

2. Bakulina O. N., Nekrasova T. E. Criteria quality of carotenoids // Oil and fat industry. 2011. 3: 10-12.
3. Kudryavtsev V.V. // Modern Scientific Bulletin. Series: Engineerings sciences. 2014. 34 (230): 5-10.
4. Platonov A. E. Statistical analysis in medicine and biology. M: RAMS, 2010. 52.

БІОТЕХНОЛОГІЯ ОТРИМАННЯ УБІХІНОНУ Q10 ДЛЯ ТЕРАПІЇ МІТОХОНДРІАЛЬНИХ ХВОРОБ

Є.Р. Франчук

Національний технічний університет «ХПІ»

Yehor.Franchuk@iht.khpi.edu.ua

Мітохондріальні хвороби можуть бути як спадковими, так і наслідком дії сильного стресового фактору. Такий фактор спричиняє активацію білків-каналів, через які в цитоплазму виходить цитохром-С, який призводить до ряду біохімічних змін, що ведуть до каскаду касказ, а останні – до апоптозу. В здоровому стані організм має багаторівневу захисну систему, що не дозволяє перейти клітині до стану латентної фази апоптозу [1, 2].

Крім того, мітохондрії відіграють важливу роль в імунітеті людини. Явище нетозу характеризується вибухом клітини з вивільненням мітохондріальної ДНК, завдяки чому утворюються нейтрофільні пастки, які слугують таргетною точкою для лімфоцитів. З цього моменту розпочинається запальна реакція. Імунна система знешкоджує залишки мітохондрії та клітини, що її містила, тому в цей час вона не здатна реагувати на інші чужорідні агенти. Особливо цей ефект помітний при гострих інфекційних хворобах. Для протидії цьому явищу, з одного боку, необхідно блокувати канал вивільнення цитохрому-С, що робиться на різних рівнях. Сьогодні немає препарату, який дозволив би повністю вирішити цю проблему. З іншого боку, можна зупинити деякі сигнали на рівні перехресного окиснення ліпідів. Таким чином, вітаміни та інші антиоксидантні, фармацевтично активні інгредієнти застосовуються у боротьбі з дисфункцією мітохондрій [2, 3].

Мітохондріальні спадкові хвороби передаються виключно по материнській лінії, хоча були одиничні повідомлення про спадкування від батька. Ці хвороби характеризуються неспроможністю повністю задовольнити енергетичні потреби, тому страждають, в основному, м'язові та нервові тканини. Фенотипічний прояв залежить від співвідношення здорових мітохондрій і з дисфункцією, тому спостерігається неоднорідність серед клітин однієї тканини. В даному випадку блокуються гени, що відповідають за синтез тих чи інших білків, серед яких ферменти ланцюгу переносу електронів [3].

Терапія при міопатіях і нейропатіях заснована на застосуванні вітамінів, що виступають простетичними групами або коферментами транспортних білків. Можуть блокуватися гени, що відповідають за синтез ферментів, які беруть участь в окисному декарбоксілюванні пірувату та бета-окисненні жирних кислот. Виходячи з вище згаданого, в терапії мітохондріальних хвороб використовують фармацевтичні препарати та харчові добавки на основі тиміну (вітаміну В1), рибофлавіну (вітаміну В2), біотину (вітаміну В7), убіхінону (коензиму Q10), нікотинової кислоти (вітаміну РР або В3) тощо. Терапевтична дія тиміну поки не була доведена [3].

Наразі єдиним комерційним препаратом, за допомогою якого лікують мітохондріальні хвороби (зокрема, спадкову зорову нейропатію), є ідебенон від Рахоне. Це синтетичне похідне від убіхінону Q10, який має скорочений ланцюг і володіє поліпшеною розчинністю та фармакокінетикою [3].

Таким чином, питання оптимізації виробництва убіхінону Q10 являється актуальним.

Кофермент Q10 (убіхінон) можна отримати шляхом хімічного синтезу, напівхімічного синтезу та мікробної конверсії. Біотехнологічне виробництво було здійснено з використанням штамів родів *Agrobacterium*, *Rhodobacter* та *Paracoccus* [1].

Біосинтез коензиму Q10 складається з трьох частин, серед яких: синтез хіноноїдного кільця, синтез кільця декапренілдіфосфату та модифікація хіноноїдного кільця. Існують відмінності у постачанні попередників для прокариотів та еукаріотів [1].

В існуючих патентах описано, що різні мікроорганізми, включаючи бактерії (наприклад, *Agrobacterium*, *Rhodobacter*, *Paracoccus*) та дріжджі (наприклад, *Candida*, *Rhodotorula*, *Saitoella*), взаємодіють як продуценти коензиму Q10. Зокрема, селекційні дослідження штамів дикого типу показали, що *A. tumefaciens* ATCC 4452, *Rhodobacter sphaeroides* FERM-P4675 та *P. denitrificans* ATCC 19367 є відмінними продуцентами коензиму Q10 [1].

Надалі на ці штами здійснювався вплив хімічними мутагенами. Використовували N-метил-N'-нітро-N-нітрозогуанідин як мутаген і деякі препарати, такі як L-етіонін [1].

Серія мутацій з використанням різних селекційних маркерів та резистентності до препаратів призвела до створення мутантного штаму *A. tumefaciens* AU-55, який може продукувати до 180 мг·л⁻¹ коензиму Q10 за 58 год. зі специфічним вмістом коензиму Q10 4,5 мг·г⁻¹ сухої клітинної маси. Інший мутантний штам, *R. sphaeroides* Co-22-11, продукував 346,8 мг·л⁻¹ кінцевої концентрації коензиму Q10 з 8,7 мг·г⁻¹ сухої маси клітин за обмеженого доступу повітря в колбах Ерленмейєра без дефлекторних пластин. В умовах низької аерації багатопшарові структури внутрішніх мембран, які утримували коензим Q10, сильно деградували [1].

З метою підвищення виходу коензиму Q10 у мутантних штамів було оптимізовано температуру, співвідношення вуглець/азот, подачу кисню та окисно-відновний потенціал. Так для штаму *Rhodobacter sphaeroides* підібрали температуру та співвідношення вуглець/азот, для *A. tumefaciens* – співвідношення вуглець/азот. У випадку *A. tumefaciens* ATCC 4452, для забезпечення високої продуктивності та зниження в'язкості культурального бульйону за рахунок утворення позаклітинних полісахаридів, оптимальними умовами були 8% цукру, 0,16-0,26% амонійного азоту та температура 32-34°C. Оптимальне поглинання кисню для вище згаданого мутанта визначали при 0,84 ммоль O₂ л⁻¹·хв⁻¹ для максимальної концентрації коензиму Q10 66 мг·л⁻¹·хв⁻¹ та при 0,58 ммоль O₂ л⁻¹·хв⁻¹ для максимального питомого вмісту коензиму Q10 3,2 мг·г⁻¹ сухої речовини [1].

E. coli, яка виробляє коензим Q8 природним шляхом, можна маніпулювати для синтезу коензиму Q10 шляхом введення гена декапренілдіфосфатсинтази з різних організмів. Нещодавно були проведені дослідження ферментації з виробництва коензиму Q10 з використанням рекомбінантної *E. coli*, що містить ген декапренілдіфосфатсинтази *G. suboxydans*. Ферментація в режимі періодичної подачі з обмеженням глюкози дала кінцеву концентрацію 103 г·л⁻¹ клітин, 25,5 мг·л⁻¹ коензиму Q10 та 0,29 мг·л⁻¹ питомого вмісту коензиму Q10. Такий низький рівень питомого вмісту коензиму Q10 може бути покращений шляхом метаболічної інженерії синтезу попередників з введенням ключових ферментів [1].

Методи метаболічної модифікації виробництва ізопреноїдів, таких як терпени та каротиноїди, можуть бути застосовані і для виробництва коензиму Q10, біосинтез якого містить ті ж будівельні блоки, включаючи IPP та DMAPP. Спостерегалось, що індивідуальна або комбінована надмірна експресія генів *dxs* і *dxr*, а також генів *idi* і *ispA*, що стосуються синтезу FPP, покращувала вихід ізопреноїдів [1, 4].

Отже, існує багато способів синтезу убіхінону, але досі не вирішено питання щодо вибору штаму-продуцента для виключно біотехнологічного отримання коензиму Q10. Методи біохімічної інженерії, переважно епігенетичні, дозволили б реалізувати вже добре вивчену *E. coli*. Такий підхід сприяв би зменшенню собівартості готового продукту. Убіхінон може застосовуватися у терапії спадкових мітохондріальних хвороб і для виготовлення синтетичного похідного – ідебенона [1, 2].

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Choi J.H. // Biotechnological production and applications of coenzyme Q10. 2005. Vol. 68, 9-15.
2. Radelfahr F. // Diagnostik und Therapie Mitochondrialer Erkrankungen. 2018. Vol. 86. Issue 9, 584-591.
3. Wei W. // Inheritance of mitochondrial DNA in humans: implications for rare and common diseases. 2020. Vol. 287 Issue 6, 634-644.
4. Lee P.C. // Investigation of factors influencing production of the monocyclic carotenoid torulene in metabolically engineered *Escherichia coli*. 2004. Vol. 65, 538–546.

ПРОБЛЕМИ ЗАСТОСУВАННЯ ПРОБІОТИКІВ У КОСМЕТИЧНІЙ ПРОДУКЦІЇ ДЛЯ ДОГЛЯДУ ЗА ШКІРОЮ

Л.М. Буценко

Національний університет харчових технологій
l.m.butsenko@gmail.com

Сьогодні все частіше у рекламних компаніях найрізноманітніших засобів для догляду за шкірою людини можемо зустріти інформацію про використання у складі засобів пробіотиків, що має позитивно вплинути на стан шкіри споживачів. Метою роботи було вивчення ринку таких засобів та оцінка перспектив застосування пробіотиків у складі косметичних засобів для догляду за шкірою.

Необхідно зауважити, що через різні причини (зокрема, постійне використання миючих засобів, уживання ліків, застосування косметичних препаратів, проживання в урбаністичному середовищі та інше) в останні роки значно зменшилося біорізноманіття мікробіому шкіри людини [1–3]. Зважаючи на надзвичайно важливе значення цього фактора для підтримки здоров'я як шкіри, так і людини загалом, намагання застосувати пробіотики для корекції мікробіому видаються цілком обгрунтованими. Адже зміна мікробіома шкіри вважається однією з причин зростання кількості шкірних алергій за останні 75 років [4]. Широкий спектр шкірних захворювань обумовлено зміною мікробіому шкіри. Ці захворювання включають атопічний дерматит, акне, себорейний дерматит і хронічні рани. У збідненому мікробіомі коменсальні бактерії (наприклад, *Staphylococcus epidermidis*) можуть демонструвати патогенні властивості та викликати інвазивну інфекцію [5]. Наприклад, було продемонстровано кореляцію між тяжкістю екземи та колонізацією *Staphylococcus aureus* [4], і високі рівні тих самих бактерій спостерігаються при багатьох інфекціях шкіри та тканин.

Разом із цим, необхідно пам'ятати, що наші поточні знання про склад мікробіому здорової шкіри недостатньо повні [2]. Порівняно з іншими мікробіомами слизової оболонки, мікробіом шкіри демонструє найбільшу мінливість з часом і містить найбільшу філогенетичну різноманітність. Крім того, шкіра, як середовище для проживання мікроорганізмів, є досить неоднорідною. Фактори, що впливають на зміну мікробіоти шкіри, включають щільність волосяних фолікулів і залоз (потових або сальних), фактори хазяїна (такі як вік і стать) і фактори навколишнього середовища (такі як професія, клімат і гігієна). Мікрооточення ділянки шкіри, значною мірою визначає колонізацію переважаючими видами, часові варіації та міжособистісні варіації. Наприклад, *Propionibacterium* spp. у сальних ділянках переважають *Corynebacterium* і *Staphylococcus* spp. переважають у вологих районах, а сухі райони демонструють найбільшу різноманітність [6]. Наведені фактори роблять надзвичайно складним, якщо взагалі можливим, застосування універсальних композицій пробіотиків для покращення стану різних ділянок шкіри багатьох людей.