

Ризики біотехнологій отримання амілоглюкозидази за умов зміненої гравітації

Римарчук А. О.¹, Андріанова Т. В.^{1,2}

¹Національний авіаційний університет, Київ

²Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, Київ

Успішне дослідження та освоєння космічного простору вимагає здатності бути достатньо незалежним від Землі, особливо коли мова йде про ресурси. Гарним сценарієм для цього є зменшення початкового корисного навантаження до мінімуму та виготовлення необхідних запасів на місці. В останні роки відбувається інтенсивне вивчення можливості отримання поживних і біологічно активних речовин за межами Землі на основі визначення адаптивних можливостей живих організмів і розробки нових технологій за умов слабого гравітаційного поля або його відсутності, наявності іонізаційного опромінення, певних температур і вологості.

Міцеліальні гриби, що належать до відділу *Ascomycota*, здавна використовують у біотехнологіях виробництва амінокислот, азотистих основ, ферментів, різних антибіотиків, вітамінів та інших біологічно активних речовин. Дослідники вважають, що перспективним може бути отримання амілоглюкозидази (1,4- α -глюкан гідролази або глюкоамілази) в умовах зміненої гравітації. Такий вибір саме амілоглюкозидази обумовлений її здатністю швидко гідролізувати високомолекулярний субстрат — полімерні карбогідрати, та використанням у виробництвах глюкози, декстрину, глутамату натрію, антибіотиків, пива, рисового вина, соусів, карамелі, переробки крохмалю, хлібопекарстві, визначенні вмісту глікогену та як харчова добавка. Для комерційного отримання препарату амілоглюкозидази використовують представників роду *Aspergillus* [1]. Генетично модифіковані штами *Aspergillus niger* Thiegh., які містять модифікований ген іншого гриба, використовуються великими комерційними компаніями, такими як Novozymes, Merck і Megazyme, та офіційно визнані безпечними багатьма країнами. У зв'язку з цим дослідження можливостей розвитку технологій на основі *A. niger* за умов мікрогравітації набуло значного інтересу та актуальності.

Космополітичний вид *A. niger* завдяки фенотипічній пластичності й адаптивності добре пристосовується до різноманітних умов середовища, а деякі його штами характеризуються утворенням токсичних метаболітів. У дослідах із створенням штучної мікрогравітації показано, що штамоспецифічні зміни відбуваються у бік зростання товщини і щільності колоній гриба, збільшення асексуальної споруляції. Штам меланінового мутанту, що втратив фермент полікетидсинтазу, відповідальну за утворення таких полікетидів у грибів, як ловастатин, хетовірідин А та ін., продемонстрував важливе значення меланінів для подолання умов зміненої гравітації. Крім того, він мав дещо меншу масу наростання міцелію у процесі культивування, ніж звичайний природний штам *A. niger* [2]. Таким чином, виявлено покращення здатності *A. niger* колонізувати субстрати в умовах досліду та

значну роль у процесах адаптації меланінів. При дослідженні природного ізоляту *A. niger* JSC-093350089, виділеного з космічної станції, яка певний час перебувала під дією факторів позаземного середовища, теж було помічено підвищену швидкість росту та утворення значної пігментації меланінами, порівняно з наземними штамами цього гриба. Секвенування геному ізоляту показало його спорідненість із рядом відомих штамів *A. niger*, хоча спостерігались певні відміни, які свідчили, що це окремий штам. У *A. niger* JSC-093350089 зафіксовано протеомні та метаболічні відмінності, як то збільшення певних стресових білків, зростання стійкості до окисного стресу, зміни у будові клітинної стінки [3]. Умови космічної станції, що характеризувались посиленням іонізуючим випромінюванням та мікрогравітацією, спричинили несинонімічні точкові мутації у гриба, що розвивався на борту. Такі зміни обумовлюють необхідність внесення коректив і додаткових етапів до існуючих технологій отримання амілоглюкозидази у разі застосування у космосі.

Загалом, у міцеліальних сумчастих грибів при наявності мутагенних факторів — підвищеного рівня радіаційного опромінення, зміненого гравітаційного поля, певних режимів освітлення, є високою вірогідність появи мутацій, які у подальшому впливатимуть на продукування ферментів та інших метаболітів: мутацій у нуклеотидних послідовностях ДНК структурних і регуляторних генів, а також дуплікацій нуклеотидів у ДНК цих генів. Повторні мутації можуть позначитись на синтезі певної речовини, так як у грибів гени, що здійснюють контроль за утворенням однієї речовини, іноді розміщені на декількох хромосомах, а також може існувати ядерно-лімітований контроль.

Хоча гриб-убіквіст *A. niger* важливий для біотехнології та медицини, деякі його штами можуть асоціюватись з вушними інфекціями та спричиняти легеневі аспергільози у ослаблених людей [4], мати певну токсичність, коли синтезується ряд метаболітів, одним з яких є охратоксин А. Отже, змінене середовище, де діють мутагенні фактори, збільшує ризик прояву ознак, що є небезпечними для людини. Тим більше така вірогідність зростає в ізольованих умовах станцій. При технологічному виробництві у позаземних умовах існує теоретичний ризик зміни якостей продуктивного штаму, появи токсичних метаболітів, зміни кінцевого продукту. Вищезгадане обумовлює необхідність введення більш жорсткого контролю виробництва (генетичного і протеомного), наявності зберігання захищених маточкових культур, створення нових генетично модифікованих штамів *A. niger*. Адаптацію до іонізуючого випромінювання можуть надати меланіни — пігменти з радіозахисними властивостями, що характерні також виду *A. niger*. Індукція надвиробництва клітиною меланінів з утворенням позаклітинного продукту піомеланіну виявила високий радіопротекторний, антиоксидантний та антистресовий ефект [5]. Ця характеристика робить піомеланін цінним ресурсом для біотехнології та космічної промисловості, дає перспективу удосконалення технології виробництва амілоглюкозидази у напрямку убезпечення кінцевого продукту від мутагенних факторів середовища.

Список використаних джерел

1. Pazur J. H., Tadahiko A. The action of an amyloglucosidase of *Aspergillus niger* on starch and malto-oligosaccharides // J. Biol. Chem. — 1959. — Vol. 234, Issue 8. — P. 1966–1970. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)69850-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)69850-3)
2. Cortesão M., Holland G., Schütze T., Laue M., Moeller R., Meyer V., et al. Colony growth and biofilm formation of *Aspergillus niger* under simulated microgravity // Front. Microbiol. — 2022. — Vol. 13, 975763. — P. 1–20. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.975763>
3. Romsdahl J., Blachowicz A., Chiang A. J., Singh N., Stajich J. E., Kalkum M., et al. Characterization of *Aspergillus niger* isolated from the international space station // mSystems. — 2018. — Vol. 3(5), e00112-18. — P. 1–13. <https://doi.org/10.1128/msystems.00112-18>
4. Person A. K., Chudgar S. M., Norton B. L., Tong B. C., Stout J. E. *Aspergillus niger*: an unusual cause of invasive pulmonary aspergillosis // J. Med. Microbio. — 2010. — Vol. 59. — P. 834–838. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.018309-0>
5. Koch S. M., Freidank-Pohl C., Siontas O., Cortesão M., Mota A., Runzheimer K., et al. *Aspergillus niger* as a cell factory for the production of pyomelanin, a molecule with UV-C radiation shielding activity // Front. Microbiol. — 2023. — Vol. 14, 1233740. — P. 1–15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1233740>