МИКРОБИОЛОГИЯ, 2021, том 90, № 1, с. 122–128

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ГАЛАКТОФУРАНАН КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ АКТИНОБАКТЕРИЙ РОДА *PAENARTHROBACTER*

© 2020 г. Н. В. Потехина[a], *, А. С. Шашков[b], Е. М. Тульская[a], Е. В. Арискина[c], Л. В. Дорофеева[c], Л. И. Евтушенко[c]

[a] *Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, 119192 Россия*

[b] *Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, Москва, 119991 Россия*

[c] *Всероссийская коллекция микроорганизмов, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина, ФИЦ Пущинский научный центр биологических исследований РАН, Пущино, Московская обл., 142290 Россия*

**e-mail: potekhina56@mail.ru*

Поступила в редакцию 19.05.2020 г.
После доработки 17.06.2020 г.
Принята к публикации 25.06.2020 г.

Изучен состав и структура гликополимеров клеточных стенок представителей рода *Paenarthrobacter* – *P. aurescens* ВКМ Ac-1105^T, *P. histidinovorans* ВКМ Ac-1978^T и *P. nicotinovorans* ВКМ Ac-1988^T, относившихся ранее к роду *Arthrobacter*. У всех исследованных штаммов выявлен нейтральный полисахарид – (1 → → 6)-связанный β-D-галактофуранан, почти полностью замещенный по гидроксилам при C-2 галактозы остатками 2,3-диацетамидо-2,3-дидезокси-α-глюкопиранозы (α-Glc*p*-NAc3NAc). Кислотные гидролизаты клеточных стенок содержали галактозу, глюкозу, арабинозу, глюкозамин и галактозамин. Исследования проводили химическими и ЯМР-спектроскопическими методами. Структура галактофуранана не была описана ранее для представителей других родов актинобактерий. Полученные данные расширяют представления о химическом строении клеточных стенок микроорганизмов и могут быть востребованы в систематике актинобактерий, в частности, для дифференциации на уровне фенотипа и обоснования описания новых родов в составе семейства *Micrococcaceae*.

Ключевые слова: *Paenarthrobacter*, галактофуранан, клеточная стенка, хемотаксономия

DOI: 10.31857/S0026365620060154

Изучение гликополимеров клеточных стенок микроорганизмов представляет интерес для ряда областей фундаментальной и прикладной науки, в том числе, таксономии микроорганизмов. Хотя система классификации прокариот во все большей мере базируется на данных геномики, сведения о фенотипических характеристиках, в частности, хемотаксономических, отражающих химический состав клеток и клеточных стенок, по-прежнему актуальны (Nouioui et al., 2018; Chun et al., 2018). Основным гликополимером клеточных стенок грамположительных бактерий, как известно, является пептидогликан, характеризующийся высокой степенью структурного разнообразия (Schleifer, Kandler, 1972; Schumann, 2011). Типы (вариации) структур этого полимера являются важнейшими хемотаксономическими признаками таксонов актинобактерий различного ранга (Schumann, 2011; Schumann et al., 2009; Busse, 2016).

Помимо пептидогликана, клеточная стенка грамположительных бактерий обычно содержит гликополимеры иных типов, ковалентно связанные с пептидогликаном, которые часто называют вторичными гликополимерами (“secondary cell wall glycopolymers”) (Kohler et al., 2009; Schade, Weidenmaier, 2016). Последние представлены фосфатсодержащими гликополимерами – тейхоевыми кислотами и поли(гликозилфосфатами), а также бесфосфатными – тейхуроновыми и тейхулозоновыми кислотами или полисахаридами других типов (Kohler et al., 2009; Potekhina et al., 2011; Тульская и соавт., 2011; Schade, Weidenmaier, 2016;

Принятые сокращения: HSQC – протон-детектированная гетероядерная одноквантовая корреляция; *J* (KCCB) – константа спин-спинового взаимодействия; ROESY – двумерная спектроскопия ядерного эффекта Оверхаузера во вращающейся системе координат; COSY – корелляционная спектроскопия; TOCSY – тотальная корреляционная спектроскопия; HMBC – гетероядерная корреляция через несколько связей; TSP – натриевая соль 3-(триметилсилил)-2,2,3,3-тетрадейтеропропионовой кислоты; δ_C, δ_H – значения химических сдвигов атомов ^{13}C и ^{1}H соответственно.

Шашков и соавт., 2020а). Показано, что набор и структура вторичных гликополимеров являются специфичными для ряда изученных видов, родов и таксонов актинобактерий более высокого уровня (Takeuchi et al., 1990; Potekhina et al., 2011; Evtushenko, Ariskina, 2015; Magee, Ward, 2015; Goodfellow, 2015; Goodfellow, Jones, 2015; Nouioui et al., 2018; Busse, 2020; Шашков и соавт., 2020а).

Род *Paenarthrobacter* (семейство *Micrococcaceae*) включает 6 видов, которые ранее входили в состав рода *Arthrobacter* (группа "*Arthrobacter nicotinovorans*") (Busse, 2016). Род предложен на основе филогенетической обособленности (16S рРНК) вошедших в него видов и их отличий от *Arthrobacter sensu stricto* и других близких родов по фенотипическим признакам, главным образом, хемотаксономическим (структура пептидогликана, состав изопреноидных хинонов и полярных липидов) (Busse, 2016). Представители рода *Paenarthrobacter* имеют пептидогликан A3α типа, вариация A11.17 (L-лизин в тетрапептидной цепочке, межпептидный мостик L-Ala–L-Thr–L-Ala) (Schumann et al., 2011; Busse, 2016). Сведения о вторичных гликополимерах этого рода фрагментарны. Для штаммов двух видов (*P. aurescens* и *P. ureafaciens*) показано отсутствие тейхоевых кислот и наличие нейтральных полисахаридов, структуры которых не установлены (Takeuchi, Yokota, 1989).

Целью настоящей работы было изучение структур вторичных гликополимеров клеточных стенок типовых штаммов трех видов рода *Paenarthrobacter* – *P. aurescens* (типовой вид рода), *P. histidinovorans* и *P. nicotinovorans*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Штаммы для исследований (*P. aurescens* ВКМ Ac-1105^T, *P. histidinovorans* ВКМ Ac-1978^T, *P. nicotinovorans* ВКМ Ac-1988^T и *Paenarthrobacter* sp. ВКМ Ac-2576) были получены из Всероссийской коллекции микроорганизмов (ВКМ) (www.vkm.ru).

Культуры выращивали аэробно при температуре 28°C до середины фазы логарифмического роста на пептонно-дрожжевой среде (г/л): пептон – 5, дрожжевой экстракт – 3, K_2HPO_4 – 0.2, глюкоза – 5; pH 7. Клеточные стенки получали методом дифференциального центрифугирования из клеток, разрушенных на ультразвуковом дезинтеграторе UP100H ("Hielscher", Германия) при 30 кГц, 3–5 × 10 мин в ледяной воде; гликополимеры экстрагировали из клеточных стенок 10% ТХУ при 4°C (Potekhina et al., 2011).

Продукты кислотного гидролиза (2 M HCl, 3 ч, 100°C) препаратов клеточной стенки и гликополимеров идентифицировали методами хроматографии на бумаге и электрофореза с использованием различных систем растворителей и специфических красителей (реактив Ишервуда, нингидрин, $AgNO_3$, анилин-фталат) (Potekhina et al., 2011).

Абсолютную конфигурацию галактозы определяли модифицированным методом с использованием ГЖХ ацетилированных гликозидов с (*S*)-октан-2-олом как описано ранее (Potekhina et al., 2011).

ЯМР-спектры снимали на спектрометре Avance 600 ("Bruker", Германия) для растворов препаратов в 99.96% D_2O при 30°C. Для отсчета химических сдвигов использовали внутренние стандарты TSP (δ_H 0.0) и ацетон (δ_C 31.45) при температуре 313 K. Двумерные ЯМР-эксперименты выполняли с использованием стандартного математического обеспечения фирмы "Bruker" ("Bruker Optik GmbH", Германия). Время спин-лока в экспериментах ^{1}H,^{1}H TOCSY составляло 100 мс. ^{1}H,^{13}C HMBC эксперименты были оптимизированы для KCCB 8 Гц.

Выделение ДНК, амплификацию, секвенирование и анализ последовательности нуклеотидов гена 16S рРНК штамма ВКМ Ac-2576 проводили как описано ранее (Ryzhmanova et al., 2017).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В кислотных гидролизатах клеточных стенок изученных штаммов (*P. aurescens* ВКМ Ac-1105^T, *P. histidinovorans* ВКМ Ac-1978^T, *P. nicotinovorans* ВКМ Ac-1988^T) и выделенных из них препаратов гликополимеров обнаружены в разных соотношениях галактоза, глюкоза, арабиноза, а также глюкозамин и галактозамин. Фосфорные эфиры глицерина и других полиолов или сахаров обнаружены не были, что указывало на отсутствие тейхоевых кислот и поли(гликозилфосфатов) и наличие бесфосфатных гликополимеров.

Препараты гликополимеров из клеточных стенок всех трех вышеупомянутых штаммов, исследованные методами ЯМР-спектроскопии, показали полную идентичность. Развернутое описание ЯМР-спектрометрического анализа приводится для препарата штамма *P. nicotinovorans* ВКМ Ac-1988^T.

Спектр ЯМР ^{13}C (рис. 1) препарата гликополимера штамма ВКМ Ac-1988^T содержал в области резонанса аномерных атомов углерода три сигнала при δ_C 109.1 м.д. (минор), 107.3 м.д. и 97.3 м.д. В области резонанса атомов углерода, связанных с азотом, имелись два сигнала при δ_C 53.6 и 53.1 м.д. В сильном поле идентифицированы два сигнала метильных групп N-ацетатов (δ_C 23.0 и 23.3 м.д.), им соответствовали два сигнала карбонильных атомов углерода при δ_C 176.1 и 175.4 м.д. Остальные сигналы находились в области δ_C 88–62 м.д. В области резонанса протонов при аномерных атомах углерода в спектре ЯМР ^{1}H были видны два

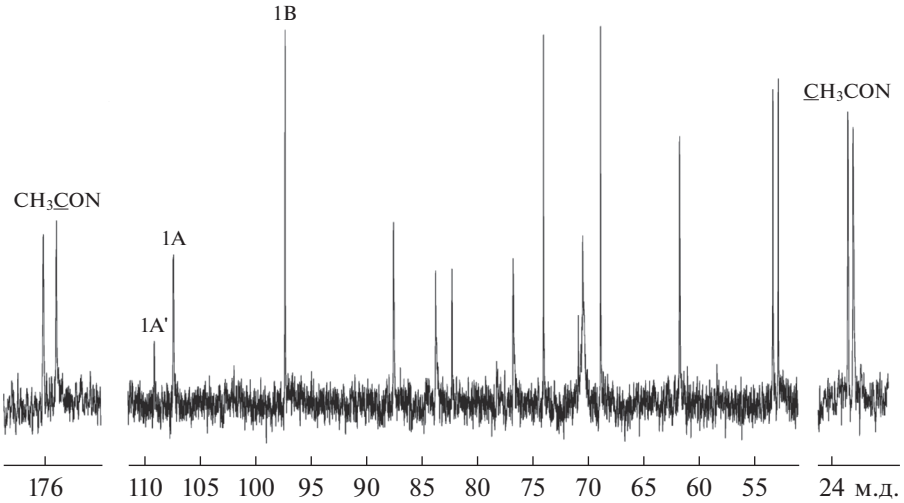
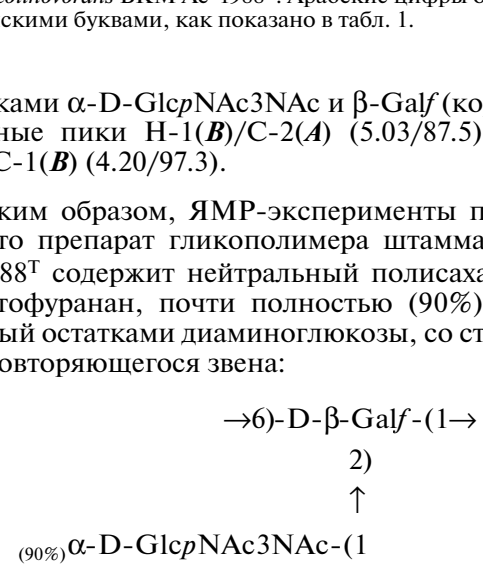


Рис. 1. Спектр ^{13}C ЯМР галактофуранана из клеточной стенки *P. nicotinovorans* ВКМ Ac-1988^{T}. Арабские цифры отнесены к атомам в остатках сахаров, обозначенных заглавными латинскими буквами, как показано в табл. 1.

интенсивных сигнала при δ_H 5.10 м.д. (уширенный синглет, ^3J < 2 Гц) и δ_H 5.02 м.д. (дублет, ^3J 4 Гц). В сильном поле присутствовал интенсивный синглет при δ_H 1.98 м.д. Остальные сигналы располагались в области δ_H 3.5–4.2 м.д.

Одномерные спектры были расшифрованы при анализе двумерных гомоядерных ^{1}H,^{1}H COSY, TOCSY, ROESY и гетероядерных ^{1}H,^{13}C HSQC и HMBC спектров. Гомоядерные спектры выявили наличие в полимере остатков β-галактофуранозы (β-Gal*f*, остатки ***A***, ***A'***) и 2,3-диацетамидо-2,3-дидезокси-α-глюкопиранозы (α-D-Glc*p*NAc3NAc, остаток ***B***). Спектр ^{1}H,^{1}H ROESY (рис. 2, табл. 1) содержал среди прочих корреляционные пики H-1(***A***)/H-6,6'(***A***) (5.12/3.90; 3.64) и H-1(***B***)/H-1.2(***A***) (5.03/5.12;4.20), которые свидетельствовали о (1 → 6)-связи между остатками β-Gal*f* и о замещении последних остатками α-D-Glc*p*NAc3NAc по гидроксилу у C-2. Отметим, что значительный ядерный эффект Оверхаузера H-1(***B***)/H-1(***A***) (5.03/5.12) ожидается в данном дисахаридном фрагменте при одинаковой (D) конфигурации пираноз (Bock, Pedersen, 1983). Отнесение сигналов в спектре ЯМР ^{13}C полимера было выполнено при анализе спектра ^{1}H,^{13}C HSQC (табл. 1). Слабопольное смещение сигналов C-2 и C-6 остатка ***A*** по сравнению с соответствующими сигналами в β-метил-D-галактофуранозиде (Lipkind et al., 1988) подтверждало замещение остатка по гидроксилам при этих атомах. Анализ двумерных спектров выявил принадлежность минорных сигналов незамещенным по C-2 остаткам β-Gal*f* (остатки ***A'***; табл. 1). Спектр ^{1}H,^{13}C HMBC (рис. 3; табл. 1) подтвердил наличие (1 → 6)-связи между остатками β-Gal*f* (корреляционные пики H-1(***A***)/C-6(***A***) (5.12/70.4) и H-6'(***A***)/C-1(***A***)) (3.64/107.3) и (1 → 2)-связи между остатками α-D-Glc*p*NAc3NAc и β-Gal*f* (корреляционные пики H-1(***B***)/C-2(***A***) (5.03/87.5) и H-2(***A***)/C-1(***B***) (4.20/97.3).

Таким образом, ЯМР-эксперименты показали, что препарат гликополимера штамма ВКМ Ac-1988^{T} содержит нейтральный полисахарид – галактофуранан, почти полностью (90%) замещенный остатками диаминоглюкозы, со структурой повторяющегося звена:



Идентичность спектров гликополимеров штаммов *P. aurescens* ВКМ Ac-1105^{T}, *P. histidinovorans* Ac-1978^{T} и описанного выше ВКМ Ac-1988^{T} указывало на идентичность структур галактофурананов у всех трех организмов.

Ранее аналогичный галактофуранан с диаминоглюкозой в боковой цепи был описан в составе клеточной стенки *Arthrobacter* sp. ВКМ Ac-2576 (Shashkov et al., 2012). С целью уточнения таксономического положения штамма ВКМ Ac-2576 было проведено сравнительное изучение последовательностей нуклеотидов 16S РНК генов этого штамма и родственных организмов. Было установлено, что ВКМ Ac-2576 также относится к роду *Paenarthrobacter*. Последовательность нуклеотидов гена 16S РНК генов штамма ВКМ Ac-2576 имеет 100% сходства с депонированной в GenBank последовательностью (BJMD01000050) штамма *P. aurescens* NBRC 12136^{T} (=*P. aurescens* ВКМ Ac-1105^{T}).

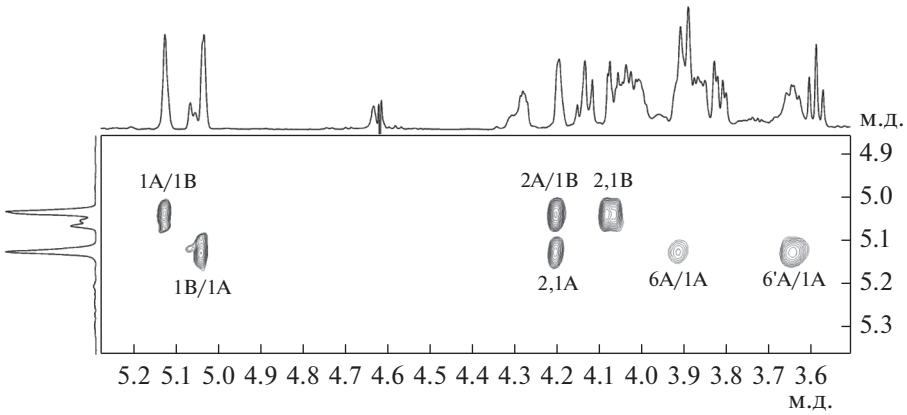


Рис. 2. Часть спектра ^{1}H,^{1}H ROESY галактофуранана из клеточной стенки *P. nicotinovorans* ВКМ Ac-1988^{T}. Соответствующие части ^{1}H ЯМР спектра показаны вдоль осей. Арабские цифры отнесены к атомам в остатках сахаров, обозначенных заглавными латинскими буквами, как показано в табл. 1.

Таким образом, все исследованные штаммы рода *Paenarthrobacter*, относящиеся к трем видам – *P. aurescens* (типовой вид рода), *P. histidinovorans* и *P. nicotinovorans*, и штамм Ac-2576, сходный по последовательности нуклеотидов гена 16S РНК с *P. aurescens* ВКМ Ac-1105^{T}, содержат в качестве вторичного гликополимера клеточной стенки галактофуранан с α-диаминоглюкозой в боковой цепи. Структура этого полимера установлена до настоящего времени только у представителей *Paenarthrobacter* и не описана у других прокариотных микроорганизмов. При этом, как отмечалось ранее (Takeuchi, Yokota, 1989) и показано нами, штаммы видов *Paenarthrobacter* (*P. aurescens*, *P. histidinovorans*, *P. nicotinovorans*, *P. ureafacien*s) не имеют тейхоевых кислот или других фосфатсодержащих полимеров.

Интересно также отметить, что в клеточной стенке других видов *Paenarthrobacter* (*P. ilicis*, *P. nitroguajacolicus* и *P. ureafaciens*), как и у штаммов, изученных в данной работе, содержится в значительном количестве галактоза (Keddie, Cure, 1978; Takeuchi, Yokota, 1989). Это может указывать как на наличие у них аналогичного галактофуранана, так и другого галактозосодержащего полимера. Дальнейшее исследование представителей этих видов позволит выяснить, характерен ли идентифицированный галактофуранан для всех видов рода или он свойствен лишь части его видов.

Таблица 1. Химические сдвиги в спектрах ^{13}C и ^{1}H ЯМР галактофуранана из клеточной стенки *P. nicotinovorans* ВКМ Ac-1988^{T}

Остаток		Химические сдвиги ^{13}C (δ_C ацетон 31.45) и ^{1}H (δ_H *TSP 0.0*)					
		C-1 *H-1*	C-2 *H-2*	C-3 *H-3*	C-4 *H-4*	C-5 *H-5*	C-6 *H-6.6'*
→6)-D-β-Gal*f*-(1→ 2)	***A***	107.3 *5.12*	87.5 *4.20*	76.7 *4.28*	83.7 *4.02*	70.4 *4.01*	70.4 *3.90, 3.64*
↑ α-D-Glc*p*NAc3NAc-(1	***B***	97.3 *5.03*	52.8[a] *4.06*	53.3[b] *4.13*	68.9 *3.58*	74.0 *3.86*	61.7 *3.86, 3.82*
→6)-D-β-Gal*f*-(1→	***A'***	109.1 *5.06*	82.3 *4.13*	78.2 *4.06*	84.5 *4.00*	70.8 *3.96*	70.4 *3.87, 3.81*

[a] NAc: δ_C 23.3; 176.1, δ_H *1.98*.
[b] NAc: δ_C 23.0; 175.4, δ_H *1.98*.

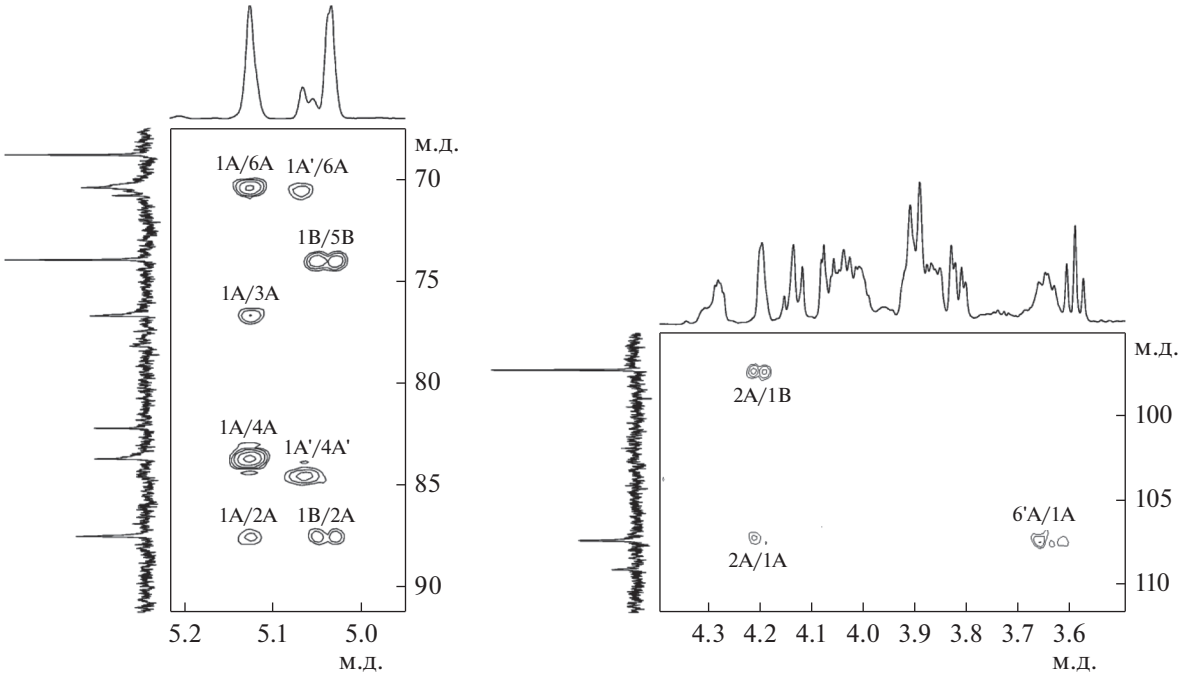


Рис. 3. Часть спектра $^{1}H,^{13}C$ HMBC галактофуранана из клеточной стенки *P. nicotinovorans* ВКМ Ас-1988^{T}. Соответствующие части ^{1}H и ^{13}C ЯМР спектров показаны вдоль горизонтальной и вертикальной осей. Арабские цифры перед косой чертой относятся к протонам, а после – к углеродам в остатках, обозначенных заглавными латинскими буквами, как показано в табл. 1.

Немногочисленные изученные к настоящему времени представители ревизованного рода *Arthrobacter* (*A. globiformis*, *A. pascens*, *A. ramosus*) (Busse, 2016) и вид *Pseudarthrobacter oxydans* (ранее *A. oxydans*), имеющие, как и *Paenarthrobacter*, пептидогликан A3α, также характеризуются наличием бесфосфатных полисахаридов (структуры которых не установлены) (Naumova et al., 1988; Takeuchi, Yokota, 1989). Исключение составляет *A. crystallopoietes*, содержащий в клеточной стенке тейхоевые кислоты (Naumova et al., 1988; Takeuchi, Yokota, 1989). Этот вид, однако, весьма удален филогенетически от типового вида рода, *A. globiformis* и, по данным Busse (2016), может рассматриваться как представитель нового рода.

В отличие от вышеупомянутых *Paenarthrobacter* и *Arthrobacter*, исследованные представители родов *Glutamicibacter* и *Paeniglutamicibacter* (ранее принадлежавшие к *Arthrobacter*) имеют пептидогликан A4α типа и содержат в качестве вторичных гликополимеров тейхоевые кислоты и/или поли(гликозилфосфаты) (*G. mysorens*, *G. nicotianae*, *P. sulfureus*, *G. uratoxydans*, *G. protophormiae*) (Naumova et al., 1988; Takeuchi, Yokota, 1989; Потехина и соавт., 2012; Шашков и соавт., 2020б).

Таким образом, в результате проведенных исследований получены новые данные о химическом составе клеточных стенок трех видов *Paenarthrobacter*. У представителей рода обнаружен галактофуранан с α-диаминоглюкозой в боковой цепи, не описанный ранее у других прокариотных организмов. Показано, что этот полимер и набор сахаров кислотных гидролизатов клеточных стенок (галактоза, глюкоза, арабиноза, глюкозамин и галактозамин), а также отсутствие тейхоевых кислот и других фосфатсодержащих полимеров, характерны для трех изученных видов *Paenarthrobacter*. Полученные результаты могут быть востребованы в систематике прокариот для дифференциации родов актинобактерий на уровне фенотипа.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит результатов исследований с использованием животных в качестве объектов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Потехина Н.В., Шашков А.С., Сенченкова С.Н., Дорофеева Л.И., Евтушенко Л.И. Структура гексасахарид-1-фосфатного полимера *Arthrobacter uratoxydans* ВКМ Ac-1979^T // Биохимия. 2012. Т. 77. С. 1546–1555.

Potekhina N.V., Shashkov A.S., Senchenkova S.N., Dorofeeva L.V., Evtushenko L.I. Structure of hexasaccharide 1-phosphate polymer from *Arthrobacter uratoxydans* VKM Ac-1979^T cell wall // Biochemistry (Moscow). 2012. V. 77. P. 1294–1302.

Тульская Е.М., Шашков А.С., Стрешинская Г.М., Сенченкова С.Н., Потехина Н.В., Козлова Ю.И., Евтушенко Л.И. Тейхуроновые и тейхулозоновые кислоты актиномицетов // Биохимия. 2011. Т. 76. С. 904–913.

Tul'skaya E.M., Shashkov A.S., Streshinskaya G.M., Senchenkova S.N., Potekhina N.V., Kozlova Yu I., Evtushenko L.I. Teichuronic and teichulosonic acids of Actinomycetes // Biochemistry (Moscow). 2011. V. 76. P. 736–744.

Шашков А.С., Тульская Е.М., Стрешинская Г.М., Дмитренок А.С., Потехина Н.В., Сенченкова С.Н., Пискункова Н.Ф., Дорофеева Л.В., Евтушенко Л.И. Рамноманнаны и тейхуроновая кислота из клеточной стенки *Rathayibacter tritici* ВКМ Ac-1603^T // Биохимия. 2020а. Т. 85. С. 428–437.

Shashkov A.S., Tul'skaya E.M., Streshinskaya G.M., Dmitrenok A.S., Potekhina N.V., Senchenkova S.N., Piskunkova N.F., Dorofeeva L.V., Evtushenko L.I. Rhamnomannans and teichuronic acid from cell wall of *Rathayibacter tritici* VKM Ac-1603^T // Biochemistry (Moscow). 2020a. V. 85. P. 369–377.

Шашков А.С., Тульская Е.М., Дорофеева Л.В., Евтушенко Л.И., Потехина Н.В. Гликозил-1-фосфатные полимеры и тейхулозоновая кислота из клеточной стенки *Glutamicibacter protophormiae* ВКМ Ac-2104^T // Биохимия. 2020б. Т. 85. С. 736–742.

Shashkov A.S., Tul'skaya E.M., Dorofeeva L.V., Evtushenko L.I., Potekhina N.V. Two glycosyl 1-phosphate polymers and teichulosonic acid from *Glutamicibacter protophormiae* VKM Ac-2104^T cell wall // Biochemistry (Moscow). 2020b. V. 85. P. 629–635.

Bock K., Pedersen C. Carbon 13 nuclear magnetic resonance spectroscopy of monosaccharides // Adv. Carbohydr. Chem. Biochem. 1983. V. 41. P. 27–66.

Busse H.J. Family I. *Corynebacteriaceae* // Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2nd edn. / Eds. Whitman W., Goodfellow M., Kämpfer P., Busse H.-J., Trujillo M., Ludwig W., Suzuki K.-I., Parte A. N.Y.: Springer-Verlag, 2012. V. 5. P. 244–245.

Busse H.J. Review of the taxonomy of the genus *Arthrobacter*, emendation of the genus *Arthrobacter sensu lato*, proposal to reclassify selected species of the genus *Arthrobacter* in the novel genera *Glutamicibacter* gen. nov., *Paeniglutamicibacter* gen. nov., *Pseudoglutamicibacter* gen. nov., *Paenarthrobacter* gen. nov. and *Pseudarthrobacter* gen. nov., and emended description of *Arthrobacter roseus* // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2016. V. 66. P. 9–37.

Chun J., Oren A., Ventosa A., Christensen H., Arahal D.R., da Costa M.S., Rooney A.P., Yi H., Xu X.W., De Meyer S., Trujillo M.E. Proposed minimal standards for the use of genome data for the taxonomy of prokaryotes // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2018. V. 68. P. 461–466.

Evtushenko L.I., Ariskina E.V. Nocardioidaceae // Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria / Ed. Whitman W.B. 2015. P. 1–18. https://doi.org/10.1002/9781118960608.fbm00042

Goodfellow M. Nocardiaceae // Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria / Ed. Whitman W.B. 2015. P. 1–5. https://doi.org/10.1002/9781118960608.fbm00014

Goodfellow M., Jones A.L. Corynebacteriales ord. nov. // Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria / Ed. Whitman W.B. 2015. P. 1–14. https://doi.org/10.1002/9781118960608.obm00009

Keddie R.M., Cure G.L. Cell wall composition of coryneform bacteria // Special Publications of the Society for General Microbiology I. Coryneform Bacteria / Eds. Bousfield I.J., Callely A.G., London: Academic Press, 1978. P. 47–83.

Kohler T., Xia G., Kulauzovic E., Peschel A. Teichoic acids, lipoteichoic acids, and related cell wall glycopolymers of Gram-positive bacteria // Microbial Glycobiology: Structures, Relevance and Applications / Eds. Moran A., Holst O., Brennan P., von Itzstein M. Amsterdam: Elsevier, 2009. P. 75–91.

Lipkind G.M., Shashkov A.S., Mamyan S.S., Kochetkov N.K. The nuclear Overhauser effect and structural factors determining the conformations of disaccharide glycosides // Carbohydr. Res. 1988. V. 181. P. 1–12.

Magee J.G., Ward A.C. Mycobacterium // Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria / Ed. Whitman W.B. 2015. P. 1–84. https://doi.org/10.1002/9781118960608.gbm00029

Naumova I.B. The teichoic acids of actinomycetes // Microbiol. Sci. 1988. V. 5. P. 275–279.

Nouioui I., Carro L., Garcia-Lopez M., Meier-Kolthoff J.P., Woyke T., Kyrpides N.C., Pukall R., Klenk H.P., Goodfellow M., Goker M. Genome-based taxonomic classification of the phylum *Actinobacteria* // Front. Microbiol. 2018. V. 9. Art. 2007. https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02007

Potekhina N.V., Streshinskaya G.M., Tul'skaya E.M., Shashkov A.S. Cell wall teichoic acids in the taxonomy and characterization of Gram-positive bacteria // Taxonomy of Prokaryotes, Methods in Microbiology / Eds. Rainey F.A., Oren A. London: Academic Press, 2011. V. 38. Ch. 6. P. 132–164.

Ryzhmanova Y., Oshurkova V., Troshina O., Abashina T., Ariskina E., Avtukh A., Shcherbakova V. Anoxynatronum buryatiense sp. nov., an anaerobic alkaliphilic bacterium from a low mineralization soda lake in Buryatia, Russia // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2017. V. 67. P. 4704–4709.

Schade J., Weidenmaier C. Cell wall glycopolymers of firmicutes and their role as nonprotein adhesins // FEBS Lett. 2016. V. 590. P. 3758–3771.

Schäffer C., Messner P. The structure of secondary cell wall polymers: how Gram-positive bacteria stick their cell walls together // Microbiology (SGM). 2005. V. 151. P. 643–651.

Shashkov A.S., Potekhina N.V., Kachala V.V., Senchenkova S.N., Dorofeeva L.V., Evtushenko L.I. A novel galactofuranan from the cell wall of *Arthrobacter* sp. VKM Ac-2576 // Carbohydr. Res. 2012. V. 352. P. 215–218.

Schleifer K.H., Kandler O. Peptidoglycan types of bacterial cell walls and their taxonomic implications // Bacteriol. Rev. 1972. V. 36. P. 407–477.

Schumann P. Peptidoglycan structure // Taxonomy of Prokaryotes, Methods in Microbiology / Eds. Rainey F.A., Oren A. London: Academic Press, 2011. Ch. 6. V. 38. P. 101–129.

Schumann P., Kämpfer P., Busse H.J., Evtushenko L.I. Proposed minimal standards for describing new genera and species of the suborder *Micrococcineae* // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2009. V. 59. P. 1823–1849.

Takeuchi M., Yokota A. Cell-wall polysaccharides in coryneform bacteria // J. Gen. Appl. Microbiol. 1989. V. 35. P. 233–252.

Takeuchi M., Yokota A., Misaki A. Comparative structures of the cell-wall polysaccharides of four species of the genus *Microbacterium* // J. Gen. Appl. Microbiol. 1990. V. 36. P. 255–271.

Cell Wall Galactofuranan of the *Paenarthrobacter* Actinobacteria

N. V Potekhina[1, *], A. S. Shashkov[2], E. M. Tul'skaya[1], E. V. Ariskina[3], L. V. Dorofeeva[3], and L. I. Evtushenko[3]

[1]*Biological Faculty, Moscow State University, Moscow, 119191 Russia*

[2]*Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia*

[3]*All-Russian Collection of Microorganisms (VKM), Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms, Russian Academy of Sciences, Pushchino, 142290 Russia*

**e-mail: potekhina56@mail.ru*

Received May 19, 2020; revised June 17, 2020; accepted June 25, 2020

Abstract—The composition and structure of cell wall glycopolymers of *Paenarthrobacter* species (*P. aurescens* VKM Ac-1105^T, *P. histidinovorans* Ac-1978^T, and *P. nicotinovorans* VKM Ac-1988^T, previously assigned to the genus *Arthrobacter*) was studied. All strains under study were found to contain a neutral polysaccharide, (1→6)-linked β-D-galactofuranan with the 2,3-diacetamido-2,3-dideoxy-α-glucopyranose (α-Glc*p*NAc3NAc) residues that glycosylate most of the hydroxyl groups at C-2 of galactofuranose. Acid hydrolysates of the cell walls contained galactose, glucose, arabinose, glucosamine, and galactosamine. The polysaccharide structure was established by chemical and NMR spectroscopic methods. The galactofuranan structure has not been previously described for representatives of other *Actinobacteria* genera. The data obtained expand our understanding of the chemical structure of microbial cell walls and may be used in taxonomy of actinobacteria, especially to differentiate at the phenotype level and to justify the description of new genera in the family *Micrococcaceae*.

Keywords: *Paenarthrobacter*, galactofuranan, polysaccharide, cell wall, chemotaxonomy