

УДК 579.22:579.26

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОСМОПРОТЕКТОРОВ КАК СТРАТЕГИЯ ВЫЖИВАНИЯ НЕСЕРНЫХ ПУРПУРНЫХ БАКТЕРИЙ В ВОДОЕМАХ С РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНЬЮ МИНЕРАЛИЗАЦИИ

© 2022 г. А. В. Комова

Национальный исследовательский центр “Курчатовский институт”, Москва, Россия

E-mail: kotovaav@gmail.com

Поступила в редакцию 14.03.2022 г.

После доработки 21.03.2022 г.

Принята к публикации 21.03.2022 г.

Для приспособления к разным уровням осмотического стресса у прокариот существует ряд осмопротекторов, наиболее сильными из которых считаются бетаин и эктоин. В обзоре собраны данные об использовании осмопротекторов несерными пурпурными бактериями (НПБ), а также рассмотрены возможные прикладные пути использования этих данных, так как известно, что осмопротекторы могут находить применение в биотехнологии и молекулярно-биологических исследованиях, а НПБ, способные их синтезировать, потенциально могут использоваться как их продуценты. Кроме того, НПБ могут использоваться в биотехнологии в производстве промышленно важных веществ и в биоремедиации. Использование штаммов НПБ, устойчивых к условиям повышенной минерализации среды благодаря способности синтезировать осмопротекторы, снижает риск контаминации при их культивировании.

DOI: 10.56304/S2782375X2202005X

ОГЛАВЛЕНИЕ

- Введение
- 1. Потенциал несерных пурпурных бактерий
- 2. Осмопротекторы несерных пурпурных бактерий
- 3. Бетаин
- 4. Эктоин
- 5. Трегалоза
- 6. Потенциал применения осмопротекторов
- Заключение

ВВЕДЕНИЕ

Несерные пурпурные бактерии (НПБ) – группа аноксигенных фототрофных бактерий, широко распространенных в природе. Для таксонов НПБ достаточно хорошо изучены морфология и физиология. Благодаря стремительному развитию молекулярной биологии стало возможным более детально изучить геномы пурпурных бактерий, а также систематизировать их на основании сходства последовательностей гена 16S рРНК и других.

Ранее серные и несерные пурпурные бактерии различали по морфологическим признакам, основным из которых являлось то, что сера не депонируется НПБ внутриклеточно, а выделяется наружу. Исключением среди серных пурпурных бактерий является семейство *Ectothiorhodospiraceae* [1].

Особенностью НПБ является разнообразие метаболических возможностей. Они способны расти фотолитоавтотрофно, фотогетеротрофно, хемолитоавтотрофно и хемогетеротрофно, а также осуществлять брожение с различными субстратами. Часто представители одного вида одновременно имеют способность к разным типам роста [1].

Классификация пурпурных бактерий, основанная на особенностях морфологии и метаболизма, была подтверждена молекулярными критериями. Филогенетический анализ пурпурных бактерий, в основе которого лежит сравнение последовательностей генов 16S рРНК [1, 2], показал, что представители пурпурных серных бактерий являются видами класса *Gamma*proteobacteria, в то время как НПБ относятся к классам *Alphaproteobacteria* и *Betaproteobacteria* [3].

Несмотря на филогенетическое сходство, близкородственные виды могут обладать различающимися морфологией, физиологией и предпочтениями в среде обитания. Например, среди представителей семейства *Rhodobacteraceae* виды рода *Rhodobacter* распространены в основном в пресных водоемах, виды рода *Rhodovulum* предпочитают морские и атлассогайные экосистемы, виды рода *Rhodobaca* часто встречаются в содовых озерах [4]. Многие местообитания НПБ характеризуются непостоянными условиями (например, мелководные сезонно пересыхающие водоемы с

изменяющимися минерализацией и pH [5, 6]). Широкое распространение НПБ в разных типах местообитаний обеспечивается адаптацией к жизни в средах обитания с разными наборами физико-химических условий, среди которых одну из важнейших ролей играет осмоадаптация [4].

1. ПОТЕНЦИАЛ НЕСЕРНЫХ ПУРПУРНЫХ БАКТЕРИЙ

Несерные пурпурные бактерии представляют интерес как потенциальные продуценты водорода, биополимеров и других промышленно важных веществ. Кроме того, они могут быть использованы в целях биоремедиации.

Было показано, что НПБ способны к сверхэкспрессии мембранных белков, фотобиологическому производству водорода и других ценных соединений [7–10]. НПБ способны продуцировать биопластик [11], каротиноиды [11–14], а также имеют потенциал для производства метаболитов, в синтезе которых используются белки, чувствительные к кислороду [15].

Широко используемые в текстильной промышленности, в производстве пищевых продуктов и косметики азокрасители имеют ксенобиотическую природу и плохо поддаются биodeградации. Наиболее эффективным считается разрушение азокрасителей в сточных водах в анаэробных условиях, так как многие анаэробные бактерии обладают способностью разрушать азосвязь [16]. Многие НПБ, в частности *Rhodopseudomonas palustris*, *Rhodovulum strictum* и бактерии рода *Rhodobacter*, способны разрушать азокрасители в анаэробных условиях на свету благодаря активности фермента азоредуктазы [17–19]. Также известна способность пурпурной бактерии *Rhodopseudomonas palustris* к анаэробной биodeградации галогенированных ароматических загрязнителей, таких как 3-хлорбензоат [20, 21].

У ряда НПБ была показана способность удалять тяжелые металлы и радиоактивные изотопы из окружающей среды [21]. Например, обнаружено, что *Cereibacter sphaeroides* биоаккумулирует тяжелые металлы, в том числе кадмий (Cd), никель (Ni), свинец (Pb) [22, 23] и радиоактивные изотопы цезия (Cs) и стронция (Sr) [24]. Также установлено, что *Rhodobacter capsulatus* может использоваться в биоремедиации цинка [25]. Удаление этих металлов происходит благодаря большому количеству внеклеточных полимерных веществ.

НПБ потенциально могут использоваться в растениеводстве благодаря их способности производить и накапливать соединения, полезные для роста растений. НПБ способны накапливать полифосфаты, синтезировать витамины, пигменты и вещества, стимулирующие рост растений, в связи с чем они обладают потенциалом для улучшения роста растений, повышения урожайности и

качества съедобной биомассы растений, а также повышения устойчивости к экологическим стрессам, снижения выбросов парниковых газов [26].

Использование НПБ для биосинтеза промышленно важных соединений позволяет снизить затраты на ресурсы, так как они могут использовать энергию солнечного света и углекислый газ как источник углерода. Один из наиболее важных факторов для коммерческого производства биопластика полигидроксиалкананоата (ПГА) — стоимость источников углерода (сахара, растительные масла). Поставки этих источников углерода нестабильны и могут зависеть от факторов окружающей среды (неожиданные изменения погоды, стихийные бедствия). Отличным решением данной проблемы может послужить прямое производство ПГА несерными пурпурными бактериями посредством фотосинтеза с использованием углекислого газа в качестве источника углерода [15].

Несерные пурпурные бактерии могут применяться для синтеза газообразного водорода, который может использоваться в качестве биотоплива [27, 28]. НПБ продуцируют водород с помощью нитрогеназ как побочный продукт. Нитрогеназный комплекс очень чувствителен к кислороду, что дает данной группе бактерий преимущество перед другими бактериями-продуцентами, так как они не вырабатывают кислород во время фотосинтеза и способны расти в анаэробных условиях, вследствие чего нитрогеназный комплекс не ингибируется. Способность эффективно продуцировать водород была показана на бактериях *Rhodopseudomonas palustris*, *Cereibacter sphaeroides*, *Rhodobacter capsulatus* [15, 29–32].

В 2020 г. опубликовано исследование, где описана возможность применения генетически модифицированной НПБ *Rhodovulum sulfidophilum* в производстве белка паутинного шелка спидроина, обладающего уникальными характеристиками — имеет высокую прочность, высокую растяжимость, малый вес и является биоразлагаемым и биосовместимым, благодаря чему может применяться в медицине. В качестве продуцента был выбран именно *R. sulfidophilum* благодаря его способности расти фотоавтотрофно за счет использования недорогих и изобилующих возобновляемых ресурсов, таких как свет (источник энергии), углекислый газ (источник углерода) и азот, посредством фотосинтеза и азотфиксации, а также его галофильности, снижающей риск контаминации во время культивирования. Все это делает *R. sulfidophilum*, как и другие НПБ, достойной альтернативой для замены существующих фабрик на основе гетеротрофных микробных клеток [33]. *R. sulfidophilum* является одним из обладателей широких диапазонов соленостей среды обитания, поэтому изучение набора органических

осмолитов, который дает ему такую способность, является очень перспективной темой.

Понимание механизма адаптации НПБ к осмотическому стрессу поможет расширить возможность их применения в биотехнологии и биоремедиации, поэтому изучение осмопротекторов этих организмов является перспективной темой для исследования. Уникальная способность к различным типам метаболизма расширяет возможности применения НПБ и делает их использование экономически более выгодным.

2. ОСМОПРОТЕКТОРЫ НЕСЕРНЫХ ПУРПУРНЫХ БАКТЕРИЙ

Микроорганизмы обнаружены в водных экосистемах с различной минерализацией, от ультрапресных вод до рассолов. К тому же они часто подвергаются воздействию резко изменяющихся концентраций солей [34, 35]. Как следствие, бактериям необходимы механизмы адаптации к осмотическому стрессу. У микроорганизмов существуют две основные стратегии выживания в условиях осмотического стресса. Стратегия “накопление солей внутри” (“*salt-in*”) подразумевает накопление внутри клетки высоких количеств неорганических осмолитов (например, KCl), ее используют галофильные или натронофильные представители архей, а также некоторые зубактерии. В отличие от нее при стратегии “накопление совместимых растворенных веществ внутри” (“*compatible solutes in*”) клетка сохраняет низкие концентрации соли, но накапливает органические осмолиты. Такая стратегия не требует перестроек внутриклеточной системы, синтеза специальных белков и липидов, и распространена среди прокариот намного шире [36, 37], в том числе этой стратегией пользуются НПБ [34]. Накопление осмолитов помогает поддерживать тургорное давление, объем клетки и концентрацию электролитов – необходимые параметры для жизнедеятельности и пролиферации клеток [38]. Накопление органических осмопротекторов может осуществляться путем их поглощения из окружающей среды, а не биосинтеза. Как правило, транспорт осмопротекторов в клетку извне является предпочтительным способом (при условии, что такие вещества содержатся в окружающей среде), так как он гораздо менее энергозатратен, чем синтез. Этот способ характерен для большинства бактерий, в том числе НПБ [39], однако многие из них активно синтезируют “совместимые растворенные вещества” самостоятельно. У большого количества НПБ обнаружены гены путей синтеза осмопротекторов, что делает перспективным их исследование в данной группе бактерий [34].

Наиболее сильными осмопротекторами для галофильных и галотолерантных прокариот, в том числе для НПБ, являются бетаин (также

встречается у метаногенных архей, оксигенных прокариот, галотолерантных гетеротрофов и др.) и эктоин (аэробные хемогетеротрофные бактерии, галофильные метанотрофы, метилотрофы и др.) – осмолиты, имеющие в своем составе азот [34, 40–42]. Помимо них осмопротекторными свойствами обладают некоторые дисахариды (сахароза, трегалоза), аминокислоты (глутамат, пролин, глицин), гликозилглицерол, N-ацетил-глутаминилглутаминамид, N-карбамоил-L-глутаминамид, глутамат калия [38, 42–44], однако они могут обеспечить защиту клетки только при низком или умеренном осмотическом стрессе. Многие из этих веществ являются не только осмопротекторами, но и участвуют в защите клеточных структур от других видов стресса, а также в случае необходимости могут использоваться как питательные вещества.

Обнаружено, что накопление совместимых растворенных веществ в клетке имеет еще одну роль наряду с защитой от осмотического стресса – многие осмолиты повышают стабильность белков, действуя как шапероны в клетках. Изучение механизма их работы может дополнить представление о фолдинге белков. Термостабилизирующая роль осмолитов также используется в биотехнологических целях [38].

Анализ геномов фототрофных бактерий, в том числе НПБ, показал, что виды возможных ответов на осмотический стресс и наборы генов путей синтеза осмопротекторов у этих бактерий широко варьируют между различными группами, а также между пресноводными, морскими и галофильными видами. Почти все морские и галофильные НПБ могут синтезировать или бетаин, или эктоин, или и то, и другое, в то время как большинство пресноводных НПБ не имеют способности синтезировать бетаин и эктоин [34]. Часто у пресноводных видов отсутствует и способность к транспорту этих осмолитов или их предшественников в клетку из внешней среды в отличие от большинства морских и галофильных бактерий.

3. БЕТАИН

Бетаин представляет собой цвиттерионное соединение, триметильное производное глицина – триметилглицин, или триметиламиноуксусную кислоту. Это соединение обладает высокой растворимостью и не оказывает большого влияния на активность некоторых ферментов, вследствие чего оно может быть совместимым растворенным веществом, играющим роль осмопротектора в клетке [45].

Функция бетаина как осмопротектора впервые обнаружена у экстремально галофильных *Halorhodospira halochloris* [46]. Однако позже была выявлена его широкая распространенность у фо-

тотрофных и хемотрофных бактерий [4, 45–50]. Анализ геномов более 130 фототрофных бактерий показал, что синтез глицин-бетаина часто встречается у морских и галофильных фототрофных протеобактерий, а также среди филогенетически близких к ним хемотрофных бактерий и представителей *Pirellulaceae* и *Actinobacteria*. Способность синтезировать бетаин хорошо коррелирует с успешной переносимостью экстремальных концентраций соли этими бактериями. В свою очередь, бактерии, обитающие в пресной воде, обычно не имеют способности синтезировать это соединение, а часто и транспортировать его из окружающей среды. Концентрация бетаина в клетке зависит от концентрации NaCl в среде [34].

У граммотрицательных бактерий встречаются несколько путей синтеза бетаина в клетке [34, 51]:

– синтез глицин-бетаина из холина с помощью холиндегидрогеназы (ген *betA*) и бетаин-альдегиддегидрогеназы (*betB*) (граммотрицательные бактерии). Этот путь широко распространен среди бактерий, но требует поступления холина из внешней среды;

– синтез глицин-бетаина из глицина путем трех реакций метилирования с помощью глицин-саркозин-метилтрансферазы (GSMT) и саркозин-диметилглицин-метилтрансферазы (SDMT) с образованием промежуточных продуктов монометилглицина (саркозина) и диметилглицина (археи, бактерии). У многих бактерий эти ферменты кодируются двумя генами и обладают перекрывающимися ферментативными активностями. Например, у *H. halochloris* и *A. halophila* оба фермента могут использовать саркозин в качестве субстрата, но только GSMT может принимать глицин в качестве субстрата, и только SDMT может принимать диметилглицин в качестве субстрата [52, 53].

Некоторые бактерии (например, *Actinopolyspora halophila*) используют оба пути синтеза глицин-бетаина – путем окисления холина и путем метилирования [54]. В том числе у некоторых НПБ, например у *Roseospira marina* и *Roseospira navarrensis*, были обнаружены гены белков, участвующих в обоих путях синтеза [34]. Некоторые археи используют альтернативный способ синтеза бетаина путем метилирования – все реакции катализируются одним ферментом (метилирование глицина и метилирование двух промежуточных продуктов – саркозина и N,N-диметилглицина) [55].

Способность синтезировать бетаин из холина и глицина, а также наличие транспортных систем бетаина и его предшественников отсутствуют у исследуемых пресноводных НПБ класса *Betaproteobacteria* штаммов *Rhodocyclus purpureus* TEM и *Rhodocyclus tenuis* IM 230. У пресноводных НПБ *Rhodoferax antarcticus* DSM 24876, *Rhodoferax fermentans* DSM 10138, *Rubrivivax gelatinosus* IL144,

Rubrivivax gelatinosus DSM 1709 отсутствуют гены путей синтеза бетаина, но обнаружены гены соответствующих транспортных систем [34].

У большинства исследуемых пресноводных НПБ класса *Alphaproteobacteria* отсутствуют гены путей синтеза бетаина и гены соответствующих транспортных систем. Исключение составили пресноводный штамм *Rhodopseudomonas palustris* DSM 126, у которого обнаружены гены *betA* и *betB*, бактерии рода *Rhodobacter* (обнаружены гены путей синтеза бетаина и соответствующих транспортных систем) и два штамма *Rhodospirillum rubrum* (обнаружены гены путей синтеза бетаина) [34].

Наличие генов транспортеров бетаина у фототрофной НПБ *Cereibacter sphaeroides*, с которым связывают ее устойчивость с повышенным уровнем NaCl в среде, подтверждается и в [56]. Было показано, что после добавления соли в среду, где содержались НПБ *Cereibacter sphaeroides*, экзогенный глицин-бетаин быстро поглощался бактериями, и его максимальный внутриклеточный уровень достигался в течение нескольких минут. В отличие от бетаина синтез другого важного совместимого растворенного вещества – трегалозы в *C. sphaeroides*, медленно увеличивался после осмотического стресса, достигая максимальных уровней только через несколько часов. Такой характер накопления соответствовал более постепенному увеличению транскрипции оперона биосинтеза трегалозы *otsAB*, индуцированного осмотическим стрессом. Однако в [57] утверждается, что в условиях осмотического стресса, когда глицин-бетаин и пролин не добавляются в среду, именно трегалоза является основным осмопротектором *C. sphaeroides*, в то время как внутриклеточная концентрация глицин-бетаина, а также пролина не меняется.

У морских представителей *Rhizobiales* – вида *Rhodobium orientis* и видов рода *Afifella* – обнаружены гены путей синтеза бетаина из холина (*BetAB*), а также транспортер бетаина (*BetT*). Исходя из чего можно предположить, что устойчивость этих бактерий к высокой концентрации солей в среде может быть достигнута путем синтеза бетаина или путем поглощения бетаина или холина. У морских представителей НПБ из семейства *Rhodospirillaceae* – видов *Roseospirillum parvum* и *Rhodospira trueperi* – обнаружены гены белков, участвующих в биосинтезе бетаина из холина *betABI* (*betI* – регуляторный ген), а также гены белков из путей биосинтеза эктоина (*ectABC*) [34].

У истинно галотолерантных представителей НПБ – штаммов *Rhodovibrio salinarum* DSM 9154 и *Rhodovibrio sodomensis* DSM 9895 – обнаружены кластеры генов биосинтеза бетаина из холина (*betAB*) и из глицина (*GMT* и *DMT*). Эти виды могут жить в среде с высокими концентрациями со-

ли и способны переносить до 20% содержания NaCl в среде (3 М). Наличие генов путей синтеза бетаина в геномах этих бактерий позволяет им адаптироваться к условиям осмотического стресса. Отметим, что у видов *Rhodovibrio* в отличие от других видов семейства *Rhodospirillaceae* гены *GMT* и *DMT* не сливаются. Также примечательно, что у видов *Rhodovibrio* обнаружены последовательности гена *GMT* В-типа последовательностей, филогенетически наиболее удаленные от других последовательностей *GMT*, а значит, могут представлять собой гораздо более древнюю систему биосинтеза бетаина. Гены метилтрансфераз *GMT* и *DMT* также были обнаружены у вида *Rhodothalassium salexigens*. Кроме того, у многих представителей семейства *Rhodobacteraceae* обнаружены гены белков транспортных систем осмолитов [34].

Бетаин был обнаружен в клетках *Rhodothalassium salexigens* DSM 2132 и *Rhodovibrio salinarum* BN 40 с помощью ¹³C ЯМР-спектроскопии [44].

4. ЭКТОИН

Эктоин – цвиттерионное соединение, циклический тетрагидропиримидин (1,4,5,6-тетрагидро-2-метил-4-пиримидинкарбоновая кислота), синтезирующийся большим разнообразием галотолерантных и галофильных бактерий. Эктоин впервые обнаружен в клетке галофильной фототрофной бактерии *Halorhodospira halochloris* [50]. Позже было показано, что он широко распространен среди морских и галофильных бактерий, в том числе из группы НПБ [34, 58].

Внутриклеточная концентрация эктоина увеличивается при повышении концентрации NaCl во внешней среде [38]. Количество накопленного эктоина в клетках зависит и от других условий среды. У галотолерантной *Brevibacterium sp* количество эктоина внутри клетки меняется в зависимости от типа источника углерода и уровня аэрации [38, 59]. Похожий по строению осмопротектор гидроксиэктоин был обнаружен в клетках галотолерантной *Sporosarcina pasteurii* (ранее *Bacillus psychrophilus*) [59].

Синтез эктоина осуществляется с помощью продуктов генов *ectA* (кодирует диаминобутириновую ацетилтрансферазу), *ectB* (кодирует диаминоасляную аминотрансферазу); *ectC* (кодирует эктоин-синтазу) [60]. В кластер генов *ect* часто включают ген *ask_ect*, кодирующий специфическую аспарат-киназу. Коэкспрессия гена *ask_ect* вместе с осмотическими индуцируемыми кластером генов *ectABC* обеспечивает оптимальное снабжение клетки предшественником L-аспарат-β-семиальдегида в условиях осмотического стресса [58, 61, 62].

Гены белков путей синтеза эктоина обнаружены в геномах фототрофных α- и γ-протеобакте-

рий, они распространены у пурпурных серных бактерий видов *Halorhodospira* и ряда НПБ семейства *Rhodobacteraceae* [34]. Согласно [34] гены путей синтеза эктоина, а также гены соответствующих транспортных систем отсутствуют у ряда исследованных пресноводных НПБ класса *Betaproteobacteria*, а именно у *Rhodoferrax antarcticus* DSM 24876, *Rhodoferrax fermentans* DSM 10138, *Rubrivivax gelatinosus* IL 144, *Rubrivivax gelatinosus* DSM 1709, *Rhodocyclus purpureus* TEM, *Rhodocyclus tenuis* IM 230. У пресноводных НПБ класса *Alphaproteobacteria* данных генов также не было обнаружено. У всех исследуемых морских и галофильных представителей семейства *Rhodobacteraceae* обнаружен полный кластер генов пути биосинтеза эктоина.

Умеренно галофильный/галотолерантный *Rhodobacter sulfidophilus* DSM 137 в качестве основного осмопротектора использует эктоин, также эктоин обнаружен у *Rhodovibrio salinarum* BN 40 [[44]].

У истинно галотолерантных НПБ *Rhodovibrio salinarum* DSM 9154 и *Rhodovibrio sodomensis* DSM 9895 (способны переносить до 20% содержания NaCl в среде) обнаружен полный кластер генов биосинтеза эктоина. Однако у видов *Rhodovibrio* ген *ectA* не включен в кластер генов *ectABC* в отличие от практически всех других фототрофных бактерий, синтезирующих эктоин [34].

Наличие генов путей синтеза эктоина позволяет этим бактериям адаптироваться к условиям осмотического стресса.

5. ТРЕГАЛОЗА

Известна способность бактерий накапливать и ряд других растворенных веществ в ответ на осмотический стресс. К таким соединениям относятся сахара (трегалоза и сахароза), аминокислоты. Однако эти вещества могут обеспечивать защиту от осмотического стресса только при невысоких уровнях минерализации. Синтез бетаина из глицина распространен среди морских и галофильных фототрофных протеобактерий и их хемотрофных родственников, эта способность хорошо коррелирует с успешной переносимостью экстремальных концентраций соли, в то же время пресноводные бактерии, как правило, не имеют возможности синтезировать эти соединения [34], вследствие чего неспецифические осмопротекторы для них особенно важны.

Трегалоза в клетках прокариот выступает как источник углерода, запасное вещество, структурный компонент. Также она является осмопротектором, термопротектором и помогает предохранять клетки от повреждения при высушивании [63, 64]. Несмотря на то что синтез трегалозы – процесс более энергозатратный, чем синтез других осмолитов [65], он не требует таких зачастую де-

фицитных ресурсов, как азот (в отличие от эктоина и бетаина). В условиях дефицита азота организмы способны переключать синтез эктоина на трегалозу. Трегалоза обнаруживается в основном у негалофильных или галотолерантных организмов, таким образом, НПБ являются вероятными носителями генов синтеза трегалозы [65]. В регулировании концентрации трегалозы в клетке важную роль играет фермент трегалаза, катализирующий процесс гидролиза трегалозы. Фермент ингибируется солью и активируется в присутствии глицин-бетаина [66].

У прокариот обнаружено пять путей синтеза трегалозы [67]:

- наиболее распространенный в природе путь OtsA–OtsB (эубактерии, археи, грибы, растения, насекомые). Он включает в себя две реакции, катализируемые ферментами трегалозо-6-синтазой (TPS) и трегалозофосфатазой (TRP);

- у прокариот путь с трегалозосинтазой (TS);

- у архей путь с участием мальтоолигосилтрегалозосинтазы (TreY/TreZ);

- у прокариот и грибов путь с участием трегалозофосфорилазы (TreP);

- у архей путь с участием трегалозогликозилсинтазы (TreT).

Для НПБ выявлены традиционные для эубактерий пути с участием трегалозо-6-синтазы и трегалозофосфатазы, трегалозосинтазы и мальтоолигосилтрегалозосинтазы [67].

Тем не менее специальных исследований, посвященных синтезу трегалозы НПБ, не проводилось. Согласно [31, 44] НПБ *Afifella marina* и *Rhodopseudomonas palustris* способны накапливать трегалозу. Известно, что трегалоза активно используется в качестве осмопротектора бактерией *C. sphaeroides* [56, 57, 67]. Оптимум солености *A. marina* составляет 1–5%, а *R. palustris* и *C. sphaeroides* – 0%, что подтверждает гипотезу о том, что синтез трегалозы более характерен для негалофилов и галотолерантов. С помощью ¹³C ЯМР-спектроскопии выявлена способность *Rhodopseudomonas marina* (способен переносить до 7.5% NaCl в среде) продуцировать трегалозу в качестве одного из основных осмопротекторов [44]. В [68] при анализе генов *Rhodospila globiformis* DSM 161, вовлеченных в ответ на стресс, показано, что эта бактерия может иметь способность синтезировать и транспортировать трегалозу извне, защищаясь от условий умеренного осмотического стресса.

Учитывая способность НПБ приспосабливаться к разнообразным условиям среды, а также тот факт, что среди НПБ практически нет галофилов *sensu stricto* (оптимум солености выше 10% NaCl), можно предположить, что такие “неспецифические” осмолиты, как трегалоза, более характерны для них, чем эктоин и бетаин, прису-

щие истинным галофилам, поэтому данная тема является перспективной для дальнейших исследований.

6. ПОТЕНЦИАЛ ПРИМЕНЕНИЯ ОСМОПРОТЕКТОРОВ

Рассмотренные осмопротекторы имеют большой потенциал применения в биотехнологии. Эти вещества можно получать в значительных количествах из биомассы бактерий-продуцентов. Например, эктоин и гидроксикктоин были получены в больших количествах с помощью *Halomonas elongata* [69]. Для этого бактерии из среды с высокой соленостью переносятся в среду с низкой осмолярностью, где они выводят избыток осмолитов. Повторное повышение концентрации соли в среде побуждает бактерии снова синтезировать осмолиты. В итоге переносы бактерий между средами с низкой и высокой осмолярностью приводят к обогащению среды осмолитами [38].

Бетаин и эктоин могут применяться как энхансеры в ПЦР при амплификации GC-богатых ДНК-матриц. Эктоин играет эту роль за счет снижения температуры плавления ДНК [70]. Кроме того, бетаин используется в качестве криопротектора при замораживании различных бактерий [71].

Также осмопротекторы могут использоваться в биотехнологии для получения трансгенных организмов, устойчивых к стрессу. Предполагается, что вставка в геном генов путей синтеза осмопротекторов повышает их устойчивость к осмотическому стрессу. Ряд исследований показывает эффективность данной стратегии в работе с трансгенными растениями. У *Arabidopsis thaliana* значительно повышается устойчивость к осмотическому стрессу, а также тепло- и холодоустойчивость после трансформации геном холиноксидазы от *Arthrobacter globiformis* – ферментом, участвующем в синтезе глицин-бетаина [72, 73]. Потенциал осмопротекторов может быть особенно полезен в генной инженерии растений, так как в естественных условиях они часто подвергаются засухе. Согласно [74, 75] трансгенный табак, несущий гены *betA/B* от *E. coli* и гены *ectA/B/C* от *H. elongata*, становится более устойчивым к повышенному содержанию солей. Как доноры генов белков путей синтеза осмопротекторов потенциально могут использоваться НПБ.

Бетаин является источником метильных групп, в результате его метаболизма гомоцистеин метилируется до метионина, а также образуется N,N-диметилглицин. Бетаин используют как добавку для корма птиц и животных [29]. Благодаря своей способности помогать клеткам в защите от различных стрессов, вызванных воздействием внешних факторов, осмопротекторы находят применение в фармацевтике и производстве косметики.

Очень мало имеется информации о генах путей синтеза осмопротекторов у НПБ и их функционировании. Также очень мало исследовательских работ, в которых сопоставляется информация о присутствии этих генов в геномах НПБ с их физиологическими оптимумами и диапазонами минерализации. Благодаря приспособленности к широкому диапазону минерализации и способности к разнообразным типам метаболизма НПБ являются потенциально перспективными продуцентами осмопротекторов, что делает актуальными исследования в данной области.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Известно большое разнообразие соединений, способных выполнять роль осмопротекторов в клетках, определять их различия, особенности, пути их синтеза в клетках. Благодаря своим уникальным свойствам многие осмопротекторы нашли применение в биотехнологии, молекулярно-биологических исследованиях, фармацевтике, косметической промышленности. Несерные пурпурные бактерии – очень разнообразная и широко распространенная группа, их можно встретить как в ультрапресных, так и гиперсоленых водоемах, что наталкивает на изучение механизмов их адаптации к осмотическому стрессу. Большинство бактерий в условиях осмотического стресса транспортирует осмолиты из внешней среды, в то время как у большого количества НПБ обнаружены гены путей синтеза осмопротекторов, поэтому изучение механизмов их устойчивости к осмотическому стрессу вызывает особый интерес. НПБ находят применение в биотехнологии в производстве промышленно важных веществ и в биоремедиации. Использование штаммов НПБ, устойчивых в условиях повышенной минерализации среды, снижает риск контаминации при их культивировании. Уникальная способность к различным типам метаболизма расширяет возможности применения НПБ и делает их использование экономически более выгодным. Также, возможно, в группе НПБ есть виды, способные синтезировать промышленно значимые осмопротекторы с особой эффективностью, поэтому данная группа бактерий требует более подробного изучения.

Автор выражает благодарность Е.Д. Бахмутовой за помощь в подготовке рукописи.

Работа выполнена в рамках программы развития Геномного центра, соглашение с Минобрнауки РФ № 075-15-2019-1659 от 31 октября 2019 г.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Madigan M.T., Jung D.O.* The Purple Phototrophic Bacteria. Dordrecht; Netherlands: Springer, 2009. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8815-5_1

2. *Yarza P., Yilmaz P., Pruesse E. et al.* // Nat. Rev. Microbiol. 2014. V. 12. № 9. P. 635.
3. *Imhoff J.F., Hiraishi A., Siling J.* // Anoxygenic Phototrophic Purple Bacteria. Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology. 2005. P. 119. https://doi.org/10.1007/0-387-28021-9_15
4. *Imhoff J.F.* // Modern Topics in the Phototrophic Prokaryotes. 2017. P. 47. https://doi.org/10.1007/978-3-319-46261-5_2
5. *Karr E.A., Matthew Sattley W., Jung D.O. et al.* // Appl. Environ. Microbiol. 2003. P. 4910. <https://doi.org/10.1128/aem.69.8.4910-4914.2003>
6. *Горленко В.М.* // Труды ИНМИ. 2007. Т. 1. С. 225.
7. *Frigaard N.-U.* // Biotechnol. 2016. P. 139. https://doi.org/10.1007/10_2015_5006
8. *Erbakan M., Curtis B.S., Nixon B.T. et al.* // Protein Expr. Purif. 2015. V. 115. P. 109.
9. *Orsi E., Folch P.L., Monje-López V.T. et al.* // J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 2019. V. 46. № 8. P. 1179.
10. *Burgess J.G., Kawaguchi R., Yamada A., Matsunaga T.* // Microbiol. 1994. P. 965. <https://doi.org/10.1099/00221287-140-4-965>
11. *George D.M., Vincent A.S., Mackey H.R.* // Biotechnol. Rep. 2020. P. e00563.
12. *Wang G.-S., Grammel H., Abou-Aisha K. et al.* // Appl. Environ. Microbiol. 2012. V. 78. № 20. P. 7205.
13. *Cahoon L.B., Halkides C.J., Song B. et al.* // Agric. Sci. 2012. V. 3. № 06. P. 806.
14. *Kar Soon T., Al-Azad S., Ransangan J.* // J. Microbiol. Biotechnol. 2014. V. 24. № 8. P. 1034.
15. *Higuchi-Takeuchi M., Numata K.* // Front. Bioeng. Biotechnol. 2019. V. 7. P. 258.
16. *Pandey A., Singh P., Iyengar L.* // Int. Biodeterior. Biodegrad. 2007. V. 59. P. 73. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2006.08.006>
17. *Liu G.-F., Zhou J.-T., Wang J. et al.* // World J. Microbiol. Biotechnol. 2006. P. 1069. <https://doi.org/10.1007/s11274-005-4857-1>
18. *Wang X., Cheng X., Dezhi S., Qi H.* // J. Environm. Sci. 2008. P. 1218. [https://doi.org/10.1016/s1001-0742\(08\)62212-3](https://doi.org/10.1016/s1001-0742(08)62212-3)
19. *Bin Y., Jiti Z., Jing W. et al.* // FEMS Microbiol. Lett. 2004. V. 236. № 1. P. 129. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2004.tb09638.x>
20. *Kushalatha M., Vidya G., Chandrakant K.* // Adv. Biosci. Biotechnol. 2010. V. 2010. <https://doi.org/10.4236/abb.2010.13033>
21. *Idi A., Nor M.H.M., Wahab M.F.A., Ibrahim Z.* // Rev. Environ. Sci. Biotechnol. 2015. V. 14. № 2. P. 271. <https://doi.org/10.1007/s11157-014-9355-1>
22. *Seki H., Suzuki A., Mitsuueda S-I.* // J. Colloid Interface Sci. 1998. V. 197. № 2. P. 185. <https://doi.org/10.1006/jcis.1997.5284>
23. *Watanabe M., Kawahara K., Sasaki K., Noparatnaraporn N.* // J. Biosci. Bioeng. 2003. V. 95. № 4. P. 374. [https://doi.org/10.1016/s1389-1723\(03\)80070-1](https://doi.org/10.1016/s1389-1723(03)80070-1)
24. *Sasaki K., Morikawa H., Kisibe T. et al.* // Adv. Biosci. Biotechnol. 2013. P. 6. <https://doi.org/10.4236/abb.2013.41002>
25. *Magnin J-P., Gondrexon N., Willison J.C.* // Can. J. Microbiol. 2014. V. 60. № 12. P. 829. <https://doi.org/10.1139/cjm-2014-0231>
26. *Sakarika M., Spanoghe J., Sui Y. et al.* // Microb. Biotechnol. 2020. V. 13. № 5. P. 1336.

27. *Hallenbeck P.C., Abo-Hashesh M., Ghosh D.* // *Biores. Technol.* 2012. V. 110. P. 1.
28. *Weber J., Krujatz F., Hilpmann G. et al.* // *Eng. Life Sci.* 2014. V. 14. № 6. P. 592.
<https://doi.org/10.1002/elsc.201400056>
29. *Laurinavichene T., Tekucheva D., Laurinavichius K., Tsygankov A.* // *Enzyme Microbiol. Technol.* 2018. V. 110. P. 1.
30. *Fedorov A.S., Tsygankov A.A., Rao K.K., Hall D.O.* // *Biotechnol. Lett.* 1998. V. 20. № 11. P. 1007.
31. *Adessi A., Concato M., Sanchini A. et al.* // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2016. V. 100. № 6. P. 2917.
32. *Abo-Hashesh M., Desaunay N., Hallenbeck P.C.* // *Biores. Technol.* 2013. V. 128. P. 513.
33. *Foong C.P., Higuchi-Takeuchi M., Malay A.D. et al.* // *Commun. Biol.* 2020. V. 3. № 1. P. 1.
34. *Imhoff J.F., Rahn T., Künzel S. et al.* // *Microorganisms.* 2021. V. 9. № 1. P. 46.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms9010046>
35. *Imhoff J.* // *Arch. Microbiol.* 2001. V. 176. № 4. P. 243
<https://doi.org/10.1007/s002030100326>
36. *Banciu H.L., Sorokin D.Y.* // *Polyextremophiles.* Dordrecht: Springer, 2013. P. 121.
https://doi.org/10.1007/978-94-007-6488-0_5
37. *Khmelenina V.N., Kalyuzhnaya M.G., Sakharovsky V.G. et al.* // *Arch. Microbiol.* 1999. V. 172. № 5. P. 321.
<https://doi.org/10.1007/s002030050786>
38. *Roberts M.F.* // *Saline Syst.* 2005. V. 1. № 1. P. 1.
39. *Welsh D.T., Guyoneaud R., Caumette P.* // *Can. J. Microbiol.* 1998. V. 44. № 10. P. 974.
<https://doi.org/10.1139/w98-095>
40. *Oren A., Heldal M., Norland S., Galinski E.* // *Extremophiles.* 2002. V. 6. № 6. P. 491.
<https://doi.org/10.1007/s00792-002-0286-3>
41. *Oren A.* // *Saline Syst.* 2008. V. 4. № 1. P. 1.
<https://doi.org/10.1186/1746-1448-4-2>
42. *Mackay M.A., Norton R.S., Borowitzka L.J.* // *Microbiology.* 1984. P. 2177.
<https://doi.org/10.1099/00221287-130-9-2177>
43. *Welsh D.T., Herbert R.A.* // *FEMS Microb. Ecol.* 1993. V. 13. № 2. P. 145.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.1993.tb00060.x>
44. *Severin J., Wohlfarth A., Galinski E.A.* // *Microbiology.* 1992. V. 138. № 8. P. 1629.
<https://doi.org/10.1099/00221287-138-8-1629>
45. *Imhoff J.F., Rodriguez-Valera F.* // *J. Bacteriol.* 1984. V. 160. № 1. P. 478.
46. *Galinski E.A., Trüper H.G.* // *FEMS Microbiol. Lett.* 1982. V. 13. № 4. P. 357.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1982.tb08287.x>
47. *Trüper H.G., Galinski E.A.* // *FEMS Microbiol. Rev.* 1990. V. 6. № 2–3. P. 247.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1990.tb04098.x>
48. *Imhoff J.F.* // *FEMS Microbiol. Rev.* 1986. V. 2. № 1. P. 57.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1986.tb01843.x>
49. *Imhoff J.F.* *The biology of halophilic bacteria.* CRC Press, 2020. P. 211
<https://doi.org/10.1201/9781003069140-8>
50. *Galinski E.A., Pfeiffer H-P., Trüper H.G.* // *Eur. J. Biochem.* 1985. V. 149. № 1. P. 135.
<https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1985.tb08903.x>
51. *Caspi R., Billington R., Keseler I.M. et al.* // *Nucl. Acids Res.* 2020. V. 48. № 1. P. D445.
52. *Nyyssölä A., Kerovuo J., Kaukinen P. et al.* // *J. Biol. Chem.* 2000. V. 275. № 29. P. 22196.
53. *Nyyssölä A., Reinikainen T., Leisola M.* // *Appl. Environ. Microbiol.* 2001. V. 67. № 5. P. 2044.
54. *Nyyssölä A., Leisola M.* // *Arch. Microbiol.* 2001. V. 176. № 4. P. 294.
55. *Lai M.-C., Wang C.-C., Chuang M.-J. et al.* // *Res. Microbiol.* 2006. V. 157. № 10. P. 948.
56. *Tsuzuki M., Moskvina O.V., Kuribayashi M. et al.* // *Appl. Environ. Microbiol.* 2011. V. 77. № 21. P. 7551.
57. *Xu X., Abo M., Okubo A., Yamazaki S.* // *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 1998. V. 62. № 2. P. 334.
58. *Czech L., Hermann L., Stöveken N. et al.* // *Genes.* 2018. V. 9. № 4. P. 177.
<https://doi.org/10.3390/genes9040177>
59. *Kuhlmann A.U., Bremer E.* // *Appl. Environ. Microbiol.* 2002. V. 68. № 2. P. 772.
60. *Cánovas D., Vargas C., Calderón M.I. et al.* // *Syst. Appl. Microbiol.* 1998. V. 21. № 4. P. 487.
[https://doi.org/10.1016/s0723-2020\(98\)80060-x](https://doi.org/10.1016/s0723-2020(98)80060-x)
61. *Stöveken N., Pittelkow M., Sinner T. et al.* // *J. Bacteriol.* 2011. V. 193. № 17. P. 4456.
62. *Reshetnikov A.S., Khmelenina V.N., Trotsenko Y.A.* // *Arch. Microbiol.* 2006. V. 184. № 5. P. 286.
63. *Alarico S., Empadinhas N., Simões C. et al.* // *Appl. Environ. Microbiol.* 2005. V. 71. № 5. P. 2460.
<https://doi.org/10.1128/aem.71.5.2460-2466.2005>
64. *Oren A.* // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 1999. V. 63. № 2. P. 334
<https://doi.org/10.1128/mmbr.63.2.334-348.1999>
65. *Galinski E.A., Herzog R.M.* // *Arch. Microbiol.* 1990. V. 153. № 6. P. 607.
<https://doi.org/10.1007/bf00245273>
66. *Galinski E.A., Trüper H.G.* // *FEMS Microbiol. Rev.* 1994. V. 15. № 2–3. P. 95.
67. *Makihara F., Tsuzuki M., Sato K. et al.* // *Arch. Microbiol.* 2005. V. 184. № 1. P. 56.
<https://doi.org/10.1007/s00203-005-0012-5>
68. *Imhoff J.F., Rahn T., Künzel S., Neulinger S.C.* // *Arch. Microbiol.* 2018. V. 200. № 6. P. 847.
69. *Sauer T., Galinski E.A.* // *Biotechnol. Bioeng.* 1998. V. 57. № 3. P. 306.
[https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0290\(19980205\)57:3<306::aid-bit7>3.0.co;2-1](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0290(19980205)57:3<306::aid-bit7>3.0.co;2-1)
70. *Schnoor M., Voß P., Cullen P. et al.* // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004. V. 322. № 3. P. 867.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.07.200>
71. *Cleland D., Krader P., McCree C. et al.* // *J. Microbiol. Methods.* 2004. V. 58. № 1. P. 31.
<https://doi.org/10.1016/j.mimet.2004.02.015>
72. *Hayashi H., Sakamoto A., Murata N.* // *Plant J.* 1998. V. 16. № 2. P. 155.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-313x.1998.00284.x>
73. *Sakamoto A., Hayashi H., Tony A. et al.* // *Plant Tolerance to Abiotic Stresses in Agriculture: Role of Genetic Engineering.* Dordrecht: Springer, 2000. P. 95.
https://doi.org/10.1007/978-94-011-4323-3_7
74. *Nakayama H., Yoshida K., Ono H. et al.* // *Plant Physiol.* 2000. V. 122. № 4. P. 1239.
<https://doi.org/10.1104/pp.122.4.1239>
75. *Holmström K., Somersalo S., Mandal A. et al.* // *J. Exp. Bot.* 2000. V. 51. № 343. P. 177.
<https://doi.org/10.1093/jexbot/51.343.177>