

алканов штаммом *Gordonia* sp. 1D

Ветрова А.А., Делеган Я.А., Петриков К.В., Иванова А.А.

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

Штаммы *Gordonia* являются известными деструкторами алканов. Так как алканы являются основными (около 70%) составляющими большинства добываемой нефти, эти микроорганизмы играют важную роль в биоремедиации загрязненных нефтью территорий. Алкангидроксилазы – обширный класс ферментов деградации алканов, представленный в различных видах бактерий, грибов, дрожжей и водорослей. Ван Бейлен и Фанхофф рассматривают три основных категории алкан-деградирующих ферментных систем: разлагающие C1-C4 соединения (от метана до бутана, окисляются ферментами метанмонооксигеназного типа), C5-C16 соединения (от пентана до гексадекана, окисляются межмембранными ферментами с негемовым железом (семейство AlkB) или цитохромом P450 (семейство CYP153) и C17+ (длинноцепочечные алканы, окисляются малоизученными ферментными системами). В данной статье также отмечено, что микроорганизмы, способные разрушать алканы, могут содержать несколько алкангидроксилаз и, таким образом, потреблять различные субстраты. Часто бактерии обладают генами только одной из вышеперечисленных систем, хотя и в нескольких копиях, что приводит к специфическому спектру утилизируемых алканов.

Штамм *Gordonia* sp. 1D способен утилизировать широкий спектр алканов в диапазоне температур культивирования 20-50°C. При анализе генома штамма выявлено присутствие генов нескольких различных алкан гидроксилаз — *alkB*, CYP153, а также генов нескольких менее распространенных гидроксилаз. Целью данной работы было получение мутантных штаммов (дефектных по генам *alkB*, CYP153) и исследование роли алкан гидроксилаз в процессе деструкции углеводородов нефти родительским и мутантными штаммами *Gordonia* sp. 1D. Исследуемые штаммы были проанализированы на способность утилизировать различные алифатические углеводороды при температурах 24°C и 45°C через 10 суток.

Штамм *Gordonia* sp. 1D способен к деструкции алканов C8-C20 (до C36) при двух температурах, что позволяет предположить, что оба гидроксилазных фермента активны в клетках как при температуре 24°C, так и при 45 °C. Мутантный штамм по гену *alkB* утратил способность утилизировать алканы длиной до C10, в отличие от мутантного микроорганизма по гену CYP153. Вероятно, в микроорганизме *Gordonia* sp. 1D субстратами гидроксилазы *alkB* в основном являются линейные алканы длиной C8-C12, что частично согласуется с данными Ван Бейлена. Были получены кривые роста и степень деградации углеводородов нефти мутантными и природным штаммами при росте в жидкой минеральной среде с нефтью при температурах 24°C и 45°C в течении 10 суток.

Аборигенный штамм *Gordonia* sp. 1D, имеющий гены *alkB* и CYP153, наиболее активно размножался при умеренной температуре (24°C), что соотносилось с максимальным значением показателя степени деградации нефти (37%). Степень деградации нефти при комнатной температуре для мутантных штаммов по генам *alkB* и CYP153 составила, соответственно 23% и 17%.

С повышением температуры растворимость углеводородов нефти в воде повышается. При температуре 45 °C алканы длиной до C12 (являющиеся наиболее токсичными), входящими в состав нефти, активно влияют на культуру. Аборигенный штамм *Gordonia* sp. 1D имеет преимущество относительно мутантного микроорганизма по гену *alkB*, так как способен к деградации алканов до C12, что подтверждается данными показателей степени деградации и динамики роста. Микроорганизм мутантный по гену *alkB* в большей степени

подвергается токсическому воздействию легких фракций нефти при повышенной температуре, поэтому прирост биомассы штамма *Gordonia* sp. 1D alkB- наблюдается только через 100 часов. Данное явление вероятно обусловлено абиотической убылью токсичных алканов легкой фракции нефти из анализируемой системы. Вероятно, алкан гидроксилаза, кодируемая геном alkB является температурозависимой, и снижает свою активность с повышением температуры, что способствует увеличению степени деградации нефти штаммом *Gordonia* sp. 1D при температуре 24°C, по сравнению с 45°C.

Работа выполнена при поддержке РФФИ мол_а № 18-34-00329.