

Трегалолипидные биосурфактанты термотолерантного углеводородокисляющего штамма *Gordonia amicalis* 1D

Петриков К. В., Делеган Я. А.

ФИЦ «Пушинский научный центр биологических исследований РАН»
Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г. К. Скрыбина РАН;
bioscience.kp@gmail.com

Углеводородокисляющие бактерии являются одной из наиболее распространенных групп природных микроорганизмов. Перспективными бактериями-нефтедеструкторами являются представители рода *Gordonia*. Штамм *G. amicalis* 1D был ранее охарактеризован нами как эффективный деструктор алканов, сохраняющий окислительную активность при температуре роста до 50°C и продуцирующий поверхностно-активные соединения (биоПАВ или биосурфактанты). Связи биоПАВ с деградацией углеводов уделяется особое внимание исследователей, так как считается, что эти соединения играют важную роль в потреблении гидрофобных субстратов. Помимо этого, биоПАВ обладают рядом свойств, обеспечивающих высокий потенциал биотехнологического применения биоПАВ [1].

Целью данной работы была характеристика способности штамма 1D к образованию внеклеточных биоПАВ в разных условиях роста и частичное определение структурных особенностей этих соединений.

Для оценки количества образуемых биоПАВ измеряли поверхностное натяжения культуральной жидкости. Максимальная продукция была показана при росте штамма 1D на гексадекане, при 40°C несколько выше, чем при 27°C (табл. 1). На эйкозанае поверхностная активность также была выше при более высокой температуре, причём различие было гораздо существеннее: 40 мН/м при 40°C и 52 мН/м при 27°C. Для додекана продемонстрирована обратная закономерность: при 40°C продукция биоПАВ оказалась заметно ниже, чем при 27°. Минимальная поверхностная активность у штамма 1D наблюдалась при росте на октане для обеих температур роста. Можно предположить, что такая существенная разница в продукции биоПАВ объясняется наличием в штамме нескольких систем биodeградации алканов, каждая из которых отвечает за окисление разных субстратов при разных температурах. Соответственно, эти системы деградации могут быть связаны с биосинтезом биоПАВ и влиять на их продукцию в зависимости от условий культивирования. С другой стороны, при изменении температуры изменяются такие параметры, как растворимость субстрата в воде, его испаряемость, и даже агрегатное состояние, что также может влиять на метаболизм. Кроме того, в случае октана низкий уровень продукции биоПАВ может быть следствием характерного для коротких алканов токсического действия на микроорганизмы.

Табл. 1. Поверхностное натяжение культуральной жидкости при росте *Gordonia amicalis* 1D при росте в жидкой среде Эванса в различных условиях.

Субстрат	Температура, °C	
	27	40
Октан	54 ± 2	58 ± 2
Додекан	44 ± 2	57 ± 2
Гексадекан	39 ± 2	35 ± 2
Эйкозан	52 ± 2	40 ± 2

Следует отметить, что опубликованных работ о структурном анализе внеклеточных биоПАВ гордоний очень мало. Известно, что эти бактерии продуцируют экзополисахариды и гликолипиды [2,3]. Для характеристики гликолипидов, прежде всего, необходимо определить углеводную компоненту [1]. Для этого биоПАВ, продуцируемые штаммом 1D, были выделены экстракцией из бесклеточного супернатанта с последующей очисткой колоночной хроматографией на силикагеле. Выделенные биоПАВ представляют собой смесь гликолипидов (рис. 1А). Очищенный биоПАВ подвергали гидролизу, полученные в результате углеводы идентифицировали методом тонкослойной хроматографии в сравнении со стандартами по коэффициенту удерживания для трёх различных элюентов (рис. 1Б-Е). В результате впервые показано, что в состав внеклеточных гликолипидов гордонии входит остаток трегалозы. Следует отметить, что в статье Догана с соавт. [4] упоминается образование трегалолипидов штаммом *Gordonia amarae*, однако в этой работе нет ни анализа структуры, ни ссылок на опубликованные данные, которые могли бы подтвердить такую классификацию биоПАВ.

В геноме штамма 1D были обнаружены гены, отвечающие за типичные пути синтеза трегалозы: *otsA* и *otsB* (из глюкозы), и *treY* и *treZ* (из мальтоолигосахаридов).

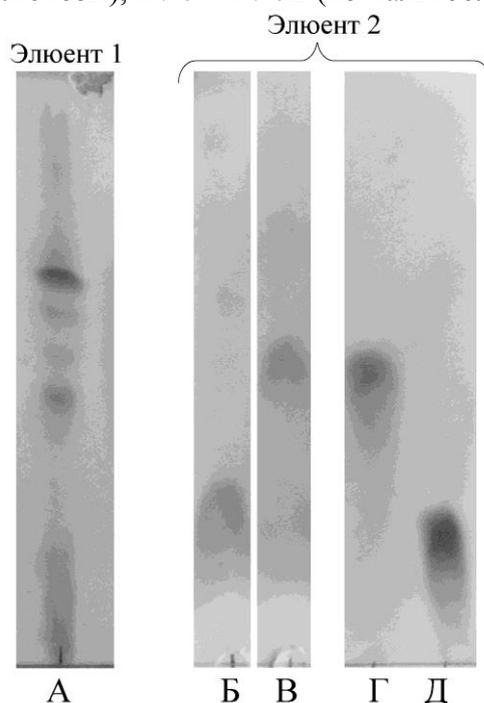


Рис. 1. Хроматограммы с проявлением α -нафтолом (на углеводы)

(А) Очищенные биоПАВ *G. amicalis* 1D; (Б) БиоПАВ после щелочного гидролиза; (В) БиоПАВ после кислотного гидролиза; (Г) Стандарт глюкозы; (Д) Стандарт трегалозы.

Элюент 1: хлороформ-метанол-вода (65:15:2 об.). Элюент 2: хлороформ-метанол (3:2 об.).

Таким образом, было показано, что образование биоПАВ штаммом *G. amicalis* 1D значительно изменяется в зависимости от ростового субстрата и температуры культивирования. Впервые продемонстрировано, что представитель рода *Gordonia* продуцирует внеклеточные биоПАВ, относящиеся к классу трегалолипидов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-00329.

Литература

1. Marchant R, Banat IM. Biosurfactants: A sustainable replacement for chemical surfactants? *Biotechnol Lett* 2012;34:1597–605.
2. Ta-Chen L, Chang J-S, Young C-C. Exopolysaccharides produced by *Gordonia alkanivorans* enhance bacterial degradation activity for diesel. *Biotechnol Lett* 2008;30:1201–6.
3. Franzetti A, Bestetti G, Caredda P, La Colla P et al. Surface-active compounds and their role in the access to hydrocarbons in *Gordonia* strains. *FEMS Microbiol Ecol* 2008;63:238–48.
4. Dogan I, Pagilla KR, Webster DA, Stark BC. Expression of *Vitreoscilla* hemoglobin in *Gordonia amarae* enhances biosurfactant production. *J Ind Microbiol Biotechnol* 2006;33:693–700.