

ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ GALLERIA MELLONELLA В БИОТЕХНОЛОГИИ**Е.А. Прутенская, А. Айт Балахсен, В.А. Базулева**

ФГБОУ ВПО «Тверской государственный технический университет», Тверь, Россия

В последнее время насекомые стали активно использоваться в биотехнологии не только как источник клеточных линий, но и как продуценты биологически активных веществ. Чаще всего проводятся исследования с личинками зеленой мухи, мучного хряща, зофобаса [1–4], а также личинками восковой моли [5]. Для промышленного культивирования считаются пригодными саранча, муха черная львинка, мраморный таракан и другие. К преимуществам использования насекомых в биотехнологических процессах относят [6, 7]: легкость выращивания объекта, низкая себестоимость субстратов, не длительный жизненный цикл, быстрое наращивание биомассы. Все это позволяет создать конкурентоспособное производство.

Считается, что к 2030 году сильно увеличится количество площадей по выращиванию биомассы личинок для получения белка и жира [4]. Это связано с тем, что белковая продукция, полученная из насекомых, пользуется большим спросом в животноводческом комплексе, зоопарках, рыбных хозяйствах. Личинки используют в качестве корма в культуре земноводных, например для наращивания биомассы молодых жаб [1]. Кроме этого, из насекомых получают карминовую кислоту, хитин, меланин, хитозан и т. д. [8, 9].

Широкое применение в настоящее время находят и личинки *Galleria mellonella*. Большое количество исследований направлено на изучение веществ белковой природы в иммунном ответе. Пчелиную моль используют в качестве экспериментальной модели при изучении ответной реакции на заражение патогенной микрофлоры: микроскопическими грибами, золотистым стафилококком и т. д. Эта модель дает полезную информацию о механизмах вирулентности, патогенеза и противомикробной эффективности. В последние несколько десятилетий исследования показали положительную корреляцию между результатами получено на моделях *G. mellonella* и млекопитающих [7, 10]. Отсутствие биоэтических ограничений и возможность выборки позволяет использовать *Galleria mellonella* в качестве тест-системы при определении LD50 лекарственных и токсичных веществ.

В исследованиях Осокиной А.С. [11] описано, что продукты жизнедеятельности личинок *G. mellonella* ослабляют антибиотикорезистентность *E. coli* и усиливают действие ряда антибиотиков (левомицитин, энрофлоксацин, гентомицин, доклицитин).

На кафедре Биотехнологии, химии и стандартизации ТвГТУ проводятся исследования по выделению белковых веществ из гусениц пчелиной моли и определению их функциональной активности.

Пчелиную моль выращивали в стеклянном реакторе, на старых сотах без добавления воды и других субстратов. Температура поддерживалась в диапазоне 25⁰С. Субстрат докладывали дважды для увеличения массы гусениц. По окончании процесса выбирали гусениц и замораживали. Затем осуществляли химические и биохимические анализы.

В соответствии с ГОСТ 13496.4–93 было определено общее содержание белка в гусеница, массовая доля составила 43,68. В связи с тем, что в гусеницах было обнаружено большое количество белка был изучен его аминокислотный состав. Были обнаружены следующие аминокислоты: лизин – 1,33 %, аргинин – 1,96 %, глицин – 1,96 %, тирозин – 1,27 %.

В соответствии с полученными и литературными данными гусеницы пчелиной моли, выращенные на сотах, могут быть использованы в качестве кормовой добавки.

Следующим этапом работы стало фракционирование белков и изучение их функциональной активности. Извлечение белков из гомогенизата гусениц осуществляли фосфатными буферами. Осаждение белковой фракции осуществляли сульфатом аммония. Полученные белковые вещества использовали в опытах в качестве реактивов. Ферментативные реакции проводили с использованием двух субстратов: растительного масла и тирозина. Белковые вещества, выделенные фосфатными буферами в диапазоне рН от 6 до 8, оказались активными в отношении растительного масла, следовательно в составе белковой фракции имеются липазы. Белковые фракции, выделенные фосфатными буферами с рН 7–9, трансформировали тирозин в темноокрашенные соединения (рисунок 1).



Рис. 1 – Изучение тирозиназной активности белковых веществ, выделенных из гусениц пчелиной моли

В соответствии с полученными результатами можно сказать, что в белковых фракциях находится тирозиназа.

Тирозиназа – фермент, катализирующий синтез меланина из тирозина. Следовательно, темноокрашенные соединения, полученные в результате биохимических реакций – меланин. Для интенсификации синтеза меланина было изучено влияние pH среды на активность тирозиназы (таблица 1). Наибольшее количество меланина было образовано при pH 9,18.

Таблица 1 – Влияние pH среды на активность тирозиназы

| | | | | |
|----------------------|-------|-------|-------|-------|
| pH | 5,91 | 6,98 | 8,04 | 9,18 |
| Оптическая плотность | 0,497 | 0,682 | 0,770 | 0,803 |

Получение меланина с использованием ферментов гусениц *Galleria mellonella* является перспективным направлением исследований. Меланин имеет широкий спектр применений, включая косметическую, фармацевтическую и радиоэлектронную отрасли. При использовании ферментов из гусениц возможно получение меланина с более высокой степенью чистоты и биологической активности.

Итак, на основании полученных результатов исследования можно сказать, что гусеницы *Galleria mellonella* представляют потенциальный источник белковых веществ, в том числе ферментов для синтеза меланина. При этом процесс получения меланина с использованием этих ферментов имеет перспективы для промышленного применения. Дальнейшие исследования в этой области могут привести к разработке новых методов и технологий получения меланина с помощью ферментов гусениц и расширению его применения в различных отраслях.

Литература

1. Дроздова Л.С. и др. Переваримость питательных веществ некоторых живых кормов у жабы Латаста, BUFOTES LATASTII (AMPHIBIA, ANURA, BUFONIDAE) после метаморфоза // Естественные и технические науки. 2020. № 3 С. 88–94.
2. Зименс Ю.Н. Альтернативные источники белка и их использование в рыбоводстве / Зименс Ю.Н., Орленко Е.В., Витулис О.Е. // В сборнике: Состояние и пути развития аквакультуры в Российской Федерации. Материалы VII национальной научно-практической конференции. – Саратов. – 2022. – С. 45–49.
3. Данильченко С. и др. Насекомые как альтернативный источник белка // Агрокрым. – 2021.– № 16(212). – С. 6.
4. Карабут Т. Протеин XXI века: сверчки, тараканы и личинки мух/ Карабут Т. // Агроинвестор. – 2019.– № 6.-с. 44–51.
5. Пономарев В.Л. Феромоны большой вощинки огневки (GALLERIA MELLONELLA) и соснового коконопряда (Dendrolimus PIN L.)/ Пономарев В.Л. автореферат канд диссертации на к.б.н. г. Москва 2007. – 16 с.
6. Гайдай Д.С. Личинки большой восковой моли как модельный объект для исследования новых лекарственных средств / Гайдай Д.С., Гайдай Е.А., Макарова М.Н. // Международный вестник ветеринарии. – 2017.– № 2. – с. 82–90.
7. Jorj~aoa A.L. et al. From moths to caterpillars: Ideal conditions for *Galleria mellonella* rearing for in vivo microbiological studies/ //Virulence. – 2018. – V. 9.– № 1. – P. 383–389: doi.org/10.1080/21505594.2017.1397871
8. Пастернак Н.А. и др. История применения карминового красителя // Сборник по материалам Всероссийской научно-практической конференции Дизайн и искусство – стратегия проектной культуры XXI века. – 2019. – с. 76–79.
9. Останина Е.С. Получение хитина и хитозана из восковой моли *Galleria mellonella*/ Останина Е.С., Лопатин С.А., В.П. Варламов // Биотехнология. – 2007. – № 3.-с. 38–45.
10. Borman A.M. Of mice and men and larvae: *Galleria mellonella* to model the early host-pathogen interactions after fungal infection/ Borman A.M. // Virulence. – 2018. – V. 9.– № 1. – P. 9–12:doi.org/10.1080/21505594.2017.1382799
11. Осокина А.С. Определение микробной чувствительности к экстрактам из личинок большой восковой моли и их продуктов жизнедеятельности (GALLERIA MELLONELLA L.) / Осокина А.А., Масленников И.В. // Вестник КрасГАУ. – 2021.– № 7. – С. 100–107. DOI: 10.36718/1819-4036-2021-7-100-107