

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-19

ОЦЕНКА СИНТЕЗА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И СОСТАВА КЛАСТЕРОВ ГЕНОВ ВТОРИЧНОГО МЕТАБОЛИЗМА ТЕРМОФИЛЬНОГО ШТАММА *STREPTOMYCES**

EVALUATION OF THE SYNTHESIS OF BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS AND THE COMPOSITION OF SECONDARY METABOLISM GENE CLUSTERS IN A THERMOPHILIC STRAIN *STREPTOMYCES*

М. Е. Дмитриева, В. Н. Шелковникова, Н. А. Потапова, Д. В. Аксенов-Грибанов

Иркутский государственный университет

M. E. Dmitrieva, V. N. Shelkovnikova, N. A. Potapova, D. V. Axenov-Gribanov

Irkutsk State University

✉ marrie.dmitrieva@gmail.com

Аннотация

В рамках эксперимента был проведен скрининг вторичных метаболитов и оценка состава генных кластеров термофильного штамма *Streptomyces*. Выявлен синтез соединений, относящихся к семейству нокардаминов. Обнаружено 5 кластеров генов вторичного метаболизма, ответственных за синтез таких соединений, как геосмин, эктоин, нокардамин, курамицин и флавиолин.

Abstract

As part of the experiment, a screening of secondary metabolites and an assessment of the gene clusters composition of the thermophilic strain *Streptomyces* were conducted. The synthesis of compounds belonging to the nocardamine family was recorded. Five secondary metabolism gene clusters responsible for the synthesis of compounds such as geosmin, ectoine, nocardamine, kuramycine, and flaviolin were identified.

Микроорганизмы, выделенные из экстремальных экологических ниш, имеют ряд адаптаций к неблагоприятным условиям и низкую степень изученности. Это делает их высокоэффективными фабриками по производству новых природных соединений. Это приобретает особую значимость ввиду того, что большая часть лекарственных средств, используемых в настоящее время в качестве терапевтических средств, была получена из природных источников.

Целью данного исследования являлась оценка синтеза природных соединений и состава кластеров генов вторичного метаболизма у термофильного штамма *Streptomyces* LPB2020-019-1HS.

Штамм выделен из байкальской губки *Lubomirskia baikalensis* в результате нагрева при 110 °С в течение 2 ч. Далее штамм был культивирован при шести температурах (13, 28, 37, 45, 55 и 65 °С) в одиннадцати питательных средах, различных по составу. С использованием подходов высокоэффективной жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии была проведена оценка синтеза соединений штаммом *Streptomyces* при 13, 28 и 37 °С. Геном был секвенирован на платформе Illumina MiSeq. Полнота сборки была проверена с помощью BUSCO (v. 5.4.7) и набора данных streptomycetales_odb 10. Геном аннотирован с применением сервиса Prodigal (v. 2.6.3), функциональная аннотация выполнена с помощью eggNOG-mapper (v. 2.1.9). Потенциал штамма к синтезу вторичных метаболитов проанализирован с применением инструмента antiSMASH v.7. Кластеры с идентичностью более 80 % включены в анализ.

Согласно хромато-масс-спектрометрическому анализу, максимальное количество природных соединений было обнаружено при культивировании в среде SM27 (AC), pH — 4,5 при 28 °С и SM27 (Al), pH — 8,7 при 37 °С. Наименьшее количество природных соединений было обнаружено при культивировании в среде SM20 и R2 при 13 °С. Кроме того, при культивировании *Streptomyces* sp. LPB2020-019-1HS на питательной среде SM1 наблюдались минимальные различия в синтезе соединений при различных температурных условиях. Однако культивирование штамма на средах SM17, SM27(N) pH — 6,5, SM27(Al), R2 привело к индукции синтеза природных соединений при 37 °С.

* Исследование выполнено в рамках проекта Министерства науки и высшего образования РФ № FZZE-2024-0003, FZZE 2024-0011.

Также было отмечено, что *Streptomyces* sp. LPB2020-019-1HS синтезирует природные соединения, относящиеся к семейству нокардаминов. Выявлен синтез таких соединений, как нокардамин, деметиленокардамин, деоксинокардамин и ферриоксамин D2. Все соединения были обнаружены при температуре 28 °С в средах SM17, SM25, SM27(N) pH — 6,5, R2 и 37 °С в средах SM17, SM12, SM24, SM25, SM27 (AC) pH — 4,5, SM27(N) pH — 6,5, SM27(A1) pH — 8,7, R2. Согласно базе данных Dictionary of Natural Products (CRC-press. v.10.1 2019), данные соединения являются антиоксидантами и сидерофорами.

В ходе исследования было собрано 95 % генома. Штамм идентифицирован как вид *Streptomyces thermodiastaticus*. Обнаружено 5 кластеров генов вторичного метаболизма с идентичностью более 80 % и 14 кластеров с меньшей идентичностью.

В ходе работ обнаружен кластер поликетидсинтазы III типа, ответственный за синтез таких соединений, как флавиолин и 1,3,6,8-тетрагидроксиафталин. Флавиолин является продуктом спонтанного окисления 1,3,6,8-тетрагидроксиафталина, который синтезируется бактериями. Также был обнаружен кластер поликетидсинтазы II типа, ответственный за синтез курамицина. Курамицин является антибиотиком с поликетидным каркасом, состоящим из модифицированной орселлиновой кислоты. Кластер терпенов, ответственных за синтез геосмина, также был обнаружен в геноме термофильного штамма. Геосмин является широко известным метаболитом, обуславливающим земляной запах. Также выявлен кластер, ответственный за синтез десферриоксамина E, также известного как нокардамин. Ранее нами показано, что штамм синтезировал данное соединение при температурах 28 и 37 °С и не синтезировал при температуре 13 °С. Данная молекула является широко распространенным метаболитом для бактерий рода *Streptomyces*. Более того, десферриоксамин E играет большую роль непосредственно для бактерий данного рода, а именно стимулирует их рост, дифференцировку клеток и индуцирует синтез антибиотиков.

Таким образом, результаты исследования подчеркивают важность изучения экстремофильных микроорганизмов из озера Байкал для разработки новых фармацевтических препаратов и биотехнологических решений для решения задач современного здравоохранения.