# \_\_\_\_\_ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ \_\_\_\_ Статьи

# ГАЛАКТОФУРАНАН КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ *"PAENARTHROBACTER PYRIDINOVORANS*" BKM Ac-1098D

## © 2022 г. Н. В. Потехина<sup>*a*, \*</sup>, А. С. Шашков<sup>*b*</sup>, Е. В. Арискина<sup>*c*</sup>, Н. В. Присяжная<sup>*c*</sup>, Е. М. Тульская<sup>*a*</sup>, Ф. М. Хасаева<sup>*d*</sup>, Л. И. Евтушенко<sup>*c*</sup>

<sup>a</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, 119234 Россия <sup>b</sup>Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, Москва, 119991 Россия <sup>c</sup>ФИЦ Пущинский научный центр биологических исследований РАН, Всероссийская коллекция микроорганизмов, Пущино, 142290 Россия <sup>d</sup>Кабардино-Балкарский государственный аграрный университет им. В.М. Кокова, Нальчик, Кабардино-Балкарская Республика, 360030 Россия \*e-mail: potekhina56@mail.ru Поступила в редакцию 25.04.2022 г.

После доработки 17.05.2022 г. Принята к публикации 19.05.2022 г.

Установлены структура гликополимера клеточной стенки и таксономическое положение штамма ВКМ Ac-1098D, обладающего пиридин-деградирующей активностью. С использованием химических и ЯМР-спектроскопических методов гликополимер был идентифицирован как 1,6-связанный  $\beta$ -D-галактофуранан с боковыми остатками диаминоглюкозы (2,3-диацетамидо-2,3-дидезокси- $\beta$ -глюкопиранозы,  $\beta$ -GlcpNAc3NAc). Структура полимера впервые описана у прокариот. Близкий по структуре галактофуранан, обнаруженный ранее у некоторых видов *Paenarthrobacter*, отличался от полимера штамма ВКМ Ac-1098D  $\alpha$ -конфигурацией диаминоглюкозы ( $\alpha$ -GlcpNAc3NAc) боковой цепи. Анализ последовательностей генов 16S pPHK и MALDI-TOF масс-спектров показал, что штамм ВКМ Ac-1098D может быть отнесен к новому виду рода *Paenarthrobacter*, предварительно названно-му "*Paenarthrobacter pyridinovorans*". Данные, полученные в этом исследовании и ранее, свидетельствуют о том, что галактофуранан с диаминоглюкозой в боковой цепи может служить хемотаксономическим признаком рода *Paenarthrobacter*, а  $\alpha$ -конфигурация гликозидной связи диаминоглюкозы – являться особенностью предполагаемого нового вида.

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

DOI: 10.31857/S0026365622600365

Клеточные стенки актинобактерий, как и других грамположительных бактерий, наряду с пептидогликаном обычно содержат ряд вторичных гликополимеров (Kohler et al., 2009). К ним относятся тейхоевые кислоты, поли(гликозил-1-фосфаты) и различные бесфосфатные полимеры, ковалентно связанные с пептидогликаном, а также липотейхоевые кислоты, связанные с мембранами (Naumova et al., 2001; Kohler et al., 2009; Потехина и соавт., 2011; Тульская и соавт., 2011). Типы и структурные вариации пептидогликана хорошо известны как важнейшие хемотаксономические признаки таксонов актинобактерий разного уровня (Schumann, 2011).

Вторичные гликополимеры бактерий в сравнении с пептидогликанами являются менее изученными в таксономическом аспекте. Однако имеющиеся в литературе сведения указывают на то, что состав, структуры и отдельные структурные компоненты гликополимеров могут быть также специфичными для видов, родов и высших таксонов актинобактерий (Naumova et al., 2001; Schumann et al., 2009; Evtushenko, Ariskina, 2015; Nouioui et al., 2018; Шашков и соавт., 2020; Потехина и соавт., 2021). В частности, галактофуранан с диаминоглюкозой в боковой цепи был обнаружен у штаммов всех трех изученных видов рода *Paenarthrobacter — P. aurescens, P. histidinovorans* и *P. nicotinovorans* (относившихся ранее к роду *Ar*-

Сокращения: HSQC — протон-детектированная гетероядерная одноквантовая корреляция; ROESY — двумерная спектроскопия ядерного эффекта Оверхаузера во вращающейся системе координат; COSY — корелляционная спектроскопия; TOCSY — тотальная корреляционная спектроскопия; HMBC — гетероядерная корреляция через несколько связей;  $\delta_{\rm C}$ ,  $\delta_{\rm H}$  — значения химических сдвигов атомов <sup>13</sup>С и <sup>1</sup>H соответственно.

*throbacter*) (Busse, 2016). Это указывает на то, что вышеупомянутый полимер может являться хемотаксономическим маркером рода *Paenarthrobacter* (Потехина и соавт., 2021).

В настоящей работе представлены результаты изучения гликополимеров клеточной стенки штамма ВКМ Ас-1098D, деструктора пиридина (Khasaeva et al., 2011), и приведены данные, с высокой степенью вероятности указывающие на принадлежность этого штамма к новому виду рода *Paenarthrobacter*. Полученные результаты согласуются с ранее высказанным предположением о специфичности галактофуранана с диаминоглюкозой в боковой цепи для бактерий рода *Paenarthrobacter*.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Используемый в работе штамм ВКМ Ac-1098D был получен из Всероссийской коллекции микроорганизмов (https://www.vkm.ru). Штамм был помещен в коллекцию под названием Arthrobacter sp. (Khasaeva et al., 2011) и впоследствии реидентифицирован как Paenarthrobacter sp. на основе короткого фрагмента (1200 п.н.) гена 16S pPHK.

Накопление биомассы, выделение клеточных стенок и препаратов гликополимеров, их гидролиз и анализ продуктов гидролиза методами электрофореза и хроматографии на бумаге проводили, как описано ранее (Potekhina et al., 2011).

Выделение ДНК, амплификацию, секвенирование и анализ последовательности гена 16S рРНК штамма ВКМ Ас-1098D проводили, как описано (Ryzhmanova et al., 2017). Процент сходства между последовательностями 16S рРНК гена рассчитывали с помощью программы TaxonDC версии 1.3.1. (Tarlachkov, Starodumova, 2017). MALDI-TOF массспектры целых клеток штаммов, выращенных на агаре R2A в течение 3 сут, регистрировали и анализировали, как описано ранее (Присяжная и соавт., 2012).

Спектры ЯМР <sup>1</sup>Н и <sup>13</sup>С снимали на спектрометре Bruker Avance II 600 ("Bruker", Германия) для растворов в 99.96%  $D_2O$  при температуре 323°К, обеспечивающей минимальное перекрытие сигнала остаточной воды с сигналами полимеров. В качестве калибровочного стандарта использовали TSP (натриевая соль 3-(триметилсилил)-2,2,3,3-тетрадейтеропропионовой кислоты) ( $\delta_H$  0.0,  $\delta_C$  –1.6). Время смешивания в экспериментах <sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H TOCSY и ROESY составляло 100 и 150 мс соответственно. Эксперимент <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>С НМВС был оптимизирован для констант спинспинового взаимодействия  $J_{\rm H, C}$  8 Гц.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительный анализ почти полной последовательности гена 16S pPHK (1517 п.н.) штамма ВКМ Ac-1098D подтвердил его принадлежность к роду Paenarthrobacter (рис. 1) и показал, что он наиболее близок филогенетически к P. nicotinovorans DSM 420 (99.6% сходства), P. ureafaciens DSM 20126 (99.3%) и P. histidinolovorans DSM 20115 (99.3%). Эти значения лостаточно высоки, но сопоставимы или ниже значений между типовыми штаммами некоторых близких видов этого рода, например, *P. aurescens* и *P. nitroguaiacolicus* (99.9%), P. histidinovorans и P. nicotinovorans (99.7%) (табл. 1). Кроме того, штамм хорошо обособляется от всех вышеперечисленных видов по данным MALDI-ТОГ масс-спектрометрии (рис. 2) – метода с более высоким таксономическим разрешением, чем секвенирование 16S рРНК, и широко используемого для видовой идентификации бактерий (Mellmann et al., 2008; Seuylemezian et al., 2018). Максимальные показатели сходства, определенные с помощью программного обеспечения Bruker MALDI Biotyper между спектром штамма BKM Ac-1098D и спектрами типовых штаммов видов Paenarthrobacter (P. ureafaciens и P. aurescens), были ~1.75, что ниже значений, свойственных штаммам одного вида (≥2.0; Mellmann et al., 2008; рекомендации производителя). Таким образом, изученный штамм, по всей вероятности, является представителем нового вида, предварительно названного "Paenarthrobacter pyridinovorans".

Галактоза, глюкоза, аминосахара и следовые количества маннозы обнаружены в кислотном гидролизате клеточной стенки (нисходящая хроматография на бумаге), в то время как фосфатсодержащие соединения не были выявлены (электрофорез). Аналогичные моносахариды обнаружены и в гидролизатах препарата гликополимеров, выделенных из клеточной стенки ВКМ Ac-1098D.

Полная структура гликополимера клеточной стенки "*Paenarthrobacter pyridinovorans*" BKM Aс-1098D установлена методами ЯМР-спектроскопии.

Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (рис. 3) содержал в области резонанса аномерных атомов углерода два основных сигнала при  $\delta_{\rm C}$  101.89 и 107.73 м.д. и несколько минорных. В других характеристических областях спектра имелись два основных сигнала атомов углерода, связанных с азотом при  $\delta_{\rm C}$  55.14 и 56.23 м.д., один сигнал углерода со свободной гидроксильной группой при  $\delta_{\rm C}$  61.80 м.д. и один – с замещенной гидроксильной группой при  $\delta_{\rm C}$  70.26 м.д., данные АРТ-спектра. В аномерной области спектра ЯМР <sup>1</sup>Н имелись два основных сигнала – уширенный синглет при  $\delta_{\rm H}$  5.17 м.д. и дублет с КССВ 8 Гц при  $\delta_{\rm H}$  4.79 м.д.

Следует также отметить, что в спектре ЯМР<sup>31</sup>Р препарата обнаружено небольшое количество



Рис. 1. Филогенетическое дерево на основе генов 16S pPHK, построенное по методу максимального правдоподобия (Maximum-likelihood), показывающее положение "Paenarthrobacter pyridinovorans" ВКМ Ac-1098D среди видов рода *Paenarthrobacter*. Числа в точках ветвления указывают на значения "bootstrap" >50% (1000 повторов). В качестве внешней группы использовали штамм *Microbacterium lacticum* DSM20427T-интекс, как на картинке (X77441). Масштаб – 0.02 замены на одно положение нуклеотидной последовательности.

гликозилфосфатных олигомеров, а в двумерных спектрах <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C HSOC и <sup>1</sup>H, <sup>31</sup>P HMBC присутствовали минорные сигналы в аномерной области ЯМР <sup>13</sup>С и <sup>1</sup>Н спектров. Однако структуру этого полимера, ввиду его малого содержания в препарате и почти полного разрушения при выделении, установить средствами ЯМР-спектроскопии не представлялось возможным.

Сигналы преобладающего полимера были отнесены на основе анализа двумерных гомоядерных <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H COSY, TOCSY, ROESY и гетероядерных <sup>1</sup>Н. <sup>13</sup>С HSOC и HMBC экспериментов.

Гомоядерные спектры выявили наличие в полимере остатков β-галактофуранозы (β-Galf, A, A') и 2,3-диацетамидо-2,3-дидезокси-В-глюкопиранозы (β-GlcpNAc3NAc, **B**).

Анализ спектра <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>С HSQC (рис. 4) показал, что большая часть остатков β-Galf (примерно 80%) замещена в положения 2 и 6, меньшая часть – только в положение 6. Другие остатки были не замещены по гидроксилам у C-4 ( $\delta_{\rm C}$  68.89 м.д.) или С-6 ( $\delta_{C}$  61.80 м.д.) и, следовательно, являлись терминальными.

Последовательность соединения остатков слелует из анализа спектра  ${}^{1}$ H,  ${}^{13}$ C HMBC (рис. 5).

Таблица 1. Химические сдвиги в <sup>13</sup>С и <sup>1</sup>Н ЯМР-спектрах для галактофуранана из клеточной стенки "*Paenarthro*bacter pyridinovorans" BKM Ac-1098D

Остаток		Химические сдвиги (δ <sub>C</sub> TSP –1.6 и δ <sub>H</sub> TSP 0.00)					
		C-1 <i>H</i> -1	C-2 <i>H-2</i>	C-3 <i>H-3</i>	C-4 <i>H</i> -4	C-5 <i>H-5</i>	C-6 <i>H-6,6</i> ′
$\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-Gal <i>f</i> -(1 $\rightarrow$	(A')	109.02 <i>5.05</i>	82.21 <i>4.12</i>	78.07 <i>4.08</i>	84.36 <i>3.99</i>	71.22 <i>3.95</i>	70.28 <i>3.84, 3.62</i>
$ \rightarrow 6) - \beta - D - Galf - (1 \rightarrow 2) $ (A)		107.73 <i>5.17</i>	89.69 <i>4.24</i>	77.08 <i>4.06</i>	84.46 <i>3.97</i>	71.02 <i>3.86</i>	70.28 <i>3.84, 3.60</i>
↑ β-D-GlcpNAc3NAc-(1	<b>(B)</b>	101.89 <i>4.79</i>	55.14 <sup>a,6</sup> 3.73	56.23 <sup>а,в</sup> 3.97	68.89 <i>3.53</i>	78.30 <i>3.54</i>	61.80 <i>3.92, 3.</i> 77

а СН<sub>3</sub>CON при  $\delta_{\rm C}$  23.3, 23.4 и 176.8, 175.9 и  $\delta_{H}$  2.07. м.д.

<sup>6</sup> NAc:  $\delta_C$  23.3 м.д.; 176.1 м.д.;  $\delta_H$  1.9 м.д. <sup>в</sup> NAc:  $\delta_C$  23.0 м.д.; 175.4 м.д.;  $\delta_H$  1.98 м.д.

МИКРОБИОЛОГИЯ том 91 2022 Nº 5

#### ПОТЕХИНА и др.



**Рис. 2.** Дендрограмма MALDI-TOF масс-спектров "*Paenarthrobacter pyridinovorans*" ВКМ Ac-1098D и типовых штаммов близких видов рода *Paenarthrobacter*.



**Рис. 3.** Спектр <sup>13</sup>С ЯМР препарата гликополимеров клеточной стенки "*Paenarthrobacter pyridinovorans*" ВКМ Ас-1098D. Арабские цифры отнесены к атомам в остатках, обозначенных заглавными латинскими буквами как показано в таблице. Сигналы от разрушенного полимера обозначены звездочками.

Наличие в спектре корреляционных пиков H-1 (A)/C-6(A, A'), (5.17/70.28, 70.28); H-1(A')/C-6(A, A'), (5.05/70.28, 70.28); H-6(A)/C-1(A), (3.84 или 3.60/107.73) и H-6(A')/C-1(A'), (3.84 или 3.62/109.02) свидетельствует о наличии полимера, основная цепь которого построена из остатков  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 6)-связанных остатков галактофуранозы.

Корреляционные пики H-1(**B**)/C-2(**A**), (4.79/89.69) и H-2(**A**)/C-1(**B**), (4.24/101.89) указывают на то, что большая часть остатков основной цени замещена остатками β-GlcpNAc3NAc в положении 2.

Таким образом, структуру основного полимера препарата можно представить формулой:

A' A  

$$\rightarrow 6$$
)- $\beta$ -D-Galf-(1 $\rightarrow 6$ )- $\beta$ -D-Galf-(1 $\rightarrow 2$ )  
B  $\uparrow$   
 $\beta$ -D-GlcpNAc3NAc-(1)



**Рис. 4.** Части двумерного <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C HSQC спектра галактофуранана клеточной стенки "*Paenarthrobacter pyridinovorans*" ВКМ Ас-1098D. Соответствующие части <sup>1</sup>H и <sup>13</sup>C ЯМР-спектров приведены вверху и слева от двумерного спектра соответственно. Арабские цифры относятся к номерам атомов углерода в остатках, обозначенных заглавными латинскими буквами в соответствии с таблицей.



**Рис. 5.** Часть двумерного  ${}^{1}$ Н,  ${}^{13}$ С НМВС спектра галактофуранана клеточной стенки "*Paenarthrobacter pyridinovorans*" ВКМ Ас-1098D. Соответствующие части  ${}^{1}$ Н и  ${}^{13}$ С ЯМР-спектров приведены вверху и слева от двумерного спектра. Арабские цифры до косой черты относятся к атомам протона, а после — к атомам углерода в остатках, обозначенных заглавными латинскими буквами в соответствии с таблицей.

МИКРОБИОЛОГИЯ том 91 № 5 2022

Таким образом, в результате проведенных исследований получены новые сведения о гликополимерах клеточных стенок бактерий. Как и лругие виды рода Paenarthrobacter – P. aurescens, P. histidinovorans и P. nicotinovorans (Потехина и соавт., 2021), штамм "Paenarthrobacter pyridinovorans" ВКМ Ac-1098D характеризуется наличием в клеточной стенке галактофуранана с боковыми остатками диаминоглюкозы и имеет аналогичный набор сахаров (галактоза, глюкоза, аминосахар). Однако галактофуранан штамма BKM Ac-1098D с β-конфигурацией гликозидной связи остатка диаминоглюкозы (β-GlcpNAc3NAc) отличается от ранее описанного полисахарида Paenarthrobacter spp., который имеет α-конфигурацию диаминоглюкозы ( $\alpha$ -GlcpNAc3NAc). Структуры галактофурананов, обнаруженных у штамма BKM Ac-1098D и трех видов Paenarthrobacter, не были описаны у других прокариот (http://csdb.glycoscience.ru/). Полученные в настоящей работе и ранее опубликованные данные свидетельствуют о том, что галактофуранан с боковыми остатками диаминоглюкозы может служить хемотаксономическим маркером рода Paenarthrobacter, а конфигурация гликозидной связи может являться особенностью предполагаемого нового вила.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Соглашение № 075-15-2021-1051) (анализ последовательности гена 16S рРНК и MALDI-TOF масс спектры) и в рамках научного проекта государственного задания МГУ № 121032300094-7 (изучение структуры гликополимера).

#### 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., Тульская Е.М, Арискина Е.В., Дорофеева Л.В., Евтушенко Л.И. Галактофуранан клеточной стенки актинобактерий рода Paenarthrobacter // Микробиология. 2021. Т. 90. С. 122–128.

Potekhina N.V., Shashkov A.S., Ariskina E.V., Tul'skaya E.M., Dorofeeva L.V., Evtushenko L.I. Cell wall galactofuranan of the Paenarthrobacter actinobacteria // Microbiology (Moscow). 2021. V. 90. P. 106–111. https://doi.org/10.1134/S0026261720060156 Присяжная Н.В., Плотникова Е.Г., Буева О.В., Корсакова Е.С., Дорофеева Л.В., Ильина Е.Н., Лебедев А.Т., Евтушенко Л.И. Применение MALDI-TOF масс-спектрометрии для разграничения близкородственных видов филогенетической группы "Arthrobacter crystallopoietes" // Микробиология. 2012. Т. 81. С. 696–701.

Prisyazhnaya N.V., Plotnikova E.G., Bueva O.V., Korsakova E.S., Dorofeeva L.V., Il'ina E.N., Lebedev A.T., Evtushenko L.I. Application of MALDI-TOF mass spectrometry for differentiation of closely related species of the "Arthrobacter crystallopoietes" phylogenetic group // Microbiology (Moscow). 2012. V. 81. P. 754–759.

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 BKM Ac-1603<sup>T</sup> // Биохимия. 2020. Т. 85. C. 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 the cell wall of *Rathayibacter tritici* VKM Ac-1603<sup>T</sup> // Biochemistry (Moscow). 2020. V. 85. P. 369–377.

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.

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.

*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

*Khasaeva F., Vasilyuk N., Terentyev P., Troshina M., Lebedev A.T.* A novel soil bacterial strain degrading pyridines // Environ. Chem. Lett. 2011. V. 9. P. 439–445.

*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.

Mellmann A., Cloud J., Maier T., Keckevoet U., Ramminger I., Iwen P., Dunn J., Hall G., Wilson D., Lasala P., Kostrzewa M., Harmsen D. Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization-time-of-flight mass spectrometry in comparison to 16S rRNA gene sequencing for species identification of non-fermenting bacteria // J. Clin. Microbiol. 2008. V. 46. P. 1946–1954.

https://doi.org/10.1128/JCM.00157-08

Naumova I.B., Shashkov A.S., Tul'skaya E.M., Streshinskaya G.M., Kozlova Yu.I., Potekhina N.V., Evtushenko L.I.,

МИКРОБИОЛОГИЯ том 91 № 5 2022

*Stackebrandt E.* Cell wall teichoic acids: structural diversity, species-specificity in the genus *Nocardiopsis*, and chemo-taxonomic perspective // FEMS Microbiol Rev. 2001. V. 25. P. 269–284.

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. https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002365

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

Schumann P., Kampfer 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.

Seuylemezian A., Aronson H.S., Tan J., Lin M., Schubert W., Vaishampayan P. Development of a custom MALDI-TOF MS database for species-level identification of bacterial isolates collected from spacecraft and associated surfaces // Front. Microbiol. 2018. V. 9. Art. 780.

*Tarlachkov S.V., Starodumova I.P.* TaxonDC: calculating the similarity value of the 16S rRNA gene sequences of prokaryotes or ITS regions of fungi // J. Bioinform. Genom. 2017. V. 3(5).

https://doi.org/10.18454/jbg.2017.3.5.1

# Cell Wall Galactofuranan of "Paenarthrobacter pyridinovorans" VKM Ac-1098D

N. V. Potekhina<sup>1,</sup> \*, A. S. Shashkov<sup>2</sup>, E. V. Ariskina<sup>3</sup>, N. V. Prisyazhnaya<sup>3</sup>, E. M. Tul'skaya<sup>1</sup>, F. M. Khasaeva<sup>4</sup>, and L. I. Evtushenko<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Biological Faculty, Moscow State University, Moscow, 119234 Russia

<sup>2</sup>Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia

<sup>3</sup>Russian Collection of Microorganisms (VKM), Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms, Pushchino Scientific Center for Biological Research, Russian Academy of Sciences, Pushchino, 142290 Russia

<sup>4</sup>Kokov Kabardino-Balkarian State Agricultural University Nalchik, Kabardino-Balkarian Republic, 360030 Russia

\*e-mail: potekhina56@mail.ru

Received April 25, 2022; revised May 17, 2022; accepted May 19, 2022

Abstract—The structure of the cell wall glycopolymer and the taxonomic position of the pyridine degrading strain VKM Ac-1098D were established. By using chemical and NMR spectroscopic methods, the cell wall the glycopopolymer was identified as 1,6-linked  $\beta$ -D-galactofuranan with side diaminoglucose residue (2,3-diacetamido-2,3-dideoxy- $\beta$ -glucopyranose,  $\beta$ -GlcpNAc3NAc). The polymer structure has been described in prokaryotes for the first time. The galactofuranan with a similar structure previously described in other *Paenarthrobacter* had a similar composition, but differed from the polymer of VKM Ac-1098D by the  $\alpha$ -configuration of diaminoglucose ( $\alpha$ -GlcpNAc3NAc) in the side chain. The results of the 16S rRNA gene sequence analysis and MALDI-TOF clustering showed that the strain represented a new species of the genus *Paenarthrobacter* named tentatively "*P. pyridinovorans.*" The data obtained in this and earlier works indicate that galactofuranan with diaminoglucose in the side chain may serve as a chemotaxonomic marker of the genus *Paenarthrobacter* and the  $\alpha$ -configuration of the glycosidic bond of diaminoglucose may be a feature characteristic of the putative new species.

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