

УДК 547.963.4

<https://doi.org/10.33380/3034-3925-2025-2-1-13>

Фикоцианин из *Sp. platensis*: таксономия, структура и свойства, медицинское применение (обзор)

К. А. Шабанов✉, А. В. Панов, В. В. Суслов, С. А. Кедик

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «МИРЭА – Российский технологический университет» (ПТУ МИРЭА). 119571, Россия, г. Москва, пр-т Вернадского, д. 86

✉ **Контактное лицо:** Шабанов Кирилл Александрович. **E-mail:** kirill.shabanov.98@mail.ru

ORCID: К. А. Шабанов – <https://orcid.org/0009-0004-3595-8523>;

А. В. Панов – <https://orcid.org/0000-0002-1603-143X>;

В. В. Суслов – <https://orcid.org/0000-0002-9578-2492>;

С. А. Кедик – <https://orcid.org/0000-0003-2610-8493>.

Статья поступила: 06.12.2024

Статья принята в печать: 30.01.2025

Статья опубликована: 31.01.2025

Резюме

Введение. Фикоцианин – это натуральный пигмент синего цвета, содержащийся в спирулине, который обладает антиоксидантными, противовоспалительными, противовирусными и противоопухолевыми свойствами.

Текст. Фикобилипротеины, являющиеся основными компонентами светособирающих комплексов у цианобактерий и красных водорослей, имеют в своем составе хромофоры (фикобилины), которые ковалентно связаны с белковыми субъединицами и отвечают за поглощение света. Эти комплексы образуют фикобилисомы, способные эффективно собирать и передавать энергию света к реакционным центрам фотосинтеза. Экстракция фикоцианина требует выбора подходящего метода разрушения клеток, чтобы извлечь белок, сохранив его структуру и функции. Для этой цели могут применяться как физические, так и химические методы. Последующая очистка включает в себя несколько этапов, в ходе которых происходит удаление балластных белков и других примесей. Она может включать в себя фракционирование сульфатом аммония и набор хроматографических методов. Важным аспектом является контроль качества, который осуществляется с использованием спектрофотометрии. Стабильность фикоцианина может меняться под воздействием различных факторов окружающей среды, таких как свет, температура и pH. Для повышения его устойчивости используются стабилизаторы, в роли которых могут выступать моно- и дисахариды, а также неорганические соли. Фикоцианин обладает широким спектром полезных свойств для организма: антиоксидантной активностью, противовоспалительным действием, защитой органов и тканей, а также противоопухолевым эффектом. Он практически не оказывает токсического действия даже при высоких дозах, что открывает широкие перспективы для разработки новых лекарственных средств.

Заключение. Фикоцианин является перспективным веществом для медицинского применения. Тем не менее существуют сложности, связанные с его извлечением, очисткой и стабилизацией. Чтобы расширить область его применения, требуются дальнейшие исследования, направленные на разработку более эффективных методов получения и стабилизации.

Ключевые слова: фикоцианин, фикобилины, фикобилипротеины, фикобилисома, спирулина

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. К. А. Шабанов – работа с литературой, написание текста статьи. А. В. Панов – консультирование. В. В. Суслов, С. А. Кедик – обсуждение результатов.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках государственного задания на проект № FSFZ-2024-0033.

Для цитирования: Шабанов К. А., Панов А. В., Суслов В. В., Кедик С. А. Фикоцианин из *Sp. platensis*: таксономия, структура и свойства, медицинское применение. *Гербариум*. 2025;2(1):9–22. <https://doi.org/10.33380/3034-3925-2025-2-1-13>

Phycocyanin from *Sp. platensis*: taxonomy, structure and properties, medical application (review)

Kirill A. Shabanov✉, Alexey V. Panov, Vasily V. Suslov, Stanislav A. Kedik

MIREA – Russian Technological University. 86, prospekt Vernadskogo, Moscow, 119571, Russia

✉ **Corresponding author:** Kirill A. Shabanov. **E-mail:** kirill.shabanov.98@mail.ru

ORCID: Kirill A. Shabanov – <https://orcid.org/0009-0004-3595-8523>;

Alexey V. Panov – <https://orcid.org/0000-0002-1603-143X>;

Vasily V. Suslov – <https://orcid.org/0000-0002-9578-2492>;

Stanislav A. Kedik – <https://orcid.org/0000-0003-2610-8493>.

Received: 06.12.2024

Accepted: 30.01.2025

Published: 29.01.2025

Abstract

Introduction. Phycocyanin is a natural blue pigment found in spirulina that has antioxidant, anti-inflammatory, antiviral, and antitumor properties.

Text. Phycobiliproteins, which are the main components of light-harvesting complexes in cyanobacteria and red algae, contain chromophores (phycobilins) that are covalently bound to protein subunits and are responsible for light absorption. These complexes form phycobilisomes capable of efficiently collecting and transferring light energy to photosynthetic reaction centers. Phycocyanin extraction requires the selection of a suitable cell destruction method in order to extract the protein while preserving its structure and function. Both physical and chemical methods can be used for this purpose. Subsequent purification includes several stages, during which ballast proteins and other impurities are removed. It may include fractionation with ammonium sulfate and a set of chromatographic methods. An important aspect is quality control, which is carried out using spectrophotometry. The stability of phycocyanin can change under the influence of various environmental factors such as light, temperature and pH. To increase its stability, stabilizers are used, which can act as mono- and disaccharides, as well as inorganic salts. Phycocyanin has a wide range of beneficial properties for the body, such as antioxidant activity, anti-inflammatory effect, protection of organs and tissues, as well as antitumor effect. It has virtually no toxic effect even at high doses, which opens up broad prospects for the development of new medicines.

Conclusion. Phycocyanin is a promising substance for medical use. However, there are difficulties associated with its extraction, purification and stabilization. In order to expand the scope of its application, further research is required aimed at developing more effective methods of preparation and stabilization.

Keywords: phycocyanin, phycobilins, phycobiliproteins, phycobilisome, spirulina

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Kirill A. Shabanov – work with literature, writing the text of the article. Alexey V. Panov – consulting. Vasily V. Suslov, Stanislav A. Kedik – discussion of the results.

Funding. The work was carried out with financial support from the Ministry of Education and Science of the Russian Federation within the framework of the state assignment for project No. FSFZ-2024-0033.

For citation: Shabanov K. A., Panov A. V., Suslov V. V., Kedik S. A. Phycocyanin from *Sp. platensis*: taxonomy, structure and properties, medical application. *Herbarium*. 2025;2(1):9–22. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/3034-3925-2025-2-1-13>

Введение

Фикоцианин (ФЦ) – это природный, связанный с белками пигмент синего цвета, состоящий из α - и β -полипептидных субъединиц [1]. Это натуральное вещество обладает способностью улавливать свободные радикалы, тем самым предотвращая перекисное окисление и преждевременный апоптоз клеток [2]. Кроме того, сообщалось, что фикоцианин проявляет терапевтическое действие благодаря

своим противовоспалительным, противовирусным и противоопухолевым свойствам [3, 4]. Также широко изучался антиоксидантный эффект [5, 6].

Этот белок содержится в сине-зеленых микроводорослях, в частности спирулине. *Spirulina platensis* представляет собой многоклеточную нитевидную цианобактерию спиральной формы с высоким содержанием белка (60–70 %), витаминов (4 %) и незаменимых жирных кислот [7, 8]. В аминокислотный состав входят лейцин (10,9 % от общего количества аминокислот).

кислот), валин (7,5 %), изолейцин (6,8 %) и др. Кроме фикоцианина, спирулина содержит другие вещества, обладающие терапевтическим эффектом, например каротиноиды, хлорофилл, а также фенольные соединения: салициловую, хлорогеновую и кофейную кислоты [6].

Содержание фикоцианина в спирулине сильно различается и может достигать до 14 % от массы водоросли [9]. Он имеет сложную структуру и относится к группе фикобилипротеинов.

Фикобилипротеины

Фикобилипротеины (ФБП) являются основным компонентом светособирающих комплексов у цианобактерий и красных водорослей, которые обладают яркой окраской и играют жизненно важную роль в сборе солнечного света.

Цвет ФБП происходит главным образом от ковалентно связанных простетических групп, представляющих собой тетрапиррольные хромофоры с открытой цепью 1–4 (рисунок 1). Эти хромофоры, называемые фикобилинами (ФБ), обуславливают поглощение света [10].

К фикобилинам относят фикоцианобилин (ФЦБ, $A_{\max} = 620$ нм), фикоэритробилин (ФЭБ, $A_{\max} = 550$ нм), фикоуробилин (ФУБ, $A_{\max} = 490$ нм) и фиковиолобилин (ФВБ, $A_{\max} = 590$ нм) [11, 12].

Четыре различных фикобилиновых хромофора с открытой цепью ковалентно связываются в различных соотношениях через тиозфирную связь с остатками цистеина (Cys-) в обеих полипептидных субъединицах фикобилипротеина. Каждая α -субъединица присоединяет одну или две хромофорные группы; каждый β -полипептид связывает от одного до четырех

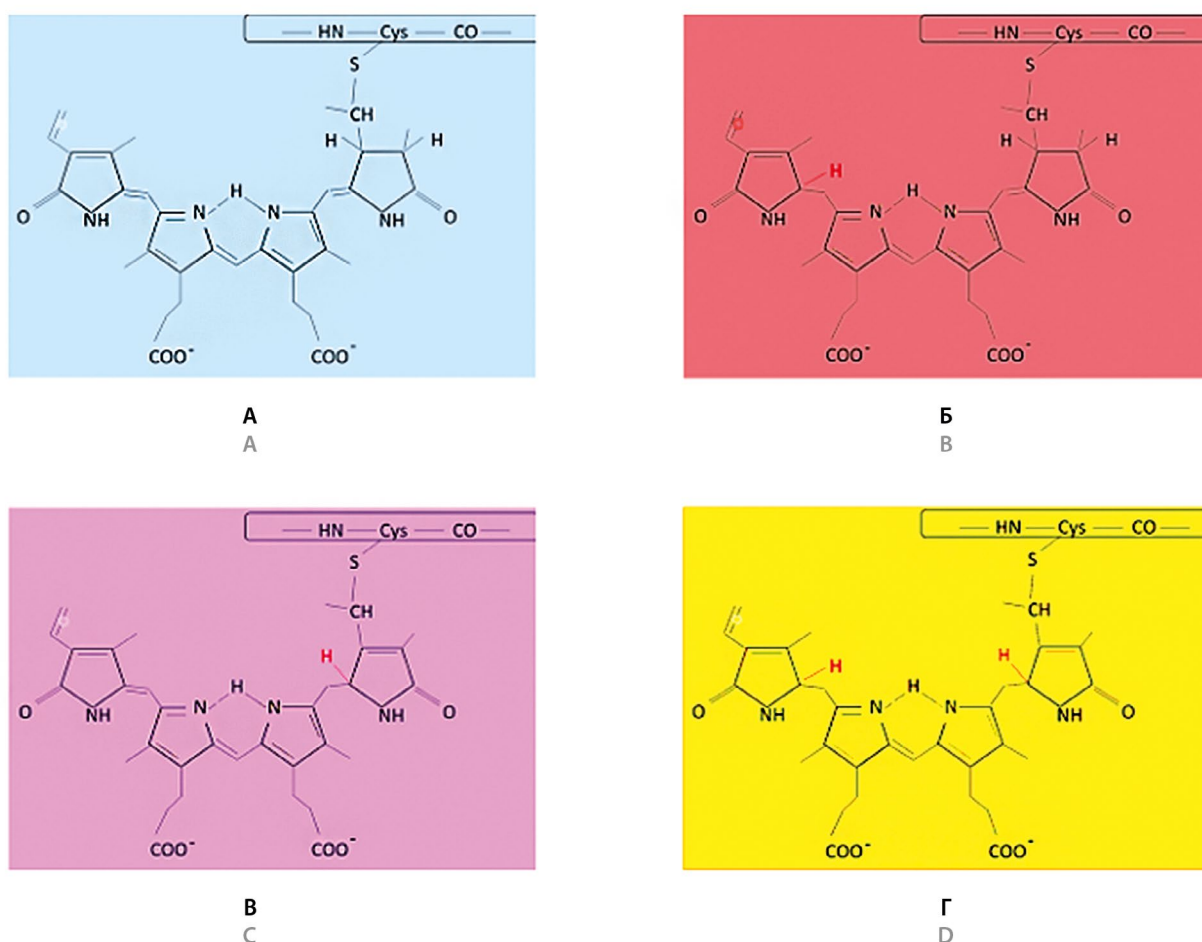


Рисунок 1. Структурные формулы пигментов – фикобилинов.

А – фикоцианобилин; Б – фикоэритробилин; В – фиковиолобилин; Г – фикоуриобилин. Красным показаны отличия в структурных формулах пигментов от фикоцианобилина. Цвет фона показывает, какой оттенок хромофор придает белку

Figure 1. Structural formulas of phycobilin pigments.

А – phycocyanobilin; Б – phycoerythrobilin; В – phycoviolobilin; Г – phycouribilin. The differences in the structural formulas of the pigments from phycocyanobilin are shown in red. The background color shows what shade the corresponding chromophore gives to the protein

тетрапиррольных хромофоров, в зависимости от конкретного фикобилипротеина [13].

Что касается фикоцианина, α -субъединица содержит одну молекулу хромофора (α -84), β – две (β -84, β -155) [14, 15] (рисунок 2). Элементный состав хромофора – $C_{33}H_{38}N_4O_6$.

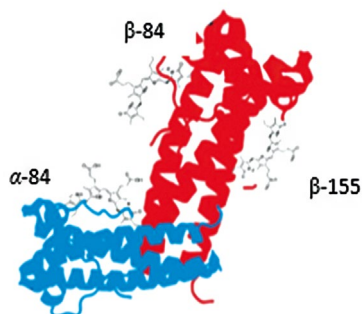


Рисунок 2. Субъединицы фикоцианина. Синим и красным показаны полипептидные цепи, представляющие собой α - и β -субъединицы соответственно. Черным выделены светопоглощающие хромофорные группы – фикоцианобилины (ФЦБ). Цифры обозначают места связывания ФЦБ с полипептидной цепью через остаток цистеина

Figure 2. Phycocyanin subunits. Blue and red show the polypeptide chains representing α - and β -subunits, respectively. The light-harvesting chromophore groups, phycocyanobilins (PCBs), are highlighted in black. The numbers indicate the binding sites of PCB to the polypeptide chain through the cysteine residue

Таким образом, фикобилипротеины представляют собой пигмент-белковые комплексы. В соответствии со спектральными свойствами, придаваемыми хромофорами, ФБП могут быть классифицированы на четыре типа: фикоэритрин (ФЭ), фикоцианин (ФЦ), аллофикоцианин (АФЦ) и фикоэритроцианин (ФЭЦ) [16]. В ранних исследованиях для различения их таксономического происхождения использовались префиксы С- и R-, указывавшие на цианобактерии и красные водоросли соответственно.

С улучшением понимания хромофорных групп исследователи обнаружили, что ФБП из разных источников могут обладать сходными спектральными свойствами. Например, спектральные свойства ФЦ из некоторых красных водорослей аналогичны спектральным свойствам цианобактерий. Поэтому в настоящее время префиксы используются для обозначения спектральных свойств, а не таксономических источников. На основании спектров поглощения и флуоресценции ФЦ можно разделить на R-ФЦ и С-ФЦ [17].

Фикобилипротеины эффективно поглощают солнечный свет серией перекрывающихся пиков в диапазоне длин волн от 480 до 660 нм и передают энергию в основной реакционный центр хлорофилла *a* [18, 19]. Каждый из четырех ФБП цианобактерий характе-

ризуется определенным набором хромофоров. С-фикоэритрин содержит ФЭБ и/или ФУБ, С-фикоцианин – ФЦБ, аллофикоцианин – ФЦБ, фикоэритроцианин – ФЦБ и ФВБ [20].

Фикобилисома

Яркоокрашенные фикобилипротеины, содержащие хромофор фикобилин, служат антеннами в пигментном аппарате цианобактерий, поставляя поглощенную световую энергию в PS I и PS II. Каждая сборка ФБП инициируется образованием стабильного комплекса между двумя гомологичными полипептидными субъединицами, называемыми α и β , с молекулярными массами 14–16 кДа и 19–21 кДа соответственно. Все гетеродимеры ФБП ($\alpha\beta$) упоминаются в литературе как мономеры и являются довольно стабильными. Мономеры самособираются в $(\alpha\beta)_3$ тримерные кольца, которые затем агрегируются в гексамеры $[(\alpha\beta)_3]_2$ (рисунок 3). Точные структуры многих ФБП, собранных в тримеры или гексамеры, были получены с помощью рентгеновской кристаллографии с различной степенью разрешения [18, 21].

Гексамеры укладываются друг на друга, образуя стержень [22]. Состав входящих в стержни фикобилипротеинов зависит от вида микроводорослей. Обычно они включают в себя фикоцианин, но у некоторых видов добавляется фикоэритрин или фикоэритроцианин. [23]. Количество стержней сильно варьируется: от шести, обычно у цианобактерий [24], до 14, у некоторых красных водорослей [25]. Базальные части стержней закреплены у общего ядра, а свободные концы расходятся веерной структурой либо собраны вместе (рисунок 4). Такие структуры называют фикобилисомами (ФБС).

Итак, независимо от формы структуру ФБС можно разделить на два сегмента: цилиндрические ядра и расходящиеся из них стержни, состоящие из уложенных друг на друга дисков [16, 26]. Ядро всегда образовано АФЦ, собранным в цилиндры количеством до пяти штук [27].

Спектры поглощения и испускания флуоресценции различных ФБП имеют сильное перекрытие, при этом энергия в ФБС передается по пути ФЭ – ФЦ – АФЦ и затем к реакционному центру фотосинтеза, расположенному в тилакоидной мембране хлоропласта (рисунок 5). Эффективность переноса энергии составляет 95 % [28].

Оптимизация свойств поглощения света и механизма передачи энергии может регулироваться временным изменением соотношения ФЦ и ФЭ во время изменений в окружающей среде [29]. Кроме того, ФЭ расположен в дистальной области массива ФБС и играет важную роль в адаптации к резким изменениям фотосинтетически активной радиации [30]. При увеличении доли зеленого/синего света в составе спектра ФЦ превращается в ФЭ. Такой же эффект наблюдается при снижении интенсивности освещения [31]. Обратный эффект наблюдается при увеличении доли красного света в спектре [32, 33]. Это явление названо хроматической адаптацией [29, 34].

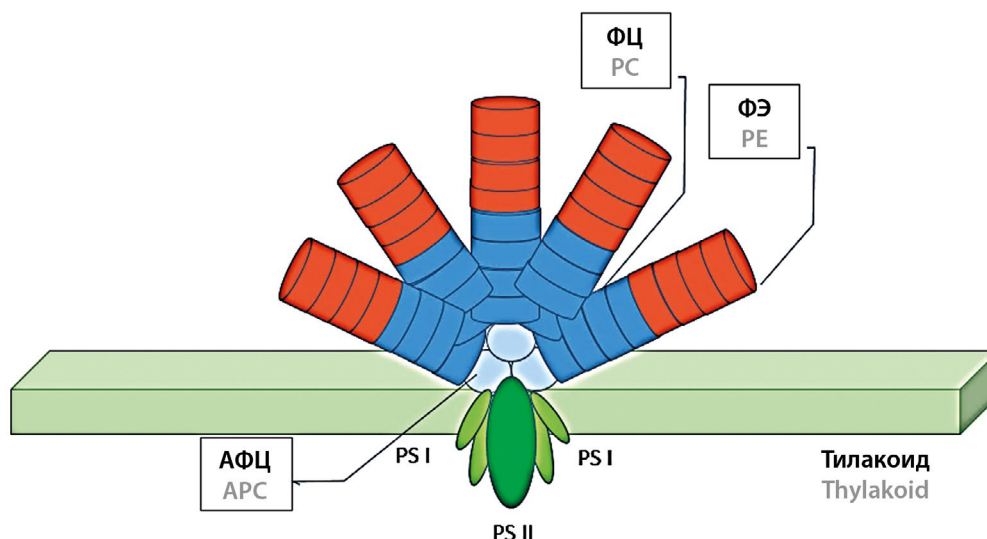


Рисунок 5. Расположение фикобилисомы на мембране тилакоида. PS I и PS II – фотосистемы I и II соответственно
Figure 5. Location of the phycobilisome on the thylakoid membrane. PS I and PS II are photosystems I and II, respectively

В некоторых исследованиях ставится под сомнение присутствие ФЭ в спиролине [35, 36] и даже само явление хроматической адаптации [37]. Другие же авторы, напротив, указывают на наличие ФЭ в составе фикобилипротеинов спиролины [31, 38].

В одном из исследований утверждается, что два стержня фикобилисомы являются подвижными и могут менять конформацию комплекса, раскрывая уровень регуляции, не описанный ранее [39].

Конструкция ФБС удерживается линкерными полипептидами. Разнообразие скрепляющих линкерных полипептидов достаточно велико. В стержнях они располагаются в центральной полости гексамера [11, 40, 41].

Линкерные полипептиды бесцветны и интегрированы с субъединицами ФБП посредством меж- и внутримолекулярного взаимодействия [42]. Они имеют широкий диапазон молекулярной массы (8–120 кДа) и играют важную роль в стабилизации структуры и функциональных свойств комплекса фикобилипротеинов, способствуют сборке комплекса и относительному взаимодействию хромофоров для модуляции поглощения света, что обеспечивает однонаправленную передачу энергии от ФБП к фотосистеме [43, 44].

Линкерные полипептиды подразделяются на четыре группы:

- 1) основные линкеры (LRC), связывающие стержни с сердечником ФБС;
- 2) стержневые линкеры (LR) которые находятся внутри стержней и обеспечивают их целостность;
- 3) линкеры ядра (LC), которые связаны с тримерным АФЦ в центре ФБС и стабилизируют структуру ядра;

- 4) линкеры мембраны (LCM), обеспечивающие прикрепление ФБС к мембране тилакоида [45].

Таким образом, фикобилисомы представляют собой гигантский вспомогательный светосборный комплекс, состоящий из яркоокрашенных билипротеинов, образующих ядро (АФЦ) с расходящимися лучами стержней (ФЦ + ФЭ) [18, 46]. Конструкция удерживается линкерными полипептидами и закреплена на тилакоидной мембране хлоропластов [47, 48]. Билипротеины, из которых собраны стержни и ядро, представляют собой светопоглощающие пигмент-белковые комплексы. Билипротеины, в свою очередь, представляют собой гексамерные структуры, собранные из тримеров, состоящих из α - и β -субъединиц с закрепленными на них хромофорами (фикобилинами) [25, 47–49].

Ковалентное присоединение специфического ФБ к законсервированным остаткам цистеина катализируется лиазами. Эффективность сбора света, скорость и направление потока фотонов между ФБ являются результатом расстояния и относительной ориентации диполей ФБ, которые определяются их геометрией и относительными положениями в белковом каркасе, обусловленными сборкой комплекса.

Фикоцианин

Фикоцианин является наиболее распространенным фикобилипротеином в спиролине, его содержание составляет порядка 20 % от общего белка [50, 51]. Фикоцианин обычно используется в качестве натурального красителя в продуктах питания или косметике и, как известно, обладает антиоксидантной, противовоспалительной, противораковой и противовирусной активностью [52]. Свойства фикоциани-

на обусловлены структурой хромофора [53], а именно открытой тетрапиррольной цепью, что делает его похожим на билирубин [54].

Однако низкая стабильность этого соединения ограничивает его использование. Сообщается, что фикоцианин в твердой форме легко разлагается при воздействии тепла и света [55]. При низкой концентрации ($<10^{-6}$ М) ФЦ легче диссоциирует из тримеров в мономеры.

Фикоцианин (220 кДа) имеет такую же структуру, как и другие фикобилипротеины, отличаясь от них видом и количеством хромофоров [56].

С-фикоцианин имеет гексамерную конформацию $(\alpha\beta)_6$ при pH 5,0–6,0 и тримерную конформацию $(\alpha\beta)_3$ при pH 7,0. Максимуму поглощения раствора этого белка соответствует длина волны 620 нм [57]. Изoeлектрическая точка находится в пределах pH 4,2–4,6.

В полипептидную цепь α -субъединицы в больших количествах входят такие аминокислоты, как аланин, глицин, лейцин. В то же время количество цистеина и метионина значительно меньше в сравнении с β -субъединицей. В составе β -субъединицы преобладают валин и аспарагиновая кислота. Гистидин и триптофан содержатся в очень малых количествах в обеих субъединицах [11].

Контроль качества

Существует множество методов извлечения и очистки ФБП. В зависимости от метода получают фикоцианин различной чистоты и активности. Чистоту ФЦ определяют спектрофотометрически и обычно выражают через отношение значений поглощения экстрактом света на длинах волн 620 нм и 280 нм.

При коэффициенте чистоты 0,7–2 ФЦ относят к пищевому красителю или используют в косметической промышленности. До 3,5 чистота соответствует уровню реагента. При чистоте более 4 ФЦ считается аналитически чистым, его используют в роли биомаркеров и для фармацевтических препаратов [58, 59].

Соотношение A_{620}/A_{280} также используется для мониторинга денатурации белка [60]. Это объясняется тем, что при свертывании меняется конформация тетрапиррольных хромофоров, что, в свою очередь, приводит к изменению коэффициента поглощения [61].

Поскольку ФБП представляют собой водорастворимые внутриклеточные белки, первым шагом для их получения является выбор метода высвобождения ФБП из клеток, при этом их структуры и функции остаются существенно неизменными. В целом, чем выше доля разрушенных клеток водорослей, тем выше будет выход ФБП. Однако сильное разрушение может оказать негативное влияние на их структуры и функции.

Экстракция и очистка ФЦ

Распространенные методы разрушения клеток включают физические (измельчение, многократное замораживание и оттаивание, обработка ультразву-

ком, гомогенизация, азотная кавитация, электроимпульсная экстракция) и химические (обработка лизоцимом, использование ПАВ).

После выделения ФБП необходима дальнейшая работа по повышению их относительного содержания в экстракте. Это достигается за счет удаления балластных белков и сопутствующих соединений, то есть увеличения чистоты ФБП. Процедура очистки обычно состоит из нескольких этапов. Наиболее часто используемые методы включают фракционирование сульфатом аммония, хроматографическое разделение и двухфазную водную экстракцию.

Фракционирование сульфатом аммония широко используется для очистки ФБП перед дальнейшей обработкой. При увеличении концентрации соли аммония в растворе снижается степень гидратации белковых молекул вследствие связывания молекул воды с ионами соли. Лишенные гидратной оболочки белковые молекулы агрегируются, слипаются и выпадают в осадок [62]. Обычно фракционирование сульфатом аммония включает в себя две стадии: первая заключается в осаждении примесей 20 % (*объем/объем*) насыщенного раствора сульфата аммония, которые могут быть удалены центрифугированием, а вторая – в осаждении большинства ФБП из надосадочной жидкости путем дальнейшего увеличения содержания сульфата аммония до 50–60 % (*объем/объем*). Фракционирование сульфатом аммония может помочь удалить большое количество примесей, поэтому эта обработка рекомендуется для очистки ФБП.

Однако одной этой операции недостаточно для получения ФЦ высокой степени чистоты. Для последующей очистки ФБП используются хроматографические методы, в том числе гель-фильтрационная, ионообменная, гидроксиапатитная хроматография, адсорбционная хроматография с расширенным слоем, хроматография гидрофобного взаимодействия и др. [36, 63, 64].

Адсорбционная хроматография с расширенным слоем позволяет выделять белки непосредственно из сырого экстракта, минуя первоначальную обработку сульфатом аммония и центрифугирование. Таким образом, этот метод сократил количество этапов, используемых при очистке ФБП, что позволяет сэкономить время по сравнению с другими методами [65].

Водная двухфазная экстракция широко используется при разделении биомолекул, что послужило основанием для обширных исследований при очистке ФБП. Этот процесс легко масштабируется, но менее эффективен по сравнению с хроматографией. Данный способ подходит для промышленного получения больших объемов ФЦ невысокой степени чистоты.

Влияние факторов среды на стабильность ФЦ

ФБП хорошо растворимы в воде, нетоксичны, имеют высокий квантовый выход флуоресценции. Агрегационное состояние выделенного ФБП связано

с его концентрацией, значением pH и ионами в растворе. В растворе присутствует динамическое равновесие между различными агрегированными состояниями ФБП. Диссоциация $(\alpha\beta)_3$ - и $(\alpha\beta)_6$ -единиц во время процесса очистки обычно приводит к смещению флуоресцентного пика в синий цвет [66].

Поскольку ФБП имеют высокий коэффициент молярной экстинкции, они широко используются в флуоресцентной микроскопии и иммуноанализах. Однако спектральные характеристики очищенных ФБП обычно зависят от их агрегатных состояний. Если ФБП теряют свои белковые структуры высшего порядка, их светопоглощающие и флуоресцентные свойства могут снижаться и даже полностью утрачиваться [67].

В обзорной статье [65] говорится, что существует обратная корреляция между чистотой ФЦ и его стабильностью при воздействии стрессоров. Авторы указывают, что это может быть связано с изменением нативной структуры белка в процессе очистки.

Температура

При значениях температуры 25–47 °C фикоцианин в растворе распадается очень медленно ($t_{1/2} = 309,4 \pm 12,0$ мин при 47 °C и pH = 6) [68]. Некоторые авторы сообщили об отсутствии деградации при температуре до 45 °C [6].

Между 47 и 69 °C скорость разложения значительно возрастает ($t_{1/2} = 14,5 \pm 4,2$ мин при pH = 6) [68]. О схожих выводах сообщалось в других исследованиях [69, 70].

Аналогичным образом в другом анализе термической стабильности сообщалось, что антиоксидантный потенциал фикоцианина снизился более чем на 50 % после 21 и 35 дней экспозиции при температуре 40 и 50 °C [71].

При температурах выше 70 °C период полураспада белка составил $t_{1/2} = 9,7 \pm 1,6$ мин (при 74 °C и pH = 6). Из приведенных исследований следует, что температура ниже 45 °C является оптимальной для сохранения стабильности фикоцианина [65].

Кроме того, высокая температура при экстракции способствует высвобождению побочных соединений, загрязняющих экстракт и снижающих чистоту ФЦ. Поэтому ряд исследователей рекомендует проводить экстракцию при температуре 25–30 °C [72–74].

pH

Кислотность среды является важным фактором, который может дестабилизировать фикоцианин, приводя к его деградации. pH среды также изменяет спектральные свойства и цвет белка. Раствор фикоцианина при нейтральном pH воспринимается как синий, а при кислом pH – как зеленый [75]. Растворы фикоцианина при кислом pH (3,0 и 4,0) при комнатной температуре демонстрировали более низкое поглощение при 620 нм и более сильное поглощение

при 280 нм, чем при значениях pH 5, 6 и 7 при температурах 55 и 65 °C для той же концентрации белка. Это объясняется выпадением белка в осадок и изменением его конформации [6]. При значениях pH от 4 до 6 хромофор сохраняет свою расширенную геометрию; однако, когда pH ниже, он сворачивается в циклическую конформацию, изменяя свои спектральные свойства [60, 75].

В ряде исследований продемонстрирована стабильность фикоцианина при различных pH в зависимости от температуры. При температурах между 50 и 55 °C и pH 6,0 фикоцианин из спиролины плазменсис оставался стабильным [76]. Он также был стабилен при 57–65 °C и pH 5,0; однако при 50–65 °C и pH 7,0 происходила денатурация. Эти результаты согласуются с результатами других исследований [6, 68, 77].

Стабильность также может зависеть от штамма цианобактерии, из которого он выделен [70]. Наилучшие условия pH для стабильности фикоцианина – 5,5–6,0.

Свет

В нескольких исследованиях изучалось влияние света на деградацию фикоцианина в растворе при постоянной температуре [6, 70, 78, 79].

После воздействия ламп, излучающих с интенсивностью 50 и 100 мкмоль/м²·с, измерялась концентрация фикоцианина в зависимости от времени. При одинаковой интенсивности света раствор фикоцианина, доведенный до pH 6,0, показал меньшее разложение, чем раствор, доведенный до pH 5,0 и pH 7,0. Конечная концентрация белка снизилась примерно на 20 % после непрерывного воздействия света интенсивностью 100 мкмоль/м²·с в течение 36 ч, независимо от pH среды. Авторы наблюдали несколько более высокий уровень деградации после воздействия света общей интенсивностью 100 мкмоль/м²·с, чем после воздействия с интенсивностью 50 мкмоль/м²·с [78].

Таким образом, экстракт фикоцианина следует хранить в темноте, так как он нестабилен на свету [80].

Стабилизация фикоцианина

В качестве консервантов часто используют моно- и дисахариды (глюкоза, фруктоза, сахароза, трегалоза, лактоза, мальтоза), неорганические соли (хлорид натрия и хлорид кальция), органические кислоты (лимонная, аскорбиновая, бензойная) и многоатомные спирты (сорбит). В некоторых работах в качестве стабилизатора упоминается мед [81].

Также в одном из обзоров говорится, что ФЦ может быть стабилизирован сывороточным протеином при воздействии высокого давления, однако в качестве недостатков указывается возможное изменение во вторичной структуре хромопротеина [71].

Другие исследователи использовали для этих целей полимеры. Пигмент, биоптерин- α -глюкозид, также был выбран в качестве объекта для улучшения фотостабильности фикоцианина [82].

Что касается использования в качестве консервантов моносахаридов и многоатомных спиртов, отмечается, что глюкоза 20 % (мас./мас.) или сорбитол 50 % (мас./мас.) вдвое увеличили $t_{1/2}$ белка по сравнению с контролем [83].

Другие исследователи заявляли о важности концентраций моно- или дисахаридов, а не принадлежности консерванта к определенному типу химических соединений [68]. Однако в качестве опровержения также можно привести выводы работы [84], где говорится, что сахароза (20 % по массе) оказала лучший эффект, чем трегалоза в той же концентрации.

В обзорной статье [65] описываются различные способы стабилизации ФЦ: в одной из описанных работ авторы выбрали глюкозу и сахарозу в качестве носителей, обе с содержанием 20 % (мас./мас.), и оба сахара позволили сохранить более 62 % белка через 15 мин при 60 °С по сравнению только с 47 % без каких-либо стабилизаторов. Лимонная кислота сохранила 67 % фикоцианина через 45 дней по сравнению с менее чем 3 % для контрольного варианта без каких-либо стабилизаторов.

Использование ФЦ в медицине

Когда ФЦ перорально попадает в организм человека в качестве пищевой или лекарственной добавки, он расщепляется в желудочно-кишечном тракте до аминокислот и небольших пептидов. Хромофор фикоцианобилин, встроенный в ФЦ, не подвержен действию протеаз и остается соединенным с пептидным сегментом через сульфидную связь [85]. Между тем переваренный пептид, связывающий небольшую молекулу ФЦБ, всасывается в кровь через тонкий кишечник.

Исследования физиологической активности ФБП проводились более 20 лет. Было обнаружено, что ФБП оказывают сильное антиоксидантное действие за счет устранения избытка активных форм кислорода (АФК) и увеличения количества антиоксидантных ферментов [86]. Следовательно, ФБП обладают потенциалом для лечения множества заболеваний, вызванных окислительным стрессом. Доказательство антиоксидантного эффекта ФБП положило начало множеству исследований данных белков *in vivo* и *in vitro* на предмет использования в качестве лекарства от широкого перечня заболеваний [87]. Так, в условиях *in vitro* было показано, что ФБП обладают противовоспалительными, противовирусными, противоопухолевыми свойствами и способствуют повышению иммунитета [17].

Исследователи [88] обнаружили, что ФЦ может предотвращать возникновение атеросклероза, поскольку его тетрапиррольная структура имитирует продукты катаболического пути гема.

Другими авторами было обнаружено, что ФЦ снижает уровень аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ) в крови, тем самым оказывая терапевтический эффект при алкогольной болезни печени [89].

Было продемонстрировано, что при остром повреждении легких фикоцианин ингибирует фиброз и способствует их восстановлению благодаря антиоксидантным и противовоспалительным свойствам [90].

Кроме того, проводились исследования, показавшие положительное влияние ФЦ при болезни Альцгеймера [91].

Нейропротекторные свойства изучались на крысах [92]. ФБП позволили значительно уменьшить объем инфаркта головного мозга у крыс с ишемией и сохранить выжившие нейроны коры.

С-ФЦ может дозозависимым образом ингибировать цисплатининдуцированную токсичность для почек и окислительный стресс, а его защитный эффект связан с ослаблением окислительного стресса и активностью антиоксидантных ферментов. Кроме того, С-ФЦ является абсорбентом ряда активных веществ [93].

Ингибирование окислительного стресса в хрусталике глаза способно предотвратить возрастную катаракту. Это подтверждается проведенными на крысах исследованиями, в которых катаракта вызывалась селенитом натрия [94]. В другом исследовании ФЦ снизил уровень АФК в сетчатке глаза мышей, защищая сетчатку от повреждений, вызванных ярким светом [95].

За счет содержания фикоцианина в белковом составе спирулина обладает гемостимулирующим действием. В исследовании [96] у мышей с анемией после включения в рацион спирулины в размере 3 % от поступающей пищи значительно увеличилось количество эритроцитов. О схожих эффектах сообщается в других исследованиях [97–99].

С-ФЦ из спирулины способен остановить клеточный цикл в опухолевых клетках человека на фазе G0/G1 и заблокировать синтез ДНК, что указывает на ингибирование пролиферации опухолевых клеток [100].

В 2015 году было проведено исследование, в котором спирулина применялась для лечения подслизистого фиброза полости рта, являющегося предшественником рака. В исследовании приняли участие 42 пациента. Их разделили на две группы, одна из которых принимала спирулину, а другая – алоэ вера. Результаты показали, что по сравнению с принимавшими алоэ вера у пациентов, получавших спирулину, наблюдалась значительно лучшая степень открывания рта, меньшее количество язв во рту и меньшая площадь эрозии [101].

В исследовании 2019 года спирулина использовалась в адъювантной химиотерапии для улучшения иммунной функции пациентов с опухолями. После

четырёх циклов химиотерапии уровень IgM и количество Т-клеток CD8⁺ увеличились в группе лечения, но снизились в контрольной группе. Таким образом был сделан вывод, что спирулина уменьшает миелосупрессию и улучшает иммунную функцию после химиотерапии у пациентов со злокачественными опухолями [102].

Также при изучении у мышей повреждений печени, вызванных рентгеновским излучением, было показано что ФЦ может запускать сигнальный путь Nrf2 – фактора транскрипции, активирующего батарею защитных генов [103]. Активация экспрессии гена Nrf2 также предотвращает митохондриально-зависимый апоптоз в α -клетках поджелудочной железы [104].

Накопившиеся данные свидетельствуют о том, что ФЦ оказывает мощное противораковое действие при различных типах рака, таких как рак молочной железы [105, 106], рак печени [107], рак легких [108, 109], рак толстой кишки [110], лейкемия [111] и рак костного мозга [112], *in vitro* и *in vivo*. С другой стороны, даже лечение ФЦ в высоких дозах не вызывает значительных токсических симптомов или смертности в экспериментах на животных [112, 113].

Результаты исследований ясно показали остановку клеточного цикла и апоптоз различных опухолевых клеток [114]. При этом ФЦ почти не оказывал или оказывал незначительное пролиферативное действие на клетки, происходящие из нормальной ткани [115].

Заключение

Фикоцианин, извлеченный из спирулины, является натуральным синим пигментом и нутрицевтиком с большим потенциалом для медицинского применения. Он может быть эффективно использован в лечении воспалительных заболеваний, вызванных окислительным стрессом, и служить ингибитором опухолевых клеток. В настоящее время широко ведутся работы по выделению и стабилизации фикоцианина, а также исследования его биологической активности. Однако остается ряд сложностей, связанных с извлечением достаточного количества этого белка, очисткой, а также стабилизацией, о чем свидетельствует разнообразие существующих подходов.

Ценность фикоцианина заключается в возможности применения во многих областях: медицинской, нутрицевтической, пищевой, косметической. Объем рынка увеличивается с каждым годом.

Источником получения фикоцианина являются микроводоросли, известные высокими темпами прироста биомассы. Технология их выращивания относительно проста, а значит, основные лимитирующие факторы для широкого использования фикоцианина заключаются в промышленных технологиях экстракции и очистки сырья. Эти ограничения должны быть преодолены в ближайшем будущем.

Литература / References

1. Squires A. H., Moerner W. E. Direct single-molecule measurements of phycocyanobilin photophysics in monomeric C-phycocyanin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2017;114(37):9779–9784. DOI: 10.1073/pnas.1705435114.
2. Kim K. M., Lee J. Y., Im A.-R., Chae S. Phycocyanin protects against UVB-induced apoptosis through the PKC α /BII-Nrf-2/HO-1 dependent pathway in human primary skin cells. *Molecules*. 2018;23(2):478. DOI: 10.3390/molecules23020478.
3. Kubatka P., Kapinová A., Kružliak P., Kello M., Výbohá D., Kajo K., Novák M., Chripková M., Adamkov M., Péč M., Mojžiš J., Bojková B., Kassayová M., Stollárová N., Dobrota D. Antineoplastic effects of *Chlorella pyrenoidosa* in the breast cancer model. *Nutrition*. 2015;31(4):560–569. DOI: 10.1016/j.nut.2014.08.010.
4. Sathya R., MubarakAli D., MohamedSaalis J., Kim J.-W. A systematic review on microalgal peptides: bioprocess and sustainable applications. *Sustainability*. 2021;13(6):3262. DOI: 10.3390/su13063262.
5. Furmaniak M. A., Misztak A. E., Franczuk M. D., Wilmutte A., Waleron M., Waleron K. F. Edible cyanobacterial genus *Arthrospira*: actual state of the art in cultivation methods, genetics, and application in medicine. *Frontiers in Microbiology*. 2017;8:2541. DOI: 10.3389/fmicb.2017.02541.
6. Wu H.-L., Wang G.-H., Xiang W.-Z., Li T., He H. Stability and antioxidant activity of food-grade phycocyanin isolated from *Spirulina platensis*. *International Journal of Food Properties*. 2016;19(10):2349–2362. DOI: 10.1080/10942912.2015.1038564.
7. Pagnussatt F. A., Del Ponte E. M., Garda-Bufferon J., Badiale-Furlong E. Inhibition of *Fusarium graminearum* growth and mycotoxin production by phenolic extract from *Spirulina* sp. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 2014;108:21–26. DOI: 10.1016/j.pestbp.2013.11.002.
8. Zhang Z., Li J., Wang X., Shen D., Chen L. Quantum dots based mesoporous structured imprinting microspheres for the sensitive fluorescent detection of phycocyanin. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2015;7(17):9118–9127. DOI: 10.1021/acsami.5b00908.
9. Kedik S. Ya., Yartsev E. I., Sakaeva I. V. Influence of *Spirulina* and its components on the immune system. *Russian Journal of Biopharmaceutical*. 2014;3(3):3–10. (In Russ.)
10. Taniguchi M., Lindsey J. S. Absorption and fluorescence spectra of open-chain tetrapyrrole pigments: bilirubins, biliverdins, phycobilins, and synthetic analogues. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*. 2023;55:100585. DOI: 10.1016/j.jphotochemrev.2023.100585.
11. Kannaujiya V. K., Rastogi R. P., Sinha R. P. GC constituents and relative codon expressed amino acid composition in cyanobacterial phycobiliproteins. *Gene*. 2014;546(2):162–171. DOI: 10.1016/j.gene.2014.06.024.
12. Sonani R. R., Gupta G. D., Madamwar D., Kumar V. Crystal structure of allophycocyanin from marine cyanobacterium *Phormidium* sp. A09DM. *PLOS ONE*. 2015;10(4):e0124580. DOI: 10.1371/journal.pone.0124580.
13. Stadnichuk I. N., Kusnetsov V. V. Phycobilisomes and phycobiliproteins in the pigment apparatus of oxygenic photosynthetics: From cyanobacteria to tertiary endosymbiosis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(3):2290. DOI: 10.3390/ijms24032290.

14. Pagels F., Guedes A. C., Amaro H. M., Kijjoo A., Vasconcelos V. Phycobiliproteins from cyanobacteria: Chemistry and biotechnological applications. *Biotechnology Advances*. 2019;37(3):422–443. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2019.02.010.
15. Anwer K., Sonani R., Madamwar D., Singh P., Khan F., Bisetty K., Ahmad F., Hassan Md. I. Role of N-terminal residues on folding and stability of C-phycoerythrin: Simulation and urea-induced denaturation studies. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. 2013;33(1):121–133. DOI: 10.1080/07391102.2013.855144.
16. MacColl R. Cyanobacterial phycobilisomes. *Journal of Structural Biology*. 1998;124(2–3):311–334. DOI: 10.1006/jsbi.1998.4062.
17. Li W., Su H.-N., Pu Y., Chen J., Liu L.-N., Liu Q., Qin S. Phycobiliproteins: Molecular structure, production, applications, and prospects. *Biotechnology Advances*. 2019;37(2):340–353. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2019.01.008.
18. Adir N., Bar-Zvi S., Harris D. The amazing phycobilisome. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*. 2020;1861(4):148047. DOI: 10.1016/j.bbabi.2019.07.002.
19. Sobiechowska-Sasim M., Stoń-Egiert J., Kosakowska A. Quantitative analysis of extracted phycobilin pigments in cyanobacteria—an assessment of spectrophotometric and spectrofluorometric methods. *Journal of Applied Phycology*. 2014;26(5):2065–2074. DOI: 10.1007/s10811-014-0244-3.
20. Stadnichuk V. N., Krasilnikov P. M., Zlenko D. V. Phycobilisomes and phycobiliproteins of cyanobacteria. *Microbiology*. 2015;84(2):131–143. (In Russ.) DOI: 10.7868/S0026365615020159.
21. Marx A., David L., Adir N. Piecing together the phycobilisome. In: Hohmann-Marriott M. F., editor. *The Structural Basis of Biological Energy Generation*. New York: Springer; 2014. P. 59–76. DOI: 10.1007/978-94-017-8742-0_4.
22. Dagnino-Leone J., Figueroa M., Mella C., Vorphal M. A., Kerff F., Vásquez A. J., Bunster M., Martínez-Oyanedel J. Structural models of the different trimers present in the core of phycobilisomes from *Gracilaria chilensis* based on crystal structures and sequences. *PLOS ONE*. 2017;12(5):e0177540. DOI: 10.1371/journal.pone.0177540.
23. Watanabe M., Ikeuchi M. Phycobilisome: Architecture of a light-harvesting supercomplex. *Photosynthesis Research*. 2013;116:265–276. DOI: 10.1007/s11120-013-9905-3.
24. Singh N. K., Sonani R. R., Rastogi R. P., Madamwar D. The phycobilisomes: An early requisite for efficient photosynthesis in cyanobacteria. *EXCLI Journal*. 2015;14:268–289. DOI: 10.17179/excli2014-723.
25. Ma J., You X., Sun S., Wang X., Qin S., Sui S.-F. Structural basis of energy transfer in Porphyrinidium purpureum phycobilisome. *Nature*. 2020;579:146–151. DOI: 10.1038/s41586-020-2020-7.
26. Jiang H.-W., Ho M.-Y. Isolation and characterization of intact phycobilisome in cyanobacteria. *Journal of Visualized Experiments*. 2021;177. DOI: 10.3791/63272.
27. Ducret A., Müller S. A., Goldie K. N., Hefti A., Sidler W. A., Zuber H., Engel A. Reconstitution, characterisation and mass analysis of the pentacylindrical allophycocyanin core complex from the cyanobacterium *Anabaena* sp. PCC 7120. *Journal of Molecular Biology*. 1998;278(2):369–388. DOI: 10.1006/jmbi.1998.1678.
28. Onishi A., Aikawa S., Kondo A., Akimoto S. Energy transfer in *Anabaena variabilis* filaments under nitrogen depletion, studied by time-resolved fluorescence. *Photosynthesis Research*. 2015;125:191–199. DOI: 10.1007/s11120-015-0089-x.
29. Zheng L., Zheng Z., Li X., Wang G., Zhang K., Wei P., Zhao J., Gao N. Structural insight into the mechanism of energy transfer in cyanobacterial phycobilisomes. *Nature Communications*. 2021;12:5497. DOI: 10.1038/s41467-021-25813-y.
30. Zlenko D. V., Krasilnikov P. M., Stadnichuk I. N. Structural modeling of the phycobilisome core and its association with the photosystems. *Photosynthesis Research*. 2016;130:347–356. DOI: 10.1007/s11120-016-0264-8.
31. Tan H. T., Yusoff F. M., Khaw Y. S., Noor Mazli N. A. I., Nazarudin M. F., Shaharuddin N. A., Katayama T., Ahmad S. A. A review on a hidden gem: Phycoerythrin from blue-green algae. *Marine Drugs*. 2023;21(1):28. DOI: 10.3390/md21010028.
32. Kilimtzidi E., Cuellar Bermudez S., Markou G., Goiris K., Vandamme D., Muylaert K. Enhanced phycocyanin and protein content of *Arthrospira* by applying neutral density and red light shading filters: A small-scale pilot experiment. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. 2019;94(6):2047–2054. DOI: 10.1002/jctb.5991.
33. Sivasankari S., Vinoth M., Ravindran D., Baskar K., Alqarawi A. A., Abd_Allah E. F. Efficacy of red light for enhanced cell disruption and fluorescence intensity of phycocyanin. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 2021;44:141–150. DOI: 10.1007/s00449-020-02430-5.
34. Grébert T., Garczarek L., Daubin V., Humily F., Marie D., Ratin M., Devailly A., Farrant G. K., Mary I., Mella-Flores D., Tanguy G., Labadie K., Wincker P., Kehoe D. M., Partensky F. Diversity and evolution of pigment types in marine *Synechococcus* cyanobacteria. *Genome Biology and Evolution*. 2022;14(4):evac035. DOI: 10.1093/gbe/evac035.
35. Akimoto S., Yokono M., Hamada F., Teshigahara A., Aikawa S., Kondo A. Adaptation of light-harvesting systems of *Arthrospira platensis* to light conditions, probed by time-resolved fluorescence spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*. 2012;1817(8):1483–1489. DOI: 10.1016/j.bbabi.2012.01.006.
36. Yan S.-G., Zhu L.-P., Su H.-N., Zhang X.-Y., Chen X.-L., Zhou B.-C., Zhang Y.-Z. Single-step chromatography for simultaneous purification of C-phycocyanin and allophycocyanin with high purity and recovery from *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis*. *Journal of Applied Phycology*. 2011;23:1–6. DOI: 10.1007/s10811-010-9525-7.
37. Rizzo R. F., do Nascimento Corrêa dos Santos B., da Silva de Castro G. F. P., Passos T. S., de Abreu Nascimento M., Dantas Guerra H., Guidone da Silva C., da Silva Dias D., Domingues J. R., Gomes de Lima-Araújo K. Production of phycobiliproteins by *Arthrospira platensis* under different light conditions for application in food products. *Food Science and Technology (Campinas)*. 2015;35(2):247–252. DOI: 10.1590/1678-457X.6463.
38. George R., John J. A. Phycoerythrin as a potential natural colorant: A mini review. *International Journal of Food Science & Technology*. 2023;58(2):513–519. DOI: 10.1111/ijfs.16229.
39. Domínguez-Martín M. A., Sauer P. V., Kirst H., Sutter M., Bina D., Greber B. J., Nogales E., Polívka T., Kerfeld C. A. Structures of a phycobilisome in light-harvesting and photoprotected states. *Nature*. 2022;609:835–845. DOI: 10.1038/s41586-022-05156-4.
40. Glazer A. N., Apell G. S., Hixson C. S., Bryant D. A., Rimon S., Brown D. M. Biliproteins of cyanobacteria and Rhodophyta: Homologous family of photosynthetic accessory pigments. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1976;73(2):428–431. DOI: 10.1073/pnas.73.2.428.

41. Glazer A. N. Structure and evolution of photosynthetic accessory pigment systems with special reference to phycobiliproteins. *The Evolution of Protein Structure and Function*. 1979;221–244. DOI: 10.1016/B978-0-12-643150-6.50021-X.
42. Liu L.-N., Chen X.-L., Zhang Y.-Z., Zhou B.-C. Characterization, structure and function of linker polypeptides in phycobilisomes of cyanobacteria and red algae: An overview. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*. 2005;1708(2):133–142. DOI: 10.1016/j.bbabi.2005.04.001.
43. Glazer A.N. Light guides: Directional energy transfer in a photosynthetic antenna. *Journal of Biological Chemistry*. 1989;264(1):1–4. DOI: 10.1016/S0021-9258(17)31212-7.
44. Grossman A. R., Schaefer M. R., Chiang G. G., Collier J. L. The phycobilisome, a light-harvesting complex responsive to environmental conditions. *Microbiological Reviews*. 1993;57(3):725–749. DOI: 10.1128/mr.57.3.725-749.1993.
45. Sui S.-F. Structure of phycobilisomes. *Annual Review of Biophysics*. 2021;50(1):53–72. DOI: 10.1146/annurev-biophys-062920-063657.
46. Rast A., Schaffer M., Albert S., Wan W., Pfeffer S., Beck F., Plitzko J. M., Nickelsen J., Engel B. D. Biogenic regions of cyanobacterial thylakoids form contact sites with the plasma membrane. *Nature Plants*. 2019;5(4):436–446. DOI: 10.1038/s41477-019-0399-7.
47. Frank H. A., Robert B., Croce R., van Grondelle R., van Amerongen H., van Stokkum I. Pigments: General properties and biosynthesis. In: Croce R., van Grondelle R., van Amerongen H., van Stokkum I., editors. *Light Harvesting in Photosynthesis*. Boca Raton: CRC Press; 2018. P. 3–20.
48. Sanfilippo J. E., Nguyen A. A., Garczarek L., Karty J. A., Pokhrel S., Strnat J. A., Partensky F., Schluchter W. M., Kehoe D. M. Interplay between differentially expressed enzymes contributes to light color acclimation in marine *Synechococcus*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2019;116(13):6457–6462. DOI: 10.1073/pnas.1810491116.
49. Ho M.-Y., Soulier N. T., Canniffe D. P., Shen G., Bryant D. A. Light regulation of pigment and photosystem biosynthesis in cyanobacteria. *Current Opinion in Plant Biology*. 2017;37:24–33. DOI: 10.1016/j.pbi.2017.03.006.
50. Manirafasha E., Ndikubwimana T., Zeng X., Lu Y., Jing K. Phycobiliprotein: Potential microalgae derived pharmaceutical and biological reagent. *Biochemical Engineering Journal*. 2016;109:282–296. DOI: 10.1016/j.bej.2016.01.025.
51. Sudhakar M. P., Jagatheesan A., Perumal K., Arunkumar K. Methods of phycobiliprotein extraction from *Gracilaria crassa* and its applications in food colourants. *Algal Research*. 2015;8:115–120. DOI: 10.1016/j.algal.2015.01.011.
52. Aftari R. V., Rezaei K., Bandani A. R., Mortazavi A. Antioxidant activity optimization of *Spirulina platensis* C-phycocyanin obtained by freeze-thaw, microwave-assisted and ultrasound-assisted extraction methods. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*. 2017;9(1):1–9. DOI: 10.3920/qas2015.0708.
53. Chiong T., Acquah C., Lau S. Y., Khor E. H., Danquah M. K. Microalgal-based protein by-products: Extraction, purification, and applications. In: *Protein Byproducts. Transformation from Environmental Burden Into Value-Added Products*. New York: Academic Press; 2016. P. 213–234. DOI: 10.1016/B978-0-12-802391-4.00012-4.
54. Enamala M. K., Enamala S., Chavali M., Donepudi J., Yadavalli R., Kolapalli B., Aradhyula T. V., Velpuri J., Kuppam C. Production of biofuels from microalgae – A review on cultivation, harvesting, lipid extraction, and numerous applications of microalgae. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2018;94:49–68. DOI: 10.1016/j.rser.2018.05.012.
55. Colla L. M., Bertol C. D., Ferreira D. J., Bavaresco J., Costa J. A. V., Bertolin T. E. Thermal and photo-stability of the antioxidant potential of *Spirulina platensis* powder. *Brazilian Journal of Biology*. 2017;77(2):332–339. DOI: 10.1590/1519-6984.14315.
56. Wu X.-J., Yang H., Chen Y.-T., Li P.-P. Biosynthesis of fluorescent β subunits of C-phycocyanin from *Spirulina subsalsa* in *Escherichia coli*, and their antioxidant properties. *Molecules*. 2018;23(6):1369. DOI: 10.3390/molecules23061369.
57. Mazo V. K., Biryulina N. A., Sidorova Yu. S. *Arthrospira platensis*: antioxidant, hypoglycemic and hypolipidemic effects in vitro and in vivo. *Problems of Nutrition*. 2022;91(4):19–25. (In Russ.)
58. Patil G., Chethana S., Sridevi A. S., Raghavarao K. S. M. S. Method to obtain C-phycocyanin of high purity. *Journal of Chromatography A*. 2006;1127(1–2):76–81. DOI: 10.1016/j.chroma.2006.05.073.
59. Campos Assumpção de Amarante M., Simões Corrêa Júnior L. C., Sala L., Kalil S. J. Analytical grade C-phycocyanin obtained by a single-step purification process. *Process Biochemistry*. 2020;90:215–222. DOI: 10.1016/j.procbio.2019.11.020.
60. Falkeborg M. F., Roda-Serrat M. C., Burnæs K. L., Nielsen A. L. D. Stabilising phycocyanin by anionic micelles. *Food Chemistry*. 2018;239:771–780. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.07.007.
61. Scheer H., Kufer W. Conformational studies on C-phycocyanin from *Spirulina platensis*. *Zeitschrift für Naturforschung C*. 1977;32(7–8):513–519. DOI: 10.1515/znc-1977-7-806.
62. Burgess R. R. Protein precipitation techniques. In: *Methods in Enzymology*. Amsterdam: Elsevier; 2009;463:331–342. DOI: 10.1016/S0076-6879(09)63020-2.
63. Sørensen L., Hantke A., Eriksen N. T. Purification of the photosynthetic pigment C-phycocyanin from heterotrophic *Galdieria sulphuraria*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2013;93(12):2933–2938. DOI: 10.1002/jsfa.6116.
64. Kumar D., Wattal Dhar D., Pabbi S., Kumar N., Walia S. Extraction and purification of C-phycocyanin from *Spirulina platensis* (CC540). *Indian Journal of Plant Physiology*. 2014;19:184–188. DOI: 10.1007/s40502-014-0094-7.
65. Liu S., Chen Y., Lu Y., Chen H., Li F., Qin S. Biosynthesis of fluorescent cyanobacterial allophycocyanin trimer in *Escherichia coli*. *Photosynthesis Research*. 2010;105:135–142. DOI: 10.1007/s11120-010-9574-4.
66. Adjali A., Clarot I., Chen Z., Marchioni E., Boudier A. Physicochemical degradation of phycocyanin and means to improve its stability: A short review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2022;12(3):406–414. DOI: 10.1016/j.jpha.2021.12.005.
67. Kupka M., Scheer H. Unfolding of C-phycocyanin followed by loss of non-covalent chromophore–protein interactions: 1. Equilibrium experiments. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*. 2008;1777(1):94–103. DOI: 10.1016/j.bbabi.2007.10.009.
68. Chaiklahan R., Chirasuwan N., Bunnag B. Stability of phycocyanin extracted from *Spirulina* sp.: Influence of temperature, pH and preservatives. *Process Biochemistry*. 2012;47(4):659–664. DOI: 10.1016/j.procbio.2012.01.010.

69. Böcker L., Ortmann S., Surber J., Leeb E., Reineke K., Mathys A. Biphasic short time heat degradation of the blue microalgae protein phycocyanin from *Arthrospira platensis*. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 2019;52:116–121. DOI: 10.1016/j.ifset.2018.11.007.
70. Aoki J., Sasaki D., Asayama M. Development of a method for phycocyanin recovery from filamentous cyanobacteria and evaluation of its stability and antioxidant capacity. *BMC Biotechnology*. 2021;21:40. DOI: 10.1186/s12896-021-00692-9.
71. Yuan B., Li Z., Shan H., Dashnyam B., Xu X., McClements D. J., Zhang B., Tan M., Wang Z., Cao C. A review of recent strategies to improve the physical stability of phycocyanin. *Current Research in Food Science*. 2022;5:2329–2337. DOI: 10.1016/j.crfs.2022.11.019.
72. Ilter I., Akyil S., Demirel Z., Koç M., Conk-Dalay M., Kaymak-Ertekin F. Ilter I. Optimization of phycocyanin extraction from *Spirulina platensis* using different techniques. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2018;70:78–88. DOI: 10.1016/j.jfca.2018.04.007.
73. Pan-utai W., lamtham S. Extraction, purification and antioxidant activity of phycobiliprotein from *Arthrospira platensis*. *Process Biochemistry*. 2019;82:189–198. DOI: 10.1016/j.procbio.2019.04.014.
74. Tavandani H. A., Raghavarao K. S. M. S. Ultrasound-assisted enzymatic extraction of natural food colorant C-phycocyanin from dry biomass of *Arthrospira platensis*. *LWT*. 2020;118:108802. DOI: 10.1016/j.lwt.2019.108802.
75. Zhao X., Zhang H., Xiang H., Yu D., Gao M., Yan R., Zhang D. A nature pH indicator with high colorimetric response sensitivity for pork freshness monitoring. *Food Bioscience*. 2024;57:103519. DOI: 10.1016/j.fbio.2023.103519.
76. Antelo F. S., Costa J. A. V., Kalil S. J. Thermal degradation kinetics of the phycocyanin from *Spirulina platensis*. *Biochemical Engineering Journal*. 2008;41(1):43–47. DOI: 10.1016/j.bej.2008.03.012.
77. Patel A., Pawar R., Mishra S., Sonawane S., Ghosh P. K. Kinetic studies on thermal denaturation of C-phycocyanin. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*. 2004;41(5):254–257.
78. Choi W. Y., Lee H. Y. Kinetic analysis of stabilizing C-phycocyanin in the *Spirulina platensis* extracts from ultrasonic process associated with effects of light and temperature. *Applied Sciences*. 2018;8(9):1662. DOI: 10.3390/app8091662.
79. Escalante F. M. E., Pérez-Rico D. A., Alarcón-Jiménez J. L., González-Morales E., Guerra-Álvarez L. F., Ramírez-Vázquez J. C., Gutiérrez-Pulido H. Phycocyanin thermostability: An accelerated life-test analysis. *Journal of the Mexican Chemical Society*. 2020;64(3):218–229. DOI: 10.29356/jmcs.v64i3.1157.
80. Munawaroh H. S. H., Gumilar G. G., Alifia C. R., Marthania M., Stellasary B., Yuliani G., Wulandari A. P., Kurniawan I., Hidayat R., Ningrum A., Koyande A. K., Show P.-L. Photostabilization of phycocyanin from *Spirulina platensis* modified by formaldehyde. *Process Biochemistry*. 2020;94:297–304. DOI: 10.1016/j.procbio.2020.04.021.
81. Martelli G., Folli C., Visai L., Daglia M., Ferrari D. Thermal stability improvement of blue colorant C-phycocyanin from *Spirulina platensis* for food industry applications. *Process Biochemistry*. 2014;49(1):154–159. DOI: 10.1016/j.procbio.2013.10.008.
82. Chentir I., Hamdi M., Li S., Doumandji A., Markou G., Nasri M. Stability, bio-functionality and bio-activity of crude phycocyanin from a two-phase cultured Saharian *Arthrospira* sp. strain. *Algal Research*. 2018;35:395–406. DOI: 10.1016/j.algal.2018.09.013.
83. Cavalcante Braga A. R., da Silva Figueira F., Teixeira da Silveira J., de Moraes M. G., Vieira Costa J. A., Kalil S. J. Improvement of thermal stability of c-phycocyanin by nanofiber and preservative agents. *Journal of Food Processing and Preservation*. 2016;40(6):1264–1269. DOI: 10.1111/jfpp.12711.
84. Faieta M., Neri L., Sacchetti G., Di Michele A., Pittia P. Role of saccharides on thermal stability of phycocyanin in aqueous solutions. *Food Research International*. 2020;132:109093. DOI: 10.1016/j.foodres.2020.109093.
85. Liu R., Qin S., Li W. Phycocyanin: anti-inflammatory effect and mechanism. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2022;153:113362. DOI: 10.1016/j.biopha.2022.113362.
86. Wu Q., Liu L., Miron A., Klímová B., Wan D., Kuča K. The antioxidant, immunomodulatory, and anti-inflammatory activities of *Spirulina*: an overview. *Archives of Toxicology*. 2016;90:1817–1840. DOI: 10.1007/s00204-016-1744-5.
87. Fernández-Rojas B., Hernández-Juárez J., Pedraza-Chaverri J. Nutraceutical properties of phycocyanin. *Journal of Functional Foods*. 2014;11:375–392. DOI: 10.1016/j.jff.2014.10.011.
88. Straský Z., Zemanková L., Nemecková I., Rathouská J., Wong R. J., Muchová L., Subhanova I., Vaníková J., Vanová K., Vitek L., Nachtigal P. *Spirulina platensis* and phycocyanobilin activate atheroprotective heme oxygenase-1: a possible implication for atherogenesis. *Food & Function*. 2013;4(11):1586–1594. DOI: 10.1039/C3FO60230C.
89. Xia D., Liu B., Xin W., Liu T., Sun J., Liu N., Qin S., Du Z. Protective effects of C-phycocyanin on alcohol-induced subacute liver injury in mice. *Journal of Applied Phycology*. 2016;28:765–772. DOI: 10.1007/s10811-015-0677-3.
90. Zhang D.-L., J.-H. Wu, Xie L.-M., Liu S.-Q. Molecular mechanism of C-phycocyanin in alleviation of acute lung injury in septic rats. *Basic & Clinical Medicine*. 2014;34(7):891–895.
91. Liu Y., Jovceviski B., Pukala T. L. C-phycocyanin from *Spirulina* inhibits α -synuclein and amyloid- β fibril formation but not amorphous aggregation. *Journal of Natural Products*. 2019;82(1):66–73. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.8b00610.
92. Pavón-Fuentes N., Marín-Prida J., Llópiz-Arzuaga A., Falcón-Cama V., Campos-Mojena R., Cervantes-Llanos M., Piniella-Matamoros B., Pentón-Arias E., Pentón-Rol G. Phycocyanobilin reduces brain injury after endothelin-1-induced focal cerebral ischemia. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 2020;47(3):383–392. DOI: 10.1111/1440-1681.13214.
93. Fernández-Rojas B., Medina-Campos O. N., Hernández-Pando R., Negrette-Guzmán M., Huerta-Yepez S., Pedraza-Chaverri J. C-phycocyanin prevents cisplatin-induced nephrotoxicity through inhibition of oxidative stress. *Food Funct*. 2014;5(3):480–490. DOI: 10.1039/C3FO60501A.
94. Kumari R. P., Sivakumar J., Thankappan B., Anbarasu K. C-Phycocyanin modulates selenite-induced cataractogenesis in rats. *Biological Trace Element Research*. 2013;151:59–67. DOI: 10.1007/s12011-012-9526-2.
95. Okamoto T., Kawashima H., Osada H., Toda E., Homma K., Nagai N., Imai Y., Tsubota K., Ozawa Y. Dietary spirulina supplementation protects visual function from photo-

- stress by suppressing retinal neurodegeneration in mice. *Translational Vision Science & Technology*. 2019;8(6):20. DOI: 10.1167/tvst.8.6.20.
96. Berleana R., Roşioru C. L., Tarba C. Effects of *Arthrospira* (*Spirulina*) on hematopoiesis in rats. *Studia Universitatis Babeş-Bolyai, Biologia*. 2014;59(2):69–76.
 97. Hayashi O., Ono S., Ishii K., Shi Y., Hirahashi T., Katoh T. Enhancement of proliferation and differentiation in bone marrow hematopoietic cells by *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis* in mice. *Journal of Applied Phycology*. 2006;18:47–56. DOI: 10.1007/s10811-005-9014-6.
 98. Hayashi O. Proliferation and differentiation of hematopoietic cells and preservation of immune functions. In: Moschandreu T. E., editor. *Blood Cell: An Overview of Studies in Hematology*. London: Hematology; 2012. P. 119–146. DOI: 10.5772/48322.
 99. Cheng-Wu Z., Chao-tsi T., Yuan-Zhen Z. The effects of polysaccharide and phycocyanin from *Spirulina platensis* variety on peripheral blood and hematopoietic system of bone marrow in mice. In: Second Asia-Pacific Conference on Alga Biotechnology. 25–27 April 1994. P. 58.
 100. Braune S., Krüger-Genge A., Kammerer S., Jung F., Küpper J.-H. Phycocyanin from *Arthrospira platensis* as potential anti-cancer drug: Review of in vitro and in vivo studies. *Life*. 2021;11(2):91. DOI: 10.3390/life11020091.
 101. Patil S., Al-Zarea B. K., Maheshwari S., Sahu R. Comparative evaluation of natural antioxidants spirulina and aloe vera for the treatment of oral submucous fibrosis. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*. 2015;5(1):11–15. DOI: 10.1016/j.jobcr.2014.12.005.
 102. Ge Y., Kang Y.-K., Dong L., Liu L.-H., An G.-Y. The efficacy of dietary *Spirulina* as an adjunct to chemotherapy to improve immune function and reduce myelosuppression in patients with malignant tumors. *Translational Cancer Research*. 2019;8(4):1065–1073. DOI: 10.21037/tcr.2019.06.13.
 103. Liu Q., Li W., Qin S. Therapeutic effect of phycocyanin on acute liver oxidative damage caused by X-ray. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2020;130:110553. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.110553.
 104. Gao Y., Liu C., Wan G., Wang X., Cheng X., Ou Y. Phycocyanin prevents methylglyoxal-induced mitochondrial-dependent apoptosis in INS-1 cells by Nrf2. *Food & Function*. 2016;7(2):1129–1137. DOI: 10.1039/C5FO01548K.
 105. Li B., Chu X., Gao M., Li W. Apoptotic mechanism of MCF-7 breast cells *in vivo* and *in vitro* induced by photodynamic therapy with C-phycocyanin. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*. 2010;42(1):80–89. DOI: 10.1093/abbs/gmp104.
 106. Chen T., Wong Y.-S. In vitro antioxidant and antiproliferative activities of selenium-containing phycocyanin from selenium-enriched *Spirulina platensis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008;56(12):4352–4358. DOI: 10.1021/jf073399k.
 107. Roy K. R., Arunasree K. M., Reddy N. P., Dheeraj B., Reddy G. V., Reddanna P. Alteration of mitochondrial membrane potential by *Spirulina platensis* C-phycocyanin induces apoptosis in the doxorubicin-resistant human hepatocellular carcinoma cell line HepG2. *Biotechnology and Applied Biochemistry*. 2007;47(3):159–167. DOI: 10.1042/BA20060206.
 108. Bingula R., Dupuis C., Pichon C., Berthon J.-Y., Filaire M., Pigeon L., Filaire E. Study of the effects of betaine and/or C-phycocyanin on the growth of lung cancer A549 cells *in vitro* and *in vivo*. *Journal of Oncology*. 2016;31(1):8162952. DOI: 10.1155/2016/8162952.
 109. Li B., Gao M.-H., Chu X.-M., Teng L., Lv C.-Y., Yang P., Yin Q.-F. The synergistic antitumor effects of all-trans retinoic acid and C-phycocyanin on the lung cancer A549 cells *in vitro* and *in vivo*. *European Journal of Pharmacology*. 2015;749:107–114. DOI: 10.1016/j.ejphar.2015.01.009.
 110. Wang H., Liu Y., Gao X., Carter C. L., Liu Z.-R. The recombinant β subunit of C-phycocyanin inhibits cell proliferation and induces apoptosis. *Cancer Letters*. 2007;247(1):150–158. DOI: 10.1016/j.canlet.2006.04.002.
 111. Subhashini J., Mahipal S. V. K., Reddy M. C., Reddy M. M., Rachamalla A., Reddanna P. Molecular mechanisms in C-phycocyanin induced apoptosis in human chronic myeloid leukemia cell line-K562. *Biochemical Pharmacology*. 2004;68(3):453–462. DOI: 10.1016/j.bcp.2004.02.025.
 112. Gardeva E., Toshkova R., Yossifova L., Minkova K., Ivanova N., Gigova L. Antitumor activity of C-phycocyanin from *Arthrospira africanum* (Cyanophyceae). *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 2014;57(5):675–684. DOI: 10.1590/S1516-89132014005000018.
 113. Ramirez D., Ledón N., González R. Role of histamine in the inhibitory effects of phycocyanin in experimental models of allergic inflammatory response. *Mediators of Inflammation*. 2002;11(2):81–85. DOI: 10.1080/09629350220131926.
 114. Liao G., Gao B., Gao Y., Yang X., Cheng X., Ou Y. Phycocyanin inhibits tumorigenic potential of pancreatic cancer cells: role of apoptosis and autophagy. *Scientific Reports*. 2016;6:34564. DOI: 10.1038/srep34564.
 115. Liu Q., Huang Y., Zhang R., Cai T., Cai Y. Medical application of *Spirulina platensis* derived C-phycocyanin. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2016;2016(1):7803846. DOI: 10.1155/2016/7803846.