианобактерий из термальных источников.
2. Скрининг активных штаммов цианобактерий по продуктивности их биомассы и накоплению биоактивных веществ в клетке.
3. Изучение пигментного состава клеток выделенных штаммов цианобактерий и совершенствование параметров их культивирования для увеличения их продуктивности и накопления пигментов.
4. Комплексная оценка биологической активности экстрактов, полученных из биомассы цианобактерий.
5. Разработка регламента получения активных пигментов на основе биомассы цианобактерий в лабораторных условиях.

Объекты исследования:

Объектами исследования являлись новые штаммы цианобактерий *Oscillatoria subbrevis* CZS 2201, *Phormidium ambiguum* CZS 2205, *Nostoc calcicola* TSZ 2203, *Trichormus variabilis* BK-1 и *Synechococcus* sp. CZS 2204, выделенные из термальных источников населенного пункта Чунджа Уйгурского района Алматинской области.

Методы исследования:

В работе использовались микробиологические, альгологические, биотехнологические, молекулярно-генетические, физическо-химические и статистические методы исследования.

Научная новизна исследования:

Впервые был изучен альгологический состав и разнообразие фототрофных микроорганизмов горячих источников Чунджа Уйгурского района Алматинской области. В результате выделено 8 аксенических культур цианобактерий и изучены их морфолого-культуральные свойства. Был проведен скрининг выделенных культур по продуктивности и накоплению биоактивных веществ (белки, липиды, жирные кислоты, и др.). Проведен качественный и количественный анализ пигментов в клетках отобранных активных штаммов *Oscillatoria subbrevis* CZS 2201, *Phormidium ambiguum* CZS 2205, *Nostoc calcicola* TSZ 2203 и *Synechococcus* sp. CZS 2204. На основе лабораторных исследований впервые был получен гликозилированный каротиноид – миксоксантофилл из биомассы цианобактерий *Oscillatoria subbrevis* 2201 с чистотой не менее 93%.

Был оценен иммуномодулирующий эффект экстрактов активных комплексов, полученных из клеток штаммов цианобактерий на рост и пролиферацию клеточных линии опухолей MiaPaCa2 (карцинома поджелудочной железы), HepG2 (карцинома печени) и K562 (миелолейкоз

человека), а также на пролиферацию и повышение роста иммунокомпетентных клеток костного мозга мышей в *in vitro* условиях.

Научная и практическая значимость работы:

Из термальных источников воды были выделены новые штаммы цианобактерий-продуценты пигментов *Oscillatoria subbrevis* CZS 2201, *Phormidium ambiguum* CZS 2205, *Nostoc calcicola* TSZ 2203 и *Synechococcus* sp CZS 2204, которые обладают уникальными биохимическими и физиологическими свойствами, и с высокой продуктивностью.

Выделенные штаммы цианобактерий были добавлены в коллекцию фототрофных микроорганизмов КазНУ имени аль-Фараби для дальнейшего использования в биотехнологии.

Все штаммы цианобактерий были депонированы в ТОО «Республиканская коллекция микроорганизмов» (PKM) при АО «Национальный холдинг «QazBioPharm» под номерами RKM1063, RKM1060, RKM1061 и RKM1062 от 19.10.2023г.

Получен патент на полезную модель «Штамм цианобактерии *Oscillatoria subbrevis* CZS 2201, используемый в качестве сырья для получения гликозилированного каротиноида – миксоксантофилла» № 9607 от 27.09.2024 г.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Из термальных источников Чунджа Уйгурского района Алматинской области выделены аксенические культуры цианобактерий, принадлежащие к родам *Oscillatoria*, *Phormidium*, *Nostoc*, *Anabaena*, *Synechocystis*, *Spirulina*, *Trichormus* и *Synechococcus*.

2. Проведена молекулярно-генетическая идентификация выделенных штаммов и подтверждена их таксономическая принадлежность как *Oscillatoria subbrevis* CZS 2201, *Phormidium ambiguum* CZS 2205, *Nostoc calcicola* TSZ 2203, *Trichormus variabilis* BK-1 и *Synechococcus* sp. CZS 2204. Последовательности их 16S рРНК генов внесены в международную базу данных NCBI с присвоением регистрационных номеров OQ627016, OQ646791, OQ627023, OL780782 и OQ627024, что подтверждает достоверность идентификации.

3. Штаммы *Oscillatoria subbrevis* CZS 2201 и *Phormidium ambiguum* CZS 2205 характеризуются максимальным накоплением сухой биомассы и общего белка, тогда как *Synechococcus* sp. CZS 2204 отличается высоким содержанием α-линоленовой кислоты, а *Nostoc calcicola* TSZ 2203 является наиболее продуктивным продуцентом эйкозапентаеновой кислоты.

4. Штамм *Oscillatoria subbrevis* CZS 2201 характеризуется максимальным содержанием хлорофилла а, общих каротиноидов, а также С-фикоцианина, С-аллофикоцианина и С-фикоэритрина среди исследованных образцов.

5. Экстракты активных комплексов, полученные из биомассы цианобактерий *Oscillatoria subbrevis* CZS 2201 и *Phormidium ambiguum* CZS 2205, обладают иммуномодулирующим эффектом, способствуя пролиферации иммунокомпетентных клеток и образованию новых колоний лимфоцитов костного мозга мышей.

6. Разработан лабораторный регламент получения гликозилированного каротиноида миксоксантофилла из биомассы *Oscillatoria subbrevis* CZS 2201.

Личный вклад автора

Анализ литературных данных, посвященных исследуемой проблеме, постановка цели и задач исследования, проведение экспериментальных исследований, анализ полученных результатов и статистическая обработка, изложение диссертационной работы выполнены автором самостоятельно.

Связь работы с планом государственных программ

Диссертационная работа выполнена в рамках проекта AP14870171 «Создание новых отечественных биопрепаратов на основе биологически активных веществ фототрофных микроорганизмов» (2022-2024 гг.).

Апробация научной работы:

Результаты исследования и основные положения диссертационной работы были изложены и обсуждены на следующих международных научных конференциях и симпозиумах:

1. Международная научно-практическая конференция «Aspects and innovations of environmental biotechnology and bioenergy», 12-13 февраля 2021 года, Алматы, Казахстан;

2. «5-й симпозиум по биоразнообразию Евразии (Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB-2021))» 1-3 июля 2021 года, Алматы, Казахстан, Мугла, Турция;

3. Международная научная конференция студентов и молодых ученых «Мир Фараби», 6-8 апреля 2022/2023 гг., Алматы, Казахстан;

4. Симпозиум по биоразнообразию Евроазиатского региона (Symposium on EuroAsian Biodiversity SEAB-2023), 6 - 8 сентября 2023 года, Баку, Азербайджан;

5. VII Международная научно-практической конференция «Абу Али Ибн Сино и инновации в современной фармацевтике», 16-18 марта 2024 года, Ташкент, Республика Узбекистан

6. Международная научная конференция Глобальная энергетическая встреча (Global Energy Meet), 4-8 марта 2024 года, Лос-Анджелес, Калифорния, США.

Основные результаты диссертации изложены в 19 опубликованных работах: из них 5 статьи в республиканских научных журналах из списка Комитета по контролю в сфере образования и науки РК, 2 научных статьи в журналах Q1 и 1 обзор в журнале Q2, рецензируемых в базах данных Web of Science и Scopus, а также 1 статья и 10 тезисов в материалах международных конференций.

Структура диссертации:

Диссертационная работа состоит из 117 страниц компьютерного текста, знаков и аббревиатур, введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов исследования и их обсуждения, заключения и 270 источников использованной литературы. Работа включает 6 таблицы, 31 рисунок и 2 приложений.