

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ И СИСТЕМЫ ЖИЗНЕОБЕСПЕЧЕНИЯ

УДК 579.25

АНАЛИЗ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ КАРБОАНГИДРАЗЫ, В КУЛЬТУРАХ АНОКСИГЕННЫХ ФОТОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ

© 2022 г. А. В. Комова¹, *, А. П. Руденко¹, З. Б. Намсараев¹

¹ Национальный исследовательский центр “Курчатовский институт”, Москва, Россия

*E-mail: komovaav@gmail.com

Поступила в редакцию 20.12.2021 г.

После доработки 14.01.2022 г.

Принята к публикации 17.01.2022 г.

Анализ геномов 13 штаммов аноксигенных фототрофных бактерий показал наличие генов, кодирующих карбоангидразу трех классов с преобладанием β - и γ -карбоангидраз. Гены α -карбоангидразы обнаружены в геномах двух представителей *Betaproteobacteria*. Распределение карбоангидраз различных классов среди геномов изученных фототрофных бактерий соответствует распределению среди протеобактерий в целом.

DOI: 10.56304/S2782375X22010065

ВВЕДЕНИЕ

Углекислый газ (CO_2) является самым распространенным парниковым газом [1]. Считается, что антропогенные выбросы углекислого газа играют важную роль в глобальном изменении климата, поскольку температура Земли повышается на 0.2°C за десятилетие [2]. Одной из важнейших задач современности является поиск способов снижения выбросов углекислого газа в атмосферу. Один из подходов заключается в извлечении углекислого газа из промышленных дымовых газов и транспортировке его в подходящие места для захоронения. Для секвестрации углекислого газа были предложены различные места, включая океаны, глубокие водоносные горизонты и истощенные нефтяные и газовые резервуары. Захоронение углекислого газа в океанах может повлиять на жизнь водных организмов из-за снижения pH воды. Захоронение в истощенных нефтяных и газовых резервуарах создает проблемы с точки зрения опасности для жизни людей и состояния окружающей среды в случае утечки углекислого газа [3]. Другой альтернативой захоронения углекислого газа является химическая фиксация углекислого газа в виде карбонатных минералов, таких как кальцит, магнезит и доломит. Эти минералы широко распространены в природе и являются экологически безопасными и стабильными. Секвестрация углекислого газа может быть достигнута путем прямого контакта газообразного CO_2 с соединениями кальция или магния либо путем растворения CO_2 в воде и последующего контакта раствора с минералами. В любом случае образуются карбонаты кальция или магния, кото-

рые являются твердыми веществами и выпадают в осадок [4].

Гидратация углекислого газа при поступлении его в раствор является одним из ограничивающих этапов данного процесса. При нейтральной реакции среды и в отсутствие катализаторов реакция гидратации CO_2 протекает медленно. Одним из способов повышения скорости реакции (вплоть до ускорения в 10^6 раз) является использование фермента карбоангидраза [5]. Карбоангидраза — это металлофермент, в активном центре которого находится ион двухвалентного металла, чаще всего Zn(II) , но также могут быть и Cd(II) , Fe(II) , Co(II) . С учетом аминокислотной последовательности белков, трехмерной структуры и строения активного сайта фермента выделяются восемь классов карбоангидраз: α , β , γ , δ , ζ , η , θ , ι [6, 7]. При этом активно ведутся поиск и разработка новых типов карбоангидраз, обладающих высокой активностью, устойчивостью к высоким температурам и иным факторам окружающей среды [8].

Аноксигенные фототрофные микроорганизмы активно участвуют в круговороте углерода в природе и обладают карбоангидразной активностью, но филогенетическое разнообразие карбоангидраз в этой группе микроорганизмов изучено недостаточно [9]. Целью настоящей работы является изучение разнообразия генов, кодирующих карбоангидразы различных классов, в геномах аноксигенных фототрофных бактерий с помощью биоинформатических методов.

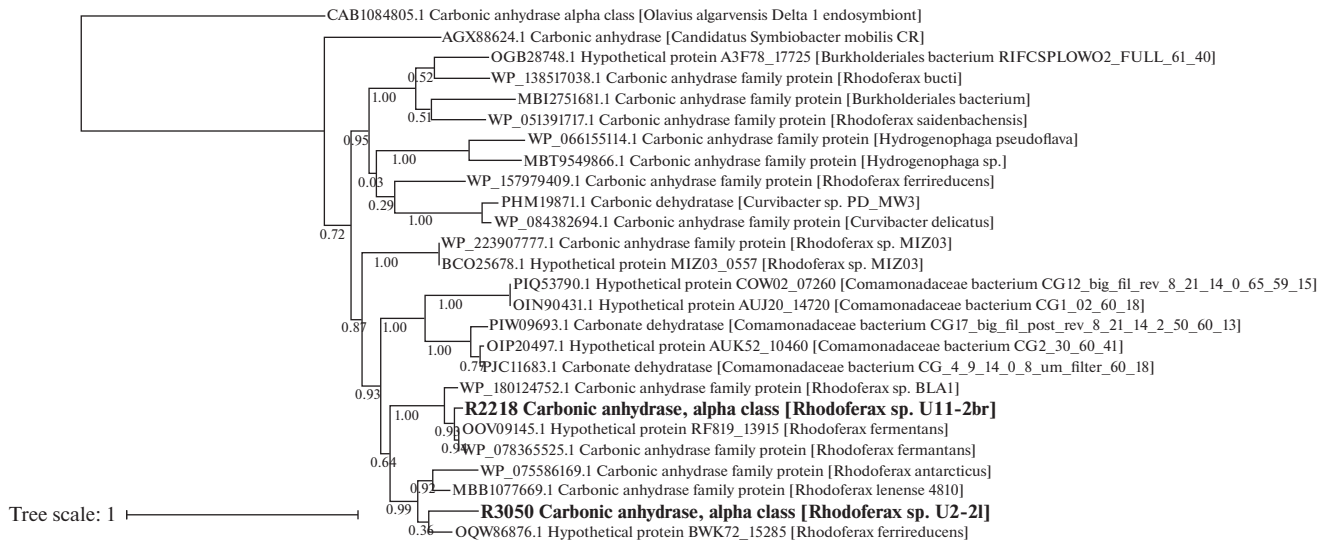


Рис. 1. Филогенетическое дерево генов карбоангидраз класса α, обнаруженных в геномах штаммов *Rhodoferax* sp. U2-21 и U11-2br.

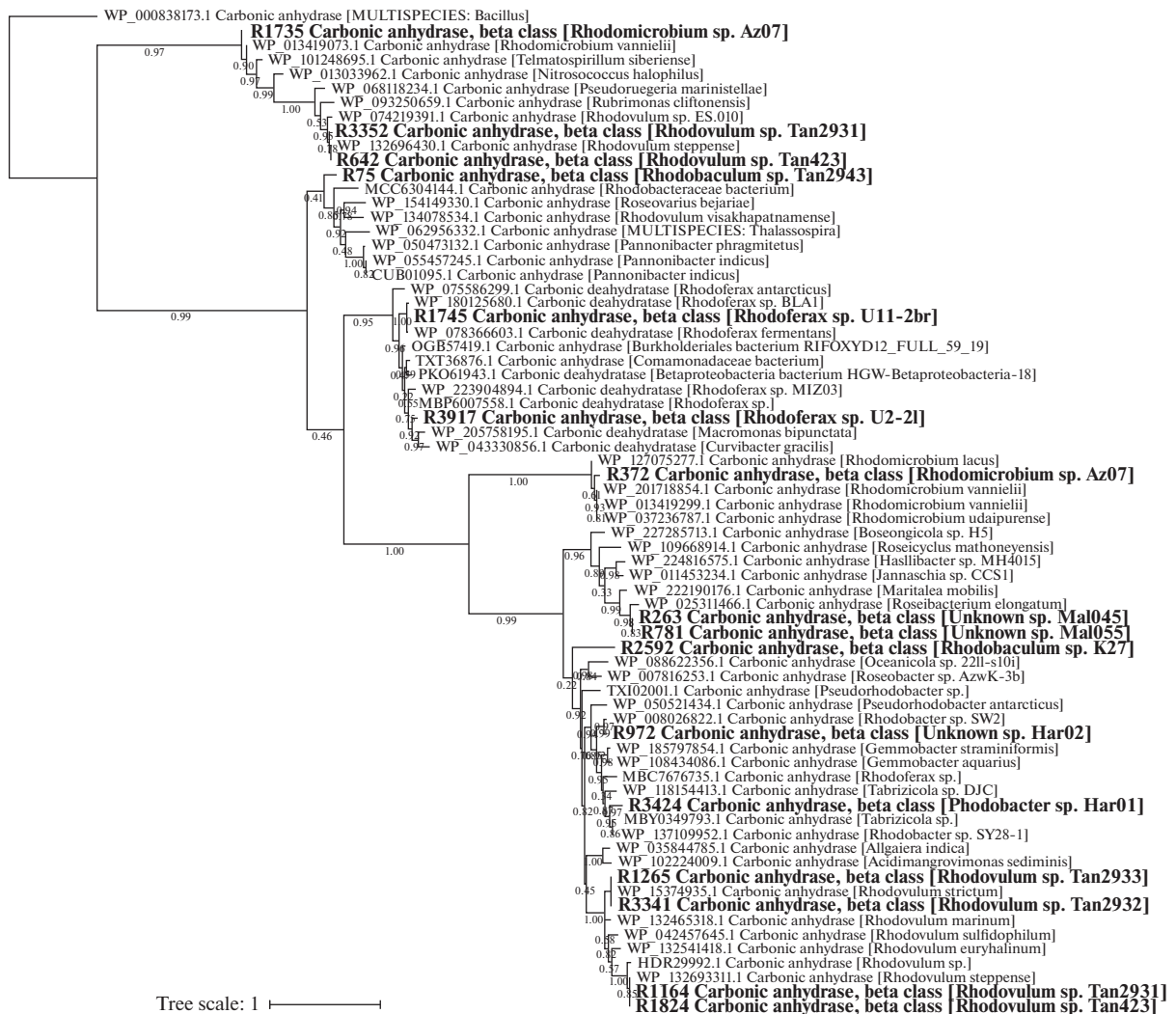


Рис. 2. Филогенетическое дерево генов карбоангидраз класса β, обнаруженных в геномах представителей несерных пурпурных бактерий.

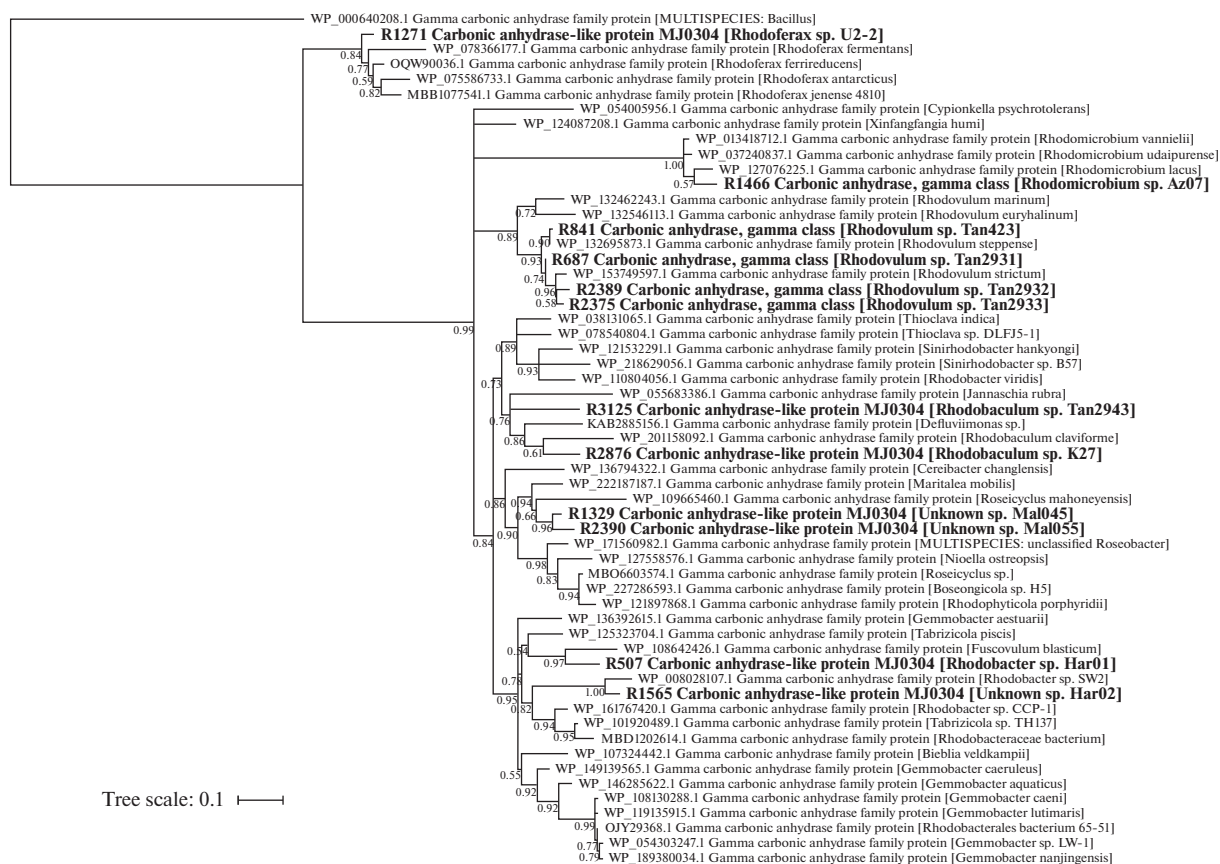


Рис. 3. Филогенетическое дерево генов карбоангидраз класса γ , обнаруженных в геномах представителей несерных пурпурных бактерий.

МЕТОДЫ

Последовательности генов γ -карбоангидраз были обнаружены в сборках геномов исследуемых штаммов несерных пурпурных бактерий в результате аннотации с помощью сервера RAST [10]. Последовательности наиболее похожих генов карбоангидраз были найдены в результате выравнивания с помощью программы Protein BLAST [11] против базы данных избыточных последовательностей белков (*non-redundant protein sequences*). У всех последовательностей обрета первая аминокислота метионин с помощью программы UGENE [12]. Множественное выравнивание последовательностей проведено с помощью MAFFT версии 7 [13] с параметрами по умолчанию. Филогенетическая реконструкция была проведена при помощи FASTTREE [14] с использованием метода максимального правдоподобия на основе эволюционной модели JTT+CAT. Визуализация филогенетического дерева проводилась с помощью онлайн-инструмента Interactive Tree Of Life (iTOL) v5 [15].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате анализа геномов аноксигенных фототрофных бактерий (АФБ) из коллекции Курчатовского генетического центра показано, что они содержат гены трех классов карбоангидразы. α -карбоангидраза обнаружена в геномах *Rhodoferrax sp.* U2-21, U11-2br (рис. 1); β -карбоангидраза – в геномах *Rhodoferrax sp.* U2-21, U11-2br, *Rhodobacter sp.* Har01, *Gemmobacter sp.* Har02, *Rhodobaculum sp.* Tan2943, K27, *Rhodomicrobium sp.* Az07, *Rhodovulum steppense* A-20S, Tan423, *Rhodovulum strictum* Tan2932, Tan2933 (рис. 2); γ -карбоангидраза – в геноме *Rhodomicrobium sp.* Az07, *Rhodovulum steppense* A-20S, Tan423, *Rhodovulum strictum* Tan2932, Tan2933 (рис. 3). Все три класса карбоангидраз эволюционировали независимо друг от друга и являются примером конвергентной эволюции каталитических функций [16]. Колличественное распределение классов карбоангидраз в исследованных геномах АФБ соответствует распределению в целом среди прокариот [17] с преобладанием β - и γ -карбоангидраз.

Несмотря на широкую представленность карбоангидраз среди организмов различных филогенетических групп как эукариот, так и прокариот

[18], информация об их наличии у АФБ крайне фрагментарна. Так, выделены и охарактеризованы карбоангидразы α -типа из *Rhodospirillum rubrum* [19] и *Rhodopseudomonas palustris* [20], а также β - и γ -типа из *Rhodovulum viride* [21]. Помимо того, подтверждено присутствие генов, кодирующих белки синтеза карбоангидраз этих трех классов у ряда штаммов *Alpha-*, *Beta-*, *Gamma*proteobacteria, *Chlorobi*, *Chloroflexi*. Тем не менее активность подтверждена только для шести из 25 исследованных штаммов [9], у которых предполагается активность карбоангидраз α -типа.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Карбоангидразы играют важную роль в процессе фиксации CO_2 и поддержании кислотно-щелочного баланса клетки. Поскольку многие представители АФБ приспособлены к жизни в экстремальных экосистемах, являются гало- и алкалофилами, и зачастую демонстрируют фотоавтотрофный тип метаболизма, крайне актуальным является изучение распространенности и функциональной активности карбоангидраз у АФБ.

Работа выполнена при поддержке НИЦ Курчатовский институт (Приказ № 2755 от 28.10.2021).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Доклад об особенностях климата на территории Российской Федерации за 2019 год. М.: Росгидромет, 2020. 97 с.
2. WMO Statement on the State of the Global Climate in 2019. WMO, 2020. № 1248. 40 p.
3. Godin J., Liu W., Ren S., Xu C.C. // J. Environ. Chem. Eng. 2021. С. 105644. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105644>
4. Mirjafari P., Asghari K., Mahinpey N. // Ind. Eng. Chem. Res. 2007. V. 46. № 3. P. 921. <https://doi.org/10.1021/ie060287u>
5. Руденко Н.Н., Игнатова Л.К., Федорчук Т.П., Иванов Б.Н. // Биохимия. 2015. Т. 80. № 6. С. 798.
6. DiMario R.J., Machingura M.C., Waldrop G.L., Moroney J.V. // Plant Sci. 2018. V. 268. P. 11. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2017.12.002>
7. Jensen E.L., Clement R., Kosta A. et al. // ISME J. 2019. V. 13. № 8. P. 2094. <https://doi.org/10.1038/s41396-019-0426-8>
8. Alvizo O., Nguyen L.J., Savile C.K. et al. // PNAS. 2014. V. 111. № 46. P. 16436. <https://doi.org/10.1073/pnas.1411461111>
9. Ивановский Р.Н., Кеппен О.И., Лебедева Н.В., Груздев Д.С. // Микробиология. 2020. Т. 89. № 3. С. 276. <https://doi.org/10.31857/S0026365620020068>
10. Aziz R.K., Bartels D., Best A.A. et al. // BMC Genom. 2008. V. 9. № 1. P. 1. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-75>
11. Johnson M., Zaretskaya I., Raytselis Y. et al. // Nucl. Acids Res. 2008. V. 36. Suppl. 2. P. W5. <https://doi.org/10.1093/nar/gkn201>
12. Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M. et al. // Bioinform. 2012. V. 28. № 8. P. 1166. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts091>
13. Katoh K., Rozewicki J., Yamada K.D. // Brief. Bioinform. 2019. V. 20. № 4. P. 1160. <https://doi.org/10.1093/bib/bbx108>
14. Price M.N., Dehal P.S., Arkin A.P. // PloS One. 2010. V. 5. № 3. P. e9490. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009490>
15. Letunic I., Bork P. // Nucl. Acids Res. 2021. V. 49. № W1. P. W293. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btl529>
16. Smith K.S., Ferry J.G. // FEMS Microbiol. Rev. 2000. V. 24. № 4. P. 335. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2000.tb00546.x>
17. Smith K.S., Jakubzick C., Whittam T.S., Ferry J.G. // PNAS. 1999. V. 96. № 26. P. 15184. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.26.15184>
18. Supuran C.T. // Metabolites. 2018. V. 8. № 2. P. 25.
19. Gill S.R., Fedorka-Cray P.J., Tweten R.K., Sleeper B.P. // Arch. Microbiol. 1984. V. 138. № 2. P. 113. <https://doi.org/10.1007/BF00413010>
20. Puskás L.G., Inui M., Zahn K., Yukawa H. // Microbiol. 2000. V. 146. № 11. P. 2957. <https://doi.org/10.1099/00221287-146-11-2957>
21. Khandavalli L.V., Lodha T., Abdullah M. et al. // Microbiol. Res. 2018. V. 215. P. 130. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.07.006>