

Метилотрофные фитосимбионты способны синтезировать полилизины

Капаруллина Е. Н., Присяжная Н.В., Доронина Н. В.

ФИЦ «Пушинский научный центр биологических исследований РАН»,
Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН;
lenokap80@gmail.com

Многие аэробные метилотрофные бактерии (метилотрофы) тесно ассоциированы с различными растениями, реализуют различные стратегии положительного влияния на рост растений и являются фитосимбионтами. Результаты наших исследований показывают, что связь растений с метилотрофами является взаимовыгодной. Метилотрофы используют C_1 – метаболиты растений и стимулируют рост и развитие растений за счет продукции биоактивных веществ: фитогормонов (ауксинов, цитокининов, гиббереллинов), витаминов (Доронина с соавт., 2015), солюбилизируя фосфаты (Агафонова с соавт., 2016), ферментов (Ekimova et al., 2018). Показано, что зимой при отрицательных температурах метилотрофы локализуются внутри растительных тканей, тогда как в весенний период активного метаболизма растений и выделения летучих C_1 -соединений наблюдается интенсивное их развитие на листовой поверхности (Доронина с соавт., 2004).

На протяжении нескольких лет мы использовали протеомный МАЛДИ-анализ метилотрофных фитосимбионтов с пробоподготовкой, описанной ранее (Prisyazhnaya et al., 2012) в целях систематики. Проведенный анализ масс-спектров препаратов бактериальных клеток представителей родов *Methylobacterium* (*M. nodulans*, *M. marchantiae*, *M. extorquens*) и *Methylopila* (*Mp.musalis*, *Mp.turkensis*, *Mp.carotae*, *Mp.jiangsuensis*), выращенных на минеральной среде с 0.5% метанола, в весенний период показал, что штаммы содержали в своем профиле полимер с молекулярной массой мономерного звена 128 Да, соответствующей после гидратации аминокислоте L-лизину. Молекулярный вес соединений варьировал между 2000 и 4000 Да и такой полимер соответствует структуре полилизина (рис. 1).

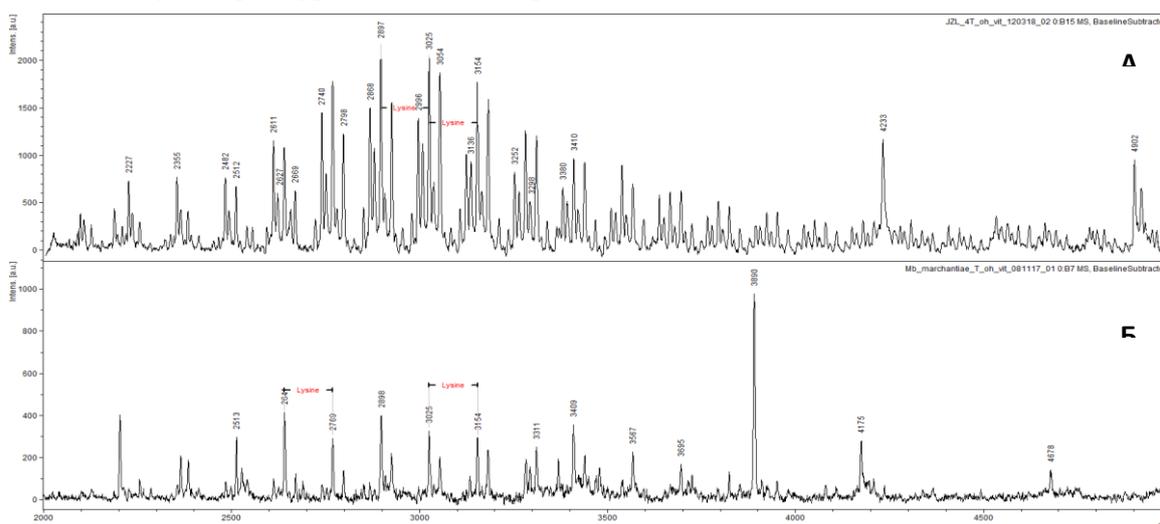


Рис. 1. Масс-спектры факультативных метилотрофных бактерий, представителей родов *Methylopila* (А) и *Methylobacterium* (Б)

Полилизин представляет собой гомополимер, состоящий из L-лизиновых мономеров, связанных между собой пептидной связью между ε-аминогруппой и α-карбоксильной группой (рис.2). Показано, что полилизин с длиной цепи, превышающей девять остатков L-лизина, проявляет антимикробную активность в отношении широкого спектра микроорганизмов, включая дрожжи, грибы, грамположительные и грамотрицательные бактерии (Yoshida and Nagasawa, 2003). Минимальная концентрация ингибирования полилизина в отношении ряда микроорганизмов была менее 100 мкг / мл, что указывает на то, что это соединение эффективно в отношении патогенов (Hiraki, 2000). Ввиду того, что полилизин является безопасным, биоразлагаемым и стабильным соединением в условиях высокой температуры и низкого pH, он введен в качестве пищевого консерванта во многих странах (Shukla et al., 2012).

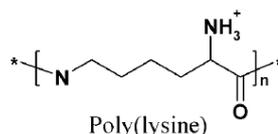


Рис. 2. Структурная формула полилизина

Появление этих полимеров в масс-спектрах метилотрофных фитосимбионтов отмечалось нами в марте-апреле в течение трех лет (2017-2019), однако они отсутствовали в профилях культур в летний, осенний и зимний период.

В весенний период происходит активизация метаболизма растений, формируется листва, активно образуются метаболиты - метанол, формиат, формальдегид. Можно предположить, что метилотрофы, синтезирующие полилизин, при колонизации растений имеют преимущества по сравнению с другими микроорганизмами – они используют C₁-субстраты в качестве источников углерода и энергии и завоевывают пространство, подавляя рост другой микрофлоры. Затем, когда поверхность растения уже колонизована метилотрофами, они перестают синтезировать эти соединения.

Таким образом, впервые показано, что аэробные метилотрофные бактерии способны синтезировать полилизин, и рассмотрена гипотеза о возможной стратегии/роли полилизина у метилотрофных фитосимбионтов.

Литература

1. Yoshida T., Nagasawa T. Epsilon-Poly-L-lysine: microbial production, biodegradation and application potential // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2003. V.62. P. 21–26.
2. Chang S.S., Lu W.Y.W., Park S.H., Kang D.H. Control of foodborne pathogens on ready-to-eat roast beef slurry by ε-polylysine. // *Int. J. Food Microbiol.* 2010. V.141. P. 236-241.
3. Zhou C., Li P., Qi X., Sharif A.R.M, Poon Y.F., Cao Y., *et al.* A photopolymerized antimicrobial hydrogel coating derived from epsilon-poly-L-lysine // *Biomaterials.* 2011. V. 32. P. 2704-2712.
4. Hiraki J. ε-poly-L-lysine, its development and utilization // *Fine Chem.* 2000. V.29. P.18-25.
5. Shukla S. C. et al. Review on production and medical applications of ε-polylysine // *Biochem. Eng. J.* 2012. V. 65. P. 70-81.
6. Hiraki J., Ichikawa T., Ninomiya S.I., Seki H., Uohama K. *et al.* Use of ADME studies to confirm the safety of ε-polylysine as a preservative in food // *Regulatory Toxicol. Pharmacol.* 2003. V.37. P. 328-340.

7. Ekimova G.A., Fedorov D.N., Tani A., Doronina N.V., Trotsenko Y.A. Distribution of 1-amino-cyclopropane-1-carboxylate deaminase and D-cysteine desulphydrase genes among type species of the genus *Methylobacterium* // Antonie van Leeuwenhoek 2018. P. 1-12. DOI: 10.1007/s10482-018-1061-5.
8. Доронина Н.В., Торгонская М.Л., Федоров Д.Н., Троценко Ю.А. Аэробные метиловобактерии – перспективные объекты современной биотехнологии (обзор) // Прикл. биохим. и микробиол. 2015. Т. 51. № 2. С. 111-121.
9. Н. В. Агафонова, Е. Н. Капаруллина, Н. В. Доронина, Ю.А. Троценко. Фосфатсольюбилизирующая активность аэробных метиловобактерий // Микробиол. 2014. Т. 83. № 1. С. 28–32.
10. Доронина Н.В., Иванова Е.Г., Сузина Н.Е., Троценко Ю.А. Метанотрофы и метиловобактерии обнаружены в тканях древесных растений в зимний период // Микробиол. 2004. Т. 73. N 6. С.817–824.
11. 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 (Mikrobiologiya). -2012. -V.81, -№.6. -P.696–701.