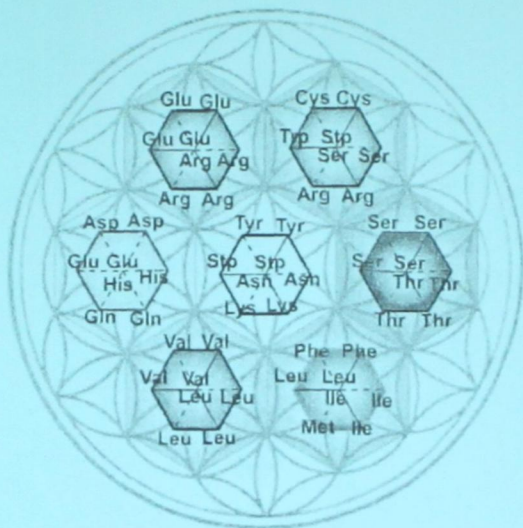


15-9809  
2439.

ДУБЛЕТ

Т.Н. Пивненко, Н.Н. Ковалев

# Сериновые протеиназы морских организмов: свойства, получение, применение



Владивосток  
Дальрыбвтуз  
2015

018502-51  
15-09810

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО РЫБОЛОВСТВУ**



Дальневосточный государственный технический  
рыбохозяйственный университет

Т.Н. Пивненко, Н.Н. Ковалев

# **Сериновые протеиназы морских организмов: свойства, получение, применение**

*Монография*

Владивосток  
Дальрыбвтуз  
2015

УДК 664.951.014 : 577.1 + 573.6

ББК 28.59 + 30.16

П32

**Рецензенты:**

доктор биол. наук, профессор, зав. кафедрой биохимии, микробиологии и биотехнологии ШЭН ДВФУ Э.Я. Костецкий;

доктор биол. наук, профессор кафедры биохимии, микробиологии и биотехнологии, зав. лабораторией экологии патогенных бактерий НИИЭМ им. Г.П. Сомова СО РАМН Л.С. Бузолева

**Пивненко, Т.Н.**

П32 Сериновые протеиназы морских организмов: свойства, получение, применение : моногр. / Т.Н. Пивненко, Н.Н. Ковалев. – 2-е изд., перераб. и доп. – Владивосток : Дальрыбвтуз, 2015. – 498 с.

ISBN 978-5-88871-652-6

В монографии суммированы данные о составе и содержании сериновых протеиназ в панкреатической ткани морских организмов, принадлежащих к различным таксономическим группам. Представлен аналитический обзор методов очистки и стабилизации ферментов с учетом отличий их физико-химических свойств, приведены модификации известных методов и оригинальные разработки авторов, примеры использования аффинных сорбентов, содержащих лиганды различной природы, методы применения ферментов гидробιονтов в технологии пищевых и кормовых продуктов, БАД к пище, микробиологических питательных сред.

Монография может быть использована специалистами в области биотехнологии, энзимологии, сравнительной биохимии, а также студентами и аспирантами.

УДК 664.951.014 : 577.1 + 573.6

ББК 28.59 + 30.16

ISBN 978-5-88871-652-6

© Дальневосточный государственный  
технический рыбохозяйственный  
университет, 2015

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	3
<b>Часть I. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ, СВОЙСТВА И МЕТОДЫ ОЧИСТКИ СЕРИНОВЫХ ПРОТЕИНАЗ МОРСКИХ ОРГАНИЗМОВ</b> .....	5
<b>Глава 1. Эффективность и механизм действия сериновых протенназ</b> .....	5
<b>Глава 2. Содержание и состав сериновых протенназ в панкреатической ткани гидробионтов</b> .....	24
2.1. Некоторые аспекты взаимосвязи структуры и свойств сериновых протенназ различного происхождения.....	24
2.2. Молекулярное моделирование и его применение к сериновым протенназам морских организмов .....	31
2.2.1. Метод молекулярной динамики .....	32
2.2.2. Метод молекулярного докинга.....	32
2.2.3. Моделирование на основании гомологии .....	33
2.2.4. Оценка качества, оптимизация и использование модели .....	35
2.2.5. Ограничения сопоставительного моделирования .....	38
2.3. Сравнительный биохимический анализ панкреатических сериновых протенназ гидробионтов .....	41
2.3.1. Локализация и секреция панкреатических протенназ у гидробионтов .....	48
2.3.2. Физико-химические и энзиматические свойства трипсина и химотрипсина гидробионтов.....	53
2.3.3. Панкреатические сериновые протенназы рыб. Выделение, молекулярные и каталитические свойства.....	63
2.3.4. Панкреатические сериновые протеиназы ракообразных .....	71
2.3.5. Общие свойства металлозависимых коллагенолитических протенназ .....	82

<b>Глава 3. Методы выделения, очистки и стабилизации панкреатических сериновых протеиназ .....</b>	<b>93</b>
3.1. Традиционные способы получения суммарных препаратов и индивидуальных ферментов .....	93
3.2. Мембранные методы разделения смесей веществ. Использование метода ультрафильтрации для очистки сериновых протеиназ.....	99
3.2.1. Применение ультрафильтрационной технологии для получения препаратов панкреатических протеиназ .....	116
3.3. Применение аффинной хроматографии для выделения и исследования трипсинов и химотрипсинов.....	123
3.3.1. Аффинные сорбенты для очистки трипсина и химотрипсина, содержащие природные высокомолекулярные ингибиторы.....	133
3.3.2. Аффинные сорбенты, содержащие низкомолекулярные лиганды.....	139
3.3.3. Аффинные сорбенты, содержащие в качестве лигандов аминокислоты и их производные.....	145
3.3.4. Аффинные сорбенты для выделения анионных форм трипсина и химотрипсина .....	149
3.4. Концентрирование белковых фракций и удаление элюэнтов .....	163
3.5. Имобилизация и стабилизация ферментов .....	165
3.5.1. Стабилизация ферментов путем их модификации водорастворимыми полимерами.....	167
3.5.2. Образование конъюгатов биологически активных молекул с молекулами полиэтиленгликоля (ПЭГ) – пегилирование .....	170
3.5.3. Стабилизация ферментов путем их иммобилизации на носителях смешанного типа .....	173
3.5.4. Стабилизация ферментов в водно-органических системах.....	176
3.5.5. Стабилизация ферментов в системах с твердыми фазами .....	180
3.5.6. Адсорбционная иммобилизация на неорганических матрицах .....	182
3.5.7. Адсорбционная иммобилизация на природных органических матрицах .....	185

<b>Глава 4. Субстратно-ингибиторная специфичность панкреатических сериновых протеиназ различного происхождения .....</b>	<b>201</b>
4.1. Гидролиз белков панкреатическими ферментными системами различного происхождения .....	201
4.2. Кинетика гидролиза белковых субстратов .....	204
4.3. Фракционный состав гидролизатов .....	206
4.4. Состав свободных аминокислот в ферментативных гидролизатах .....	211
4.5. Гидролиз коллагена: вклад отдельных протеиназ и влияние различных факторов .....	215
4.6. Субстратная специфичность гидролиза низкомолекулярных субстратов .....	223
4.7. Ингибиторная специфичность панкреатических сериновых протеиназ.....	231
4.8. Взаимодействие панкреатических сериновых протеиназ с природными белковыми ингибиторами .....	238
4.9. Взаимодействие панкреатических сериновых протеиназ с необратимыми ингибиторами.....	239
4.10. Взаимодействие протеолитических ферментов с природными низкомолекулярными пептидами (цитомединами).....	243
4.10.1. Сравнительный анализ ингибиторных свойств иммуномодуляторов .....	244
4.10.2. Аффинная хроматография пептидных ингибиторов .....	246
4.10.3. Характеристика пептидных ингибиторов.....	247

## **Часть II. ПРИМЕНЕНИЕ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ .....**

**251**

<b>Глава 5. Ферментативные способы приготовления белковых гидролизатов с использованием препаратов различной специфичности .....</b>	<b>251</b>
5.1. Состав белковых гидролизатов .....	252
5.2. Ферментные препараты и условия протеолиза .....	255
5.3. Оценка качества белковых гидролизатов .....	261
5.3.1. Способы выражения степени протеолиза.....	261

5.3.2. Зависимость эффективности гидролиза от качества ферментного препарата и белкового сырья .....	268
5.3.3. Зависимость эффективности гидролиза от температуры реакционной среды .....	269
5.3.4. Зависимость эффективности гидролиза от рН реакционной смеси .....	271
5.3.5. Зависимость эффективности гидролиза от гидромодуля реакционной смеси .....	272
5.3.6. Влияние продолжительности процесса и концентрации вносимого ферментного препарата на эффективность гидролиза .....	273
5.3.7. Технологические стадии процесса получения белковых гидролизатов и их аппаратное обеспечение.....	274
5.4. Факторы, влияющие на процесс получения гидролизатов. Способы оптимизации процесса.....	290
<b>Глава 6. Использование белковых гидролизатов .....</b>	<b>296</b>
6.1. Использование белковых гидролизатов в медицине .....	296
6.2. Белковые гидролизаты в пищевой промышленности .....	300
6.2.1. Гидролизаты на основе мясного сырья.....	308
6.2.2. Гидролизаты соединительной ткани.....	312
6.2.3. Гидролизаты белков молока .....	318
6.2.4. Гидролизаты растительных белков .....	324
6.2.5. Гидролизаты на основе биомассы микроорганизмов .....	328
6.2.6. Белковые гидролизаты из рыбного сырья .....	332
6.2.7. Использование ферментных препаратов для разложения ястычной оболочки икры.....	345
6.3. Методы получения и свойства БАД к пище на основе ферментативных гидролизатов .....	353
6.3.1. БАД к пище на основе гидролизатов моллюсков .....	353
6.3.2. БАД к пище на основе гидролизатов гонад морских организмов .....	361

6.3.3. БАД к пище на основе гидролизатов из хрящевой ткани морских организмов .....	373
6.3.4. Гидролизаты из мышечной ткани голотурий .....	400
<b>6.4. Использование белковых гидролизатов в ветеринарии и животноводстве .....</b>	<b>410</b>
6.4.1. Гидролиз комбикормов и их составных частей .....	415
6.4.2. Эффективность использования ферментных препаратов в рационах растущих откармливаемых свиней .....	417
6.4.3. Испытания ростостимулирующей подкормки на телятах-молочниках .....	419
6.4.4. Испытание ферментных препаратов при выращивании бройлеров .....	421
6.4.5. Использование протеолитических ферментов при выращивании молоди рыб .....	422
<b>6.5. Использование гидролизатов в бактериальных питательных средах .....</b>	<b>426</b>
6.5.1. Производство питательных сред на основе рыбного сырья .....	430
6.5.2. Использование аминокептидного концентрата для получения питательных сред .....	436
6.6. Использование гидролизатов в составе культуральных питательных сред .....	439
6.7. Другие области применения гидролизатов .....	442
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....</b>	<b>445</b>
<b>БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК .....</b>	<b>448</b>