



# **МОДИФИКАЦИЯ ПЕКТИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ, ПРОДУЦИРУЕМЫХ КАЛЛУСНЫМИ КУЛЬТУРАМИ**

**ГЮНТЕР Е. А., ПОПЕЙКО О.В., ОВОДОВ Ю.С.**

*Институт физиологии Коми НЦ УрО РАН,  
Сыктывкар*

## **Актуальность**

- ◆ Полисахариды растений проявляют разнообразную физиологическую активность (иммуномодулирующую, противовоспалительную, антиоксидантную, противоопухолевую), которая обусловлена особенностями их структуры.
- ◆ Поиск эффективных источников сырья и методов модификации полисахаридов с целью их получения с заданными свойствами и структурой.
- ◆ Стандартизация химического состава и биологической активности полисахаридов.
- ◆ Применение биотехнологических методов получения и модификации полисахаридов, в частности, с использованием культуры растительных клеток.
- ◆ Разработка способов направленной модуляции ферментативной активности (карбогидраз).

### **Цель:**

Изучение действия карбогидраз на биосинтез и химические характеристики полисахаридов, продуцируемых каллусными культурами смолевки обыкновенной и ряски малой.

# КАЛЛУСНЫЕ КУЛЬТУРЫ

Смолевка обыкновенная  
(*Silene vulgaris* (M.) G.,  
*Oberna behen* (L.) I.)



Арабиногалактаны:  
внутриклеточный AG1,  
внеклеточный AG2

Ряска малая  
(*Lemna minor* L.)



Пектины:  
SVC – силенан (смолевка обыкновенная)  
LMC – лемнан (ряска малая)

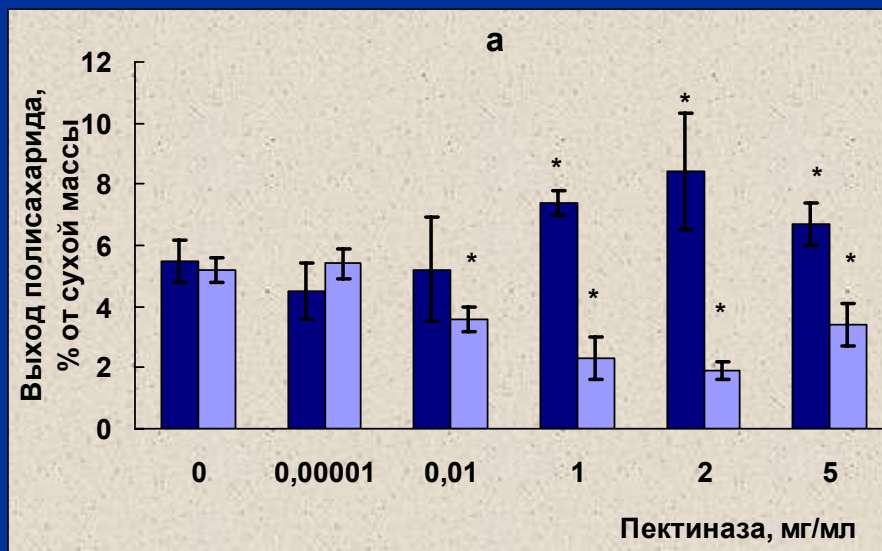
## Содержание\* полисахаридов в каллусных культурах

Культура	Пектин, %	Арабиногалактан, %
Смолевка обыкновенная <i>Silene vulgaris</i>	1-11	4-8
Ряска малая <i>Lemna minor</i>	1-3	1-3

\* Выход полисахарида, % от сухой массы



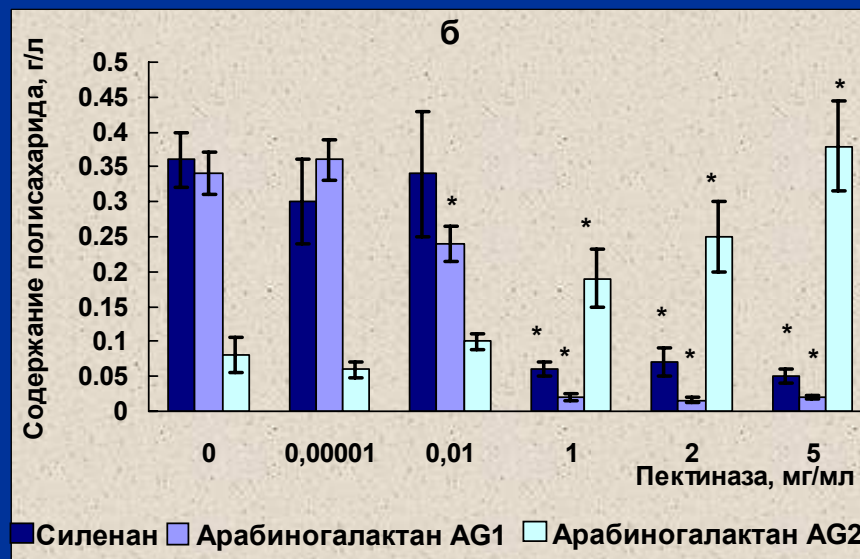
## Влияние пектиназы на содержание полисахаридов в каллусе смолевки



Пектиназа 1 - 5 мг/мл:  
увеличение выхода пектина SVC до 6,7–8,4%,  
снижение продуктивности на 1 л среды в 5–8 раз.

Пектиназа 10<sup>-2</sup> - 5 мг/мл:  
снижение выхода и продуктивности  
внутриклеточного арабиногалактана AG1  
в 1,4-2,7 и 1,4-17 раз соответственно.

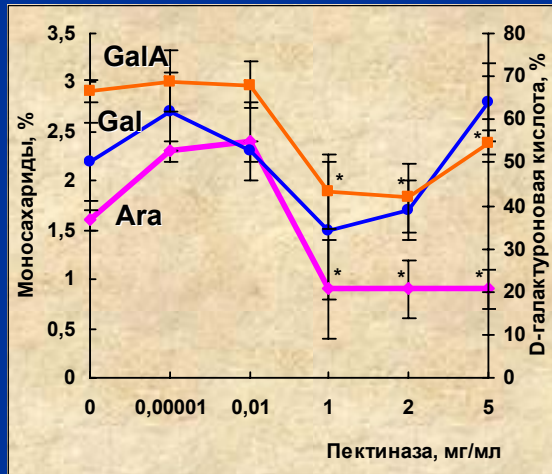
Пектиназа 1-5 мг/мл:  
увеличение содержания на 1 л среды  
внеклеточного AG2 в 2,4-4,8 раза.



■ Силенан    ■ Арабиногалактан AG1    ■ Арабиногалактан AG2

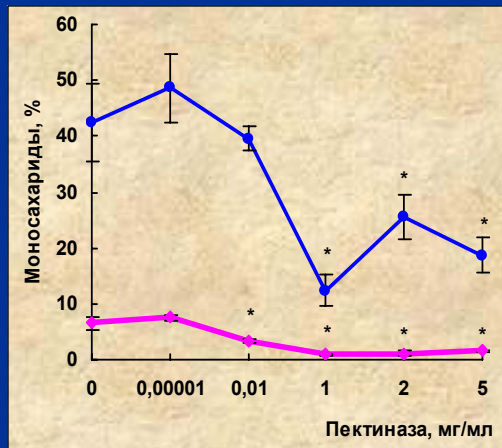
# Влияние пектиназы на содержание галактозы (Gal), арабинозы (Ara) и галактуроновой кислоты (GalA) в полисахаридах и активность карбогидраз

## Силенан



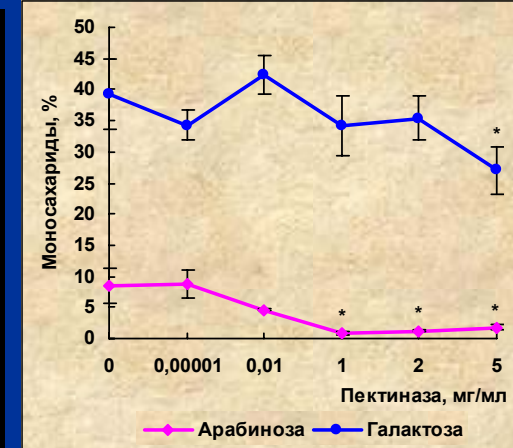
**Снижение содержания Ara на 44% и GalA на 18-37%. Снижение молекулярной массы с 300-500 кДа до 100-300 кДа.**

## Внутриклеточный арабиногалактан (AG1)

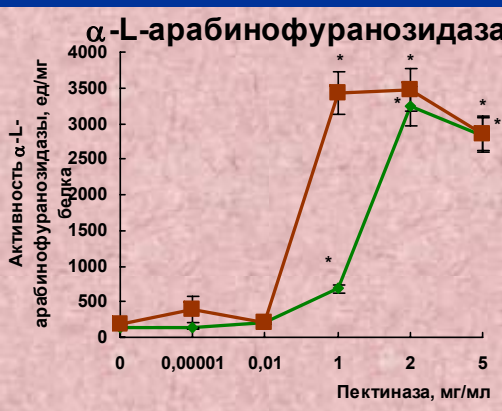
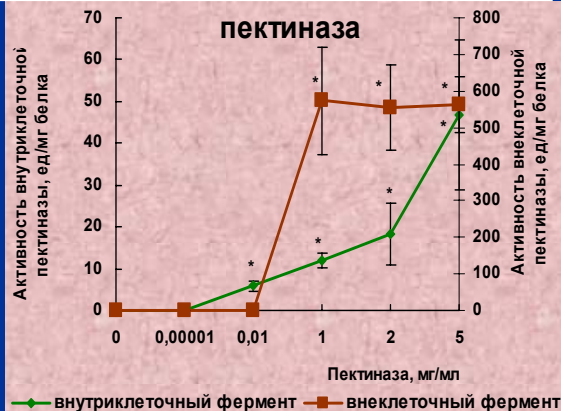


**Снижение содержания Ara на 49-86% и Gal на 40-69%.**

## Внеклеточный арабиногалактан (AG2)

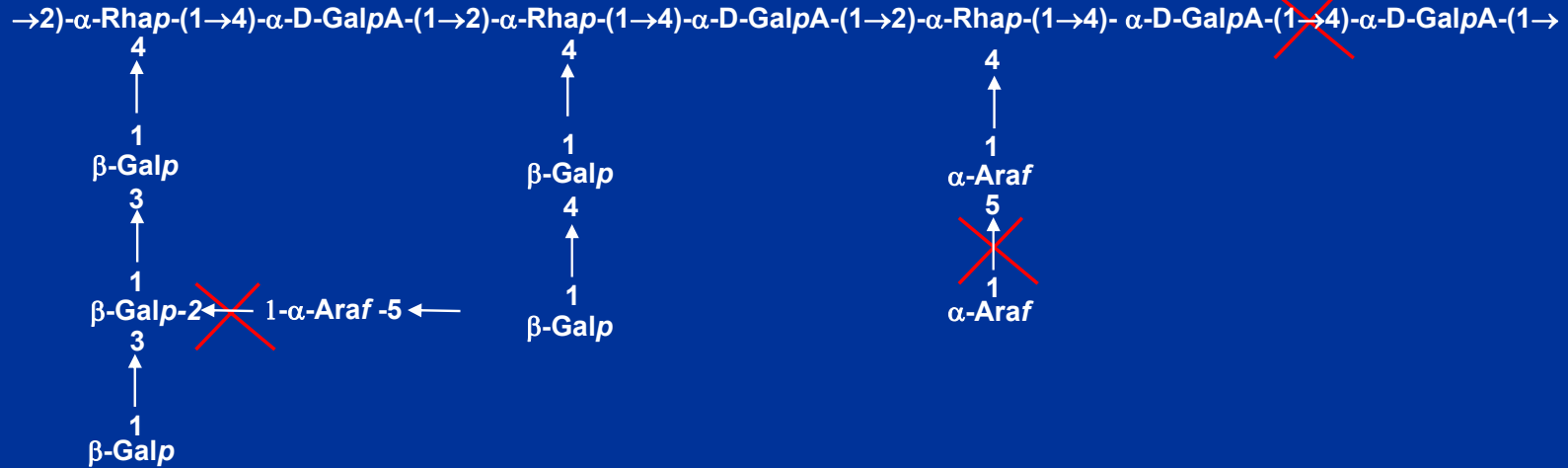


**Снижение содержания Ara на 79-90% и Gal на 31%.**

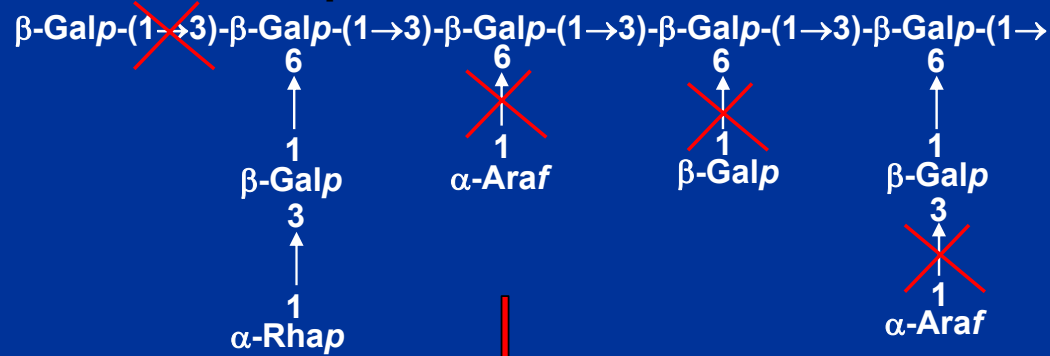


# Модификация полисахаридов под действием пектиназы

## пектин силенан



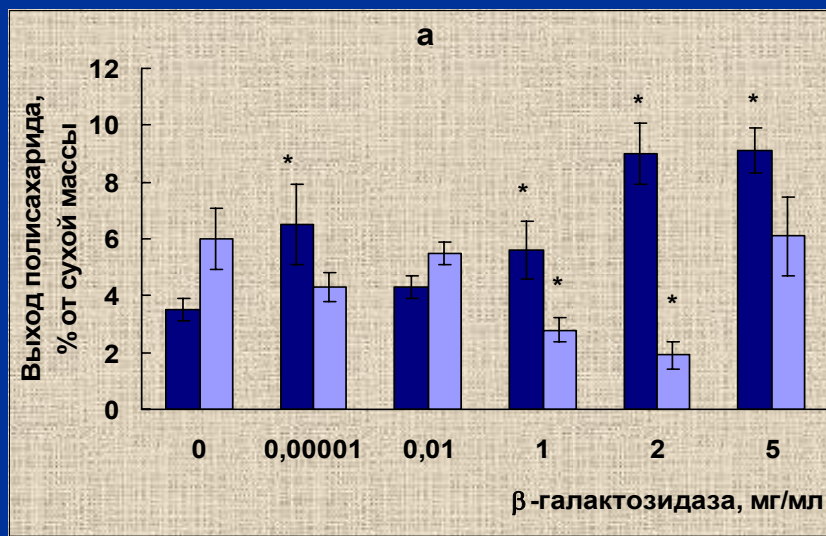
## арабиногалактан



## галактан



## Влияние $\beta$ -галактозидазы на содержание полисахаридов в каллусе смолевки

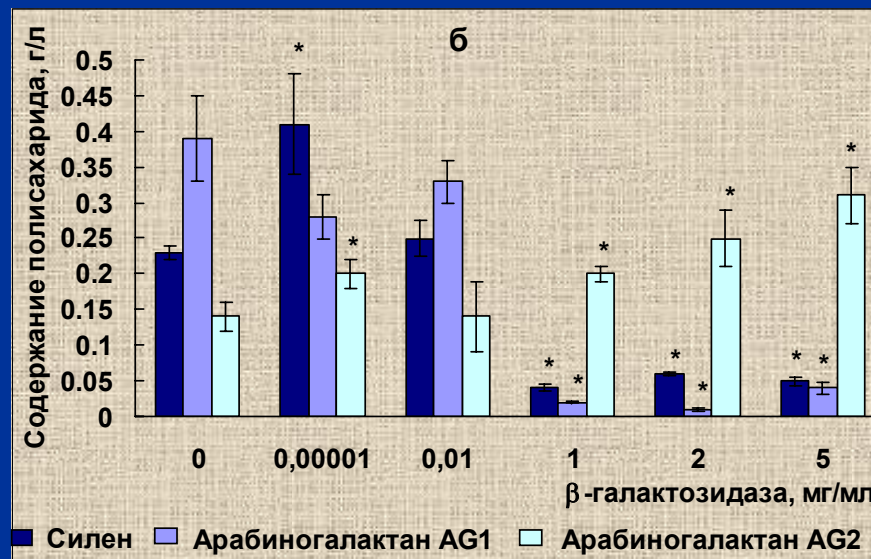


Галактозидаза  $10^{-5}$  мг/мл:  
увеличение выхода пектина SVC и продуктивности на 1 л среды в 2 раза.

Галактозидаза 1 - 5 мг/мл:  
увеличение выхода пектина SVC в 2-3 раза, снижение продуктивности на 1 л среды в 4-6 раз.

Галактозидаза 1 - 2 мг/мл:  
снижение выхода и продуктивности внутриклеточного арабиногалактана AG1.

Галактозидаза  $10^{-5}$  - 5 мг/мл:  
увеличение содержания на 1 л среды внеклеточного AG2 в 1,4-2,2 раза.

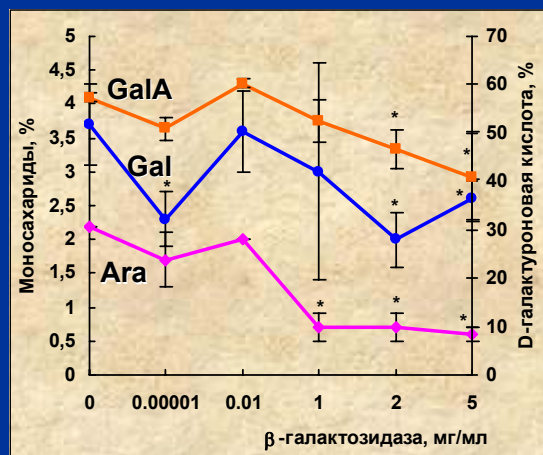


■ Силен    ■ Арабиногалактан AG1    ■ Арабиногалактан AG2



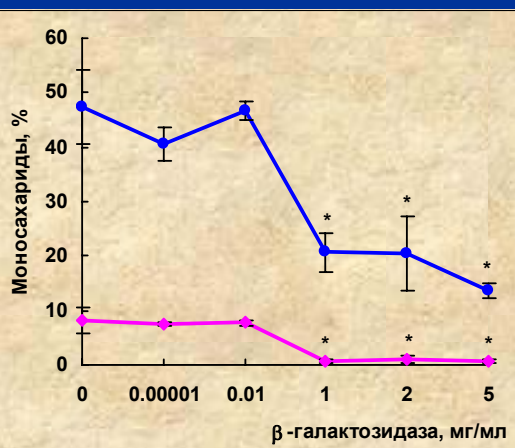
# Влияние $\beta$ -галактозидазы на содержание галактозы (Gal), арабинозы (Ara) и галактуроновой кислоты (GalA) в полисахаридах и активность карбогидраз

## Силенан



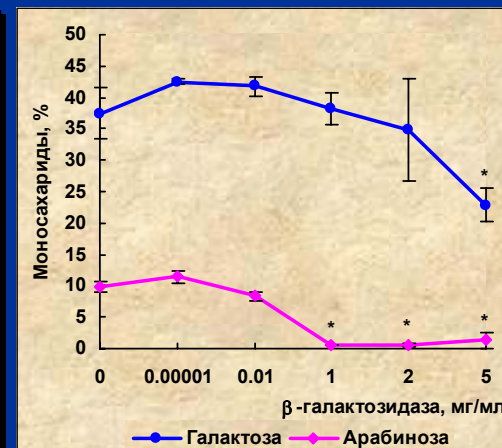
**Снижение содержания Ara на 68-73%, Gal на 30-46% и GalA на 19-29%**

## Внутриклеточный арабиногалактан (AG1)

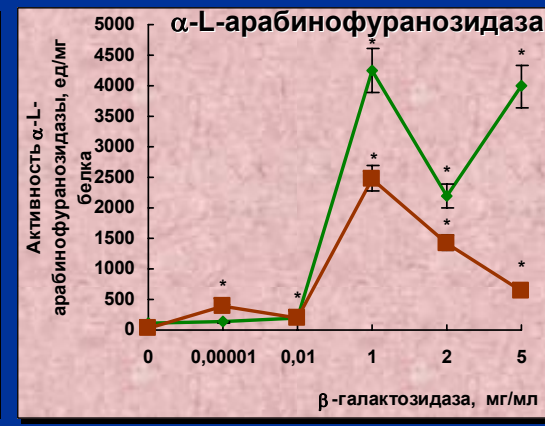
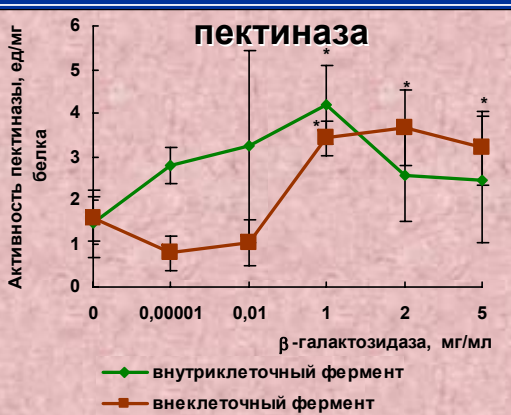


**Снижение содержания Ara на 89-91% и Gal на 56-71%**

## Внеклеточный арабиногалактан (AG2)

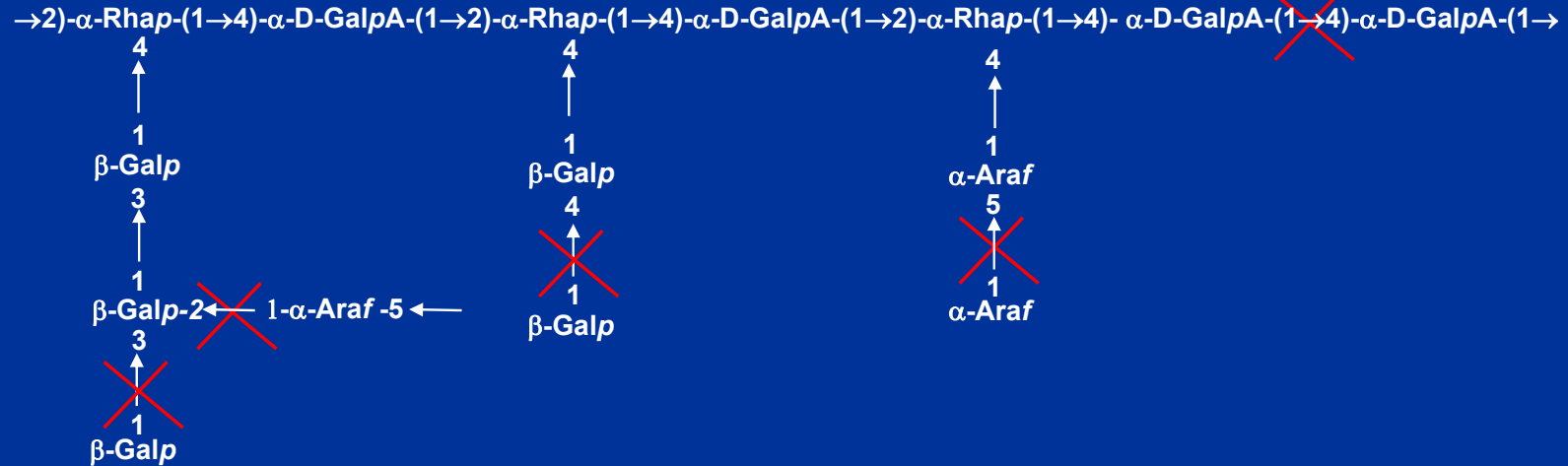


**Снижение содержания Ara на 87-95% и Gal на 39%**

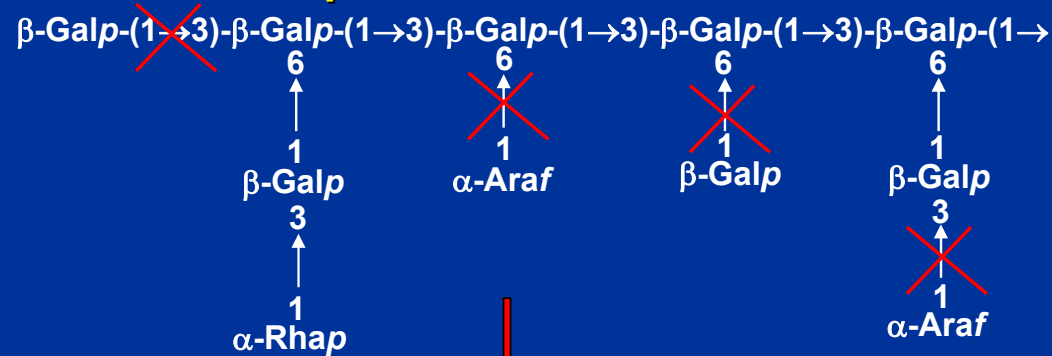


# Модификация полисахаридов под действием β-галактозидазы

## пектин силенан



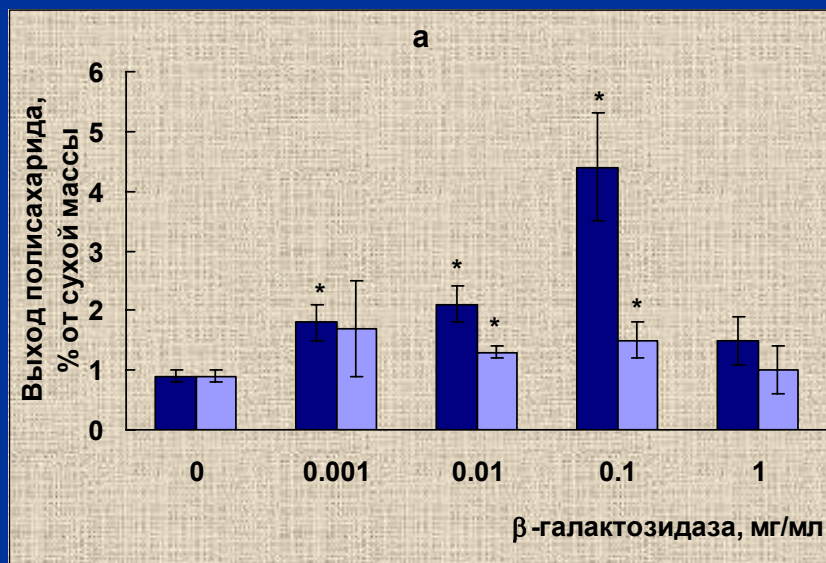
## арабиногалактан



## галактан

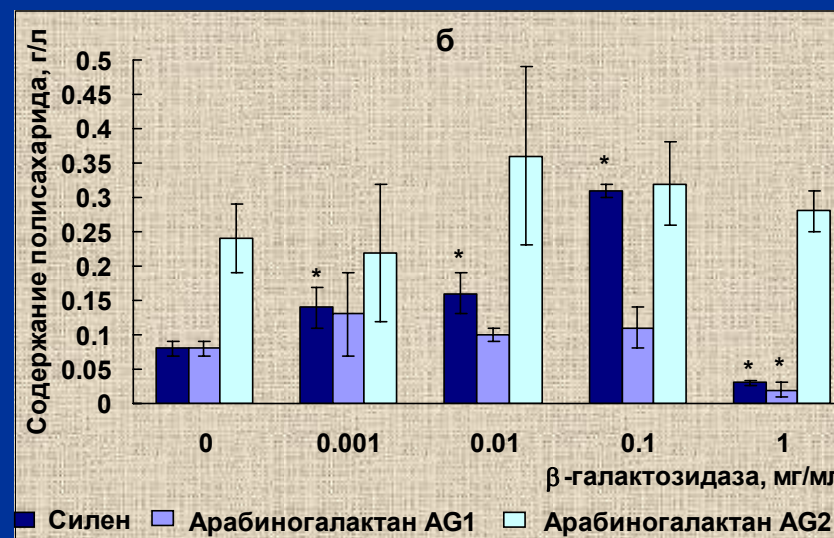


## Влияние $\beta$ -галактозидазы на содержание полисахаридов в каллусе ряски



Галактозидаза  $10^{-3}$  -  $10^{-1}$  мг/мл:  
увеличение выхода пектина LMC  
и продуктивности на 1 л среды  
в 2-5 раз.

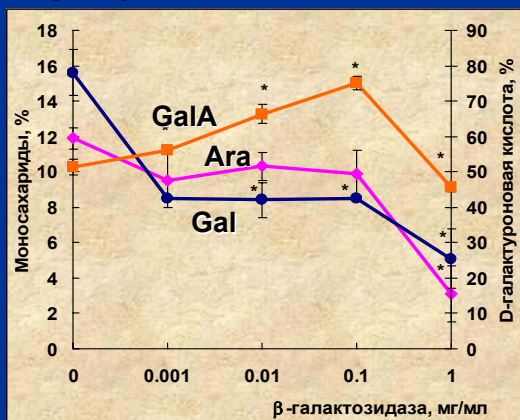
Галактозидаза  $10^{-2}$  -  $10^{-1}$  мг/мл:  
увеличение выхода  
внутриклеточного арабиногалактана  
AG1 в 1,4-2,0 раза.



■ Силен ■ Арабиногалактан AG1 ■ Арабиногалактан AG2

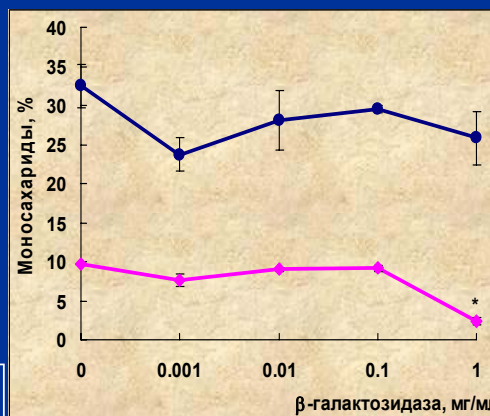
# Влияние $\beta$ -галактозидазы на содержание галактозы (Gal), арабинозы (Ara) и галактуроновой кислоты (GalA) в полисахаридах и активность карбогидраз

## Лемнан



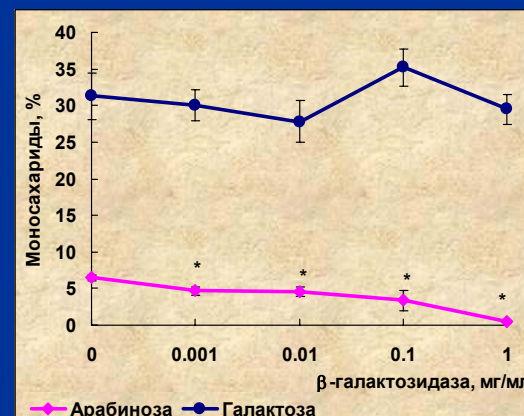
Снижение содержания Gal на 46% и увеличение содержания GalA на 9-46% при  $10^{-3}$ - $10^{-1}$  мг/мл. Снижение содержания Ara, Gal и GalA при 1 мг/мл. Увеличение выхода фрагментов с Mw = 100-300 кДа.

## Внутриклеточный арабиногалактан (AG1)

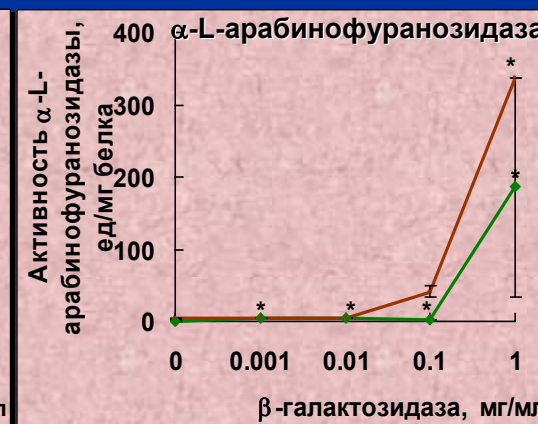
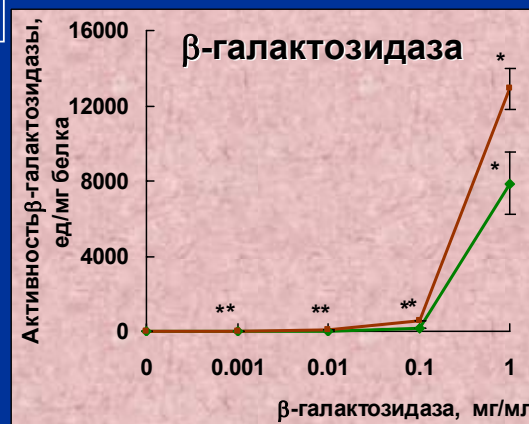
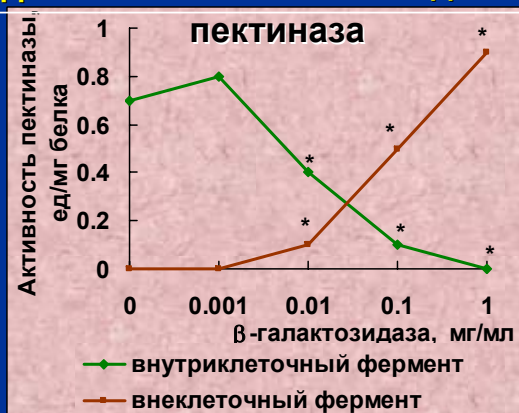


Снижение содержания Ara на 75%.

## Внеклеточный арабиногалактан (AG2)

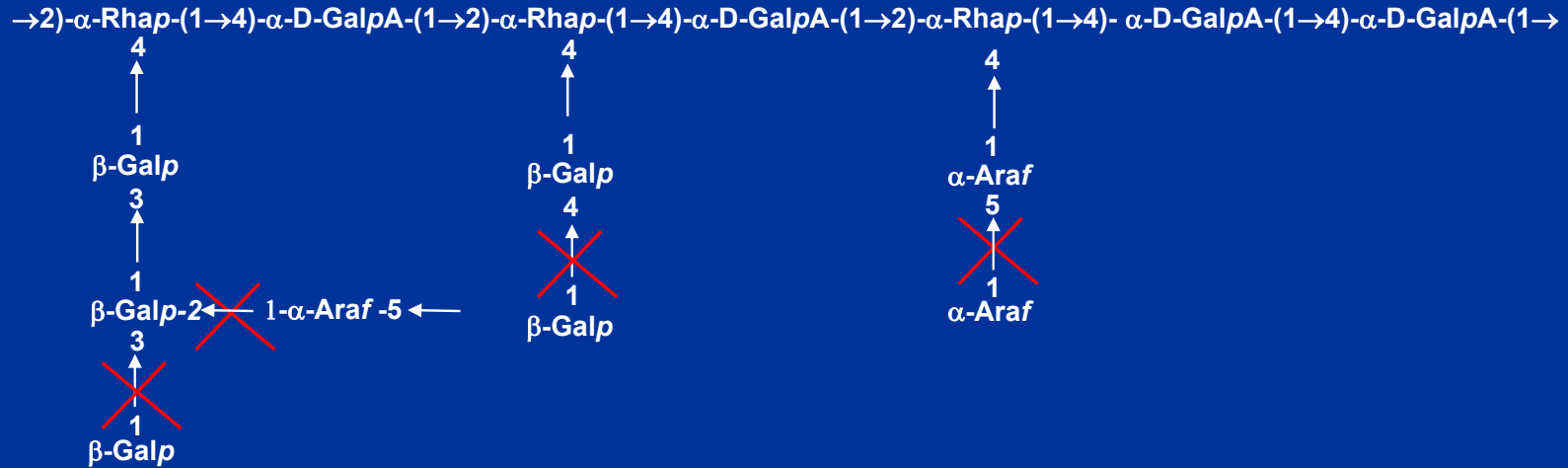


Снижение содержания Ara на 28-92%.

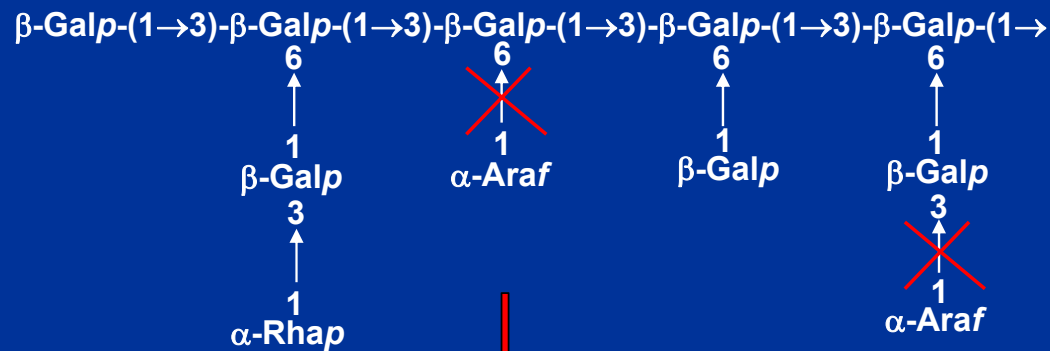


# Модификация полисахаридов под действием β-галактозидазы

## пектин лемнан



## арабиногалактан



## галактан



## **Выводы:**

- 1. В результате культивирования растительных клеток на средах с различными концентрациями пектиназы получены образцы пектина и арабиногалактана с низким содержанием арабинозы в боковых цепях и галактан.**
- 2. Из каллусов, выращенных на среде с  $\beta$ -галактозидазой, получены образцы пектина с низким содержанием арабинозы и галактозы в боковых цепях, а также образцы галактана.**
- 3. Изменения в моносахаридном составе полисахаридов связаны с увеличением активности  $\alpha$ -L-арабинофуранозидазы,  $\beta$ -галактозидазы и пектиназы.**
- 4. Культивирование растительных клеток на среде с карбогидразами, приводящее к изменению строения полисахаридов клеточных стенок, может использоваться как инструмент для модификации структурных особенностей пектиновых веществ.**

*Благодарю за внимание*