

26. Біотехнологічний спосіб отримання гіалуронової кислоти

Тетяна Лупина, Олена Волошина

Національний університет харчових технологій

Вступ: Заміна традиційних способів виробництва цілого ряду речовин, що застосовуються в фармацевтичній промисловості, косметології, на біотехнологічні процеси почалася з кінця ХХ. Однією з таких речовин є гіалуронова кислота (ГК).

Відомо, що гіалуронова кислота є головним компонентом синовіальної рідини суглобів, тому препарати на її основі є одними з найефективніших і найбільш застосовуваних при лікуванні захворювань суглобів та хриців. В останні роки значно зросла кількість лікарських засобів, до складу яких входить гіалуронова кислота. Здатність прискорювати загоєння ран та антибактеріальний ефект дозволяє застосувати гіалуронову кислоту при лікуванні уражень та запалень шкіри. Широке застосування гіалуронова кислота знайшла також і в косметології [2].

Основна частина: Гіалуронова кислота (hyaluronic acid – HA, гіалуронан) – натуральний полісахарид, несультатований глікозаміноглікан, відноситься до гетерополісахаридів. Являє собою лінійну структуру, побудовану з повторюваних дисахаридних одиниць, що складаються із залишків β -D-глюкуронової кислоти і N-ацетил- β -D-глюкозаміну, з'єднаних по черзі β -1,4- та β -1,3-глікозидними зв'язками. Зустрічається у всіх хребетних організмів, також синтезується мікроорганізмами. Головною відмінністю ГК тваринної і бактеріальної природи є довжина кінцевого ланцюга полімеру (ступінь полімеризації n або молекулярна вага) [1].

Традиційний спосіб отримання ГК заснований на екстракції біополімеру з різних органів ссавців і птахів (склоподібне тіло ока великої рогатої худоби, гребні курей або пуповина новонароджених).

Біотехнологічний спосіб отримання заснований на культивуванні мікроорганізмів-продуцентів ГК. Основними продуцентами на сьогодні є мікроорганізми роду *Streptococcus*, а також генно-інженерні штами *Bacillus subtilis* та *Escherichia coli* [3].

Отримання гіалуронової кислоти включає аеробну ферментацію мікроорганізма-продуцента *Streptococcus equi* ВР-879 або *Streptococcus zooepidemicus* ВР-878 на поживному середовищі, що містить джерело азоту, вуглецю і мінеральні солі з додаванням бактеріолітичного ферменту, поверхнево-активних речовин, а також сироватки крові великої рогатої худоби. Ферментація здійснюється при 25–40°C і рН

6,5–8,0, упродовж 24-48 год., після чого біомасу центрифугують і виділяють цільовий продукт хроматографічним очищенням на іонообмінних смолах. Отримують ГК молекулярною масою $0,6-2 \times 10^6$ Да, вмістом білку менше 0,05% і в'язкістю 12-17,3 дл/г. Недолік даного способу полягає в порівняно низькому виході 5,2–5,8 г/л [2].

При використанні в якості продуцента штаму *Streptomyces violascence* FERM BP-11132, ферментацію проводять упродовж 36–96 год. при 25–40°C і рН 6,5–8,0. У результаті реалізації технологічного процесу отримують ГК з молекулярною масою $1,8-2,4 \times 10^6$ Да, вмістом білка менше 0,05% і в'язкістю 15–18 дл/г, що не поступається за вмістом білку та в'язкістю препарату, одержуваному попереднім способом. Проте вихід ГК збільшується в 1,7–2,1 рази і становить 8,8–12,2 г/л [3]

Вивчення ферментів, що каталізують синтез гіалуронової кислоти дозволяє створити рекомбінантні системи в різних мікроорганізмах. Першим інженерним організмом для отримання гіалуронової кислоти був *Bacillus subtilis*, створений шляхом клонування в його хромосому оперона, який несе ген *hasA* від стрептокока, під контролем конститутивного промотора. Однак система створена таким чином здійснювала синтез ГК з молекулярною вагою менше 1×10^6 Да і дуже низьким виходом 3,3 г/л, при додаванні додаткових факторів (біотин, урацил, аргінін, триптофан) -7,5 г/л [4].

Висновки: Пошук шляхів мікробіологічного синтезу гіалуронової кислоти є перспективним напрямком в біотехнології, що має значні переваги:

- не залежить від поставок тваринної сировини;
- не вимагає очистки від білків та споріднених глікозаміногліканів;
- за характеристиками відповідає синтезованій організмом людини.

Література

1. Проценко Г.О. Алгоритм діагностики та лікування хворих на остеоартроз // Український ревматологічний журнал. – 2009. – № 3 (37). – С. 91-95.

2. Jagadeeswara Reddy K., Karunakaran K.T. Purification and characterization of hyaluronic acid produced by *Streptococcus zooepidemicus* strain 3523-7. Research article // J. BioSci. Biotech. – 2013. – Vol. 2(3). – P. 173-179.

3. Manasa M., Sridevi V., Chandana Lakshmi M.V., Dedeepya J. A Review on Hyaluronic Acid // Int. J. Re. Chem. Environ. – 2012. – Vol. 2 Is. 4. – P. 6-11.

4. Pat. WO 2012/032154 A1. Process for the production of hyaluronic acid in *Escherichia coli* or *Bacillus subtilis* // Corsa V., Negro A., Vaccaro S., Messina L. – Publ. 15.03.2012.