УДК 579.222

ОТРИМАННЯ РАМНОЛІПІДІВ ЗА ДОПОМОГИ МІКОРОГАНІЗМАМІВ РОДУ *PSEUDOMONAS*

Д.В. Душенківський
Одеський національний університет ім. І.І. Мечникова, Шампанський провулок 2, Одеса, 65058, Україна

Одними з найбільш корисних біотехнологічних продуктів, які можна отримати з мікроорганізмів є численні біосурфактанти. Ці сполуки відіграють значну роль в забезпеченні життєдіяльності мікроорганізмів і їх спільнот, беручи участь в регуляції чисельності популяцій мікроорганізмів, забезпечуючи доступ мікроорганізмів до нерозчинним у воді джерел живлення і т.д. З точки зору біотехнології біосурфактанти мікроорганізмів можуть використовуватися для очищення води і ґрунту від забруднення нафтою, компонентами палива, а також важкими металами. На відміну від хімічно синтезованих сурфактантов, біосурфактанти мікроорганізмів мають низьку токсичність, часто більш високою активністю, а також стабільністю своєї структури і активністю при екстремальних показниках температури, pH і т.д. [1].

На сьогодні відомо кілька груп біосурфактантов, які синтезуються мікроорганізмами. Більшість цих сполук відноситься до гліколіпідами і ліпопептідам. Найбільш вивченими серед усіх біосурфактантов на сьогодні є представники першої групи - рамноліпіди [2].

Рамноліпіди синтезуються багатьма мікроорганізмами, особливо в стані біоплівки, але найкращий потенціал поки що має *Pseudomonas aeruginosa*. Рамноліпіди, синтезовані *Pseudomonas aeruginosa*, мають широкий спектр біологічної активності, зокрема, мають антимікробну і протипухлинну дію [3, 4]. Завдяки високій емульгуючій здатності [5] вони ефективно можуть використовуватися для біоремедіації забруднених грунтів [6], підвищення нафтовіддачі [7]. Біосурфактанти *Pseudomonas aeruginosa* є сумішшю рамноліпідов різної будови, серед яких основну частину складають ди-і монорамноліпіди, що містять по два залишку жирної кислоти і, перш за все β-гідроксідеканоіл-β-гідроксідеканоата (C10-C10). Дірамноліпіди краще розчиняються у воді, володіють вищою емульгуючою і протипухлинну активність [8]. Рамноліпіди служать джерелом отримання L-рамнози, що входить до складу ароматичних і смакових добавок.

Важливими перевагами рамноліпідов, як і інших біосурфактантів, в порівнянні з синтетичним поверхнево-активними речовинами є низька токсичність і біодеградабельні [9]. Однак ці переваги нівелюються високою собівартістю, яка в 10 разів вище, ніж у синтетичних сурфактантів. Тому актуальним завданням є розробка підходів, що сприяють зниженню собівартості цих продуктів мікробного біосинтезу. Рамноліпіди, що синтезуються *Pseudomonas aeruginosa*, володіють широким спектром біологічної активності, зокрема, мають антимікробну та протипухлинну дію.

Досягнення цієї мети неможливо без глибокого розуміння механізмів біосинтезу і регуляції процесів його забезпечують. Оскільки *P. aeruginosa* служить модельним мікроорганізмом для цих досліджень, біосинтез рамноліпідов на сьогодні охарактеризований досить глибоко на генетичному, фізіологічному і біохімічному рівнях. Отримані дані дозволили розробити такі підходи підвищення ефективності біосинтезу рамноліпідов, як: оптимізація складу поживних середовищ і технологій культивування, використання жиросодержащих субстратів і перенесення генів *(rhlAB*) в клітини гетерологичних продуцентів [1, 10]. Вважається, що перший підхід на сьогодні вичерпано. Другий виявився ефективним лише у окремих штамів, третій дозволяє отримувати тільки монорамноліпіди.

Біосинтез рамноліпідов включає в себе три процесу: біосинтез рамнозного залишку, біосинтез ацильної ланцюга, а також об'єднання синтезованих компонентів в

одну молекулу. Реакція рамнолізірованія жирнокислотного ланцюга, що відбувається при біосинтезі рамноліпідов, була вперше описана Burger et al. в 1963 році на прикладі дірамноліпіда формули Rha-Rha-C10-C10.

Перша стадія реакції включає в себе димеризации двох ланцюгів β-гідроксідодекановой кислоти. Далі відбувається послідовне рамнолізірованіе отриманого димера двома молекулами рамнози. Цей процес за участю двох різних ферментів - рамнозілтрансферази 1 (RhlAB) і рамнозілтрансферази 2 (RhlC) [10]. Залежно від того який саме рамноліпід синтезується, зазначена вище реакція може мати ті чи інші особливості.

Рамноліпіди, які синтезуються в великій кількості бактеріями роду *Pseudomonas* мешкають в грунтах, забруднених нафтопродуктами, завдяки своїй здатності солюбілізувати дані продукти, відкривають доступ бактерій до цього субстрату і тим самим сприяють їх біодеградації [12].

Описанні вище властивісті рамноліпідов викликає сьогодні великий практичний інтерес з точки зору біоочищення забруднених розливами нафтопродуктів грунтів. У порівнянні з іншими біосурфактантами, переваги рамноліпідов в справі біоочищення полягає в їх більш високої активності, а також у відносній невибагливості їх продуцентів до умов культивування, що може дозволити швидко розгортати промислове виробництво рамноліпідів.

Іншою важливою властивістю рамноліпідов є їх здатність підтримувати існування бактерій в формі біоплівки. Сьогодні під терміном біоплівка розуміють особливу форму існування мікроорганізмів і їх спільнот, що утворюється як було зазначено вище на межі поділу фаз і характеризується набором властивостей, відмінних від сукупності автономних клітин мікроорганізмів в чистій культурі. До утворення біоплівок здатне переважна більшість мікроорганізмів. Як субстрат для них можуть виступати різні структури, такі як частки грунту, металоконструкції, водопровідні труби, скелі і камені, і навіть тіла інших організмів.

Таким чином, вивчення властивостей рамноліпідов (і інших біосурфактантів) є важливим для вивчення різних процесів здійснюваних бактеріальними клітинами. Також перспективним є пошук шляхів збільшення біосинтезу цих продуктів за допомогою різних підходів - як використання генетичного конструювання штамів-суперпродуцентів, так і пошук речовин-регуляторів, здатних при їх застосуванні підвищувати вихід продукту у звичайних штамів.

Література

1. Hauser G. Studies on the production of glycolipide by *Pseudomonas aeruginosa*. / G. Hauser, M. L. Karnovsky. // J. Bacteriol. – 1954. – V. 68. – P. 645–654.

2. Müller M. M. Regulatory and metabolic network of rhamnolipid biosynthesis: Traditional and advanced engineering towards biotechnological production / M. M. Müller, R. Hausmann // Applied. Microbiology and Biotechnology. – 2011. – V. 91, № 2. – P. 251–264

3. Piljac G., Piljac V. Pharmaceutical preparation based on rhamnolipid // USA Patent № 5455232, 3 Oct. 1995.

4. Vatsa P. Rhamnolipid biosurfactants as new players in animal and plant defense against microbes / P. Vatsa, L. Sanchez, C. Clement, F. Baillieul, S. Dorey // Int. J. Molecular Sci. – 2010. – V. 11. – P. 5095–5108.

5. Singh A. Surfactants in microbiology and biotechnology: Part 2.Application aspects. / A. Singh, J. D. Van Hamme, O. P. Ward // Biotechnol Adv. – 2007. – V. 25. – P. 99–121

6. Asci Y. Removal of zinc ions from a soil component Na-feldspar by a rhamnolipid biosurfactant. / Y. Asci, M. Nurbas, Y. S. Acikel // Desalination. – 2008. – V. 223. – P. 361–365

7. Nguyen T.T. Rhamnolipid biosurfactant mixtures for environmental remediation / T. T. Nguyen, N. H. Youssef, M. J. McInerney, D. A. Sabatini // Water Research. – 2008. – V. 42. – P. 1735–1743.

8. Rahim R. Cloning and functional characterization of the Pseudomonas aeruginosa rhlC gene that encodes rhamnosyltransferase 2, an enzyme responsible for di-rhamnolipid biosynthesis / R. Rahim, U. A. Ochsner, C. Olvera, M. Graninger, P. Messner, S. Joseph, J. S. Lam, G. Soberon-Chavez // Molecular Microbiology. – 2001. – V. 40(3). – P. 708–718.

9. Chrzanowski L. Why do microorganisms produce rhamnolipids? / L. Chrzanowski, L. Ławniczak, K. Czaczyk // World J. Microbiol. Biotechnol. – 2012. – V. 28. – P. 401–419.

10. Abdel-Mawgoud A. M. Rhamnolipids: diversity of structures, microbial origins and roles. / A. M. Abdel-Mawgoud, F. Lerpine, E. Derziel // Appl Microbiol Biotechnol. – 2010. – V. 86. – P. 1323–1336.

11. Zhu K. RhlA converts beta-hydroxyacyl-acyl carrier protein intermediates in fatty acid synthesis to the beta-hydroxydecanoyl-beta-hydroxydecanoate component of rhamnolipids in *Pseudomonas aeruginosa*. / K. Zhu, C. O. Rock // J. Bacteriol. - 2008. - V. 190. - P. 3147–3154.

12. Kaczorek E. Yeast and bacteria cell hydrophobicity and hydrocarbon biodegradation in the presence of natural surfactants Rhamnolipides and saponins. / E. Kaczorek, Ł. Chrzanowski, A. Pijanowska, A. Olszanowski. // Biores Technol. – 2008. – V. 99. – P. 4285–4291.