

УДК 577.151.45:582.284.3: 57.044:546.562:546.47:546.723:546.732:546.742

И.А. ИЛЮЧИК

старший преподаватель кафедры биохимии и биоинформатики¹

В.Н. НИКАНДРОВ, д-р биол. наук, профессор

профессор кафедры биотехнологии¹

А.Д. КУЛЬГАВЕНЯ

аспирант¹

М.В. ТОРЧИЛО

студент¹

Д.Д. БЕЛЕВИЧ

студент¹

¹Полесский государственный университет,
г. Пинск, Республика Беларусь

А.Л. КОЗЛОВА-КОЗЫРЕВСКАЯ, канд. хим. наук, доцент

заведующий кафедрой химии

Белорусский государственный педагогический университет им. Максима Танка,

г. Минск, Республика Беларусь

Статья поступила 11 апреля 2022 г.

ВЛИЯНИЕ $FeCl_3$, $CuSO_4$, $CoCl_2$, $ZnSO_4$ И $NiSO_4$ НА ЖЕЛАТИНОЛИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ПРОТЕИНАЗ МИЦЕЛИАЛЬНОЙ КУЛЬТУРЫ ВЕШЕНКИ ОБЫКНОВЕННОЙ (*PLEUROTUS OSTREATUS*)

*Изучено влияние $FeCl_3$, $CuSO_4$, $CoCl_2$, $ZnSO_4$ и $NiSO_4$ в концентрации 10^{-8} – 10^{-2} М на желатинолитическую активность внутриклеточных протеиназ 14-ти суточной мицелиальной культуры *Pleurotus ostreatus*. При pH 5,8 все соли угнетали активность в пределах 30%. Лишь сульфат цинка в нескольких концентрациях способствовал слабому росту активности протеиназ: до 16%.*

Для желатинолитической активности при pH 7,6 характерен активаторный эффект сульфата меди во всем диапазоне концентраций достигавший 25–67%. Желатинолитическая активность при добавлении хлорида кобальта угнеталась сильнее, чем в кислой среде при концентрации $CoCl_2$ 10^{-6} М – на 53%. В то же время при двух максимальных концентрациях этого эффектора желатинолиз возрастал на 25 и 31%. Максимальный активаторный эффект сульфата никеля проявился при концентрации 10^{-2} М и достигал 137%, тогда как при концентрациях 10^{-4} и 10^{-5} М протеолиз подавлялся на 26 и 22%.

При pH 9,2 четкое активаторное действие (до 157% по отношению к контролю) практически во всем концентрационном диапазоне оказал $CuSO_4$. Эффект остальных солей не превышал 24%.

Ключевые слова: желатинолитические внутриклеточные протеиназы, мицелиальная культура гриба, влияние $FeCl_3$, $CuSO_4$, $CoCl_2$, $ZnSO_4$, $NiSO_4$.

ILYUCHYK I.A., Senior Lecturer of the Department of Biochemistry and Bioinformatics¹

NIKANDROV V.N., Doctor of Biol. Sc. Habil., Professor of Biochemistry

Professor of the Department of Biotechnology¹

KULGAVENYA A.D., Graduate Student¹

TORCHILO M.V., Student¹

BELEVICH D.D., Student¹

¹Polessky State University, Pinsk, Republic of Belarus

KOZLOVA-KOZYREVSKAYA A.L., PhD in Chemic.Sc., Associate Professor

Head of the Department of Chemistry

Belarusian State Pedagogical University named after Maxim Tank, Minsk, Republic of Belarus

FeCl₃, CuSO₄, CoCl₂, ZnSO₄ AND NiSO₄ EFFECT ON A GELATINOLYTIC ACTIVITY OF PROTEINASES OF *PLEUROTUS OSTREATUS* MYCELIAL CULTURE

*The effect of FeCl₃, CuSO₄, CoCl₂, ZnSO₄ and NiSO₄ at a concentration of 10⁻⁸–10⁻² M on the gelatinolytic activity of intracellular proteinases from in 14 days mycelial culture of *Pleurotus ostreatus* was studied. At pH 5.8, all salts inhibited activity within 30%. Only zinc sulfate in several concentrations contributed to a weak increase in proteinase activity: up to 16%.*

The gelatinolytic activity at pH 7.6 is characterized by the activating effect of copper sulfate in the entire range of concentrations, reaching 25–67%. The gelatinolytic activity upon the addition of cobalt chloride was suppressed more strongly than in an acidic medium at a CoCl₂ concentration of 10⁻⁶ M, by 53%. At the same time, at two maximum concentrations of this effector, gelatinolysis increased by 25 and 31%.

The maximum activator effect of nickel sulfate manifested itself at a concentration of 10⁻² M and reached 137%, while at concentrations of 10⁻⁴ and 10⁻⁵ M, proteolysis was suppressed by 26 and 22%.

At pH 9.2, CuSO₄ had a clear activating effect (up to 157% relative to control) in almost the entire concentration range. The effect of other salts did not exceed 24%.

Keywords: *gelatinolytic intracellular proteases, fungal mycelium culture, effect of FeCl₃, CuSO₄, CoCl₂, ZnSO₄, NiSO₄*

Введение. Согласно прогностическим данным, к 2050 году человечеству потребуются ежегодно 1,250 млн тонн мяса и молочных продуктов [цит. по 1]. Дефицит белков в рационах населения и сельскохозяйственных животных настоятельно диктует необходимость изыскания альтернативных источников белка. Одним из таковых являются грибы, содержащие 30–50% белков с аминокислотным составом, сопоставимым с рекомендациями ФАО (FAO). Грибы также достаточно богаты витаминами, в первую очередь группы В, и целым рядом других биологически активных соединений [2].

К числу таких грибов относится вешенка обыкновенная – *Pleurotus ostreatus*, занимающая по объему выращивания в мире третье место среди грибов.

В качестве белковой добавки в рационы скота перспективно использование мицелия этого гриба, что ставит проблему эффективного глубинного культивирования его мицелия. А интенсификация глубинного культивирования выдвигает на первый план уяснение биологии продуцента и механизмов регуляции его метаболизма. К числу важнейших механизмов регуляции жизнедеятельности практически всех живых организмов относятся реакции протеолиза.

Между тем, проведенный анализ данных мировой литературы о состоянии исследований набора протеиназ *P. ostreatus* продемонстрировал наличие весьма немногочислен-

ных публикаций о протеолитическом потенциале указанного гриба [3], тем более что набор протеиназ существенно зависит от состава питательной среды и условий культивирования.

В предыдущих исследованиях нами было показано, что мицелиальная культура упомянутого гриба наделена достаточно активным и разнообразным, судя по данным ингибиторного анализа, арсеналом протеиназ [1].

Следует отметить, что экстрацеллюлярные протеиназы выполняют функцию, скорее всего, обеспечения мицелия источниками питания – аминокислотами и малыми пептидами. В то же время функция внутриклеточных протеиназ довольно сложна и, в большей степени (если не всецело), играет важную роль в регуляции внутриклеточных процессов метаболизма и физиологии мицелия. Это выдвигает следующую масштабную задачу – раскрытие функционально-структурных свойств компонентов набора протеолитических энзимов мицелия вешенки.

Катионы металлов влияют на активность различных протеиназ – в частности, это было продемонстрировано в экспериментах с хлоридом марганца [4], к тому же ряд пептидогидролаз являются металлоэнзимами.

Поэтому первым шагом в данном направлении было показано, что FeCl₃, CuSO₄, CoCl₂, ZnSO₄ и NiSO₄ в концентрации 10⁻⁸–10⁻² М вызвали, как правило, увеличение желатинолитической активности экстрацеллюля-

рных протеиназ мицелиальной культуры вешенки при рН 7,6 и 5,8 [5]. Был получен неожиданный эффект перечисленных выше солей металлов – рост желатинолитической активности, проявившийся даже при их максимальной концентрации эффекторов.

Цель настоящей статьи – выявить специфику влияния катионов металлов на желатинолитическую активность, прежде всего, ряда внутриклеточных протеиназ мицелиальной культуры вешенки, а также экстрацеллюлярной протеиназы, активной при рН 9,2.

Материалы и методы. Исследования проведены на «диком» штамме *Pleurotus ostreatus*, выделенном кандидатом биологических наук Е.О. Юрченко в 2014 г. из плодовых тел, растущих на культурном тополе (*Populus sp.*) в г. Минске.

В работе использовали бактоагар (Melford, USA), желатин (Fluka, Germany). Остальные реактивы были квалификации «хч» производства стран СНГ.

Гриб культивировали на картофельно-сахарозной среде в течение 14 дней. Подробно культивирование мицелия вешенки описано в предыдущих статьях [1, 6].

По окончании культивирования отбирали пробы культуральной жидкости (1 мл) и мицелия вешенки. Биомассу гриба отмывали, максимально просушивали на фильтровальной бумаге, навески по 0,5 г гомогенизировали при 4° С в течение 2 мин в 1 мл бидистиллированной воды, центрифугировали в течение 10 мин при 4 °С и 8000 об/мин. Осветленный гомогенат использовали для дальнейших исследований. Культуральную жидкость использовали без дополнительного разведения.

В качестве растворителя при приготовлении белок-агаровых пластин использовали 0,15 М раствор NaCl рН 7,4. К исследуемым образцам культуральной жидкости или гомогената мицелия вешенки добавляли 0,2 М ацетатный буфер рН 5,8 или 0,05 М трис-НСl буфер рН 7,6, или 0,1 М боратный буфер рН 9,2, учитывая рН-зависимость желатинолитических протеиназ гриба [1].

Водные растворы FeCl₃, CuSO₄, CoCl₂, ZnSO₄ и NiSO₄ добавляли к образцам культуральной жидкости или гомогенатов мицелия вешенки до конечной концентрации 10⁻⁸–10⁻² М.

Протеолитическую активность определяли по расщеплению желатина в тонком слое агарового геля как подробно описано ранее [7]. Объем наносимых образцов составлял 10 мкл, объем растворов солей – 10 мкл.

Количество белка в образцах определяли колориметрическим методом [8].

Все исследования проведены не менее чем восьмикратно, результаты обработаны статистически с использованием программ *Statistica 6.0* по *t*-критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение. На желатинолитическую активность мицелиальных (интраклеточных) протеиназ *P. ostreatus* при различных значениях рН использованные соли металлов оказали неодинаковое действие.

Для протеолиза желатина при рН 5,8 был, в частности, характерен эффект угнетения активности, однако он не превышал 30% (таблица 1, рисунок 1а). Примечательно, что хлорид железа, сульфаты меди и никеля вызвали подобное действие при минимальных концентрациях в реакционной системе. Дополнительно снижение активности было выявлено также при добавлении CuSO₄ и NiSO₄ в концентрациях 10⁻⁴ и 10⁻⁵ М соответственно. В отличие от этого ингибиторное влияние CoCl₂ проявилось при концентрациях 10⁻² и 10⁻⁵ М. Эффект же остальных использованных солей при их максимальной концентрации был невелик. И лишь сульфат цинка в нескольких концентрациях способствовал росту желатинолитической активности протеиназ, но не более чем на 16%.

Воздействие избранных нами эффекторов на желатинолитическую активность мицелиальных протеиназ *P. ostreatus* при рН 7,6, на наш взгляд, заметно отличалось от описанного для рН 5,8. Здесь был характерен активаторный эффект сульфата меди, проявившийся во всем диапазоне концентраций, а при концентрации 10⁻³–10⁻⁸ М достигавший 25–67% с максимумом эффекта роста при 10⁻⁴ и 10⁻⁷ М: 66,9 и 62,2% соответственно (таблица 1, рисунок 1б). Увеличение желатинолитической активности вызвал и хлорид железа, причем ее рост на 48% наблюдался при концентрации этой соли 10⁻³ М.

Отличалось от описанного для рН 5,8 действие CoCl₂ и NiSO₄. Угнетение желатинолитической активности при добавлении хлорида кобальта проявилось сильнее, чем в кислой среде при концентрации CoCl₂ 10⁻⁶ М –

53%. В то же время при двух максимальных концентрациях этого фактора желатинолиз возрастал на 25 и 31% соответственно. Максимальный же активаторный эффект сульфата никеля проявился при его концентрации 10^{-2} М и достигал 137%, тогда как при концентрациях 10^{-4} и 10^{-5} М выявлено угнетение протеолиза на 26 и 22% соответственно. Примечательно, что при pH 7,6 и сульфат цинка в минимальной концентрации вызвал повышение протеолитической активности на 22%.

Отличительной особенностью действия использованных солей металлов на расщепление желатина мицелиальными протеиназами *P. ostreatus* при pH 9,2 явилось слабое ингибиторное действие CoCl_2 и ZnSO_4 , не превысившее 16% (таблица 1, рисунок 1в).

Влияние сульфата никеля выразилось в активации желатинолиза, но по величине эффекта не превосходило таковое для описанных процессов при pH 5,8 и 7,6, причем концентрационная зависимость эффекта также имела сложный характер. Ингибиторное действие хлорида железа было довольно слабым и лишь при его концентрациях 10^{-4} и 10^{-7} М угнетение составило 24 и 21% соответственно. При этом значении pH также, как и при pH 7,6, четкое активаторное действие практически во всем концентрационном диапазоне оказал CuSO_4 . А при концентрациях 10^{-4} и 10^{-8} М усиление желатинолитической активности достигало 157 и 152% по отношению к контролю соответственно.

Таблица 1. – Влияние солей металлов на желатинолитическую активность (мм^2 зон лизиса) при различной величине pH гомогенатов мицелия глубинной культуры вешенки ($n=8$)

Концентрация солей, М	FeCl_3	CuSO_4	CoCl_2	ZnSO_4	NiSO_4
<i>активность при pH 5,8</i>					
Контроль	262,5 ± 8,1	233,6 ± 5,2	186,2 ± 3,4	210,4 ± 3,8	180,8 ± 5,5
10^{-2}	247,5 ± 7,5	206,5 ± 4,9*	137,4 ± 5,5*	240,5 ± 10,3*	167,7 ± 6,0
10^{-3}	233,9 ± 12,7	224,5 ± 3,7	155,1 ± 4,9*	214,6 ± 10,7	148,1 ± 4,4*
10^{-4}	210,8 ± 7,5*	168,3 ± 7,1*	181,4 ± 8,5	244,1 ± 9,4*	165,3 ± 7,2
10^{-5}	234,8 ± 10,1	256,7 ± 5,0	139,5 ± 3,2*	241,6 ± 10,5*	137,3 ± 7,03*
10^{-6}	227,8 ± 10,6*	251,6 ± 12,0	154,1 ± 6,3*	210,4 ± 6,4	180,0 ± 5,9
10^{-7}	224,4 ± 8,6*	198,4 ± 5,8*	152,8 ± 4,4*	207,7 ± 9,2	138,1 ± 6,5*
10^{-8}	202,1 ± 7,7*	177,0 ± 7,2*	162,2 ± 7,7*	183,1 ± 6,7*	127,2 ± 6,3*
<i>активность при pH 7,6</i>					
Контроль	145,1 ± 2,7	121,1 ± 2,6	147,5 ± 6,4	115,4 ± 3,1	177,8 ± 4,6
10^{-2}	149,8 ± 26,0	137,8 ± 7,3*	183,8 ± 10,2*	126,1 ± 6,6*	244,0 ± 4,5*
10^{-3}	215,0 ± 13,1*	152,0 ± 3,6*	193,1 ± 2,7*	132,7 ± 4,6*	164,2 ± 6,8
10^{-4}	161,2 ± 6,8*	202,1 ± 5,3*	148,4 ± 2,7	119,2 ± 4,4	130,8 ± 2,5*
10^{-5}	154,4 ± 3,7	158,6 ± 7,2*	139,5 ± 3,9	128,8 ± 6,9*	138,4 ± 5,4*
10^{-6}	164,2 ± 10,0*	151,5 ± 3,8*	69,0 ± 2,8*	126,0 ± 5,6*	187,1 ± 6,3
10^{-7}	124,1 ± 4,4*	196,4 ± 3,7*	172,8 ± 7,8*	136,5 ± 7,3*	166,7 ± 9,7
10^{-8}	144,5 ± 5,9	159,8 ± 4,5*	137,8 ± 8,9	141,3 ± 4,2*	171,6 ± 2,9
<i>активность при pH 9,2</i>					
Контроль	87,4 ± 4,3	43,87 ± 1,9	67,94 ± 3,1	74,4 ± 2,9	59,9 ± 2,8
10^{-2}	70,8 ± 3,3*	48,68 ± 2,9	71,16 ± 3,6	64,5 ± 2,6*	72,9 ± 2,5*
10^{-3}	83,3 ± 3,4	56,36 ± 2,4*	56,50 ± 2,1*	62,1 ± 3,1*	67,7 ± 3,0*
10^{-4}	66,5 ± 2,9*	68,94 ± 3,8*	60,16 ± 1,8	86,3 ± 4,2*	74,1 ± 2,7*
10^{-5}	71,9 ± 2,9*	55,21 ± 2,6*	70,50 ± 2,5	67,0 ± 3,7	62,7 ± 2,6
10^{-6}	73,8 ± 3,3*	55,00 ± 3,4*	56,87 ± 2,0*	77,9 ± 4,6	64,1 ± 2,7
10^{-7}	68,9 ± 10,1*	65,16 ± 3,1*	58,28 ± 1,7*	71,2 ± 1,7	68,0 ± 3,0*
10^{-8}	84,1 ± 4,0	66,57 ± 3,0*	68,96 ± 2,9	70,5 ± 3,4	75,8 ± 3,4*

Примечание – *Здесь и далее изменения статистически достоверны при $p \leq 0,05$

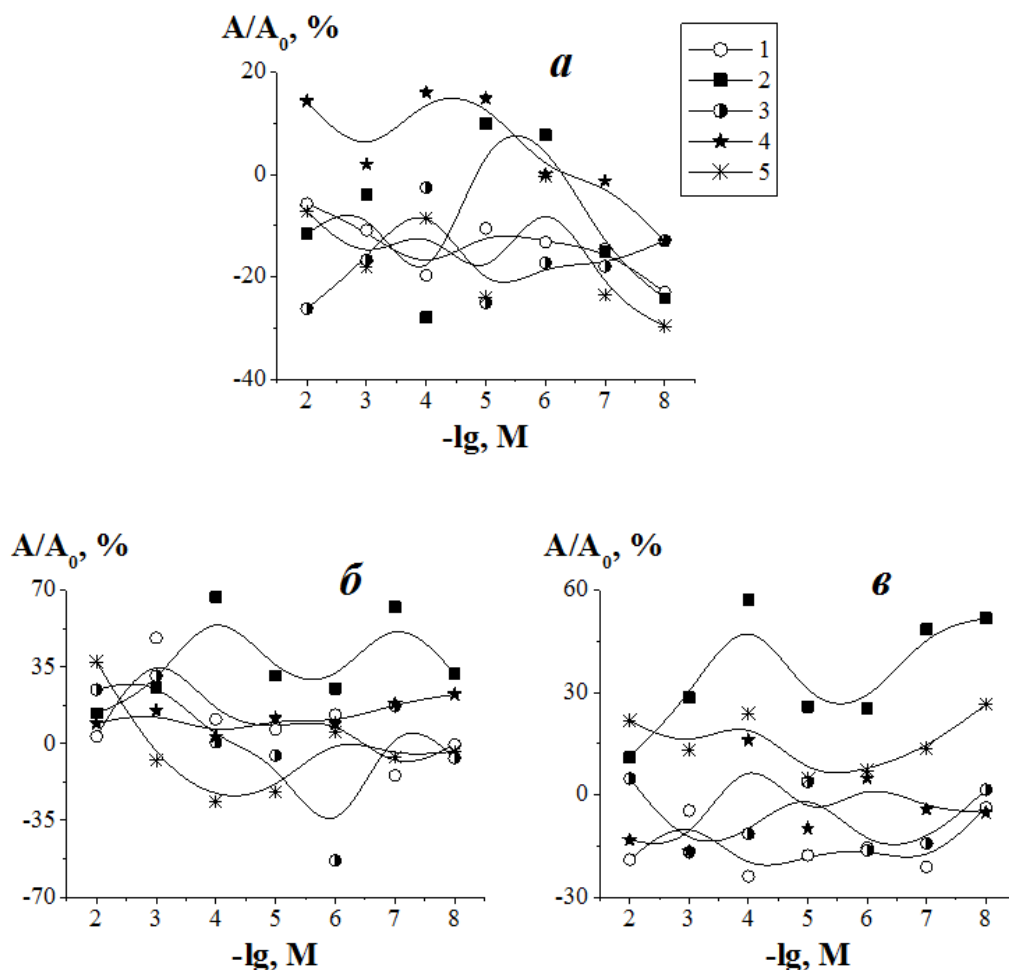


Рисунок 1. – Влияние $FeCl_3$ (1), $CuSO_4$ (2), $CoCl_2$ (3), $ZnSO_4$ (4), $NiSO_4$ (5) на желатинолитическую активность (% к контролю, принятому за 100%) при pH 5,8 (а), 7,6 (б) и 9,2 (в) гомогената мицелия глубинной культуры вешенки

Но в целом, эти материалы свидетельствуют о довольно умеренном и слабом эффекте (причем в целом ряде случаев ингибиторном) изучаемых солей металлов на желатинолитическую активность протеиназ мицелия.

Данная картина существенно отличается от той, которую мы наблюдали при действии этих же эффекторов на желатинолитическую активность экстрацеллюлярных протеиназ мицелиальной культуры вешенки [5].

Так, при pH 7,6 рост желатинолитической активности при добавлении $CoCl_2$, $ZnSO_4$ и $NiSO_4$ в концентрации 10^{-8} и 10^{-5} M достигал в сравнении с контролем 1,51–1,83 и 1,70–2,00 раз соответственно. С дальнейшим ростом концентрации эффект возрастал в 2,03–2,10 раз. Увеличение же активности при до-

бавлении 10^{-2} M $FeCl_3$ не превысило 70% в сравнении с контролем. Однако оно было большим, чем в случае интрацеллюлярных протеиназ. Менее демонстративным был эффект $CuSO_4$: лишь в минимальной концентрации соли рост активности составил 51%, а увеличение ее концентрации снижало эффект, и уже при концентрации 10^{-6} M он не превысил 23%. В реакционной системе при pH 5,8 добавление $NiSO_4$ во всем диапазоне концентраций сопровождалось приростом активности на 77–102%. Более заметным было и влияние $CuSO_4$: в диапазоне концентраций 10^{-8} – 10^{-3} M желатинолиз усиливался на 42–60%. При добавлении же $FeCl_3$ в минимальной концентрации выявлен рост активности протеиназ на 66%, а в присутствии $CoCl_2$ во всем диапазоне концентраций желатино-

литическая активность возрастала на 60–98%. Менее сильным, в сравнении с pH 7,6, был и эффект ZnSO₄, не превысивший 66%.

Столь сильные различия можно было бы связать с уровнем растворимых белков в гомогенате мицелия вешенки $1,01 \pm 0,0002$ мг/г и в культуральной жидкости – $0,01 \pm 0,0001$ мг/мл ($n=6$). Однако проведенные дополнительно исследования упомянутых солей металлов на желатинолитическую активность экстрацеллюлярных протеиназ культуры гриба при 9,2 показали, что наиболее выраженным было воздействие CoCl₂, добавление которого в концентрациях 10^{-8} , 10^{-7} и 10^{-3} М

сопровождалось умеренным ростом желатинолитической активности на 38, 23 и 28% соответственно (таблица 2, рисунок 2). Во всех остальных случаях эффект солей (как правило, активаторный) не превышал 18%.

Как было установлено, желатинолитическая активность протеиназ мицелия при pH 5,8 и 7,6 угнеталась *o*-фенантролином на 61 и 33% соответственно, а при pH 5,8 – дополнительно и ЭДТА на 35% [1]. Однако при pH 5,8 ни одна из использованных в эксперименте солей не сопровождалась существенным увеличением протеолитической активности.

Таблица 2. – Влияние солей металлов на желатинолитическую активность (мм² зон лизиса) при pH 9,2 культуральной жидкости глубинной культуры вешенки ($n=8$)

Концентрация солей, М	FeCl ₃	CuSO ₄	CoCl ₂	ZnSO ₄	NiSO ₄
Контроль	80,75 ± 3,57	80,51 ± 3,62	63,00 ± 2,87	70,75 ± 1,84	86,25 ± 4,10
10 ⁻²	85,42 ± 3,11	90,87 ± 5,77	72,58 ± 3,4*	81,94 ± 3,62*	89,87 ± 2,71
10 ⁻³	75,75 ± 3,64	93,87 ± 3,62*	80,57 ± 3,1*	71,25 ± 2,99	98,37 ± 4,77*
10 ⁻⁴	80,37 ± 3,68	78,00 ± 2,90	64,93 ± 4,62*	67,75 ± 3,19	91,37 ± 2,61
10 ⁻⁵	90,31 ± 3,15	84,93 ± 3,73	68,06 ± 3,50	72,33 ± 3,64	85,75 ± 2,56
10 ⁻⁶	79,16 ± 3,89	71,00 ± 3,00	65,83 ± 3,26	79,28 ± 3,46	82,16 ± 4,01
10 ⁻⁷	80,12 ± 3,97	77,31 ± 3,60	77,75 ± 2,27*	57,37 ± 2,75*	80,12 ± 2,56
10 ⁻⁸	84,12 ± 3,96	85,12 ± 4,13	87,08 ± 3,54*	70,69 ± 2,88	73,37 ± 3,45*

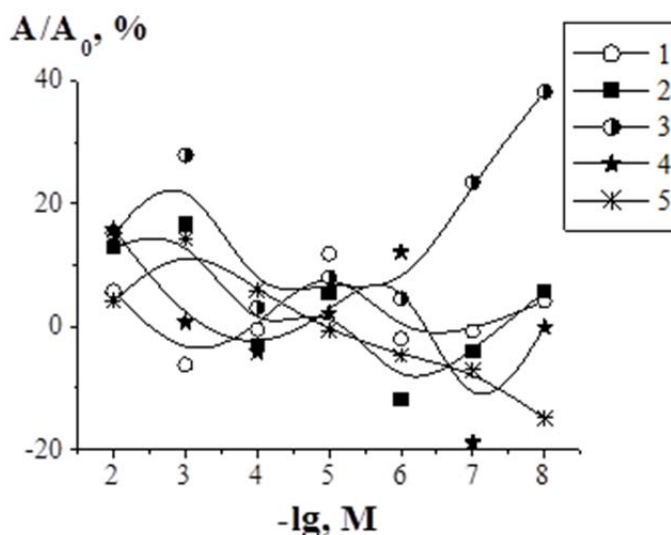


Рисунок 2. – Влияние FeCl₃ (1), CuSO₄ (2), CoCl₂ (3), ZnSO₄ (4), NiSO₄ (5) на желатинолитическую активность (% к контролю, принятому за 100%) при pH 9,2 культуральной жидкости глубинной культуры вешенки

Складывается впечатление, что в состав подобной протеиназы входит иной металл. Вместе с тем, при pH 7,6 активаторное действие выявлено со стороны FeCl₃, CuSO₄ и даже CoCl₂ и NiSO₄ при определенных концентрациях. Но особое внимание привлекает активность желатиназ при pH 9,2, индифферентная ко всем использованным нами группоспецифическим ингибиторам протеиназ [1]. Желатинолитическая активность протеиназ этого типа, как установлено в настоящем исследовании, существенно повышалась в присутствии сульфата меди.

Заключение. Полученные результаты настоящего исследования пока дают только дополнительные факты для анализа функциональной специфики протеиназ мицелиальной культуры вешенки. Тем не менее, отдельные результаты «вырисовывают» несколько необычных черт этих протеиназ. В дальнейшем совершенно логично предстоит выяснить, что за компонент присутствует в протеиназе с оптимальным pH при 5,8, активность которой чувствительна к ЭДТА и фенантролину, но, по-видимому, не является ни одним из катионов, входящих в состав использованных в эксперименте солей. Не исключено также, что подобная особенность может быть обусловлена характером лигандного окружения катиона в макромолекуле протеиназы. Не менее примечательна и картина, полученная при исследовании резистентной к действию всех использованных ранее нами группоспецифических протеиназ (pH оптимум – 9,2), повышающая активность при добавлении сульфата меди.

Список литературы

1. Кульгавеня, А. Д. Протеолитическая активность мицелиальной культуры гриба вешенка обыкновенная (*Pleurotus ostreatus*) при глубинном культивировании / А. Д. Кульгавеня, В. Н. Никандров // Весн. Палес. дзярж. ун-та. Сер. прыродазна. навук. – 2020. – № 1. – С. 12–23.
2. Ritala, A. Single cell protein – state-of-the-art, industrial landscape and patents 2001–2016 / A. Ritala, S.T. Häkkinen, M. Toivari, M.G. Wiebe // *Frontiers in Microbiol.* – 2017. – Vol. 8. art. 2009. – P. 1–18.
3. Кульгавеня, А. Д. О протеиназах вешенки обыкновенной (*Pleurotus ostreatus*) / А. Д.

Кульгавеня, И. А. Ильючик, В. Н. Никандров // Сб. материалов V междунар. науч.–практ. конф. *online-offline* «Биотехнология: достижения и перспективы развития», Пинск, 2021. – С. 29–32.

4. Никандров, В. Н. Влияние ионов Mn (II) на расщепление протеинов-субстратов протеиназами / В. Н. Никандров, И. А. Ильючик // *Новости медико-биол. наук.* – 2020. – Т. 20, – № 4. – С. 62–70.
5. Корнейчук, П. В. Влияние катионов металлов на желатинолитическую активность экстрацеллюлярных протеиназ вешенки обыкновенной (*Pleurotus ostreatus*) / П. В. Корнейчук, А. Д. Кульгавеня, В. Н. Никандров // *Физико-химическая биология : материалы IX междунар. науч. интернет-конф.* / Ставроп. гос. мед. ун-т ; отв. ред.: В. И. Кошель. – Ставрополь : Изд-во СтГМУ, 2021. – С. 8–11.
6. Корнейчук, П. В. О способности мицелиальной культуры *Pleurotus ostreatus* продуцировать ингибиторы протеолиза / П. В. Корнейчук [и др.] // *Биотехнология: взгляд в будущее : материалы VII междунар. научно-практ. конф., 2 апреля 2021 года [в 2 ч.]* / Ставроп. гос. мед. ун-т ; отв. ред.: В.Н. Мажаров. – Ставрополь : Изд-во СтГМУ, 2021. – Ч. 1. – С.121–123.
7. Никандров, В. Н. Методы исследования протеолиза. Глава 5 / В. Н. Никандров, Н. С. Пыжова // *Современные проблемы биохимии. Методы исследований.* – Минск: Выш. шк. – 2013. – С. 132–157.
8. Bradford, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding / M. M. Bradford // *Anal. Biochem.* – 1976. – Vol. 72. – P. 248–254.

References

1. Kul'gavenya, A.D., Nikandrov V.N. Proteolitichestskaya aktivnost' micelial'noj kul'tury griba veshenka obyknovennaya (*Pleurotus ostreatus*) pri glubinnom kul'tivirovanii [Proteolytic activity of fungus *Pleurotus ostreatus* mycelial culture in deep-liquid cultivation]. *Vesnik Paleskaga dzyrzhaynaga universiteta. Seryya pryrodaznaychyh navuk nauk* [Bulletin of Polesky State University. Series in Natural Sciences], 2020, no 1, pp. 12–23. (In Russian)

2. Ritala A., Häkkinen S.T., Toivari M., Wiebe M.G Single cell protein – state-of-the-art, industrial landscape and patents 2001–2016: *Frontiers in Microbiol*, 2017, Vol. B. art. 2009, pp. 1–18.
3. Kul'gavenya A.D., Il'yuchik I.A., Nikandrov V.N. O proteinazah veshenki obyknovennoj (*Pleurotus ostreatus*) [About proteinases of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*)]. *Sbornik materialov V mezhdunarodnoj nauchno–prakticheskoy konferencii online-offline «Biotekhnologiya: dostizheniya i perspektivy razvitiya»*. Pinsk, 2021, pp. 29–32. (In Russian)
4. Nikandrov, V. N., Il'yuchik I. A. Vliyanie ionov Mn (II) na rassheplenie proteinov-substratov proteinazami [Effect of Mn (II) ions on cleavage of protein substrates by proteinases]. *Novosti mediko-biol. Nauk* [News of biomedical sciences], 2020, vol. 20, no. 4, pp. 62–70. (In Russian)
5. Kornejchuk P. V., Kul'gavenya A. D., Nikandrov V. N. Vliyanie kationov metallov na zhelatinoliticheskuyu aktivnost' ekstrakulyulyarnyh proteinaz veshenki obyknovennoj (*Pleurotus ostreatus*) [The influence of metal cations on the gelatinolytic activity of extracellular proteinases of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*)]. *Fiziko-himicheskaya biologiya : materialy IX mezhdunarodnoj nauchnoj internet-konferencii / Stavropol'skij gosudarstvennyj medicinskij universitet Ministerstva zdavoohraneniya Rossijskoj Federacii*; otv. red.: V. I. Koshel', Stavropol', 2021. – pp. 8–11. (In Russian)
6. Kornejchuk P. V., Kul'gavenya A.D., Il'yuchik I.A., Nikandrov V.N. O sposobnosti micelial'noj kul'tury *Pleurotus ostreatus* producirivat' ingibitory proteoliza [On the ability of *Pleurotus ostreatus* mycelial culture to produce proteolysis inhibitors]. *Biotekhnologiya: vzglyad v budushchee. Mater. VII mezhdunar. nauchno-prakt. konf.*», Stavropol'. – 2021. – Part 1. – pp. 121–123. (In Russian)
7. Nikandrov V.N., Pyizhova N.S. Metodyi issledovaniya proteoliza. Glava 5. [Methods for the study of proteolysis. Chapter 5]. *Sovremennyye problemy biokhimii. Metodyi issledovaniy* [Modern problems of biochemistry. Research methods]. Minsk: Visheyschaya shkola, 2013, pp. 132-157. (In Russian)
8. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding: *Anal. Biochem*, 1976, Vol. 72, pp. 248–254.

Received 11 April 2022