

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. І. МЕЧНИКОВА

**Б. М. Галкін, Т. О. Філіпова,
В. О. Іваниця, Т. В. Гудзенко**

**БІОАКТИВНІ ВТОРИННІ
МЕТАБОЛІТИ
МОРСЬКИХ МІКРООРГАНІЗМІВ**

Монографія

ОДЕСА
ОНУ
2022

УДК 579.26(0.17.8)
Г161

Автори:

Галкін Б. М., Філіпова Т. О., Іваниця В. О., Гудзенко Т. В.

Рецензенти:

Головенко М. Я. – академік НАМН України, доктор біологічних наук, професор, головний науковий співробітник ФХІ імені О.В. Богатського НАН України;

Пилипенко Л. М. – доктор технічних наук, професор, професорка кафедри біохімії, мікробіології та харчування ОНАХТ;

Макаренко О.А. – доктор біологічних наук, старший науковий співробітник, завідувачка кафедрою фізіології, зоров'я і безпеки людини та природничої освіти.

Рекомендовано до друку Вченою радою ОНУ імені І. І. Мечникова
Протокол № 4 від 16 листопада 2022 р.

Біоактивні вторинні метаболіти морських мікроорганізмів /
Г161 Галкін Б. М., Філіпова Т. О., Іваниця В. О., Гудзенко Т.В. – Одеса:
ОНУ, 2022 – 220 с.
ISBN 978-617-689-546-6

В монографії узагальнено літературні джерела про синтез та фізіологічну роль вторинних метаболітів з морських мікроорганізмів. Розглядаються механізми утворення вторинних метаболітів та їх функції. Наведено дані про біологічну активність вторинних метаболітів. Висвітлено механізми, генетична регуляція синтезу біосурфактантів та їх біологічна роль. Проведено аналіз впливу факторів середовища для підвищення синтезу біоактивних сполук у морських мікроорганізмів. Розглянута еволюція генних кластерів та їх гетерологічна експресія, шляхи синтезу мікробних вторинних метаболітів та роль полікетидсинтетаз, нерибосомних пептидсинтетаз, синтетаз жирних кислот. Проаналізована екологічна роль вторинних метаболітів морських мікроорганізмів.

Монографія розрахована на науковців морських мікробіологів, екологів, біотехнологів, а також аспірантів та студентів, які навчаються за спеціальностями мікробіологія, біологія та біотехнологія.

УДК 579.26(0.17.8)

ISBN 978-617-689-546-6

© Галкін Б. М., Філіпова Т. О.,
Іваниця В. О., Гудзенко Т.В., 2022

© Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, 2022

ЗМІСТ

ВСТУП	6
--------------------	----------

РОЗДІЛ 1.

ВТОРИННІ МЕТАБОЛІТИ МІКРООРГАНІЗМІВ	8
--	----------

РОЗДІЛ 2.

ХАРАКТЕРИСТИКА ВТОРИННИХ МЕТАБОЛІТІВ МОРСЬКИХ МІКРООРГАНІЗМІВ	21
--	-----------

2.1. Біоактивні вторинні метаболіти морських бактерій	21
2.1.1 Вторинні метаболіти ціанобактерій	27
2.1.2. Вторинні метаболіти бактерій, виділених з морських водоростей та морських губок	36
2.1.3. Вторинні метаболіти бактерій, виділених з коралових екосистем	38
2.1.4. Вторинні метаболіти бактерій, виділених з моховаток	39
2.2. Вторинні метаболіти морських грибів та водоростей	39
2.2.1. Вторинні метаболіти морських грибів з донних відкладень	43
2.2.2. Вторинні метаболіти грибів, виділених з морських водоростей	46
2.2.3. Вторинні метаболіти грибів, виділених з морських губок та коралів.....	47
2.2.4. Біоактивні сполуки з морських мікроводоростей	53

РОЗДІЛ 3.

БІОСУРФАКТАНТИ З МОРСЬКИХ МІКРООРГАНІЗМІВ	67
3.1. Види та хімічні структури Біо-ПАР	68
3.2. Морські бактерії, які виробляють Біо-ПАР	77
3.3. Екологія бактерій, які синтезують Біо-ПАР	80
3.4. Застосування в медицині Біо-ПАР морських організмів	81

3.4.1. Біо-ПАР як потенційні антимікробні, антиадгезивні та антибіоплівкові засоби.....	83
3.4.2. Біо-ПАР з морських мікроорганізмів, як альтернативні протипухлинні засоби	86
3.5. Застосування Біо-ПАР у промисловості	94
3.5.1. Використання Біо-ПАР з морських мікроорганізмів у біоремедіації	95
3.5.2. Біо-ПАР з морських мікроорганізмів використання в харчовій та косметичній промисловості	98
3.5.3. Використання Біо-ПАР з морських організмів у промислових технологіях	101
3.5.4. Генетична регуляція синтезу Біо-ПАР у морських мікроорганізмів	102

РОЗДІЛ 4.

ВПЛИВ ФАКТОРІВ СЕРЕДОВИЩА НА СИНТЕЗ БІОАКТИВНИХ СПОЛУК У МОРСЬКИХ МІКРООРГАНІЗМІВ	122
4.1. Зміна компонентів живлення при культивуванні	122
4.2. Вплив фізичних факторів на активізацію синтезу вторинних метаболітів	127
4.3. Спільне культивування та інші екологічні фактори	129

РОЗДІЛ 5.

МОРСЬКІ МІКРОБНІ ВТОРИННІ МЕТАБОЛІТИ: ШЛЯХИ, ЕВОЛЮЦІЯ ТА СТРУКТУРА	143
5.1. Еволюція генних кластерів	144
5.2. Метаболічні шляхи синтезу полікетидсинтетази, нерибосомної пептидсинтетази та синтетази жирних кислот	145
5.2.1. Полікетидсинтетази	146
5.2.2. Синтез полікетидсинтетаз	149
5.2.3. Нерибосомна пептидсинтетаза	153
5.2.4. Полікетидсинтетаза/нерибосомна пептидсинтетаза	157
5.2.5. Синтетаза жирних кислот	157

5.3. Структура і функція вторинних метаболітів морських бактерій	160
5.3.1. Біологічно активні сидерофори морських мікроорганізмів	161
5.3.2. Вторинні метаболіти, синтезовані генетичним кластером нерибосомної пептидази	162
5.3.3. Вторинні метаболіти, синтезовані генетичним кластером полікетидсинтетази	165
5.3.4. Вторинні метаболіти, синтезовані за допомогою гібридного генного кластеру нерибосомної пептидсинтетази-полікетидсинтетази	169
5.3.5. Вторинні метаболіти, синтезовані кластером генів синтетази жирних кислот/полікетидсинтетази	179

РОЗДІЛ 6.

ЕКОЛОГІЧНА РОЛЬ ВТОРИННИХ МЕТАБОЛІТІВ МОРСЬКИХ МІКРООРГАНІЗМІВ	198
--	-----

РОЗДІЛ 7.

ГЕННІ КЛАСТЕРИ ВТОРИННИХ МЕТАБОЛІТІВ МОРСЬКИХ МІКРООРГАНІЗМІВ ТА ЇХ ГЕТЕРОГІЧНА ЕКСПРЕСІЯ	205
---	-----

ЗАКЛЮЧЕННЯ	217
-------------------------	-----

ВСТУП

Вторинні метаболіти, які також називаються спеціалізованими метаболітами, токсинами, вторинними продуктами або природними продуктами, – це органічні сполуки, що виробляються бактеріями, грибами або рослинами, які не беруть безпосередньої участі у нормальному рості, розвитку або відтворенні організму. Натомість вони, як правило, опосередковують екологічну взаємодію, що може створити селективну перевагу для організму, збільшивши його живучість або плодючість. Специфічні вторинні метаболіти часто обмежуються вузьким набором видів у межах філогенетичної групи, хоча є значні докази того, що горизонтальне перенесення через види чи роди цілих шляхів синтезу вторинних метаболітів відіграє важливу роль у бактеріальній (та, ймовірно, грибовій) еволюції [1]. Основними синтетичними шляхами вторинного синтезу метаболітів у бактерій є: β -лактами, олігосахариди, шикіматиди, полікетиди та нерибосомні пептиди [2]. Морське середовище є величезним джерелом природних сполук, які володіють біологічною активністю [3, 4]. Морські мікроорганізми мають унікальні метаболічні та фізіологічні властивості, які надають їм здатність виживати в екстремальних умовах і, отже, виробляти нові метаболіти, які неможливо знайти деінде [5, 6]. Отже, морське середовище має великі перспективи щодо пошуку нових біоактивних та відповідних сполук, включаючи антибіотики, ферменти, вітаміни, ліки та Біо-ПАР (біоповерхневі активні речовини) [4, 7, 8].

Вторинні метаболіти мікроорганізмів широко використовуються у різних сферах діяльності людини. Від медицини до отримання продуктів за допомогою біотехнології.

Список використаної літератури

1. *Malik V.S.* Microbial secondary metabolism // *Trend. Biochem. Sci.* –1980. – V. 5 (3). – P. 68–72.
2. *Gokulan K., Khare S., Cerniglia C.* Metabolic pathways; Production of Secondary Metabolites of Bacteria / *Encyclopedia of Food Microbiology.* –2014. – P. 561–569.

3. *Bhatnagar I., Kim S. K.* Immense essence of excellence: Marine microbial bioactive compounds // *Mar. Drugs.* – 2010. – V. 8 (10). – P. 2673–2701.
4. *Nuñez R., Garateix A., Laguna A. et al.* Caribbean marine biodiversity as a source of new compounds of biomedical interest and other industrial applications // *Pharmacology online.* – 2006. – V. 3 (1). – P. 111–119.
5. *Carvalho C. C., Fernandes P.* Production of metabolites as bacterial responses to the marine environment // *Mar. Drugs.* – 2010. – V. 8 (3). – P. 705–727.
6. *Satpute S.K., Banat I.M., Dhakephalkar P.K. et al.* Biosurfactants, bioemulsifiers and exopolysaccharides from marine microorganisms // *Biotechnol. Adv.* – 2010. – V. 28 (4). – P. 436–450.
7. *Shekhar S., Sundaramanickam A, Balasubramanian T.* Biosurfactant producing microbes and their potential applications: A review // *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* – 2015. – V. 45 (14). – P. 1522–1554.
8. *Ramiah N.* Facets and opportunities / In *Marine Microbiology* Ed. National Institute of Oceanography: Goa, India, 2005. – P. 1–6.

ГЛАВА 1.

ВТОРИННІ МЕТАБОЛІТИ МІКРООРГАНІЗМІВ

Вторинні метаболіти мікроорганізмів – це продукти з низькою молекулярною масою та незвичайною структурою. Структурно різноманітні метаболіти виявляють різні біологічні властивості. Багато з них є протимікробними агентами, інгібіторами ферментів, протипухлинними, імуносупресивними та протипаразитарними засобами [2]. Крім того, серед них є стимулятори росту рослин, гербіциди, інсектициди. Вторинні метаболіти мікроорганізмів синтезуються на пізній стадії росту мікроорганізмів та контролюються спеціальними регуляторними механізмами. Їх виробництво, як правило, пригнічується у логарифмічній фазі та активується у стаціонарній фазі росту. Вторинні метаболіти мікроорганізмів є унікальними за хімічною структурою і близько 40% з них не можуть бути синтезовані хімічним шляхом [4].

Принципи і процеси синтезу вторинних метаболітів можуть бути успішно використані для отримання структур, які можливо застосовувати в медицині, сільському господарстві, харчовій промисловості, біоремедіації природного середовища та можуть бути базовою речовиною для отримання нового продукту шляхом хімічної або біологічної трансформації.

Класифікація вторинних метаболітів. Відомо більше 2140000 вторинних метаболітів, які часто класифікуються за структурою, функціями та біосинтезом. Існує п'ять основних класів вторинних метаболітів: а) терпеноїди та стероїди; б) речовини, що походять від жирних кислот та полікетиди; в) алкалоїди; г) рибосомні та нерибосомні поліпептиди; д) ферментні кофактори [1].

Терпеноїди та стероїди. Вони є основною групою речовин, отриманих біосинтетично з ізопентенилдифосфату. В даний час ідентифіковано понад 35 000 відомих терпеноїдних і стероїдних сполук. Терпеноїди мають різну різноманітність неспоріднених структур, тоді як стероїди мають загальний тетрациклічний вуглецевий скелет і є модифікованими терпеноїдами, які синтезуються з тристерпенового ланостеролу.

Алколоїди. Відомо понад 12000 сполук алкалоїдів. Їх основні структури складаються з основної аміногрупи і отримані біосинтетично з амінокислот.

Речовини, що походять від жирних кислот, і полікетиди. Близько 10000 сполук ідентифіковано та синтезовано з простих ацильних попередників, таких як пропіоніл КоА, ацетил КоА та метилмалоніл КоА.

Нерибосомні та рибосомні поліпептиди. Ці сполуки, отримані з амінокислот, біологічно синтезуються багатофункціональним ферментним комплексом без прямої транскрипції РНК. Сполуки отримані з амінокислот за рахунок синтезу білка.

Ферментні кофактори. Ферментні кофактори це небілкові, низькомолекулярні ферментні компоненти.

Основними джерелами вторинних метаболітів є рослини (80% усіх вторинних метаболітів), бактерії, гриби та багато морських організмів (губки, асцидії, корали та молюски) (табл. 1.1.) [3].

Функції вторинних метаболітів.

Основними функціями вторинних метаболітів, включаючи антибіотики, є:

- молекули захисту і антагоністи проти інших форм життя, таких як тварини, рослини, комахи, мікроорганізми;
- молекули, що транспортують метали;
- молекули симбіотичної комунікації з іншими організмами;
- репродуктивні агенти та ефектори диференціації;
- молекули комунікації між організмами.

Існують інші комунікативні функції, які включають вплив на формування та проростання насіння рослин [42]. Переважно вторинні метаболіти використовуються для створення протимікробних та протипаразитарних засобів, інгібіторів ферментів, протипухлинних та імуносупресивних засобів [2].

Механізми утворення вторинних метаболітів.

Метаболізм можна визначити як суму всіх біохімічних реакцій, що здійснюються організмом. Метаболіти є продуктами обміну речовин. Термін «вторинний», введений А. Косселем у 1891 р., означає, що вторинні метаболіти, на відміну від первинних, присутні лише винятково і не мають першочергового значен-

Таблиця 1.1.

Кількість відомих природних метаболітів [1]

Джерело	Кількість вторинних метаболітів	Біологічно активні	Антибіотики
Природні сполуки	>1 000 000	200000–250000	25000–30000
Рослини	600000–700000	150000–200000	~ 25000
Мікроорганізми	Понад 50000	22000–23000	~ 17000
Водорості, лишайники	3000–5000	1500–2000	~ 1000
Вищі рослини	500000–600000	~100000	10000–12000
Тварини	300000–400000	500000–100000	~ 5000
Найпростіші	Кілька сотень	100–200	~ 50
Безхребетні	~ 100000	Невідомо	~ 500
Морські тварини	20000–25000	7000–8000	3000–4000
Комахи/черви/тощо	8000–10000	800–1000	150–200
Хребетні (ссавці, риби, амфібії тощо)	200000–250000	50000–70 000	~ 1000

Таблиця 1.2.

Вторинні метаболіти, що синтезуються мікроорганізмами [8]

Вторинний метаболіт	Джерело вторинних метаболітів	Біологічна активність	Джерело посилання
1	2	3	4
Вторинні метаболіти <i>Actinobacteria</i>			
Резистоміцин	<i>Streptomyces corchorusii</i>	Інгібітор протеази ВІЧ-1	[9]
Гімаломіцини А і В	<i>Streptomyces</i> sp. B6921	Антимікробна	[10]
Бонактин	<i>Streptomyces</i> sp. BD21-2	Антибактеріальна	[11]
Тріоксакарцини	<i>Streptomyces ochrace;</i> <i>Streptomyces bottropensis</i>	Протипухлинна, протималарійна	[12]

Продовження таблиці 1.2.

1	2	3	4
Хінікоміцини А і В	<i>Streptomyces</i> sp.	Протипухлинна та антивірусна	[13]
Даріаміди	<i>Streptomyces</i> sp. CNQ-085	Цитотоксичні полікетиди	[14]
Резистофлавін	<i>Streptomyces chibaensis</i>	Антибактеріальна	[15]
Халькоміцин А та терпени	<i>Streptomyces</i> sp. M491	Антибактеріальна	[16]
Напірадіоміцин (стереоізомери С-16)	<i>Streptomyces antimycoticus</i>	Антибактеріальна	[17]
Оксогексаен і цефалаксин	<i>Streptomyces</i> sp. RM17; <i>Streptomyces</i> sp. RM42	Антибактеріальна	[18]
Цитрамідин А, цитрамідин В, цитреаглікон А	<i>Streptomyces caelestis</i>	Антибактеріальна	[19]
Спірамідин	<i>Streptomyces</i> sp. RMS6	Антибактеріальна	[20]
N-ізопентилтридеканамід	<i>Streptomyces labedae</i> ECR 77	Антибактеріальна	[21]
Ставроспорин	<i>Streptomyces champavatii</i> KV2	Антимікробна	[22]
Вторинні метаболіти <i>Bacillus</i> spp.			
Коагулін	<i>Bacillus coagulans</i>	Бактерицидна, бактеріолітична	[23]
Бактуруцин f4	<i>Bacillus thuringensis</i> sp.	Фугінцидна	[24]
Черейн	<i>Bacillus cereus</i>	Бактерицидна, бактеріолітична	[25]
Мегацин	<i>Bacillus megaterium</i>	Бактерицидна, бактеріолітична	[26]
Турицин S.	<i>Bacillus thuringensis</i>	Бактерицидна, бактеріолітична	[27]
Турицин CD19	<i>Bacillus thuringensis</i> DPC6431 <i>Bacillus anthracis</i>	Бактерицидна, бактеріолітична	[28]

Продовження таблиці

1	2	3	4
Галобакцилін 5b	<i>Bacillus licheniformis</i>	Гемолітична та цитотоксична	[29]
Баціломіцин	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FZB42 <i>Bacillus subtilis</i>	Антифунгальна та гемолітична	[30]
Бацілізоцин	<i>Bacillus subtilis</i>	Антифунгальна та антибактеріальна	[31]
Бацілізоцин 1	<i>Bacillus subtilis</i> 168, <i>Bacillus pumilus</i> <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> GSB272	Антифунгальна та антибактеріальна	[32]
Вторинні метаболіти <i>Pseudomonas</i> spp.			
Псевдомонін	<i>Pseudomonas stutzeri</i> KC	Конкурентне гальмування фітопатогенів	[33]
Ціаністий водень	<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i> P4	Антифунгальна	[34]
Вторинні метаболіти грибів			
Ловастатин	<i>Monascus ruber</i> <i>Aspergillus terreus</i>	Інгібітори ферментів	[35]
Лімонен і гуайол	<i>Trichoderma viride</i>	Антимікробна	[36]
Туберкулін	<i>Tubercularia</i> sp. TF5	Протираковий	[37]
Оксалін	<i>Penicillium raistricki</i>	Антиклітинна проліферація	[38]
Бензомальвін С	<i>Penicillium raistrickii</i> <i>Penicillium</i> sp. SC67	Протималарійна	[39]
Рокфортин С	<i>P. roquefort</i> ; <i>P. crustosum</i>	Нейротоксин	[40]
Правастатин	<i>Penicillium citrinum</i>	Зниження рівня холестерину	[41]

ня для життя організму. Хоча вторинні метаболіти походять від первинного метаболізму, вони не складають основний молекулярний скелет організму. Їх відсутність не відразу скорочує життя живих систем, проте виживання організму погіршується, а присутність спостерігаються у екологічно не вигідних видів у межах філогенетичної групи [43].

Різниця між первинним і вторинним метаболітом неоднозначна, оскільки багато проміжних метаболітів у первинному метаболізмі перекриваються з проміжними сполуками вторинних метаболітів [44]. Амінокислоти, хоча і вважаються продуктом первинного метаболізму, безумовно, також є вторинними метаболітами. Всупереч спостереженню, стерини є вторинними метаболітами, але вони є невід'ємною частиною багатьох структур клітини. Мозаїчний характер проміжних продуктів вказує на спільний біохімічний шлях для первинних та вторинних метаболітів [45]. Вторинні метаболіти служать буферною зоною, в яку можна перемістити надлишок вуглецю і азоту, утворюючи неактивну частину первинного метаболізму. Коли це потрібно, збережені вуглець і азот можуть повертатися до первинного метаболізму шляхом метаболічного розпаду вторинних метаболітів. Існує динамізм та тонкий баланс між діяльністю первинного та вторинного метаболізму (рис. 1.1.), на який впливає ріст, тканинна диференціація, розвиток клітини, а також зовнішній тиск [46].

Отже, вторинні метаболіти можна визначити як гетерогенну групу природних продуктів метаболізму, які не є необхідними для вегетативного росту організмів-продуцентів, але вони вважаються сполуками диференціації, що надають адаптаційні можливості, функціонуючи як сполуки захисту або сигнальні молекули в екологічних взаємодіях, симбіозі, транспорті металів, конкуренції тощо [46]. Багато вторинних метаболітів використовуються в медицині це антибіотики, інгібітори ферментів, імуномодулятори, протипухлинні засоби. Вони використовуються у харчовій промисловості та у сільському господарстві (пестициди, інсектициди, стимулятори росту тварин і рослин, препарати для підвищення екологічної конкуренції, симбіозу).

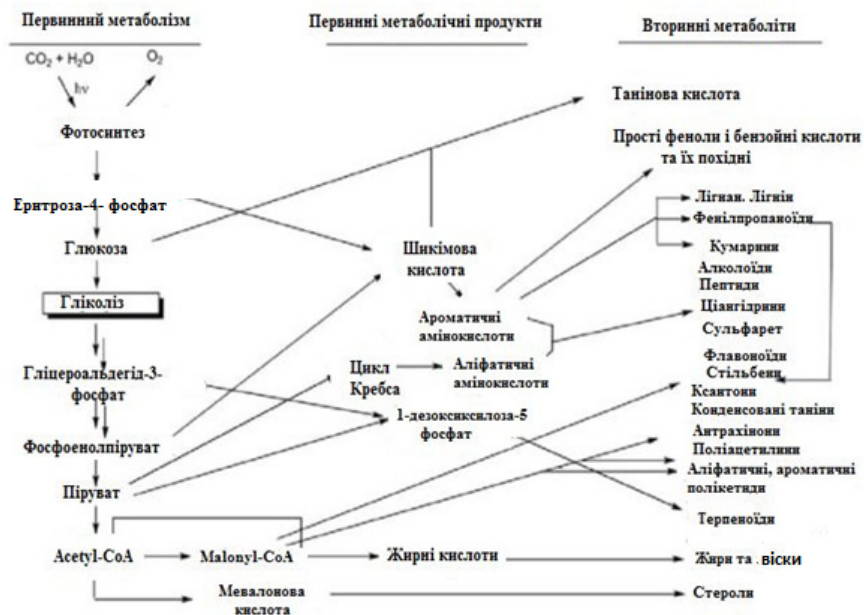


Рис 1.1. Схема первинного та вторинного метаболізму [46]

Застосування мікробних вторинних метаболітів.

Антибіотики. Першим відкритим антибіотиком був пеніцилін, який зробив революцію в лікуванні інфекційних хвороб [42]. З появою нових методів скринінгу та виділення були відкриті різноманітні молекули, що містять β -лактами [47] та інші типи антибіотиків. Описано близько 6000 антибіотиків, з них 4000 з актинобактерій. Бактерії родів *Bacillus*, *Pseudomonas*, міксобактерії, ціанобактерії, а також гриби є продуцентами більшості відомих антибіотиків.

Протипухлинні засоби. На вторинні метаболіти та їх похідні припадає більше 60% протипухлинних сполук. Антинеопластичні молекули, синтезуються актинобактеріями: актиноміцин D, антрацикліни (даунорубіцин, доксорубіцин, епірубіцин, пірарубіцин та валрубіцин), блеоміцин, мітозани (мітоміцин C), антраценони (мітраміцин, стрептозотозин та пентостатин), ендеїніни (каліхеаміцин), таксол та епотіоли [46].

Фармакологічні та нутрицевтичні засоби. Одним з величезних успіхів стало відкриття грибкових статинів, включаючи компактин, ловастатин, правастатин та інші, які діють як засоби, що знижують рівень холестерину. Ловастатин синтезується *Aspergillus terreus*. Велике значення в медицині мають імунодепресанти, такі як циклоспорин А, сиролімус (рапаміцин), такролімус та мофетилмікофенолат. Вони використовуються для трансплантації серця, печінки та нирок і тим самим не дають відторгатися пересаженому органу. Циклоспорин А виробляється грибом *Tolypocladium niveum*. Мофетил мікофенолати є напівсинтетичними продуктами відомого антибіотика, мікофенолової кислоти, яка синтезується грибами. Сиролімус і такролімус є вторинними метаболітами стрептоміцетів [41]. Метаболіти пробіотичних бактерій це засоби для контролю над збільшенням ваги, запобігання ожирінню, збільшення ситості, продовження ситості, зменшення споживання їжі, зменшення відкладення жиру, поліпшення енергетичного обміну, лікування та підвищення чутливості до інсуліну та лікування ожиріння.

Каротиноїди мікробного походження. Вони використовуються як харчові барвники, корм для риб, в косметичці та у якості антиоксидантів. Харчовим барвником, що широко використовується, є каротин, отриманий з *Blakesleatри spora*, *Dunaliella salina*. Лікопін з *Blakesleatри spora* та *Streptomyces chrestomyceticus subsp. rubescens*. Астаксантин синтезується *Xanthophyllomyces dendrorhous* – використовується як корм для риб. Астаксантин, лютеїн, β-каротин, зеаксантин та кантаксантин використовуються як нутрицевтики через їх чудові антиоксидантні властивості. Докозагексаєнова кислота, що використовується в дитячих сумішах як харчова добавка, синтезується мікроводоростю *Schizochytrium* spp. [44].

Ферменти та інгібітори ферментів. Щорічні продажі ферментів, вироблених з мікроорганізмів, складають 2,3 млрд. доларів. Ці ферменти широко застосовуються у м'ясопродуктах (34%), харчових продуктах (27%), сільському господарстві та кормах (16%), текстилі (10%), а також при виробленні шкіри, синтезу хімікатів та виробництві паперу (10%). Щорічний продаж протеазного субтилізіну, що використовується у м'ясопродуктах

собах, становить 200 млн. дол. Ізомераза глюкози стрептоміцетів використовується для ізомеризації D-глюкози до D-фруктози, а також для виробництва кукурудзяного сиропу з високим вмістом фруктози [43]. Найважливішими інгібіторами ферментів є клавуланова кислота, яка синтезується *Streptomyces clavuligerus* і є інгібітором β -лактамаз. Інгібітори амілаз перешкоджають утилізації харчових крохмалів в організмі, тому їх можна використовувати для схуднення [2].

Сільськогосподарська продукція та ветеринарні продукти. Вторинні метаболіти знаходять широке застосування у сфері сільськогосподарства та у ветеринарії. Касугаміцин та поліоксини використовуються як біопестициди. В якості біоінсектицидів використовуються кристали *Bacillus thuringiensis*, ніккоміцин та спінозини, у якості біогербіцидів – біалафос, івермектин та дорамектин - цеантигельмінтні та ендектоцидні засоби проти глистів, вошей, кліщів. Вторинний метаболіт гіберелін є гормоном росту [2].

Використання вторинних метаболітів мікроорганізмів дає можливість отримати нові ефективні сполуки, які володіють протипухлинними, серцево-судинними, цитотоксичними, антиаутоімунними, антибактеріальними, противірусними активностями. Вторинні метаболіти є одним з основних засобів росту та захисту рослин.

Список використаної літератури

1. *McMurry J. E.* Organic chemistry with biological applications / In: Secondary Metabolites: An Introduction to Natural Products Chemistry. Stamford, USA: Cengage Learning Ltd; 2015. P. 1016–1046.
2. *Demain A. L.* Pharmaceutically active secondary metabolites of microorganisms // Appl. Microbiol. Biotech. – 1999. – V. 52 (4). – P. 455–463.
3. *Bérady J.* Bioactive microbial metabolites // J. Antibio. – 2005. – V. 58 (1). – P. 1–26.
4. *Feher M., Schmidt J. M.* Property distribution: Difference between drugs, natural products and molecules from combinatorial chemistry // J. Chem. Inf. Comp. Sci. – 2003. – V. 43 (1). – P. 218–227.

5. Renner M.K., Shen Y.C., Cheng X.C. et al. Cyclomarins A-C, new anti-inflammatory cyclic peptides produced by a marine bacterium (*Streptomyces* sp.) // J. Amer. Chem. Soc. – 1999. – V. 121 (49). – P. 11273–11276.
6. Moore B. S., Trischman J. A., Seng D. et al. Salinamides, anti-inflammatory depsipeptides from a marine *Streptomyces* // J. Org. Chem. – 1999. – V. 64 (4) –P. 1145–1150.
7. Thirumurugan D., Cholarajan A., Raja S. S. S., Vijayakumar R. An Introductory Chapter: Secondary Metabolites/ Secondary Metabolites. 2018. – P. 1–20.
8. Shiono Y., Shiono N., Seo S. et al. Effects of polyphenolic anthrone derivatives resistomycin and hypericin on apoptois in human megakaryoblastic leukemia CMK-7cell2 // Zeit. Natur. – 2002 – V. 57 (9–10). – P. 923–929.
9. Maskey R. P., Helmke E., Laatsch H. Himalomycin A and B: Isolation and structure elucidation of a new fridamycin type antibiotics from a marine *Streptomyces* isolate // J. Antibio. – 2003. –V. 56 (11). – P. 942–949.
10. Schumacher R.W., Talmage S.C., Miller S.A. et al. Isolation and structure determination of an antimicrobial ester from a marine-derived bacterium // J. Nat. Prod. – 2003. – V. 66 (9). – P. 1291–1293.
11. Maskey R.P., Helmke E., Kayser O. et al. Anticancer and antibacterial trioxacarcins with high anti-malarial activity from a marine *Streptomyces* and their absolute stereochemistry // J. Antibio. – 2004. – V. 57 (12). – P. 771–779.
12. Li F., Maskey R.P., Qin S. et al. Chinikomycins A and B isolation, structure elucidation and biological activity of novel antibiotics from a marine *Streptomyces* sp. isolate MO45 // J. Nat. Prod. – 2005. – V. 68 (1). – P. 349–353.
13. Asolkar R.N., Jensen P.R., Kauffman C.A., Fenical W. Daryamides A-C, weakly cytotoxic polyketides from a marine-derived actinomycete of the genus *Streptomyces* strain CNQ-085 // J. Nat. Prod. –2006. – V. 69(12). – P. 1756–1759.
14. Gorajana A.M.V., Vinjamuri S., Kurada B.V. et al. Resistoflavine cytotoxic compound from a marine actinomycete, *Streptomyces*

- chibaensis* AUBN (1)/7 // Microbiol. Res. – 2007. – V. 162 (4). – P. 322–327.
15. Wu S.J., Fotso S., Li F. *Amorphane sesquiterpenes* from a marine *Streptomyces* sp // J. Nat. Prod. – 2007. – V. 70 (2). – P. 304–306.
 16. Motohashi K., Sue M., Furihata K. et al. Terpenoids produced by actinomycetes: Napyradiomycins from *Streptomyces antimycoticus* NT17 // J. Nat. Prod. – 2008. – V. 71 (4). – P. 595–601.
 17. Remya M., Vijayakumar R. Isolation and characterization of marine antagonistic actinomycetes from west coast of India // Facta Universitatis, Series: Med. Biol. – 2008. – V. 15 (1). – P. 13–19.
 18. Liu L., Xu Y., Han Z. et al. Four new antibacterial xanthenes from the marine derived actinomycetes *Streptomyces caelestis* // Mar. Drug. – V. 2012. – V.10 (11). – P. 2571–2583.
 19. Vijayakumar R., Malathi R. Isolation, characterization and antibacterial activity of actinobacteria from dye polluted soils of Tirupur // Facta Universitatis, Series: Med. Biol. – 2014. – V. 16 (1). – P.43–48.
 20. Thirumurugan D., Vijayakumar R. Characterization and structure elucidation of antibacterial compound of *Streptomyces* sp. ECR77 isolated from East Coast of India // Curr. Microbiol. – 2015. – V. 70 (5). – P.745–755.
 21. Cholarajan A., Vijayakumar R. Screening of antibiotic (staurosporine) producing actinobacteria (*Streptomyces* sp.) from terrestrial environment soil of Thanjavur district, Tamilnadu, India // Eur. J. Biomed. Pharm. Sci. – 2016. – V. 3 (3). – P. 480–493.
 22. Le Marrec C., Hyronimus B., Bressollier P. et al. Biochemical and genetic characterization of coagulins, a new antilisterial bacteriocin in the pediocin family of bacteriocins, produced by *Bacillus coagulans* I4 // Appl. Environ. Microbiol. – 2000. – V. 66 (12). – P. 5213–5220.
 23. Kamoun F., Mejdoub H., Aouissaoui H. et al. Purification, amino acid sequence and characterization of bacthuricin F4, a new bacteriocin produced by *Bacillus thuringiensis* // J. Appl. Microbiol. – 2005. – V. 98 (4). – P.881–888.
 24. Bizani D., Dominguez A.P.M., Brandelli A. Purification and partial chemical characterization of the antimicrobial peptide cerein 8A // Lett. Appl. Microbiol. – 2005. – V. 41 (3). – P. 269–273.

25. Lisboa M. P., Bonatto D., Bizani D. et al. Characterization of a bacteriocin-like substance produced by *Bacillus amyloliquefaciens* isolated from the Brazilian Atlantic forest // Int. Microbiol. – 2006. – V. 9 (1). – P. 111–118.
26. Chehimi S., Delalande F., Sable S. et al. Purification and partial amino acid sequence of thuricin S, a new anti- *Listeria* bacteriocin from *Bacillus thuringiensis* // Can. J. Microbiol. – 2007. – V. 53 (2). – P. 284–290.
27. Rea M. C., Sit C. S., Clayton E. et al. Thuricin CD, a posttranslationally modified bacteriocin with a narrow spectrum of activity against *Clostridium difficile* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2010. – V. 107 (20). – P. 9352–9357.
28. Kalinovskaya N., Kuznetsova T. A., Ivanova E. P. et al. Characterization of surfactin-like cyclic depsipeptides synthesized by *Bacillus pumilus* from ascidian *Halocynthia aurantium* // Mar. Biotechnol. – 2002. – V. 4(1). – P. 179–189.
29. Ramarathnam R., Bo S., Chem Y. Molecular and biochemical detection of fengycin and bacillomycin D producing *Bacillus* spp., antagonistic to fungal pathogens of canola and wheat // Can. J. Microbiol. – 2007. – V. 53 (7). – P. 901–911.
30. Tamehiro N., Okamoto-Hosoya Y., Okamoto S. et al. Bacilysoicin, a novel phospholipid antibiotic produced by *Bacillus subtilis* 168 // Antimicrob. Agent. Chemother. – 2002. – V. 46 (3). – P. 315–320.
31. Steinborn G., Hajirezaei M. R., Hofemeister J. Bac genes for recombinant bacilysin and anticapsin production in *Bacillus* host strains // Arch. Microbiol. – 2005. – V. 183 (1). – P. 71–79.
32. Lewis T. A., Cortese M. S., Sebat J. L. et al. A *Pseudomonas stutzeri* gene cluster encoding biosynthesis of the CCl₄-dechlorination agent pyridine-2, 6-bis (thiocarboxylic acid) // Environ. Microbiol. – 2000. – V. 2 (3). – P. 407–416.
33. Ayyadurai N., Ravindra Naik P., Sakthivel N. Functional characterization of antagonistic fluorescent pseudomonads associated with rhizospheric soil of rice (*Oryza sativa* L.) // J. Microbiol. Biotech. – 2007. – V. 17 (6). – P. 919–927.
34. Dewick P.M. Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach. 3rd ed. Chichester, UK: John Wiley and Sons, Ltd; 2009. – 546 p.

35. Awad N. E., Kassem H. A., Hamed M.A. et al. Isolation and characterization of the bioactive metabolites from the soil derived fungus *Trichoderma viride* // Mycology. – 2018. – V. 9 (1). – P. 70–80.
36. Xu R., Wang M. Z., Lu C.H. et al. Tuberculariols A–C, new sesquiterpenes from the mutant strain M-741 of *Tubercularia* sp. TF 5 // Helvetica Chim. Acta. – 2009. – V. 92 (8). – P. 1514–1519.
37. Sumarah M. W., Kesting J. R., Sorensen D., Miller J. D. Anti-fungal metabolites from fungal endophytes of *Pinus strobes* // Phytochem. – 2011. – V. 72 (14–15). – P. 1833–1837.
38. Stierle A. A., Stierle D. B. Bioactive compounds from four endophytic *Penicillium* sp. isolated from the Northwest Pacific yew tree. In: Atta-Ur-Rahman, editor. Bioactive Natural Products. Vol. 24. Amsterdam: Elsevier Science Publishers; 2000. P. 933–978.
39. Kim S., Shin D. S., Lee T., Oh K. B. Periconicins, two new fusicoccane diterpenes produced by an endophytic fungus *Periconia* sp. with antibacterial activity // J. Nat. Prod. – 2004. – V. 67 (3). – P. 448–450.
40. Gonzalez J. B., Fernandez F. J., Tomasini A. Microbial secondary metabolites production and strain improvement // Ind. J. Biotech. – 2003. – V. 2 (2). – P.322–333.
41. Demain A. L., Fang A. The natural functions of secondary metabolites // Adv. Biochem. Engin. Biotech. – 2000. – V. 69. – P. 1–39.
42. Tiwari R, Rana C.S. Plant secondary metabolites: A review // Int. J. Engin. Res. Gen. Sci. – 2015. – V. 3 (5). – P. 661–670.
43. Memelink J. Engineering the plant cell factory for secondary metabolite production // Trans. Res. – 2000. – V. 9 (1). – P. 323–343.
44. Yeoman M. M, Yeoman C. L. Tansley review no. 90, manipulating secondary metabolism in cultured plant cells // New Phytologist. – 1996. – V. 134 (4). – P. 553–569.
45. Collin H. A. Secondary product formation in plant tissue cultures // Plant Growth Reg. – 2001. – V. 34 (1). – P. 119–134.
46. Wells V. D., Wong E .S., Murray B. E. et al. Infections due to beta-lactamase-producing, high-level gentamicin-resistant *Enterococcus faecalis* // Ann. Inter. Med. – 1992. – V. 116 (2). – P. 285–292.

ГЛАВА 2. ХАРАКТЕРИСТИКА ВТОРИННИХ МЕТАБОЛІТІВ МОРСЬКИХ МІКРООРГАНІЗМІВ

Найчастіші більшість біоактивних сполук виділяють з наземних мікроорганізмів [1], але величезне біорізноманіття присутнє в морських екосистемах, тому пошук нових сполук з різними біологічними властивостями є актуальним. За останніми даними в морському середовищі існують 178000 морських видів [2]. Таким чином, біорізноманіття океану становить 50% біорізноманіття всієї земної кулі, що робить морські мікроорганізми перспективним джерелом нових біологічно активних сполук [3].

Морське середовище містить багато різних екоотопів, що характеризуються широким діапазоном температур, гідростатичним тиском та рівнем солоності. Щоб вижити в таких унікальних екосистемах, морські мікроорганізми розробили різні механізми адаптації, включаючи виробництво специфічних біомолекул. Тому морські мікроорганізми володіють великим потенціалом синтезу специфічних біоактивних молекул [4]. Морські бактерії здатні синтезувати активні біомолекули з різною біологічною активністю (протипухлинну, протизапальну, протидіабетичну та антибіотичну) [5].

2.1. Біоактивні вторинні метаболіти морських бактерій

Основні види бактерій, що виявлені в морській воді, належать до *Pseudomonas sp.*, *Vibrio sp.*, *Achromobacter sp.*, *Flavobacterium sp.* та *Micrococcus sp.* [6]. Хоча, досі рід *Streptomyces* був основним постачальником нових вторинних метаболітів [7]. Таким чином, морські бактерії є, мабуть, найбільш перспективними мікроорганізмами для виявлення нових вторинних метаболітів з антибактеріальними властивостями [8].

Бактерії у морському середовищі знаходяться у донних відкладеннях, морських водоростях, губках, коралових екосистемах, асцидіях, морських безхребетних та морських хребетних у якості ендо- екзосимбіонтів та паразитів.

Незважаючи на те, що мікроорганізми були виділені з різних морських джерел, відкладенням і надалі приділяється найбільша

увага, можливо, через їх схожість із наземними ґрунтами та тому, що вони є хорошим джерелом біоактивних метаболітів [9].

Деякі морські бактерії здатні синтезувати 24-членні кільцеві лактони, що виявляють антибактеріальну, протиракову та противірусну активності [10]. За своєю хімічною структурою існують 12 різних макролактонів А-Л (рис.2.1.). Макролактон А виявляє антибактеріальну активність, цитотоксичну активність щодо ракових клітин меланоми В16-Ф10. та противірусну активність проти простого герпесу та ВІЛ. Макролактон А, що був виділений з культуральної рідини *Actinomadura* sp., *Bacillus* sp., захищав нейрони [11, 12]. Антибактеріальна активність макролактинів може бути зв'язана з інгібуванням транспортного ланцюга синтезу АТФази [13]. Противірусна активність макролактонів, ймовірно, може бути зв'язана з інгібуванням активності фосфатази, які залучені до регуляції транскрипції ВІЛ [13]. Макролактони G-M, які були виділені з культури *Bacillus* sp. PP19-H3, володіють антибактеріальною активністю [14]. Ці макролактони були більш ефективними проти *Staphylococcus aureus*, ніж проти *Bacillus subtilis*, але не були активними проти *Escherichia coli* та *Salinivibrio costicola*. На основі даних про антибактеріальну активність цих макролактонів були припущено що ОН група при С (15) може відігравати важливу роль в антибактеріальній активності макролактонів [14].

Макролактон N, синтезований *Bacillus subtilis*, був інгібітором пептидної деформилази [15]. Ця сполука є першим макролактоном, у якого при С (13) знаходиться гідроксил. Ця сполука була активною проти *Escherichia coli*. 7-О-сукцинілмакролактон А та 7-О-сукцинілмакролактон разом з макролактоном F були виділені з морської бактерії *Bacillus* sp. Sc026 [16]. Ці дві нові сполуки, подібні до макролактонів А та F, відповідно. Зони інгібування цих сполук проти *Bacillus subtilis* становила 9 та 10 мм., а проти *Staphylococcus aureus* 8 та 24 мм, відповідно. 7-О-малонілмакролактон А був новою антибіотичною сполукою, виділеною з *Bacillus subtilis*. Цю бактерію виділили з морського ґрунту [17]. 7-О-малонілмакролактон А виявив бактеріостатичний ефект проти мультирезистентних грампозитивних бактерій, зокрема стійкого до метициліну *Staphylococcus aureus* та резистентного до

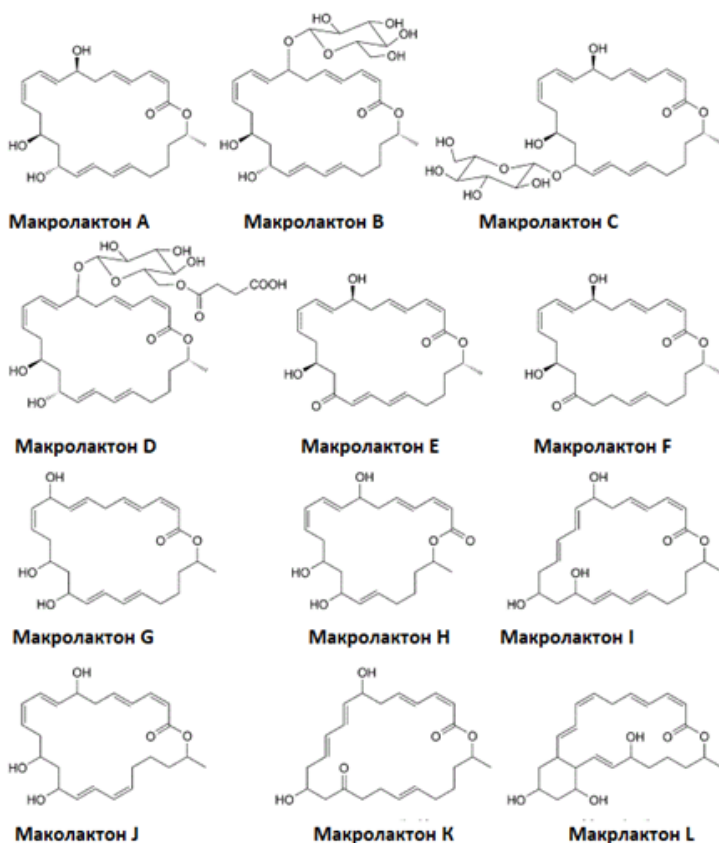


Рис. 2.1. Макролактони А – L [10]

ванкоміцину *Enterococcus faecalis*. У 2006 році був виділений з *Bacillus subtilis* макролактон S [18], який мав антибактеріальну активність (рис.2.2.).

З донних відкладень виділено *Streptomyces sp.*, який синтезує фіхіміцини А-С та етаміцин А. Вони були активні проти трьох штамів *Staphylococcus aureus*, стійких до метициліну [19]. З актиноміцету *Nocardopsis dassonvillei*, ізольованого з морських мілководних донних відкладень, отримано два рідкісних неозидоміцини це кахакамідин А і В. Кахакамідин А виявляє антибактеріальну активність проти *Bacillus subtilis* [20].

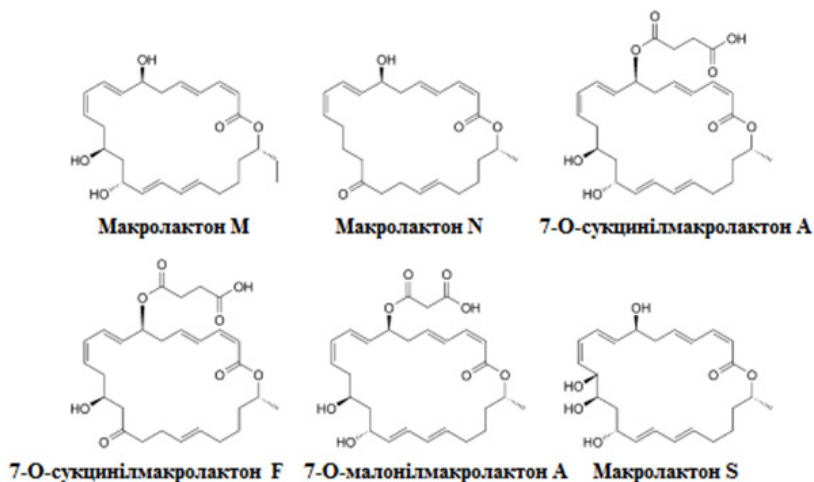


Рис. 2.2. Макролактони М – S [10]

З морського середовища у берегів Мексики ізолювано бактерії *Bacillus aerius*, *B. oryzicola*, *B. safensis*, *B. boroniphilus*, *B. altitudinis* та *Virgibacillus senegalensis*. Їх вторинні метаболіти були активними проти *Staphylococcus aureus* та *Vibrio parahaemolyticus* [21].

При спільному культивуванні морських штамів *Streptomyces sp.* і *Bacillus sp.*, ізолювані з мулистого заболоченого місця виділено та охарактеризовано вторинний метаболіт, який отримав назву дентигеруміцин Е, який був активний проти клітинної моделі карциному людини (рис.2.3.) [22].

З морського середовища виділено дві бактерії *Janibacter melonis* та *Pseudomonas stutzeri*, які синтезують антиоксиданти [23].

Морська актинобактерія *Streptomyces sp.* S2A, ізолювана з зразків морських донних відкладень, синтезує інгібітор активності α -глюкозидази. В якості стандарту використовували гіпоглікемічний лікарський засіб, інгібітор α -глюкозидази, що гальмує перетравлювання і всмоктування вуглеводів в тонкій кишці і, як наслідок, зменшує концентрацію глюкози в крові після вживання акарбозу. Значення IC₅₀ екстракту для α -глюкозидази та α -аміла-

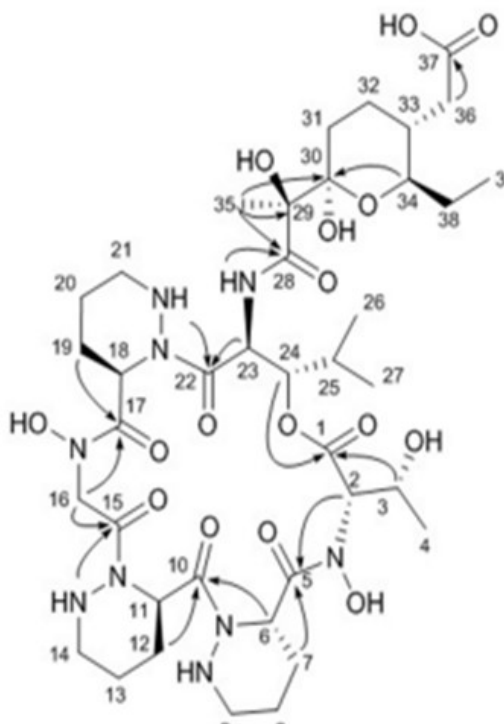


Рис. 2.3. Дентигеруміцин Е [22]

зи становила 21,17 мкг/мл, тоді як IC₅₀ акарбози – 15,47 мкг/мл [24]. Очищення етилацетатного екстракту дозволило за допомогою фізико-хімічних методів встановити структуру вторинного метаболіту (рис.2.4.) піроло[1-а]піразин-1,4-дион-гексагідро-3-(2-метилпропіл).

З морського мулу була виділена та ідентифікована актинобактерія, *Streptomyces sp.* ZZ745, яка синтезувала п'ять аналогів багреміцину, у тому числі два нових (рис. 2.5.). Ці два нових аналогів виявили антибактеріальну активність проти *E. coli* [25].

Екстракт з морської бактерії *Streptomyces sp.* був активним проти патогенних бактерій, таких як, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* та *Enterococcus faecium*. Основними компонентами екстракту були 3-метилпіри-

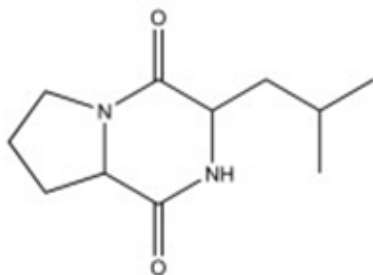


Рис. 2.4. Піроло[1-а]піразин-1,4-дион-гексагідро-3-(2-метилпропіл)
[24]

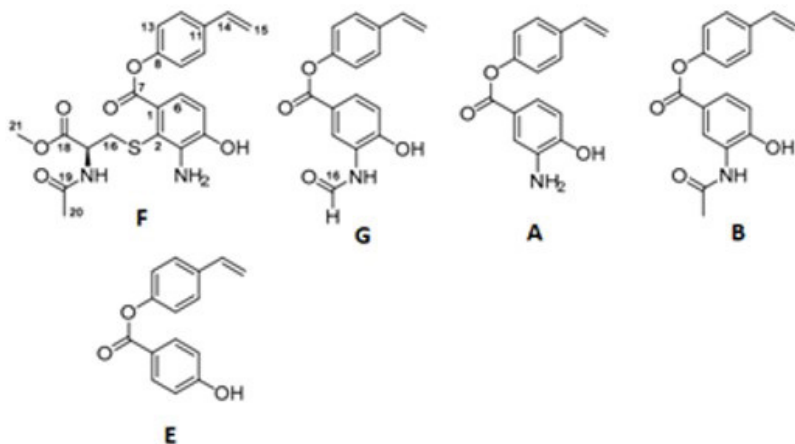


Рис. 2.5. Структури баргроміцинів А, В, Е, F, G [25]

дазин, н-гексадеканова кислота, індазол-4-он, октадеканова кислота та 3а-метил-6-(4-метилфеніл) [5].

Метанольний екстракт з морської грамнегативної бактерії *Novosphingobium sp.* PP1Y виявив антиоксидантну активність [26].

З морських відкладень виділена та ідентифікована бактерія *Verrucosipora sp.* MS100137, з якої виділені та охарактеризовані шість відомих аналогів абіссоміцину та проксиміцину і новий аналог абіссоміцину, що проявили активність проти вірусу грипу А [27].

З морської *Pseudoalteromonas phenolica* O-BC30 було виділено нову антибіотичну сполуку 2,2',3-трибромофеніл-4,4'-дикарбонову кислоту. Ця сполука проявляє свою активність проти кількох клінічних штамів *Staphylococcus aureus*, які резистентні до дії метициліну. Також висока антибактеріальна активність виявляється проти *Bacillus subtilis* та *Enterococcus serolicida* [28]. З морської *Streptomyces* sp. BCC45596 виділені нові похідні С-глікозильованого бенз[α]антрахінону це урдаміцинон-Е, урдаміцинон-Г та дегідроксиаквамідин. Ці сполуки виявляють потужну протимікобактеріальну активність [29]. Морський актиноміцет *Nocardiothrips dasonvillei* HR10-5, синтезує три нових похідних α-піронів, це нокапірони Е-Г, які виявляють антимікробну активність щодо *Bacillus subtilis* [30]. Морська ковзна бактерія *Rapidithrix* sp. синтезує полікетидні, нерибосомні пептидні антибіотики, аріакеміцини А та В, які вибірково пригнічують ріст грампозитивних бактерій [31].

2.1.1. Вторинні метаболіти ціанобактерій

Вторинні метаболіти часто виробляються ціанобактеріями у відповідь на біотичний або абіотичний стрес у навколишньому середовищі, забезпечуючи захист та сприяють виживанню, що дає перевагу перед іншими видами [32, 33]. Завдяки своїй здатності виживати в різноманітних середовищах, ціанобактерії є багатим джерелом вторинних метаболітів. Залежно від стресового середовища можуть бути отримані різні комплекси вторинних метаболітів. Ці групи метаболітів включають: пептиди, полікетиди, алкалоїди, терпеноїди та УФ-поглинаючі хімічні структури (рис. 2.6.). Відповідно, вони мають широкий спектр функцій захисту клітин, таких як захист від хижаків, від хімічних сполук, від УФ та сонячного випромінювання та є антиоксидантами. Ці властивості можна використовувати в промислових біотехнологіях як харчові, косметичні та фармацевтичні засоби.

У ціанобактерій доволі часто вторинними метаболітами є нерибосомні пептиди. Вони синтезуються за допомогою спеціалізованих нерибосомних пептидсинтез. Цей мультиферментний комплекс містить модулі, які відповідають за інтеграцію певних амінокислот у пептидні ланцюги.

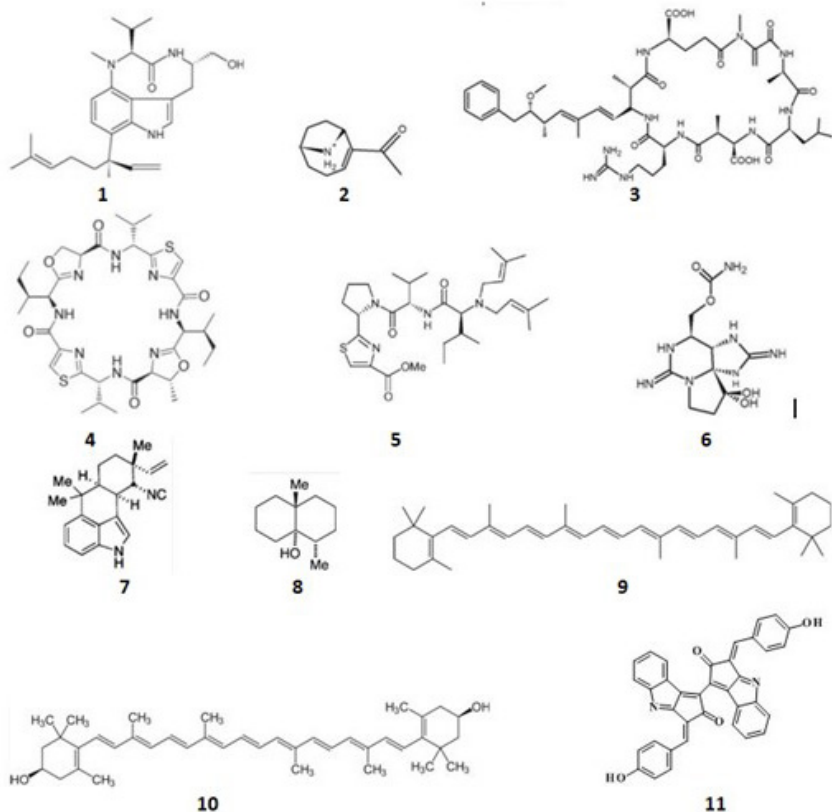


Рис. 2.6. Хімічні структури різноманітних вторинних метаболітів; лінгб'ятоксин (1), анатоксин (2), мікроцистин-ЛР (3), пателамід (4), аеругінозамід (5), сакситоксин (6), гапаліндол (7), геосмін (8), β -каротин (9), зеаксантин (10) і сцитонемін (11) [35]

Ці модулі складаються з домену аденилування, пептидного домену носія та домену конденсації, який включає протеїногенні та непротеїногенні амінокислоти. Інші домени також можуть бути присутніми для подальших модифікацій, таких як N-метилування, епімеризація та циклізація амінокислот, що створює складні хімічні речовини [34]. Лінгб'ятоксини, такі як

лінгб'ятоксин-А (рис.2.6.), синтезуються за допомогою мультиферментного комплексу нерибосомних пептидсинтетаз у *Lyngbya majuscula* і складаються з кільця індолактаму та амінокислот L-валіну, L-триптофану та метіоніну [35]. Лінгб'ятоксин-А це дерматоксин та викликає виникнення пухлини шляхом активації протеїнкінази С [36].

Іншим великим класом вторинних метаболітів, виявлених у ціанобактеріях, є полікетиди, які синтезуються з ацетил-КоА за допомогою полікетидсинтетаз. Мультиензимний комплекс синтезу полікетидів складається з домену ацилтрансферази, домену білка ацильного носія та домену кетосинтетази, а також додаткових доменів для подальшої модифікації [37]. Нейротоксин анатоксин (рис.2.6) від *Anabaena sp.* незворотно зв'язується з нікотиновими ацетилхоліновими рецепторами і синтезується з L-проліну за допомогою трьох доменів мультиензимного комплексу [34].

Мікроцистин-LR (рис. 2.6.) синтезується з використанням мультиферментних модулів пептидсинтетаз та полікетидсинтетаз. Ця сполука має цитотоксичну активність і використовується для лікування раку [38].

Рибосомні пептиди синтезуються на рибосомі і використовують лише протеїногенні амінокислоти. Вони подібні до нерибосомних пептидів через свої посттрансляційні модифікації. Переважаючою групою рибосомних пептидів, виявлених у ціанобактеріях, є ціанобактини. Це циклічні і рідше лінійні пептиди, утворені шляхом пострибосомного синтезу пептидів, які потім зазнають постмодифікації, щоб сформувати свої кінцеві структури [39]. Одні з таких представників є пателамід А (рис. 2.6.) та лінійний пептид аеругінозамід (рис. 2.6.) [34].

Алкалоїди – це природні сполуки, що містять азот, які зазвичай мають токсичні властивості. Приклад включає сакситоксини, також відомі як паралітичні отрути молюсків (рис. 2.6.), які є нейротоксинами, виявленими у деяких ціанобактерій [40].

Індольні алкалоїди – це клас алкалоїдів, що містять індольний фрагмент, такий як гапаліндоли (гапаліндол-А, рис. 2.6.), гапаліндолінони, амбігініни, фішамбігініни, рибаліндоли та вельвіндідолінони, які зустрічаються лише у ціанобактеріях підрозділу V. Їх різноманітність зумовлена циклізацією, метилюван-

ням, оксигенацією та хлоруванням попередників терпену [41]. Гапаліндол, виділений з *Fischerella sp.* виявляв антибактеріальну активність проти грамнегативних та грампозитивних бактерій, таких як *Escherichia coli* ATCC25992 та *Staphylococcus aureus* ATCC25923 [38].

Широкий спектр ізопреноїдів (також відомих як терпеноїди) синтезуються ціанобактеріями, які мають багато можливих конфігурацій, що призводить до високої структурної різноманітності внаслідок модифікації шляхом циклізації, перебудови та окиснення [42].

Найменша група ізопреноїдів – це гемітерпени, які утворені з однієї одиниці ізопрену, що складається з п'яти вуглеців. Великою групою ізопреноїдів, виявлених у ціанобактеріях, є каротиноїди. Це тетратерпени, утворені від конденсації двох молекул геранілгеранілдифосфату [42]. Вони розташовані всередині клітинних мембран через їх гідрофобну природу. Цю групу метаболітів можна розділити на два класи: каротини, вуглеводневі каротиноїди, такі як β -каротин (рис. 2.6.) та ксантофіли, які є похідними вуглеводневих каротиноїдів, таких як зеаксантин (рис. 2.6.). Інші каротиноїди, які зазвичай зустрічаються в ціанобактеріях, – це ехіненон, кантаксантин та міксоксантофіл. У багатьох випадках індивідуальні каротиноїди можна вважати первинними, а не вторинними метаболітами через їх роль у фотосинтезі, однак інші каротиноїди більш конкретно беруть участь у фотозахисті та в антиоксидантному захисті, а тому потрапляють до категорії вторинних метаболітів [43].

Ціанобактерії виробляють найрізноманітніші токсичні метаболіти (табл. 2.1.), які чинять негативний вплив на цільових видів в їх оточуючих районах і називаються ціанотоксинами [44]. Ці токсини виявляються під час цвітіння ціанобактерій на застояних поверхневих водоймах. Цвітіння ціанобактерій включає одноклітинні *Microcystis* та ниткоподібну *Anabaena* та *Nostoc* [45].

Ціанотоксини це речовини, які мають різну хімічну структуру, включаючи рибосомні пептиди, нерибосомні пептиди, полікетидні алкалоїди та ліпополіцукри. Ці токсини можна класифікувати відповідно до їх біологічної дії: нейротоксини, викликають токсичну дію на нервову систему, гепатотоксини, виклика-

Таблиця 2.1.

Цитотоксини та їх біологічний ефект [31]

Цитотоксин	Біологічний ефект	Ціанобактерія
Мікроцистин	Гепатотоксин, пригнічує еукаріотичну фосфатазу (типи 1 і 2А)	<i>Microcystis</i> , <i>Anabaenopsis</i> , <i>Nostoc</i>
Нодуларин	Гепатотоксин, пригнічує еукаріотичну фосфатазу (типи 1 і 2А)	<i>Nodularia</i>
Сакситоксин	Нейротоксин зв'язується з Na ⁺ -каналами, що викликає блокування нейронної комунікації	<i>Aphanizomenon</i> , <i>Anabaena</i> , <i>Lyngbya</i>
Анатоксин	Нейротоксин незворотно зв'язується з нікотиновими ацетилхоліновими рецепторами	<i>Cylindrospermum</i> , <i>Planktothrix</i> , <i>Oscillatoria</i>
β-N-метиламін-L-аланін	Нейротоксин, пошкоджує рухові нейрони	Багато видів, включаючи <i>Anabaena</i> , <i>Nostoc</i>
Лінгб'ятоксин	Цитотоксин, зв'язуючись з протеїнкіназою C, сприяє розвитку пухлини	<i>Lyngbya majuscula</i>
Аплізіатоксини	Цитотоксин, зв'язуючись з протеїнкіназою C, сприяє розвитку пухлини	<i>Lyngbya majuscula</i>
Ліпополіцукри	Ендотоксин, подразник шкіри	<i>Microcystis</i> , <i>Anabaena</i> , <i>Spirulina</i> , <i>Oscillatoria</i>

ють токсичну дію на печінку, цитотоксини, викликають токсичну дію у клітинах, дерматоксини, викликають токсичну дію на шкіру [39]. Найбільш поширеними та потужними гепатотоксинами є циклічні пептиди мікроцистини, які синтезуються за допомогою мультиферментного комплексу нерибосомних пептидаз у *Microcystis*, *Anabaena*, *Planktothrix* та *Nostoc* [39].

Прикладом нейротоксину є непротеїногенна амінокислота, β-N-метиламін-L-аланін, яка може синтезуватися різноманітними ціанобактеріями [46]. Спочатку вона була ізольована з насіння

саговнику. Цей нейротоксин викликає нейродегенеративні захворювання, такі як бічний аміотрофічний склероз та комплекс деменції при паркінсонізмі [47].

Незважаючи на небезпеку для тварин, риб та людей, ці токсини мають потенційне застосування у якості біоцидів (фунгіциди, гербіциди та інсектициди) та фармацевтичних препаратів (протимікробні, протиракові, протівірусні та імунодепресанти) (табл. 2.1.) [39, 48].

Мікоспориноподібні амінокислоти – це група з близько 30 безбарвних, водорозчинних, низькомолекулярних молекул, які знаходяться переважно в цитозолі клітин і іноді зустрічаються глікозильовані структури, які знаходяться на зовнішній мембрані клітини у *Nostoc commune* [49]. Мікоспориноподібні амінокислоти мають високі максимуми поглинання в УФ-області між 310 і 365 нм [45], які забезпечують фотозахист без утворення активних форм кисню [50].

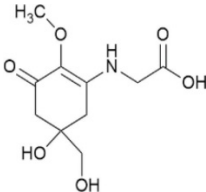
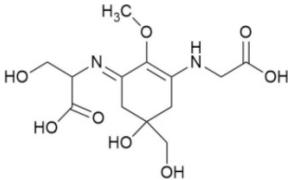
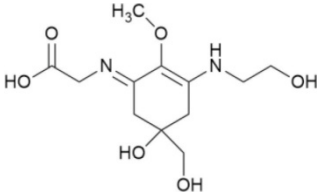
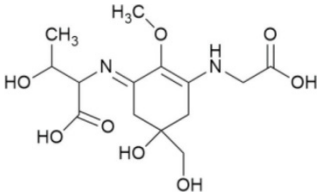
Вони складаються з циклогексенових або циклогексесмінінових хромофорів, кон'югованих із азотними замісниками амінокислот або іміноспиртів. Різноманітність поглинання обумовлена різними азотними замісниками та бічними радикалами (табл. 2.2.) [55, 56].

Іншим фотозахисним метаболітом, що продукується лише ціанобактеріями, є сцитонемін (рис. 2.6.), він розташований у позаклітинній поліцукридній оболонці ціанобактерій [43] з молекулярною масою 544 Д. За своєю структурою він гідрофобний алкалоїд, що складається з ідоліних і фенольних замісників, зазвичай пов'язаних подвійним зв'язком вуглець-вуглець. Він має максимум поглинання при 380 нм [51]. Сцитонемін має максимум поглинання 384 нм, що робить його чудовою фотозахисною сполукою, синтезується у відповідь на УФ-опромінювання і має дві основні форми: окиснений (коричневий) і відновлений (чорновий).

Вільні радикали утворюються у ціанобактерій під час фотосинтезу та дихання. Вільні радикали кисню є високореакційними молекулами і мають вищий ступінь окиснення хімічних молекул. Крім вільних радикалів кисню (супероксидний радикал O_2^- та гідроксильні радикали $OH^\bullet$) такими властивостями володіє перекис

Таблиця 2.2.

**Фотопротективні метаболіти - мікоспориноподібні амінокислоти
та сцитонемін [51, 53]**

ММА	Молекулярна структура	$\lambda_{\max}$ (nm)	Вид
Мікоспорин-гліцин		310	<i>Nostoc commune</i>
Шинорин		334	<i>Anabaena</i> sp
Астерина-330		330	<i>Gloeocapsa</i> sp.
Порфіра-334		334	<i>Nodularina baltica</i>

водню (H_2O_2). Вони пошкоджують клітинні мембрани та модифікують ендогенні молекули клітин [53].

Для запобігання токсичній дії вільних радикалів кисню у ціанобактерій існують різні механізми. Одним з механізмів є нефотохімічне гасіння енергії збудження через фотосистему II з використанням каротиноїду, зеаксантину. Другим механізмом є синтез ферментних та неферментних антиоксидантів. До ферментативних антиоксидантів відносяться супероксиддисмутази, каталази

та пероксидази, а до неферментативних антиоксидантів – каротиноїди, фікобіліпротеїни, токоферолі та аскорбінова кислота [54].

Каротиноїди поглинають світло в області 400–500 нм і руйнують високо реакційний синглетний радикал кисню [55].

Іншою групою антиоксидантів є фікобіліпротеїни. Вони присутні лише у ціанобактерій і використовуються переважно як основні антени для збирання світла, але також мають антиоксидантну роль у клітинах [56]. Це водорозчинні білки, які мають яскраве забарвлення завдяки ковалентно приєднаним лінійним тетрапіроловим простетичним групам, які називаються білінами. Вони разом з білком лінкером здатні утворювати гігантські надмолекулярні структури, відомі як фікобілісоми [57].

Деякі штами ціанобактерій вже використовуються у промисловості, наприклад, їстівні спіруліна та носток, які використовувалися як джерело їжі протягом тисяч років [58].

Спіруліна була добре досліджена щодо її застосування в промисловості. Її використовують, як їжу оскільки вона багата на білки, поліненасичені жирні кислоти (γ-лінолева кислота), антиоксиданти (фікоціанін і каротиноїди) та вітаміни [58].

Ціанобактерії широко досліджуються щодо їх застосування у медицині та косметичній галузі. Вони виявили широкий спектр потенційної протимікробної, протиракової, противірусної та протизапальної активностей [59]. Деякі відомі біологічно активні речовини перераховані нижче в табл. 2.2. [36].

Цитотоксичні метаболіти, що продукуються ціанобактеріями, зазвичай діють на тубулінові або актинові структури в еукаріотичних клітинах, що робить їх перспективними протипухлинними агентами [60].

Доластатини синтезуються у *Leptolyngbya* та *Simploca* sp. мультиферментних модулях пептидсинтез та полікетидсинтез. Вони порушують утворення мікротрубочок. Інші метаболіти ціанобактерій діють як інгібітори протеаз, такі як лінгб'ястатини і вони є похідними циклічних депсипептидів, які є інгібіторами еластази. Апратоксини, такі як апратоксин-а з *Lyngbya majuscula*, зупиняє клітинний цикл фази G1 та викликає апоптоз [60].

Таблиця 2.3.

**Потенційні можливості застосування вторинних метаболітів
ціанобактерій у фармацевтичній та косметичній промисловості [31]**

Вид	Біоактивний компонент	Біологічна активність	Посилання
<i>Spirulina platensis</i>	Спірулан γ-Ліноленова кислота Фікоціанін	Антивірусна	[32]
<i>Lyngbya majuscula</i>	Апратоксини	Протиракова	[48]
<i>Nostoc commune</i>	Ностодіон Каротиноїди Мікоспориноподібні амінокислоти	Антигрибкова Антиоксидантна Сонцезахистна	[32] [58] [39]
<i>Anabaena circinalis</i>	Анатоксин -А	Протизапальна	[36], [32]
<i>Fischerella muscicola</i>	Фішереллін Скітонемін	Антигрибкова Протизапальна, Антипроліферативна	[36] [39]

Антибактеріальні метаболіти, синтезовані ціанобактеріями, ефективні проти грамнегативних та грампозитивних бактерій. Встановлено, що клас індолових алкалоїдів гапаліндольного типу має антимікробну (бактерії, грибки) та протиальгальну активність [41].

Вторинні метаболіти ціанобактерій можна використовувати як натуральні інгредієнти в косметичній промисловості. Використання включає фотозахисні якості мікоспориноподібних амінокислот в сонцезахисних кремах для захисту шкіри від шкідливого УФ-випромінювання. Такі пігменти, як каротиноїди та фікобіліпротеїни, можна використовувати як природні барвники, а також як антиоксиданти для захисту шкіри від пошкоджень, викликаних ультрафіолетовим випромінюванням [36].

Інші потенційні можливості використання вторинних метаболітів ціанобактерій включають їх використання у харчовій та сільськогосподарській промисловості [36].

2.1.2. Вторинні метаболіти бактерій, виділених з морських водоростей та морських губок

Морські бактерії доволі часто можуть бути ендосимбіонтами інших організмів, так і екзосимбіонтами, які знаходяться на поверхні клітин морських організмів.

Численні вторинні метаболіти з морських безхребетних демонструють структурну схожість з метаболітами мікробного походження, що дозволяє припустити, що мікроорганізми є справжнім джерелом цих метаболітів або з беруть участь у їх біосинтезі [43]. Морські безхребетні, такі як губки, є багатим джерелом унікальних за структурою природних сполук, деякі з яких мають широкий спектр біологічної активності [62]. Губки містять багате різноманіття мікроорганізмів у своїх тканинах і в деяких випадках складають до 40% біомаси [63]. Багато губок є симбіотичними організмами, і вміст мікробних ендосимбіонтів у них може бути дуже великим в порівнянні за масою та обсягом з клітинами хазяїна. Понад 30% з 18 000 вторинних метаболітів, які виділені з морських організмів, отримані з губок. 75% вторинних метаболітів губок мали протипухлинні активності та запатентовані. Такі дані можуть свідчити про величезну різноманітність вторинних метаболітів у губках [64].

Ендофітні бактерії *Arthobacter*, *Micrococcus* sp., α -протеобактерії, γ -протеобактерії та *Bacillus* spp. виділені з двох видів губок *Aplysina aerophoba* та *Aplysina cavernicola*, виявляють антимікробну активність щодо грампозитивних та грамнегативних бактерій, штамів метицилін-резистентних *Staphylococcus aureus* та *Staphylococcus epidermis* [65].

Два епібіотичні штами бактерій, *Rhodococcus* spp. та *Pseudomonas* spp. були виділені з морської губки *Petrosia ficiformis*. Обидва ізоляти проявляють антимікробну активність [66]. Ендосимбіотна бактерія *Enterobacter* sp. TTAG, виділена з морської губки *Dysidea*. Її екстракти виявляють високу антибактеріальну активність щодо клінічних патогенних бактерій *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumonia* (рис.2.8.) [69]. Бактеріальні штами *Pseudomonas fluorescens* H40 та H41 та *P. aeruginosa* H51 виявляли антимікробну активність щодо грампозитивних та грамнегативних бактерій, включаючи

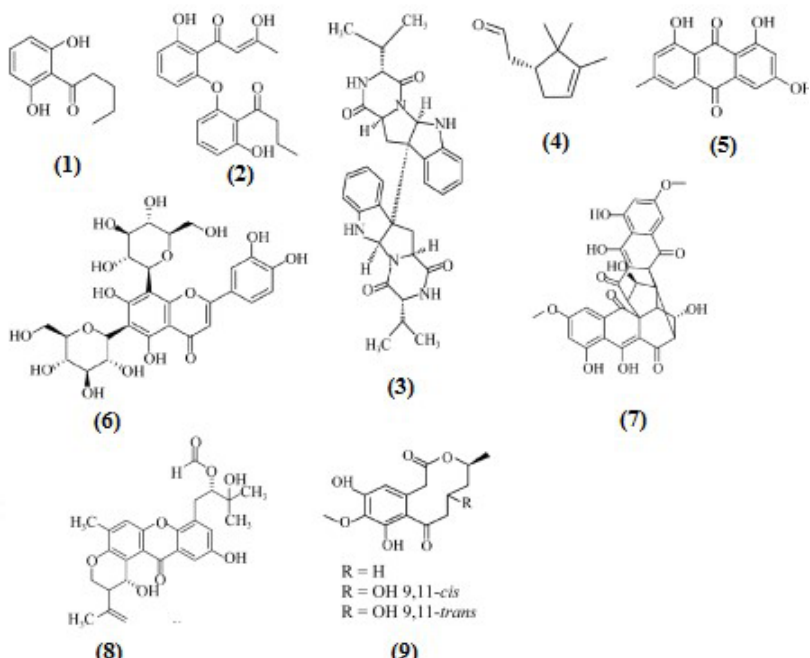


Рис. 2.8. Антимікробні сполуки бактерій, виділених з губок [69].
1 - (2,6-дигідроксифеніл)пентан-1-он; (2) (Z)-1-20-(2-бутирил-3-гідроксифенокси)-6-гідроксифеніл)-3-гідроксибут-2-ен-1-он;
(3) дикето-піперазин-димер, Єврокрістатин; (4) α -камфолоновий альдегід; (5) Лунатин; (6) Луценін-2 (7) Цитоскірин-А;
(8) Варіксантон; (9) Ксестодекалактони А -С

резистентний до ванкоміцину *Enterococcus faecium* та резистентну до різних препаратів *Klebsiella pneumoniae* [70].

Вторинні метаболіти морських бактерій також виділяють з морських як макроводоростей так і з мікроводоростей. З морських бактерій *Pseudomonas* sp. і *Pseudoalteromonas* sp., які асоційовані з морськими водоростями *Diginea* sp., були виділені циклічні тетрапептиди (рис.2.9.). Етанольні неочищені екстракти з цих бактерій проявляли антибактеріальну активність проти *Bacillus subtilis* та *Vibrio anguillarum*, але після очищення екстракту та виділення цих циклічних тетрапептидів ці одиночні сполуки не проявляли антибактеріальну активність. Це може бути пов'язано

з множинними конформаціями кільця через наявність транс або цис-амідних зв'язків (рис.2.9.) [71].

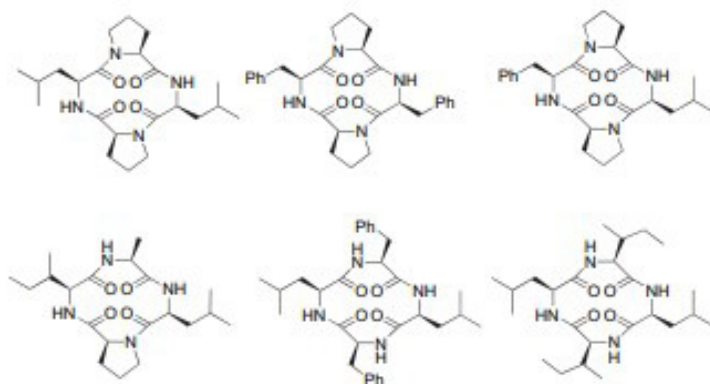


Рис. 2.9. Циклічні тетрапептиди з морських бактерій *Pseudomonas sp.* і *Pseudoalteromonas sp.* [71]

2.1.3. Вторинні метаболіти бактерій, виділених з коралових екосистем

Майже всі корали – це колоніальні організми, які складаються з сотень-сотень тисяч окремих тварин, які називаються поліпами [72, 73]. Коралові рифи є найрізноманітнішими з усіх морських екосистем, хоча більша частина цього різноманіття залишається нехарактерною [74]. Коралові рифи підтримують більше видів на одиницю площі, ніж будь-яке інше морське середовище, включаючи близько 4000 видів риб, 800 видів твердих коралів та сотні інших видів. Це біорізноманіття вважається ключем до пошуку нових ліків для 21 століття. Зараз розробляється багато препаратів із тварин і рослин коралових рифів, які можуть використовуватися для лікування раку, артрити, бактеріальних інфекцій людини, вірусів та інших захворювань. З морських коралів *Montipora aequituberculata* виділили жовтий пігментований ендоситний бактеріальний штам *Pseudoalteromonas flavipulchra*. Антибіограмний аналіз штаму показує потужну антибактеріальну активність проти резистентного до метацикліну *Staphylococcus*

aureus, яка опосередковується утворенням пероксиду водню завдяки активності L-амінооксидази [75].

2.1.4. Вторинні метаболіти бактерій, виділених з моховаток

Моховатки – один із найпоширеніших видів скам'янілостей морських тварин, а також вони є звичайними мешканцями морських та прісних вод. Моховатки майже повністю колоніальні [76] і є унікальними серед тварин, оскільки багато з них мають «одноразові тіла». Тіло тварини, яке називається «поліпідом», є лише частиною цілого організму, оскільки тіло живе в структурі, яка має назву «цистида» [77]. Основні бріозої *Bryozoa* представлені у всіх морях особинами двох класів – *Stenolaemata* та *Gymnolaemata* [78]. Три морські грамнегативні бактерії, флавобактерії, α - та γ -протеобактерії та грампозитивні актинобактерії були виділені з морських *Bryozoan* spp.. Приблизно 30% із 340 бактерій, виділених із зразків міозою, виявляють антибактеріальну активність. Загалом 50% штамів активні щодо грампозитивних індикаторних бактерій [79].

З морських бактерій виділено багато нових вторинних метаболітів, які володіють антимікробними якостями. Пошук вторинних метаболітів, синтезованих морськими бактеріями, може бути перспективним способом вирішення проблеми мікробної резистентності (табл. 2.4.) [80].

2.2. Вторинні метаболіти морських грибів та водоростей

Океани містять багато різних специфічних середовищ існування, що характеризуються широким діапазоном температур, гідростатичним тиском та рівнем солоності. Щоб вижити в таких унікальних екосистемах, морські гриби, як і інші мікроорганізми, розробили різні механізми адаптації, включаючи виробництво специфічних біомолекул. Морські гриби, володіють значним потенціалом синтезу біоактивних сполук, яких немає в наземному середовищі [4]. Перший антибіотик цефалоспорин С був отриманий з морського гриба в 1949 році, а з 1985 року з морських грибів було виявлено понад 15 000 нових метаболітів, багато з яких володіють різними біологічними активностями [7, 91].

Таблиця 2.4.

Антимікробні вторинні метаболіти з морських бактерій [82]

Морське джерело	Ідентифікована бактерія	Вторинний метаболіт	Антимікробна активність	Літературне джерело
1	2	3	4	5
Осад/вода	<i>Streptomyces</i> sp.	Фіджиміцини А -С та етаміцин А	Метицилін-резистентний <i>Staphylococcus aureus</i>	[19]
Осад/вода	<i>Nocardioopsis dassonvillei</i>	Кахакаміди А і В	<i>Bacillus subtilis</i>	[27]
Осад/вода	<i>Streptomyces</i> sp. (MB-M-0392)	Геронаміцин А	<i>Bacillus subtilis</i>	[82]
Осад/вода	<i>Halobacillus lotoralis</i> YS3106	Галоліторалін А (циклічний тексапептид), В і С (два циклічних тетрапептиду)	<i>Candida albicans</i> <i>Tricorphyton rubrum</i>	[83]
Осад/вода	<i>Pseudomonas</i> UJ-6 <i>Streptomyces</i> sp. Merv81	Езраміцин	<i>Escherichia coli</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Micrococcus luteus</i>	[84]
Осад/вода	<i>Marinispora</i> NPS12745	Лінаміцини А-Е	Метицилін-резистентний <i>Staphylococcus aureus</i> Чутливий до метициліну <i>Staphylococcus aureus</i> Багаторезистентний <i>Staphylococcus epidermidis</i>	[85]

Продовження таблиці 2.4.

1	2	3	4	5
			Чутливий до пеніциліну <i>Streptococcus pneumoniae</i> Пеніцилін-резистентний <i>Streptococcus pneumoniae</i> Ванкоміцин- резистентний <i>Enterococcus faecium</i>	
Осад/вода	<i>Microspora rosaria</i> SCSIO N160	Рабеломіцин і фанантровіридон	<i>Staphylococcus aureus</i>	[86]
Осад/вода	<i>Marinsspora</i> NPS008920	Ліроксазалідон А	Чутливий до метициліну <i>Staphylococcus aureus</i> Метицилін-резистентний <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Salmonella enteritidis</i> Чутливий до пеніциліну <i>Streptococcus pneumoniae</i> Пеніцилін-резистентний <i>Streptococcus pneumoniae</i>	[87]
Осад/вода	<i>Bacillus</i> sp. 091D194	Макролактон В	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	[88]
Водорості <i>Diginea</i> sp.	<i>Pseudomonas</i> sp. <i>Pseudoalteromonas</i> sp	Циклічні тетрапептиди	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Vibrio anguillarum</i>	[71]
Губки <i>Aplysina aerophoba</i> <i>Aplysina cavemicola</i>	<i>Micrococcus</i> sps., <i>Vibrio</i> sps., α - <i>Pseudoalteromonas</i> <i>Bacillus</i> sps.	-	Грампозитивні Грамнегативні Метицилін-резистентний <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i>	[67]

Продовження таблиці 2.4.

<i>Petrosia ficiiformis</i>	<i>Rhodococcus erythropolis</i> <i>Pseudomonas</i> sps	-	<i>Staphylococcus aureus</i> Грампозитивні бактерії	[68]
<i>Dysidea granulose</i>	<i>Enterobacter</i> sp. TTAG	Екстракти	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Salmonalla typhi</i> <i>Klebiesella pneumonia</i>	[87]
<i>Haliclona</i> sp.	<i>Pseudomonas fluorescens</i> H40, H41 <i>P. aeruginosa</i> H51	Екстракти	Ванкоміцин-резистентний <i>Enterococcus faecium</i> Мультирезистентна <i>Klebsiella pneumoniae</i>	[90]
<i>Montipora aequitubercu lata</i>	<i>Pseudoalteromonas flavipulchra</i>	-	Метицилін-резистентний <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Salmonella pneumonia</i> <i>Escherichia coli</i>	[75]
Не ідентифіковане	<i>Flavibacteria a.γ- Proteobacteria Actinobacteria</i>	-	<i>Escherichia coli</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Staphylococcus lentus</i> <i>Candida glabrata</i>	[79]

Морські гриби є основними деструкторами лігноцелюлозних та ароматичних сполук в морських середовищах існування [92]. Відповідно до їх здатності рости в морських середовищах існування, вони класифікуються як облігатні або факультативні морські гриби [93]. Перші швидко ростуть і спорулюються лише в морському або лиманному середовищі, тоді як другі, як правило, походять із наземного середовища і пристосовуються до морського середовища. Морські гриби пов'язані з водоростями, коралами та детритом морських макрофітів. Встановлено близько 1500 видів морських грибів, з яких 530 є облігантними організмами. Морські гриби належать до виду *Ascomycota* [94, 95], тоді гриби типу *Basidiomycota* незначно представлені у морському середовищі [96, 97].

Суворі фізичні та хімічні умови, що існують у морському середовищі, відповідають за розвиток певних шляхів метаболізму у морських грибів, яких немає у їх наземних аналогів [98]. Протягом останніх кількох десятиліть із морських грибів було отримано широкий спектр нових вторинних метаболітів, що мають різноманітний спектр фармакологічної активності [5].

2.2.1. Вторинні метаболіти морських грибів з донних відкладень

Гриб *Aspergillus protuberus* SP1, отриманий з морського донного відкладення з різних прибережних районів на півдні Індії, проявляє максимальну антимікробну активність щодо грампозитивних та грамнегативних патогенних бактерій [99].

Культура факультативного морського аскоміцета *Zopfiella latipes*, виділеного з ґрунту Індійського океану, є джерелом зопфіеламідів А та В (рис. 2.10.), які помірно активні щодо *Arthrobacter citreus*, *Bacillus brevis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Corynebacterium insidiosum*, *Micrococcus luteus*, *Mycobacterium phlei*, *Streptomyces* sp. та *Acinetobacter calcoaceticus* [100].

Галороселини А і В разом із 3-ацетил-7-гідрокси-5-метокси-3,4-диметил-3Н-ізобензофуран-1-оном були виділені з культуральної рідини морського гриба *Halorosellinia oceanica*. Похідне ізобензофуран-1-он проявляє помірну антимікобактеріальну активність [101].

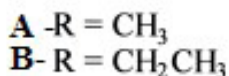
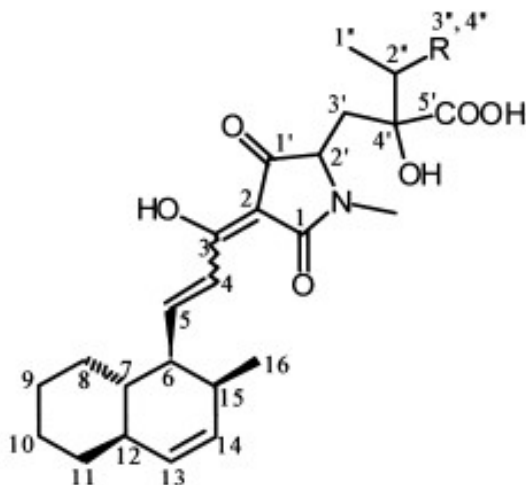


Рис. 2.10. Зопфіеламіди А та В [104]

Ниткоподібний морський гриб *Keissleriella* sp., виділений з морського відкладення, синтезує вторинний метаболіт 3, 6, 8-тригідрокси-3-[3,5-диметил-2-оксо-3(Е)-гептенил]-2,3-дигідронафтален-1(4Н)-он, який виявляє протигрибкову активність до *Candida albicans*, *Tricophyton rubrum* та *Aspergillus niger* [102]. Протигрибковий циклодекапептид, лобоцикламід В, був виділений *L. confervoides* з Багамських островів, володіє протигрибковою активністю проти стійкого до флуконазолу *Candida albicans* [103].

В останні роки були виділені нові види морських грибів це *Simplicillium lamellicola*, *Leptosphaerulina* sp., *Penicillium citrinum*, *Penicillium chrysogenum* та *Aspergillus sydowii* їх вторинні метаболіти виявили високу антимікробну активність проти бактерій [104].

Вторинний метаболіт поліцукру, який містить маннозу з морського гриба *Hansfordia sinuosae*, володіє протипухлинною

активністю проти культури клітин HeLa та клітин раку молочної залози MCF-7 [105].

З морського гриба *Diaporthe* sp. SCSIO 41011 виділено двадцять вісім ароматичних полікетидів, чотири з яких мають високу противірусну активність проти трьох різновидів вірусу грипу А. Ці сполуки були ідентифіковані як 2 песталотіопсон, 3,8-дигідрокси-6-метил-9-оксо-9Н-ксантен-1-карбоксилат та 5-лороізоротіурин [106].

З морського гриба *Chaetomium* sp. NA-S01-R1 виділені та ідентифіковані чотири нових хлоровано замісних сполуки, хаефілон С та хетовіридами А, В та С, які були активними проти *Vibrio rotiferianus* та *Vibrio vulnificus*. Крім того, хетовірид А виявляв цитотоксичну активність щодо клітин гепатиту G2, а хефілон С та хатевірид В були активні щодо клітин HeLa [107].

Етилацетатний екстракт з морського гриба *Penicillium chrysogenum* DXY-1, який ізольований з морських донних відкладень, виолдіє антикворумною активністю щодо *Chromobacterium violaceum* та *P. aeruginosa*. Використання методів фізико-хімічного аналізу дозволило встановити структуру вторинного метаболіту, це тирозол (рис. 2.11.).

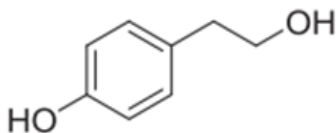


Рис. 2.11. Хімічна структура тирозолу [108]

При концентрації 0,5 мг/мл тирозол збільшував вироблення кворум-сенсинг регульованого вілацеїну в *Chromobacterium violaceum* CV026 на 53,5% та зменшував кворум-сенсинг регульоване виробництво піоціаніну, еластазну та протеолітичну активності у *Pseudomonas aeruginosa* PA01 на 63,3%, 57,8% та 9,9%, відповідно. Вплив тирозолу на формування біоплівки був підтверджений скануючою електронною мікроскопією. Бактеріальні клітини, оброблені тирозолом, мали нормальну морфологію з чіткими, неущкодженими внутрішніми та зовнішніми мембра-

нами та тонким, рівномірним периплазматичним простором. Але біоплівки були значно зруйновані, що також усунуло основу генерування патогенності бактерії [108].

Екстракти *Penicillium* sp. містять десять вторинних метаболітів, таких як спороген АО-1, 3-індолекарбальдегід, 2-[(5-метил-1,4-диоксан-2-іл)метокси]етанол, 2-[(2-гідроксипропанол)аміно]бензамід, 4-гідроксибензандегід, хризогін, 3-ацетил-4-гідроксицинолін, 1H-індол-3-оцтова кислота, цикло (Tyr-Trp) та 2', 3'-дигідросорбіцилін. Серед них 2-[(5-метил-1,4-диоксан-2-іл)метокси]етанол виявляв високі інгібуючі властивості щодо *Enterococcus faecalis*. Сполука 2',3'-дигідросорбіцилін інгібує активність α -глюкозидази [109].

З морського гриба *Penicillium sclerotiorin*, виділили чотири нових та дев'ять відомих полікетидів, три з яких були ідентифіковані як похідні азафілону, ізохромофілону IX та склеркетиду С. Вони виявляли протизапальну активність [110]. Один із димерів цитриніну, який був виділений з морського гриба, *Penicillium citrinum* HDN-152-088 був антиоксидантом [111].

З морського гриба *Penicillium minioluteum* ZZ1657 виділено три нових сполуки пурпуриду, нову сполуку ізокумарину пенізокумарин та 15 відомих метаболітів. Два пурпуриди, як були кон'юговані з N-ацетил L-валіном виявляли протимікробну та протигрибкову активності щодо *E. coli* та *C. albicans* [112].

2.2.2. Вторинні метаболіти грибів, виділених з морських водоростей

У червоної водості (*Gracilaria* sp. SGR 01) знайдено асоційований з нею ендоефітний гриб *Daldinia eschscholzii*, який синтезує новий лактон. Це гелікасколід С. Він виявляє фунгістатичну активність, щодо фітопатогенного гриба *Cladosporium cucumerinum* [113].

З морського гриба *Helicascus kanaloanus* були виділені гелікасколіди А та В (рис. 2.12.) [114].

Різні види грибів, такі як *Cladosporium* spp. [115, 116], *Nigrospora sacchari* [117], *Bombardioidea anartia* [118], *Xylaria multiplex* [119], *Paraphaeosphaeria* sp. [120] та *Curvularia* sp. [121], як відомо, виробляють похідні лактону, такі як кладосполіди А–С,

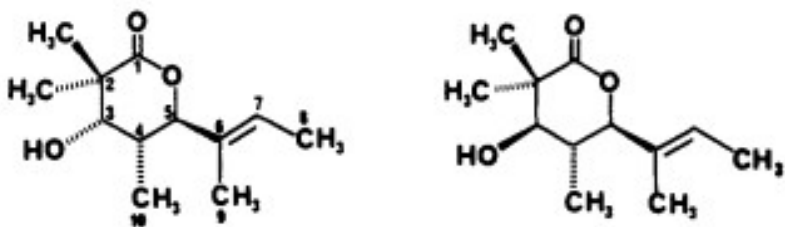


Рис.2.12. Гелікасколіди А та В [118]

фомалактон, бомбардоліди А–Д, мультиполіди А–В, модіоліди А–В та десятичленні лактони. Вони мають різноманітні властивості, такі як гербіцидні, антибактеріальні, протизапальні, грибові та цитотоксичні активності.

З екстракту ендofітного гриба ZZF36, який асоційований з бурюю водоростю *Sargassum sp.*, виділено 6-оксо-де-метилазодіплодин. Ця сполука володіла протимікробною активністю [122]. Димер дикетопіперазину, кристатумін Е, який синтезований грибом *Eurotium herbariorum* HT-2, був асоційований з водоростю *Enteromorpha prolifera*, володіє антибактеріальною активністю щодо *Enterobacter aerogenes* та *E. coli* [123].

З морського гриба *Aspergillus alabamensis* EN-547, який є ендосімбіонтом морської червоної водорості *Ceramium japonicum* були виділені такі хімічні сполуки: 4-метиловий ефір епі-секо-шорнефіну А (1), 4-епі-секо-шорнефін А карбонової кислоти (2) та 28-ацетокси-12b,15a,25-тригідроксиергоста-4,6,8, 22-тетраєн-3-он (3), шорнефін А (4), 25-гідроксиергоста-4,6,8,22-тетраєн-3-он, 25,28-дигідроксиергоста-4,6,8,22-тетраєн-3-он (5–7) (рис. 2.13.), які виявляють антибактеріальну активність проти *E. coli*, *Micrococcus luteus* та водних бактерій *Edwardsiella ictaluri* та *Vibrio alginolyticus* [124].

2.2.3. Вторинні метаболіти грибів, виділених з морських губок та коралів

З асоційованого з губкою гриба *Truncatella angustata* виділено вісім нових ізопренільованих циклогексанолів та чотирнадцять відомих аналогічних сполук. Одна з цих сполук проявляла

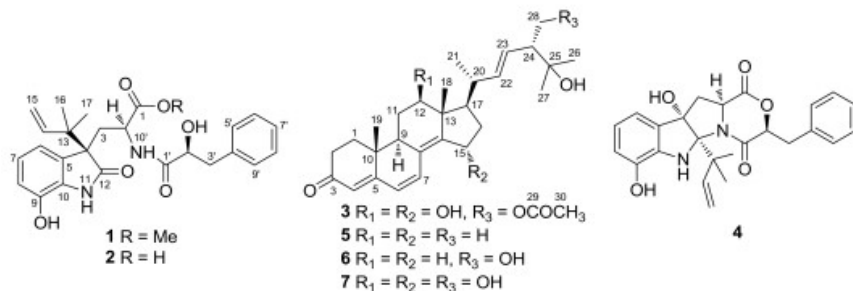


Рис. 2.13. Вторинні метаболіти, виділені з морського гриба *Aspergillus alabamensis* EN-547 [124]

протівірусну активність, щодо вірусу імунодефіциту людини (ВІЛ-1) та проти вірусу грипу (H1N1) [125].

Ендофітний гриб, *Emericellopsis minima*, з морської губки *Hyrtois erecta* секретує біциклічний сесквітерпен, але дана сполука не володіла антибактеріальною та протигрибковою активністю [116]. Біоактивні антимікробні метаболіти 1-(2,6-дигідроксифеніл)пентан-1-он та 1-20-(2-бутирил-3-гідроксифенокси)-6-гідроксифеніл)-3-гідроксибут-2-ен-1 виділено із ендофітного гриба *Cryptosporiopsis* sp., який асоційований з губкою, *Clidamia hirta* (рис.2.14).

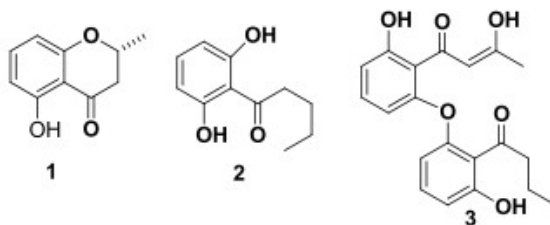


Рис. 2.14. Хімічна структура сполук (1–3), виділених з ендофітного *Cryptosporiopsis* sp. H2-1[126]

Встановлено, що метаболіт 1- (2,6-дигідроксифеніл)пентан-1-он активний проти різних бактерій, тоді як метаболіт 1-20-(2-бутирил-3-гідроксифенокси)-6-гідроксифеніл)-3-гідроксибут-2-ен-1 був активним тільки щодо *Pseudomonas fluorescens*. Ці

вторинні метаболіти володіли цитотоксичною активністю проти різних клітинних ліній раку (табл. 2,5.) [126].

Таблиця 2.5.

Цитотоксичний профіль ізольованих сполук (1–3) до клітинних ліній раку [126]

Ізольована сполука	IC ₅₀ мг/мл		
	HL-60 Клітинна лінія лейкемії людини	MiaPaca-2 Клітинна лінія підшлункової залози людини	PC-3 Клітинна лінія простати людини
1	4	16	86
2	16	36	98
3	► 100	► 100	► 100

Гриб *Curvularia lunata*, ізольований з морської губки *Niphates olemda*, є джерелом 1,3,8-тригідрокси-6-метокси-антрахінону (лунатин) та модифікованого біс-антрахінон (цитоскірин-А). Ці два метаболіти активні проти *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* та *Bacillus substilis* [127].

З гриба *Zygosporium sp.* KNC52, який знайдено в коралах, був виділений вторинний метаболіт алкілрезорцинол, у якого сульфоалкільний бічний ланцюг. Ця сполука має назву сульфоалкілрезорцинол та проявляє слабку антимікробну активність щодо *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis* та *Mycobacterium avium*. Сполука також інгібує ріст штамів *Pseudomonas aeruginosa* та *Stephylococcus aureus*. Механізм дії цій сполуки обумовлений блокуванням *in vitro* полімеризації білка FtsZ, який бере участь у поділі бактеріальних клітин [128].

З екстракту *Trichoderma sp.* SCSIO41004 виділено та охарактеризовано три нових та шість відомих молекул. Лише одна з цих структур, 5-ацетил-2-метокси-1,4,6-тригідрокси-антрахінон виявляла противірусну активність, щодо ентеровірусу 71 (EV71) [129].

Деякі вторинні метаболіти морських грибів представлені в таблиці 2.6.

Таблиця 2.6.

Антимікробні вторинні метаболіти морських грибів [86]

Морське джерело	Ідентифікована бактерія	Вторинні метаболіти	Антимікробна активність	Літературне джерело
1	2	3	4	5
Вода/осад	<i>Aspergillus protuberus</i> <i>SP1</i>	н-Бутанольна фракція	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Pneumococcus mirabilis</i> <i>Klebsiella pneumonia</i>	[99]
Вода/осад	<i>Zopfella latipes</i> <i>CBS 611.97</i>	Зоофіламіді А і В	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> <i>Bacillus brevis</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus licheniformis</i> <i>Corynebacterium insidiosum</i> <i>Micrococcus luteus</i> <i>Mycobacterium phlei</i> <i>Streptomyces sp.</i>	[100]
Водорість <i>Gracilaria</i> sp. SGR-01	<i>Daldinia eschscholzii</i>	Гелікасколізиди А, В і С	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Candida maltose</i>	[113]

Продовження таблиці 2.6.

1	2	3	4	5
Водорість <i>Sargassum</i> sp.	Неідентифікований №. ZZF36	6-оксо-де метилазодиплодин, (Е) -9- етенолазодиплодин, Лазодиплодин, де-О метилазодиплодин, 5- гідрокси-де-О- метилазодиплодин	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Salmonella enteritidis</i> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>Candida albicans</i>	[123]
Водорість <i>Enteromorpha prolifera</i>	<i>Eurotium herbariorum</i> HT-2	Крістатумін Е	<i>Escherichia coli</i> <i>Enterobacter aerogenes</i>	[128]
Водорість <i>Laurencia</i> sps.	<i>Penicillium chrysogenum</i> QEN-24S	Пеніцистероїд А	<i>Aspergillus niger</i> <i>Alternaria brassicae</i>	[134]
Губка <i>Clidamia hirta</i>	<i>Cryptosporiopsis</i> sps	1- (2,6-гідроксифеніл) пентан -1-он та(Z) -1- (20, 26-тирил-3-гідроксифенокси) -6-гідроксифеніл) -3-гідроксибут-2-ен-1-он	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	[126]
Губка <i>Suberites domuncula</i>	<i>Eurotium cristatum</i> KUFC7356	Еврокрістатин	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Candida albicans</i> <i>Tricophyton rubrum</i>	[131]

Продовження таблиці 2.6.

1	2	3	4	5
Неідентифікована губка	<i>Aspergillus ochraceus</i> MP2	α -Камфоленовий альдегід та люценін-2	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	[132]
Губка <i>Cladiella</i> sp	<i>Aspergillus versicolor</i>	Версиколорити та тетраорцинол	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Candida albicans</i>	[133]
Твердий корал	<i>Zygosporium</i> SP. KNC52	Сульфалкілрезорцинол	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> <i>Mycobacterium bovis</i> <i>Mycobacterium avium</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Метицилін резистентний <i>Staphylococcus aureus</i>	[128]

2.2.4. Біоактивні сполуки морських мікроводоростей

Екстракти з тридцяти трьох морських мікроводоростей, таких як, *Prorocentrum hoffmannianum*, *Prorocentrum arenarium*, *Prorocentrum reticulatum*, *Alexandrium tamarensis* та *Gambierdiscus australes* проявляли апоптотичну активність [134].

Морська діатомова водорість *Navicula sp.* вирощувалась у культурі при різних довжинах світла (біле, червоне, синє) та синтезувала сульфатовані поліцукри. У цих сполук виявлена антиоксидантна активність [135].

Гідрофобні екстракти діатомових водоростей *Skeletonema costatum* та *Chaetoceros pseudocurvisetus* проявляли антимікобактеріальну активність [136].

Морська мікроводорість *Amphidinium carterae* синтезує похідну амфідінолів, амфідінол 22 з сильною цитотоксичною активністю та помірною антигрибковою активністю щодо *C. albicans* [137].

Біоактивні вторинні метаболіти, які синтезують морські гриби та мікроводорості, виявляють різні біологічні активності. Їх промислове виробництво може стати вирішенням проблеми проти стійких до антибіотиків бактерій та багатьох тяжких захворювань.

Список використаної літератури

1. *Jensen P. R., Fenical W.* Marine microorganisms and drug discovery: current status and future potential // *Drugs from the Sea*. – 2000. – P. 6–29.
2. *Mitra A., Zaman S.* Marine Ecosystem: An Overview / *Basics of Marine and Estuarine Ecology*. – 2016. – P. 1–19.
3. *Vignesh S., Raja A., James R. A.* Marine drugs: Implication and future studies // *Int. J. Pharmacol.* – 2011. – V. 7 (1). – P. 22–30.
4. *Xie C.-L., Xia J.-M., Wang J.-S. et al.* Metabolomic investigations on *Nesterenkonia flava* revealed significant differences between marine and terrestrial actinomycetes // *Marine drugs*. – 2018. – V. 16. (10). – P. 356–368.
5. *Rateb M. E., Ebel R.* Secondary metabolites of fungi from marine habitats // *Nat. prod. rep.* – 2011. – V. 28. (2). – P. 290–344.

6. *Baharum S. N., Beng E. K., Mokhtar M. A. A.* Marine micro-organisms: potential application and challenges // *J. Biol. Sci.* – 2010. – V. 10 (6). – P. 555–564.
7. *Blunt J. W., Carroll A. R., Copp B. R. et al.* Marine natural products // *Nat. prod. rep.* – 2018. – V. 35 (1). – P. 8–53.
8. *Butler M. S., Blaskovich M. A., Cooper M. A.* Antibiotics in the clinical pipeline in 2013 // *J. Antidiot.* – 2013. – V. 66 (10). – P. 571–591.
9. *Jensen P. R., Fenical W.* The relative abundance and seawater requirements of gram-positive bacteria in near-shore tropical marine samples // *J. Microb. Ecol.* – 1995. – V. 29 (3). – P. 249–257.
10. *Lu X. L., Xu Q. Z., Liu X. Y. et al.* Marine drugs-macrolactins // *J. Chem Biodiver.* – 2008. – V. 5 (9). – P. 1669–1674.
11. *Kim H., Kim W., Ryoo I. et al.* Neuronal Cell Protection Activity of Macrolactin A Produced by *Actinomadura sp* // *J. Microbiol. Biotechnol.* – 1997. – V. 7 (6). – P. 429–434.
12. *Han J. S., Cheng J. H., Yoon, T. M. et al.* Biological control agent of common scab disease by antagonistic strain *Bacillus sp.* Sunhua // *J. Appl. Microbiol.* – 2005. – V. 99 (1). – P. 213–221.
13. *Zotchev S. B., Stepanchikova A. V., Sergeyko A. P. et al.* Rational Design of Macrolides by Virtual Screening of Combinatorial Libraries Generated through in Silico Manipulation of Polyketide Synthases // *J. Med. Chem.* – 2006. – V. 49 (6). – P. 2077–2087.
14. *Nagao T., Adachi K., Sakai M. et al.* Novel Macrolactins as Antibiotic Lactones from a Marine Bacterium // *J. Antibio.* – 2001. – V. 54 (4). – P. 333–339.
15. *Yoo J.-S., Zheng C.-J., Lee S. et al.* Macrolactin N, a new peptide deformylase inhibitor produced by *Bacillus subtilis* // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2006. – V. 16 (18). – P. 4889–4892.
16. *Jaruchoktaweechai C., Suwanborirux K., Tanasupawatt S. et al.* New Macrolactins from a Marine *Bacillus sp.* Sc026 // *J. Nat. Prod.* – 2000. – V. 63 (7). – P. 984–986.
17. *Romero-Tabarez M., Jansen R., Sylla M. et al.* 7-O-Malonyl Macrolactin A, a New Macrolactin Antibiotic from *Bacillus subtilis* Active against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, Vancomycin-Resistant Enterococci, and a Small-Colony

- Variant of *Burkholderia cepacia* // Antimicrob. Agents Chemo-
ther. – 2006. – V. 50 (5). – P.1701–1709.
18. *Lu X. L., Xu Q. Z., Shen Y. H. et al.* Macrolactin S, a novel mac-
rolactin antibiotic from marine *Bacillus* sp // Nat. Prod. Res.
–2008. – V. 22 (4). – P. 342–347.
 19. *Peng S., Katherine N., Maloney S. N., et al.* Fijimycins A-C,
three antibacterial etamycin-class depsipeptides from a marine-
derived *Streptomyces* sp. // Bioorg. Med. Chem. Lett. – 2011. –
V. 19 (22). – P. 6557–6562.
 20. *Ito T., Ohba K., Koyama M., et al.* A new antiviral antibiotic sf-
2140 produced by *actinomadura* // J. Antibio. (Tokyo). – 1984.
– V. 37 (8). – P. 931–935.
 21. *Galaviz-Silva, L., Iracheta-Villarreal, J.M., Molina-Garza, Z.J.,*
Bacillus and *Virgibacillus* strains isolated from three Mexican
coasts antagonize *Staphylococcus aureus* and *Vibrio parahaem-*
olyticus // FEMS Microb. Let. –2018. –V. 365 (19). – P. 202–
211.
 22. *Shin D., Byun W.S., Moon K. et al.* Coculture of marine *Strepto-*
myces sp. with *Bacillus* sp. produces a new piperazic acid-bear-
ing cyclic peptide // Front. Chem. – 2018. – V. 6 (498). – P. 1–12.
 23. *Shivale N., Marar T., Samant M., Harmalkar M.* Screening of
Antioxidant Activity of marine bacteria isolated from marine
soil obtained from North-West coastal region of India // Int.
J. Biol., Pharm. All. Sci. – 2018.–V. 7.
 24. *Siddharth, S., Vittal, R.R.,* Evaluation of antimicrobial, enzyme
inhibitory, antioxidant and cytotoxic activities of partially puri-
fied volatile metabolites of marine *Streptomyces* sp. S2A // Mi-
croorg. – 2018. – V. 6 (3). – P.72–85.
 25. *Zhang D., Shu C., Lian X., Zhang Z.* 2018. New antibacterial
bagremycins F and G from the marine-derived *Streptomyces* sp.
ZZ745 // Marine drugs. – 2018. – V. 16 (9). – P. 330–335.
 26. *Petruk G., Roxo M., De Lise F. et al.* The marine Gram-nega-
tive bacterium *Novosphingobium* sp. PP1Y as a potential source
of novel metabolites with antioxidant activity // Biotech. lett. –
2019. – V. 41 (2). – P. 273–281.
 27. *Zhang J., Li B., Qin Y. et al.* A new abyssomicin polyketide with
anti-influenza A virus activity from a marine-derived *Verruco-*

- sispora sp. MS100137 // Appl. Microbiol. Biotech. – 2020. – V. 104 (4). – P. 1533–1543.
28. *Isnansetyo A., Kamei Y.* Anti-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) activity of MC21-B, an antibacterial compound produced by the marine bacterium *Pseudoalteromonas phenolica* O-BC30T// Int. J. Antimicrob. Agents. – 2009. – V. 34 (2). – P. 131–135.
 29. *Khomsan S., Chitti T., Khanit S. et al.* Antimalarial and anti-tubercular C-glycosylated benz[α]anthraquinones from the marine-derived *Streptomyces* sp. BCC45596 // Phytochem. Lett. – 2012. – V. 5 (3). – P. 651–656.
 30. *Peng F., Peipei L., Haijun Q. et al.* α -Pyrones and diketopiperazine derivatives from the marine-derived actinomycete *Nocardidiopsis sdassonvillei* HR10-5// J. Nat. Prod. –2011. – V. 74 (10). – P. 2219–2223.
 31. *Oku N., Adachi K., Matsuda S. et al.* Ariakemicins A and B, Novel Polyketide-peptide Antibiotics from a Marine Gliding Bacterium of the Genus *Rapidithrix*// Org. Lett. – 2008. – V. 10 (12). – P. 2481–2484.
 32. *Gupta V., Ratha S. K., Sood A. et al.* New insights into the biodiversity and applications of cyanobacteria (blue-green algae)-prospects and challenges //Algal Res. – 2013– V. 2 (2). – P. 79–97.
 33. *Burja A. M., Dhamwichukorn S., Wright P. C.* Cyanobacterial postgenomic research and systems biology // Trends Biotech. – 2003. – V. 21 (11). – P. 504–511.
 34. *Kehr J. C., Picchi D.G., Dittmann E.* Natural product biosyntheses in cyanobacteria: A treasure trove of unique enzymes // Beilstein J. Org. Chem. – 2011. – V. 7 (11). – P. 1622–1635.
 35. *Edwards D. J., Gerwick W. H.* Lyngbyatoxin biosynthesis: Sequence of biosynthetic gene cluster and identification of a novel aromatic prenyltransferase // J. Amer. Chem. Soc. – 2004. – V. 126 (37) – P. 11432–11433.
 36. *Abed R. M. M., Dobretsov S., Sudesh K.* Applications of cyanobacteria in biotechnology // J. Appl. Microbiol. – 2009. –V. 106 (1). – P. 1–12.

37. *Micallef M. L., D'Agostino P. M., Al-Sinawi B. et al.* Exploring cyanobacterial genomes for natural product biosynthesis pathways // *Mar. Genom.* – 2015. – V. 21 (1). – P. 1–12.
38. *Dixit R. B., Suseela, M. R.* Cyanobacteria: potential candidates for drug discovery // *Antonie van Leeuwenhoek.* – 2013. – V. 103(5). – P. 947–961.
39. *Sivonen K., Leikoski N., Fewer D. P., Jokela J.* Cyanobactins—ribosomal cyclic peptides produced by cyanobacteria // *Appl. Microbiol. Biotech.* – 2010. – V. 86 (5). – P. 1213–1225.
40. *Rastogi R. P., Sinha, R. P.* Biotechnological and industrial significance of cyanobacterial secondary metabolites // *Biotech. Adv.* – 2009. – V.27 (4). – P. 521–539.
41. *Walton K., Berry J.* Indole Alkaloids of the Stigonematales (Cyanophyta): Chemical Diversity, Biosynthesis and Biological Activity // *Mar. Drug.* –2016– V. 14 (4). – P. 73–101.
42. *Pattanaik B., Lindberg P.* Terpenoids and Their Biosynthesis in Cyanobacteria // *Life.* – 2015. – V. 5 (1). – P. 269–293.
43. *Wada N., Sakamoto T., Matsugo S.* Multiple Roles of Photosynthetic and Sunscreen Pigments in Cyanobacteria Focusing on the Oxidative Stress // *Metab.* – 2013. – V. 3 (2). – P. 463–483.
44. *Gupta V., Ratha S. K., Sood A. et al.* New insights into the biodiversity and applications of cyanobacteria (blue-green algae)—Prospects and challenges // *Algal Res.* – 2013. – V.2 (2). – P. 79–97.
45. *Vasas G., Gáspár A., Páger C. et al.* Analysis of cyanobacterial toxins (anatoxin-a, cylindrospermopsin, microcystin-LR) by capillary electrophoresis // *ELECTROPHOR.* – 2004. – V. 25 (1). – P. 108–115.
46. *Esterhuizen M., Downing T. G.* β -N-methylamino-l-alanine (BMAA) in novel South African cyanobacterial isolates // *Eco-toxicol. Environ. Saf.* – 2008. – V.71 (2). – P. 309–313.
47. *Murch S. J., Cox P. A., Banack S. A. et al.* (2004). Occurrence of beta-methylamino-l-alanine (BMAA) in ALS/PDC patients from Guam // *Acta Neuro. Scand.* – V. 110 (4). – P. 267–269.
48. *Vijayakumar S., Menakha, M.* Pharmaceutical applications of cyanobacteria—A review // *J. Acute Med.* – 2015. – V. 5 (1). – P. 15–23.

49. *Nazifi E., Wada N., Asano T. et al.* (2015). Characterization of the chemical diversity of glycosylated mycosporine-like amino acids in the terrestrial cyanobacterium *Nostoc commune* // *J. Photochem. Photobiol. B: Biology.* –2015. – V. 142 (1). – P. 154–168.
50. *Sinha R. P., Häder, D.-P.* UV-protectants in cyanobacteria // *Plant Sci.* –2008. – V. 174 (3). – P. 278–289.
51. *Sinha R. P., Singh S. P., Häder D.-P.* Database on mycosporines and mycosporine-like amino acids (MAAs) in fungi, cyanobacteria, macroalgae, phytoplankton and animals // *J. Photochem. Photobiol. B: Biology.* – 2007. –V. 89 (1). – P. 29–35.
52. *Derikvand P., Llewellyn C. A., Purton S.* Cyanobacterial metabolites as a source of sunscreens and moisturizers: a comparison with current synthetic compounds // *Europ. J. Phycol.* – 2016. –V. 52 (1). – P. 43–56.
53. *Latifi A., Ruiz M., Zhang C.-C.* Oxidative stress in cyanobacteria // *FEMS Microbiol. Rev.* – 2009. – V. 33 (2). – P. 258–278.
54. *Banerjee M, Raghavan P.S., Ballal A. et al.* Oxidative stress management in the filamentous, heterocystous, diazotrophic cyanobacterium, *Anabaena PCC7120* // *Photosynth. Res.* – 2013. – V. 118 (1–2). – P. 59–70
55. *Reuter W., Westermann M., Brass S. et al.* Structure, composition, and assembly of paracrystalline phycobiliproteins in *Synechocystis* sp. strain BO 8402 and of phycobilisomes in the derivative strain BO 9201 // *J. Bacteriol.* 1994. – V. 176 (3). – P. 896–904.
56. *Stadnichuk I. N., Krasilnikov P. M., Zlenko D. V.* Cyanobacterial phycobilisomes and phycobiliproteins // *Microbiol.* – 2015. –V. 84 (2). – P. 101–111.
57. *Angermayr S.A., Hellingwerf K.J., Lindblad P, Teixeira de M. J.* Energy biotechnology with cyanobacteria // *Curr. Opin. Biotech.* – 2009. – V.20 (2). – P. 257–263.
58. *Spolaore P., Joannis-Cassan C., Duran E., Isambert A.* Commercial applications of microalgae // *J. Biosci. Bioengin.* – V. 2006. – V.101 (1). – P. 87–96.

59. *Balasundaram B., Skill S. C., Llewellyn C. A.* A low energy process for the recovery of bioproducts from cyanobacteria using a ball mill // *Biochem. Engin. J.* – 2012. – V. 69 (1). – P. 48–56.
60. *Zanchett G., Oliveira-Filho E. C.* Cyanobacteria and cyanotoxins: From impacts on aquatic ecosystems and human health to anticarcinogenic effects // *Toxins (Basel)*. – 2013–V. 5 (7). – P. 1896–1917.
61. *Chaiklahan R., Chirasuwan N., Loha V., Bunnag B.* Lipid and Fatty acids extraction from the cyanobacterium *Spirulina* // *Sci. Asia*. – 2008. – V. 34 (2). – P. 299–304.
62. *Lau N-S., Matsui M., Abdullah A. A.* Cyanobacteria: Photoautotrophic microbial factories for the sustainable synthesis of industrial products // *BioMed. Res. Int.* – 2015.– V. 2015 (2).– P. 1–9.
63. *Proksch P., Edrada R. A., Ebel R.* Drugs from the sea-current status and microbiological implications // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2002. – V. 59 (2–3). – P. 125–134.
64. *De Rosa S., Mitova S., Tommonero M. et al.* Marine bacteria associated with sponge as a source of cyclic peptides // *Biomol. Eng.* – 2003. – V. 20 (4–6). – P. 311–316.
65. *Friedrich A. B., Merkert H., Fendert T. et al.* Microbial diversity in the marine sponge *Aplysina cavernicula* (formerly *Verongia cavernicola*) analyzed by fluorescence in situ hybridization (FISH) // *Mar. Biol.* – 1999. –V. 134 (3). – P. 461–470.
66. *Dembitsky V. M.* Bromo- and iodo-containing alkaloids from marine microorganisms and sponges // *Russ. J. Bioorg. Chem.* – 2002. – V. 28 (3). –P. 196–208.
67. *Hentschel U., Schmid M., Wagner M. et al.* Isolation and phylogenetic analysis of bacteria with antimicrobial activities from the Mediterranean sponges *Aplysina aerophoba* and *Aplysina cavernicola* // *FEMS Micro. Eco.* – 2001. – V. 35 (3). – P. 305–312.
68. *Chelossi E., Melanese M., Milano A. et al.* Characterization and antimicrobial activity of epibiotic bacteria from *Petrosia ficiformis* (Porifera, Demospongiae) // *J. Exptal. Marine Biol. Ecol.* – 2004. – V. 309 (1). – P. 21–23.

69. Mohan G. , Subramanian K. , Thipparamalai T. et al. Antibacterial potential of sponge endosymbiont marine *Enterobacter* sp at Kavaratti Island, Lakshadweep archipelago // As. Pac. J. Trop. Med. –2012. – V. 5 (2). – P. 142–146.
70. Olinda C. S., Santos P., Pontes V.M.L. et al. Isolation, characterization and phylogeny of sponge-associated bacteria with antimicrobial activities from Brazil // Research. Microbiol. – 2010. – V. 161 (7). – P. 604–612.
71. Wimolpun R., Siwu E.R.O., Lambert L.K. et al. Cyclic tetrapeptides from marine bacteria associated with the seaweed *Diginea* sp. and the sponge *Halisarca ectofibrosa* // Tetrahedron. – 2008. – V. 64 (14). – P. 3147–3152.
72. Barnes R. D. Invertebrate Zoology / Fifth Edition Fort Worth, TX: Harcourt Brace Jovanovich College Publishers. –1994. – P. 92-96.
73. Lalli C. M. Parsons T. R. Biological Oceanography / An Introduction. Oxford, UK: Butterworth-Heinemann Ltd. –1995. – P. 220–233.
74. Forest R., Victor S., Farooq A. et al. Diversity and distribution of coral-associated bacteria // Mar. Ecol. Prog. Ser. – 2002. –V. 243 (1). – P.1–10.
75. Wen M. C., Chang Y.L., Chaolun A.C. et al. Involvement of an L-amino acid oxidase in the activity of the marine bacterium *Pseudoalteromonas flavipulchra* against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* // Enzyme Microbiol. Techn. – 2010. – V. 47 (1–2). – P. 52–58.
76. Kozloff E. N. Invertebrate / Philadelphia: Saunders College Publishing. –1990. – 866 p.
77. Mukai H., Terakado K., Reed C. G. Microscopic Anatomy of Invertebrates / New York: Wiley-Liss Inc. – 1997. – P. 45–206.
78. Ruppert E. E., Barnes R. D. Invertebrate Zoology / Philadelphia: Saunders College Publishing. – 1994. – 1056 p.
79. Heindl H., Wiese J., Thiel V., Imhoff J. F. Phylogenetic diversity and antimicrobial activities of bryozoan-associated bacteria isolated from Mediterranean and Baltic Sea habitats // Sys. Appl. Microbiol. –2010. – V. 33 (2). – P. 94–104.

80. World Health Organization (WHO) / WHO Traditional Medicine Strategy. 2002–2005.
81. *Habbu P., Warad V., Shastri R. et al.* Antimicrobial metabolites from marine microorganisms // *Chin. J. Nat. Med.* – 2016. – V. 14 (2). – P. 01010116.
82. *Raju R., Andrew M. P., Zeinab K. et al.* Heronamycin A: a new benzothiazine ansamycin from an Australian marine-derived *Streptomyces* sp // *Tetrahedr. Lett.* – 2012. – V. 53 (9). – P. 1063–1065.
83. *Ling Y., Renxiang T., Qian W. et al.* Antifungal cyclopeptides from *Halobacillus litoralis* YS3106 of marine origin // *Tetrahedr. Lett.* – 2002. – V. 43 (37). – P. 6545–6548.
84. *Mervat M., El-Gendy A., Mohamed S. et al.* Essramycin: a first triazolopyrimidine antibiotic isolated from nature // *J Antibiot.* – 2008. – V. 61 (3). – P. 149 – 157.
85. *Katherine A. M., Scott S. M., Ginger T. et al.* Lynamycins A-E, chlorinated bisindole pyrrole antibiotics from a novel marine *Actinomycete* // *J. Nat. Prod.* – 2008. – V. 71 (10). – P. 1732–1737.
86. *Wenjun Z. Zhong L. Sumei L. et al.* Fluostatins I-K from the south China sea-derived *Micromonospora rosaria* SCSIO N160 // *J. Nat. Prod.* – 2012. – V. 75 (11). – P. 1937–1943.
87. *Venkat R., Macherla J. L., Michelle S. et al.* Lipoxazolidinones A, B, and C: antibacterial 4-oxazolidinones from a marine *Actinomycete* isolated from guam marine sediment // *J. Nat. Prod.* – 2007. – V. 70 (9). – P.1454–1457.
88. *Mojid M. M. A., Kim J. H., Hyi-Seung L. et al.* Macrolactin W, a new antibacterial macrolide from a marine *Bacillus* sp // *J. Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2011. – V. 21(12). – P. 3832–3835.
89. *Gopi M., Kumaran S., Kumar T. T. A. et al.* Antibacterial potential of sponge endosymbiont marine *Enterobacter* sp. at Kavaratti Island, Lakshadweep archipelago // *As. Pac. J. Trop. Med.* – 2012. – V. 5 (2). – P. 142–146.
90. *Santos O. C. S., Pontes P. V. M. L., Santos J. F. M. et al.* Isolation, characterization and phylogeny of sponge-associated bacteria with antimicrobial activities from Brazil // *Res. Microb.* – 2010. – V. 161 (7). – P. 604–612.

91. *Al-Dhabi N. A., Ghilan A.-K.M., Esmail G. A. et al.* Bioactivity assessment of the Saudi Arabian Marine *Streptomyces* sp. Al-Dhabi-90, metabolic profiling and its in vitro inhibitory property against multidrug resistant and extended-spectrum beta-lactamase clinical bacterial pathogens // *J. infec. pub. health.* – 2019. – V. 12 (4). – P. 549–556.
92. *Ameen F., Moslem M., Hadi S., Al-Sabri A. E.* Biodegradation of diesel fuel hydrocarbons by mangrove fungi from Red Sea Coast of Saudi Arabia // *Saudi j. biol. sci.* – 2016. – V.23 (2). – P. 211–218.
93. *Borse B. D., Bhat D .J., Borse K. N., et al.* *Marine Fungi of India* / Broadway Publishing House. 2012. – 471 p.
94. *Bugni T. S., Ireland C. M.* Marine-derived fungi: a chemically and biologically diverse group of microorganisms // *Nat. Prod. Rep.* – 2004. – V. 21 (1). – P. 143–163.
95. *Jones E. B .G., Suetrong, S., Sakayaroj J. et al.* Classification of marine ascomycota, basidiomycota, blastocladiomycota and chytridiomycota // *Fungal Diversity.* – 2015. – V. 73 (1). – P. 1–72.
96. *Raghukumar S.* *Fungi in coastal and oceanic marine ecosystems* / Springer. – 2017. – 373 p.
97. *Jones E. B. G., Pang K.-L., Abdel-Wahab M. A. et al.* An online resource for marine fungi // *Fung. Diver.* –2019. – V. 96 (2). – P. 347–433.
98. *Abdel-Lateff A.* Chaetominedione, a new tyrosine kinase inhibitor isolated from the algicolous marine fungus *Chaetomium* sp // *Tetrahedron Let.* – 2008. – V. 49 (45). – P. 6398–6400.
99. *Mathan S., Smith A. A., Kumaran J., Prakash S.* Anticancer and Antimicrobial Activity of *Aspergillus protuberus* SP1 Isolated from Marine Sediments of South Indian Coast // *Chin. J. Nat. Med.* – 2011. – V. 9 (4). – P.286–292.
100. *Daferner M., Anke T., Sterner O.* Zopfiellamides A and B, antimicrobial pyrrolidinone derivatives from the marine fungus *Zopfiella latipes* // *Tetrahedron.* – 2002. – V. 58 (39). – P. 7781–7784.
101. *Chinworrungsee M., Kittakoop P., Isaka M. et al.* Halorosellins A and B, unique isocoumarin glucosides from the marine fungus

- Halorosellinia oceanic // J. Chem. Soc., Perkin Trans. – 2002. – V. 1 (22). – P. 2473–2476.
102. Liu C. H., Meng J. C., Zou W. X. et al. Antifungal Metabolite with a New Carbon Skeleton from Keissleriella sp. YS4108 // Fung. Plant. Med. – 2002. – V. 68 (4). – P. 363–365.
 103. MacMillan J. B., Molinski T. F. Lobacyclamide B from *Lyngbya confervoides*. configuration and asymmetric synthesis of b-hydroxy- α -amino acids by sparteine-mediated aldol addition // Org. Lett. – 2002. – V. 4 (11). – P. 1883–1886.
 104. Agrawal S., Adholeya A., Barrow C. J., Deshmukh S. K. In-vitro evaluation of marine derived fungi against *Cutibacterium acnes* // Anaerob. – 2018. – V. 49 (1). – P. 5–13.
 105. Li H., Cao K., Cong P. et al. Structure characterization and antitumor activity of the extracellular polysaccharide from the marine fungus *Hansfordia sinuosae* // Carbohydrate polymers. – 2018. – V. 190 (1). – P. 87–94.
 106. Luo X., Yang J., Chen F. et al. Structurally diverse polyketides from the mangrove-derived fungus *diaporthe* sp. SCSIO 41011 with their anti-influenza A virus activities // Front. Chem. – 2018. – V. 6 (2). – P. 282–292.
 107. Wang W., Liao Y., Chen R. et al. Chlorinated azaphilone pigments with antimicrobial and cytotoxic activities isolated from the deep sea derived fungus *Chaetomium* sp. NA-S01-R1 // Marine drugs. – 2018. – V. 16 (2). – P. 61–72.
 108. Chang A., Sun S., Li L. et al. Tyrosol from marine Fungi, a novel Quorum sensing inhibitor against *Chromobacterium violaceum* and *Pseudomonas aeruginosa* // Bioorg. Chem. – 2019. – V. 91. – P. 103140–103147.
 109. Le H. M. T., Do Q. T., Doan M. H. T. et al. Chemical Composition and Biological Activities of Metabolites from the Marine Fungi *Penicillium* sp. Isolated from Sediments of Co To Island, Vietnam // Molecules. – 2019. – V. 24 (21). – P. 3830–3841.
 110. Liu Z., Qiu P., Liu H. et al. Identification of anti-inflammatory polyketides from the coral-derived fungus *Penicillium sclerotiorin*: In vitro approaches and molecular-modeling // Bioor. Chem. – 2019. – V. 88. – P. 102973–102980.

111. Wang L., Li C., Yu G. et al. Dicitrinones E and F, citrinin dimers from the marine derived fungus *Penicillium citrinum* HDN-152-088 // *Tetrahed. Lett.* – 2019. – V. 60 (44). – P. 151182–151187.
112. Ma M., Ge H., Yi W. et al. Bioactive drimane sesquiterpenoids and isocoumarins from the marine-derived fungus *Penicillium minioluteum* ZZ1657 // *Tetrahed. Lett.* – 2020. – V. 61 (7). – P. 151504–151511.
113. Kustiariyah T., Gottfried J. P., Andrea P. et al. Helicascolide C, a new lactone from an Indonesian marine algicolous strain of *Daldinia eschscholzii* (Xylariaceae, Ascomycota) // *Phytochem. Lett.* – 2012. – V.5 (1). – P. 83–86.
114. Poch G. K., Gloer J. B. Helicascolides A and B: new lactones from the marine fungus *Helicascus kanaloanus* // *J. Nat. Prod.* – 1989. – V. 52 (2). – P. 257–260.
115. Fujii Y., Fukuda A., Hamasaki T. et al. Twelve-membered lactones produced by *Cladosporium tenuissimum* and the plant growth retardant activity of cladospolide B // *Phytochem.* – 1995. – V. 40 (10) – P. 1443–1446.
116. Pinheiro Â., Dethoup T., Bessa J. et al. A new bicyclic sesquiterpene from the marine sponge associated fungus *Emericellopsis minima* // *Phytochem. Lett.* – 2012. – V. 5 (1). – P. 68–70.
117. Fukushima T., Tanaka M., Gohbara M. et al. Phytotoxicity of three lactones from *Nigrospora sacchari* // *Phytochem.* – 1998. – V. 48 (5). – P. 625–630.
118. Hein S. M., Gloer J. B., Koster B. et al. Bombardolides: new antifungal and antibacterial gamma-lactones from the coprophilous fungus *Bombardioidea anartia* // *J. Nat. Prod.* – 2001. – V. 64 (6). – P. 809–812.
119. Boonphong S., Kittakoop P., Isaka M. et al. Multiplolides A and B, new antifungal 10-membered lactones from *Xylaria multiplex* // *J. Nat. Prod.* – 2001. – V. 64 (7). – P. 965–967.
120. Tsuda M., Mugishima T., Komatsu K. et al. Modiolides A and B, two new 10-membered macrolides from a marine derived fungus // *J. Nat. Prod.* – 2003. – V. 66 (3). – P. 412–415.
121. Greve H., Schupp P.J., Eguereva E. et al. Ten membered lactones from the marine-derived fungus *Curvularia* sp. // *J. Nat. Prod.* – 2008. – V. 71 (9). – P. 1651–1653.

122. *Yang R., Li C., Lin, Y. et al.* Lactones from a brown alga endophytic fungus (No. ZZF36) from the South China Sea and their antimicrobial activities // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2006. – V. 16 (16). – P. 4205–4208.
123. *Li Y., Sun K.-L., Wang Y. et al.* A cytotoxic pyrrolidinoindoline diketopiperazine dimer from the algal fungus *Eurotium herbariorum* HT-2 // *Chin. Chem. Lett.* – 2013. – V. 24 (12). – P. 1049–1052.
124. *Yang S.-Q., Li X.-M., Li X. et al.* Two new diketomorpholine derivatives and a new highly conjugated ergostane-type steroid from the marine algal-derived endophytic fungus *Aspergillus alabamensis* EN-547 // *Marine drugs.* – 2018. – V. 16 (4). – P. 114–123.
125. *Zhao Y., Si L., Liu D. et al.* Truncateols A–N, new isoprenylated cyclohexanols from the sponge-associated fungus *Truncatella angustata* with anti-H1N1 virus activities // *Tetrahedron.* – 2015. – V. 71 (18). – P. 2708–2718.
126. *Zilla M. K., Qadri M., Pathania A. S. et al.* Bioactive metabolites from an endophytic *Cryptosporiopsis* sp. inhabiting *Climexia hirta* // *Phytochem.* – 2013. – V. 95 (2). – P. 291–297.
127. *Jadulco R., Brauers G., Edrada R. A. et al.* New Metabolites from Sponge-Derived Fungi *Curvularia lunata* and *Cladosporium herbarum* // *J. Nat. Prod.* – 2002. – V. 65 (5). – P. 730–733.
128. *Kanoh K., Adachi K., Matsuda S.* New Sulfoalkylresorcinol from Marine-derived Fungus, *Zygosporium* sp. KNC52 // *J. Antibio.* – 2008. – V. 61 (3). – P. 192–194.
129. *Pang X., Lin X., Tian Y. et al.* Three new polyketides from the marine spongederived fungus *Trichoderma* sp. SCSIO41004 // *Nat. prod. res.* – 2018. – V. 32 (1). – P. 105–111.
130. *Gao S.-S., Li X.-M., Li C.-S. et al.* Penicisteroids A and B, antifungal and cytotoxic polyoxygenated steroids from the marine alga-derived endophytic fungus *Penicillium chrysogenum* QEN-24S // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2011. – V. 21 (10). – P. 2894–2897.
131. *Gomes N. M., Dethoup T., Singburaudom N. et al.* Eurocristatine, a new diketopiperazine dimer from the marine sponge-as-

- sociated fungus *Eurotium cristatum* // *Phytochem. Lett.* – 2012. – V. 5 (4). – P. 717–720.
132. *Meenupriya J., Thangaraj M.* Analytical characterization and structure elucidation of metabolites from *Aspergillus ochraceus* MP2 fungi // *Asian. Pac. J. Trop. Biomed.* – 2011. – V. 1 (5). – P. 376–380.
 133. *Zhuang Y., Teng X., Wang Y. et al.* Cyclopeptides and polyketides from coral-associated fungus, *Aspergillus versicolor* LCJ-5-4 // *Tetrahedron.* – 2011. – V.67(37). – P.7085–7089.
 134. *De Vera, C.R., Diaz C.G., Hernández D. A. et al.* Marine microalgae: Promising source for new bioactive compounds // *Marine drugs.* – 2018. – V. 16 (9). – P. 317–329.
 135. *Fimbres-Olivarria D., Carvajal-Millan E., Lopez-Elias J. A. et al.* Characterization and antioxidant activity of sulfated polysaccharides from *Navicula* sp // *Food Hydrocolloids.* – 2018. – V.75 (2). – P. 229–236.
 136. *Lauritano C., Martin J., de la Cruz M. et al.* First 23 identification of marine diatoms with anti-tuberculosis activity // *Scientific rep.* – 2018. – V.8 (1). – P. 1–10.
 137. *Martinez K. A., Lauritano C., Druka D. et al.* Amphidinol 22, a New Cytotoxic and Antifungal Amphidinol from the Dinoflagellate *Amphidinium carterae* // *Marine drugs.* – 2019. – V. 17 (7). – P. 385–398.

ГЛАВА 3.

БІОСУРФАКТАНТИ МОРСЬКИХ МІКРООРГАНІЗМІВ

Морське середовище є величезним джерелом природних сполук, які володіють біологічною активністю [1, 2]. Морські мікроорганізми мають унікальні метаболічні та фізіологічні властивості, які надають їм здатність виживати в екстремальних умовах і, отже, виробляти нові метаболіти, які неможливо знайти деінде [3, 4]. Отже, морське середовище має великі перспективи щодо пошуку нових біоактивних та відповідних сполук, включаючи антибіотики, ферменти, вітаміни, ліки та Біо-ПАР (біологічні поверхнево активні речовини) [1, 5, 6]. Поверхнево-активні сполуки, синтезовані мікроорганізмами, мають різноманітні хімічні структури, включаючи гліколіпіди, ліпопептиди, полісахаридно-білкові комплекси, фосфоліпіди, жирні кислоти та нейтральні ліпіди [4, 5, 7].

Завдяки своїй амфіпатичній природі ПАР (поверхнево-активні речовини) виявляють різноманітну поверхневу активність, що дозволяє застосовувати їх у декількох областях, пов'язаних з емульгуванням та піноутворенням. Ці хімічні структури є детергентами та солюбілізують гідрофобні сполуки [8, 9]. Біо-ПАР мають подібні або кращі показники в порівнянні з синтетичними ПАР. В них нижча токсичність, вища біологічна здатність та ефективність при екстремальних температурах, солоності та значеннях рН. Все це робить їх альтернативою своїм хімічним синтетичним аналогам. Біо-ПАР використовуються у різних областях таких як сільське господарство, харчова, косметична або нафтова промисловості, а також у біоре mediaції [8–12].

Крім того, деякі Біо-ПАР проявляють антибактеріальну, протигрибкову, противірусну або протипухлинну активності, що робить їх потенційними альтернативами звичайним терапевтичним засобам [4, 7–9, 13]. Мікроорганізми, що виробляють Біо-ПАР, мешкають як у воді (море, прісна вода та підземні води), так і в землі (грунт, осад та мул), а також у середовищах, що характеризуються екстремальними умовами такими, як рН-середовище, температура або солоність [4, 14–17].

Завдяки своїм унікальним екологічним умовам морське середовище є хорошим джерелом для виділення нових мікроорганізмів, що виробляють Біо-ПАР. Повідомляється про значну кількість морських мікроорганізмів, здатних продукувати Біо-ПАР з різною структурою. Однак слід враховувати, що переважна більшість морського мікробного різноманіття залишається невивченим, головним чином через труднощі вирощування морських мікроорганізмів в лабораторних умовах [6, 18–20].

3.1. Види та хімічні структури Біо-ПАР

Як правило, мікроорганізми, такі як бактерії, археї та дріжджі, є найбільш комерційно перспективними завдяки їх величезному геномному різноманіттю. Ці сполуки можуть утворювати частину клітинної стінки мікроорганізму або виводитись позаклітинно з клітини [21]. Завдяки своїм амфіфільним властивостям Біо-ПАР можуть розчинятися як у полярних, так і в неполярних розчинниках [22]. Ефективність поверхнево-активної речовини визначається її здатністю знижувати поверхневий натяг (ПН) та міжфазний натяг (МФН) між двома не змішуваними фазами (наприклад, повітря/рідина та неполярні/полярні рідини, відповідно). ПН – це сила, що діє на одиницю довжини лінії, яка обмежує поверхню рідини. За присутності сурфактантів потрібно менше сили для виведення молекули на поверхню, що призводить до зниження коефіцієнта поверхневого натягу. Вважається, що ефективний біосурфактант повинен зменшувати ПН води з 72 до < 35 мН/м, а МФН для води проти н-гексадекану з 40 до 1 мН/м [23]. Іншим показником ефективного Біо-ПАР є низька критична концентрація міцел (ККМ). За визначенням, ККМ є мінімальною концентрацією, необхідною для ініціювання утворення міцел, і, як правило, корелює з ПМ та МФН [24]. Чим нижче ККМ, тим менше потрібно Біо-ПАР для зменшення ПМ або МФН.

Хімічний склад біосурфактантів різних видів мікроорганізмів є дуже різноманітним. Тому Біо-ПАР класифікуються за їх молекулярною масою або за хімічною структурою. На основі їх молекулярної маси поверхнево-активні сполуки поділяються на низькомолекулярні, які зменшують поверхневий натяг між двома рідинами, що не змішуються, та високомолекулярні емульгатори,

які сприяють утворенню емульсій масло у воді або вода в маслі. Останні також називають полімерними поверхнево-активними речовинами (або біоемульгаторами) і зазвичай вони представлені екзополіцукридами (ЕПЦ).

Основними хімічними структурами низькомолекулярних Біо-ПАР є гліколіпіди, фосфоліпіди, жирні кислоти, ліпопептид та ліпопротеїди. Ці структури можуть утворювати Біо-ПАР як єдине ціле макромолекули, полімери та/або тверді частинки [25–27]. Основна функція ПАР полягає у зниженні поверхневого та/або міжфазного натягу між двома не змішуваними фазами рідини (рідина та тверда речовина, або рідина та газ). Гліколіпіди є найбільш вивченими Біо-ПАР і складаються з різних цукрів, пов'язаних з β -гідроксигірними кислотами (вуглеводна головка та ліпідний хвіст), тоді як ліпопептиди складаються з циклогептапептидів з амінокислотами, пов'язаними з жирними кислотами різної довжини ланцюга (рис. 3.1.–3.9., табл. 3.1.) [28].

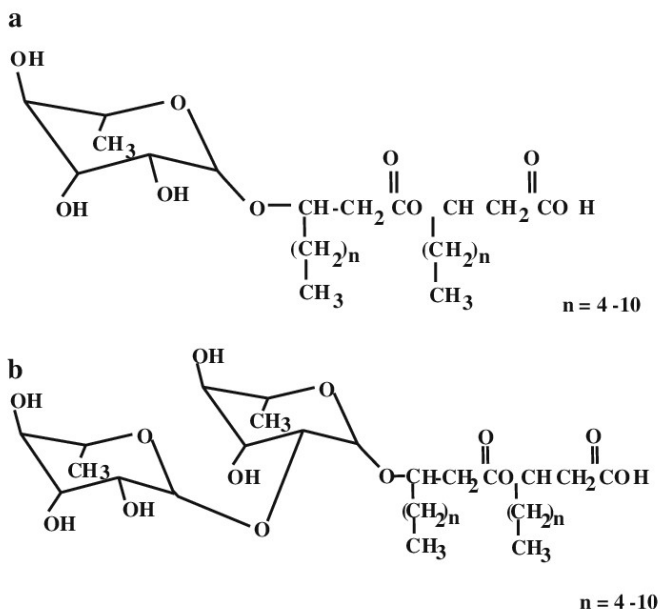


Рис. 3.1. Хімічна структура гліколіпідів; а – монорамноліпід, б – дирамноліпід, що синтезуються *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia thailandensis*, *Marinobacter sp.* штам MCTG107b [45]

Таблиця 3.1.
Фізико-хімічні властивості біоповверхнево-активних речовин та біомембран [28]

Біосурфактант	Хімічна структура	Мікроорганізм	Фізико-хімічні властивості	Фізіологічна роль	Літературне джерело
1	2	3	4	5	6
Гліколіпід	Рамноліпіди	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> DS10-129	Один або два цукри рамнози, пов'язані з 3-гідроксидекановою кислотою. ПН- 28 мН/м	Біоремедіація	[29]
	Софороліпіди	<i>Candida bombicola</i> <i>Candida tropicalis</i>	Дицукридні софорози (2-O-β-D-glucopyranosyl-D-глюкопіраноза) пов'язані з жирними кислотами. ПН- 32,1–34,2 мН/м	Миоча добавка для підвищення ефективності та видалення плям. Антибактеріальна активність.	[30]
	Трегалозеліпід	<i>Rhodococcus wratislaviensis</i> BN38 <i>Nocardia farcinica</i> BN26	Невідновлюючий дицукрид з двома одиницями глюкози, з'єднаний в α, α-1,1-глікозидний зв'язок ПН-24,4 мН/м	Біорепація забруднених ділянок, Протипухлинна активність	[31]
Ліпопептиди	Сурфактин	<i>Bacillus subtilis</i> K1 <i>Bacillus siamensis</i>	Гептациклічні депептиди, що складаються з двох кислот амінокислот, чотирьох гідрофобних амінокислот та C13-17 β-гидрокси жирних кислот ПН- 22–27,9 мН/м	Антибактеріальна Противірусна Антимікоплазмозна Протипухлинна Антикоагулянтна активності Інгібування ферментів	[32, 33]

Продовження таблиці 3.1.

1	2	3	4	5	6
Ліпопептиди	Ітурин	<i>Bacillus subtilis</i> KI <i>Bacillus</i> <i>siamensis</i>	Циклічний гептапептид із сімома амінокислотами та C13-16 β-жирними кислотами ПН-30–37 мН/м	Протигрибкова Біопестициди	[33, 34]
	Фенгіцин	<i>Bacillus subtilis</i>	Циклічні дека-депептиди з C14-21 β-гідрожижирною кислотою та 10 амінокислотами	Фунгітоксичний засіб проти ниткоподібних грибів, Імуномодулююча активність	[33, 34]
Біоемульгатори	RAG-1 емульсан	<i>Acinetobacter</i> sp. ATCC 31012 (RAG-1)	Ліпополісахариди. Ліпідна частина (ненасичені жирні кислоти C10-18) Поліцукридна частина (D-галактозамін, D-галактозамінуринова кислота, ді-аміно-6-дезокси-D-глюкоза	Збільшення площі поверхні та біодоступності погано розчинних субстратів Зв'язування з важкими металами	[35, 36]
	BD4-емульсан	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> BD4 13	Білково-поліцукридний комплекс. Поліцукридний фрагмент (повторювані гепта-цукриди L-рамнози, D-глюкуронової кислоти, D-маннози)	Стабілізує емульсії масло-вода	[37]
	Аласан	<i>Acinetobacter radioresistens</i> KA53	Поліцукри та білки, що містять аланін	Емульгуюча та солобілізуюча активність	[38]

Продовження таблиці 3.1.

Біомульгатори	Манопротейни	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Kluyveromyces marxianus</i>	Поліцукр і білок	Утворення стійкої емульсії з гідрофобними субстратами Стимуляція імунної системи	[39]
	Біомульгатори уронової кислоти	Halomonas eurihalina Klebsiella sp	Поліцукри-білки-уронової кислоти	Емульгування та детоксикація вуглеводнів	

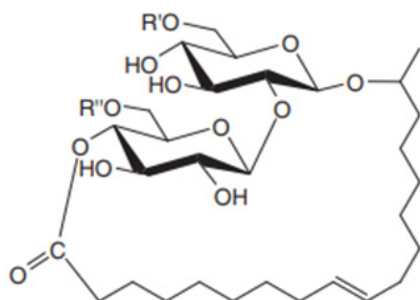


Рис. 3.2. Хімічна структура софороліпід синтезується *Candida* sp. [41]

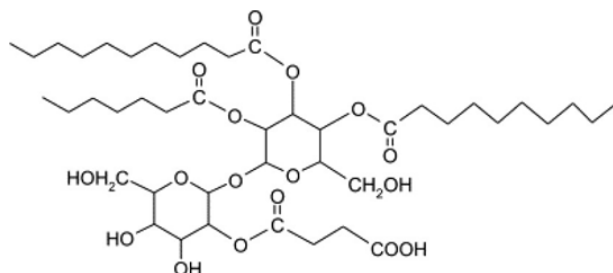


Рис. 3.3. Трегалозний ліпід синтезується *Rhodococcus erythropolis*. Трегалозний цукор, пов'язаний з довголанцюговими жирними кислотами (C20 - C90) [42]

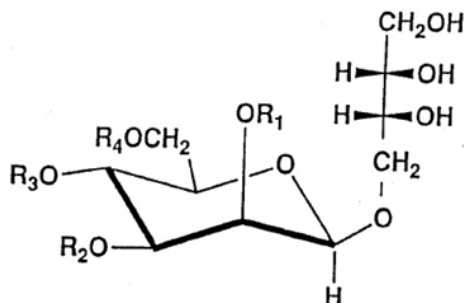
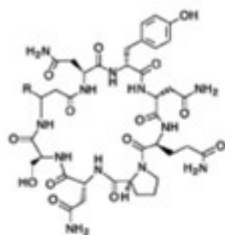
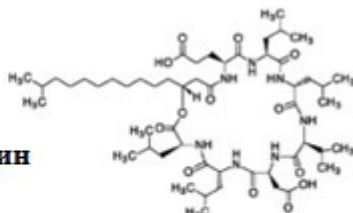


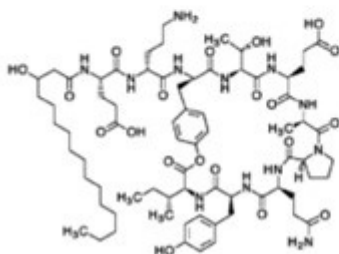
Рис. 3.4. Маннозилеритрол ліпід синтезується *Candida antarctica*, *Pseudozyma* sp. Довголанцюгові жирні кислоти, пов'язані з маннопіранозил-мезо-еритритолом, гідрофільною групою [43–44]



Ітурин



Сурфактин



Фенгіцин

Рис. 3.5. Ліпопептиди сурфактин, ітурин та фенгіцин синтезуються *Bacillus subtilis*. Циклічний ліпопептид, що складається з довгого гідроксильного ланцюга жирних кислот та гідрофобного амінокислотного кільця [46–47]

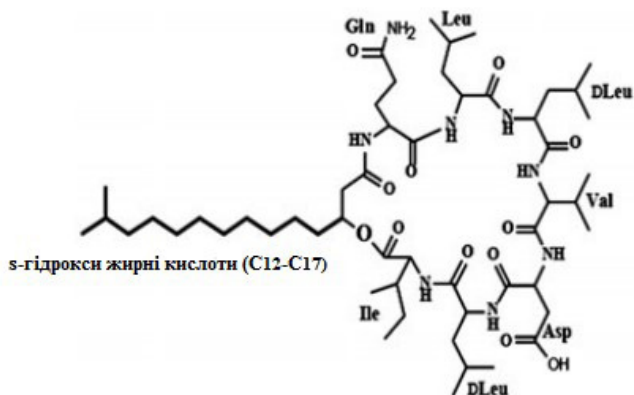
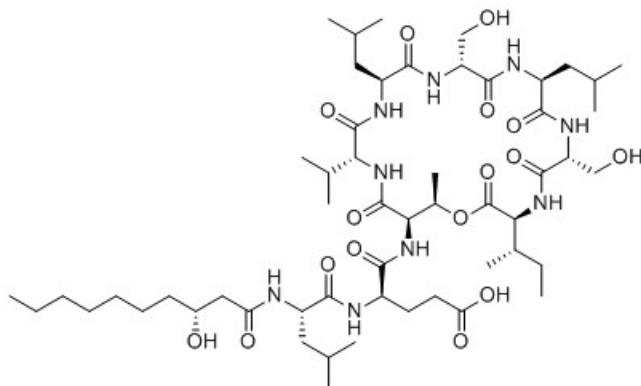


Рис. 3.6. Ліхенізін синтезується *Bacillus licheniformis*. Циклічний ліпопептид, подібний до сурфактину [48]



**Рис. 3.7. Віскозин синтезується *Pseudomonas fluorescens*.
Циклічний ліпопептид, подібний до сурфактину [48]**

Високомолекулярні біоемульгатори є більш складними, ніж біоповверхнево-активні речовини з низькою молекулярною масою і складаються з сумішей гетерополіцукридів, ліпополіцукридів, ліпопротеїдів та білків. Вони також відомі як екзополіцукриди ЕПЦ. Подібно низькомолекулярним біоповверхневим речовинам, молекули ЕПЦ можуть ефективно емульгувати дві не змішувальні рідини (наприклад, олію та воду), але, на відміну від них, менш ефективні при зниженні ПН. У забрудненому нафтою середовищі молекули ЕПЦ щільно зв'язуються з дисперсними вуглеводнями, запобігаючи злипанню та «розриву» крапель нафти. Цей процес відомий як стабілізація емульсії і пояснюється великою кількістю реакційноздатних груп в їх структурах [28]. Найбільш вивченими мікробними ЕПЦ є емульсан, аласан, ліпосан, сфінган та ксанта нова камедь (рис.3.8.–3.9.).

Також існують похідні емульсану, зокрема, аласан, який синтезується *Acinetobacter radioresistens* КА53. Аласан за своєю структурою це комплекс аніонних поліцукридів з аланіном та білками з високою молекулярною масою [49] та ліпосан, який синтезується *Candida lipolytica*. Ліпосан за своєю структурою це комплекс гетерополіцукридів та білка [50].

Відомий також високомолекулярний комплекс, який отримав назву сфінган. Він синтезується *Sphingomonas spp.* Сфінган

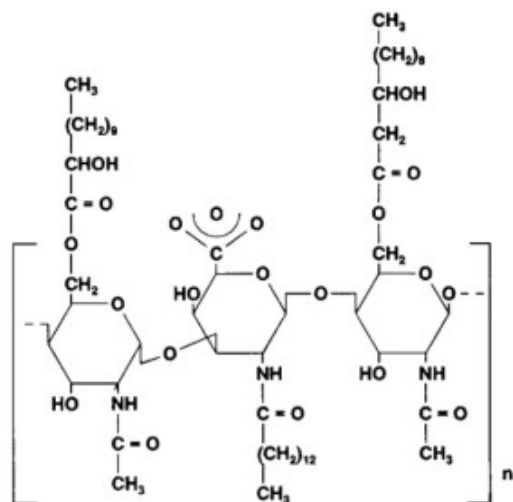


Рис. 3.8. Емульсан, синтезується *Acinetobacter calcoaceticus* RAG-1. Комплекс ліпогетерополицукридів (апоемульсан) та білка [28]

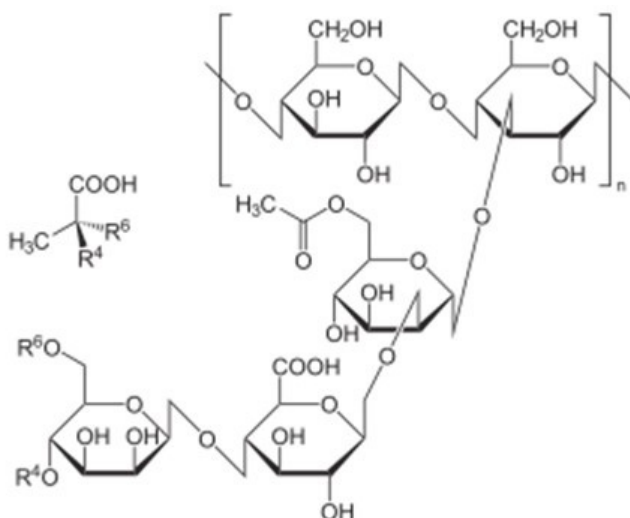


Рис. 3.9. Ксантанова камедь, синтезується *Xanthomonas campestris*. Ця структура складається з трьох до восьми моноцукрів [51]

за своєю структурою це комплекс лінійного каркасу тетрацукру (глюкоза-глюкуронова кислота-глюкоза-рамноза/манноза), до якого прикріплені бічні ланцюги глюкозилу, рамнозилу, маннозилу або ацетилу [52].

3.2. Морські бактерії, які виробляють Біо-ПАР

З морського середовища була виділена невелика кількість видів бактерій з можливістю виробляти Біо-ПАР, які знайшли комерційне використання або виявили потенціал у цьому відношенні. Деякі види спочатку були ізольовані із наземного середовища, як у випадку з *Pseudomonas* та *Rhodococcus*, але згодом були виділені також з морського середовища [53, 54].

***Pseudomonas*.** Представники роду *Pseudomonas*, класу *Gammaproteobacteria*, можуть колонізувати різноманітні середовища існування та виробляти різні молекули Біо-ПАР включаючи гліколіпіди (рамноліпіди) та ліпопептиди (наприклад, віскозин, амфізин, толаазин та сирингоміцин). Більшість ізольованих видів *Pseudomonas* походять з наземних середовищ існування, але представники цього роду поширені і в морському середовищі [55]. Найчастіше досліджується *Pseudomonas aeruginosa*, яка синтезує багато Біо-ПАР. Вона добре росте на різних вуглеводних та неуглеводних субстратах і синтезує рамноліпіди, які можуть утворювати стійкі емульсії з різними гідрофобними речовинами.

***Bacillus*.** Члени роду *Bacillus* були переважно ізольовані з нафтових пластів або забруднених нафтою ґрунтів і є ефективними виробниками Біо-ПАР. Штам *Bacillus methylotrophicus* USTBa був виділений з нафтового пласта і добре ріс на олії у водному середовищі. Він виробляє Біо-ПАР гліколіпідного типу [56]. Крім того, Біо-ПАР був стабільним при різних значеннях рН і високої температури (до 100 °C). Штам *B. subtilis* A1 зміг досягти 78% емульгувальної активності шляхом виробництва ліпопептидної біоповверхневої речовини при вирощуванні на сирій олії як єдиному джерелі вуглецю [57].

***Acinetobacter*.** *Acinetobacter* – рід грамнегативних гамма-протеобактерій, які є облігатними аеробами. Ці бактерії, належать до порядку *Pseudomonadales*. *Acinetobacter* повсюдно поширений рід і його представники часто зустрічаються в морському

середовищі. Багато видів цього роду є відомими деструкторами вуглеводнів, які виробляють позаклітинні ЕПЦ [58]. *Acinetobacter calcoaceticus* та *Acinetobacter radioresitensis* синтезують емульсан та аласан, відповідно [59, 60]. Штами *Acinetobacter calcoaceticus* та *Acinetobacter oleivorans*, виділені з Північної Атлантики у канадських водах, виробляють біоемульгатори при вирощуванні на нафтових вуглеводнях як єдиному джерелі вуглецю [61]. Враховуючи те, що ці штами пристосовані до холодного морського середовища Північної Атлантики, Біо-ПАР, які вони синтезують, можуть бути ефективними за низьких температур і суворих умовах півночі.

Antarctobacter. *Antarctobacter* – рід грамнегативних бактерій (порядок *Rhodobacterales*), які є облигатними аеробними бактеріями. Таксономічно описаний лише один вид *Antarctobacter heliothermus*, який був виділений в Антарктиді [62]. Штам *Antarctobacter sp.* TG22 був ізольований з морської води і встановлено, що він виробляє позаклітинний водорозчинний полімер глікопротеїнового типу (позначений TG22), який утворює стійкі емульсії з різними рослинними оліями при концентрації до 0,02% [63].

Rhodococcus. Рід *Rhodococcus* включає різноманітні в метаболічному відношенні види, здатні знаходитись в різних місцях існування [64]. Представники роду вивчалися головним чином на предмет їх здатності розкладати вуглеводні та забруднюючі речовини. *Rhodococcus erythropolis*, *Rhodococcus aurantiacus* та *Rhodococcus ruber* є одними з найвідоміших продуцентів біосурфактантів цього роду. З морського ґрунту виділено штам *Rhodococcus erythropolis* 3C-9, який продукував два види поверхнево-активних речовин за присутності н-гексадекану як єдиного джерела вуглецю [42]. Ці Біо-ПАР, як показала тонко-шарова хроматографія та мас-спектрометрія, були представлені 12 вільними жирними кислотами з довжиною ланцюга від C9 до C22 та двома гліколіпідами - глюко- та трегалозоліпідами. Гліколіпіди містять неразгалужені жирні кислоти з довжиною ланцюга від C10 до C18. За росту на водорозчинних субстратах *Rhodococcus erythropolis* 3C-9 не продукував Біо-ПАР.

Halomonas. *Halomonas* – всюдисущий рід порядку *Altreronadales*. Ці мікроорганізми зустрічаються в різноманітних місцях проживання як морських [58, 61] так і наземних середовищах, включаючи гіперсалінні озера [65], ґрунти [66] та гарячі джерела у водоймах [68]. Ці бактерії синтезують ЕПЦ з різними властивостями [63]. Екзополіцукрид термофільного штаму *Halomonas nitroreducens* WB1, який був ізолюваний з гарячого джерела, ефективно емульгував різні рослинні олії (E_{24} 68–85%) та аліфатичні вуглеводні (E_{24} 56–65%). Цей ЕПЦ здатний також зв'язувати різні метали. Моноцукри в молекулі ЕПЦ штаму WB1 представлені глюкозою, манозою, галактозою і уроновою кислотою (у слідових кількостях) [67].

Alcanivorax. *Alcanivorax* – це грамнегативний рід гамма-протеобактерій (порядок *Oceanospirillales*). Ці бактерії облігантні аероби. *Alcanivorax borkumensis* синтезує низькомолекулярний аніонний гліколіпідний Біо-ПАР при вирощуванні на вуглеводах [68]. Гліколіпід складається з глюкози, пов'язаної з тетрамерним ланцюгом жирних кислот довжиною C6-C10, і може бути зв'язаний із клітиною або може бути позаклітинним [69]. Штам *Alcanivorax borkumensis* SK2, який був виділений з морського середовища, при вирощуванні на нафті продукував удвічі більше Біо-ПАР ніж при відсутності вуглеводнів. При використанні важких вуглеводневих фракцій, які використовувались як єдине джерело вуглецю, синтез Біо-ПАР був найвищий (~70 мг/л) у порівнянні з використанням сирової нафти (50 ± 20 мг/л). Однак очищення біоповірхневої речовини було простішим, коли в культуру додавали важку нафтову фракцію, оскільки вона постійно залишалася на поверхні, а отже, не було домішок субстрату. Інший вид, штам *Alcanivorax dieselolei* B-5, є другим у роді, який синтезує Біо-ПАР. Хімічний аналіз Біо-ПАР показав, що це лінійні ліпопептиди [70].

Pseudoalteromonas. *Pseudoalteromonas* – рід порядку *Alteromonadales*, члени яких зазвичай зустрічаються в морському льоду та холодних водах та синтезують ЕПЦ. За своїм хімічним складом це гліколіпіди [71]. Штам *Pseudoalteromonas* sp. SM20310, виділений з арктичного морського льоду, продукував ЕПЦ з виходом 567 мг/л, причому маноза та глюкоза були домінуючими вуглеводами. ЕПЦ був необхідним для цієї бактерії щоб

вижити при високій солоності та при низькій температурі [71]. Морські *Pseudoalteromonas*, виділені в Антарктиді, синтезували ЕПЦ, який містив 40% білка з манозою, глюкозою та галактуровою кислотою [72]. Основною біологічною активністю цього штаму було утримання вологості та поглинання вільних радикалів, тобто антиоксидантів [72].

***Marinobacter*.** *Marinobacter* – рід із порядку *Alteromonadales*. Представники роду, такі як *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* та *Marinobacter algicola*, зазвичай виділяють із збагаченого нафтою морського середовища [73]. Хоча *Marinobacter* може використовувати вуглеводні як джерело вуглецю, різні дослідження показали, що вони також можуть рости і виробляти біосурфактанти на інших джерелах вуглецю, таких як глюкоза. *Marinobacter* синтезують ЕПЦ з високою емульгувальною активністю щодо вуглеводнів, яка перевершує комерційні синтетичні ПАР, зокрема, Tween 80 [74]. Штам *Marinobacter sp.* W1-16, який був ізольований з морських поверхневих вод Антарктики синтезує ЕПЦ (молекулярна маса 260 кДа) та його синтез сильно залежить від цукрового субстрату та температури інкубації. Оптимальною температурою при культивуванні 15 °C та у присутності 2% глюкози. Однак штам був здатний синтезувати ЕПЦ також при 4 °C, хоча і в менших кількостях. Припускається, що екзополіцукриди мають кризахисні функції [74].

3.3. Екологія бактерій, які синтезують Біо-ПАР

Бактерії, що виробляють Біо-ПАР, існують в різних природних умовах від водних (прісних, морських і підземних вод) до наземних (грунт, осад та мул). Морські середовища характеризуються широким діапазоном температур, рН та тиску, високою солоністю. Мікроорганізми, які існують у цих несприятливих умовах, за допомогою синтезу Біо-ПАР забезпечують клітинну адгезію до різних поверхонь, до потенційних джерел живлення, утримання води, концентрування поживних речовин.

Оскільки у природних умовах більше 90% мікроорганізмів знаходиться у складі структурованих консорціумів або біоплівки, біосурфактанти необхідні для їх формування. Так, ЕПЦ виконують роль матриксу в цих утвореннях, а низькомолекулярні

Біо-ПАР підтримують 3D архітектуру біоплівки і контролюють їх життєвий цикл [75]. Середовище може мати прямий вплив на типи Біо-ПАР, що синтезують мікроорганізми. Наприклад, ЕПЦ морських мікроорганізмів у порівнянні з не морськими мікробними ПАР містять більші рівні уронових кислот, що робить їх поліаніонними та високо реактивними [73]. Бактерії, що пристосовані до холодних вод у структурах своїх Біо-ПАР містять моноцукри манозу та галактозамін [72].

Морські мікроорганізми демонструють широкий спектр обмінних процесів. Продукувати Біо-ПАР можуть як аеробні, так і анаеробні бактерії [76]. У нафтових пластах знайдені мікроорганізми, які виробляють Біо-ПАР шляхом анаеробної біодеградації вуглеводнів за допомогою метаногенезу [77].

3.4. Застосування в медицині Біо-ПАР морських організмів

Більшість бактеріальних інфекцій людини можна успішно лікувати за допомогою антибіотиків. Однак, останніми роками спостерігається значне збільшення появи патогенних мікроорганізмів, резистентних до антимікробних препаратів та антибіотиків. Особливе занепокоєння викликає стрімкий ріст числа полірезистентних штамів. На разі це одна з актуальних проблем при лікуванні інфекційних хвороб, які викликають патогенні мікроорганізми [78]. Крім того, за останні десятиліття відкриття нових протимікробних препаратів значно зменшилось. Так, з 1962 року у медичну практику введено лише два нових класи антибіотиків, тоді як у період між 1940 і 1962 роками – 20 класів. Це пов'язано з труднощами ідентифікації нових ефективних сполук та великими витратами коштів на впровадження у лікарську практику [78]. Тому існує нагальний попит на нові антимікробні препарати та антибіотики.

Показано, що деякі біосурфактанти (Біо-ПАР) виявляють антимікробну активність щодо різних патогенних організмів. Крім того, ці сполуки проявляють антиадгезивну та антибіоплівкову активності, що робить їх корисними для уповільнення колонізації та руйнування попередньо сформованих патогенами біоплівок (табл. 3.2.) [79, 80]. Мікроорганізми, які синтезують такі

Біо-ПАР, були отримані з наземних зразків, забруднених вуглеводнями ділянок довкілля, та з морського середовища [81].

Таблиця 3.2.

**Антимікробні властивості рамноліпідів
з *Pseudomonas aeruginosa* [80]**

Мікроорганізм	МІК (мкг/мл)
1	2
Грамнегативні бактерії	
<i>Salmonella thyphimurium</i> ATCC 16028	128
<i>Proteus mirabillis</i> CECT 170	>256
<i>Enterobacter aerogenes</i> CECT 689	4
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	64
<i>Serratia marcescens</i> CECT 274	8
<i>Klebsiella pneumoniae</i> CECT 17832	0,5
<i>Alcaligenes faecalis</i> ATCC 8750	64
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 22636	64
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	256
<i>Bordetella bronchiseptica</i> ATCC 461	128
Грампозитивні бактерії	
<i>Arthrobacter oxydans</i> ATCC 8010	128
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	32
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	32
<i>Bacillus cereus</i> var. <i>mycoide</i> ATCC 11778	64
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	16
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9631	64
<i>Mycobacterium phlei</i> ATCC 41423	128
<i>Clostridium perfringens</i>	128
Дріжджі	
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	>256

Продовження таблиці 3.2.

1	2
<i>Rhodotorula rubra</i> CECT 1158	>256
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9763	>256
Гриби	
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 14604	>256
<i>Chaetium globosum</i> ATCC 6205	64
<i>Penicillium chrysogenum</i> CECE 2802	>256
<i>Penicillium funiculosum</i> CECE 2914	16
<i>Aureobasidium pullulans</i> ATCC 9348	>256
<i>Gliocadium virens</i> ATCC 4645	32
<i>Botrytis cinerea</i>	170
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	276
<i>Rhizoctonia solani</i>	109
<i>Fusarium solani</i>	75

3.4.1. Біо-ПАР як потенційні антимікробні, антиадгезивні та антибіоплівкові засоби

Біосурфактанти, що синтезуються морськими мікроорганізмами, володіють антимікробною, антиадгезивною та антибіоплівковою дією. Деякі з цих біосурфактантів ефективні проти широкого спектру патогенних мікроорганізмів, включаючи грампозитивні і грамнегативні бактерії, а також дріжджі *Candida albicans*.

Важливо, що вони є також ефективними проти клінічних ізолятів патогенних мікроорганізмів. Тому вони можуть бути альтернативою існуючим препаратам для лікування інфекцій, спричинених патогенними мікроорганізмами. Більшість морських мікроорганізмів, які синтезують Біо-ПАР, відноситься до актиноміцетів. Вони є симбіонтами морських макроорганізмів, таких, наприклад, як губки, молюски та інші морські безхребетні. Сполуки, які виробляють мікросімбіонти відіграють вирішальну роль

у захисті від хижаків, збудників інфекцій та біоплівкоутворюючих мікроорганізмів [82–85].

У більшості досліджень Біо-ПАР були структурно охарактеризовані лише частково, а їх активність вивчалась з використанням неочищених екстрактів, але є роботи, в яких з екстрактів виділені та охарактеризовані окремі хімічні сполуки. Так, з грубого екстракту культури морського актиноміцету *Nocardioopsis dassonvillei* MAD08 за допомогою зворотної високоефективної рідинної хроматографії були виділені 11 різних антимікробних речовин. З них тільки одна мала антибактеріальну і сурфактантну активність і була охарактеризована, як ліпопептид [86].

На відміну від інших ліпопептидів, таких як сурфактин, цей Біо-ПАР не мав гемолітичної активності [86]. Детальний хімічний аналіз показав, що біосурфактант, який синтезується штамом *Bacillus circulans* DMS-2, був сумішшю різних ізоформ фенгіцину (в т.ч. C15-, C16- та C17-фенгіцинів). Чотири різні поверхнево-активні фракції були розчинені та очищені за допомогою високоефективної рідинної хроматографії і лише одна з них, що містить C16-фенгіцин мала антимікробну активність (рис. 27) [87].

Крім того, кілька Біо-ПАР, виділених з морських мікроорганізмів мали антибіотичну активність порівняну з відомими антибіотиками, а деякі з них перевищували активність відомих антибіотиків проти патогенних та умовно-патогенних штамів бактерій. Для порівняння виявленої антимікробної активності різних сполук використовували мінімальну інгібувальну концентрацію (МІК) та мінімальну бактерицидну концентрацію (МБК). В порівнянні з відомими антибіотиками пеніциліном та стрептоміцином одна з фракцій ліпопептиду *Bacillus circulans*, була більш активною та показала показники МІК та МБК проти *Serratia marcescens*, *Proteus vulgaris* та *Enterobacter cloacae* в діапазоні від 10 до 60 мкг/мл, тоді як антибіотики пеніцилін та стрептоміцин показали МІК та МБК від 40 до 900 мкг/мл. Також було відмічено, що ця фракція ліпопептиду була активною проти *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* та *Staphylococcus aureus* які були стійкі до пеніциліну та стрептоміцину. Їх МІК та МБК від 60 до 800 мкг/мл та 200–1000 мкг/мл, відповідно [86].

Біо-ПАР гліколіпідної природи з *Streptomyces sp.* MAB36 проявляє інгібувальну активність щодо *Aspergillus niger* та *Candida albicans*. Встановлено, що його дія подібна ністатину [87]. Біо-ПАР з *Nocardioopsis dassonvillei* MAD08, була більш ефективною проти *Escherichia coli* та *Staphylococcus epidermidis*, ніж левоміцетин [88]. Біосурфактант, синтезований *Serratia marcescens*, виявляв більш високий інгібувальний ефект проти *Candida albicans* та *Pseudomonas aeruginosa* порівняно із звичайними протимікробними засобами флуконазолом та стрептоміцином [86].

Деякі з цих Біо-ПАР мали значну антиадгезивну та антибіоплівкову активності. Гліколіпід з тропічної морської бактерії *Serratia marcescens* у концентрації 50 мкг/мл пригнічував адгезію *Candida albicans* на 76%, *Pseudomonas aeruginosa* PA01 на 75% і *Bacillus pumilus* на 89%. Попередньо сформовані цими тест-мікроорганізмами біоплівки були зруйновані з ефективністю 55%, 62% і 55%, відповідно (рис. 28) [90]. Біо-ПАР гліколіпідної природи, синтезований морською актинобактерією *Brevibacterium casei* MSA19 і частково очищений за допомогою тонкошарової хроматографії, руйнував попередньо сформовані біоплівки *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* та *Vibrio sp.* в концентрації 30 мкг/мл [85].

Основною перешкодою широкому застосуванню є низька продуктивність біосинтезу біосурфактантів. Оптимізація поживних середовищ та умов вирощування може суттєво збільшити синтез цих сполук [90]. Крім того, склад поживного середовища може змінити структуру та активність Біо-ПАР. Антимікробна активність біосурфактантів з *Bacillus circulans*, залежала від використаного джерела вуглецю внаслідок продукування різних ізоформ. Біо-ПАР отримана з використанням культуральних середовищ, що містять гліцерин, крохмаль або сахарозу, виявляла вищу антимікробну активність у порівнянні з тією, що виробляється у середовищі з глюкозою [91]. Однак у випадку морських мікроорганізмів, які пристосовані до умов морського середовища, їх вирощування в лабораторних або в промислових масштабах може бути складним. Однією з альтернатив є отримання цих Біо-ПАР у гетерологічних господарів. В синтезі ліпопетиду у

Bacillus licheniformis NIOT-AMKV06, беруть участь три гени, *sfp*, *sfpO* та *srfA*. Завдяки їх клонування та експресії в *Escherichia coli* виробництво Біо-ПАР було збільшено з 3 г/л до 11,7 г/л [93].

Найбільш широко використовуваними Біо-ПАР є рамноліпіди, основним продуцентом яких є штами умовно-патогенної бактерії *Pseudomonas aeruginosa*. Але знайдені і непатогенні штами бактерій, які синтезують рамноліпіди. Так, штам *Streptomyces sp.* ISP2-49E, виділений із зразків морських донних відкладень затоки Галвестон (Техас), синтезує дирамноліпід: L-рамнозил-L-рамносил- β -гидроксидеканоїл- β -гидроксидеканоат (Rha-Rha-C10-C10) [93]. Рамноліпіди, які були виділені з цього штаму володіють широким спектром антимікробної та антиадгезивної активності [91]. Отже, використання альтернативних непатогенних продуцентів Біо-ПАР може сприяти їх безпечному використанню у медицині. Цього можна досягти, використовуючи або непатогенні природні організми, що продукують рамноліпіди, або сконструйовані непатогенні господарі, що експресують гени, необхідні для синтезу рамноліпідів [94–97].

Приклади антимікробної, антиадгезивної та антибіоплівкової активності синтезованих морськими мікроорганізмами Біо-ПАР, наведені у таблиці 3.3. [95].

Таким чином, антагоністична активність, що проявляється цими Біо-ПАР проти умовно-патогенних та патогенних мікроорганізмів робить їх кандидатами на використання як альтернативу традиційним антибіотикам.

3.4.2. Біо-ПАР з морських мікроорганізмів, як альтернативні протипухлинні засоби

Злоякісні онкологічні захворювання є небезпечними та ведуть доволі часто до летальних результатів [99]. Враховуючи його непередбачуваний характер, рак є основною проблемою для здоров'я людини. Протягом багатьох років були застосовані різні медичні технології до лікування онкохворих. Це пошук нових біомаркерів, створення препаратів для хіміотерапії та ін. Традиційна хіміотерапія раку в основному базується на застосуванні сильних цитотоксичних препаратів, які неспецифічно націлені на будь-який поділ клітин, що може призвести до незначного про-

Таблиця 3.3.
 Біосурфактанти, що синтезуються морськими мікроорганізмами, з антимікробною, антиадгезивною
 або антибіоплівковою активностями проти патогенних мікроорганізмів [96]

Мікроорганізм	Тип Біо-ПАР (структура)		Активність	Літературне джерело
	1	2		
<i>Brevibacterium casei</i> MSA19 (з морської губки <i>Dendrilla nigra</i>)		Гліколіпід (невідомо)	Антимікробна активність проти <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , haemolytic <i>Streptococcus</i> , <i>Vibrio parahaemolyticus</i> and <i>Vibrio vulnificus</i>	[90]
<i>Serratia marcescens</i> (морський корал <i>Symphyllia</i> sp.)		Гліколіпід (глюкоза + пальмітинова кислота)	Антимікробна, антиадгезивна та антибіоплівкова активності проти <i>P. aeruginosa</i>	[83]
<i>Streptomyces</i> sp. B3 (виділений з донного відкладення)		Гліколіпід (невідомо)	Антимікробна активність проти <i>C. albicans</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> and <i>Staphylococcus aureus</i>	[98]
<i>Streptomyces</i> sp. MAV36 (виділений з донного відкладення)		Гліколіпід (невідомо)	Антимікробна активність проти <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Shigella boydii</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Shigella dysenteriae</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>S. aureus</i> , <i>C. albicans</i> ,	[86]

Продовження таблиці 3.3.

1	2	3	4
<i>Bacillus circulans</i> (зі зразка морської води)	Ліпopeптид (невідомо)	Антимікробна активність проти <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> , <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>E. coli</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Serratia</i> <i>marcescens</i> та стійких до різних препаратів <i>E. coli</i> ^a , <i>K. pneumoniae</i> ^b та <i>S. aureus</i> ^c Антиадгезивна та антибіоплівкова активність проти <i>C. freundii</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> та <i>S. marcescens</i>	[86]
<i>Bacillus circulans</i> DMS-2 (морські зразки)	Ліпopeптид (суміш трьох різних фенілінів: β-гідрокси жирна кислота з 15, 16 або 17 атомами вуглецю +циклічний декапептид)	Антимікробна активність щодо <i>C. freundii</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. vulgaris</i> та <i>S. marcescens</i>	[86]
<i>Bacillus licheniformis</i> NIOT-AMKV06 (з морської губки <i>Acanthella sp.</i>)	Ліпopeптид (невідомо)	Антимікробна активність проти, <i>Shigella flexneri</i> <i>E. faecalis</i> , <i>S. aureus</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>Vibrio cholera</i> , <i>M. luteus</i> , <i>P. mirabilis</i>	[94]

Продовження таблиці 3.3.

1	2	3	4
<i>Brevibacterium aureum</i> MSA13 (з морської губки <i>Dendrilla nigra</i>)	Ліпопептид (Бревіфактин: метиловий ефір октадеканової кислоти + про-лей-глі-глі)	Антимікробна активність щодо <i>C. albicans</i> , <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>M. luteus</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> та <i>Streptococcus haemolytic</i>	[90]
<i>Nocardioopsis alba</i> MSA10 (з морської губки <i>Fasciospongia cavernosa</i>)	Ліпопептид (невідомо)	Антимікробна активність щодо, <i>S. aureus</i> та <i>S. epidermidis</i> , <i>C. albicans</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>M. luteus</i> ,	[91]
<i>Nocardioopsis dassonvillei</i> MAD08 (з морської губки <i>Dendrilla nigra</i>)	Не ідентифікований	Антимікробна активність щодо <i>S. aureus</i> , <i>M. luteus</i> та стійких до кількох препаратів <i>E. coli</i> ^d , <i>K. pneumoniae</i> ^d , <i>P. mirabilis</i> ^d , <i>P. aeruginosa</i> ^d , <i>S. typhi</i> ^d , <i>S. epidermidis</i> ^d , та <i>V. cholera</i> ^d	[86]

^a бактерії стійкі до ципрофлоксацину, офлоксацину, левофлоксацину, стрептоміцину, пеніциліну, цефазидину, норфлоксацину та офлоксацину; ^b бактерії стійкі до цефтріаксону, ципрофлоксацину, офлоксацину, левофлоксацину, норфлоксацину, піперациліну, тазобактаму, стрептоміцину та пеніциліну; ^c бактерії стійкі до метициліну та стрептоміцину; ^d бактерії стійкі до левоміцетину, стрептоміцину, окситетрацикліну, ампіциліну і еритроміцину.

довження життя, тому загальний прогноз для більшості пацієнтів залишається незадовільним, а лікування є неспецифічним, несефективним та токсичним. У цьому сенсі пошук та розробка нових протиракових препаратів, які можуть подолати стійкість ракових клітин до кількох препаратів, залишається великою проблемою. В даний час багато протиракових препаратів, що застосовуються в клінічній практиці, є природними продуктами або їх похідними [99, 100]. З цієї причини, ймовірно, що постійне та систематичне дослідження природних джерел, таких як морська мікробіота, призведе до появи нових біологічно активних речовин з протираковою активністю [101]. Мікробний синтез протиракових препаратів є вигідним порівняно з їх вилученням із природних джерел, таких як рослини, а можливість використання генно-інженерних мікроорганізмів може дати велику кількість необхідного продукту [7].

Біо-ПАР, зокрема ліпопептиди та гліколіпіди, можуть використовуватися як потенційні протиракові засоби, що перешкоджають процесам прогресування раку [93]. Ці сполуки досліджувались на етапах міжклітинного молекулярного розпізнавання, серед яких, зокрема, передача сигналу, диференціація клітин та імунна відповідь [102]. Крім того, у цих сполук низька токсичність, висока ефективність, вони легко розкладаються, що є важливими характеристиками будь-якого протиракового агента.

Основними механізмами дії цих сполук є затримка прогресування клітинного циклу, інгібування тирозинкіназ і ключових сигнальних шляхів, таких як Akt та JAK/STAT, зменшення ангіогенезу, активізація природних Т-кілерів (NKT) та індукція апоптозу через рецептори смерті в ракових клітинах. Крім того, ймовірним механізмом протипухлинної активності Біо-ПАР є їх здатність порушувати клітинні мембрани, що призводить до послідовності подій, які включають підвищення проникності мембран, лізис та витік метаболітів, це також ймовірний механізм протиракової активності [103].

Ліпопептиди, особливо сурфактин, був активним на різних клітинних лініях раку [104, 105]. Механізм дії сурфактину пов'язаний з гідрофобною природою жирних кислот ліпідної частини молекули, які взаємодіють з ацильним ланцюгом фосфоліпі-

дів мембран [106]. Одночасно його пептидна частина взаємодіє з полярними головками мембранних ліпідів пухлинних клітин. Сурфактин таким чином проникає в мембрану ракових клітин [106]. В залежності від моделей ракових клітин (молочної залози, товстої кишки, лейкемії, печінки, меланоми) сурфактин може мати різні механізми протиракової активності. Це інгібування матриксних металопротеїназ, що беруть участь у процесах інвазії та метастазування [107], зупинка клітинного циклу на стадії G2/M [109] та описані вище механізми дії гліколіпідів (табл. 3.4.) Цей циклічний ліпопептид складається з семи амінокислот, а ліпідний фрагмент, що містить 13–15 атомів вуглецю. продукується кількома штамми бацил, отриманих з різних джерел, включаючи морське середовище [104].

Таблиця 3.4.

Вплив сурфактину на розподіл клітин MCF-7 у клітинному циклі [107, 108]

Час (година)	G1 (%)	S (%)	G2/M (%)	Апоптоз клітин (%)
0	78.1 ± 3.2	12.7 ± 2.7	9.2 ± 2.4	2.24 ± 0.96
16	43.3 ± 2.7	41.1 ± 2.6	15.6 ± 1.5	8.06 ± 1.57
32	29.5 ± 1.5	47.3 ± 1.3	23.2 ± 1.6	11.3 ± 1.1
48	30.1 ± 2.1	27.2 ± 2.9	42.7 ± 1.9	13.2 ± 2.3

Клітини MCF-7 обробляли сурфактином (27,3 мМ) протягом 0, 16, 32 та 48 год відповідно. Потім клітини збирали у зазначений час, відмивали та аналізували за допомогою проточної цитометрії. Дані представляють середні значення ± SD трьох незалежних експериментів

Морська бактерія *Bacillus circulans* DMS-2 продукує ліпопептиди, а саме ізоформи сурфактину та фенгіцину, які мають високу та селективну антипроліферативну активність щодо клітинних ліній раку товстої кишки людини HCT-15 (IC₅₀ 80 мкг/мл) та HT-29 (IC₅₀ 120 мкг/мл) [105]. Крім того, різні штами *Bacillus* ви-

робляють ітурини (бациломіцини, ітурини та мікосубтиліни). Ці ліпопептиди є амфіфільними молекулами, що містять циклічний пептидний ланцюг, кон'югований з β -аміно жирною кислотою, яка містить 13-17 атомів вуглецю. Встановлено, що ітурин А, вироблений морським штамом *Bacillus megaterium*, суттєво блокує проліферацію та інгібує мережу передачі сигналів Akt, що веде до індукції апоптозу в клітинах раку молочної залози ліній MDA-MB-231 та MCF-7. Перш за все це пов'язано з блокуванням сигнальних молекул проліферації, які призводить до апоптозу ракових клітин. Також було виявлено, що ітурин А пригнічує ріст пухлини на моделі ксенотрансплантату раку молочної залози [109].

Інші Біо-ПАР, що синтезуються морськими мікроорганізмами, серед класу ітуринів, це халобацилін [110] та міксирини [111]. Халобацилін з *Bacillus sp.*, виділеного з морських донних відкладень поблизу басейну Гуаймас (Мексика), є цитотоксичним щодо клітинної лінії раку товстої кишки людини HCT-116 (IC50 0,98 мкг/мл) [111]. Міксирини (А, В і С), виділені зі штамів з морської *Bacillus sp.*, це циклічні октапептиди, що містять суміш L- та D-амінокислот з β -аміноалкановою кислотою. Подібним чином ці ліпопептиди були цитотоксичними щодо клітин раку товстої кишки. Найбільш активним був міксирин А [111]. Також існують різні аналоги це циклічні октапептиди, що містять суміш L- та D-амінокислот з β -аміноалкановою кислотою це сомоцистинамід А (рис. 3.10.) [111], фелютаміди [112], ракіцидин [113] та апра-токсин [114]. З ціанобактерії *Lyngbya majuscula* був отриманий ліпопептид сомоцистинамід А. Цей біосурфактант виявляв високу цитотоксичність проти лейкозу, раку легенів, молочної залози та

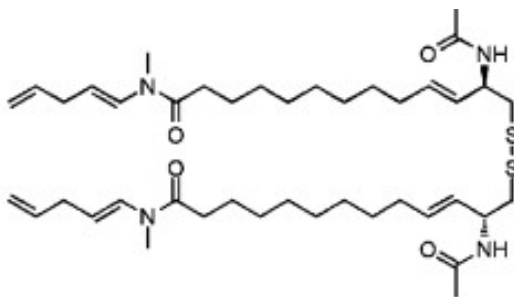


Рис. 3.10. Сомоцистинамід А

клітин простати зі значеннями IC50 від 0,97 мкМ до 1,3 мкМ залежно від клітинної моделі раку. Він вважається плюрипотентним інгібітором ангиогенезу та проліферації пухлинних клітин [114].

Фелутаміди А і В – це лінійні ліпопептиди, виділені з гриба *Penicillium fellutanum*. Було виявлено, що ці Біо-ПАР є цитотоксичними щодо клітин мишачого лейкозу P388, L1210 та клітин епідермоїдної карциноми людини KB [115,116]. Фелутаміди С і F, виділені з гриба *Aspergillus versicolor*, виявляли цитотоксичні ефекти проти раку шкіри SK-MEL-2, раку товстої кишки HCT-15, раку легенів A549 та раку яєчників SK-OV-3, зі значеннями IC50 від 3,1 до 33,1 мкМ для фелутаміду С та від 0,2 до 3,1 мкМ для фелутаміду F [112]. Ракіцидини – це протиракові ліпопептиди, що синтезуються морською бактерією *Micromonospora* [112, 117]. Серед цих ліпопептидів ракіцидин А виявляє високу цитотоксичність до клітинних ліній раку [118]. Ракіцидин В активний проти клітин плоскоклітинного раку стравоходу (EC109), клітин раку легенів (A549 і 95D), ракових клітин шлунка (SGC7901), ракових клітин шийки матки (HeLa) та клітин гепатоцелюлярної карциноми (HepG2) [120]. Це похідне ракіцидину індукувало апоптоз шляхом активації каспази -3, -7 та -9 та блокувало сигнальні шляхи JNK/p38. Похідні ракіцидину С і D, що містять короткі ліпідні ланцюги, не були цитотоксичними [113], хоча було встановлено, що похідне D перешкоджає інвазивності агресивних клітин раку молочної залози [113].

Апратоксини – це нова група циклічних ліпопептидів, виділених із морських ціанобактерій [114], які виявляють значну цитотоксичність щодо ряду ракових клітин. Також було показано, що гліколіпіди беруть участь у зупинці росту та апоптозі кількох видів ракових клітин [120].

Морське середовище є перспективним джерелом нових біоактивних сполук. Біо-ПАР морського походження, хоча і менш досліджені, ніж їх наземні аналоги мають деякі властивості, які роблять їх корисними для використання у медичній практиці, як альтернативи існуючим препаратам. Однак складність виділення та вирощування цих морських мікроорганізмів означає, що більша частина морського мікробного світу залишається невивченою.

3.5. Застосування Біо-ПАР у промисловості

Біо-ПАР стають важливими продуктами біотехнології для багатьох галузей промисловості, включаючи харчову, косметичну, нафтогазову та фармацевтичну. Доходи на світовому ринку, склали 1,5 млрд. дол. США в 2019 році, за прогнозами, зростуть на рівні понад 5,5% між 2020 і 2026 роками [121]. Побутові миючі засоби є найбільшим ринком застосування Біо-ПАР за ними йдуть косметичні вироби і засоби особистої гігієни та вироби харчової промисловості [122]. Серед ключових виробників Біо-ПАР це фірми Ecover, Jeneil Biotech, Evonik та Biotensidon (табл.3.5.).

Таблиця 3.5.

Компанії, що виробляють Біо-ПАР, та їх застосування у промисловості [124, 125]

Компанія	Держава	Продукти	Використовування у промисловості
1	2	3	4
AGAE Technologies LLC	США	Рамноліпіди	Фармацевтика, косметика, засоби особистої гігієни, біоремедіація та покращення видобутку нафти
Jeneil Biotech	США	Рамноліпіди	Засоби для очищення, покращення видобутку нафти
Biotensidon	Німеччина	Рамноліпіди	Сільське господарство (боротьба з шкідниками рослин), косметика, засоби для миття і очищення та покращення видобутку нафти
Fraunhofer IGB	Німеччина	Гліколіпіди, мікробні емільгатори	Засоби для миття очищення (гелі для душу, шампуні, миючі засоби)
Saraya Co. Ltd	Японія	Софороліпіди	Засоби для очищення, косметика, засоби гігієни
Ecover	Бельгія	Софороліпіди	Засоби для очищення, косметика, біомедицина, боротьба зі шкідниками, фармацевтика

Продовження таблиці 3.5.

1	2	3	4
Groupe Soliance	Франція	Софороліпіди	Косметика
MG Intobio Co. Ltd	Південна Корея	Софороліпіди	Продукти особистої гігієни
Evonik	Німеччина	Софороліпіди	Продукти для очищення
Lipotec S.A.U	Іспанія	Морські Біо-ПАР	Косметика, особистий догляд
Biopolymer International	Бельгія	Ксантанові та геланові камеді	Харчування, засоби особистої гігієни, фармацевтика, буріння нафтових свердловин, корм для тварин

Європа займає понад половину частки ринку використання Біо-ПАР, за нею йдуть США та країни Азії [122]. Зростаючий світовий інтерес до Біо-ПАР, обумовлений їх низькою токсичністю, біологічною здатністю до розкладання, низьким ступенем впливу на навколишнє середовище [123].

3.5.1. Використання Біо-ПАР морських мікроорганізмів у біоремедіації

Завдяки своїй біологічній здатності до розкладання та низькій екотоксичності Біо-ПАР можуть бути дуже корисними в процесах ремедіації, тому що збільшення видобутку нафти, газу, важких металів та інших необхідних для промисловості продуктів призводить до забруднення навколишнього середовища та створює зростаючу глобальну стурбованість щодо наземного та морського середовищ [126, 127]. Відповідно до їх фізико-хімічних властивостей Біо-ПАР можна застосовувати не тільки для очищення наземного середовища, але і для водного середовища [127, 128]. Біо-ПАР виступають альтернативою класичним ПАР, що застосовуються для рекультивациі [129].

Морські мікроорганізми, такі як *Halomonas*, *Marinobacter*, *Myroides*, а також морські дріжджі *Yarrowia lipolytica* можуть ві-

дігравати важливу роль у остаточному видаленні вуглеводнів із забруднених ділянок у результаті виробництва емульгаторів. Завдяки своїм різноманітним структурним і функціональним властивостям вони мають потенційні застосування в процесах біоре mediaції. *Halomonas sp.* беруть участь у видаленні розливої нафти шляхом синтезу емульгаторів. Молекули гліколіпідів, синтезовані *Halomonas sp.* на її клітинній поверхні підвищують розчинність вуглеводнів і, отже, збільшують їх біодоступність для деградації. Емульгуючий Біо-ПАР, синтезований *Halomonas sp.* може використовуватися для посилення процесів видобутку нафти в екстремальних середовищах [130], оскільки емульгатор, що виробляється цією бактерією при низькій температурі, може підвищити видобуток вуглеводнів у холодних середовищах [131].

Орнітинові ліпіди, інший тип біоемульгаторів, який синтезується *Myroides sp.* SM1. Вони здатні емульгувати сиру нафту та стабільні у широкому діапазоні температур та pH. Орнітинові ліпіди більш активні ніж синтетичні миючі засоби та сурфактин (рис.3.11.) [132].

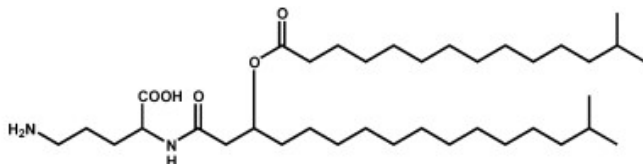


Рис. 3.11. Орнітиновий ліпід

Емульсан, з *Acinetobacter calcoaceticus* RAG-1, может мати потенційне застосування у збільшенні виходу нафти та очищенні розливів нафти [133]. Інші Біо-ПАР теж здатні до біоре mediaції (рис. 3.12.) [134].

Біоемульгатор, синтезований бактерією *Alteromonas sp.* 17, яка до сучасної класифікації перейменована на *Marinobacter*, також може бути використана для ефективної деградації вуглеводнів [135]. Бактерія *Marinobacter* синтезувала фосфоліпопептид, який є емульгатором. Створені емульсії мають низьку екотоксичність і змогли емульгувати сиру нафту у морській воді [136]. Гліколіпід,

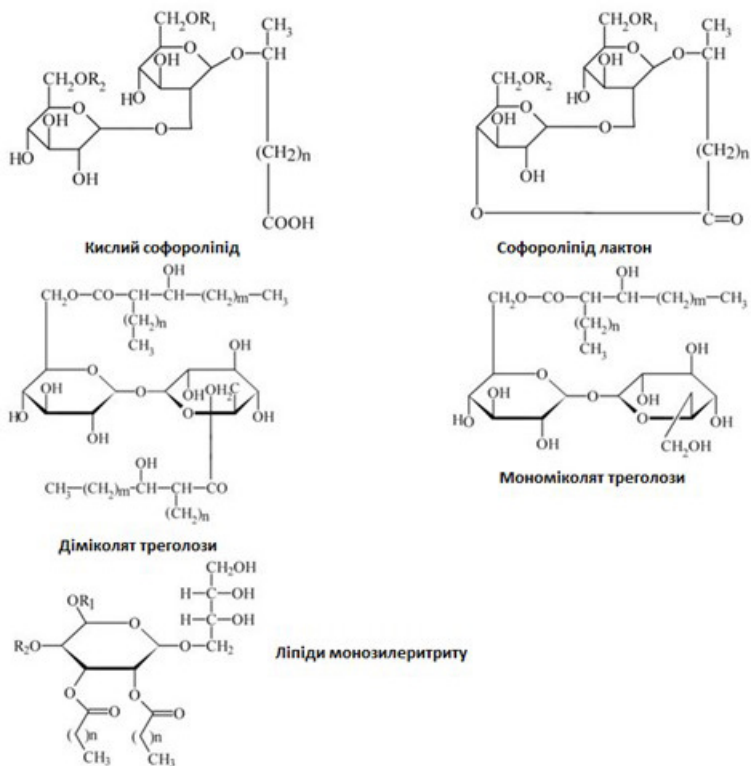


Рис. 3.12. Хімічна структура найбільш вивчених мікробних Біо-ПАР; кислий та лактоновий софороліпід, мономіколят та диміколят треглози, ліпіди маннозилеритриту [134]

виділений із штаму *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* SdK644, продемонстрував у 2 рази більшу здатність до солубілізації сирої нафти, ніж твін 80 [137].

Інший емульгатор "Yansan", синтезований аеробними дріжджами *Yarrowia lipolytica*, показав високу емульгуючу активність та стабільність у діапазоні pH 3–9. Його можуть використовувати у рецептурі емульсії, яка створена на основі перфторвуглецю та потенційна до деградації вуглеводнів [138]. Також використовували Біо-ПАР для біоремедіації, яка синтезується штамом *Candida lipolytica*, для біоремедіації [139].

3.5.2. Використання Біо-ПАР з морських мікроорганізмів в харчовій та косметичній промисловості

Завдяки посиленому використанню стабілізуючих та загущуючих речовин у харчових продуктах, у цій галузі шукають інгредієнти, які можуть покращити якість та властивості їжі. Гуміарабік, ксантанова камедь і лецитин широко використовуються у якості гідроколоїдних емульгаторів, які ефективно емульгують і стабілізують емульсії масло-у-воді.

У продуктах фірми Quorn, суху культуру гриба *Fusarium venenatum* використовують разом з яєчним білком, який використовується, як зв'язуючий компонент. Однак зміна клімату та коливання погоди, такі як посуха, спричиняють дефоліацію та впливають на виробництво продуктів на рослинній основі. З метою зменшення залежності від синтетичних та рослинних емульгаторів підвищується інтерес до пошуку нових інгредієнтів. На відміну від хімічних поверхнево-активних речовин, Біо-ПАР з морських організмів є нетоксичними та/або менш токсичними з високою стабільністю при екстремальних температурах, рН середовища та солоності. Хоч було ще проведено не багато досліджень щодо застосування Біо-ПАР, які були виділені з морських мікроорганізмів, у складі харчових та косметичних продуктів. Єдиним комерціалізованим мікробним емульгатором є Емульсан, вироблений з *Acinetobacter calcoaceticus*. За рахунок стабілізації емульсії покращується консистенція та аромат продуктів. Включення Біо-ПАР покращує реологію тіста, збільшує об'єм та емульгує жир і, таким чином, знаходить корисне застосування у хлібопекарській та м'ясопереробній промисловості. Стабілізатор емульсії глюкопротеїд, який був виділений з морської *Antarctobacter sp.* TG22, виробляє стабільні емульсії масло-у-воді з комерційними харчовими оліями [141]. Подібним чином два інших глюкопротеїнових емульгатори, виділені зі штамів морського мікроорганізму *Halomonas* TG39 і TG67, мають зіставні властивості порівняно з комерційними емульгаторами. Крім того, їх емульгаторна активність зберігається в кислих умовах та при високих температурах [63].

Ліпопептид MSA31, виділений з морського мікроорганізму *Nesterenkonia sp.*, є ефективним емульгатором, що володіє висо-

кою антиоксидантною активністю, а його додавання до кексів покращує м'якість і зберігає якість їжі. Ліпопептид MSA31 ефективно знижував 90% біоплівки, що утворюється золотистим стафілококом, і не був токсичним для креветок [141].

Біоемульгатор, синтезований морською бактерією *Enterobacter cloacae*, сприяє в'язкості кислих харчових продуктів [142]. У харчовій промисловості існує широка сфера застосування морських похідних Біо-ПАР у якості емульгаторів, стабілізуючих речовин, антимікробних та антиадгезивних/антибіотиків (таб. 3.6.).

Таблиця 3.6.

**Використання Біо-ПАР з морських мікроорганізмів
у косметичних продуктах [148]**

Мікроорганізм	Метод ідентифікації	Тип Біо-ПАР	Властивість Біо-ПАР	Літературне джерело
<i>Antarctobacter</i> sp. TG22	16SpPHK	Глікопротеїн	Стабілізатор емульсії	[140]
<i>Halomonas</i> TG39 і TG67	16SpPHK	Глікопротеїн	Емульгування та стабілізація харчової олії	[63]
<i>Nesterenkonia</i> sp. MSA31	16SpPHK	Ліпопептид	Стабілізатор емульсії, Антибіоплівкова активність, Антиоксидант	[141]
<i>Enterobacter cloacae</i>	АПП*	Біоемульгатор	Емульгуючий засіб харчових продуктів	[142]
<i>Nocardiopsis VITSISB</i>	Немає	Не визначений	Компонент зубної пасти	[147]
<i>Pseudomonas fluorescens</i> BD5	16S pPHK	Ліпопептид	Активність проти меланоми	[102]

Хімічні речовини, що використовуються в косметичних складах, часто викликають подразнення шкіри та алергію. Серед споживачів існує значний інтерес до натуральних косметичних продуктів. Заміна синтетичних ПАР в цих продуктах на Біо-ПАР

може зменшити такий шкідливий вплив. ПАР властивості є важливими для визначення типу та кількості Біо-ПАР у миючих, косметичних, фармацевтичних та інших галузях промисловості. Тип сполуки Біо-ПАР, що включається у косметичні склади, може бути обраний на основі їх емульгуючої активності та/або поверхневої активності. Існують такі показники, як гідрофільно-ліпофільний баланс (ГЛБ) та критична концентрація міцел (ККМ), відповідно. ГЛБ визначає полярність Біо-ПАР, що вказує на його розчинність у різних системах. Біо-ПАР з високим значенням ГЛБ вказує на те, що ці сполуки є високо гідрофільними, тоді як низьке значення ГЛБ демонструє високий ліпофільний ефект. На підставі значень ГЛБ можна прогнозувати якості Біо-ПАР хто з них буде емульгатором, протипінним агентом та змочувачем. Ці властивості Біо-ПАР необхідні для косметичних продуктів.

ККМ – це мінімальна концентрація Біо-ПАР, яка необхідна для зниження поверхневого натягу води. Вони утворюють міцели, які зменшують поверхневий та міжфазний натяги. Властивості Біо-ПАР визначаються довжиною бічного ланцюга, ненасиченими зв'язками та розміром гідрофільної групи. Зі збільшенням гідрофобності молекул Біо-ПАР ККМ має тенденцію до зменшення. Це означає, що потрібна менша концентрація Біо-ПАР для утворення міцел. *Burkholderia thailandensis*, що синтезує рамноліпіди Rha-Rha-C14-C14, має ККМ 225 мг/л^{-1} порівняно з *Pseudomonas aeruginosa* PG201, що синтезує Rha-Rha-C10-C10 600 мг/л^{-1} . Завдяки гідрофобності довших ланцюгів жирних кислот Біо-ПАР, синтезований *Burkholderia thailandensis*, має нижчий ККМ порівняно з *Pseudomonas aeruginosa* [143].

Піноутворюючі та емульгуючі властивості Біо-ПАР можна використовувати для різних продуктів, таких як миючі засоби, зволожувачі, зубну пасту та засоби особистої гігієни. Морські похідні Біо-ПАР мають високу протимікробну, антиадгезивну та біоплівкову активності проти патогенних мікроорганізмів. Ці властивості Біо-ПАР можуть бути використані у косметичних засобах та засобах для догляду за шкірою. Крім того, деякі Біо-ПАР мають антиоксидантну активність і можуть блокувати вільні радикали. Тому Біо-ПАР можна застосовувати як антиоксиданти в продуктах по догляду за шкірою [144].

Для використання Біо-ПАР в харчових та косметичних продуктах необхідно визначити токсичність цих сполук. Токсичність можна визначати на різних клітинних моделях та на тваринах. Гліколіпід (BS-SLSZ2), що синтезується морською бактерією *Staphylococcus lentus*, ефективно інгібував утворення біоплівки у вібріонів та *Pseudomonas aeruginosa*. Експерименти *in vivo* показали, що BS-SLSZ2 є нетоксичним по відношенню до артемії та ефективним у захисті *Artemia salina* від інфекцій *Vibrio harveyi* та *Pseudomonas aeruginosa* [145].

Штами морської *Pseudomonas sp.* MK90e8 та MK91CC8 синтезують массетолід А, новий циклічний депсипептид та віскозин. Массетолід А і віскозин проявляли *in vitro* протимікробну активність проти *Mycobacterium tuberculosis* та *Mycobacterium avium*. Массетолід А є нетоксичним для мишей у дозі 10 мг/кг [146].

Псевдофактин II це Біо-ПАР, який є ліпопептидом, виділенийний зі арктичного штаму *Pseudomonas fluorescens* BD5. Ця сполука визивала апоптоз клітин меланоми, але практично не впливала на фібробласти шкіри. Механізм загибелі клітин меланоми може бути обумовлений підвищеною проникністю плазматичних мембран міцелами Біо-ПАР [102].

Біо-ПАР, яка була виділена з морської бактерії *Nocardiopsis VITSISB*, була введена у склад зубної пасти. Ця сполука біла менш токсичною, ніж ПАР лаурилсульфат натрію [147].

3.5.3. Використання Біо-ПАР з морських організмів у промислових технологіях

Біо-ПАР використовуються у деяких промислових технологіях, наприклад, при охолодженні та біопереробці. Для системи охолодження, використовується однорідна суміш води та дрібних частинок льоду. Показано, що діацетильовані Біо-ПАР запобігають агломерації в крижаній воді суспензії, стабілізуючи дрібні частинки льоду і тим самим запобігають утворенню більших кристалів [148]. Крім того, добавки Біо-ПАР покращують плинні властивості біодизеля і, отже, покращують його ефективність при низькій температурі [149]. Біо-ПАР також застосовуються для поліпшення деградації складної біомаси в так званих процесах

біопереробки, щоб використовувати альтернативні промислові ресурси. Тут їх добавки можуть підвищити ефективність ферментативної деградації лігноцелюлози, ймовірно, шляхом поліпшення зв'язування субстрату застосовуваних целюлаз [150]. Добавки сурфактину та сапоніну збільшують виробництво водню з органічних твердих відходів [151].

Біо-ПАР корисні для різноманітних застосувань. Ці сполуки, які синтезовані морськими мікроорганізмами, можуть представляти інтерес, оскільки вони пристосовані для ефективної роботи в холодному або солоному середовищі, а отже, відкрити нові сфери застосування [152]. Біотехнологічне виробництво не морських Біо-ПАР активно використовує не тільки природні штами, а також штами, які отримані з гетерологічних систем [153,154]. Однак стратегії виробництва сполук із морських організмів-продуцентів, переважно бактеріальних видів досліджувались лише епізодично. Існують дослідження похідних гліколіпідів від *Alcanivorax borkumensis* [155] та ліпідів похідних трегалози від *Rhodococcus* [156].

Виробництво Біо-ПАР шляхом культивування морських бактерій може створити технічні проблеми для встановлення надійних та здійснених умов накопичення продукту синтезу [40]. Крім того, внутрішні регуляторні схеми можуть вимагати додавання масла для індукції біосинтезу Біо-ПАР [156], що, в свою чергу, ускладнює подальше накопичення продукту синтезу. Тому використання рекомбінантних технологій може бути перспективним підходом до накопичення Біо-ПАР з морських мікроорганізмів та їх впровадження у різні види промисловості. Для цього необхідно вивчати біохімію та генетику цих морських мікроорганізмів продуцентів Біо-ПАР. В подальшому використання сучасних технологій таких як метагеноміка та біоінформатика дозволить розширити кількість нових Біо-ПАР з морських мікроорганізмів та впровадити у різні сфери промисловості.

3.5.4. Генетична регуляція синтезу Біо-ПАР у морських мікроорганізмів

Генетична регуляція Біо-ПАР є основним фактором, що визначає рівень синтезу Біо-ПАР. Цю регуляцію вивчали за допомо-

гою мутантів, які зустрічаються в природі або викликані транспозицією нуклеотидних пар. Однак скринінг таких мутантів є важким через втрату здатності продукувати Біо-ПАР. Регулювання на молекулярному рівні синтезу Біо-ПАР в основному досліджували для рамноліпиду, що продукується *Pseudomonas aeruginosa*, і для кількох ліпопептидів *Bacillus*. Доведено, що виробництво Біо-ПАР контролюється механізмом кворуму, процесом регуляції генів, що залежить від щільності клітин. Це дозволяє бактеріальним клітинам експресувати певні специфічні гени при досягненні високої щільності клітин [159]. Завдяки цьому механізму, в основі бактеріального синтезу вторинних метаболітів, бактерії синтезують невелику дифузійну сигнальну молекулу, яка накопичується в середовищі росту і визначає активацію гена, коли мікроорганізми мають високу щільність. Встановлено, що гени, які відповідають за біосинтез ліпопептидів у *Bacillus* та *Pseudomonas*, мають високий ступінь структурної схожості між собою [160]. Ліпопептид сурфактин утворюється в результаті нерибосомного біосинтезу. Механізм синтезу ліпопептиду досить складний, оскільки нерибосомна пептидсинтетаза для амінокислотної частини сурфактину кодується чотирма відкритими рамками зчитування в опероні *SrfA*. Ген, що контролює нерибосомну пептидсинтетазу, складається з *SrfAA* (*SrfORF1*), *SrfAB* (*SrfORF2*) і *SrfAD*, які активують один одного [161]. З іншого боку, були виділені структурні гени, необхідні для синтезу ліпопептидного ліхенізину, і спостерігалася висока гомологія послідовності з *srfA* сурфактинсинтетази. Дійсно, оперон біосинтезу ліхенізину (так званий оперон *lic*) було клоновано та секвеновано шляхом виявлення складу трьох генів нерибосомної пептидсинтетази (*lic A*, *lic B* та *lic C*) [162]. Що стосується генів, які регулюють синтез гліколіпідів (рамноліпідів), то вони були виділені, охарактеризовані, а їх перенесення в бактерії інших видів, дозволило синтезувати рамноліпіди у гетерологічних хазяїв [159].

Гени, що беруть участь у біосинтезі рамноліпідів, кодуються плазмідами і діють під час пізньої експоненціальної, ранньої стаціонарної фази, коли спостерігається висока щільність клітин. Синтез рамноліпідів у *Pseudomonas aeruginosa* здійснюється опероном *rhlAB*, і для цього потрібно ще кілька додаткових генів

[163, 164]. Зокрема, шлях біосинтезу рамноліпиду включав гени *rhlA*, *B*, *C*, *R* і *I*. Оперон *rhlAB* і ген *rhlC* кодують дві рамнозилтрансферази (білки, що знаходяться в периплазмі), відповідальні за синтез, транспорт або стабілізацію рамнозилтрансферази всередині і в цитоплазматичній мембрані. Гени *rhlA*, *B* організовані в один оперон і коекспресуються з одного промотору [161]. Гени *rhlR* і *rhlI* діють як регулятори експресії генів *rhlA*, *B* і, у свою чергу, регулюються іншими генами (*lasR* і *lasI*) другої чутливої системи кворуму, знайдені в іншій області хромосоми *Pseudomonas aeruginosa* [161, 165].

Генетична регуляція високомолекулярних гетерополіцикридних біоемульгаторів більш складна ніж генетична регуляція низькомолекулярних ліпопептидів або рамноліпідів, оскільки вони вимагають більшої кількості генів, а генетична організація ще більш складна для поліцикридних-білкових комплексів [160]. Ця структурна організація генів синтезу Біо-ПАР в основному була вивчена на ґрунтових бактеріях. Подібні дослідження для морських бактерій майже не проводилися. Проведено дослідження генетичної регуляції модульних ферментів полікетидсинтетази [166, 167], нерибосомної пептидсинтетази та великих функціональних модульних білків, які беруть участь у синтезу біологічно активних молекул. Досліджувалась можлива кореляція між генами полікетидсинтетази та синтезом Біо-ПАР у актинобактерій, які були виділені з морської губки. Встановлено наявність гену *pks II* у *Bacillus aureum* MSA13, припустивши можливий біосинтез вторинних метаболітів із властивостями антибіотиків та Біо-ПАР [166].

Список використаної літератури

1. Bhatnagar I., Kim S.K. Immense essence of excellence: Marine microbial bioactive compounds // Mar. Drugs. – 2010. – V. 8 (10). – P. 2673–2701.
2. Nuñez R., Garateix A., Laguna A. et al. Caribbean marine biodiversity as a source of new compounds of biomedical interest and other industrial applications // Pharmacology online. – 2006. – V. 3 (1). – P. 111–119.

3. *Carvalho C. C., Fernandes P.* Production of metabolites as bacterial responses to the marine environment // *Mar. Drugs.* – 2010. – V. 8 (3). – P. 705–727.
4. *Satpute S.K., Banat I.M., Dhakephalkar P.K. et al.* Biosurfactants, bioemulsifiers and exopolysaccharides from marine microorganisms // *Biotechnol. Adv.* – 2010. – V. 28 (4). – P. 436–450.
5. *Shekhar S., Sundaramanickam A, Balasubramanian T.* Biosurfactant producing microbes and their potential applications: A review // *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* – 2015. – V. 45 (14). – P. 1522–1554.
6. *Ramiah N.* Facets and opportunities / In *Marine Microbiology* Ed. National Institute of Oceanography: Goa, India, 2005. – P. 1–6.
7. *Gudiña E.J., Rangarajan V., Sen R., Rodrigues L.R.* Potential therapeutic applications of biosurfactants // *Trends Pharmacol. Sci.* – 2013. – 34 (12). – P. 667–675.
8. *Marchant R., Banat I.M.* Microbial biosurfactants: Challenges and opportunities for future exploitation // *Trends Biotechnol.* – 2012. – V. 30 (11). – P. 558–565.
9. *Banat I.M., Makkar R.S., Cameotra S.S.* Potential commercial applications of microbial surfactants // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2000. – V. 53 (5). – P. 495–508.
10. *Edwards K.R., Lepo J.E., Lewis M.A.* Toxicity comparison of biosurfactants and synthetic surfactants used in oil spill remediation to two estuarine species // *Mar. Pollut. Bull.* – 2003. – 46 (10). – P. 1309–1316.
11. *Poremba K., Gunkel W., Lang S., Wagner F.* Toxicity testing of synthetic and biogenic surfactants on marine microorganisms // *Environ. Toxicol. Water Qual.* – 1991. – V. 6 (2). – P. 157–163.
12. *Poremba K., Gunkel W., Lang S., Wagner F.* Marine biosurfactants, III. Toxicity testing with marine microorganisms and comparison with synthetic detergents // *Z. Naturforsch.* – 1991. – V. 46 (2). – P. 210–216.
13. *Fracchia L., Cavallo M., Martinotti M.G., Banat I.M.* Biosurfactants and bioemulsifiers biomedical and related applications: Present status and future potentials/

- In Biomedical Science, Engineering and Technology
Ghista, D.N., Ed.; InTech: Rijeka, Croatia, 2012. – P. 325–370.
14. *Ibacache-Quiroga C., Ojeda J., Espinoza-Vergara G.* The hydrocarbon-degrading marine bacterium *Cobetia* sp. strain MM1IDA2H-1 produces a biosurfactant that interferes with quorum sensing of fish pathogens by signal hijacking // *Microb. Biotechnol.* – 2013. – V. 6 (4). – P. 394–405.
 15. *Yan X., Sims J., Wang B., Hamann, M.T.* Marine actinomycete *Streptomyces* sp. ISP2–49E, a new source of rhamnolipid // *Biochem. Syst. Ecol.* – 2014. – V. 55. – P. 292–295.
 16. *Abraham W.R., Meyer H., Yakimov M.* Novel glycine containing glucolipids from the alkane using bacterium *Alcanivorax borkumensis* // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1998. – V. 1393 (1). – P. 57–62.
 17. *Banat I.M.* The isolation of a thermophilic biosurfactant producing *Bacillus* sp // *Biotechnol. Lett.* – 1993. – V. 15 (4). – P. 591–594.
 18. *Hamed S.B., Smii L., Ghram A., Maaroufi A.* Screening of potential biosurfactant-producing bacteria isolated from seawater biofilm // *Afr. J. Biotechnol.* – 2012. – V. 11 (77). – P. 14153–14158.
 19. *Harayama S., Kasai Y., Hara A.* Microbial communities in oil-contaminated seawater // *Curr. Opin. Biotechnol.* – 2004. – V. 15 (3). – P. 205–214.
 20. *Stein J.L., Marsh T.L., Wu K.Y. et al.* Characterization of uncultivated prokaryotes Isolation and analysis of a 40-kilobase-pair genome fragment from a planktonic marine archaeon // *J. Bacteriol.* – 1996. – V. 178 (3). – P. 591–599.
 21. *Shahaliyan F., Safahieh A., Abyar H.* Evaluation of emulsification index in marine bacteria *Pseudomonas* sp. and *Bacillus* sp // *Arab. J. Sci. Eng.* – 2015. – V. 40 (7). – P. 1849–1854.
 22. *Chen W. C., Juang R. S., Wei Y. H.* Applications of a lipopeptide biosurfactant, surfactin, produced by microorganisms // *Biochem. Eng. J.* – 2015. – V. 103 (1). – P. 158–169.
 23. *Mulligan C. N.* Environmental applications for biosurfactants // *Environ. Pollut.* – 2005. – V. 133 (2). – P. 183–198.

24. *Mulligan C. N.* Recent advances in the environmental applications of biosurfactants // *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* – 2009. – V. 14 (5). – P. 372–378.
25. *Banat I. M.* Biosurfactants production and possible uses in microbial enhanced oil recovery and oil pollution remediation: a review // *Bioresour. Technol.* – 1995. – V. 51 (1). – P.1–12.
26. *Makkar R. S., Rockne K. J.* Comparison of synthetic surfactants and biosurfactants in enhancing biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons // *Environ. Toxicol. Chem.* – 2003. – V. 22 (10). – P. 2280–2292.
27. *Satpute S. K., Banpurkar A. G., Dhakephalkar P. K. et al.* Methods for investigating biosurfactants and bioemulsifiers: a review // *Crit. Rev. Biotechnol.* – 2010. – V. 30 (1). – P. 127–144.
28. *Uzoigwe C., Burgess J. G., Ennis C. J., Rahman P. K. S. M.* Bioemulsifiers are not biosurfactants and require different screening approaches // *Front. Microbiol.* – 2015. – V. 6. – P. 245.
29. *Rahman K. S. M., Thahira-Rahman J., McClean S. et al.* Rhamnolipid biosurfactants production by strains of *Pseudomonas aeruginosa* using low cost materials // *Biotechnol. Prog.* – 2002. – V. 18 (6). – P. 1277–1281.
30. *Joshi-Navare K., Khanvilkar P., Prabhune A.* Jatropha oil derived sophorolipids: production and characterization as laundry detergent additive. // *Biochem. Res. Int.* – 2013. – V. 3 (1). – P. 133–143.
31. *Christova N., Lang S., Wray V. et al.* Production, structural elucidation and in-vitro antitumor activity of trehalose lipid biosurfactant from *Norcadia farcinia* strain // *J. Microbiol. Biotechnol.* – 2014. – V. 24 (1). – P. 7–15.
32. *Ongena M., Jacques P.* *Bacillus* lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol // *Trends. Microbiol.* 2007. – V. 16 (3). – P. 115–125.
33. *Pathak K. V., Keharia H.* Application of extracellular lipopeptide biosurfactant produced by endophytic *Bacillus subtilis* K1 isolated from aerial roots of banyan (*Ficus benghalensis*) in microbially enhanced oil recovery (MEOR) // *3Biotech.* – 2014. – V. 4(1). – P. 41–48.

34. *Arrebola E., Jacobs R., Korsten L.* Iturin A is the principal inhibitor in the biocontrol activity of *Bacillus amyloliquefaciens* PPCB004 against postharvest fungal pathogens // J. Appl. Microbiol. – 2010. – V. 108. (2). – P. 386–395.
35. *Choi J. W., Choi H. G., Lee, W. H.* Effects of ethanol and phosphate on emulsan production by *Acinetobacter calcoaceticus* RAG-1 // J. Biotechnol. – 1996. – V. 45 (3). – P. 217–22.
36. *Ron E. Z., Rosenberg E.* Natural roles of biosurfactants // Environ. Microbiol. – 2001. – V. 3(4). – P. 229–236.
37. *Kaplan N., Zosim Z., Rosenberg E.* Reconstitution of emulsifying activity of *Acinetobacter calcoaceticus* BD5 emulsan by using pure polysaccharide and proteins // Appl. Environ. Microbiol. – 1987. – V. 53 (2). – P. 440–446.
38. *Walzer G., Rosenberg E., Ron E. Z.* The *Acinetobacter* outer membrane protein A (OmpA) is a secreted emulsifier // Environ. Microbiol. – 2006. – V. 8 (6). – P. 1026–1032.
39. *Lukondeh T., Ashbolt N., Rogers P.* Evaluation of *Kluyveromyces marxianus* F11 510700 grown on a lactose-based medium as a source of natural bioemulsifier // J. Ind. Microbiol. Biotechnol. – 2003. – V. 30 (12). – P. 715–730.
40. *Jain R. M., Mody K., Joshi N. et al.* Production and structural characterization of biosurfactant produced by an alkaliphilic bacterium, *Klebsiella* sp: evaluation of different carbon sources // Coll. Surf. B Biointerf. – 2013. – V. 108 (2). – P. 199–204.
41. *Van Bogaert I. N. A., Saerens K., De Muynck C. et al.* Microbial production and application of sophorolipids // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2007. – V. 76 (1). – P. 23–34.
42. *Peng F., Liu Z., Wang L., Shao Z.* An oil-degrading bacterium: *Rhodococcus erythropolis* strain 3C-9 and its biosurfactants // J. Appl. Microbiol. – 2007. – V. 102 (6). – P. 1603–1611.
43. *Adameczak M., Bednarski W.* Influence of medium composition and aeration on the synthesis of biosurfactants produced by *Candida antarctica* // Biotechnol. Lett. – 2000. – V. 22(4). – P. 313–316.
44. *Niu Y., Wu J., Wang W., Chen Q.* Production and characterization of a new glycolipid, mannosylerythritol lipid, from waste cook-

- ing oil biotransformation by *Pseudozyma aphidis* ZJUDM34 // Food Sci. Nutrit. – 2019. – V. 7(3). – P. 937–948.
45. *Funston S. J., Tsaousi K., Rudden M. et al.* Characterising rhamnolipid production in *Burkholderia thailandensis* E264, a non-pathogenic producer // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2016. – V. 100. – P. 7945–7956.
 46. *Vanittanakom N., Loeffler W., Koch U., Jung G.* Fengycin-a novel antifungal lipopeptide antibiotic produced by *Bacillus subtilis* F-29-3 // J. Antibiot. – 1986. – V. 39 (3). – P. 888–901.
 47. *Inès M., Dhouha G.* Lipopeptide surfactants: production, recovery and pore forming capacity // Peptides. – 2015. – V. 71 (1). – P. 100–112.
 48. *Coronel-León J., Marqués A. M., Bastida J., Manresa A.* Optimizing the production of the biosurfactant lichenysin and its application in biofilm control // J. Appl. Microbiol. – 2016. – V. 120 (1). – P. 99–111.
 49. *Toren A., Navon-Venezia S., Ron E. Z., Rosenberg E.* Emulsifying activities of purified alasan proteins from *Acinetobacter radioresistens* KA53 // Appl. Environ. Microbiol. – 2001. – V. 67 (3). – P. 1102–1106.
 50. *Toren A., Navon-Venezia S., Ron E. Z., Rosenberg E.* Emulsifying activities of purified alasan proteins from *Acinetobacter radioresistens* KA53 // Appl. Environ. Microbiol. – 2001. – V. 67 (3). – P. 1102–1106.
 51. *Kang Y., Li P., Zeng X. et al.* Biosynthesis, structure and antioxidant activities of xanthan gum from *Xanthomonas campestris* with additional furfural // Carbohydr. Polym. – 2019. – V. 216 (4). – P. 369–375.
 52. *Li H., Jiao X., Sun Y., et al.* The preparation and characterization of a novel sphingan WL from marine *Sphingomonas sp.* WG // Sci. Rep. – 2016. – V. 6 (37899). – P. 1–9.
 53. *Xia W. J., Luo Z. B., Dong H. P., Yu L.* Studies of biosurfactant for microbial enhanced oil recovery by using bacteria isolated from the formation water of a petroleum reservoir // Pet. Sci. Technol. – 2013. – V. 31 (21). – P. 2311–2317.
 54. *Ramaprasad E. V. V., Mahidhara G., Sasikala Ch., Ramana Ch. V.* *Rhodococcus electrodiphilus* sp. nov., a marine electro

- active actinobacterium isolated from coral reef // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. – 2018. – V. 68 (8). – P. 2644–2649.
55. *Bollinger A., Thies S., Katzke N., Jaeger K. E.* The biotechnological potential of marine bacteria in the novel lineage of *Pseudomonas pertucinogena* // Microb. Biotechnol. – 2020. – V. 13 (1). – P. 19–31.
 56. *Chandankere R., Yao J., Cai M. et al.* Properties and characterization of biosurfactant in crude oil biodegradation by bacterium *Bacillus methylotrophicus* USTBa // Fuel. – 2014. – V. 122 (1). – P. 140–148.
 57. *Parthipan P., Preetham E., Machuca L. L. et al.* Biosurfactant and degradative enzymes mediated crude oil degradation by bacterium *Bacillus subtilis* A1 // Front. Microbiol. – 2017. – V. 8 (1). – P. 193.
 58. *Hassanshahian M., Emtiazi G., Cappello S.* Isolation and characterization of crude-oil-degrading bacteria from the Persian Gulf and the Caspian Sea // Mar. Pollut. Bull. – 2012. – V. 64 (1). – P. 7–12.
 59. *Kaplan N., Rosenberg E., Jann B., Jann K.* Structural studies of the capsular polysaccharide of *Acinetobacter calcoaceticus* BD4 // Europ. J. Biochem. – 1985. – V. 152 (2). – P. 453–458.
 60. *Navon-Venezia S., Zosim Z., Gottlieb A. et al.* Alasan, a new bioemulsifier from *Acinetobacter radioresistens* // Appl. Environ. Microbiol. – 1995. – V. 61 (21). – P. 3240–3244.
 61. *Cai Q., Zhang B., Chen B. et al.* Screening of biosurfactant producers from petroleum hydrocarbon contaminated sources in cold marine environments // Mar. Pollut. Bull. – 2014. – V. 86 (1–2). – P. 402–410.
 62. *Labrenz M., Collins M. D., Lawson P. A. et al.* *Antarctobacter heliothermus* gen. nov., sp. nov., a budding bacterium from hypersaline and heliothermal Ekho Lak // Int. J. Syst. Bacteriol. – 1998. – V. 48 (4). – P. 1363–1372.
 63. *Gutiérrez T., Mulloy B., Black K., Green D. H.* Glycoprotein emulsifiers from two marine *Halomonas* species: Chemical and physical characterization // J. Appl. Microbiol. – 2007. – V. 103 (5). – P. 1716–1727.

64. *Finnerty W. R.* The genus *Rhodococcus* identification and classification // *Ann. Rev. Microbiol.* – 1992. – V. 46 (1). – P. 193–218.
65. *Poli, A., Moriello, V. S., Esposito, E. et al.* Exopolysaccharide production by a new *Halomonas* strain CRSS isolated from saline lake Cape Russell in Antarctica growing on complex and defined media // *Biotechnol. Lett.* – 2004. – V. 26 (21). – P. 1635–1638.
66. *Amjres H., Béjar V., Quesada E. et al.* Characterization of haloglycan, an exopolysaccharide produced by *Halomonas stenophila* HK30 // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2015. – V. 72 (1). – P. 117–124.
67. *Chikkanna A., Ghosh D., Kishore A.* Expression and characterization of a potential exopolysaccharide from a newly isolated halophilic thermotolerant bacteria *Halomonas nitroreducens* strain WB1 // *Peer J.* – 2018. – e4684.
68. *Schneiker, S., Martins dos Santos, V. et al.* Genome sequence of the ubiquitous hydrocarbon-degrading marine bacterium *Alcanivorax borkumensis* // *Nat. Biotechnol.* – 2006. – V. 24 (8). – P. 997–1004.
69. *Abraham, W.-R., Yakimov, M. M., Golyshin, P. N. et al.* *Alcanivorax borkumensis* gen. nov., sp. nov., a new, hydrocarbon-degrading and surfactant-producing marine bacterium // *Int. J. Syst. Bacteriol.* – 1998. – V. 48 (2). – P. 339–348.
70. *Qiao N., Shao Z.* Isolation and characterization of a novel biosurfactant produced by hydrocarbon-degrading bacterium *Alcanivorax dieselolei* B-5 // *J. Appl. Microbiol.* – 2010. – V. 108 (4). – P. 1207–1216.
71. *Holmström C., Kjelleberg S.* Marine *Pseudoalteromonas* species are associated with higher organisms and produce biologically active extracellular agents // *FEMS Microbiol. Ecol.* – 1999. – V. 30 (4). – P. 285–293.
72. *Nichols C. M., Lardièrre S. G., Bowman J. P. et al.* Chemical characterization of exopolysaccharides from Antarctic marine bacteria // *Microb. Ecol.* – 2005. – V. 49 (4). – P. 578–589.
73. *Gutierrez T., Singleton D. R., Berry, D. et al.* Hydrocarbon-degrading bacteria enriched by the deepwater horizon oil spill

- identified by cultivation and DNA-SIP // ISME J. – 2013. – V. 7 (11). – P. 2091–2104.
74. *Caruso C., Rizzo C., Mangano S. et al.* Isolation, characterization and optimization of EPSs produced by a cold-adapted *Marinobacter* isolate from Antarctic seawater // Antarctic Sci. – 2019. – V. 31(1). – P. 69–79.
 75. *Nicolaus B., Kambourova M., Oner E. T.* Exopolysaccharides from extremophiles: from fundamentals to biotechnology // Environ. Technol. – 2010. – V. 31 (10). – P. 1145–1158.
 76. *VanFossen A. L., Lewis D. L., Nichols J. D., Kelly R. M.* Polysaccharide degradation and synthesis by extremely thermophilic anaerobes // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 2008. – V. 1125 (3). – P. 322–337.
 77. *Jones D. M., Head I. M., Gray N. D. et al.* Crude-oil biodegradation via methanogenesis in subsurface petroleum reservoirs // Nature. – 2008. – V. 451 (7175). – P. 176–180.
 78. *Stein J. L., Marsh T. L., Wu K. Y. et al.* Characterization of uncultivated prokaryotes: Isolation and analysis of a 40-kilobase-pair genome fragment from a planktonic marine archaeon // J. Bacteriol. – 1996. – V. 178 (3). – P. 591–599.
 79. *Benincasa M., Abalos A., Oliveira I., Manresa A.* Chemical structure, surface properties and biological activities of biosurfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa* LBI from soap-stock // Antonie Van Leeuwenhoek. – 2004. – V. 85. – P. 1–8.
 80. *Haba E., Pinazo A., Jauregui O. et al.* Physicochemical characterization and antimicrobial properties of rhamnolipids produced by *Pseudomonas aeruginosa* 47T2 NCBI 40044 // Biotechnol. Bioeng. – 2003. – V. 81 (3). – P. 316–322.
 81. *Rodrigues L. R., Banat I. M., Teixeira J. A., Oliveira R.* Biosurfactants: Potential applications in medicine // J. Antimicrob. Chemother. – 2006. – V. 57 (4). – P. 609–618.
 82. *Jackson S. A., Borchert E., O’Gara F., Dobson A.D.W.* Metagenomics for the discovery of novel biosurfactants of environmental interest from marine ecosystems // Curr. Opin. Biotechnol. – 2015. – V. 33 (1). – P. 176–182.
 83. *Dusane D. H., Pawar V.S., Nancharaiyah Y.V. et al.* Anti-biofilm potential of a glycolipid surfactant produced by a tropical ma-

- rine strain of *Serratia marcescens* // Biofouling. – 2011. – V. 27 (6). – P. 645–654.
84. Kiran G. S., Hema T. A., Gandhimathi R. et al. Optimization and production of a biosurfactant from the sponge-associated marine fungus *Aspergillus ustus* MSF3 // Colloids Surf. Biointerfaces. – 2009. – V. 73 (2). – P. 250–256.
 85. Gandhimathi R., Kiran G. S., Hema T. A. et al. Production and characterization of lipopeptide biosurfactant by a sponge-associated marine actinomycetes *Nocardiopsis alba* MSA10 // Bioprocess Biosyst. Eng. – 2009. – V. 32 (6). – P. 825–835.
 86. Selvin J., Shanmughapriya S., Gandhimathi R. et al. Optimization and production of novel antimicrobial agents from sponge associated marine actinomycetes *Nocardiopsis dassonvillei* MAD08 // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2009. – V. 83 (3). – P. 435–445.
 87. Sivapathasekaran C., Mukherjee S., Samanta R., Sen R. High-performance liquid chromatography purification of biosurfactant isoforms produced by a marine bacterium // Anal. Bioanal. Chem. – 2009. – V. 395 (3). – P. 845–854.
 88. Manivasagan P., Sivasankar P., Venkatesan J. et al. Optimization, production and characterization of glycolipid biosurfactant from the marine actinobacterium, *Streptomyces* sp. MAB36 // Bioprocess Biosyst. Eng. – 2014. – V. 37 (5). – P. 783–797.
 89. Kiran G. S., Sabarathnam B., Selvin J. Biofilm disruption potential of a glycolipid biosurfactant from marine *Brevibacterium casei* // FEMS Immunol. Med. Microbiol. – 2010. – V. 59 (3). – P. 432–438.
 90. Yan X., Sims J., Wang B., Hamann M. T. Marine actinomycete *Streptomyces* sp. ISP2–49E, a new source of rhamnolipid // Biochem. Syst. Ecol. – 2014. – V. 55 (2). – P. 292–295.
 91. Lawrance A., Balakrishnan M., Joseph T.C. et al. Functional and molecular characterization of a lipopeptide surfactant from the marine sponge-associated eubacteria *Bacillus licheniformis* NIOT-AMKV06 of Andaman and Nicobar Islands, India // Mar. Pollut. Bull. – 2014. – V. 82 (1–2). – P. 76–85.

92. *Rodrigues L. R., Banat I. M., Teixeira J. A., Oliveira R.* Bio-surfactants: Potential applications in medicine // *J. Antimicrob. Chemother.* – 2006. – V. 57 (4). – P. 609–618.
93. *Tavares L.F.D., Silva P.M., Junqueira M. et al.* Characterization of rhamnolipids produced by wild-type and engineered *Burkholderia kururiensis* // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2013. – V. 97 (5). – P. 1909–1921.
94. *Gudiña E. J., Teixeira J. A., Rodrigues L. R.* Biosurfactants Produced by Marine Microorganisms with Therapeutic Applications // *Mar. Drugs.* – 2016. – V. 14 (2). – P. 1–15.
95. *Khopade A., Ren B., Liu X.Y. et al.* Production and characterization of biosurfactant from marine *Streptomyces* species B3 // *J. Colloid Interface Sci.* – 2012. – V. 367 (1). – P. 311–318.
96. *Siegel R.L., Miller K. D., Jemal A.* Cancer Statistics // *CA Cancer J. Clin.* – 2015. – V. 65. – P. 5–29.
97. *Bolhassani A.* Cancer chemoprevention by natural carotenoids as an efficient strategy // *Anticancer Agents Med. Chem.* – 2015. – V. 15 (8). – P. 1026–1031.
98. *Madadi N.R., Zong H., Ketkar A.* Synthesis and evaluation of a series of resveratrol analogues as potent anti-cancer agents that target tubulin // *Med.Chem.Comm.* – 2015. – V. 6 (3). – P. 788–794.
99. *Janakiram N. B., Mohammed A., Rao C.V.* Sea cucumbers metabolites as potent anti-cancer agents // *Mar. Drugs.* – 2015. – V. 13 (5). – P. 2909–2923.
100. *Niraula N. P., Kim S. H., Sohng J. K., Kim E. S.* Biotechnological doxorubicin production: Pathway and regulation engineering of strains for enhanced production // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2010. – V. 87 (4). – P. 1187–1194.
101. *Janek T., Krasowska A., Radwanska A., Lukaszewicz M.* Lipopeptide biosurfactant pseudofactin II induced apoptosis of melanoma A375 cells by specific interaction with the plasma membrane // *PLoS ONE.* – 2013. – V. 8. – e57991.
102. *Dey G., Bharti R., Sen R., Mandal M.* Microbial amphiphiles: A class of promising new-generation anticancer agents // *Drug. Discov.* – 2015. – V. 20 (1). – P.136–146.

103. *Sivapathasekaran C., Das P., Mukherjee S. et al.* Marine bacterium derived lipopeptides: Characterization and cytotoxic activity against cancer cell lines // *Int. J. Pept. Res. Ther.* – 2010. – V. 16 (1). – P. 215–222.
104. *Liu X., Tao X., Zou A. et al.* Effect of the microbial lipopeptide on tumor cell lines: Apoptosis induced by disturbing the fatty acid composition of cell membrane // *Protein Cell.* – 2010. – V. 1 (6). – P. 584–594.
105. *Park S.Y., Kim J. H., Lee Y.J. et al.* Surfactin suppresses TPA-induced breast cancer cell invasion through the inhibition of MMP-9 expression // *Int. J. Oncol.* – 2013. – V. 42 (1). – P. 287–296.
106. *Cao X.H., Wang A.H., Jiao R.Z. et al.* Surfactin induces apoptosis and G(2)/M arrest in human breast cancer MCF-7 cells through cell cycle factor regulation // *Cell Biochem. Biophys.* – 2009. – V. 55 (3). – P. 163–171.
107. *Dey G., Bharti R., Dhanarajan G. et al.* Marine lipopeptide Iturin A inhibits Akt mediated GSK3 β and FoxO3 α signaling and triggers apoptosis in breast cancer // *Sci. Rep.* – 2015. – V. 5. – P. 10316.
108. *Trischman J.A., Jensen P.R., Fenical W.* Halobacillin-A cytotoxic cyclic acylpeptide of the iturin class produced by a marine *Bacillus* // *Tetrahedron Lett.* – 1994. – V. 35(31). – P 5571–5574.
109. *Zhang H.L., Hua H.M., Pei Y.H., Yao X.S.* Three new cytotoxic cyclic acylpeptides from marine *Bacillus* sp. // *Chem. Pharm. Bull.* – 2004. – V. 52 (8). – P. 1029–1030.
110. *Suyama T. L., Gerwick W. H.* Stereospecific total synthesis of somocystinamide A // *Org. Lett.* – 2008. – V. 10 (20). – P. 4449–4452.
111. *Poulsen T.B.* A concise route to the macrocyclic core of the rakkidins // *Chem. Commun. (Camb.)*. – 2011. – V. 47 (48). – P. 12837–12839.
112. *Chen Q.Y., Liu Y., Luesch H.* Systematic chemical mutagenesis identifies a potent novel apratoxin A/E hybrid with improved *in vivo* antitumor activity // *ACS Med. Chem. Lett.* – 2011. – V. 2 (11). – P. 861–865.

113. *Nunnery J.K., Meyers E., Gerwick W.H.* Biologically active secondary metabolites from marine cyanobacteria // *Curr. Opin. Biotechnol.* – 2010. – V. 21 (8). – P. 787–793.
114. *Takeuchi M.I.* Rakicidin A effectively induces apoptosis in hypoxia adapted Bcr-Abl positive leukemic cells // *Cancer Sci.* – 2011. – V. 102 (3). – P. 591–596.
115. *Lee Y.M., Dang H.T., Hong J. et al.* A cytotoxic lipopeptide from the sponge-derived fungus *Aspergillus versicolor* // *Bull. Korean Chem. Soc.* – 2010. – V. 31 (1). – P. 205–208.
116. *Shigemori H., Wakuri S., Yazawa K. et al.* Fellutamide–A and fellutamide–B, cytotoxic peptides from a marine fish–possessing fungus *Penicillium fellutanum* // *Tetrahedron.* – 1991. – V. 47 (40). – P. 8529–8534.
117. *Wilson W.R., Hay M. P.* Targeting hypoxia in cancer therapy // *Nat. Rev. Cancer.* – 2011. – V. 11 (6). – P. 393–410.
118. *Xie J. J., Zhou F., Li E. M. et al.* FW523-3, a novel lipopeptide compound, induces apoptosis in cancer cells // *Mol. Med. Rep.* – 2011. – V. 4 (4). – P. 759–763.
119. *Plaza G.A., Chojniak J., Banat I.M.* Biosurfactant mediated biosynthesis of selected metallic nanoparticles // *Int. J. Mol. Sci.* – 2014. – V. 15. – P. 13720–13737.
120. *Ahuja K., Singh S.* Biosurfactants market size by product // *Glob.Market Insights.* – 2020. – P. 564.
121. *Singh P., Patil Y., Rale V.* Biosurfactant production: emerging trends and promising strategies // *J. Appl. Microbiol.* – 2018. – V. 126 (1). – P. 2–13.
122. *Desai J. D., Banat I. M.* Microbial production of surfactants and their commercial potential // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* – 1997. – V. 61 (1). – P. 47–64.
123. *Nikolova Ch., Gutierrez T.* Biosurfactants and Their Applications in the Oil and Gas Industry: Current State of Knowledge and Future Perspectives // *Front. Bioeng. Biotech.* – 2021. – V. 9 (626639). – P. 1–19.
124. *Randhawa K. K. S., Rahman, P. K. S. M.* Rhamnolipid biosurfactants past, present, and future scenario of global market // *Front. Microbiol.* – 2014. – V. 5 (454). – P. 1–8.

125. Souza, E.C., Vessoni-Penna T.C., de Souza Oliveira R.P. Biosurfactant-enhanced hydrocarbon bioremediation: An overview // Int. Biodeterior. Biodegradation. – 2014. – V. 89 (1). – P. 88–94.
126. Bezza F.A., Chirwa E.M.N. Pyrene biodegradation enhancement potential of lipopeptide biosurfactant produced by *Paenibacillus dendritiformis* CN5 strain // J. Hazard. Mater. – 2017. – V. 321 (5). – P. 218–227.
127. White D.A., Hird L.C., Ali S.T. Production and characterization of a trehalolipid biosurfactant produced by the novel marine bacterium *Rhodococcus* sp. strain PML026 // J. Appl. Microbiol. – 2013. – V. 115 (3). – P. 744–755.
128. Vecino X., Rodríguez-López L., Cruz J.M. et al. Sewage sludge polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) decontamination technique based on the utilization of a lipopeptide biosurfactant extracted from corn steep liquor // J. Agric. Food Chem. – 2015. – V. 63 (32). – P. 7143–7150.
129. Shah A., Shahzad S., Munir A. et al. Micelles as soil and water decontamination agents // Chem Rev. – 2016. – V. 116 (10). – P. 6042–6074.
130. Dhasayan A., Kiran G.S., Selvin J. Production and characterisation of glycolipid biosurfactant by *Halomonas* sp. MB-30 for potential application in enhanced oil recovery // Appl. Biochem. Biotechnol. – 2014. – V. 174 (7). – P. 2571–2584.
131. Pepi M., Cesaro A., Liut G., Baldi F. An antarctic psychrotrophic bacterium *Halomonas* sp. ANT-3b, growing on n-hexadecane, produces a new emulsifying glycolipid // FEMS Microbiol. Ecol. – 2005. – V. 53 (1). – P. 157–166.
132. Maneerat S., Bamba T., Harada K. et al. A novel crude oil emulsifier excreted in the culture supernatant of a marine bacterium, *Myroides* sp. strain SM1 // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2006. – V. 70 (2). – P. 254–259.
133. Rosenberg E., Zuckerberg A., Rubinovitz C., Gutnick D.L. Emulsifier of *Arthrobacter* RAG-1: isolation and emulsifying properties // Appl. Environ. Microbiol. – 1979. – V. 37 (3). – P. 402–408.

134. Banat I.M., Franzetti A., Gandolfi I. et al. Microbial biosurfactants production, applications and future potential // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2010. – V. 87 (2). – P. 427–444.
135. Al-Mallah M., Goutx M., Mille G., Bertrand J-C. Production of emulsifying agents during growth of a marine *Alteromonas* in sea water with eicosane as carbon source, a solid hydrocarbon // Oil and Chem. Poll. – 1990. – V. 6 (4). – P. 289–305.
136. Raddadi N., Giacomucci L., Totaro G., Fava F. *Marinobacter* sp. from marine sediments produce highly stable surface-active agents for combatting marine oil spills // Microb. Cell Fact. – 2017. – V.16 (1). – P. 1–13.
137. Zenati B. et al. A non-toxic microbial surfactant from *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* SdK644 for crude oil solubilization enhancement // Ecotoxicol. Environ. Saf. – 2018. – V. 154 (5). – P. 100–107.
138. Amaral P.F.F., da Silva J.M., Lehocky M. et al. Production and characterization of a bioemulsifier from *Yarrowia lipolytica* // Process. Biochem. – 2006. – V. 26 (41). – P. 1894–1898.
139. Santos D.K.F., Resende A.H.M., De Almeida D.G. et al. *Candida lipolytica* UCP0988 Biosurfactant: potential as a bioremediation agent and in formulating a commercial related product // Front Microbiol. – 2017. – V. 8 (10). – P. 767–778.
140. Gutierrez T., Mulloy B., Bavington C. et al. Partial purification and chemical characterization of a glycoprotein (putative hydrocolloid) emulsifier produced by a marine bacterium *Antarctobacter* // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2007a. – V. 76 (12). – P. 1017–1026.
141. Kiran G.S., Priyadharsini S., Sajayan A. et al. Production of lipopeptide biosurfactant by a Marine *Nesterenkonia* sp. and its application in food industry // Front Microbiol. – 2017. – V. 8 (1). – P. 1–15.
142. Iyer A., Mody K., Jha B. Emulsifying properties of a marine bacterial exopolysaccharide // Enzyme Microb. Technol. – 2006. – V. 38 (1–2). – P. 220–222.
143. Dubeau D., Deziel E., Woods D.E., Lepine F. *Burkholderia thailandensis* harbors two identical rhl gene clusters responsible for

- the biosynthesis of rhamnolipids // BMC Microbiol. – 2009. – V. 9 (2). – P. 263–274.
144. *Vecino X., Cruz J.M., Moldes A.B., Rodrigues L.R.* Biosurfactants in cosmetic formulations: trends and challenges // Crit. Rev. Biotechnol. – 2017. – V.37 (7). – P. 911–923.
 145. *Hamza F., Satpute S., Banpurkar A.* Biosurfactant from a marine bacterium disrupts biofilms of pathogenic bacteria in a tropical aquaculture system // FEMS Microbiol. Ecol. – 2017. – V. 93 (11). – P. 1–11.
 146. *Gerard J., Lloyd R., Barsby T. et al.* Massetolides A-H, antimycobacterial cyclic depsipeptides produced by two *Pseudomonads* isolated from marine habitats // J. Nat. Prod. – 1997. – V. 60 (3). – P. 223–229.
 147. *Das I., Roy S., Chandni S. et al.* Biosurfactant from marine actinobacteria and its application in cosmetic formulation of toothpaste // Der Pharm. Lett. – 2013. – V. 5 (5). – P. 1–6.
 148. *Kitamoto D., Yanagishita H., Endo A. et al.* Remarkable anti-agglomeration effect of a yeast biosurfactant, diacylmannosylerythritol, on ice-water slurry for cold thermal storage // Biotechnol. Prog. – 2001 – V. 17 (2). – P. 362–365.
 149. *Madihalli C., Sudhakar H., Doble M.* Mannosylerythritol lipid-A as a pour point depressant for enhancing the low-temperature fluidity of biodiesel and hydrocarbon fuels // Energy Fuels. – 2016. – V. 30 (5). – P. 4118–4125.
 150. *Liu J., Zhu N., Yang, J. et al.* Lipopeptide produced from *Bacillus* sp. W112 improves the hydrolysis of lignocellulose by specifically reducing non-productive binding of cellulases with and without CBMs // Biotechnol. Biofuels. – 2017. – V. 10 (1). – P. 1–12.
 151. *Sharma P., Melkania U.* Biosurfactant-enhanced hydrogen production from organic fraction of municipal solid waste using co-culture of *Escherichia coli* and *Enterobacter aerogenes* // Bioresour. Technol. – 2017. – V. 243 (4). – P. 566–572.
 152. *Perfumo A., Banat I.M., Marchant R.* Going green and cold: Biosurfactants from low-temperature environments to biotechnology applications // Trends Biotechnol. – 2018. – V. 36 (3). – P. 277–289.

153. *Roelants S.L.K.W., Ciesielska K., De Maeseneire S.L. et al.* Towards the industrialization of new biosurfactants: Biotechnological opportunities for the lactone esterase gene from *Starmerella bombicola* // *Biotechnol. Bioeng.* – 2016. – V. 113 (3). – P. 550–559.
154. *Kiran G.S., Ninawe A.S., Lipton, A.N. et al.* Rhamnolipid biosurfactants: Evolutionary implications, applications and future prospects from untapped marine resource // *Crit. Rev. Biotechnol.* – 2016. – V. 36 (3). – P. 399–415.
155. *Passeri A., Schmidt M., Haffner T. et al.* Marine biosurfactants. IV. Production, characterization and biosynthesis of an anionic glucose lipid from the marine bacterial strain MM1 // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 1992. – V. 37 (3). – P. 281–286.
156. *Bages S., White D.A., Winterburn J.B. et al.* Production and separation of a trehalolipid biosurfactant// *Biochem. Eng. J.* – 2018. – V. 38 (1). – P. 85–94.
157. *Tripathi L., Irorere V.U., Marchant R., Banat I.M.* Marine derived biosurfactants: A vast potential future resource // *Biotechnol. Lett.* – 2018. – V. 40 (10). – P. 1441–1457.
158. *Daniels, R., Vanderleyden, J., Michiels, J.* Quorum sensing and swarming migration in bacteria // *FEMS Microb. Rev.* – 2004. – V. 28 (3). – P. 261–289.
159. *Das P., Mukherjee S., Sen R.* Genetic regulations of the biosynthesis of microbial surfactants: An overview// *Biotech. Gen. Engin. Rev.* – 2008. – V. 25 (1). – P. 165–186.
160. *Sullivan E. R.* Molecular genetics of biosurfactants production// *Curr. Opinon. Biotech.* – 1998. – V. 9 (3). – P. 263–269.
161. *Yakimov M. M., Kroeger A., Slepak T. N. et al.* A putative lichenysis A Synthetase operon in *Bacillus licheniformis*: Initial characterization// *Biochim. Biophys. Acta.* – 1998. – V. 1399 (2–3). – P. 141–153.
162. *Ron E. Z., Rosenberg E.* Natural roles of biosurfactants// *Environ. Microb.* – 2001. – V. 3 (4). – P. 229–236.
163. *Perfumo A., Smyth T. J. P., Marchant R., Banat I. M.* Production and Roles of Biosurfactants and Bioemulsifiers in Accessing Hydrophobic Substrates/ *Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology.* – 2010. – P. 1501–1512.

164. *Ochsner U. A., Fiechter A., Reiser J., Witholt B.* Production of *Pseudomonas aeruginosa* rhamnolipid biosurfactant in heterologous hosts// *Appl. Environ. Microb.* – 1995. – V. 61 (9). – P. 3503–3506.
165. *Kiran G. S., Anto T.T., Selvin J., Sabarathnam B.* Optimization and characterization of a new lipopeptide biosurfactant produced by marine *Brevibacterium aureum* MSA13 in solid state culture// *Bioresource Tech.* – 2010. – V. 101(7). – P. 2389–2396.
166. *Selvin J., Sathiyarayanan G., Lipton A. N.* et al. Ketide synthase (KS) domain prediction and analysis of iterative type II PKS gene in marine sponge-associated actinobacteria producing biosurfactants and antimicrobial agents// *Front.Microb.* – 2016. – V. 7 (1). – P. 63.

ГЛАВА 4.

ВПЛИВ ФАКТОРІВ СЕРЕДОВИЩА НА СИНТЕЗ БІОАКТИВНИХ СПОЛУК У МОРСЬКИХ МІКРООРГАНІЗМІВ

Поява високопродуктивних технологій секвенування ДНК сприяла пошуків інтересу до мікробних вторинних метаболітів. За останні роки кількість секвенованих мікробних геномів значно виросла. Ці дані показали, що існує невідповідність між кількістю кластерів генів, які на основі біоінформатичних аналізів потенційно можуть бути залучені до вторинного синтезу метаболітів, та фактичною загальною кількістю хімічно охарактеризованих вторинних метаболітів для даного організму [1]. Вторинні метаболіти синтезуються ферментами, які кодується ко-локалізованими генами, утворюючи біосинтетичні кластери генів. Послідовності геномів мікроорганізмів показали, що вони часто містять різні генні кластери, які не пов'язані з хімічно охарактеризованими молекулами. Ці мовчазні генні кластери активуються у відповідь на конкретні умови навколишнього середовища тим самим сприяють адаптації мікроорганізмів до абіогенних та біогенних факторів [2, 3]. Для їх активації в лабораторних умовах використовуються як сучасні молекулярно-біологічні методи, так і класичні методи культивування мікроорганізмів.

4.1. Зміна компонентів живлення при культивуванні

Вплив концентрації поживних речовин на виробництво вторинних метаболітів при культивуванні це складний процес і варіюється досить помітно між різними мікроорганізмами. Так, антибіотик, який продукується морським актиноміцетом *Chainia purpureogena* при додаванні екстракту з морських водоростей *Laminaria* збільшує виробництво цього вторинного метаболіту [4]. Зміна різних джерел вуглецю та обмеження в культуральному середовищі фосфатів призводить до зміни обміну речовин у мікроорганізмів та зміни концентрації вторинних метаболітів, а в деяких випадках появи нових вторинних метаболітів [5]. Мікроелементи також впливають на синтез вторинних метаболітів морськими еукаріотичними та прокаріотичними мікроорганізмами [6].

Джерела вуглецю. Для морського гриба *Acremonium* sp. MMS540, який синтезує протипухлинні гліколіпіди, при культивуванні були використані різні концентрації глюкози або галактози в якості джерела вуглецю. Зміна глюкози на галактозу в культуральному середовищі не впливала на загальну кількість синтезованих гліколіпідів [7].

Для стимулювання антибіотика андріміда, який синтезується морською бактерією *Vibrio coralliilyticus* S2052 необхідно додавання до культурального середовища хітину. Ця бактерія є патогенною для коралів та ракоподібних. Продукція андрімідів була підвищена більш ніж в два рази в середовищі, що містить хітин в якості єдиного джерела вуглецю, в порівнянні з клітинами, вирощеними на глюкозі [8]. Проведений аналіз геному у *Vibrio coralliilyticus* показав, що п'ять біосинтетичних генів кластерів експресуються коли в середовищі культивування знаходиться хітин, а не глюкоза [9].

Штам морського гриба *Spicaria elegans* синтезує цитотоксичні цитохалазіни. При додаванні в культуральне середовище 2% крохмалю у якості єдиного джерела вуглецю збільшується кількість синтезованих вторинних метаболітів, при цьому при проведенні фізико-хімічного аналізу було встановлено, що з'явилися нові цитохалазіни. Один з них, проявив цитотоксичну активність проти лейкозної клітинної лінії HL-60. Ці експериментальні дані показують, що існує глибока взаємодія між регуляцією первинного і вторинного метаболізму, що призводить до значної зміни профілів вторинних метаболітів [10].

Джерела азоту. Джерела азоту необхідні для росту клітин, так і для синтезу вторинних метаболітів коли використовуються у якості джерела азоту амінокислоти, то вони можуть змінювати структуру вторинних метаболітів, у яких в молекулі присутні амінні та амідні фрагменти. Більш того, як і у випадку з джерелами вуглецю, баланс між проліферацією клітин і вторинним метаболізмом, який часто відбувається під час стаціонарної фази росту, також є важливим аспектом, який необхідно враховувати. Культивування морського гриба *Anthrinium saccharicola* для отримання вторинних метаболітів з антимікробною активністю показало, що коли в середовищі для культивування були високі концентрації

пептону та дріжджового екстракту у якості єдиного джерела азоту, то відмічено висока проліферація мікробних клітин. При низьких концентраціях цих продуктів синтез вторинних метаболітів з антибактеріальною активністю збільшився, але уповільнився ріст бактеріальних клітин [11]. Аналогічним чином, концентрація азоту, а не саме джерело азоту впливає на синтез протиракових і антибактеріальних метаболітів в *Skeletonema marinoi* [12]. В умовах азотного голодування синтезовані вторинні метаболіти, інгібували проліферацію клітин меланоми людини та впливали на ріст *Staphylococcus aureus*. При культивуванні в поживних середовищах дані якості вторинних метаболітів діатомової водорості не спостерігали [12].

Вивчення впливу 6 неорганічних джерел азоту та 13 окремих амінокислот в якості єдиних джерел азоту на синтез антибіотика SBR-22 в морському штамі *Streptomyces psammoticus* BT-408 показало, що найвищі виходи антибіотиків спостерігали при ферментації з використанням неорганічних нітратів [13].

Для вивчення ролі азоту у синтезі піоціаніну та збільшенні біомаси *Pseudomonas* sp. MCCB-103 використовували у якості єдиного джерела азоту 6 неорганічного сполук азоту, 24 окремих амінокислот, 8 вітамінів, сечовину і казамінові кислоти. Було показано, що сечовина є найкращим джерелом азоту, як для синтезу піоціаніну, так і для збільшення біомаси [14]. Для досягнення цього ефекту у культуральному середовищі необхідним був маніт та NaCl [14]. Різні джерела азоту збільшують синтез цитохалазіну, який синтезується морським грибом *Spicaria elegans*. Таким чином джерела азоту, будь то органічні, або неорганічні, складні або прості, мають неабиякий вплив, як на збільшення біомаси клітин, так і на синтез вторинних метаболітів у морських мікроорганізмів.

Джерела сірки і фосфору. Вплив різних концентрацій фосфору на синтез вторинних метаболітів у мікроорганізмів широко досліджувався [15]. Фосфорні неорганічні та органічні сполуки стимулюють синтез вторинних метаболітів та збільшення біомаси мікроорганізмів [15]. В свою чергу роль сірки розглядалася рідше. Взаємозв'язок між сіркою та вторинними метаболітами в основному описано для сірковмісних антибіотиків, що виробляють-

ся ґрунтовими мікроорганізмами та показано, що сірка стимулює процесу синтезу антибіотиків [1]. Дослідження проведені на грибах, які синтезують β -лактамі антибіотики показали, що сірковмісні амінокислоти впливають на індукцію і титрування кінцевого антибіотика [16]. В актиноміцетах *Saccharothrix algeriensis* цистеїн і цистин сприяли виробленню сірковмісних дитіолопірролонів [17]. Цілком ймовірно, що сірковмісні амінокислоти впливають на синтез сірковмісних антибіотиків, тому що вони безпосередньо забезпечують атоми сірки для їх біосинтезу [18].

Рідкісні елементи. Геохімія морського середовища досить унікальна в порівнянні з наземними екосистемами. Наприклад, галогени широко поширені в океанах. Така різноманітність відбивається в особливостях багатьох вторинних метаболітів, ізольованих з морських організмів. У наземних організмів рідко зустрічаються галогеновані вторинні метаболіти, але вони широко поширені в морських екосистемах [19].

Додавання 1 мМ NaBr до культури морського штаму *Aspergillus flavipes* призвело до синтезу шести відомих і двох невідомих цітохалазанів, а саме флавіхалазін N і O. Всі ці сполуки показали сильні протиракові властивості *in vitro* [20]. При додаванні KBr у культуральне середовище при ферментації морського гриба *Isaria felina* були виділені галогеновані вторинні метаболіти з високою протираковою активністю [12]. Морський гриб *Aspergillus sp.* SCSIO F063 синтезує сім нових хлорованих антрахінонів при вирощуванні, коли в картопляний декстрозний бульйон додавали морську сіль. Також при додаванні в це культуральне середовище NaBr були виявлені ще два бромованих антрахінони та негалогеновані антрахінони [21]. Також показано, що інші мікроелементи стимулюють вироблення вторинних метаболітів [22]. Аналогічним чином, зміни концентрації Mg^{2+} в певних середовищах, що використовуються для вирощування морського гриба *Ascotricha sp.* ZJ-M-5, дозволили отримати три нових похідних сеськвітерпенів, два з яких показали протипухлинні властивості [23].

Такі підходи також були успішними в бактеріях, ізольованих з екстремальних середовищ, таких як гідротермальні жерла. Наприклад, новий протипухлинний циклопептид (клаватустид C), отримано у відповідь на абіотичний стрес, викликаний підви-

щеними концентраціями Zn в культурі гриба *Aspergillus clavatus* C2WU, який був виділений з крабів *Xenograpsus testudinatus*, що мешкали у гідротермальних джерелах [24]. При додаванні Ni у культуральне середовище штам *Streptomyces* sp. WU20 синтезує нові антибіотики [25]. Особливий інтерес має ефект рідкоземельних металів, які включають 15 елементів від лантану (Lt) до лютецію (Lu) плюс скандій (Sc) та ітрій (Y). Показано, що Sc не тільки збільшує вироблення актинородину стрептоміцетами, а також бацитізину бацилами.

Порівняння твердих і рідких середовищ культивування. Виробництво вторинних метаболітів не тільки варіюється в залежності від складу середовища, але і від того яка структура середовища. Для дослідження синтезу антибіотиків *Streptomyces* sp. USC-633, виділеного з літорального середовища в рідкому та щільному середовищах з додаванням агару вводили одинадцять окремих джерел вуглецю, з додаванням і без додавання штучної морської води, а також додавали мікроелементи і окремі амінокислоти в кожену композицію [26]. Рівень синтезу антибіотиків у *Streptomyces* sp. USC-633 тестували на бактеріях *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ATCC 25922 і ATCC13706, *Enterococcus faecalis* і *Klebsiella pneumoniae*. Антагоністичні активності виявлені щодо *Enterococcus faecalis* і *Escherichia coli* ATCC 13706. Далі органічні екстракти з агару, де спостерігалась активність, готували і фракціонували для хімічних аналізів методом ЯМР для визначення структури антибіотиків. Також при культивуванні в рідких та твердих середовищах грибка *Penicillium adametzioides* AS-53, виділеного з губки, були виявлені різні профілі вторинних біоактивних метаболітів [27]. З органічних екстрактів, які були виділені з рідкого середовища за допомогою фізико-хімічних методів виявили новий спірохіназолін (N-форміллаптин А), нові бістіодикетопіперазини (адаметізину А і В) і кілька відомих меротерпенів. В екстрактах з твердого середовища були виявлені нові сесквітерпени (адамакореноли А і В), а також диметил-N-(фенілацетил)–глутамат. У рідкому середовищі їх не знайшли. Адаметизин А виявляв цитотоксичну активність однієї з чотирнадцяти протестованих ліній ракових клітин. Крім того, адаметизин А і

В проявляли широкий спектр антимікробної активності. Таким чином показано, що різні за станом культуральні середовища можуть стимулювати різні біоактивні вторинні метаболіти морських мікроорганізмів.

4.2. Вплив фізичних факторів на активізацію синтезу вторинних метаболітів

При дослідженні таксономичної характеристики виділених мікроорганізмів загальною прийнятою практикою є тестування оптимальних умов росту, включаючи, насамперед, температуру, солоність і рН середовища. Ці та інші чинники, які не мають прямого відношення до живильного складу середовища, можуть чинити сильний вплив на динаміку росту бактерій, а також можуть помітно впливати на продукцію біоактивних вторинних метаболітів. Морський штам *Alteromona*, найкраще росте при 28 °С, але найвищі концентрації антивірусного вторинного метаболіту синтезуються при культивуванні за 25 °С [28].

Температура. Температура грає велику роль при продукції біоактивних вторинних метаболітів. В одних випадках зниження або збільшення оптимальної температури, при якій здійснюється ріст бактерій, може давати збільшений вихід біоактивних вторинних метаболітів.

Типи ємностей, аерація і умови струшування. Недавні дослідження показали, що форма та конструкція ємностей для ферментації може мати помітний ефект на синтез біоактивних вторинних метаболітів у морських мікроорганізмів. Встановлено, що типи ємностей впливає на синтез вторинних метаболітів [29]. В сконструйованій конічно-циліндричній колбі зі швидкісним обертовим дисковим біореактором досліджені профілі синтезу вторинних метаболітів трьох літоральних ціанобактеріальних ізолятів, а саме *Oscillatoria* sp. AP17, *Leptolyngbya* sp. AP3b та *Chroococcus* sp. AP3U [29], та показано, що біоплівки утворюються тільки в біореакторі. Екстракти з ціанобактерій, які були вирощені у біореакторі виявляли більшу антибактеріальну активність в порівнянні з екстрактами з культур ціанобактерій, які були вирощені у планктоні в стандартному культуральному середовищі.

Велику роль в синтезі біоактивних вторинних метаболітів грає аерація культурального середовища. При зниженні концентрації кисню в середовищі де відбувалося культивування морської бактерії *Streptomyces* sp. CNQ-525, розвивалася гіпоксія. При цьому було відмічено, що відбувався перехід з синтезу антибіотика напірадіоміцину на синтез 8-амінофлавіоліну, проміжної ланки на шляху біосинтезу напірадіоміцину [32]. Таким чином, експериментально доказано, що різні конструкції біореакторів і аерація разом з режимами перемішування можуть впливати на синтез біоактивних вторинних метаболітів.

Осмотический стрес, солоність, рН середовища. Морські мікроорганізми існують в безлічі різних екологічних нішах, які регулюються різними фізико-хімічними факторами. За своїм складом морська вода являє собою суміш 96,5% води і 3,5% інших матеріалів, включаючи солі, розчинені гази, органічні речовини і нерозчинені частинки, при цьому 87% розчинених солей становить NaCl. Солоність океану становить приблизно 3,0–3,5%. Таким чином, розумно припустити, що експресія мікробних вторинних метаболітів, пов'язаних з морським середовищем, еволюціонувала для кращої адаптації в різних екологічних нішах [1]. Для перевірки ролі солоності води в синтезі біоактивних вторинних метаболітів були використані чотири ізоляти актиноміцетів і виявлено, що тільки один з них зберігав здатність синтезувати біологічно активний вторинний метаболіт при відсутності в культуральному середовищі морської води [33]. Актинобактерії, що синтезують антимікробний ліпід, при зміні солоності культурального середовища припиняють синтез цього біоактивного ліпиду, коли концентрація NaCl була 5%. При чому актинобактерії росли і при 20% концентрації NaCl в культуральному середовищі [34]. Автори [35], вивчали вплив осмолярності і солоності на продукцію вторинного метаболіту у наземного галофільного гриба *Aspergillus aculeatus*. При нормальних фізіологічних умовах для цього гриба він синтезував такі біоактивні вторинні метаболіти, як аспергілусол та секалоновая кислота D.

За дії сольового стресу морський гриб *Aspergillus terreus* PT06-2, який був ізолюваний з донних відкладень, збільшував синтез протимікробних вторинних метаболітів [36]. Коли цей

штам вирощували в діапазоні різних концентрацій солі, було отримано дванадцять відомих сполук і три нових метаболіти (терреміди А і В і террелактон А). При найвищій концентрації солі відмічено збільшення синтезу вторинних метаболітів грибом *Aspergillus terreus* PT06-2.

Морське середовище має слаболужну природу, тому зміна рН середовища в культивуальному середовищі може викликати стрес у мікроорганізмів. Рівень рН середовища впливає на синтез вторинних метаболітів та утворення біоплівки у *Streptomyces* sp. [37]. Відзначено, що в кислому середовищі (рН 4,0) не спостерігалось активності, але антимікробна активність виявлялась при рН до 10,0, а максимальна – при 9,0.

4.3. Спільне культивування та інші екологічні фактори

Спільне культивування різних організмів, безсумнівно, є одним з найбільш багатообіцяючих методів, який може стимулювати синтез біоактивних вторинних метаболітів і активувати мовчазні гени. У в навколишньому середовищі мікроорганізми стикаються не тільки зі змінами у абіотичних параметрів, але і беруть участь в видової та міжвидової взаємодії. Подібна взаємодія між організмами може викликати обмін речовинами та впливати на клітинний метаболізм. Все це ініціює процеси на підвищення конкурентоспроможності та пристосованості мікроорганізму к таким умовам середовища. При цьому активізується синтез біоактивних вторинних метаболітів, які і є молекулами пристосованості мікроорганізмів к змінам навколишнього середовища.

При спільному культивуванні деяких штамів грибів збільшується їх антагоністична активність [38]. Такий ефект ґрунтувався на синтезі різних біоактивних вторинних метаболітів. Ці метаболіти виявили протигрибкову активність [38]. З культури морського гриба, який культивувався з бактерією, був ізольований антибіотик песталон [39]. Зазвичай використовується спільне культивування різних бактеріальних і/або грибових штамів, але недавно було показано, що додавання бактеріофагів також може впливати на продукцію вторинних метаболітів. *Geobacillus* sp. E263, який був виділений з глибоководного гідротермального джерела, виробляв нову протипухлинну сполуку, хіноід, але тіль-

ки коли він був заражений бактеріофагом GVE2 [40]. Цей підхід є дуже перспективним для отримання нових біоактивних вторинних метаболітів.

Спільне культивування прокаріотів. Експерименти зі спільного культивування проводили або з віддалено родинними бактеріальними видами, або зі специфічними бактеріальними штамми. Різні штами прісноводної ціанобактерії *Microcystis aeruginosa* при внутрішньовидовому спільному культивуванні змінили профілі вторинних метаболітів, таких як ціанопептоліни, аероцікламіди і аеругінози [41]. Спільне культивування морських бактерій з патогенними бактеріями людини з *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus* spp. стимулювала в них синтез антибіотиків, біосурфактантів та інгібіторів кворуму і вони біли активними проти цих патогенних штамів бактерій [42,43]. Цікаво відзначити, що така індукція була присутня не тільки при спільному культивуванні штамів, але також і коли дві культури були фізично розділені напівпроникною мембраною, що свідчить про те, що молекули здатні дифундувати та стимулювати синтез біоактивних вторинних метаболітів [44]. Спільне культивування морських бактерій, виділених з аналогічних місць проживання призводить до зміни профілю вторинних метаболітів. При цьому синтезувались нові біоактивні сполуки, а також відмічено, що концентрація сполук, які синтезувались монокультурою бактерій різко зростала у культивуальному середовищі [45].

Бактерії *Tsukamurella*, *Nocardia*, *Rhodococcus*, *Mycobacterium* та *Corynebacterium*, синтезують міколінову кислоту. Вона активує синтез у *Actinomycetes* пігменти, актінорходін та ундецілпродігіозін [46]. Автори, показано, що просте додавання в середовище міколінової кислоти не викликає синтезу цих пігментів [46]. Для їх синтезу необхідний фізичний контакт між клітинами.

Спільне культивування прокаріотів та еукаріотів. Найбільш успішні підходи спільного культивування, які були зроблені на сьогоднішній день, це взаємодія між бактеріями та різними штамми грибів. При культивуванні бактерії роду *Thalassospira* з морським грибом *Libertella* sp., бактерія починає синтезувати чотири нових протипухлинних дитерпеноїди (ліберетелінони А – D) [47]. Два нових циклічних депсипептидів, емеріселламіді А і В,

виділені з культури морського гриба *Emericella* sp. при спільному культивуванні з морським актиноміцетом *S. arenicola* [48].

При ко-культивуванні морського гриба *Penicillium* sp. DT-F29 та бактерії *Bacillus* sp. B31 виділено 10 нових і 13 відомих 2,5-дикетопіперазинів [49]. Спільне культивування *Streptomyces fradiae* 007 та *Penicillium* sp. WC-29-5 призвів до синтезу двох нових полікетидів з протираковими властивостями [50].

При спільному ко-культивуванні морського гриба *Aspergillus fumigatus* MR2012 та двох гіпер-посушливих пустельних штамів *Streptomyces leeuwenhoekii* в культуральному середовищі ідентифікували нові сполуки лютеорід D і псевротин G [51]. *Streptomyces* можуть викликати модифікацію грибкових гістонів і, в свою чергу, викликати активацію біосинтетичних генних кластерів [52].

Спільне культивування еукаріот-еукаріот. Спільне культивування еукаріотичних видів викликає продукцію нових вторинних метаболітів. З морської губки *Ircinia oros* були виділені два штами *Penicillium* sp. (101, 102), які спільно культивували [53]. Монокультури цих штамів синтезували відомі сполуки, гризеофульвін і дехлорогірзофульвін зі штаму *Penicillium* spp. 101 і дегідрокурбуларін і курвуларін зі штаму *Penicillium* spp 102, а також нове похідне фузарієліна зі штаму *Penicillium* spp. 101. Спільне культивування, однак, індукувало продукцію відомих вторинних метаболітів норлічексантону і моноцеріну, що не спостерігалося при ферментації монокультури. Цитотоксична активність виявлена у дегідрокурвуларіна і моноцеріна проти клітинних ліній лімфоми миші L5178Y. Висунута гіпотеза про те, що, оскільки раніше норлічексантон і моноцерін були описані як антибактеріальні і протигрибкові сполуки, їх продукція в умовах спільного культивування могла бути викликана як реакція на стрес, спрямований на придушення росту штаму-конкурента, тому і з'явилася цитотоксична активність тих біоактивних сполук [53]. При ко-культивуванні гриба *Aspergillus sulphureus* KMM 4640 та гриба *Isaria felina* KMM 4639 утворювалися не тільки чотири відомих диорциноли (B - E), але також відкрито нове похідне диорцинолу J [54].

Хоча в багатьох експериментах зі спільного вирощування беруть участь штами грибів, виділені з однакових або подібних

морських середовищ існування, за умови, що задіяні штами, ймовірно, будуть в природній конкуренції один з одним, також було проведено ко-культивування грибів з різних екологічних середовищ. Глибоководний вид *Talaromyces aculeatus* був спільно культивований з *Penicillium variable* НХQ-Н-1, який був ізольований з мангрових [55]. При цьому були ідентифіковані відомі вторинні метаболіти, полікетиди та нафуредін А, але ще і чотири нових полікетіди, нафуредин В і пентиталарини А–С, при чому жоден з яких не синтезувався при культивуванні. Нафуредін В проявляє цитотоксичну активність відносно ряду ліній ракових клітин.

Додавання в культуральне середовище хімічних елісіторів. Взаємодія мікроорганізмів викликає синтез низькомолекулярних дифундуючих сполук, які в свою чергу активують генні біоактивні кластери. Експресія цих кластерів призводить до синтезу біоактивних вторинних метаболітів. Одними з таких молекул є аутоіндуктори, які модулюють процеси комунікації та чутливі до quorum sensing. Вони регулюють різні клітинні процеси, серед яких виробництво антибіотиків [56]. Регулювання quorum sensing залежить від концентрації аутоіндукторів в навколишньому середовищі. Quorum sensing-подібна регуляція, визначається концентрацією аутоіндуктора в навколишньому середовищі, щільність популяції клітин зростає, позаклітинна концентрація вироблених аутоіндукторів також збільшується, і ці молекули потім розпізнаються сусідніми клітинами, що ініціює регуляцію генів, які впливають на синтез біоактивних вторинних метаболітів різного типу, таких як полікетіди, β -лактамами і феназини [57]. Аутоіндукційні молекули, такі як, А-фактор, γ -бутиролактон, РІ-фактор, або 2,3-діаміно-2,3-біс (гідроксиметил), γ -1,4-бутандіол та гідроксиметилфуран стимулюють синтез антибактеріальних і протигрибкових сполук *Streptomyces* [52]. У деяких випадках регулювання також може бути негативним. Так у ізольованій з рисових полів *Burkholderia thailandensis*, у якої делеція *LuxR*- регулятора транскрипції чутливого до кворуму скасувала цей процес та викликала синтез нового полікетиду таїландамід-лактону [58].

Незважаючи на те, що аутоіндуктори, як правило, синтезуються однією і тією ж бактеріальною популяцією, які регулюють продукцію вторинних метаболітів, існують приклади як у мор-

ських, так і у наземних бактерій, які чутливі до quorum sensing відповіді та в них синтез вторинних метаболітів змінюється аутоіндукуючими молекулами інших штамів бактерій. Наприклад, морська грампозитивна бактерія *Halobacillus salinus* продукує фенетиламід, який змінює вироблення віолацеїну у *Chromobacterium violaceum* [59].

Аналіз геному деяких бактерій показав, що регулятори транскрипції *LuxR*-типу, здатні відчувати гомосерин-лактонові аутоіндуктори і регулювати експресію генів, які часто асоціюються з протеобактеріальними генними кластерами [60]. Це говорить про те, що регулятори quorum sensing можуть впливати на регуляцію транскрипції біоактивних генних кластерів. Було показано [61], що деякі бактеріальні групи кодують тільки системи для виявлення зовнішньої присутності аутоіндукторів.

Ці експериментальні дані показують, що додавання зовні аутоіндукторів запускають метаболічні процеси для синтезу вторинних метаболітів у морських мікроорганізмів. Дві інші широкі групи хімічних сигналів із помітним впливом на вироблення біоактивних вторинних метаболітів у бактерій та грибів – це антибіотики та епігенетично модифіковані сполуки [62].

Стосовно виробництва антибіотиків, відомо, що бактерії часто реагують на потенційні антибактеріальні загрози, виробляючи антибактеріальні вторинні метаболіти. При низьких дозах антибіотиків спостригалось збільшення синтезу біоактивних вторинних метаболітів, а при високих дозах антибіотику пригнічувалась проліферація клітин. Наприклад, промоміцин, триклозан, ARC2 і його похідне CI-ARC2 викликають синтез нових вторинних метаболітів у багатьох *Streptomyces* [62].

Молекули, які змінюють епігенетичні регуляції у грибів, особливо за допомогою ремоделювання хроматину, належать до другої групи [63]. Ремоделювання хроматину послаблює білково-ДНК-комплекси, зробивши ДНК більш доступною для транскрипційного механізму в клітинах. Морський донний гриб *Microascus* sp. синтезує новий циклодепсипептид під назвою EGM-556 при культивуванні в присутності інгібітора гістондеацетилази, суберланіліду гідроксамової кислоти [64]. Коли той же штам культивували в присутності цього інгібітору було отримано

сім полікетидів, включаючи чотири нових варіанти лактони А - В [65]. Подібним чином інгібітори гістондеацетилази, додані до культури морського гриба *Cochliobolus lunatus* (ТА26-46), призвели до значної зміни профілю вторинних метаболітів з утворенням двох невідомих 14-членних лактонів резорцилової кислоти, що містять бром, що до цього часу раніше не спостерігалось в молекулах такого типу [66].

Крім сполук, які перешкоджають ремоделюванню хроматину, існують інші сполуки, що впливають на клітинні механізми грибів, які викликають продукцію вторинних метаболітів. Додавання інгібітора F-актину ясплокенналіду до середовища культивування морського гриба *Phomopsis asparagi* призвело до виробництва трьох нових вторинних метаболітів, а саме хаєтоглобозину-510, -540 та -542, які виявляли цитотоксичну активність щодо клітинних ліній раку товстої кишки та лейкемії [67]. Крім того, у якості хімічних елєситорів морські мікроорганізми можуть використовувати не окремі хімічні речовини, а суміш біоорганічних сполук. Клітинна стінка грибів збільшує продукцію вторинних метаболітів, як у ціанобактерій, так і у стрептоміцетів. Ці суміші є похідними хітину (або N-ацетилглюкозаміну) різної довжини [62]. В останні кілька років асоційовані з господарем мікроорганізми були важливим джерелом нових біоактивних вторинних метаболітів, що характерно і для асоційованих з губками мікроорганізмів [68, 69]. Механічно зв'язок між господарем і мікробами є прикладом двонаправленої взаємодії, яка заснована як на прямому контакті між клітинами, так і на взаємодії на рівні молекул.

Отже, цілком ймовірно, що гомогенізовані екстракти тканини або метаболітів з тварини господаря будуть містити хімічні речовини, здатні впливати на різні процеси у мікробних клітинах та на біосинтез вторинних метаболітів. Це припущення ґрунтується на тому факті, що морські тварини і пов'язані з ними мікроорганізми спільно розвиваються і ця взаємодія спрямована на максимізацію їх пристосованості. Мікроорганізми можуть захищати господарів від паразитів або патогенних мікроорганізмів, в той час як господар забезпечує асоційованих з ним мікроорганізмів

різними метаболічними сполуками тим самим зменшуючи рівень енергії при обміні речовин [70].

Список використаної літератури

1. *Romano S., Jackson S., Patry S., Dobson A.* Extending the “One Strain Many Compounds” (OSMAC) Principle to Marine Microorganisms // *Mar. Drug.* – 2018. – V. 16 (7). – P. 244–273.
2. *Brakhage A. A.* Regulation of fungal secondary metabolism // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2013. – V. 11 (1). – P. 21–32.
3. *Van Wezel G. P., McDowall K. J.* The regulation of the secondary metabolism of *Streptomyces*: new links and experimental advances // *Nat. Prod. Rep.* – 2011. – V. 28 (7). – P. 1311–1340.
4. *Okazaki T., Kitahara T., Okami Y.* Studies on marine microorganisms. IV. A new antibiotic SS-228 Y produced by *Chainia* isolated from shallow sea mud // *J. Antibiot.* – 1975. – V. 28 (3). – P. 176–184.
5. *Sánchez S., Chávez A., Forero A. et al.* Carbon source regulation of antibiotic production // *J. Antibiot.* – 2010. – V. 63 (8). – P. 442–459.
6. *Smetanina O. F., Yurchenko A. N., Ivanets E. V. et al.* Unique prostate cancer-toxic polyketides from marine sediment-derived fungus *Isaria feline* // *J. Antibiot.* – 2017. – V. 70 (7). – P. 856–858.
7. *Dos Santos Dias A.C., Couzinet-Mossion A., Ruiz N. et al.* Sugar Induced Modification in Glycolipid Production in *Acremonium* sp. Revealed by LC-MS Lipidomic Approach // *Curr. Biotechnol.* – 2017. – V. 6 (3). – P. 227 – 237.
8. *Wietz M., Månsson M., Gram L.* Chitin stimulates production of the antibiotic andrimid in a *Vibrio coralliilyticus* strain // *Environ. Microbiol. Rep.* – 2011. – V. 3 (5). – P.559–564.
9. *Giubergia S., Phippen C., Nielsen K. F., Gram L.* Growth on Chitin Impacts the Transcriptome and Metabolite Profiles of Antibiotic-Producing *Vibrio coralliilyticus* S2052 and Photobacterium galathea S2753 // *Appl. Environ. Sci.* – 2017. – V. 2 (1). – P. e00141-16.

10. *Lin Z., Zhu T., Wei H. et al.* Spicochalasin A and New Aspochalasin from the Marine-Derived Fungus *Spicaria elegans* // *Eur. J. Org. Chem.* – 2009. – V. 2009 (18). – P. 3045–3051.
11. *Miao L., Kwong T. F. N., Qian P.-Y.* Effect of culture conditions on mycelial growth, antibacterial activity, and metabolite profiles of the marine-derived fungus *Arthrinium c.f. saccharicola* // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2006. – V. 72 (5). – P. 1063–1073.
12. *Lauritano C., Andersen J. H., Hansen E. et al.* Bioactivity Screening of Microalgae for Antioxidant, Anti-Inflammatory, Anticancer, Anti-Diabetes, and Antibacterial Activities // *Front. Mar. Sci.* – 2016. – V. 3 (68). – P. 1–12
13. *Sujatha P., Bapi Raju K. V. V. S. N., Ramana T.* Studies on a new marine streptomycete BT-408 producing polyketide antibiotic SBR-22 effective against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* // *Microbiol. Res.* – 2005. – V. 160 (2). – P. 119–126.
14. *Preetha R., Jayaprakash N. S., Philip R., Bright Singh I. S.* Optimization of carbon and nitrogen sources and growth factors for the production of an aquaculture probiotic (*Pseudomonas* MCCB 103) using response surface methodology // *J. Appl. Microbiol.* – 2006. – V. 102 (4). – P. 1043 – 1051.
15. *Sosa O. A.* Phosphorus redox reactions as pinch hitters in microbial metabolism // *Proc. Nat. Acad. Sci.* – 2017. – V. 115 (1). – P. 7–8.
16. *Nigan V.K., Verma R., Kumar A. et al.* Influence of medium constituents on the biosynthesis of cephalosporin-C // *Electron. J. Biotechnol.* – 2007. – V. 10 (2). – P. 230–239.
17. *Bouras N., Mathieu F., Sabaou N., Lebrihi, A.* Effect of amino acids containing sulfur on dithiolopyrrolone antibiotic productions by *Saccharothrix algeriensis* NRRL B-24137 // *J. Appl. Microbiol.* – 2006. – V. 100 (2). – P. 390–397.
18. *Demain A. L., Zhang J.* Cephalosporin C Production by *Cephalosporium acremonium*: The Methionine Story // *Crit. Rev. Biotechnol.* – 1998. – V. 18 (4). – P. 283–294.
19. *Gribble G.* Biological Activity of Recently Discovered Halogenated Marine Natural Products // *Mar. Drug.* – 2015. – V. 13 (7). – P. 4044–4136.

20. *Si Y., Tang M., Lin S. et al.* Cytotoxic cytochalasans from *Aspergillus flavipes* PJ03-11 by OSMAC method // *Tetrahedron Lett.* – 2018. – V. 59 (18). – P. 1767–1771.
21. *Huang H., Wang F., Luo M. et al.* Halogenated Anthraquinones from the Marine-Derived Fungus *Aspergillus* sp. SCSIO F063 // *J. Nat. Prod.* – 2012. – V. 75 (7). – P. 1346–1352.
22. *Fil T. P., Pallini H. F., Amaral L. et al.* Copper and Manganese Cations Alter Secondary Metabolism in the Fungus *Penicillium brasilianum* // *J. Braz. Chem. Soc.* – 2016. – V. 27 (8). – P. 144–1451.
23. *Wang W.-J., Li D.-Y., Li Y.-C. et al.* Caryophyllene Sesquiterpenes from the Marine-Derived Fungus *Ascotricha* sp. ZJ-M-5 by the One Strain–Many Compounds Strategy // *J. Nat. Prod.* – 2014. – V. 77 (6). – P. 1367–1371.
24. *Ye P., Shen L., Jiang W. et al.* Zn-Driven Discovery of a Hydrothermal Vent Fungal Metabolite Clavatustide C, and an Experimental Study of the Anti-Cancer Mechanism of Clavatustide B // *Mar. Drug.* – 2014. – V. 12 (6). – P. 3203–3217.
25. *Akhter N., Liu Y., Auckloo B. et al.* Stress-Driven Discovery of New Angucycline-Type Antibiotics from a Marine *Streptomyces pratensis* NA-Zhou S1 // *Mar. Drug.* – 2018. – V. 16 (9). – P. 331–350.
26. *English A. L., Boufridi A., Quinn R. J., Kurtböke D. I.* Evaluation of fermentation conditions triggering increased antibacterial activity from a near-shore marine intertidal environment-associated *Streptomyces* species // *Synth. Syst. Biotechnol.* – 2017. – V. 2 (1). – P. 28–38.
27. *Liu W.C., Yang F., Zhang R. et al.* Production of polyketides with anthelmintic activity by the fungus *Talaromyces wortmannii* using one strain-many compounds (OSMAC) method // *Phytochem. Lett.* – 2016. – V. 18(1). – P. 157–161.
28. *Myouga H., Yoshimizu M., Tajima K., Ezura Y.* Purification of an Antiviral Substance Produced by *Alteromonas* sp. and Its Virucidal Activity against Fish Viruses // *Fish Pathol.* – 1995. – V. 30 (1). – P. 15–22.
29. *Veerabadrhan M., Chakraborty S., Mitra S. et al.* Effects of flask configuration on biofilm growth and metabolites of inter-

- tidal Cyanobacteria isolated from a mangrove forest // *J. Appl. Microbiol.* – 2018. – V. 125 (1). – P. 190–202.
30. *Mitra S., Gachhui R., Mukherjee J.* Enhanced biofilm formation and melanin synthesis by the oyster settlement-promoting *Shewanella colwellianais* related to hydrophobic surface and simulated intertidal environment // *Biofouling.* – 2015. – V. 31 (3). – P. 283–296.
 31. *Burja A. M., Abou-Mansour E., Banaigs B. et al.* Culture of the marine cyanobacterium, *Lyngbya majuscula* (Oscillatoriaceae), for bioprocess intensified production of cyclic and linear lipopeptides // *J. Microbiol. Meth.* – 2002. – V. 48 (2–3). – P. 207–219.
 32. *Gallagher K. A., Wanger G., Henderson J. et al.* Ecological implications of hypoxia-triggered shifts in secondary metabolism // *Environ. Microbiol.* – 2017. – V. 19 (6). – P. 2182–2191.
 33. *Jensen P. R., Fenical W.* Marine bacterial diversity as a resource for novel microbial products // *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* – 2016. – V. 17 (5–6). – P. 346–351.
 34. *Saha M., Ghosh D., Ghosh D. et al.* Studies on the production and purification of an antimicrobial compound and taxonomy of the producer isolated from the marine environment of the Sundarbans // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2004. – V. 66 (5). – P. 497–505.
 35. *Overy D., Correa H., Roullier C. et al.* Does Osmotic Stress Affect Natural Product Expression in Fungi // *Mar. Drug.* – 2017. – V. 15 (8). – P. 254–273.
 36. *Wang Y., Zheng J., Liu P. et al.* Three New Compounds from *Aspergillus terreus* PT06-2 Grown in a High Salt Medium // *Mar. Drug.* – 2011. – V. 9 (8). – P. 1368–1378.
 37. *Sarkar S., Roy D., Mukherjee J.* Production of a potentially novel antimicrobial compound by a biofilm-forming marine *Streptomyces* sp. in a niche-mimic rotating disk bioreactor // *Bioprocess Biosyst. Eng.* – 2009. – V. 33 (2). – P. 207–217.
 38. *Sonnenbichler J., Dietrich J., Peipp H.* Secondary Fungal Metabolites and Their Biological Activities, V. Investigations Concerning the Induction of the Biosynthesis of Toxic Secondary

- Metabolites in Basidiomycetes // Biol. Chem. Hoppe. Seyler. – 1994. – V. 375 (1). – P. 71–80.
39. *Cueto M., Jensen P. R., Kauffman C. et al.* Pestalone, a New Antibiotic Produced by a Marine Fungus in Response to Bacterial Challenge // J. Nat. Prod. – 2001. – V. 64 (11). – P. 1444–1446.
 40. *Xu C., Sun X., Jin M., Zhang X.* A Novel Benzoquinone Compound Isolated from Deep-Sea Hydrothermal Vent Triggers Apoptosis of Tumor Cells // Mar. Drug. – 2017. – V. 15 (7). – P. 200 – 210.
 41. *Briand E., Bormans M., Gugger M. et al.* Changes in secondary metabolic profiles of *Microcystis aeruginosa* strains in response to intraspecific interactions // Environ. Microbiol. – 2016. – V. 18 (2). – P. 384–400.
 42. *Sung A., Gromek S., Balunas M.* Upregulation and Identification of Antibiotic Activity of a Marine-Derived *Streptomyces* sp. via Co-Cultures with Human Pathogens // Mar. Drug. – 2017. – V. 15 (8). – P. 250 –262.
 43. *Dusane D. H., Matkar P., Venugopalan V. P. et al.* Cross-Species Induction of Antimicrobial Compounds, Biosurfactants and Quorum-Sensing Inhibitors in Tropical Marine Epibiotic Bacteria by Pathogens and Biofouling Microorganism // Curr. Microbiol. – 2011. – V. 62 (3). – P. 974–980.
 44. *Burgess J.G., Jordan E.M., Bregu M., Mearns-Spragg A., Boyd K.G.* Microbial antagonism: A neglected avenue of natural products research // J. Biotechnol. – 1999. – V. 70 (1–3). – P. 27–32.
 45. *Dashti Y., Grkovic T., Abdelmohsen U. et al.* Production of Induced Secondary Metabolites by a Co-Culture of Sponge-Associated Actinomycetes, *Actinokineospora* sp. EG49 and *Nocardioopsis* sp. RV163 // Mar. Drug. – 2014. – V. 12 (5). – P. 3046–3059.
 46. *Onaka H.* Novel antibiotic screening methods to awaken silent or cryptic secondary metabolic pathways in actinomycetes // J. Antibiot. – 2017. – V. 70 (8). – P. 865–870.
 47. *Oh D.-C., Jensen P. R., Kauffman C. A., Fenical W.* Libertellones A–D: Induction of cytotoxic diterpenoid biosynthesis by marine microbial competition // Bioorg. Med. Chem. – 2005. – V. 13 (17). – P. 5267–5273.

48. *Oh D.-C., Kauffman C. A., Jensen P. R., Fenical W.* Induced Production of Emericellamides A and B from the Marine-Derived Fungus *Emericella* sp. in Competing Co-culture // *J. Nat. Prod.* – 2007. – V. 70 (4). – P. 515–520.
49. *Yu L., Ding W., Wang Q. et al.* Induction of cryptic bioactive 2,5-diketopiperazines in fungus *Penicillium* sp. DT-F29 by microbial co-culture // *Tetrahedron*. – 2017. – V. 73 (7). – P. 907–914.
50. *Wang Y., Wang L., Zhuang Y. et al.* Phenolic Polyketides from the Co-Cultivation of Marine-Derived *Penicillium* sp. WC-29-5 and *Streptomyces fradiae* 007 // *Mar. Drug.* – 2014. – V. 12 (4). – P. 2079–2088.
51. *Wakefield J., Hassan H. M., Jaspars M. et al.* Dual Induction of New Microbial Secondary Metabolites by Fungal Bacterial Co-cultivation // *Front. Microbiol.* 2017. – V. 8 (1284). – P. 1 – 10.
52. *Yu L., Ding W., Ma Z.* Induced production of cytochalasans in co-culture of marine fungus *Aspergillus flavipes* and actinomycete *Streptomyces* sp // *Nat. Prod. Res.* – 2016. – V. 30 (15). – P. 1718–1723.
53. *Chen H., Aktas N., Konuklugil B. et al.* A new fusarielin analogue from *Penicillium* sp. isolated from the Mediterranean sponge *Ircinia oros* // *Tetrahedron Lett.* – 2015. – V. 56 (39). – P. 5317–5320.
54. *Zhuravleva O.I., Kirichuk N.N., Denisenko V.A. et al.* New Diorcinol J Produced by Co-Cultivation of Marine Fungi *Aspergillus sulphureus* and *Isaria feline* // *Chem. Nat. Compd.* – 2016. – V. 52 (2). – P. 227–230.
55. *Zhang Z., He X., Zhang G. et al.* Inducing Secondary Metabolite Production by Combined Culture of *Talaromyces aculeatus* and *Penicillium variabile* // *J. Nat. Prod.* – 2017. – V. 80 (12). – P. 3167–3171.
56. *Wu Q., Zhang G., Wang B. et al.* Production and Identification of Inthomycin B Produced by a Deep-Sea Sediment-Derived *Streptomyces* sp. YB104 Based on Cultivation-Dependent Approach // *Curr. Microbiol.* – 2018. – V. 75 (7). – P. 942–951.

57. *Reen F., Romano S., Dobson A., O’Gara F.* The Sound of Silence: Activating Silent Biosynthetic Gene Clusters in Marine Microorganisms. // *Mar. Drug.* – 2015. – V. 13 (8). – P. 4754–4783.
58. *Ishida K., Lincke T., Behnken S., Hertweck C.* Induced Biosynthesis of Cryptic Polyketide Metabolites in a *Burkholderia thailandensis* Quorum Sensing Mutant // *J. Amer. Chem. Soc.* – 2010. – V. 132 (40). – P. 13966–13968.
59. *Boyer M., Wisniewski-Dye F.* Cella-cell signalling in bacteria: not simply a matter of quorum // *FEMS Microbiol. Ecol.* – 2009. – V. 70 (1). – P.1–19.
60. *Brotherton C. A., Medema M. H., Greenberg E. P.* Lux Homolog-Linked Biosynthetic Gene Clusters in Proteobacteria // *mSystems.* – 2018. – V. 3 (3). – e 00208-17.
61. *Subramoni S., Florez Salcedo D. V., Suarez-Moreno Z. R.* A bioinformatic survey of distribution, conservation, and probable functions of LuxR solo regulators in bacteria // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* – 2015. – V. 5 (16). – P. 1–17.
62. *Okada B. K., Seyedsayamdost M. R.* Antibiotic dialogues: induction of silent biosynthetic gene clusters by exogenous small molecules // *FEMS Microbiol. Rev.* – 2017. – V. 41 (1). – P. 19–33.
63. *Cichewicz R. H.* Epigenome manipulation as a pathway to new natural product scaffolds and their congeners // *Nat. Prod. Rep.* – 2010. – V. 27 (1). – P. 11–22.
64. *Vervoort H. C., Drašković M., Crews P.* Histone Deacetylase Inhibitors as a Tool to Up-Regulate New Fungal Biosynthetic Products: Isolation of EGM-556, a Cyclodepsipeptide, from *Microascus* sp // *Org. Lett.* – 2011. – V. 13 (3). – P. 410–413.
65. *He X., Zhang Z., Che Q. et al.* Varilactones and wortmannilactones produced by *Penicillium variable* cultured with histone deacetylase inhibitor // *Arch. Pharm. Res.* – 2018. – V.41 (1). – P. 57–63.
66. *Zhang W., Shao C.L., Chen M. et al.* Brominated resorcylic acid lactones from the marine-derived fungus *Cochliobolus lunatus* induced by histone deacetylase inhibitors // *Tetrahedron Lett.* – 2014. – V. 55 (35). – P. 4888–4891.

67. *Christian O. E., Compton J., Christian K. R. et al.* Using Jasplakinolide to Turn on Pathways that Enable the Isolation of New Chaetoglobosins from *Phomopsis asparagi* // *J. Nat. Prod.* – 2005. – V. 68 (11). – P. 1592–1597.
68. *Adnani N., Rajsiki S. R., Bugni T. S.* Symbiosis-inspired approaches to antibiotic discovery // *Nat. Prod. Rep.* 2017. – V. 34 (7). – P. 784–814.
69. *Brinkmann C., Marker A., Kurtböke D.* An Overview on Marine Sponge-Symbiotic Bacteria as Unexhausted Sources for Natural Product Discovery // *Diversity.* – 2017. – V. 9 (4). – P. 40–71.
70. *Flórez L. V., Biedermann P. H. W., Engl T., Kaltenpoth M.* Defensive symbioses of animals with prokaryotic and eukaryotic microorganisms // *Nat. Prod. Rep.* – 2015. – V. 32 (7). – P. 904–936.

ГЛАВА 5.

МОРСЬКІ МІКРОБНІ ВТОРИННІ МЕТАБОЛІТИ: ШЛЯХИ БІОСИНТЕЗУ, ЕВОЛЮЦІЯ ТА СТРУКТУРА

Мікроорганізми синтезують багато біоактивних сполук, які не використовуються для первинного обміну речовин. Ці вторинні метаболіти не є необхідними для нормального росту і, як правило, відіграють важливу та різноманітну роль в екології та фізіології мікроорганізмів, особливо в регулюванні взаємодії між мікробними видами [1] та між мікроорганізмами і багатоклітинними організмами. Вторинні метаболіти, надають важливі селективні переваги мікроорганізмам і дозволяють спілкуватися з іншими організмами та навколишнім середовищем [2].

У геномах мікроорганізмів гени, як правило, згруповані в хромосоми по біосинтетичному шляху. Ці гени відповідають за біосинтез вторинних метаболітів. Біосинтетичні генні кластери є одними з найрізноманітніших і швидко реагуючих генетичних елементів. Конкретний порядок і положення генів у кластері забезпечують структуру, яка визначає терміни та порядок активації генів. Експресія вторинних метаболічних кластерів знаходиться під контролем навколишнього середовища та/або розвитку та опосередковується складними регуляторними каскадами [2]. Не всі бактерії здатні виробляти вторинні метаболіти, а вторинні метаболічні кластери нерівномірно розподіляються в таксонах, причому різні групи вважаються високопродуктивними. Бактерії з малими геномами, як правило, не виробляють вторинних метаболітів, тим самим припускаючи, що утворення вторинних метаболітів передбачає енергетичні витрати, які можуть собі дозволити лише бактерії з великим геном [3].

Основними вторинними метаболітами у бактерій є різноманітні полікетиди, нерибосомальні пептиди їх гібриди та омега-3 поліненасичені жирні кислоти. Богатотисячні хімічні структури вторинних метаболітів, які синтезуються бактеріями виникають завдяки скоординованій багатоступеневій дії ферментів, організованих на складальних лініях. Генетична інформація, отримана шляхом секвенування генів синтезу полікетидних синтетаз, нерибосомних пептидних синтетаз та синтази жирних кислот по-

казало, що їх гени організовані в кластери [4]. Такі кластери можуть регулювати активацію вторинного метаболічного шляху за запитом, і їх горизонтальний перенос генів між геномами бактерій може призвести до набуття синтезу вторинних метаболітів у інших бактерій [5]. Біосинтетичні шляхи вторинного метаболіту демонструють модульність на різних рівнях організації. Модулі на кожному рівні можуть бути реалізовані як будівельні блоки для синтезу вторинних метаболітів.

5.1. Еволюція генних кластерів

Причини еволюційного механізму кластеризації біосинтетичних генів у бактеріях досі не відомі. Припускають, що еволюція вторинних метаболітів, ймовірно, була результатом вибору конкретних ознак для збільшення шансів на розвиток сильнодіючої біологічно активної сполуки [6].

Одним з механізмів еволюції геному бактерій є горизонтальний перенос генів. Це процес, при якому організм включає генетичний матеріал з іншого організму, не будучи нащадком останнього, на відміну від вертикальної передачі генів, коли організм успадковує генетичний матеріал від батьків. Горизонтальне перенесення генів може впливати на екологічну нішу мікроорганізму, що, в свою чергу, сприятиме видоутворенню бактерій. Регіони, сусідні з горизонтально перенесеними генами, часто містять залишки послідовності транслокаційних елементів, джерела перенесення плазмід або відомі місця прикріплення фагів, що свідчить про їх чужорідне походження в геномі [7].

Бактеріальний геном невеликий, тому хромосомні делеції усувають гени, які не забезпечують значущої функції. Отже, біосинтетичні кластери генів, які стають нефункціональними швидко втрачаються [8].

При дослідженні послідовності геномів *Salinispora*, це морський рід актиноміцетів, було встановлено велику різноманітність генів, які були придбані порівняно недавно в процесі еволюції роду. Це дає змогу синтезувати різноманітні біоактивні вторинні метаболіти. Вивчення конкретних доменів полікетидсинтетази та нерибосомної пептидсинтетази дали уявлення про архітектуру і функції ферментів та функціональні/структурні

аспекти вторинного метаболізму [9]. Ці дослідження були ефективними для прогнозування природи горизонтального переносу серед біосинтетичних генів, що відображається у невідповідності між генами полікетидсинтетази і нерибосомної пептидсинтетази та філогенією організму [10]. Зміни в генах полікетидсинтетази та нерибосомної пептидсинтетази можуть також включати мутації, перебудову домену та дублювання модулів, відповідальних за генерування нового різноманіття малих молекул [11].

У більшості бактерій латерально перенесена ДНК становить до 20% їх геномів і зберігається протягом еволюційного часу, сприяючи тим самим диверсифікації видів. Постійний приплив ДНК за допомогою латерального переносу врівноважується втраченою генів, що призводить до приблизно стійкого розміру геному. Порівняльний аналіз бактеріальних, археальних та еукаріотичних геномів демонструє, що значна кількість генів у прокаріотичних геномах з'явилась за рахунок горизонтального переносу. У деяких випадках еволюційна подія може бути пов'язана з способом життя. Гіпертермофільні бактерії обмінювались генами з археями більшою мірою, ніж інші бактерії, тоді як передача деяких еукаріотичних генів найчастіше зустрічається у паразитичних та симбіотичних бактерій [12]. Встановлено, що швидкість еволюційних подій, таких як інсерції, делеції та дублікації в біосинтетичних кластерах генів, набагато вища, ніж у кластерів генів, що беруть участь у первинному метаболізмі [13]. Крім того, окремі підгрупи, що складаються з коеволюціонуючих генів, схоже, відіграють ключову роль в еволюції кластерів біосинтетичних генів, що кодують складні метаболіти [14]. Генетичні кластери будуються за допомогою великих модульних ключових будівельних блоків (підкластери як «цеглинки») [15].

5.2. Метаболічні шляхи синтезу полікетидсинтетази, нерибосомної пептидсинтетази та синтетази жирних кислот

Великі родини структурно різноманітних і складних мікробних метаболітів, що мають важливу біологічну активність, такі як полікетиди, нерибосомні пептиди, гібриди полікетидів-нерибосомальних пептидів та поліненасичені жирні кислоти синтезуються багатофункціональними ферментами. Ці ферментні комплекси

складаються з простих мономерів будівельних блоків (ацил-кофермент А (CoA) та амінокислоти), включені в каскад реакцій конденсації. Вони організовані в модульні лінії, і кожен модуль складається з набору ферментативних доменів, що беруть участь у подовженні ланцюга, і в змінному наборі модифікацій кожного проміжного продукту [16, 17]. Модульна архітектура ферменту та функціональна універсальність є необхідними для біологічної активності різноманітних полікетидів.

5.2.1. Полікетидсинтетази

Полікетидні синтетази це родина великих модульних ферментів, які синтезують полікетиди, великий клас вторинних метаболітів, у бактеріях, грибах, рослинах та хребетних [18]. Структурна та функціональна різноманітність полікетидів обумовлена поєднанням кількох простих будівельних блоків під час видовження ланцюга. Мономерами ензимного комплексу полікетидсинтетази є тіоефіри ацил-КоА (наприклад, ацетил-, малоніл-, метилмалоніл-), які легко знайти в пулі первинних метаболітів у бактерій. Полікетидсинтетази складаються з двох каталітичних доменів, тобто кетоацилсинтетази (45 кДа) та домену ацилтрансферази (50 кДа). Домен-носіє тіолових груп (8–10 кДа) забезпечує тіолову групу та проміжні ацильні ланцюги ковалентно зв'язані під час подовження ланцюга. На сьогодні відомо три типи бактеріальних полікетидсинтетаз [19].

Полікетидсинтетаза типу I (рис. 5.1.А), переважно виявлена в актинобактеріях, мікобактеріях, псевдомонадах та ціанобактеріях – це багатofункціональні ферменти, які розташовані в модулі, кожен з яких має набір різних, неповторюваних діючих доменів, що беруть участь в каталізі одного циклу подовження ланцюга полікетиду [22]. Каталітичні і несучі тіолатні-домени існують в цис конфігурації для утворення модулів, а модулі з'єднуються між собою для організації багатомодульної лінії. Виявлено статистично значущу кореляцію між розміром геному та наявністю генів полікетидсинтетази типу I [23], що демонструє тенденцію до підтримання, дублювання та диверсифікації генів полікетидсинтетази типу I у бактеріальних геномах. Невеликі геноми бактерій (менше 2 Мб), як правило, не мають цих генів. Однак деякі мікобактерії

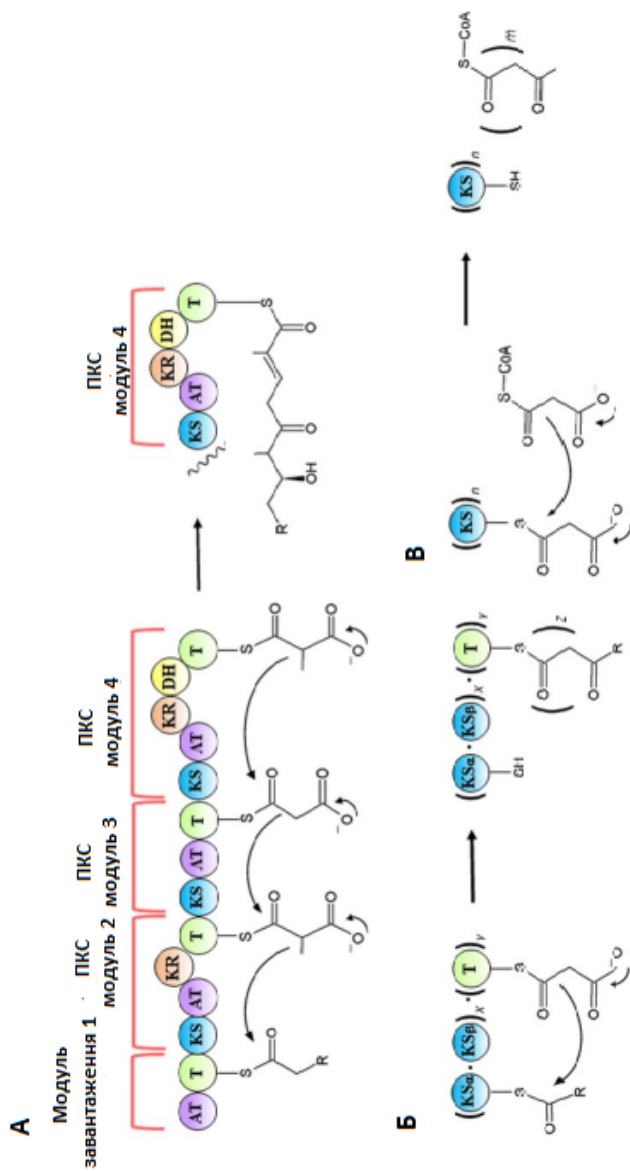


Рис. 5.1. Типи бактеріальних полікетидсинтетаз. (А) полікетидсинтезаза типу I, організована з різних модулів, які не повторюються. (Б) полікетидсинтезаза типу II, містить повторювані субодиниці. (В) полікетидсинтезаза типу III, незалежна від тілатного-домшну, з повторюваною субодиницею.

Позначення: AT – ацилтрансфераза, DH – дегідратаза, KR – кеторедактаза, KS – кетосинтеза, T – тійолізація, ACP – ацилпереносний білок [20, 21]

із середніми геномами (4 Мб) кодують велику кількість модулів полікетидсинтетази типу I. Філогенетичне дерево АТ-доменів виявляє мінливий вплив дуплікацій генів на еволюцію полікетидсинтетази типу I у різних групах бактерій. За результатами цього аналізу бактерії можна класифікувати на три групи. До першої групи належать гени полікетидсинтетази типу I, що походять від загальних предків і еволюціонували внаслідок подій дублювання генів; до другої групи належать бактерії, які вторинно придбали ці гени за допомогою горизонтального переносу генів; в останній групі гени, можливо, еволюціонували внаслідок поєднання горизонтального переносу генів та подій дублювання. Актинобактерії та ціанобактерії відносяться до першої категорії.

Полікетидсинтетази типу II (рис. 5.1.Б) – це мультиферментні комплекси, що складаються лише з одного набору діючих ферментних модулів. Каталітичний тіолатний домен і носій тіолатних груп існують як окремі білки, які взаємодіють у транс конфігурації [17, 19]. Грампозитивні актиноміцети є найважливішою групою організмів, які використовують системи полікетидсинтетази типу II, що представляють багате джерело біоактивних поліфенолів.

Полікетидсинтетази типу III (рис. 5.1.В) – це прості гомодимерні ферменти, що складаються з доменів кетоацилсинтетази. Вони є багатофункціональними білками, де один активний центр у кожному мономері каталізує однакові реакції конденсації, утворюючи ланцюг полікетиду, а у подальшому циклізацію та ароматизацію ланцюгу. Незважаючи на свою структурну простоту, полікетидсинтетази типу III зазвичай беруть участь у синтезі широкого спектру сполук. Вважалося, що полікетидсинтетази типу III існують лише в рослинах, секвенування геному показало, що ці мільтієнзимні комплекси широко присутні у бактерій та грибів. Існує п'ять різних груп бактеріальних полікетидсинтетаз типу III, багато з яких були ідентифіковані у *Streptomyces*, роду, добре відомому по синтезу біоактивних молекул [24].

Полікетидсинтетази типу I і II використовують ацильний білок-носії як тіолатний-домен для активації субстратів ацил-КоА та для спрямування зростаючих проміжних сполук полікетидів, полікетидсинтетаза типу III не залежать від носія білка ациль-

них груп і діє безпосередньо на ацил-КоА [25]. Хоча існує кілька структурних та механістичних відмінностей, усі три типи полікетидсинтеаз синтезують полікетиди шляхом послідовної декарбоксистації конденсації попередніх метаболітів. У полікетидсинтеаз типу II, домен кетоацилсинтетази є гетеродимером, що складається з активної субодиниці (КС α) та неактивної субодиниці (КС β), що має назву фактор довжини ланцюга, і є важливим елементом, що визначає довжину ацильного ланцюга [26].

5.2.2. Синтез полікетидсинтеаз

У полікетидсинтеаз типів I і II бічний ланцюг консервативного залишку серину в білку-носія ацильних груп повинен бути посттрансляційно модифікований фосфопантетеїнілтрансферазами [27]. Цей клас ферментів має важливе значення, оскільки він каталізує додавання гнучкого пантетеїнільного плеча, що закінчується тіолами, отриманого з КоА, за допомогою фосфодіефірного зв'язку, перетворюючи попередники апотіолувальні домени на функціональні холотіолувальні домени [28]. Плече є точкою приєднання активованих мономерів і зростаючих ланцюгів. Таким чином, домени тіолування використовують ацил-КоА (малоніл- або метилмалоніл-) мономер, який буде вбудовано, і каталізують його транстіолування до домену носія ацильного білку через проміжний продукт ацил-О-ферменту, переносячи ацильну групу (C3 або C4) до тіолатного кінця на холо-тіолувальний домен пантетеїнільного плеча (рис. 5.2.А).

Домен кетоацилсинтетази утворює зв'язок C—C (шляхом конденсації Клайзена) між розташованим вище ацилтіоестером, тимчасово зв'язаним з кетоацилсинтетазою із збереженим цистеїльним залишком в активному центрі та нижнім карбаніонним ацильним акцептором, отриманим у результаті декарбоксистації (метил)-малонілу-сульфотрансферази (рис. 5.2.Б). Отримана β -кетואцил-сульфотрансфераза стає субстратом для наступного циклу елонгації. Після кожного циклу каталітичний домен кетоацилсинтетази додає зростаючому ацильному ланцюгу два або три атоми вуглецю, використовуючи відповідно малонільну або метилмалонільну одиницю.

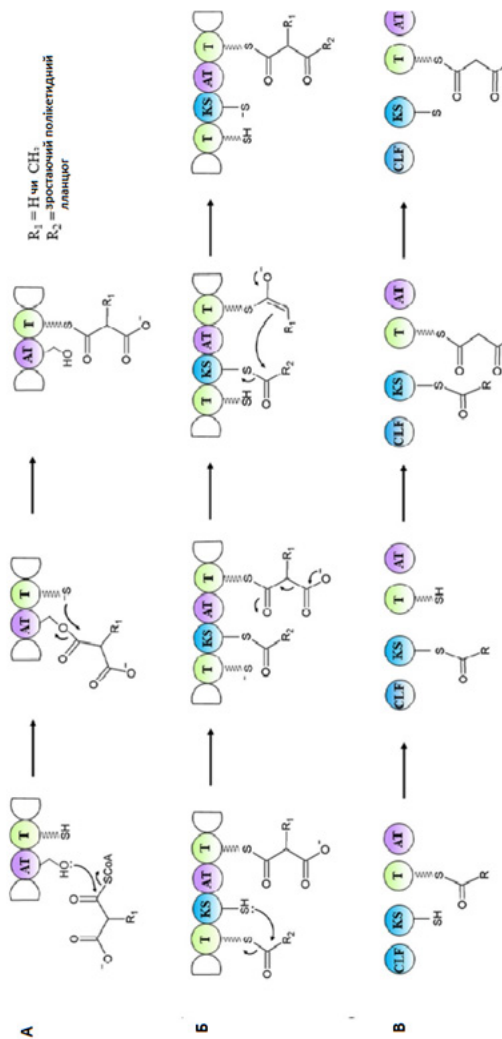


Рис. 5.2. Діяльність доменів ацилтрансфери (А) та кетоацилсинтети (Б) та І (В) полікетидсинтети. (А) Домен ацилтрансфери вибирає субстрат (мономер ацил-CoA) і каталізує його трансферування до тіолатного домену, продукуючи проміжний продукт ацил-О-ферменту. (Б) Домен кетоацилсинтети каталізує стадію утворення зв'язків C-C, відповідаючи за подовження ланцюга, між ацилтіоестером, пов'язаним з кетоацилсинтетою, та карбаніловим ацилом, що утворюється в результаті декарбоксілювання (метил)-малоніл-S-T. У полікетидсинтети типу І зростаючий ланцюг переноситься з тіолатного домену на наступний. (В) Після кожного етапу конденсації зростаючий ланцюг залишається прив'язаним до того самого тіолатного домену. Позначення: AT – acyltransferase, T – thiolation, KS – ketoacyl synthase, CLF – chain-length factor [18, 21]

При збиранні полікетидсинтетази типу I після кожної стадії конденсації утворюється ацильний ланцюг з двох або трьох атомів вуглецю та переміщується з одного тілатного домену в інший і кожна кетоацилсинтетаза і тілатний-домен використовуються один раз (рис. 5.2.Б). Навпаки, під час збирання полікетидсинтетази типу II зростаючий ланцюг залишається прив'язаним до того самого тілатного домену і лише один домен ацилтрансферази і один домен кетоацилсинтетази діють ітеративно. Крім того, активна субодиниця кетоацилсинтетази утворює гетеродимер зі структурою, яка відповідає за довжину ацильного ланцюга (рис. 5.2.В) [26].

Окрім «основних» доменів кожен модуль містить від нуля до трьох додаткових процесингових доменів: наприклад, кеторедуктаза, дегідратаза і єноілредуктаза, які модифікують будівельний блок, включений доменом ацилтрансферази. Функції цих трьох каталітичних доменів добре встановлені. Вони працюють у послідовності (рис. 5.3.) з початковим відновленням продукту конденсації β -кетоацил-сульфотрансферази за допомогою дії домену кеторедуктази та утворенням β -гідроксиацил-сульфотрансферази; потім наступна дегідратація під дією домену дегідратази з утворенням α,β -єноіл-сульфотрансферази, і в кінці відновлення цього виду під дією єноілредуктази з утворенням повністю насиченої ацил-сульфотрансферази. Ефектом дії цих трьох доменів є чотириелектронне відновлення β -CO до β -CH₂ [21].

Порядок модулів у лінії, яка синтезує полікетиди, визначає різноманітність їх структур. Ці відмінності зазвичай пов'язані з точковими мутаціями.

Ці каталітичні домени фактично є необов'язковими в полікетидсинтетазах типу I та II. Таким чином, відмінною характеристикою полікетидсинтаз типів I та II є неповне відновлення хімічної різноманітності β -кетоацил-сульфотрансфераз (вихідного продукту конденсації) [21].

Лише деякі модулі полікетидсинтетаз типу I мають функціональні домени кеторедуктази, дегідратази та єноілредуктази, що продукують повністю відновлені одиниці CH₂–CH₂. Навпаки, інші модулі полікетидсинтетаз типу I генерують проміжний α,β -єноіл, β -гідроксиацил або β -кетоацил через відсутність або

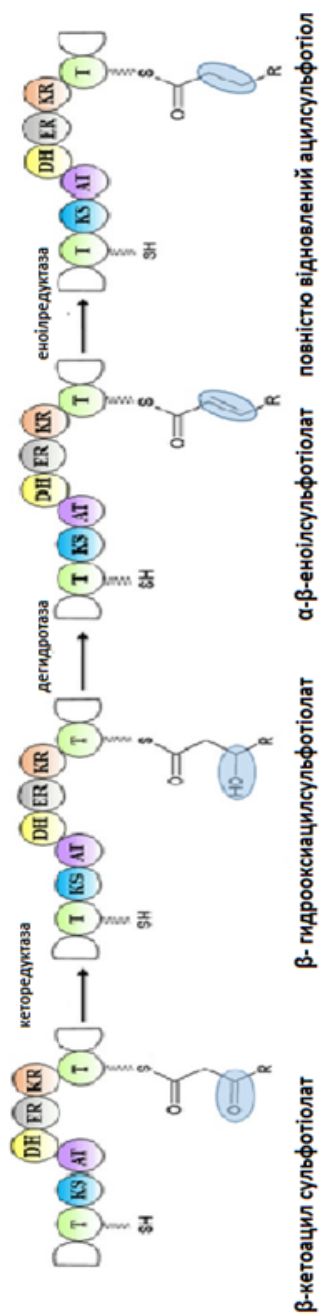


Рис. 5.3. Перетворення β-вуглецю в полікетидсинтетази: відновлення β-кетацил-сульфотіолату за допомогою домену кеторедуктази з утворенням β-гідроксиацил-сульфотіолату, з подальшою дегідратацією домену для утворення α, β-еноїл-сульфотіолату, відновлення за допомогою еноїлредуктази та утворення насиченого ацил-сульфотіолату. Позначення: AT – acyltransferase, T – thiolation, KS – ketoacyl synthase, DH – dehydratase, KR – ketoreductase, ER – enoyl reductase [18, 21]

нефункціональність доменів еноілредуктази, дегідратази або кеторедуктази, відповідно. Полікеторедуктази типу II, які шляхом ітераційної дії основних субодиниць кетоацилсинтетази-ацилтрансферази-тіолату і через відсутність обробки β -вуглецем, утворюють накопичення полікетидних ланцюгів під час циклів елонгації, після чого утворюються нові похідні полікетиди [21].

Кластери також містять гени, що кодують ферменти, які модифікують скелет вторинних метаболітів, це оксидоредуктази, метилтрансферази, ацилтрансферази і глікозилтрансферази [21].

У полікетидсинтетази типу I та сама процедура застосовується до всіх модулів подовження бічних радикалів, тоді як модулі ініціації та завершення працюють по-різному:

- (1) Модуль ініціації може містити домен кетоацилсинтетази, каталітично нефункціональний для конденсації, що дозволяє лише декарбоксилувати (метил)малоніл-сульфотрансферазу [29], утворюючи ацетил- або пропіоніл-S-T домен в якості вихідної ацильної групи на конвеєрі;
- (2) може бути позбавленим домену кетоацилсинтетази.

В останньому випадку ацил-КоА (ацетил-, пропіоніл- і бензоїл-, крім малонілу- або метилмалонілу-) відбирається ініціюючим ацетилтрансферазним-доменом і завантажується на перший тіолатний домен [30].

Завершальний модуль конвеєрної лінії полікетидсинтези типу I бере участь у звільненні ацильного ланцюга на повну довжину доменом тіоестерази. Останній є ферментом 35 кДа, який каталізує або гідроліз, утворюючи вільну кислоту під час біосинтезу β -лактаму, або внутрішньомолекулярне захоплення однією з гідроксильних груп в ланцюзі полікетиду, виробляючи циклічний лактон [31].

5.2.3. Нерибосомна пептидсинтетаза

Нерибосомні пептиди – це пептиди, які не синтезуються на рибосомах, а синтезуються ферментами конвеєрної лінії нерибосомної пептидсинтетази, функція якої аналогічна функції полікетидсинтетази [18]. Нерибосомна пептидсинтетаза у якості мономерів для подовження ланцюга в структурі використовує не тільки 20 протейногенних амінокислот, але і широкий спектр не-

протеїногенних амінокислот та інших карбонових (наприклад, арильних) кислот. Деякі з цих мономерів є первинними метаболітами, а деякі синтезуються різними ферментами і після цього можуть бути використані для продовження ланцюга у нерибосомних пептидів. Нерибосомна пептидсинтетаза складається з багатомодульних ферментативних ліній з одним модулем для кожного включеного амінокислотного мономера. Подібно до «основних» доменів модуля полікетидсинтети, існує мінімальний модуль нерибосомної пептидсинтети, який дає подовження зростаючому пептидильному ланцюгу. Модуль містить три домени, а саме 8–10-кДа тіолатний-домен (Б) і два каталітичні домени (домен аденилювання 50-кДа (А), що вибирає амінокислотний мономер та домен конденсації (В) 50-кДа, відповідальний за продовження пептидного ланцюга [32].

Тіолатний домен лінії зборки нерибосомної пептидної синтети являє собою білок-носії пептидилу з тією роллю та механізмом, що і тіолатний домен у полікетидсинтази типу 1, він посттрансляційно модифікується на бічному ланцюзі серину за допомогою фосфопантетеїну. Цей процес каталізує фосфопантетеїнілтрансфераза. Таким чином модифікований серин стає активним [27]. Під час складання нерибосомної пептидсинтети аміноацильний і пептидильний ланцюги зв'язуються з кінцевим тіолатом простетичної групи фосфопантетеїну за допомогою тіоестерного зв'язку. Подібно до ацилтрансферази, каталітичний аденилатний-домен активує аденилювання амінокислотного мономера, який необхідно включити, активуючи карбоксильну групу за допомогою АТФ з утворенням аміноацил-АМР і каталізуючи подальше ацилювання сусіднього тіолатного-домену, з яким ковалентно пов'язані мономери та новостворені ланцюги (рис. 5.4.А). Основним джерелом різноманітності нерибосомної пептидсинтети є домен аденилювання, що вставляє будівельні блоки в кожен модуль. Подібно до кетоацилсинтети, каталітичний домен конденсації утворює амідний зв'язок (C–N)-зв'язок між електрофільним пептидиломсульфотіолатом та нуклеофільним аміноацилом-сульфотіолатом під час подовження ланцюга (рис. 5.4.В).

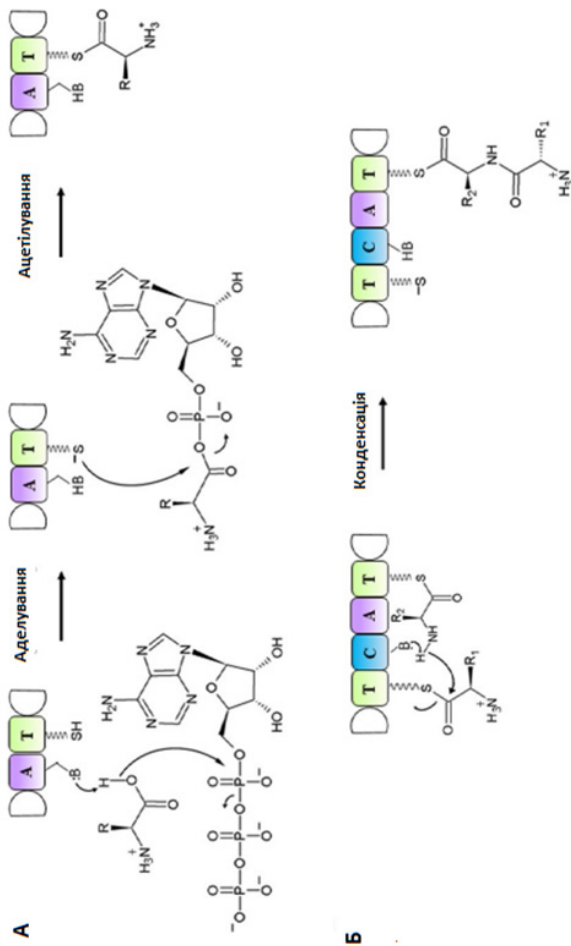


Рис. 5.4. (А) Аденилування амінокислоти, що підлягає включенню, та наступне ацилювання до сусіднього тілатного-домену ацилювальним-доменом нерибосомної пептидсинтетази. (Б) Формування зв'язку С – N між електрофільним пептидил-сульфотіолатом та нуклеофільним аміноацилом сульфотіолатом під час продовження ланцюга за допомогою домену конденсації у нерибосомальній пептидсинтетазі. Позначення: А – adenylation, С – condensation, Т – thiolation [18, 21]

У складальних лініях нерисомоної пептидсинтетази модуль ініціації містить:

1. два домени (аденилатний і тіолатний) у більшості випадків вибирають першу амінокислоту та ковалентно зв'язують її на тіолатному домені, розташованому нижче, так що пептидильний ланцюг утримує вільну аміногрупу N-кінцевого залишку;
2. три домени (конденсації, аденилатний, тіолатний), у кількох випадках продукуючи N-ацильовані пептиди.

Початковий домен конденсації каталізує N-ацильовання ініціюючої амінокислоти при встановленні на тіолатний домен [33].

Подібно до полікетидсинтетази типу I, зазвичай модулі завершення ліній складання нерибосомної пептидної синтетази містять домени тіоестерази, які можуть гідролізуватися або циклізуватися [31]. У деяких випадках лінії складання нерибосомної пептидсинтетази, незалежні від тіоестерази, мають C-кінцевий домен редуктази, який каталізує відновлення тіоестеру з утворенням альдегіду з супутнім вивільненням ланцюга [34]. Оскільки особливістю нерибосомних пептидів є велика кількість непротеїногенних залишків D-амінокислот, які в значній мірі відсутні в клітинах мікробних продуцентів, необхідна епімеризація від L до D [35].

Рацемаза, кодована кластером біосинтетичних генів, виробляється лише в декількох випадках [36]. Організація ліній складання нерибосомних пептидсинтетаз для грампозитивних бактерій включає домен епімеризації (50 кДа), за рахунок цього можливо включати в структуру мономеру L-амінокислот та епімеризовані амінокислоти.

Існують декілько варіантів домену конденсації. Прикладом варіанту домену конденсації є домен гетероциклізації. Він каталізує атаку нуклеофільного бічного ланцюга серину, треоніну або цистеїну на карбоніл з додаванням тіолу (цистеїн) або гідроксилу (серин, треонін) бічного ланцюга з утворенням п'ятичленного циклічного аддукту. Потім за цією реакцією відбувається зневоднення аддукту з отриманням тiazоліну або оксазоліну, відповідно (рис. 5.5.A) [37].

Можуть бути присутніми додаткові домени в модулях нерибосомної пептидсинтетази, що містять домен гетероциклізації, це домен оксидази, що бере участь у окисненні гідролітично лабільного дигідроетероциклічного продукту конденсації до стабільного гетероциклу, повністю ароматизованого тіазолу або оксазолу (рис. 5.5В). Домен оксидази заслуговує на увагу, оскільки було показано, що він може вставлятися в гетерологічні модулі, і може бути корисним інструментом у комбінаторному наборі біосинтетичних інструментів для перепрограмування конвеєрних ліній нерибосомних пептидаз [38].

5.2.4. Полікетидсинтетаза/нерибосомна пептидсинтетаза

Завдяки структурній та функціональній подібності полікетидсинтетази та нерибосомальної пептидсинтетази можуть утворювати змішані складальні лінії, які виробляють гібридний полікетид - нерибосомний пептид. На основі розуміння модульної стратегії та механізму, що використовується системами полікетидсинтетази та нерибосомної пептидсинтетази, можна передбачити кількість типів та порядок модулів та доменів полікетидсинтетази та нерибосомної пептидсинтетази [39]. Цікавим питанням є те, як ці гібридні складальні лінії здатні утворювати зв'язки C–C або C–N під час подовження ланцюга на інтерфейсах полікетидсинтетази/нерибосомної пептидсинтетази та рибосомної пептидсинтетази/полікетидсинтетази, коли конвеєр переходить з полікетидсинтетази на нерибосомальну пептидсинтетазу і навпаки. Коли зростаючий ланцюг транслокується по інтерфейсу полікетидсинтетази/нерибосомної пептидсинтетази, відбувається включення (метил)малоніл-КоА на мономери амінокислот. Домен конденсації отримує донор диметилмалонілацилу, а не донор пептидилу. На відміну від цього, на інтерфейсі нерибосомної пептидсинтетази/полікетидсинтетази домен кетоацилсинтетази приймає пептидильний, а не кетидний ланцюг.

5.2.5. Синтетаза жирних кислот

Синтетази жирних кислот зустрічаються у всіх групах організмів і, мабуть, є етапами дуже древніх біохімічних шляхів.

Ці ферментативні механізми еквівалентні полікетидсинтезасі, оскільки вони діють за однаковою стратегією. Синтезази жирних кислот та полікетидсинтезази подібні в організації доменів, каталітичних реакціях, використанні попередника та загальному архітектурному розташуванні, що свідчить про еволюційний зв'язок між цими двома біохімічними шляхами. Подібно до полікетидсинтезази, бактерії здатні здійснювати біосинтез жирних кислот, необхідний для мембранних фосфоліпідів, трьома різними способами. Більшість бактерій виробляють жирні кислоти за допомогою синтезази жирних кислот типу II (подібно до полікетидсинтезази типу II), за допомогою яких різні ферменти, кодовані окремими генами, каталізують певні етапи біосинтетичного шляху [40].

Домінуючі клітинні жирні кислоти, що виробляються через синтезази жирних кислот типу II, як правило, містять 14–18 атомів вуглецю. Альтернативний спосіб – система синтезази жирних кислот типу I (подібна до полікетидсинтезази типу I і вона типова для еукаріотичних організмів), виявлена в деяких коринеформних бактеріях порядку *Actinomycetales* і складається з багатофункціональних ферментних комплексів, що містять каталітичну активність як дискретні функціональні домени [41].

Хоча синтезаза жирних кислот та полікетидсинтезаза використовують одну і ту ж ферментативну стратегію, на відміну від полікетидсинтезази типу I та II, у яких „каталітичні домени” є обов'язковими, але у синтезази жирних кислот типів I та II вони завжди присутні. Третій бактеріальний механізм синтезу жирних кислот *de novo* відбувається у вузькій групі переважно морських γ -протеобактерій, що включає види родів *Shewanella*, *Photobacterium*, *Moritella*, *Colwellia* та *Vibrio* [42–44]. Цей механізм протікає за допомогою нового ітеративного комплексу ферментів синтезази жирних кислот/полікетидсинтезази [45].

Такий комплекс відповідає за біосинтез полінасичених жирних кислот у бактерій. На додаток до архетипного гену полісинтезаза жирних кислот синтезує поліненасичені жирні кислоти в морських бактеріях. Ця синтезаза гомологічна кластерам генів синтезази жирних кислот/полікетидсинтезази типу I (20 різних типів), з високим функціональним збереженням в межах різних

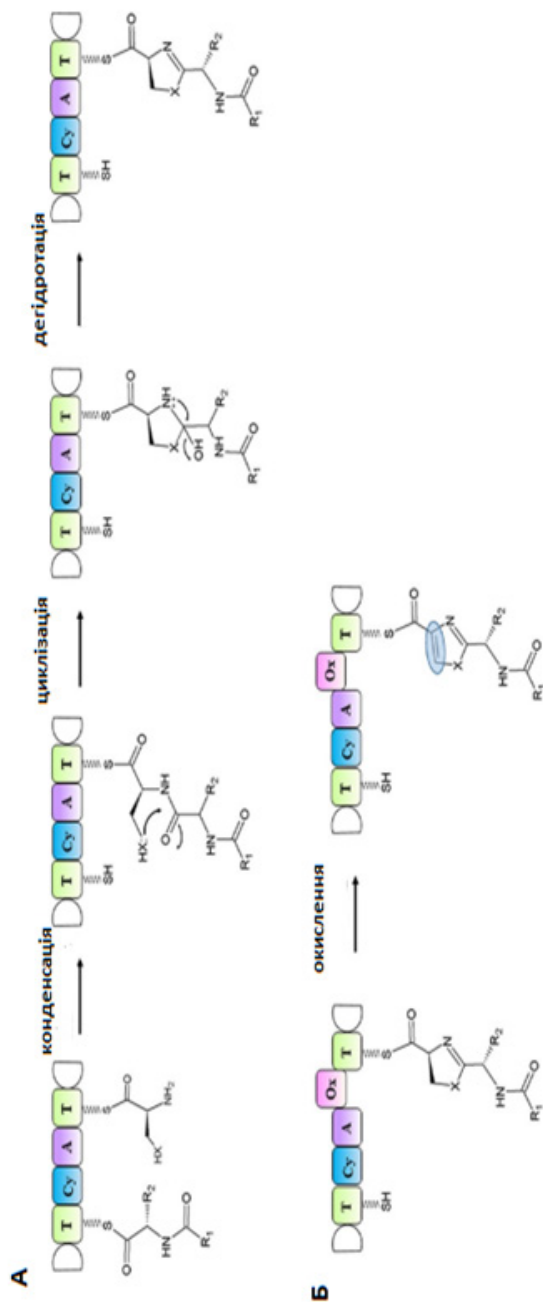


Рис. 5.5. Формування гетероциклів нерибосомальних пептидів. (А) Домен гетероциклізації каталізує нуклеофільну атаку на карбоніл, з утворенням циклічного аддукту з подальшим зневодненням та отриманням тiazоліну або оксазоліну. (Б) Додатковий домен окиснення каталізує окиснення гідролітично лабільного дігетероциклічного продукту, що продукується з доменів гетероциклізації, до ароматичного тiazолу або оксазолу. Позначення: T – thiolation, Cy – cysteine, A – adenylation, Ox – oxidase [18, 21]

біосинтетичних шляхів. Ці типи були ідентифіковані в лініях бактерій, що охоплюють 45 родів, які представляють 10 філумів, що свідчить про те, що горизонтальний перенос генів сприяє розповсюдженню спеціалізованої біосинтетичної діяльності ліпідів серед різних мікробних ліній [46]. Широкомасштабний аналіз послідовності генів мікроорганізмів виявив різноманітні аналогічні ітеративні механізми синтетази жирних кислот/полікетидсинтетази типу I, які синтезують інші довголанцюгові жирні кислоти, що мають більше 20 атомів вуглецю. Два приклади - це алкільні ланцюги C26–C32, що містять гідроксильні та кетонів функціональні групи, виявлені в гетероцистних гліколіпідах ниткоподібних ціанобактерій [47] та ланцюги C22–C26 фенольних ліпідів сплячих цист грамнегативної бактерії *Azotobacter vinelandii* (порядок *Seudomonadales*) [48].

Шляхи, в яких ланцюги біосинтезу синтетази жирних кислот/полікетидсинтетази з більш ніж 20 атомами вуглецю зазвичай називають «вторинним біосинтезом ліпідів», щоб відрізнити ці продукти від продуктів, отриманих за допомогою основних (або первинних) механізмів комплексу синтетази жирних кислот.

5.3. Структура і функція вторинних метаболітів морських бактерій

5.3. Вторинні метаболіти морських бактерій: структура і функція
5.3.1. Біологічно активні сидерофори морських мікроорганізмів
5.3.2. Вторинні метаболіти, синтезовані генетичним кластером нерибосомної пептидази
5.3.3. Вторинні метаболіти, синтезовані генетичним кластером полікетидсинтетази
5.3.4. Вторинні метаболіти, синтезовані за допомогою гібридного генного кластеру нерибосомної пептидсинтетази-полікетидсинтетази
5.3.5. Вторинні метаболіти, синтезовані кластером генів синтетаза жирних кислот/полікетидсинтетаза

Структура та біологічна активність вторинних метаболітів з морських мікроорганізмів була відображена у главі 2. В данному розділі ми розглянемо роль бактеріальних сидерофорів з мор-

ських мікроорганізмів та окремі вторинні метаболіти, які синтезовані за допомогою мультиензимних ферментів полікетидсинтетази, нерибосомної пептидсинтетази, гібриду полікетидсинтетази/нерибосомної пептидсинтетази та синтетази жирних кислот.

5.3.1. Біологічно активні сидерофори морських мікроорганізмів

Більшість сидерофорів синтезуються морськими γ -протеобактеріями одні з них носять назву морські гідрокарбонокласичні бактерії, що належать до океаноспіріл та беруть участь у біодеградації забруднень сирої нафти [49, 50]. Вони є хелаторами заліза (III) для транспортування заліза (III) всередину клітини [51, 52]. Сидерофор амфібактин, синтезований *Alcanivorax borkumensis* SK2, використовується бактерією для розкладання гідрофобних речовин [53].

Інші амфіфільні сидерофори включають представників шести груп: маринобактини, синтезовані *Marinobacter* sp. DS40M6 і DS40M8, аквахеліни, синтезовані *Halomonas aquamarina* DS40M3 [54], лоїхіхеліни, синтезовані *Halomonas* sp. LOB-5 [55], охробактини, синтезовані *Ochrobactrum* sp. SP18 [56], синехобактини, синтезовані *Synechococcus* PCC7002 [57] та амфібактини, синтезовані *Vibrio* sp. R-10 [58]. Існують два типи амфіфільних сидерофорів:

- (1) Амфіфільні сидерофори, що складаються з основної пептидної групи, яка координує Fe (III) та фрагментів жирних кислот, природа яких мінлива через різну довжину, ступінь ненасиченості та функції [54, 58];
- (2) У деяких сидерафорів присутні фотолабільні фрагменти, які є фотореактивними при зв'язуванні з Fe(III), утворюючи окиснений сидерофорний ліганд та Fe(II) при опроміненні видимим або ультрафіолетовим світлом [59, 60]. Ці сидерофори мають низькі критичні концентрації міцел. За відсутності заліза маринобактини присутні у вигляді міцел у концентраціях, що перевищують їх критичні концентрації, але після додавання Fe (III) міцели зазнають спонтанної фазової зміни з утворенням везикул. Ці дані свідчать про те, що в морських бактеріях могли розвинулися унікальні механізми

поглинання заліза [54]. Процес має дуже схожі властивості з біологічно активними речовинами, пов'язаними з емульгуванням нафти. Чудова здатність сидерофорів до хелатування заліза застосовується не тільки в біоремедіації, але також для виробництва харчових продуктів та медицині [61]. Вони використовуються у зв'язку з високою антибактеріальною активністю проти резистентних до антибіотиків бактерій [62], для лікування залізодефіцитної анемії [63] та при гематохроматозі [64]. Крім того, депривація заліза є однією із стратегій терапії раку молочної залози [65] та малярії [66]. У таблиці 5.1. представлені найважливіші біотехнологічні можливості морських сидерофорів.

5.3.2. Вторинні метаболіти, синтезовані генетичним кластером нерибосомальної пептидази

Амфібактини синтезуються бактерією *Alcanivorax borkumensis* SK2. Це домінуюча бактерія в забруднених нафтою водах відома своєю здатністю розкласти вуглеводні. Завдяки здатності використовувати широкий спектр аліфатичних вуглеводнів, *Alcanivorax borkumensis* SK2 активно розмножується під час розливу нафти, що становить до 80–90% асоційованої бактеріальної спільноти [78].

Їх амфіфільна природа дозволяє сидерофору поводитися як поверхнево-активна речовина, підтримуючи як процес поглинання заліза, так і деградацію вуглеводнів, запобігаючи дифузії сидерофору та збільшуючи розчинність масел в бактеріальній мембрані. Амфібактин, синтезований *Alcanivorax borkumensis* (рис. 5.6.А) – це ацилпептидний сидерофор, що містить короткий пептид та довгу жирну кислоту [79]. Амфібактиновий кластер біосинтетичних генів (ABO) (рис. 5.6Б) вказує на наявність двох генів нерибосомної пептидсинтетази ABO_2093 та ABO_2092, що складаються з чотирьох класичних модулів нерибосомної пептидсинтетази, три з котрих відносяться до гену ABO_2093 та одного – до гену ABO_2092.

Перший домен нерибосомної пептидсинтетази починається з N-кінцевого домену, який вже був ідентифікований при синтезі інших ліпопептидів, таких як сурфактин [80]. Зовнішня ацил-Ко-

Таблиця 5.1.

Практичне використання морських сидерофорів [21]

Штам	Сидерофор	Практичне використання	Літературне джерело
<i>Marinobacter</i> , <i>Alcanivorax</i> , <i>Vibrio</i> , <i>Halomonas</i> sp.	Амфіфільний сидерофор і сидерофор, що синтезується бактеріями, що розкладають вуглеводні сполуки	Біосурфактанти Біоремедіація металів і нафти Доставка ліків Біоміметики Нановолокна	[54] [67] [68] [69] [70]
<i>Alteromonas haloplanktis</i> , <i>Vibrio salmonicida</i> (вызывающий болезни рыб)	Бисукарберін	Противопухлина активність	[71] [72]
<i>Halomonas</i> sp. LOB-5	Лойхічели А-F	Потенціальний промотор окислення Mn(II) і Fe(II)	[55]
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Піовердин	Пригнічує ріст збудників грибкових захворювань рослин. Пригнічує дію збудників хвороб риб. Рекультивація радіоактивних відходів та переробка ядерного палива	[73] [74] [75] [76] [77]

А-лігаза може бути відповідальною за ініціювання біосинтезу сидерофору за допомогою ацилювання N-кінцевого метаболіту, N⁵-ацил-N⁵-гідроксиорнітину. Чотири домени в модулях нерибосомної пептидсинтетази відповідають за активацію та включення амінокислоти у зростаючий пептидний ланцюг. Є припущення, що ген ABO_2092 має невідомий домен, який передує домену тіоестерази, що бере участь у біосинтезі амфібактинів або необхідний для термінації молекули з нерибосомної пептидсинтетази [79]. Гени ABO_2089 та ABO_2090 беруть участь у адаптації

орнітину з утворенням N5-ацил-N5-гідроксиорнітину. Зокрема, ген ABO_2089 - це L-орнітин-N5-монооксигеназа, відповідальна за гідроксилювання орнітину. ABO_2090 є ацетилтрансферазою, подібною до тієї, яка була визначена для ацетилювання гідроксиду під час біосинтезу аеробактину в *E. coli* [81]. Ці ацилпептидні сидерофори можуть бути додатково модифіковані ферментним шляхом при гідролізі жирних кислот з отриманням більш гідрофільної сполуки, яка зберігає свою хелатну активність до заліза. Біосинтез амфібактинів у *Alcanivorax borkumensis* індукується дефіцитом залізом. Структура диференціальної експресії показує регуляцію на ранній фазі росту [82]. Така поведінка може бути пов'язана з попереднім підходом вуглеводнево-класичних бактерій до адгезії нафти та емульгування вуглеводнів.

5.3.3. Вторинні метаболіти, синтезовані генетичним кластером полікетидсинтетази

Абіссоміцин С (рис. 5.7.А) – це новий поліциклічний полікетидний бактеріостатичний препарат, синтезований морською актинобактерією *Verrucosispora* sp. [83]. Він є потужним інгібітором біосинтезу *p*-амінобензойної кислоти та пригнічує біосинтез фолієвої кислоти на більш ранніх стадіях, ніж добре відомі синтетичні сульфоніламідні препарати [84]. Абіссоміцин С демонструє високу бактеріостатичну активність щодо грампозитивних бактерій, включаючи клінічні ізоляти з множинною стійкістю та стійкістю до ванкоміцину *S. aureus* [83]. Кластер біосинтетичних генів абіссоміцину С (*aby*) охоплює 57 кб і складається з генів полікетидсинтетази типу I (*abyB1*, *abyB2* та *abyB3*) та п'яти генів (*abyA1–A5*), гомологічних кластеру біосинтетичних генів хлоротрицину (*chlM* та *chlD1–4*), залучених для складання частини тетранової кислоти [85]. Існують також гени, що кодують оксигенази, а також гени з передбачуваними регуляторними та експортними функціями, що беруть участь у біосинтезі абіссоміцину. Для утворення абіссоміцину С потрібні дві молекули пропіонатів, п'ять молекул ацетатів та один метаболіт, похідний від глюкози [86].

Лінія синтезу полікетидсинтетази типу I складається з семи модулів необхідних для синтезу каркасу полікетиду абіссоміцину С (рис. 5.7.Б). Перший ген, *abyB1*, кодує чотири модулі; перший

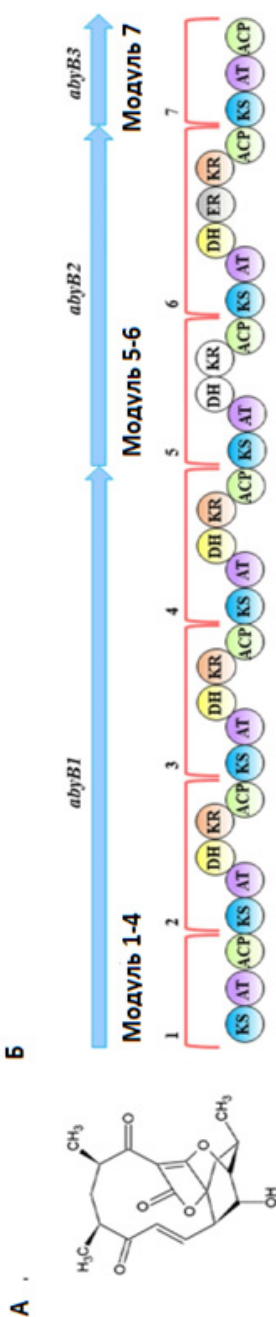


Рис. 5.7. (А) Абіссоміцин С. (В) Розподіл генів (*abuB1*, *abuB2* та *abuB3*, верхня частина) та доменна організація кластеру *abu* для біосинтезу абіссоміцину С (нижня частина). Склад модулів, кодованих кожним геном, і відносні розташування доменів вказані під генами. Рожеві (світло-сірі в друкованій версії) смуги позначають модулі полікетидсинтети, які пропонуються для участі в біосинтезі, нумеровані відповідно до порядку їх дії. Позначення: KS – ketoacyl synthase, AT – acyltransferase, ACP – acyl carrier protein, DH – dehydratase, KR – ketoreductase, ER – enoyl reductase [21, 86]

складається з мінімального набору кетоацилсинтетази, ацилтрансферази та білка переносника ацильних груп. Три наступні мають однаковий базовий набір, кожен з яких розширений доменами дегідратази і кеторедуктази, розташованими на лінії біосинтезу абіссоміцину С. Модуль 5 *abyB2* має те саме розташування, що модуль 4, але домени дегідратази і кеторедуктази, ймовірно, будуть неактивними. Модуль 6 містить додатковий домен еноїлредуктази, а модуль 7 білка *AbyB3* має додаткову ацетатну одиницю [86].

Бріостатин (рис. 5.8.А) належить до родини макроциклічних лактонів і є модулятором кінази С з потенційною протипухлинною та неврологічною активністю. Він зв'язується з диацилгліцериновим сайтом регуляторного домену С-1 кінази С, який бере участь у багатьох регуляторних процесах в клітинах еукаріотів [87]. Цей складний полікетид вперше був виділений з моховатки *Bugula neritina*, але було виявлено, що бріостатин синтезується некультивованою симбіотичною бактерією *Endobugula sertula* [88]. Відомо 20 структур бріостатину. Бріостатин є гіпотетичним попередником усіх бріостатинів. Бріостатин 1 пройшов клінічні випробування фази I і II, але не фази III, як засіб лікування раку, окремо та в поєднанні з іншими хімотерапевтичними засобами [87] та пройшов клінічне випробування фази II для лікування хвороби Альцгеймера [90]. Він також використовувався як один з компонентів для лікування центральної нервової системи [89]. Цей препарат також був запропонований як можливий компонент для терапії вірусу імунodefіциту людини [91]. Ацетат, гліцерин та S-аденозилметионін є ймовірними попередниками біосинтезу бріостатину [92]. Кластер біосинтетичних генів бріостатину (*bry*) охоплює 80 кб і містить дві частини – оперон *bryBCXDA PKS* на 71 кб, утворений п'ятьма гігантськими генами *PKS* типу (рис. 5.8Б), та оперон *bryPQRS* на 6 кб з чотирма меншими генами-аксесуарами. Обидві частини кластеру мають протилежний напрям транскрипції [93]. Аналіз порядку та особливостей послідовності каталітичного домену показує, що кластерним ферментам *bry* не вистачає доменів ацилтрансферази у модулях [87]. Ген *bryA* кодує чотири модулі, які, можливо, беруть участь у ініціації біосинтезу бріостатину [94].

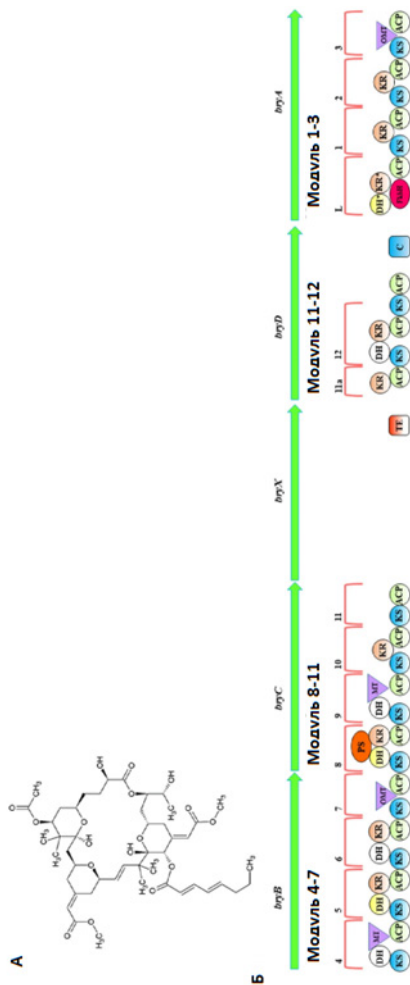


Рис. 5.8. (А) Бріостатин. (Б) Розподіл генів (*bry*BCXDA, верхня частина) та доменна організація кластера *bry* для біосинтезу бріостатину (нижня частина). Склад модулів кожного гена та відносне розташування доменів вказані під генами. Рожеві смуги вказують на модулі полікетидсинтети типу I, запропоновані для участі в біосинтезі бріостатину, пронумеровані відповідно до порядку їх дії [93]. Модуль завантаження має деякі унікальні домени, дегідратазу і кеторедуктазу Модуль 8 містить унікальний домен, пірансинтетазу, запропонований для утворення тетрагідропіранового кільця. Послідовності дегідратази в модулях 4, 6, 9 і 12 можуть бути мутованими, таким чином, неактивними (білий колір). Вказано два можливі домени для розвантаження, тіоестераза у *bryX* та нерибосомна пептидсинтетаза домену конденсації у *bryD*. Позначення: DH – dehydratase, KS – ketoacyl synthase, MT – methyltransferase, ACP – acyl carrier protein, OMT – O-methyltransferase, PKS – polyketide synthase, TE – thioesterase, KR – ketoreductase, C – condensation [94]

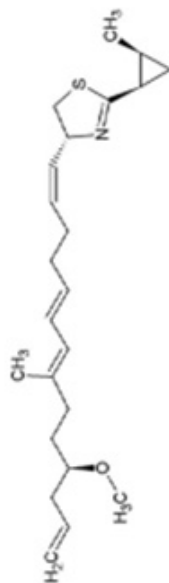
Гени *bryB* і *bryC* – перші два з п'яти великих генів полікетидсинтетази, також кодують по чотири модулі (M4-11), тоді як гени *bryX* і *D* кодують по два модулі, а також ряд окремих доменів. Перший кеторедуктаза – ацил переносний білок (M11a) та перші повні модулі *bryD* (M12), а також домен конденсації нерибосомної пептидсинтетази в *bryD* або домен тіоестерази в *bryX*, використовуються в біосинтезі бріостатину; інші домени *bryX* все ще мають невідомі функції [93].

5.3.4. Вторинні метаболіти, синтезовані за допомогою гібридного генного кластеру нерибосомної пептидсинтетази-полікетидсинтетази

Курацин А (рис.5.9.А) є антипроліферативною та цитотоксичною сполукою, що синтезується тропічною морською ціанобактерією *Lyngbya majuscula*. Показано, що він блокує клітинний цикл, взаємодіючи з місцем зв'язування колхіцину на тубуліні та інгібуючи полімеризацію мікротрубочок [95]. Мережа мікротрубочок контролює сегрегацію хромосом під час мітозу, рух везикул, війок та джгутиків, внутрішньоклітинний транспорт органел та підтримання форми клітини. Курацин А має високу протиракову активність. Зараз проходять його клінічні випробування для розробки синтетичних похідних з поліпшеною біодоступністю та ефективністю.

Ці аналоги також здатні пригнічувати полімеризацію тубуліну та високій рівень пригнічення росту в клітинних лініях раку [97]. Для утворення курацину А необхідні амінокислота цистеїн, 10 молекул ацетатних одиниць та дві молекули метилових груп, які отримані з аденозилметионіну. Кластер біосинтетичних генів курацину (*cur*) охоплює 64 кб і складається з 14 генів, позначених як *curA* – *curN*, що містять один ген нерибосомної пептидсинтетази і безліч генів полікетидсинтетази [96]. Гени полікетидсинтетази кодують один модуль типу I, за винятком *curF*, гібридного біомодуля полікетидсинтетази/нерибосомної пептидсинтетази [96]. Загальна архітектура та організація доменів кластеру є колінійними та відповідають структурі курацину А. Перші два домени *CurF* беруть участь у формуванні циклопропілової кільцевої структури за унікальним біохімічним механізмом, в якому реакції, опосе-

А



Б

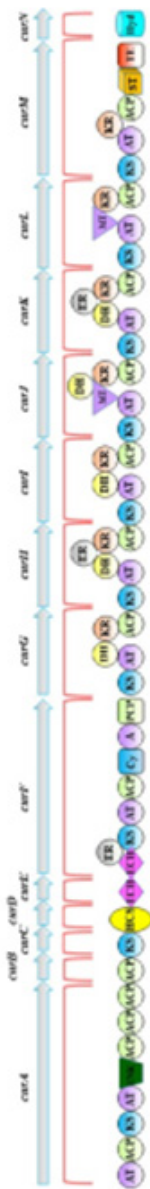


Рис. 5.9. (А) Курацин А. (В) Розподіл рамок зчитування (*curA* – N, верхня частина) та доменна організація кластеру *cur* для біосинтезу курацину А (нижня частина) у *Lyngbya majuscula*. Склад модулів кожного гена та доменне розташування вказані під генами рожевими смугами. Гени полікетидсинтетики кодують один модуль типу I, за винятком *curF*, гібридного біомодуля полікетидсинтетики/нерибосомної пептидсинтетики. Домени полікетидсинтетики відображаються як круги, домени нерибосомної пептидсинтетики – як квадрати. Позначення: ECH – enoyl-CoA hydratase/isomerase, HCS – 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA (HMG-CoA) synthase, Hyd – hydrolase, ST – sulfotransferase, UNK – putative oxidase [21, 96]

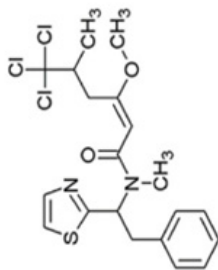
редковані синтетазою 3-гідрокси-3-метилглутарил-КоА добавляють ацетатну ланку до субстрату ацетоацетил-переносник білка ацильних груп [96]. Потім продукт декарбоксилюється і перегрупується з отриманням метилциклопропілової кільцевої системи курацинів. Білок *CurF* містить єдині домени нерибосомної пептидної синтетази, асоційовані (конденсація, аденілювання, поліненасичені жирні кислоти) з біосинтезом курацину А. Далі є сім модулів полікетидсинтетази, що відповідають за сім етапів конденсації з подовжувачами малоніл-КоА. *CurM* містить домен сульфотрансферази і домен тіоестерази на С-кінці кінцевого модуля полікетидсинтетази. Припускають, що *CurN* відіграє роль у вивільненні продукту та дегідратаційному декарбоксилюванні, що призводить до утворення кінцевого алкену [96].

Барбамід (рис. 5.10.А) – ще один вторинний метаболіт, ідентифікований з морської ціанобактерії *Lyngbya majuscula* 3L [98] та *Lyngbya aestuarii* BL J[99]. Це хлорований ліпопептид з моллюскоцидною активністю. Кластер біосинтетичних генів кодується 26-кб кластером з п'ятьма нерибосомними пептидсинтетазами, одної полікетидсинтетази та з іншими ферментами. Цей кластер складається з 12 відкритих рамок зчитування (*barA* – *barK*) (рис. 42В). Вони містять амінокислоти, L-лейцин, L-фенілаланін, L-цистеїн, ацетат та дві похідні групи S-аденозил метионіну[100].

Через наявність двох мотивів послідовності Шайна–Далгарно (сайт зв'язування рибосоми з мРНК прокаріотів) *barA* та *barF* збігається напрямок транскрипції генів *barA*–*barH*, вони експресуються двома поліцистронними інформаційними РНК. Наприкінці кластери *barI*, *barJ* і *barK* конвергентно транскрибуються з іншого промотору [98].

Ген *barA* має високу гомологію до пептидильного білка-носія модульних систем нерибосомної пептидсинтетази. Гени *barB1* і *barB2* каталізують хлорування про-*R* метилу Leu з утворенням проміжного трихлор-Leu [98, 100]. Ген *barC* має високу гомологію з генами тіоестерази у багатьох системах нерибосомних пептидсинтез, тоді як ген *barD* - це домен А, відповідальний за ініціювання шляху активації Leu [101]. Ген *barE* – це комбінація завантажувального модуля нерибосомної пептидсинтетази (домени аденілювання та пептидильного білка-носія) та напівмодуля

A



B

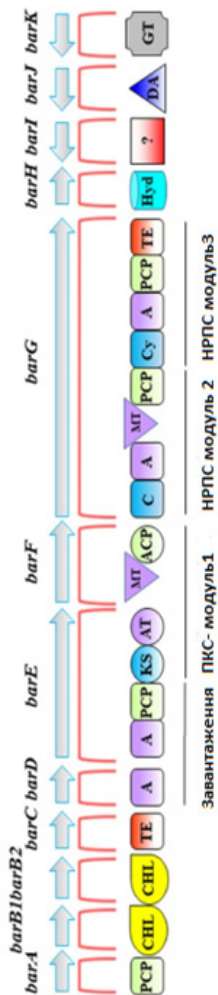


Рис. 5.10. (А) Барбамід. (В) Розподіл відкритої рамки зчитування (*barA*–*barK*, верхня частина) і організація домену кластера барбаміду в біосинтезі барбаміду (нижня частина), не в масштабі. Склад модулів кожного оперону та відносне розміщення доменів позначено під генами рожевим. Модуль завантаження та модулі полікетидсинтази (ПКС) і нерибосомної пептидсинтази (НРПС) 2 і 3 позначені чорними смугами. Позначення: CHL – домени хлорування, DA – фермент дезамінування, PCP – peptidyl carrier protein, CHL – chlorination, TE – thioesterase, A – adenylation, KS – ketoacyl synthase, AT – acyltransferase, MT – methyltransferase, ACP – acyl carrier protein, C – condensation, Cy – cysteine, Hyd – hydrolase, DA – deaminase, GT – glycosyltransferase [98]

полікетидсинтетази (домени кетоацилсинтетази та ацилтрансферази). На гені *barF* розташовані домени метилтрансферази і білка носія ацильних груп.

Два типових модулі нерибосомної петидсинтетази, кожен з яких містить домени конденсації, аденилювання та пептидильного білка носія, знаходяться на BarG. Домен метилтрансферази розташований між доменами аденилювання пептидильного білка носія модуля 2. Вважається, що два модулі BarG беруть участь у N-метилуванні, конденсації фенілаланіну та конденсації цистеїну з утворенням тiazолу/тіазолінового кільця під час біосинтезу барбаміду. Продукт синтезу гену *barH* може відігравати роль у декарбоксилюванні та утворенні подвійних зв'язків у тіазольному фрагменті вторинного метаболіту, тоді як продукт синтезу гена *barJ* може бути відповідальним за окиснювальне дезамінування з утворенням його проміжного продукту трихлор- α -кетозіокапроїл-ферменту. Функція дивергентно транскрибованих генів *barI* та *barK* досі незрозуміла [98].

Мікроцистин (рис. 5.11.A), циклічний гептапептидний токсин, є потужним інгібітором еукаріотичних білкових фосфатаз 1 і 2A і поступає в гепатоцити через транспортну систему жовчних кислот. Мікроцистин викликає гіперфосфорилування цитокератину, що призводить до порушення компонентів цитоскелету і деформації клітин з подальшим порушенням архітектури печінки [102]. Мікроцистин сприяє розвитку гепатоцелюлярної карциноми [103].

Мікроцистини представляють найбільшу структурно різноманітну групу ціанобактеріальних токсинів. Виявлено близько 90 ізоформ, що варіюються за ступенем метилування, гідрокслювання, епімеризації, послідовності пептидів та токсичності [21]. Кластер біосинтетичних генів мікроцистину (*mcy*) був ідентифікований у дев'яти геномів *Microcystis aeruginosa* (прісноводна ціанобактерія), восьми геномів *Planktothrix* та у *Anabaena* sp. 90 та *Fischerella* sp. PCC 9339 [104–112]. Як і слід було очікувати, кластер генів *mcy* відсутній у нетоксичному геномі *Microcystis aeruginosa* TA1HU98 [113].

Загальна структура мікроцистинів – цикло(-D-Ala-XD-MeAsp-ZAdda-D-Glu-Mdha-), в яких X та Z – інші залишки L-a-

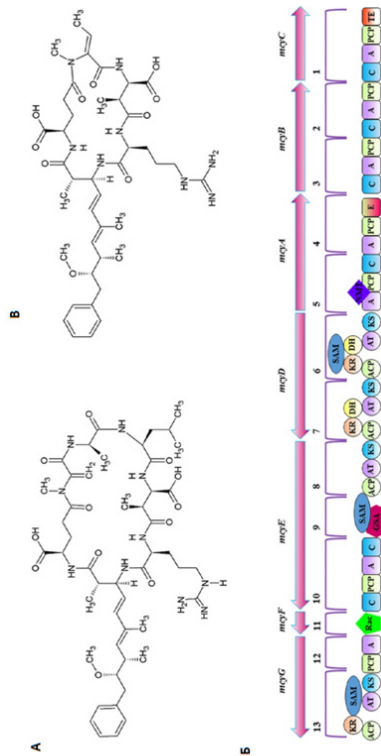


Рис. 5.11. (А) Мікроцистин. (Б) Розподіл рамок читування (*msuA* – *J*, верхня частина) та доменна організація кластера мікроцистину (нижня частина). Біосинтез розміщений у двох оперонах, що транскрибуються по-різному, *msuA* – *C* та *msuD* –. Фіолетові смужки позначають склад кожного оперону. Більший з двох оперонів – *msuD* – *J*; *msuD* кодує модульну полікетидсинтетазу, *msuE* та *msuG* кодують два гібридних ферменти, що містять модулі нерибосомної пептидсинтетази та полікетидсинтетази, а *msuF* кодує ферменти, передбачувано задіяні у пошитті молекули. Менший оперон, *msuA* – *C*, кодує три нерибосомні пептидсинтетази. Синтез структури мікроцистину починається з модуля 12, за яким слідують модулі 13, 6, 7, 8, 9, 10, 11 та 5, 4, 3, 2, [114]. Позначення: KR – ketoreductase, ACP – acyl carrier protein, SAM – S-adenosyl methionine, AT – acyltransferase, KS – ketoacyl synthase, PCP – peptidyl carrier protein, A – adenylation. Rac – racemase, C – condensation, GSA – glutamate-1-semialdehyde aminotransferase, KR – ketoreductase, DH – dehydratase, E – epimerization, TE – thioesterase. (Б) Нодуларин [114]

мінокислот, Adda-3-аміно-9-метокси-2,6,8-триметил-10-фенілдека-4,6-дієнова кислота, D-MeAsp – це D-еритро- β -ізо-аспаранова кислота, а MdhA - N-метил-дегідроАла (рис. 43A) [114].

Ген *tsu*, який кодує дві полікетидсинтетази, три нерибосомної пептидсинтетази і гібридну нерибосомну пептидсинтетазу/полікетидсинтетазу охоплює 55 кб і складається з 10 двонаправлених транскрибованих з відкритої рамки зчитування генів *tsuA*, *tsuB* та *tsuC* для активації та включення п'яти амінокислотних складових мікроцистину [114] та генів *tsuD*, *tsuE*, *tsuF*, *tsuG* та *tsuH* – *J* у напрямку, протилежному оперону *tsuABC* [115]. Менший оперон, *tsuA*– *C*, кодує три нерибосомні пептидсинтетази (McuA-C) (рис. 5.11.Б). McuD складається з двох модулів полікетидсинтетаз, а McuE містить модуль полікетидсинтетази на N-кінці та модуль пептидсинтетази на C-кінці. Встановлено, що McuF виявляє схожість з аспаратом Rac [115]. Полікетидсинтетаза McuG містить N-кінцевий аденилюючий-PCP навантажувальний диомен, який, як передбачається, завантажує стартовий блок, який зазнає подальшого розширення малонатом та амінокислотами. Гібридний фермент нерибосомної пептидсинтетази/полікетидсинтетази, McuG, є першим етапом біосинтезу 3-аміно-9-метокси-2,6,8-триметил-10-феніл-4,6-декадієнної кислоти, потім йде модифікація, яка каталізована модулями полікетидсинтетази McuD, E та F. Решта біосинтетичних ферментів у *tsu* (McuA-C), як передбачається, беруть участь у специфічній активації, модифікації та конденсації залишків амінокислот на лінійному пептидному ланцюзі, який потім циклізується з утворенням мікроцистину [116]. Тіоестераза, яка розташована на C-кінці може сприяти гідролізу та циклізації з отриманням кінцевої сполуки. Пошивні ферменти, пов'язані з кластером, включають О-метилтрансферазу (McuJ) та окрему дегідратазу (McuI) [117]. Вважається, що метилтрансферазний домен бере участь у перенесенні метильної групи в гідроксильну групу на 3-аміно-9-метокси-2,6,8-триметил-10-феніл-4,6-декадієнної кислоти [118].

Метилування може змінити структуру та біологічну активність мікроцистину шляхом підвищення ліпофільності та впливу на стереохімію молекули [119, 120]. О-метилтрансфераза залежить від кофакторів і потребує метильної донорної групи для ка-

талізу. Кофактором, як правило, є високореактивний іон сульфону та S-аденозилметионін.

Метилювання має важливе значення для токсичності мікроцистину та нодуларину (рис. 5.11.В). Природні варіанти мікроцистину, у яких відсутнє О-метилювання 3-аміно-9-метокси-2,6,8-триметил-10-феніл-4,6-декадієнної кислоти, зменшують інгібування білкових фосфатаз і знижують токсичність [121]. Порушення *msuJ* О-метилтрансферази у *Planktothrix agardhii* утворює деметильований варіант мікроцистину зі зниженою токсичністю [122].

Встановлено, що транспозази, пов'язані зі шляхами біосинтезу вторинних метаболітів, прилягають до кластерів генів мікроцистин-синтетази у ціанобактерій *Microcystis aeruginosa* PCC7806 [123]. *Planktothrix agardhii* CYA126 та *Anabaena* sp. 90 (AY212249), вказуючи на те, що транспозиція могла брати участь у передачі генів мікроцистин-синтетази між різними цитобактеріальними родами, що продукують мікроцистин [118].

Нодуларин (рис. 5.11.В), був ідентифікований у геномі *Nodularia spumigena* CCY9414 [124]. Він є структурним аналогом мікроцистину (рис. 5.11Б). Недавні генетичні дослідження дозволяють припустити, що генний кластер біосинтезу (*nda*) еволюціонував із кластера *msu* шляхом делеції двох модулів нерибосомної пептидсинтетази [125]. Розмір гену *nda* охоплює 48 кб і складається з дев'яти рамок зчитування, *ndaA* – *ndaI*, які транскрибуються з двонаправленої регуляторної області промотору і кодують дві нерибосомної пептидсинтетази, одну полікетидсинтетазу і два гібридних домена нерибосомної пептидсинтетази/полікетидсинтетази та адаптуючих ферментів.

Гени *nda* в геномі *Nodularia spumigena* NSOR10 вважаються транспозазами (фермент, що зв'язує одноланцюгову ДНК і вбудовує останню в геном бактерії) [125].

Під час або після вставки *nda* в геном *Nodularia* могла статися делеція, що призвело до втрати двох модулів нерибосомної пептидсинтетази можливо, це пов'язано з транспозицією кластера генів з подальшим генетичним переміщенням, мутагенезом, подіями делеції та рекомбінації [125].

Гектохлорин. Цитотоксичний та протигрибковий засіб гектохлорин (рис. 5.12.А.) є втринним метаболітом, виділеним з *Lyngbya majuscula* JHB. Генний кластер синтезу гектохлорину (*hct*) є колізійним [126]. Ген *hct* складається з восьми рамок зчитування (*hctA* – *hctH*) розміром 38 кб і кодує ферменти нерибосомної пептидсинтетази, полікетидсинтетази, цитохрому Р450 та галогенази (рис. 5.12.Б). Ген, *hctA* кодує білок, подібний до синтетази, яка каталізує перенесення ацильних груп, тоді як ген *hctB* кодує галогеназу (а також білок переносник ацильних груп), у якого схожа нуклеотидна послідовність з BarB1 і BarB2 в N-кінцевій області.

Галогеназа може утворювати 5,5-дихлоргексанову кислоту. Ген, *hctA* кодує білок, подібний до синтетази, яка каталізує перенос ацильних груп, тоді як ген *hctB* кодує галогеназу, а також білок переносник ацильних груп, у якого схожа нуклеотидна послідовність з BarB1 і BarB2 в N-кінцевій області. Галогеназа може утворювати 5,5-дихлоргексанову кислоту. Ген *hctC* схожий на інерційні нуклеотидні послідовності інших бактерій і кодує передбачувану транспозазу. Нукелотидні послідовності вставки є важливими елементами з точки зору виявлення геному, оскільки вони часто беруть участь у складанні кластерів генів зі спеціалізованими функціями і, ймовірно, відіграють роль у пластичності бактерій [126].

Особливість кластеру KR є наявність доменів у двох модулях пептид-синтетази, які, беруть участь в утворенні двох одиниць 2,3-дигідроксиізовалеріанової кислоти.

Ген *hctD* кодує модуль полікетидсинтетази типу I з організацією домену кетоацилсинтетази – ацилтрансферази – метилтрансферази – кеторедуктази – білок переносник ацильних груп. Ген *hctD* має дуже високу схожість з генами полікетидсинтетази *surA*, зберігаючи основні мотиви всіх п'яти доменів, знайдених у цьому кластері генів [127].

Кінцевий сайт *hctD* перекривається із початковим сайтом рамкою считування, ген *hctE*, який кодує бімодулярний білок нерибосомальної пептидсинтетази. Перший модуль складається з домену кеторедуктази, розташованою між доменами ацетилювання і пептидильного білка носія, що рідко зустрічається в модулях

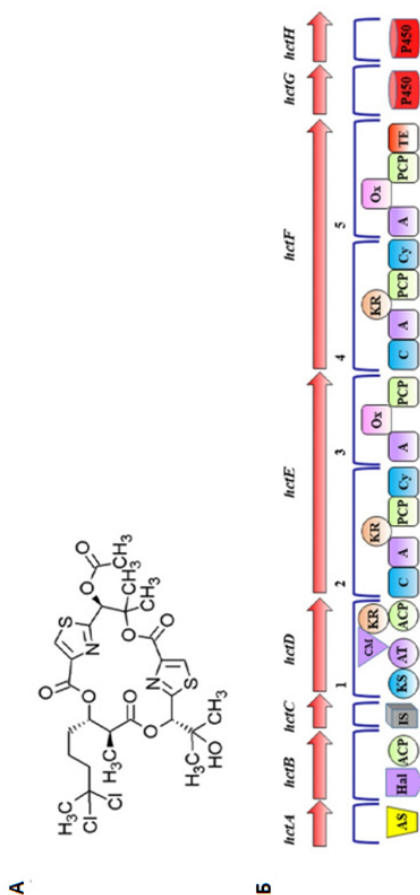


Рис. 5.12. (А) Гектохлорин. (Б) Розподіл рамок зчитування (*hctA* – *hctH*, верхня частина) та доменна організація кластера *hcs* в біосинтезі гектохлорину (нижня частина), розміщених у восьми рамок зчитування, що кодують нерибосомні пептидсинтетази, полікетидсинтетази, цитохром P450 та ферменти галогенази. Сині смуги вказують на склад кожного оперона. Модулі нумеруються в порядку дії. Ген *hctC* подібний до елементів інсерційної послідовності інших бактерій і кодує передбачувану транспозазу. Домени полікетидсинтетази відображаються як круги, домени нерибосомної пептидсинтетази – як квадрати. Позначення: AS – acyl-ACP synthetase, AT – acyltransferase, Hal – halogenase, ACP – acyl carrier protein, IS – isomerase, KS – ketoacyl synthase, PCP – peptidyl carrier protein, Cy – cysteine, KR – ketoreductase, C – condensation, A – adenylation, Ox – oxidase, P-450 – cytochrome P-450 [21, 126]

нерибосомної пептидсинтетази. Домен ацетилювання подібний (46% ідентичності) домену ацетилювання BarE, а також виявляє схожість (41% ідентичності) з ацетилювальними доменами мікроцистину MscG та нодулярину NdaC [126].

Другий модуль у HctE містить усі необхідні домени для аденилювання та гетероциклізації цистину і подібний (57% ідентичності) до BarG і CurF (58% ідентичності) [96, 98]. Цей модуль також містить флавінову моонуклеотидзалежну оксидазу. Ген hctF – це бімодальний ген нерибосомної пептидсинтетази, архітектура домену якого ідентична архітектурі HctE. Гени hctG і hctH кодують дві монооксигенази, які залежні від P450 та ймовірно, залучені до утворення одиниць 2,3-дигідроксиізовалеріанової кислоти [126].

Саліноспорамід А (рис. 5.13.А) – це новий рідкісний біциклічний β -лактон, γ -лактам, виділений з облигатної морської актинобактерії *Salinispora tropica* [127]. Саліноспорамід А є інгібітором протеосоми завдяки незворотному зв'язуванню з β -субодиницею протеосоми 20S, що індукує апоптоз у клітинах множинної мієломи. У 2006 році почалися його клінічні випробування І фази, як новий засіб для лікування раку людини [128]. Він також виявляє інгібуючу активність щодо розвитку паразитів (*Plasmodium falciparum*) *in vitro* та *in vivo* (*Plasmodium yoelii*) [129].

Кластер генів біосинтезу саліноспораміду А (*sal*) має розмір 41 kb і складається з кодуючого гена *salA* полікетидсинтетази та кодуючого гена *salB* нерибосомної пептидсинтетази [130].

Бімодулярний генний продукт *salA* складається з шести доменів, двох ацилтрансфераз, двох білків переносників ацильних груп, кетоацилсинтетази і домену конденсації [131]. Архітектура відрізняється від типових полікетидсинтетаз [132], але схожа з архітектурою деяких міксобактеріальних мегасинтетаз, таких як кодуючі біосинтез стигмателліну [133], сорафену [134] та ауурофуранону [135].

5.3.5. Вторинні метаболіти, синтезовані кластером генів синтетази жирних кислот/полікетидсинтетази

ЕРА (рис. 5.14.А) належить до групи ненасичених жирних кислот і синтезується глибоководною γ -протеобактерією *Photobacterium profundum* SS9.

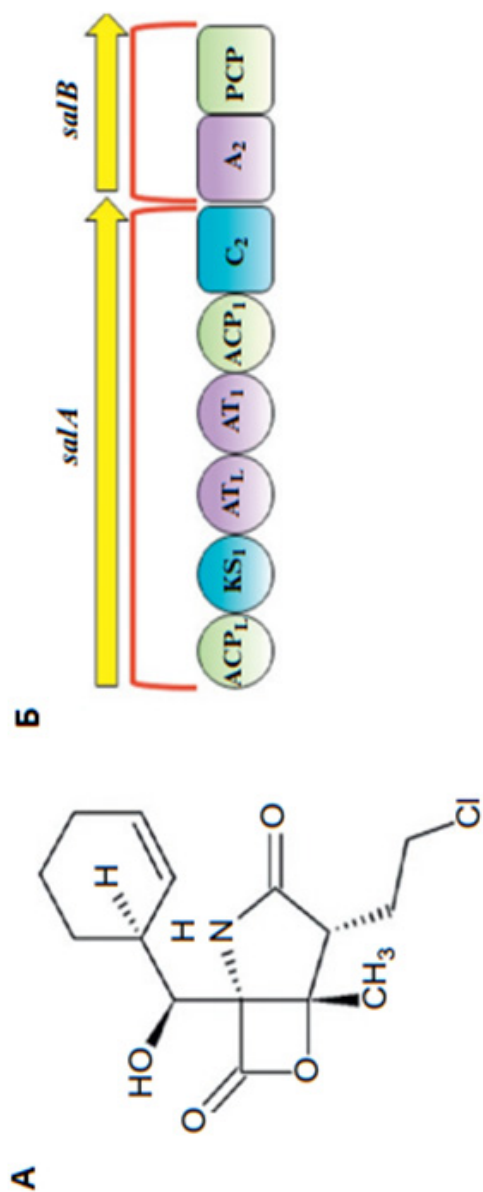


Рис. 5.13. (А) Саліноспорамід А. (Б) Розподіл рамок зчитування (*salA* – *salB*, верхня частина) та доменна організація кластеру у біосинтезі саліноспораміду А (нижня частина). Червоні смуги вказують на склад кожного оперону. Ген *salA*, що кодує полікетидсинтетазу, а *salB* – ген, що кодує нерибосомну пептидсинтетазу. Позначення: Індекс L відноситься до стартера, 1 і 2 до розширювача, ACP – acyl carrier protein, KS – ketoacyl synthase, AT – acyltransferase, C – condensation, A – adenylation, PCP – peptidyl carrier protein [130]

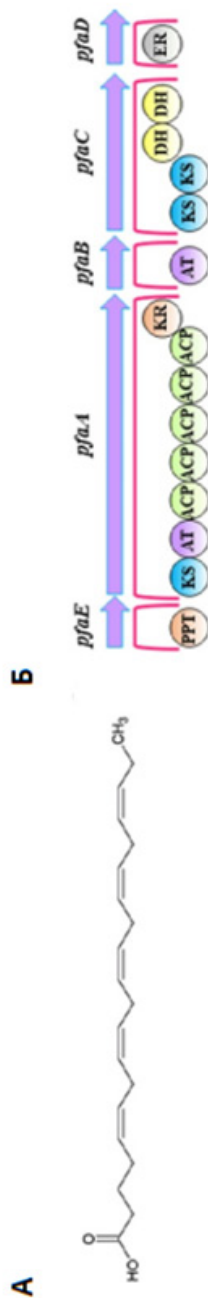


Рис. 5.14. (А) ЕРА. (Б) Розподіл рамок зчитування (pfaEABCD, верхня частина) та доменна організація кластера з п'ятьма генами, що беруть участь у біосинтезі ЕРА (нижня частина) у *Photobacterium profundum* SS9. Склад модулів кожного оперона та доменні схеми позначені під генами рожевими смугами. Позначення: PPT – phosphorantetheinyltransferase, KS – ketoacylsynthase, AT – acyltransferase, ACP – acyl carrier protein, KR – ketoreductase, DH – dehydratase, ER – enoyl reductase [139, 140]

Ненасичені жирні кислоти є важливими компонентами мембранних ліпідів. Встановлено їх вплив на здоров'я людини та роль попередників для багатьох гормонів і гормоноподібних регуляторних молекул [136–138].

Кластер біосинтетичних генів штаму *Photobacterium profundum* SS9 EPA (SS9 pfa) організований в чотиригенний оперон (pfaEABCD) (рис. 46Б). Ген *pfaA*, який містить нуклеотидні послідовності, що відповідають кетоацилсинтетази, ацилтрансферази, п'яти молекул ацилпереносного білку в кеторедуктазному домені. Ген *pfaB* кодує один ацилтрансферазний домен. Ген *pfaC* кодує один кетоацилсинтетазний домен [141] і два домени β -гідроксиацил-білка переносника ацильних груп дегідратази/ізомерази. Ген *pfaD* кодує один єноїлредуктазний домен. Ці домени можуть каталізувати етапи росту ацильного ланцюга, де кожна конденсація супроводжується повними або скороченими відновними реакційними циклами кетовідновлення, дегідратації/ізомеризації та відновлення єноїла [139].

Домени ацил переносного білку це каркаси для ковалентного приєднання ацильних субстратів і інтермедіатів при біосинтезі [140]. Ген *pfaE*, кодує, фосфопантетеїнілтрансферазу необхідну для каталітичної активації доменів ацилпереносного білку і може знаходитись в іншому місці геному. Відмінною рисою бактеріальних синтетаз поліненасичених жирних кислот є наявність кластеризованих повторювальних генів ацилпереносного білку: в штамі *Photobacterium profundum* SS9 ген *pfaA* має п'ять доменів ацилпереносного білку, у бактерії *Shewanella* sp. – шість доменів ацилпереносного білку, у бактерії *Moritella* - п'ять доменів ацилпереносного білку і мікроводорості *Schizochytrium* – дев'ять доменів ацилпереносного білку [45].

Така організація ферментних доменів синтетаз поліненасичених жирних кислот зберігається у глибоководних організмів [140]. Одним із можливих пояснень є те, що таке розташування було обрано через його здатність синтезувати більший вихід жирних кислот (адитивний ефект), збільшуючи кількість ковалентних зв'язків, доступних для синтезу. Присутності лише одного активного домену ацилпереносного білку достатньо для здійснення біосинтезу поліненасичених жирних кислот, а додаткові до-

мени ацилперносного білку збільшують вихід поліненасичених жирних кислот [142].

Дослідження продуктів гена *pfa*, штама *Photobacterium profundum* SS9 продемонструвало, що вони мають схожі послідовності з багатофункціональними ферментними комплексами, залученими в такі процеси, як синтез антибіотиків [143], синтез еукаріотичних жирних кислот [144] та синтез гліколіпідів у гетероцистах [145].

Висока подібність послідовностей між генами *pfa* бактерій (*Shewanella* sp. SCRC-2738, *M. marina* та *P. profundum* SS9) та міководості *Schizochytrium* свідчить про можливу участь горизонтального переносу генів у придбанні кластерів генів *pfa* у морському середовищі. Однак є ознаки того, що фланкуючі гени мають функції, які можуть сприяти горизонтальному переносу генів [139].

Список використаної літератури

1. *Straight P. D., Fischbach M. A., Walsh C. T. et al.* A singular enzymatic megacomplex from *Bacillus subtilis*// Proc. Nat. Acad. Sci. USA.–2007. – V. 104 (1). – P. 305–310.
2. *Osborn M.* Secondary metabolic gene clusters: Evolutionary toolkits for chemical innovation// Trends in Genetics. – 2010. – V. 26 (10). – P. 449–457.
3. *Donadio S., Monciardini P., Sosio M.* Polyketide synthases and nonribosomal peptide synthetases: The emerging view from bacterial genomics// Nat. Prod. Rep. – 2007.– V. 24 (5).– P. 1073–1109.
4. *Paulsen I. T., Press C. M., Ravel J. et al.* Complete genome sequence of the plant commensal *Pseudomonas fluorescens* Pf–5// Nat. Biotech. – 2005.–V. 23 (7).– P. 873–878.
5. *Stinear T. P., Mve-Obiang A., Small P. L. et al.* Giant plasmid-encoded polyketide synthases produce the macrolide toxin of *Mycobacterium ulcerans*// Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 2004. – V. 101 (5).– P.1345–1349.
6. *Firn R. D. Jones C. G.* The evolution of secondary metabolism—a unifying model// Mol. Micro. – 2000. – V. 37 (5). – P. 989–994.

7. *Ochman H., Lawrence J. G., Groisman E. A.* Lateral gene transfer and the nature of bacterial innovation// *Nature*. – 2000. – P. 405 (6784). – P. 299–304.
8. *Lawrence J. G., Hendrix R. W., Casjens S.* Where are the pseudogenes in bacterial genomes? // *Trends Micro*. – 2001. – V. 11 (11). – P. 535–540.
9. *Ziemert N., Jensen P. R.* Phylogenetic approaches to natural product structure prediction// *Meth. Enzym.* – 2012. – V. 517 (1). – P. 161–182.
10. *Doroghazi J. R., Metcalf W. W.* Comparative genomics of actinomycetes with a focus on natural product biosynthetic genes// *BMC Genomics*. – 2013. – V. 14 (1). – P. 611–624.
11. *Fischbach M. A., Walsh C. T., Clardy J.* The evolution of gene collectives: How natural selection drives chemical innovation// *Proc. Nat. Acad. Sci. o USA*. – 2008. – V. 105 (12). – P. 4601–4608.
12. *Koonin E. V., Makarova K. S., Aravind L.* Horizontal gene transfer in prokaryotes: Quantification and classification// *Ann. Rev. Microb.* – 2001. – V. 55 (1). – P. 709–742.
13. *Cimermancic P., Medema M. H., Claesen J. et al.* Insights into secondary metabolism from a global analysis of prokaryotic biosynthetic gene clusters // *Cell*. – 2014. – V. 158 (2). – P. 412–421.
14. *Santoyo G., Romero D.* Gene conversion and concerted evolution in bacterial genomes // *FEMS Microb. Rev.* – 2005. – V. 29 (2). – P. 169–183.
15. *Medema M. H., Cimermancic P., Sali A. et al.* A systematic computational analysis of biosynthetic gene cluster evolution: Lessons for engineering biosynthesis // *PLoS Comp. Biol.* – 2014. – V. 10 (12). – e1004016.
16. *Marahiel M. A.* Working outside the protein-synthesis rules: Insights into non-ribosomal peptide synthesis // *J. Pep. Sci.* – 2009. – V. 15 (12). – P. 799–807.
17. *Staunton J., Weissman K. J.* Polyketide biosynthesis: A millennium review // *Nat. Prod. Rep.* – 2001. – V. 18 (4). – P. 380–416.
18. *Fischbach M. A., Walsh C. T.* Assembly-line enzymology for polyketide and nonribosomal peptide antibiotics: Logic, ma-

- chinery, and mechanisms // *Chem. Rev.* – 2006. – V. 106 (8). – P. 3468–3496.
19. *Hopwood D. A.* Genetic contributions to understanding polyketide synthases // *Chem. Revi.* – 1997. – V. 97 (7). – P. 2465–2498.
 20. *Shen B.* Polyketide biosynthesis beyond the type I, II and III polyketide synthase paradigms // *Cur. Opin. Chem. Biol.* – 2003. – V. 7 (2). – P. 285–295.
 21. *Giordano D., Coppola D, Russo R. et al.* Marine Microbial Secondary Metabolites: Pathways, Evolution and Physiological Roles // *Adv. Microb. Physiol.* – 2015. – V. 66 (4). – P. 357–428.
 22. *Bode H. B., Muller R.* Possibility of bacterial recruitment of plant genes associated with the biosynthesis of secondary metabolites // *Plant Physiol.* – 2003. – V. 13 (3). – P. 1153–1161.
 23. *Jenke-Kodama H., Sandmann A., Muller R. Dittmann E.* Evolutionary implications of bacterial polyketide synthases // *Mol. Biol. Evol.* – 2005. – V. 22 (10). – P. 2027–2039.
 24. *Yu D., Xu F., Zeng J., Zhan J.* Type III polyketide synthases in natural product biosynthesis // *IUBMB Life.* – 2012. – V. 64 (4). – P. 285–295.
 25. *Austin M. B., Noel J. P.* The chalcone synthase superfamily of type III polyketide synthases // *Nat. Prod. Rep.* – 2003. – V. 20 (1). – P. 79–110.
 26. *Keatinge-Cla A. T., Maltby D. A., Medzihradzsky K. F. et al.* An antibiotic factory caught in action // *Nat. Struct. Mol. Biol.* – 2004. – V. 11 (9). – P. 888–893.
 27. *Lambalot R. H., Gehring A. M., Flugel R. S. et al.* A new enzyme superfamily—The phosphopantetheinyl transferases // *Chem. Biol.* – 1996. – V. 3 (11). – P. 923–936.
 28. *Mootz H. D., Finking R., Marahiel M. A.* 4'-Phosphopantetheine transfer in primary and secondary metabolism of *Bacillus subtilis* // *J. Biol. Chem.* – 2001. – V. 276 (40). – P. 37289–37298.
 29. *Bisang C., Long P. F., Cortes J. et al.* A chain initiation factor common to both modular and aromatic polyketide synthases // *Nature.* – 1999. – V. 401 (6752). – P. 502–505.

30. *Wilkinson C. J., Frost E. J., Staunton J., Leadlay P. F.* Chain initiation on the soraphen-producing modular polyketide synthase from *Sorangium cellulosum* // *Chem. Biol.* – 2001. – V. 8 (12). – P. 1197–1208.
31. *Keating T. A., Ehmann D. E., Kohli R. M. et al.* Chain termination steps in nonribosomal peptide synthetase assembly lines: Directed acyl-S-enzyme breakdown in antibiotic and siderophore biosynthesis // *Chem. BioChem.* – 2001. – V. 2 (2). – P. 99–107.
32. *Sieber S. A., Marahiel M. A.* Molecular mechanisms underlying nonribosomal peptide synthesis: Approaches to new antibiotics // *Chem. Rev.* – 2005. – V. 105 (2). – P. 715–738.
33. *Schmoock G., Pfennig F., Jewiarz J. et al.* Functional cross-talk between fatty acid synthesis and nonribosomal peptide synthesis in quinoxaline antibiotic-producing streptomycetes // *J. Biol. Chem.* – 2005. – V. 280 (6). – P. 4339–4449.
34. *Gaitatzis N., Kunze B., Muller R.* In vitro reconstitution of the myxochelin bio-synthetic machinery of *Stigmatella aurantiaca* Sg a15: Biochemical characterization of a reductive release mechanism from nonribosomal peptide synthetases // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2001. – V. 98 (20). – P. 11136–11141.
35. *Walsh C. T.* Enzymes in the D-alanine branch of bacterial cell wall peptidoglycan assembly // *J. Biol. Chem.* – 1989. – V. 264 (5). – P. 2393–2396.
36. *Hoffmann K., Schneider-Scherzer E., Kleinkauf H., Zocher, R.* Purification and characterization of eukaryotic alanine racemase acting as key enzyme in cyclosporin biosynthesis // *J. Biol. Chem.* – 1994. – V. 269 (17). – P. 12710–12714.
37. *Gehring A. M., Mori I., Perry R. D., Walsh C. T.* The nonribosomal peptide synthetase HMWP2 forms a thiazoline ring during biogenesis of yersiniabactin, an iron-chelating virulence factor of *Yersinia pestis* // *Biochem.* – 1998. – V. 37 (33). – P. 11637–11650.
38. *Schneider T. L., Walsh C. T.* Portability of oxidase domains in nonribosomal peptide synthetase modules // *Biochem.* – 2004. – V. 43 (50). – P. 15946–15955.
39. *Khosla C., Harbury P. B.* Modular enzymes // *Nature.* – 2001. – V. 409 (6817). – P. 247–252.

40. *White S.W., Zheng J., Zhang Y.M., Rock C.O.* The structural biology of type II fatty acid biosynthesis // *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* – 2005. – V. 74 (1). – P. 791–831.
41. *Schweizer E., Hofmann J.* Microbial type I fatty acid synthases (FAS): Major players in a network of cellular FAS systems // *Microb. Mol. Biol. Rev.* – 2004. – V. 68 (3). – P. 501–517.
42. *Donadio S., Monciardini P., Sosio, M.* Polyketide synthases and nonribosomal peptide synthetases: The emerging view from bacterial genomics // *Nat. Prod. Rep.* – 2007. – V. 24 (5). – P. 1073–1109.
43. *Nichols D. S.* Prokaryotes and the input of polyunsaturated fatty acids to the marine food web // *FEMS Microb. Let.* – 2003. – V. 219 (1). – P. 1–7.
44. *Nichol, D. S., McMeekin T. A.* Biomarker techniques to screen for bacteria that produce polyunsaturated fatty acids // *J. Microb. Meth.* – 2002. – V. 48 (3). – P. 161–170.
45. *Metz J. G., Roessler P., Facciott D. et al.* Production of polyunsaturated fatty acids by polyketide synthases in both prokaryotes and eukaryotes // *Science.* – 2001. – V. 293 (5528). – P. 290–293.
46. *Shuls, C. N., Allen E. E.* Widespread occurrence of secondary lipid biosynthesis potential in microbial lineages // *PloS One.* – 2011. – V. 6 (5). – e20146.
47. *Bauersachs T., Compaore J., Hopmans E. C. et al.* Distribution of heterocyst glycolipids in cyanobacteria // *Phytochem.* – 2009. – V. 70 (17–18). – P. 2034–2039.
48. *Miyanaga A., Funa N., Awakawa T., Horinouchi S.* Direct transfer of starter substrates from type I fatty acid synthase to type III polyketide synthases in phenolic lipid synthesis // *Proc. Nat. Acad. Sci USA.* – 2008. – V. 105 (3). – P. 871–876.
49. *Kalscheuer R., Stoveken T., Malkus U. et al.* Analysis of storage lipid accumulation in *Alcanivorax borkumensis*: Evidence for alternative triacylglycerol biosynthesis routes in bacteria // *J. Bacter.* – 2007. – V. 189 (3). – P. 918–928.
50. *Golyshi, P. N., Dos Santos V., Kaiser O. et al.* Genome sequence completed of *Alcanivorax borkumensis*, a hydrocarbon-degrad-

- ing bacterium that plays a global role in oil removal from marine systems // *J. Biotech.* – 2003. – V. 106 (2–3) – P. 215–220.
51. *Borer P. M., Sulzberger B., Reichard P., Kraemer S. M.* Effect of siderophores on the light induced dissolution of colloidal iron(III) (hydr)oxides // *Mar. Chem.* – 2005. – V. 93 (2). – P. 179–193.
 52. *Rastogi R. P., Sinha R. P.* Biotechnological and industrial significance of cyanobacterial secondary metabolites.. *Biotech. Adv.* – 2009. – V. 27 (4). – P. 521–539.
 53. *Kem M. P., Zane H. K., Springer S. D. et al.* Amphiphilic siderophore production by oil-associating microbes // *Metallomics.* – 2014. – V. 6 (6). – P. 1150–1155.
 54. *Martinez J. S., Zhang G. P., Holt P. D. et al.* Self-Assembling amphiphilic siderophores from marine bacteria. *Science.* – 2000. – V. 287 (5456). – P. 1245–1247.
 55. *Homann V. V., Sandy M., Tincu J. A. et al.* Loihichelins, A–F, a suite of amphiphilic siderophores produced by the marine bacterium *Halomonas* LOB-5 // *J. Nat. Prod.* – 2009. – V. 72 (5). – P. 884–888.
 56. *Martin J. D., Ito Y., Homann V. V. et al.* Structure and membrane affinity of new amphiphilic siderophores produced by *Ochrobactrum* sp. SP18 // *J. Biol. Inorg. Chem.* – 2006. – V. 11 (4). – P. 633–641.
 57. *Ito Y., Butler A.* Structure of synechobactins, new siderophores of the marine cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC 7002 // *Limnol. Ocean.* – 2005. – V. 50 (6). – P. 1918–1923.
 58. *Martinez J. S., Carter-Franklin J. N., Mann E. L.* Structure and membrane affinity of a suite of amphiphilic siderophores produced by a marine bacterium // *Proc. Nat. Acad Sci.* – 2003. – V. 100 (7). – P. 3754–3759.
 59. *Barbeau K., Rue E. L., Bruland K. W., Butler A.* Photochemical cycling of iron in the surface ocean mediated by microbial iron(III)-binding ligands// *Nature.* – 2001. – V. 413 (6854). – P. 409–413.
 60. *Barbeau K., Zhang G., Live D. H., Butler A.* Petrobactin, a photoreactive siderophore produced by the oil-degrading marine

- bacterium *Marinobacter hydro-carbonoclasticus* // J. Amer. Chem. Soc. – 2002. – V. 124 (3). – P. 378–379.
61. *de Carvalho C. C., Fernandes P.* Production of metabolites as bacterial responses to the marine environment // *Marine Drugs*. – 2010. – V. 8 (3). – P. 705–727.
 62. *Flanagan M. E., Brickner S. J., Lall M. et al.* Preparation gram-negative antibacterial activity, and hydrolytic stability of novel siderophore-conjugated monocarbam diols // *ACS Med. Chem. Lett.* – 2011. – V. 2 (3). – P. 385–390.
 63. *Sharma A., Johri B. N.* Growth promoting influence of siderophore-producing *Pseudomonas* strains GRP3A and PRS9 in maize (*Zea mays* L.) under iron limiting conditions // *Microb. Res.* – 2003. – V. 158 (2). – P. 243–248.
 64. *Lindsey W. T., Olin B. R.* Deferasirox for transfusion-related iron overload: A clinical review // *Clin. Ther.* – 2007. – V. 29 (10). – P. 2154–2166.
 65. *Pahl P.M.B., Horwitz M.A., Horwitz K.B., Horwitz L.D.* Desferri-exochelin induces death by apoptosis in human breast cancer cells but does not kill normal breast cells // *Breast Cancer Res. Treat.* – 2001. – V. 69 (1). – P. 69–79.
 66. *Rotheneder A., Fritsche G., Heinisch L. et al.* Effects of synthetic siderophores on proliferation of *Plasmodium falciparum* in infected human erythrocytes // *Antimic. Agen. Chemoth.* – 2002. – V. 46 (6). – P. 2010–2013.
 67. *Hartgerink J. D., Beniash E., Stupp S. I.* Self-assembly and mineralization of peptide–amphiphile nanofibers // *Science*. – 2001. – V. 294 (5547). – P. 1684–1688.
 68. *Kem M. P., Zane H. K., Springer S. D. et al.* Amphiphilic siderophore production by oil-associating microbes // *Metallomics*. – 2014. – V. 6 (6). – P. 1150–1155.
 69. *Denaro R., Crisafi F., Russo D. et al.* *Alcanivorax borkumensis* produces an extracellular siderophore in iron-limitation condition maintaining the hydrocarbon degradation efficiency // *Mar. Gen.* – 2014. – V. 17 (1). – P. 43–52.
 70. *Hu X., Jing X.* Biodegradable amphiphilic polymer-drug conjugate micelles // *Exp. Opin. Drug Del.* – 2009. – V. 6 (10). – P. 1079–1090.

71. *Takahashi A., Nakamura H., Kameyama T., et al.* Bisucaberin, a new siderophore, sensitizing tumor-cells to macrophage-mediated cytotoxicity. Physicochemical properties and structure determination // *J. Antibio.* – 1987. – V. 40 (12). – P. 1671–1676.
72. *Winkelmann G., Schmid D. G., Nicholson G. et al.* Bisucaberin-A dihydroxamate siderophore isolated from *Vibrio salmonicida*, an important pathogen of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) // *BioMetals.* – 2002. – V. 15 (2). – P. 153–160.
73. *Gram L., Lovold T., Nielsen J. et al.* In vitro antagonism of the probiont *Pseudomonas fluorescens* strain AH2 against *Aeromonas salmonicida* does not confer protection of salmon against furunculosis // *Aquaculture.* – 2001. – V. 199 (1). – P. 1–11.
74. *Manwar A. V., Khandelwal S. R., Chaudhari B. L.,* Siderophore production by a marine *Pseudomonas aeruginosa* and its antagonistic action against phytopathogenic fungi // *Appl. Biochem. Biotech.* – 2004. – V. 118 (1–3). – P. 243–251.
75. *Brunt J., Newaj-Fyzul A., Austin B.* The development of probiotics for the control of multiple bacterial diseases of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) // *J. Fish Dis.* – 2007. – V. 30 (5). – P. 573–579.
76. *Marshall M. J., Beliaev A. S., Fredrickson J. K.* Microbiological transformations of radionuclides in the subsurface // In R. Mitchell & J. Gu (Eds.), *Environmental microbiology* New Jersey, USA: Wiley-Blackwell. – 2010. – P. 95–114.
77. *Dimitroglou A., Merrifield D. L., Carnevali O. et al.* Microbial manipulations to improve fish health and production-A Mediterranean perspective. *Fish and Shellfish Immunology.* – 2011. – V. 30 (1). – P. 1–16.
78. *Hara A., Baik S., Syutsubo K. et al.* Cloning and functional analysis of *alkB* genes in *Alcanivorax borkumensis* SK2 // *Environ. Microb.* – 2004. – V. 6 (2). – P. 191–197.
79. *Kem M. P., Zane H. K., Springer S. D.* Amphiphilic siderophore production by oil-associating microbes // *Metallomics.* – 2014. – V. 6 (6). – P. 1150–1155.
80. *Krass F. I., Helmetag V., Wittmann M. et al.* Functional dissection of surfactin synthetase initiation module reveals insights

- into the mechanism of lipoinitiation // *Chem. Biol.* – 2010. – V. 17. – P. 872–880.
81. *de Lorenzo V., Bindereif A., Paw B. H., Neilands J. B.* Aerobactin biosynthesis and transport genes of plasmid ColV-K30 in *Escherichia coli* K-12 // *J. Bacteriol.* – 1986. – V. 165 (2). – P. 570–578.
 82. *Denaro R., Crisafi F., Russo D. et al.* *Alcanivorax borkumensis* produces an extracellular siderophore in iron-limitation condition maintaining the hydrocarbon degradation efficiency // *Mar. Genom.* – 2014. – V. 17. – P. 43–52.
 83. *Riedlinger J., Reicke A., Zähner H. et al.* Abyssomicins, inhibitors of the para-aminobenzoic acid pathway produced by the marine *Verrucospora* strain AB-18-032 // *J. Antibiot.* – 2004. – V. 57 (4). – P. 271–279.
 84. *Bister B., Bischoff D., Stroebel M. et al.* Abyssomicin C-A polycyclic antibiotic from a marine *Verrucospora* strain as an inhibitor of the p-aminobenzoic acid/tetrahydrofolate biosynthesis pathway // *Angew. Chem. Int. Ed.* – 2004. – V. 43 (19). – P. 2574–2576.
 85. *Jia X. Y., Tian Z. H., Shao L. et al.* Genetic characterization of the chlorothricin gene cluster as a model for spirotetronate antibiotic biosynthesis // *Chem. Biol.* – 2006. – V. 13 (6). – P. 575–585.
 86. *Gottardi E. M., Krawczyk J. M., von Suchodoletz H. et al.* Abyssomicin biosynthesis: Formation of an unusual polyketide, antibiotic-feeding studies and genetic analysis // *Chem. Bio. Chem.* – 2011. – V. 12 (9). – P. 1401–1410.
 87. *Trindade-Silva A. E., Lim-Fong G. E., Sharp K. H., Haygood M. G.* Bryostatins: Biological context and biotechnological prospects // *Cur. Op. Biotech.* – 2010. – V. 6 (6). – P. 834–842.
 88. *Davidson S. K., Allen S. W., Lim G. E. et al.* Evidence for the biosynthesis of bryostatins by the bacterial symbiont “*Candidatus Endo-bugula sertula*” of the bryozoan *Bugula neritina* // *Appl. Environ Microb.* – 2001. – V. 67 (10). – P. 4531–4537.
 89. *Sun M., Alkon D.* Protein kinase C activators as synaptogenic and memory therapeutics // *Archiv der Pharmazie.* – 2009. – V. 342 (12). – P. 689–698.

90. *Etcheberrigaray R., Tan M., Dewachter I. et al.* Therapeutic effects of PKC activators in Alzheimer's disease transgenic mice // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2004. – V. 101 (30). – P. 11141–11146.
91. *Mehla R., Bivalkar-Mehla S., Zhang R. et al.* Bryostatin modulates latent HIV-1 infection via PKC and AMPK signaling but inhibits acute infection in a receptor independent manner // *PloS One.* – 2010. – V. 5 (6). – e11160.
92. *Mackie J. A., Keough M. J., Christidis L.* Invasion patterns inferred from cytochrome oxidase I sequences in three bryozoans, *Bugula neritina*, *Watersipora subtorquata*, and *Watersipora arcuata* // *Mar. Biol.* – 2006. – V. 149 (2). – P. 285–295.
93. *Sudek S., Lopanik N. B., Waggoner L. E. et al.* Identification of the putative bryostatin polyketide synthase gene cluster from “*Candidatus Endobugula sertula*”, the uncultivated microbial symbiont of the marine bryozoan *Bugula neritina* // *J. Nat. Prod.* – 2007. – V. 70 (1). – P. 67–74.
94. *Hildebrand M., Waggoner L. E., Liu H. et al.* bryA: An unusual modular polyketide synthase gene from the uncultivated bacterial symbiont of the marine bryozoan *Bugula neritina* // *Chem. Biol.* – 2004. – V. 11 (11). – P. 1543–1552.
95. *Blokhin A. V., Yoo H. D., Gerald S. R. et al.* Characterization of the interaction of the marine cyanobacterial natural product curacin A with the colchicine site of tubulin and initial structure–activity studies with analogues // *Mol. Pharm.* – 1995. – V. 48 (3). – P. 523–531.
96. *Chang Z., Sitachitta N., Rossi J. V. et al.* Biosynthetic pathway and gene cluster analysis of curacin A, an antitubulin natural product from the tropical marine cyanobacterium *Lyngbya majuscula* // *J. Nat. Prod.* – 2004. – V. 67 (8). – P. 1356–1367.
97. *Wipf P., Reeves J. T., Day B. W.* Chemistry and biology of curacin A // *Cur. Pharm. Des.* – 2004. – V. 10 (12). – P. 1417–1437.
98. *Chang Z., Flatt P., Gerwick W. H. et al.* The barbamide biosynthetic gene cluster: A novel marine cyanobacterial system of mixed polyketide synthase (PKS)-non-ribosomal peptide synthetase (NRPS) origin involving an unusual trichloroleucyl starter unit // *Gene.* – 2002. – V. 296 (1–2). – P. 235–247.

99. *Kothari A., Vaughn M., Garcia-Pichel F.* Comparative genomic analyses of the cyanobacterium, *Lyngbya aestuarii* BL J, a powerful hydrogen producer // *Front. Microb.* – 2013. – V. 4 (4). – P. 363.
100. *Galonic D. P., Vaillancourt F. H., Walsh C. T.* Halogenation of unactivated carbon centers in natural product biosynthesis: Trichlorination of leucine during barbamide biosynthesis // *J. Amer. Chem. Soc.* – 2006. – V. 128 (12). – P. 3900–3901.
101. *Challis G. L., Ravel J., Townsend C. A.* Predictive, structure-based model of amino acid recognition by non-ribosomal peptide synthetase adenylation domains // *Chem. Biol.* – 2000. – V. 7 (3). – P. 211–224.
102. *Camnchael W. W.* The toxins of cyanobacteria // *Scien. Amer.* – 1994. – V. 270(1). – P. 64–72.
103. *Nishiwaki-Matsushima R., Ohta T., Nishiwaki S., et al.* Liver tumor promotion by the cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin-LR // *J. Canc. Res. Clin Onc.* – 1992. – V. 118 (6). – P. 420–421.
104. *Fiore M. F., Alvarenga D. O., Varani A. M. et al.* Draft genome sequence of the Brazilian toxic bloom-forming cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* strain SPC777 // *Genome Announc.* – 2013. – V. 1 (4). – e00547–13.
105. *Frangoul L., Quillardet P., Castets A.-M. et al.* Highly plastic genome of *Microcystis aeruginosa* PCC 7806, a ubiquitous toxic freshwater cyanobacterium // *BMC Genom.* – 2008. – V. 9 (9). – P. 274.
106. *Humbert J.-F., Barbe V., Latifi A. et al.* A tribute to disorder in the genome of the bloom-forming freshwater cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* // *PloS One.* – 2013. – V. 8 (8). – e70747.
107. *Kaneko T., Sato S., Kotani H. et al.* Sequence analysis of the genome of the unicellular cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC6803. II. Sequence determination of the entire genome and assignment of potential protein-coding regions // *DNA Res.* – 1996. – V. 3 (3). – P. 109–136.
108. *Micallef M. L., D'Agostino P. M., Al-Sinawi B. et al.* Exploring cyanobacterial genomes for natural product biosynthesis pathways // *Mar. Genom.* – 2014. – V. 21 (1). – P. 1–12.

109. *Rounge T. B., Rohrlack T., Nederbragt A. J. et al.* A genome wide analysis of nonribosomal peptide synthetase gene clusters and their pep-tides in a *Planktothrix rubescens* strain // *BMC Genom.* – 2009. – V. 10 (1). – P. 1–11.
110. *Shih P. M., Wu D., Latifi A. et al.* Improving the coverage of the cyanobacterial phylum using diversity-driven genome sequencing // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2013. – V. 110 (3). – P. 1053–1058.
111. *Tooming-Klunderud A., Sogge H., Rounge T. B., et al.* From green to red: Horizontal gene transfer of phycoerythrin gene cluster between *Planktothrix* strains // *Appl. Environ. Microb.* – 2013. – V. 79 (21). – P. 6803–6812.
112. *Wang H., Sivonen K., Rouhiainen L. et al.* Genome-derived insights into the biology of the hepatotoxic bloom-forming cyanobacterium *Anabaena* sp. strain 90 // *BMC Genom.* – 2012. – V. 13 (1). – P. 613–630.
113. *Yang C., Zhang W., Ren M. et al.* Whole-genome sequence of *Microcystis aeruginosa* TAIHU98, a nontoxic bloom-forming strain isolated from Taihu Lake, China // *Genom. Announ.* – 2013. – V. 1 (3). – e00333–313.
114. *Nishizawa T., Ueda A., Asayama M. et al.* Polyketide synthase gene coupled to the peptide synthetase module involved in the biosynthesis of the cyclic heptapeptide microcystin // *J.Biochem.* – 2000. – V. 127 (5). – P. 779–789.
115. *Nishizawa T., Asayama M., Fuji K. et al.* Genetic analysis of the peptide synthetase genes for a cyclic heptapeptide microcystin in *Microcystis* spp // *J. Biochem.* – 1999. – V. 126 (3). – P. 520–529.
116. *Sielaff H., Dittmann E., Tandeau De Marsac N. et al.* The *mcyF* gene of the microcystin biosynthetic gene cluster from *Microcystis aeruginosa* encodes an aspartate racemase // *Biochem. J.* – 2003. – V. 373 (Pt3). – P. 909–916.
117. *Pearson L., Mihali T., Moffitt M. et al.* On the chemistry, toxicology and genetics of the cyanobacterial toxins, microcystin, nodularin, saxitoxin and cylindrospermopsin // *Mar. Drugs.* – 2010. – V. 8 (5). – P. 1650–1680.

118. *Kalaitzis J. A., Lauro F. M., Neilan B. A.* Mining cyanobacterial genomes for genes encoding complex biosynthetic pathways // *Natur. Prod. Rep.* – 2009. – V. 26 (11). – P. 1447–1465.
119. *Rouhiainen L., Vakkilainen T., Siemer B. L. et al.* Genes coding for hepatotoxic heptapeptides (microcystins) in the cyanobacterium *Anabaena* strain 90 // *Appl. Environ. Microb.* – 2009. – V. 70 (2). – P. 686–692.
120. *Rix U., Fischer C., Remsing L. L., Rohr J.* Modification of post-PKS tailoring steps through combinatorial biosynthesis // *Natur. Prod. Rep.* – 2002. – V. 19 (5). – P. 542–580.
121. *Namikoshi M., Rinehart K. L., Sakai R. et al.* Identification of 12 hepatotoxins from a Homer Lake bloom of the cyanobacteria *Microcystis aeruginosa*, *Microcystis viridis*, and *Microcystis wesenbergii*: Nine new microcystins // *J. Org. Chem.* – 1992. – V. 57 (12). – P. 866–872.
122. *Christiansen G., Fastner J., Erhard M. et al.* Microcystin biosynthesis in planktothrix: Genes, evolution, and manipulation // *J. Bacteriol.* – 2003. – V. 185 (2). – P. 564–572.
123. *Tillett D., Dittmann E., Erhard M. et al.* Structural organization of microcystin biosynthesis in *Microcystis aeruginosa* PCC7806: An integrated peptide-polyketide synthetase system // *Chem. Biol.* – 2000. – V. 7 (10). – P. 753–764.
124. *Voss B., Bolhuis H., Fewer D. P. et al.* Insights into the physiology and ecology of the brackish-water-adapted cyanobacterium *Nodularia spumigena* CCY9414 based on a genome-transcriptome analysis // *PloS One.* – 2013. – V. 8 (3). – e60224.
125. *Moffitt M. C., Neilan B. A.* Characterization of the nodularin synthetase gene cluster and proposed theory of the evolution of cyanobacterial hepatotoxins // *Appl. Environ. Microb.* – 2004. – V. 70 (11). – P. 6353–6562.
126. *Ramaswamy A. V., Sorrels C. M., Gerwick W. H.* Cloning and biochemical characterization of the hectochlorin biosynthetic gene cluster from the marine cyanobacterium *Lyngbya majuscula* // *J. Natur. Prod.* – 2007. – V. 70 (12). – P. 1977–1986.
127. *Feling R.H., Buchanan G.O., Mincer T.J. et al.* Salinosporamide A: A highly cytotoxic proteasome inhibitor from a novel micro-

- bial source, a marine bacterium of the new genus *Salinospora* // *Angew. Chem.* – 2003. – V. 42 (3). – P. 355–357.
128. *Fenical W., Jensen P. R., Palladino M. A. et al.* Discovery and development of the anticancer agent salinosporamide A (NPI-0052) // *Bioorg. Med. Chem.* – 2009. – V. 17 (6). – P. 2175–2180.
 129. *Prudhomme J., McDaniel E., Ponts N. et al.* Marine actinomycetes: A new source of compounds against the human malaria parasite // *PloS One.* – 2008. – P. 3 (6). – e2335.
 130. *Gulder T. A. M., Moore B. S.* Salinosporamide natural products: Potent 20 S proteasome inhibitors as promising cancer chemotherapeutics // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* – 2010. – V. 49 (49). – P. 9346–9367.
 131. *Udwary D. W., Zeigler L., Asolkar R. N. et al.* Genome sequencing reveals complex secondary metabolome in the marine actinomycete *Salinispora tropica* // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2007. – V. 104 (25). – P. 10376–10381.
 132. *Hertweck C.* The biosynthetic logic of polyketide diversity // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* – 2009. – V. 48 (26). – P. 4688–4716.
 133. *Gaitatzis N., Silakowski B., Kunze B. et al.* The biosynthesis of the aromatic myxobacterial electron transport inhibitor stigmatellin is directed by a novel type of modular polyketide synthase // *J. Biol. Chem.* – 2002. – V. 277 (15). – P. 13082–13090.
 134. *Ligon J., Hill S., Beck J. et al.* Characterization of the biosynthetic gene cluster for the antifungal polyketide soraphen A from *Sorangium cellulosum* So ce26 // *Gene.* – 2002. – V. 285 (1–2). – P. 257–267.
 135. *Frank B., Wenzel S. C., Bode H. B. et al.* From genetic diversity to metabolic unity: Studies on the biosynthesis of aurafurones and aurafuron-like structures in myxobacteria and streptomyces // *J. Mol. Biol.* – 2007. – V. 374 (1). – P. 24–38.
 136. *Angerer P., Schacky C. V.* n-3 Polyunsaturated fatty acids and the cardiovascular system // *Cur. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* – 2000. – V. 3 (6). – P. 439–445.
 137. *Lauritzen L., Hansen H. S., Jorgensen M. H., Michaelsen K. F.* The essentiality of long chain n-3 fatty acids in relation to devel-

- opment and function of the brain and retina // *Prog. Lipid Res.* – 2001. – V. 40 (1). – P. 1–94.
138. *Sauer L. A., Dauchy R. T., Blask D. E.* Polyunsaturated fatty acids, melatonin, and cancer prevention // *Biochem. Pharm.* – 2001. – V. 61 (12). – P. 1455–1462.
 139. *Allen E. E., Bartlett D. H.* Structure and regulation of the omega-3 polyunsaturated fatty acid synthase genes from the deep-sea bacterium *Photobacterium profundum* strain SS9 // *Microbiology*. – 2002. – V. 148 (Pt.6). – P. 1903–1913.
 140. *Trujillo U., Vazquez-Rosa E., Oyola-Robles D. et al.* Solution structure of the tandem acyl carrier protein domains from a polyunsaturated fatty acid synthase reveals beads-on-a-string configuration // *PloS One*. – 2013. – V. 8 (2). – e57859.
 141. *Bisang C., Long P. F., Cortes J. et al.* A chain initiation factor common to both modular and aromatic polyketide synthases // *Nature*. – 1999. – V. 401 (6752). – P. 502–505.
 142. *Jiang H., Zirkle R., Metz J. G. et al.* The role of tandem acyl carrier protein domains in polyunsaturated fatty acid biosynthesis // *J. Amer. Chem. Soc.* – 2008. – V. 130 (20). – P. 6336–6337.
 143. *Pfeifer B. A., Khosla C.* Biosynthesis of polyketides in heterologous hosts // *Microb. Mol. Biol. Rev.* – 2001. – V. 65 (1). – P. 106–118.
 144. *Beaudoin R., Michaelson L. V., Hey S. J. et al.* Heterologous reconstitution in yeast of the polyunsaturated fatty acid biosynthetic pathway // *Proc. Nat. Acad. of Sci. USA*. – 2000. – V. 97 (12). – P. 6421–6426.
 145. *Campbell E. L., Cohen M. F., Meeks J. C.* A polyketide synthase-like gene is involved in the synthesis of heterocyst glycolipids in *Nostoc punctiforme* strain ATCC 29133 // *Arch. Microb.* – 1997. – V. 167 (4). – P. 251–258.

ГЛАВА 6.

ЕКОЛОГІЧНА РОЛЬ ВТОРИННИХ МЕТАБОЛІТІВ МОРСЬКИХ МІКРООРГАНІЗМІВ

Вторинні метаболіти відіграють важливу екологічну роль в організмі. Вони допомагають при засвоєнні поживних речовин [1], у якості сполук комунікації [2] та захисту [3]. Антагоністичні взаємодії між організмами відіграють важливу роль у наданні еволюційних переваг екологічному співтовариству і можуть мати вирішальне значення для виживання. Від прямого вбивання клітин і закінчуючи вилученням необхідної поживної речовини, як у випадку з хелатним залізом. Антагонізм морських бактерій існує проти інших морських бактерій, а також еукаріотів, і включає антибіоз, пригнічення кворуму, стримування поселення личинок та захист від хижацтва.

Бактерії є членами складних спільнот, в яких конкуренція за простір та ресурси може бути сильною [4]. Роль антагонізму у формуванні структури спільнот була продемонстрована у асоційованих з коралами бактерій [5] та в морських агрегатах [8]. Однак порівняно небагато прикладів, коли були визначені конкретні сполуки, відповідальні за цю діяльність. Винятком є мікроцистин, синтезований *Nostoc* sp. BHU001, який безпосередньо впливає на ріст конкуруючих штамів ціанобактерій [9].

Інгібування кворум сенсингу – це ще один процес, за допомогою якого бактерії використовують сигнальні молекули, відомі як аутоіндуктори, для розпізнавання щільності клітин для регуляції таких процесів, як ройова рухливість, утворення біоплівки, біолюмінесценція та вироблення антибіотиків [10]. Грамнегативні бактерії переважно використовують ацилові гомосеринові лактони для опосередкування кворум сенсингу [10], тоді як більшість грампозитивних бактерій використовують пептиди, що продукуються рибосомами, як аутоіндуктори, або, як у випадку з родом *Streptomyces*, γ -бутиролактони [11]. Механізми, відомі як "гасіння кворуму", еволюціонували, щоб перешкоджати цьому процесу [11]. Гасіння кворуму може відбуватися секрецією ферментів, які розщеплюють лактонне кільце гомосеринлактонів [12], або продукуванням малих молекул, які конкурентно зв'язуються з місцем

рецептора гомосеринлактонів. Виробництво інгібіторів кворум сенсингу морськими бактеріями може забезпечити ефективний метод конкуренції, який не вимагає, щоб штам–продуцент був стійким до токсичного метаболіту, як це зазвичай буває при виробництві антибіотиків.

Взаємодія морських бактерій та еукаріотів є складною і включає взаємозв'язки хижака – жертва та асоціації, починаючи від коменсальної поверхневої колонізації і закінчуючи облигатними симбіозами та існує ще багато взаємодій між бактеріями та еукаріотами. Ймовірно це опосередковується вторинними метаболітами. Наприклад, цвітіння ціанобактерій це захист від мезозoopланктону, який забезпечується вивільненням токсинів [13]. Однак це не підтверджується перевагою зоопланктону щодо нетоксичних ціанобактерій [14], або індукцією вироблення токсину у відповідь на тиск зоопланктону [15].

Бактеріальний вторинний метаболізм, ймовірно, активується стресом навколишнього середовища [16, 17]. В середовищах, де простір обмежений [18], виснаження заліза є важливим механізмом конкуренції та антагонізму. У морських системах залізо часто є лімітуючою поживною речовиною [19], що свідчить про те, що виробництво ефективних хелатуючих залізо молекул може надати перевагу над бактеріями, які не мають доступу до нерозчинного заліза [20]. Виробництво деяких кластерів токсинів (наприклад, мікроцистину) індукується обмеженням заліза [21]. Хоч функціональні ролі цих сполук можуть бути специфічними лише для певних середовищ існування та ситуацій, все ж вони можуть бути використані, при алелопатичних взаємодіях під час формування морських біоплівки, створених уникнення хижацтва [22].

Однією з проблем у морських бактерій є подолання стану дефіциту заліза. Насправді концентрація заліза в морському середовищі в 1000 разів нижча за мінімальну кількість, необхідну для росту бактерій [23, 24]. Залізо необхідне для життя мікроорганізмів. Залізо бере участь у багатьох основних біологічних процесах, таких як фотосинтез, фіксація N_2 , метаногенез, виробництво та споживання H_2 , дихання, цикл три карбонових кислот, транспорт кисню, регуляція генів та біосинтез ДНК [25].

Морські та наземні бактерії розробили ряд складних механізмів поглинання заліза, включаючи активацію вторинного метаболізму для виробництва сидерофорів [26, 27]. Сидерофори – це низькомолекулярні сполуки (400–1000 Да) з високою спорідненістю до заліза, що виділяються бактеріями у зовнішнє середовище, де вони з'язують залізо для транспортування в клітину (див. Глава 5, розділ 5.6.1.). Така передача відбувається через вдосконалену систему регулювання [28]. Важливою частиною опосередкованого сидерофором поглинання заліза є супутнє вироблення білків рецепторів зовнішньої мембрани, які розпізнають специфічний комплекс сидерофорного заліза із надзвичайною селективністю [29]. Разом із захопленням заліза сидерофори виконують кілька екологічних ролей, такі як утворення комплексів з іншими важливими елементами (Mo, Mn, Co, Ni) у навколишньому середовищі та надання їм доступності для мікробних клітин [30, 31] за участь у біогеохімічному колообігу заліза в океані [32], конкуруючи або співпрацюючи з фітопланктоном для використання заліза [33, 34]. Більше того, морські сидерофори беруть участь у рості бактерій [35], формуванні біоплівки та в соціальній комунікації бактерій як сигнал для взаємодії між клітинами, співпраці або конкуренції [36].

Бактеріальні вторинні метаболіти також можуть бути секвестровані організмами, які ними харчуються, забезпечуючи при цьому набуті механізми захисту від потенційних патогенних організмів та хижаків. Структурна схожість між сполуками морських безхребетних та сполуками, виробленими бактеріями, показала, що це за рахунок симбіозу між бактеріями та морськими безхребетними. Однією з проблем вирішення цього питання є те, що багато симбіонтів не легко отримати в культурі. Незважаючи на цю перешкоду, є все більше доказів щодо мікробного походження деяких метаболітів у морських безхребетних [37].

Антагоністичну активність морських бактерій використовують як пробіотики в аквакультурі [38] та компоненти антиобро-стальних покриттів [39].

Список використаної літератури

1. *Hider, R. C., Kong X.* Chemistry and biology of siderophores // *Natur. Prod. Rep.* – 2010. – V. 27 (5). – P. 637–657.
2. *Straight P. D., Kolter R.* Interspecies chemical communication in bacterial development // *Ann. Rev. Microb.* – 2009. – V. 63 (1). – P. 99–118.
3. *Wietz M., Duncan K., Patin N. V., Jensen P. R.* Antagonistic interactions mediated by marine bacteria: The role of small molecules // *J. Chem. Ecol.* – 2013. – V. 39 (7). – P. 879–891.
4. *Hibbing M. E., Fuqua C., Parsek M. R., Peterson, S. B.* Bacterial competition: Surviving and thriving in the microbial jungle // *Natur. Rev. Microb.* – 2010. – V. 8(1). – P. 15–25.
5. *Rypien K. L., Ward J. R., Azam F.* Antagonistic interactions among coral-associated bacteria // *Environ. Microb.* – 2010. – V. 12 (1). – P. 28–39.
6. *Strahl E. D., Dobson W. E., Lundie L. L., Jr.* Isolation and screening of brittlestar-associated bacteria for antibacterial activity // *Cur. Microb.* – 2002. – V. 44 (6). – P. 450–459.
7. *Mangano S., Michaud L., Caruso C. et al.* Antagonistic interactions between psychrotrophic cultivable bacteria isolated from Antarctic sponges: A preliminary analysis // *Res. Microb.* – 2009. – V. 160 (1). – P. 27–37.
8. *Grossart H. P., Schlingloff A., Bernhard M. et al.* Antagonistic activity of bacteria isolated from organic aggregates of the German Wadden Sea // *FEMS Microb.Ecol.* – 2003. – V. 47 (3). – P. 387–396.
9. *Bajpai R., Sharma N. K., Rai A. K.* Physiological evidence indicates microcystin-LR to be a part of quantitative chemical defense system // *J. Appl. Phycol.* – 2013. – V. 25 (5). – P. 1575–1585.
10. *Miller M. B., Bassler B. L.* Quorum sensing in bacteria // *An. Rev. Microb.* – 2001. – V. 55 (1). – P. 165–199.
11. *Waters C. M., Bassler B. L.* Quorum sensing: Cell-to-cell communication in bacteria // *An. Rev. Cell and Develop. Biol.* – 2005. – V. 21 (1). – P. 319–346.

12. *Dong Y. H., Wang L. H., Xu J. L. et al.* Quenching quorum-sensing-dependent bacterial infection by an N-acyl homoserine lactonase // *Nature*. – 2001. – V. 411 (6839). – P. 813–817.
13. *Gobler C. J., Davis T. W., Coyne K. J., Boyer G. L.* The interactive influences of nutrient loading and zooplankton grazing on the growth and toxicity of cyanobacteria blooms in a eutrophic lake // *Harmful Algae*. – 2007. – V. 6 (1). – P. 119–133.
14. *Davis T.W., Gobler C. J.* Grazing by mesozooplankton and microzooplankton on toxic and non-toxic strains of *Microcystis* in the Transquaking River, a tributary of Chesapeake Bay // *J. Plank. Res.* – 2011. – V. 33 (3). – P. 415–430.
15. *Brutemark A., Engstrom-Öst J.* Does the presence of zooplankton influence growth and toxin production of *Nodularia spumigena*? // *Int. Rev. Hydrobiol.* – 2013. – V. 98 (5). – P. 225–234.
16. *Crisafi F., Denaro R., Genovese M. et al.* Application of relative real-time PCR to detect differential expression of virulence genes in *Vibrio anguillarum* under standard and stressed growth conditions // *J. Fish Diseases*. – 2014. – V. 37 (7). – P. 629–640.
17. *Penn K., Wang J., Fernando S., Thompson J.* Secondary metabolite gene expression and interplay of bacterial functions in a tropical freshwater cyanobacterial bloom // *ISME J.* – 2014. – V. 8 (9). – P. 1866–1878.
18. *Hibbing M. E., Fuqua C., Parsek M. R., Peterson S. B.* Bacterial competition: Surviving and thriving in the microbial jungle // *Nat. Rev. Microb.* – 2010. – V. 8 (1). – P. 15–25.
19. *Falkowski P. G., Barber R. T., Smetacek V. V.* Biogeochemical controls and feedbacks on ocean primary production // *Science*. – 1998. – V. 281 (5374). – P. 200–207.
20. *Butler A.* Acquisition and utilization of transition metal ions by marine organisms // *Science*. – 1998. – V. 281 (5374). – P. 207–210.
21. *Alexova R., Fujii M., Birch D. et al.* Iron uptake and toxin synthesis in the bloom-forming *Microcystis aeruginosa* under iron limitation // *Environ. Microb.* – 2011. – V. 13 (4). – P. 1064–1077.

22. *Matz C., Webb J. S., Schupp P. J. et al.* Marine biofilm bacteria evade eukaryotic predation by targeted chemical defense // *PloS One*. – 2008. – V. 3 (7). – P. e2744.
23. *Church M. J., Hutchins D. A., Ducklow H. W.* Limitation of bacterial growth by dissolved organic matter and iron in the Southern Ocean // *Appl. Environ. Microb.* – 2000. – V. 66 (2). – P. 455–466.
24. *de Baar H., Boyd P. W., Coale K. H. et al.* Synthesis of iron fertilization experiments: From the iron age in the age of enlightenment // *J. Geophys. Res.* – 2005. – V. 110 (C09S16). – P. 1–24.
25. *Andrews S. C., Robinson A. K., Rodriguez-Quinones F.* Bacterial iron homeostasis // *FEMS Microb. Rev.* – 2003. – V. 27 (2–3). – P. 215–237.
26. *Butler A.* Marine siderophores and microbial iron mobilization // *BioMetals*. – 2005. – V. 18 (4). – P. 369–374.
27. *Schroder I., Johnson E., de Vries S.* Microbial ferric iron reductases // *FEMS Microb. Rev.* – 2003. – V. 27 (2–3). – P. 427–447.
28. *Cornelis P., Andrews S. C.* Iron Uptake and Homeostasis in Microorganisms // (Eds.). Norfolk, UK: Caister Academic Press. – 2010. – P. 302.
29. *Vraspir J. M., Butler A.* Chemistry of marine ligands and siderophores // *Ann. Rev. Marine Sci.* – 2009. – V. 1 (1). – P. 43–63.
30. *Bellenger J. P., Wichard T., Kustka A. B., Kraepiel A. M. L.* Uptake of molybdenum and vanadium by a nitrogen-fixing soil bacterium using siderophores // *Nature Geosci.* – 2008. – V. 1 (2). – P. 243–246.
31. *Braud A., Jezequel K., Bazot S., Lebeau T.* Enhanced phytoextraction of an agricultural Cr-and Pb-contaminated soil by bioaugmentation with siderophore-producing bacteria // *Chemosphere*. – 2009. – V. 74 (2). – P. 280–286.
32. *Gledhill M., Buck K. N.* The organic complexation of iron in the marine environment: A review // *Front. Microb.* – 2012. – V. 3 (1). – P. 69.
33. *Amin S. A., Parker M. S., Armbrust E. V.* Interactions between diatoms and bacteria // *Microb. Mol. Biol. Rev.* – 2012. – V. 76 (3). – P. 667–684.

34. *Cordero O. X., Wildschutte H., Kirkup B. et al.* Ecological populations of bacteria act as socially cohesive units of antibiotic production and resistance // *Science*. – 2012. – V. 337(6099). – P. 1228–1231.
35. *Guan L. L., Kanoh K., Kamino K.* Effect of exogenous siderophores on iron uptake activity of marine bacteria under iron-limited conditions // *Appl. Environ Microb.* – 2001. – V. 67 (4). – P. 1710–1717.
36. *Czaran T., Hoekstra R. F.* Microbial communication, cooperation and cheating: Quorum sensing drives the evolution of cooperation in bacteria // *PloS One*. – 2009. – V. 4 (8). – e6655.
37. *Piel J., Hui D., Wen G. et al.* Antitumor polyketide biosynthesis by an uncultivated bacterial symbiont of the marine sponge *Theonella swinhoei* // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. – 2004. – V. 101 (60). – P. 16222–16227.
38. *Balcazar J. L., de Blas I., Ruiz-Zarzuola I.* The role of probiotics in aquaculture *Vet. Microb.* – 2006. – V. 114 (3–4). – P. 173–186.
39. *Burgess J. G., Boyd K. G., Armstrong E. et al.* The development of a marine natural product-based antifouling paint // *Biofouling*. – 2003. – V. 19 (supl. 1). – P. 197–205.

ГЛАВА 7.

ГЕННІНІ КЛАСТЕРИ ВТОРИННИХ МЕТАБОЛІТІВ МОРСЬКИХ МІКРООРГАНІЗМІВ ТА ЇХ ГЕТЕРОЛОГІЧНА ЕКСПРЕСІЯ

Основною проблемою при використанні біоактивних вторинних метаболітів, як наземних так і морських мікроорганізмів є те що вони синтезують невелику кількість цих вторинних метаболітів. Крім того, морські мікроорганізми незавжди у лабораторних умовах здатні синтезувати біоактивні продукти, так як штучні умови лабораторій не відповідають умовам, при яких ці мікроорганізми синтезують біоактивні вторинні метаболіти. Розвиток геноміки привів до розшивровки геномів багатьох мікроорганізмів. Були створені, так звані геномні бібліотеки, які дають змогу на основі нуклеотидної послідовності визначати таксономічну приналежність організмів. Крім того, ця бібліотека дає змогу визначати гени, які кодують ферменти обміну речовин та беруть участь у синтезі первинних так і вторинних метаболітів. В основному описи бактеріальних геномів містять узагальнений опис синтезу життєво важливих первинних метаболітів та генів, які відповідають за їх біосинтез, а також генів, що беруть участь у біосинтезі кофакторів та білків–носіїв. Опис бактеріальних генів, які беруть участь у синтезі вторинних метаболітів мало досліджений. Іноді біосинтез кофакторів та білків–носіїв пов'язаний із виробництвом вторинного метаболіту, проте немає загального уявлення про біосинтетичний потенціал організму [1].

Інструменти для ідентифікації нових тіоматричних модульних систем та нових систем Біо–ПАР переходять від ідентифікації специфічних залишків доменів, відповідальних за розпізнавання та активацію субстратів [2], до ідентифікації кластерів доменів, які одночасно зустрічаються у всіх модульних системах, що синтезують різноманітні вторинні метаболіти [3], щоб охарактеризувати модифікуючі ферменти [4]. Багато з цих попередніх алгоритмів були вдосконалені в нових інструментах, наприклад, анти–SMASH [5, 6] це швидка біоінформаційна система, яка дає змогу ідентифікувати та аналізувати кластери генів біосинтезу вторинних метаболітів у послідовностях геномів бактерій і гри-

бів. У подальшому отримані результати були об'єднані в спеціальні бази даних, такі як ClusterMine360 [7].

При роботі з більш складними мікробними спільнотами, або некультивованими мікробними штамами (симбіонтів) з успіхом застосовувалося збагачення специфічних популяцій з наступним створенням бібліотек довгих вставок, які можуть бути функціонально попередньо перевірені на цікаві клони перед секвенуванням [8, 9]. Хоча цей підхід трудомісткий, його також можна використовувати для аналізу ДНК навколишнього середовища, як альтернативою метагеномному секвенуванню [10, 11]. Часто ці підходи вимагають використання спеціалізованого клонування векторів для подолання проблем із кодоновим упередженням, але мають додаткову перевагу, що їх можна використовувати для гетерологічної експресії та функціонального скринінгу генних продуктів тіоматричних та Біо–Пар модульних систем [12, 13].

Тим не менше, найбільшим обмеженням цих методів є те, що лише в певних випадках гени тіоматричних та Біо–Пар модульних систем можуть бути віднесені до конкретних мікробних таксонів. Існує, так звана, одноклітинна геноміка де окремі клітини (ймовірно, які не піддаються культивуванню) відокремлені від складних спільнот за допомогою сортування флуоресцентних клітин при допомозі мікрофлюїдної інкапсуляції або мікродисекції [14]. Потім ДНК з цих окремих клітин може ампліфікуватися шляхом багаторазового переміщення та секвенування. Цей підхід був використаний для характеристики 58–кб біосинтетичного тіоматричного модульного кластеру, що бере участь у синтезі апра-токсину, який інакше не вдалося ідентифікувати через відсутність культури продукуючої ціанобактерії *Lyngbya bouillonii* [15].

Всі ці біоінформаційні методи набирають популярності в ідентифікації цих тіомодульних та Біо–Пар систем, тому що вони беруть участь в синтезі клінічно важливих сполук, таких як доксорубіцин, бріостатин, які використовуються в онкології та антибіотик ванкоміцин. Крім того, продукти полікетидсинтетази та/або нерибосомної пептидсинтетази є одними з найпотужніших токсинів (наприклад, сакситоксин).

У актиноміцетів значний відсоток своїх геномів асоційовано з тіоматричними модульними системами генів, і, таким

чином, в них може бути багато вторинних метаболів, які мають біологічну активність. Наприклад, гени тіоматричних модульних систем складають 3,9% та 1,5% геномів наземних актиноміцетів *Streptomyces avermitilis* MA-4680 та *Streptomyces coelicolor* A3-2, відповідно [3]. Загалом ці штами вважаються плідними продуцентами вторинних метаболітів з 6,6% та 8,0% відповідних геномів. *Streptomyces tropica* це морський актиноміцет у якого 10% геному бере участь у синтезі біологічних активних сполук, та принаймні 6% генів асоційовані з кластерами і не тільки з генами тіоматричних модульних систем, що кодують полікетидсинтетази, нерибосомні пептидсинтетази та гібриди типу I. Ці ферментні системи синтезують нові біологічно активні сполуки. Метагеномні дослідження можуть бути використані для відстеження розподілу відомих таксонів, що виробляють тіоматричні модульні системи [17].

Для промислового та біотехнологічного використання пропонуються нові шляхи модифікації генетичного матеріалу мікроорганізмів за допомогою технології рекомбінантної ДНК (рис.7.1.). Однією із загальних цілей зниження вартості та стимулювання синтезу вторинних метаболітів є створення мікроорганізмів, що гіперпродукують біоактивні вторинні метаболіти [18]. Важливо розробляти рекомбінантні або мутілятивні штами бактерій з підвищеною продуктивністю вторинних метаболітів для подальшого зниження витрат виробництва або з можливістю виробляти ефективні біопродукти [19, 20]. Кластери генів вторинного метаболіту майже завжди містять регуляторні гени, які контролюють експресію структурних генів біосинтезу. Цими регуляторами можна маніпулювати, щоб збільшити виробництво сполуки, зазначеної кластером. Конкретні аспекти експресії генів та/або клітинного метаболізму модифікуються для оптимізації продукування природним шляхом:

1. Зміни рівнів експресії попередників та регуляторів [21–23];
2. Введення сильніших промоторів [24, 25] та порушення регуляторів QS [26].

Запропановані рекомбінантні клони *Escherichia coli* pSKA, що містять ген *srfa* [28]. Ці клони мали більш високу естеразну активність для синтезу Біо-ПАР на відміну від батьківського *Bacillus* sp. SK320. Мутантний дефектний *Acinetobacter*

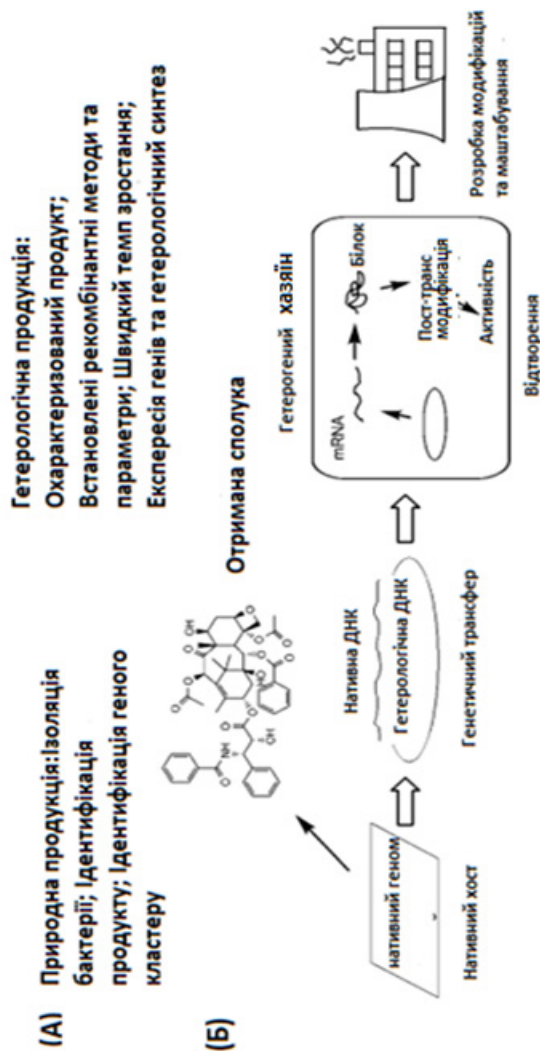


Рис. 7.1. (А) Порівняння типових характеристик між нативними та гетерологічними хазяйками. (В) Узагальнений робочий процес для встановлення біосинтезу вторинного метаболіту в гетерологічному хазяїні. По-перше, нативний хазяїн визначається, як виробник біоактивного продукту, що представляє інтерес. По-друге, гени, відповідальні за виробництво цього продукту, ідентифікуються, виділяються та інтегруються в гетерологічний хазяїн, чи то через штучний реплікон, чи у власні хромосоми хазяїна. По-третє, ініціюється експресія гетерологічних генів, утворюючи розчинний білок і біоактивний продукт. Нарешті, цей хост і процес масштабуються та/або додатково модифікуються для великомасштабного виробництва [27]

calcoaceticus A2 виробляв більш високий рівень біодисперсану [29].

Крім того, [30] описано гетерологічну експресію генів сурфактинсинтетази з *Bacillus licheniformis* NIOT-06. Сконструйований штам має потенційне застосування, оскільки він синтезує Біо-Пар з високими темпами та у в більших кількостях. Клоновані фосфопантетеїнілтрансферази типу Sfr відповідають за активацію полікетидсинтетаз, нерибосомних пептидсинтетаз синтетаз жирних кислот, які беруть участь у синтезі жирних кислот і антибіотиків [31]. Показано, що синтез сурфактину був ефективно збільшений за рахунок експресії генів *comX* і *phrC* [32]. Суперекспресія обох позаклітинних пептидів ComX і PhrC є фактором для посилення синтезу ліпопептидів.

Незважаючи на ці оптимізації, часто отримання деяких біоактивних вторинних метаболітів недостатньо для їх повної біохімічної характеристики. Наприклад, вирощування *Endobugula sertula* для дослідження синтезу бріостатину може бути важким або неможливим. Насправді, будучи облігатним симбіонтом, бактерія не росте поза хазяїна [33]. Отже, методи, які не покладаються на культивування природного хазяїна, необхідні для ефективного та рутинного дослідження великої кількості вторинних метаболітів, що утворюються з низькою продукцією в межах природного хазяїна.

Найчастіше використання гетерологічного хазяїна може покращити рівень синтезу біоактивних продуктів. Наприклад, гетерологічний синтез тіокораліну у *Streptomyces lividans*. Тіокоралін – це протипухлинна сполука тіодепсипептиду, що виробляється двома морськими актиноміцетами *Micromonospora* sp. ACM2-092 та *Micromonospora* sp. ML1, виділеними з двох видів безхребетних. Гетерологічна експресія області близько 53 кб в *Streptomyces albus* та *Streptomyces lividans* призвела до виробництва тіокораліну[34].

Було реалізовано декілька методів для клонування та гетерологічної експресії шляхів біосинтезу вторинних метаболітів і все більше біоактивних продуктів було отримано шляхом гетерологічної експресії, незважаючи на труднощі цих шляхів. При гетерологічній експресії з кластерів біосинтетичних генів необхідно

виділити окремі гени та у подальшому мобілізувати у відповідного гетерологічного хазяїна. Вибір відповідного гетерологічного хазяїна є одним з найважливіших аспектів, який слід врахувати для успішної експресії. Гетерологічний хазяїн повинен бути якомога більше споріднений з природним продуцентом, таким чином, він мав би подібне використання кодонів, підтримуючи вищу ефективність трансляції порівняно з віддаленими видами [35]. Крім того, важливо враховувати тип кластера генів, включаючи необхідні субстрати, генетичні та фізіологічні особливості продуцентів, як природних, так і гетерологічних [36]. Успішне гетерологічне отримання також залежить від доступності всіх необхідних попередників та сприйнятливості біосинтетичних ферментів до протеолітичної деградації. Для оптимізації синтезу біоактивних вторинних метаболітів у гетерологічного хазяїна можна видалити несуттєві ділянки геному [37, 38].

Escherichia coli це основний для метаболічної інженерії прокаріот [39, 40], особливо враховуючи філогенетичну відстань між кишковою паличкою та організмами, які продукують біоактивні вторинні метаболіти. На даний час, розроблено кілька стратегій клонування та проектування великих кластерів біосинтетичних генів, перш за все завдяки послідовності метагеномів та біоінформатиці, які дозволили ідентифікувати кілька нових кластерів генів біоактивних вторинних метаболітів.

Сучасні методи збирання генів, біосинтетичних шляхів або цілих геномів з дрібних фрагментів ДНК, отриманих за допомогою ПЛР або прямого синтезу ДНК [41, 42] дозволяють реконструювати або здійснити рефакторинг кластерів біосинтетичних генів, навіть якщо випадкових мутацій важко уникнути. Ці підходи також дозволяють створювати нові біосинтетичні шляхи завдяки збору гібридних ліній або синтезу *de novo* на основі прогнозування біоінформатики.

Традиційними засобами були отримані геномні великі бібліотеки для клонування біосинтетичних кластерів генів нерибосомної пептидсинтетази та полікетидсинтетази –10–120 кб та за допомогою космід/фосмід, які клонують ділянки 30–35 кб, або бактеріальних штучних хромосом, які можуть мати більше 100 кб. Останнім часом, завдяки великій кількості секвенованих ге-

номів, була розроблена нова стратегія, яка дозволяє пряме клонування кластерів генів (до 52 кб) з очищеної та розщепленої геномної ДНК вибраних організмів у вектори експресії *E. coli*, минаючи трудомісткість та часто неефективне будівництво бібліотеки. Повнорозмірний білок–профаг *Rac RecE* разом зі своїм партнером *RecT* ефективно сприяє гомологічній рекомбінації між двома лінійними молекулами (гомологічна комбінація). Перевагою цієї стратегії є можливість точно розмістити першу відкриту рамку зчитування оперона у векторі експресії під контролем індукцйного промотора [43].

Оскільки шляхи вторинного метаболіту зазвичай містять повторювані ділянки ДНК, які можуть бути нестабільними, що є проблемою для клонування. *Escherichia coli* є кращим хазяїном, оскільки ендегенна рекомбінація може бути мінімізована більш ретельно, ніж для будь-якого іншого хазяїна. Однак для кластерів генів, що перевищують 60 kb, ефективність цього методу різко зменшується [43].

Важливим аспектом успішної гетерологічної експресії є стабільність кластера чужорідних біосинтетичних генів. Можливі два різні варіанти: кластер генів може підтримуватися або епізомально на стабільній плазміді, сумісній з хазяїном, або інтегруватися в геном хазяїна. Перший включає експресію самовідтворювальних плазмід, або окрему плазмиду, що містить весь біосинтетичний шлях, або множинні плазмиди, що індивідуально експресують модулі [44].

Список використаної літератури

1. *Donadio S., Monciardini P., Sosio, M.* Polyketide synthases and nonribosomal peptide synthetases: The emerging view from bacterial genomics // *Natur. Prod. Rep.* – 2007. – 24 (5). – P. 1073–1109.
2. *Challis G. L., Ravel J., Townsend C. A.* Predictive, structure-based model of amino acid recognition by non-ribosomal peptide synthetase adenylation domains // *Chem. Biol.* – 2000. – V.7 (3). – P. 211–224.

3. *Kalaitzis J. A., Lauro F. M., Neilan B. A.* Mining cyanobacterial genomes for genes encoding complex biosynthetic pathways // *Natur. Prod. Rep.* – 2009. – V. 26 (11). – P.1447–1465.
4. *Kamra P., Gokhal, R. S., Mohanty D.* SEARCHGTr: A program for analysis of glycosyltransferases involved in glycosylation of secondary metabolites // *Nuc. Acid. Res.* – 2005. – V. 33 (2). – P. – W220–W225.
5. *Blin K., Medema M. H., Kazempour D. et al.* (2013). antiSMASH 2.0-A versatile platform for genome mining of secondary metabolite producers. *Nucleic Acids Research.* – 2013. – V. 41 (2). – P. W204–W212.
6. *Medema M. H., Blin K., Cimermancic P. et al.* antiSMASH: Rapid identification, annotation and analysis of secondary metabolite biosynthesis gene clusters in bacterial and fungal genome sequences // *Nucl. Acid. Res.* – 2011. – V. 39 (3). – P. W339–W346.
7. *Conway K. R., Boddy C. N.* ClusterMine360: A database of microbial PKS/NRPS biosynthesis. *Nucleic Acids Research.* – 2013. – V. 41 (4). – P. D402–D407.
8. *Hildebrand M., Waggoner L. E., Liu H. et al.* (2004). bryA: An unusual modular polyketide synthase gene from the uncultivated bacterial symbiont of the marine bryozoan *Bugula neritina* // *Chem. Biol.* – 2004. – V. 11 (11). – P. 1543–1552.
9. *Sudek S., Lopanik N. B., Waggoner L. E. et al.* Identification of the putative bryostatin polyketide synthase gene cluster from “*Candidatus Endobugula sertula*”, the uncultivated microbial symbiont of the marine bryozoan *Bugula neritina* // *J. Natur. Prod.* – 2007. – V. 70 (1). – P. 67–74.
10. *Feng Z., Kallifidas D., Brady S. F.* Functional analysis of environmental DNA-derived type II polyketide synthases reveals structurally diverse secondary metabolites // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2009. – V. 108 (31). – P. 12629–12634.
11. *Gillespie D. E., Brady S. F., Bettermann A. D. et al.* Isolation of antibiotics turbomycin A and B from a metagenomic library of soil microbial DNA // *Appl. Environ. Microb.* – 2002. – V. 68 (9). – P. 4301–4306.

12. *Brady S.F., Simmons L., Kim J. H., Schmidt E. W.* Metagenomic approaches to natural products from free-living and symbiotic organisms // *Natur. Prod. Rep.* – 2009. – V. 26 (11). – P. 1488–1503.
13. *Piel J.* Approaches to capturing and designing biologically active small molecules produced by uncultured microbes // *Ann. Rev. Microb.* – 2011. – V. 65 (1). – P. 431–453.
14. *Blainey P.C.* The future is now: Single-cell genomic of bacteria and archaea // *FEMS Microb. Rev.* – 2013. – V. 37 (3). – P. 407–427.
15. *Grindberg R. V., Ishoey T., Brinza D. et al.* Single cell genome amplification accelerates identification of the apratoxin biosynthetic pathway from a complex microbial assemblage // *PloS One.* – 2011 – V. 6 (4). – P. e18565.
16. *Fischbach M. A., Walsh C. T.* Antibiotics for emerging pathogens // *Science.* – 2009. – V. 325 (5944). – P. 1089–1093.
17. *Jensen P. R., Lauro F. M.* An assessment of actinobacterial diversity in the marine environment // *Antonie Van Leeuwenhoek.* – 2008. – V. 94 (1). – P. 51–62.
18. *De Almeida D.G., Soares Da Silva R.d.C.F., Luna J.M. et al.* Biosurfactants: promising molecules for petroleum biotechnology advances // *Front. Microbiol.* – 2016. – V. 7 (1718). – P.1–14.
19. *Bachmann R.T., Johnson A.C., Edyvean R.G.* Biotechnology in the petroleum industry: an overview // *Int. Biodeterior. Biodegrad.* – 2014. – V. 86 (2). – P. 225–237.
20. *Gressler M., Zaehle C., Scherlach K. et al.* Multifactorial induction of an orphan PKS–NRPS gene cluster in *Aspergillus terreus* // *Chem. Biol.* – 2011. – V. 18 (2). – P.198–209.
21. *Bergmann S., Funk A.N., Scherlach K. et al.* Activation of a silent fungal polyketide biosynthesis pathway through regulatory cross talk with a cryptic nonribosomal peptide synthetase gene cluster // *Appl. Environ. Microb.* – 2010. – V. 76 (24). – P. 8143–8149.
22. *Sakai K., Kinoshita H., Nihira T.* Heterologous expression system in *Aspergillus oryzae* for fungal biosynthetic gene clusters of secondary metabolites // *Appl. Microb. Biotech.* – 2012. – V. 93 (5). – P. 2011–2022.

23. Sandmann A., Frank B., Muller, R. A transposon-based strategy to scale up myxothiazol production in myxobacterial cell factories // J. Biotech. – 2008. – V. 135 (3). – P. 255–261.
24. Buntin K., Irschik H., Weissman K. J. et al. Biosynthesis of thuggacins in myxobacteria: Comparative cluster analysis reveals basis for natural product structural diversity // Chem. Biol. – 2010. – V. 17 (4). – P.342–356.
25. Cortina N. S., Krug D., Plaza A. et al. Myxoprincomide: A natural product from *Myxococcus xanthus* discovered by comprehensive analysis of the secondary metabolome // Angew. Chem. – 2012. – V.51 (3). – P. 811–816.
26. Ishida T., Lincke S., Behnken C., Hertweck J. Induced biosynthesis of cryptic polyketide metabolites in a *Burkholderia thailandensis* quorum sensing mutant // J. Amer. Chem. Soc. – 2010. – V. 132 (40). – P. 13966–13968.
27. Zhang H., Boghigian B. A., Armando J., Pfeifer, B. A. Methods and options for the heterologous production of complex natural products // Nat. Prod. Rep. – 2011. – V. 28 (1). – P. 125–151.
28. Khanna S., Sekhon K., Prakash N. Cloning and expression of a biosurfactant gene from endosulfan degrading *Bacillus* sp: correlation between esterase activity and biosurfactant production // Biotech. – 2009. – V. 8 (2). –P. 235–241.
29. Calvo C., Manzanera M., Silva–Castro G. et al. Application of bioemulsifiers in soil oil bioremediation processes. Future prospects // Sci. Total Environ. – 2009. – V. 407 (12). – P. 3634–3640.
30. Anburajan L., Meena B., Raghavan R.V. et al. Heterologous expression, purification, and phylogenetic analysis of oil-degrading biosurfactant biosynthesis genes from the marine sponge-associated *Bacillus licheniformis* NIOT-06 // Bioproc. Biosyst. Eng. – 2015. – V. 38 (10). – P. 1009–1018.
31. Bunet R., Riclea R., Laureti L. et al. 2A single Sfp-type phosphopantetheinyl transferase plays a major role in the biosynthesis of PKS and NRPS derived metabolites in *Streptomyces ambofaciens* ATCC23877 // PLoS One. – 2014. – V. 9 (1). – P. e87607.
32. Jung J., Yu K.O., Ramzi A.B. et al. Improvement of surfactin production in *Bacillus subtilis* using synthetic wastewater by overexpression of specific extracellular signaling peptides,

- comX and phrC // *Biotechnol. Bioeng.* – 2012. – V. 109 (9). – P. 2349–2356.
33. *Trindade-Silva A. E., Lim-Fong G. E., Sharp K. H., Haygood M. G.* Bryostatins: Biological context and biotechnological prospects // *Curr. Opin. Biotech.* – 2010. – V. 6 (6) 834–842.
 34. *Lombo F., Velasco A., Castro A. et al.* Deciphering the biosynthesis pathway of the antitumor thiocoraline from a marine actinomycete and its expression in two streptomyces species // *Chem.BioChem.* – 2006. – V. 7 (2). – P. 366–376.
 35. *Gustafsson, C., Govindarajan, S., Minshull, J.* Codon bias and heterologous protein expression // *Trends Biotech.* – 2004. – 22(3). – P.346–353.
 36. *Kudla G., Murray A., Tollerve, D., Plotkin J.* Coding-sequence determinants of expression in *Escherichia coli* // *Science.* – 209. – V. 324 (5924). – P. 255–258.
 37. *Gomez-Escribano J. P., Bibb M. J.* Engineering *Streptomyces coelicolor* for heter-ologous expression of secondary metabolite gene clusters // *Microb. Biotech.* – 2011. – V. 4 (2). – P. 207–215.
 38. *Komatsu M., Uchiyama T., Omura S. et al.* Genome-minimized *Streptomyces* host for the heterologous expression of secondary metabolism // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2010. – V. 107 (6). – P. 2646–2651.
 39. *Boghigian B. A., Zhang H. R., Pfeifer B. A.* Multi-factorial engineering of heterologous polyketide production in *Escherichia coli* reveals complex pathway interactions // *Biotech. Bioeng.* – 2011. – V. 108 (6). – P.1360–1371.
 40. *Gao X., Wang P., Tang Y.* Engineered polyketide biosynthesis and biocatalysis in *Escherichia coli* // *Appl. Environ. Microb.* – 2010. – V. 88 (6). – P. 1233–1242.
 41. *Engler C., Kandzia R., Marillonnet S.* A one pot, one step, precision cloning method with high throughput capability // *PloS One.* – 2008. – V. 3 (11). – P. e3647.
 42. *Gibson D. G., Young L., Chuang R. Y.* Enzymatic assembly of DNA molecules up to several hundred kilobases // *Nat. Meth.* – 2009. – V. 6 (5)). – P. 343–345.
 43. *Fu J., Bian X., Hu S. et al.* Full-length RecE enhances linear-linear homologous recombination and facilitates direct cloning for

- bio-prospecting // *Natur. Biotech.* – 2012. – V. 30 (5). – P. 440–446.
44. *Ongley S. E., Bian X., Neilan B. A., Muller R.* Recent advances in the heterologous expression of microbial natural product biosynthetic pathways // *Natur. Prod. Rep.* – 2013. – V. 8 (8). – P.1121–1138.

ЗАКЛЮЧЕННЯ

Морські гриби та бактерії є перспективним джерелом унікальних метаболітів із значним фармацевтичним та терапевтичним потенціалом. В основному дослідження проводяться для виявлення антимікробної та цитотоксичної активності. Тому що, безумовно, потрібні більш ефективні та безпечні препарати в галузі боротьби з інфекційними та раковими захворюваннями, але крім потенційних ліків антимікробних та протиракових необхідні сучасні фармакологічні засоби для інших хронічних захворювань таких як діабет 2 типу, протизапальні сполуки, антиоксидантні сполуки та ін.

Більшість ідентифікованих сполук є нерибосомними пептидами, полікетидами та ненасиченими жирними кислотами. Вони були виявлені метагеномними підходами після скринінгу на основі нуклеотидної послідовності та функції. На даний момент це найбільш перспективна процедура, оскільки вона дозволяє визначити загальну кількість змішаних мікробних спільнот, але для подальшого впровадження у фармацевтичну галузь цих біоактивних вторинних метаболітів морських мікроорганізмів суттєво заважають кілька проблем:

1. Екологічні обмеження: стійке постачання морських ресурсів, що зберігають біорізноманіття, стратегії відбору проб у високо біотехнологічному потенційному середовищі (наприклад, глибоке море), марикультура;
2. Технічні обмеження: мікроорганізми, що не піддаються культивуванню, невелика кількість очищеного продукту (наприклад, 1000 г губки дає 0,1 г продукту), *in vitro* проти активності *in vivo*;
3. Експериментальні обмеження: гетерологічна експресія, загальний хімічний синтез та платформа для скринінгу біоактивних молекул;
4. Економічні та правові обмеження: обмежені кошти на проекти, спрямовані на промислове застосування біоактивних вторинних метаболітів морських мікроорганізмів (включаючи попередні етапи процесів біорозвідування та масшта-

бування), захист інтелектуальної власності, регулювання доступу до морських ресурсів.

Метагеноміка, геномна інженерія та системна біологія будуть фундаментом для створення нових вторинних метаболітів. За умови швидкого виснаження природних ресурсів геноміка може стати ефективним способом ефективного виробництва більшої кількості відомих та нових фармацевтичних препаратів [1].

Список використаної літератури

1. Giordano D., Coppola D., Russo R. et al. Marine Microbial Secondary Metabolites: Pathways, Evolution and Physiological Roles // *Advances in Microbial Physiology*. – 2015. – V. 66 (3). – P. 357–428.

Наукове видання

Автори:

Галкін Борис Миколайович

Філіпова Тетяна Олегівна

Іваниця Володимир Олексійович

Гудзенко Тетяна Василівна

Біоактивні вторинні метаболіти морських мікроорганізмів

Монографія

Верстка – С. Остапенко

Підп. до друку 26,12,2022. Формат 60х84/16.

Ум.-друк. арк. 12,79. Наклад 16 пр.

Зам. № 2515.

Видавець

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 4215 від 22.11.2011 р.
65082, м. Одеса, вул. Єлісаветинська, 12, Україна
Тел.: (048) 723 28 39, e-mail: druk@onu.edu.ua