

**МАТЕРИАЛЫ
ФОРУМА**

**FORUM
PROCEEDINGS**



МЕЖДУНАРОДНЫЙ ФОРУМ

INTERNATIONAL FORUM

**БИОТЕХНОЛОГИЯ:
СОСТОЯНИЕ
И ПЕРСПЕКТИВЫ
РАЗВИТИЯ**

**BIOTECHNOLOGY:
STATE OF THE ART
AND PERSPECTIVES**

**23 - 25 МАЯ 2018
МОСКВА, ГОСТИНЫЙ ДВОР,
ИЛЬИНКА, 4**

**23 - 25 MAY, 2018
ILYNKA 4, GOSTINY DVOR,
MOSCOW**



WWW.BIOMOS.RU

МЕЖДУНАРОДНЫЙ ФОРУМ

**БИОТЕХНОЛОГИЯ:
СОСТОЯНИЕ
И ПЕРСПЕКТИВЫ
РАЗВИТИЯ**

23 - 25 МАЯ 2018
МОСКВА, ГОСТИНЫЙ ДВОР,
ИЛЬИНКА, 4

INTERNATIONAL FORUM

**BIOTECHNOLOGY:
STATE OF THE ART
AND PERSPECTIVES**

23 - 25 MAY, 2018
ILYNKA 4, GOSTINY DVOR,
MOSCOW

**МЕЖДУНАРОДНЫЙ ФОРУМ
«БИОТЕХНОЛОГИЯ: СОСТОЯНИЕ
И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ»**

Материалы международного форума
«Биотехнология: состояние и перспективы
развития»
23 - 25 МАЯ 2018 Г.

Настоящие материалы форума созданы на
основании информации, предоставленной
участниками форума и одобренные
руководителями секций.

Материалы тезисов публикуются в авторской
версии. Организаторы не несут ответственности
за неточности и упущения в названиях и адресах,
представленных в данном сборнике.
Любое копирование и использование
материалов без письменного разрешения
Программного комитета не разрешено.

УДК 575.1/2::612.017.1 ББК 28.072
ISBN 978-5-9909118-0-2-6
ISSN: 2312-640X

© ООО "РЭД ГРУПП"
119049, г. Москва, ул. Донская, д. 2, стр. 1
info@biomos.ru www.biomos.ru

Все права на издание принадлежать ООО "РЭД
ГРУПП"- организатор международного форума
«Биотехнология: состояние и перспективы
развития»

**INTERNATIONAL FORUM «BIOTECHNOLOGY:
STATE OF THE ART AND PERSPECTIVES»**

The proceedings of International forum
«Biotechnology: state of the art and perspectives»
MAY 23 - 25, 2018.

DISCLAIMER

This book contains abstracts and complete papers
approved by the Forum Review Committee. Authors
are responsible for the content and accuracy.

Opinions expressed may not necessarily reflect the
position of the Scientific Council of forum.

Information in the Biotechnology: state of the art and
perspectives» 2018 Forum Proceedings is subject
to change without notice. No part of this book may
be reproduced or transmitted in any form or by any
means, electronic or mechanical, for any purpose,
without the express written permission of the
International Scientific Council of forum.

ISBN 978-5-9909118-0-2-6
ISSN: 2312-640X

Copyright © LLC "RED GROUP"
Moscow, Donskaya str., 2, b.1
info@biomos.ru www.biomos.ru

All Rights Reserved by LLC "RED GROUP - organizer of
the International forum «Biotechnology: state of the
art and perspectives».

called lytic polysaccharide monooxygenases (LPMO), have been discovered. In our laboratory, we isolated and characterized LPMOs from fungi *Thielavia terrestris*, *Trichoderma reesei* and *Myceliophthora thermophila*. A chimeric protein, N-domain of which represents the LPMO of *T. terrestris* and C-domain represents a cellulose-binding module (CBM) of the CBH I from *Penicillium verruculosum*, was constructed and expressed in the recombinant strain of *P. verruculosum* using a genetic engineering technique. All the LPMOs under study demonstrated a synergism with individual cellulases and the whole cellulase complex during their action on cellulosic substrates. After adding not more than 10% of LPMO to a cellulase preparation, the yield of sugars in the enzymatic hydrolysis of cellulose increased by 30-40% or more. As a result of the CBM attachment, the chimeric enzyme has acquired a number of interesting and useful for practical applications properties. In particular, the chimeric LPMO displayed broader substrate specificity and the enhanced activity against cellulose.

Another important factor, that has a significant influence on the catalysis by cellulases and which function was not well understood, is the enzyme N-glycosylation. Using site-directed mutagenesis of the recombinant CBH I, CBH II and EG II from *P. verruculosum*, we showed that depending on the location of the N-linked glycans on the surface of a protein globule they can affect the enzyme activity either positively or negatively. This knowledge about a new function of N-linked glycans in the catalysis by cellulases is important for the development of new more active biocatalysts by protein engineering techniques.

This work was supported by the Russian Science Foundation (grant No. 16-14-00163).

References:

1. Gusakov A.V., Sinitsyn A.P. Depolymerization of natural biopolymers. Enzymatic hydrolysis of cellulose // *Chemistry of Biomass: Biofuels and Bioplastics*. – Moscow: Scientific World Publisher, 2017. – P. 65-99.

УДК 602.3:579.8

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЦЕЛЛЮЛОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ *TRICHODERMA VIRIDE*

Епишкина Ю. М., Тур А. В., Баурин Д.В., Шакир И. В., Панфилов В. И.

Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Москва, Россия
125480, Москва, ул. Героев Панфиловцев, д. 20, корп. 1
E-mail: epishkina.yulia2906@gmail.com

Поиск альтернативных коммерческим препаратам источников целлюлаз является актуальной задачей биотехнологии. В исследование были подобраны оптимальные условия культивирования *Trichoderma viride* и показан потенциал штамма для использования в процессе биоконверсии растительного сырья.

Ключевые слова: целлюлазы, глубинное культивирование, *Trichoderma viride*, растительное сырье, биоконверсия.

Более 1,3 млрд тонн отходов во всём мире образуется при производстве продуктов питания, большинство из них используется неэффективно [4], поэтому исследования в области переработки растительного сырья по-прежнему остаются лидирующим направлением биотехнологии.

При производстве пищевых продуктов образуются ценные вторичные продукты. Для Российской Федерации таковыми являются шрот подсолнечника [3], свекловичный жом, жом топинамбура [1], кофейный шлам [2]. Применение перечисленных субстратов в качестве кормового продукта затруднено из-за высокого содержания клетчатки. Ранее на кафедре биотехнологии РХТУ им. Д. И. Менделеева были исследованы различные способы предобработки растительного сырья [3], включая ферментативные и химические. Ферментативные методы представляют перспективную альтернативу химическим из-за своей экологичности, энергетической выгоды, возможности эффективного снижения содержания клетчатки, а также из-за нивелирования формирования ингибирующих веществ (фурфурол, оксиметилфурфурол) в результате предобработки субстрата. Микробные ферментные комплексы могут применяться для исследования гибридных материалов на основе сложных неорганических и органических соединений. Применение мультферментных комплексов является наиболее эффективным, так как обеспечивает наиболее полный гидролиз полисахаридов до моносахаридов, обеспечивая лучшую деградацию сырья. Целлюлолитические ферментные препараты являются преимущественно продуктами микроскопических грибов. В настоящее время грибы рода *Trichoderma* занимают основную позицию среди промышленных грибных продуцентов целлюлаз и гемицеллюлаз. Это объясняется способностью продуцировать широкий спектр целлюлолитических ферментов (целлюлазы, β -глюкозидазы, эндо- и экзоглюканазы), широкой субстрат-

ной специфичностью и высокой секреторной способностью.

Целью данного исследования было изучение возможности использования культуральной жидкости *Trichoderma viride* для предобработки депротеинизированного шрота подсолнечника, с целью снижения содержания сырой клетчатки, как альтернатива использованию коммерческих целлюлаз и изучение процессов биodeградации гибридных материалов, имеющих органическую составляющую. В настоящей работе определена целлюлолитическая активность штамма, оптимизирован состав среды. Определено влияние ионов металлов (Mg^{2+} , Fe^{2+}) и лактозы в среде на изменение ферментативной активности штамма. Показано, что при концентрации лактозы в среде в пределах 0,1-0,25 г/л, наибольшая активность штамма определялась при концентрации 0,15 г/л, а дальнейшее увеличение концентрации не отражалось на ферментативной активности.

Работа выполнена в рамках базовой части Госзадания № 10.4702.2017/БЧ

Литература:

1. Alexandrino T.D. [и др.]. Fractioning of the sunflower flour components: Physical, chemical and nutritional evaluation of the fractions // *LWT-Food Science and Technology*. 2017.
2. Bashashkina E.V. [и др.]. Bioconversion of waste products of soluble coffee production into forage products (in Russia) // *Ecology and Industry of Russia (journal in Russian)*. 2010. № 1. 18–19 с.
3. Baurin D. V., Gordienko M.G., Shakir I.V., Panfilov V.I. Integrated processing of sunflower meal Albena, Bugaria: 14th SGEM GeoConference on Nano, Bio and Green -Technologies for a Sustainable Future, 2014. 419–426 с.
4. Principato L. The Complexity of Food Waste at Consumption Level: Definitions, Data, Causes and Impacts Springer, 2018. 1–13 с.

UDC 602.3:579.8

DETERMINATION OF CELLULOLYTIC ACTIVITY OF TRICHODERMA VIRIDE

Epishkina. Y. M., Tur A. V., Baurin D.V., Shakir. I V., Panfilov. V.I.

Mendeleyev University of Chemical Technology of Russia, Moscow, Russia
125480, Moscow, Geroev Panfilovtsev st., 20
E-mail: epishkina.yulia2906@gmail.com

The search for sources of cellulases, which would become an alternative to commercial preparations, is a topical problem of biotechnology. In this research the optimal conditions for the cultivation of *Trichoderma viride* were chosen and the potential of the fungus for use in the bioconversion of plant raw materials was shown.

Key words: Cellulases, deep heterophase cultivation, *Trichoderma viride*, plant raw materials, bioconversion.

More than 1.3 billion tonnes of waste are generated in food production all over the world, most of them are used inefficiently [4], so the research in the field of plant raw materials remains the leading direction of biotechnology.

Valuable secondary products are formed in food production. For the Russian Federation such products are sunflower meal [3], beet pulp, beet artichoke [1], coffee sludge [2]. The usage of these substrates as a fodder product is hampered by the high content of fibre. Various ways of pretreatment of plant raw materials including enzymatic and chemical methods were studied [3] earlier at the Department of Biotechnology D. I. Mendeleyev. Enzymatic methods represent a promising alternative way of pretreatment to chemical ones because of its environmental friendliness, energy benefits, the possibility of effective reduction of fiber content, and also because of levelling of the formation of inhibitory substances (furfural, hydroxymethylfurfural) as a result of pretreatment of the substrate. Microbial enzymatic complexes can be used to researching hybrid materials that based on compound inorganic and organic matters. The usage of multienzyme complex is the most effective because it provides the most complete hydrolysis of carbohydrates from polysaccharides to monosaccharides, providing better degradation of raw materials. Cellulolytic enzyme preparations are mainly products of microscopic fungus. Currently, fungi of the genus *Trichoderma* occupy the main position among industrial fungal producers of cellulases and hemicellulases. This is due to the ability to produce a wide range of cellulolytic enzymes (cellulase, β -glucosidase, endo- and exoglucanase), broad substrate specificity and high secretory ability.

The purpose of this research was to study the possibility of using culture liquid of *Trichoderma viride* for pretreatment of deproteinized sunflower meal in order to reduce the content of crude fibre as an alternative to the use of commercial cellulase and studying the processes of biodegradation of hybrid materials which have an organic component. In the present paper the cellulolytic activity of a strain was defined, medium composition was optimized. The influence of metal ions (Mg^{2+} , Fe^{2+}) and lactose in the medium to change the enzymatic activity of the strain was determined. It was shown that at concentration of lactose in the medium within 0.1-0.25 g/L, the

greatest activity of a strain was determined at a concentration of 0.15 g/L, and further increase of concentration did not reflect on enzymatic activity.

The research was supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation, the State Assignment Basic part, project №10.4702.2017/БЧ.

References:

1. Alexandrino T.D. [и др.]. Fractioning of the sunflower flour components: Physical, chemical and nutritional evaluation of the fractions // LWT-Food Science and Technology. 2017.
2. Bashashkina E.V. [и др.]. Bioconversion of waste products of soluble coffee production into forage products (in Russian) // Ecology and Industry of Russia (journal in Russian). 2010. № 1. 18–19 с.
3. Baurin D.V., Gordienko M.G., Shakir I.V., Panfilov V.I., Integrated processing of sunflower meal Albena, Bugaria: 14th SGEM GeoConference on Nano, Bio and Green -Technologies for a Sustainable Future, 2014. 419–426 с.
4. Principato L. The Complexity of Food Waste at Consumption Level: Definitions, Data, Causes and Impacts Springer, 2018. 1–13 с.

УДК 664.162.6:577.152

ОПТИМИЗАЦИЯ СОСТАВА МУЛЬТИЭНЗИМНОЙ КОМПОЗИЦИИ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ИЗ ЦЕЛЛЮЛОЗОСОДЕРЖАЩЕГО СЫРЬЯ

Миронова Г.Ф., Кашеева Е.И., Скиба Е.А., Кухленко А.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения Российской академии наук, Бийск, Россия
659322, Бийск, ул. Социалистическая, 1
e-mail: yur_galina@mail.ru

Оптимизирован состав мультиэнзимной композиции (МЭК) на основе ферментных препаратов «Целлолюкс-А», «Ультрафло Коре» и «Брюзайм BGX» для гидролиза продукта азотнокислой обработки шелухи овса с целью получения питательной среды, предназначенной для биосинтеза бактериальной наноцеллюлозы (БНЦ).

Ключевые слова: мультиэнзимная композиция; симплекс-центроидный план; ферментативный гидролиз; бактериальная наноцеллюлоза.

Получение ценной БНЦ из малоценной растительной целлюлозы является одним из прорывных решений в технологии этого перспективнейшего материала. Известно, что питательные среды, получаемые из целлюлозосодержащего сырья, могут содержать ингибиторы микробиологического синтеза, поэтому крайне важной является фундаментальная инженерная проработка каждой технологической стадии процесса [1, 2]. Одной из ключевых стадий получения БНЦ является ферментативный гидролиз химически предобработанного сырья. Стадия должна обеспечивать максимальный выход сахаров за короткое время. Целью данной работы являлась оптимизация состава МЭК целлюлазно-глюканазно-ксилапазы действия.

Субстратом для ферментативного гидролиза являлся продукт азотнокислой обработки шелухи овса, полученный на опытном производстве ИПХЭТ СО РАН. Ферментативный гидролиз субстрата проводили в 0,1 М ацетатном буферном растворе (рН 4,6); концентрация субстрата – 30 г/л, температурный режим – 46±2 °С, скорость перемешивания – 120 об/мин, продолжительность процесса – 72 ч. В качестве варьируемых параметров МЭК принимались концентрации коммерческих ферментных препаратов: «Целлолюкс-А» («Сиббиофарм», Россия) 0–0,04 кг/кг субстрата, «Ультрафло Коре» («Novozymes A/S», Дания) 0–0,10 л/кг субстрата, «Брюзайм BGX» («Polfa Tarchomin Pharmaceutical Works S.A.», Польша) 0–0,20 л/кг субстрата. Оценку гидролитической способности МЭК вели по динамике накопления в реакционной смеси редуцирующих веществ (РВ). Работа выполнена при использовании приборной базы Бийского регионального центра коллективного пользования СО РАН (ИПХЭТ СО РАН, г. Бийск).