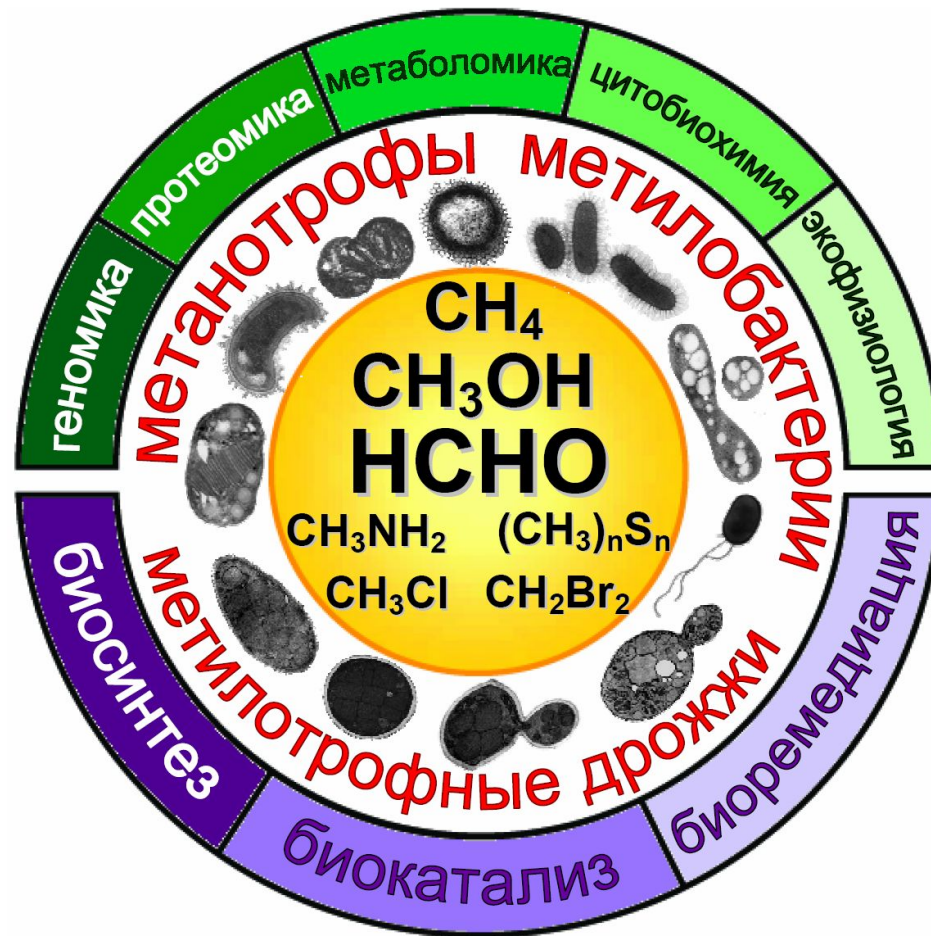
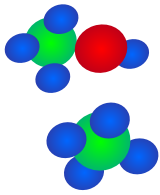


Биология и биотехнология аэробных метилотрофов

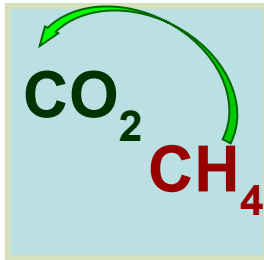




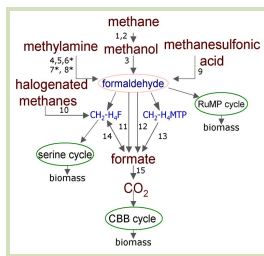
Метилотрофы – микроорганизмы, использующие метан, его окисленные и замещенные производные как источники углерода и энергии



Метилотрофия широко распространена среди α -, β -, γ -*Proteobacteria*, *Verrucomicrobia* и дрожжей



Метилотрофы – основные участники глобальных циклов С, N, Р и S, регулируют концентрации метана, метанола, метиламинов, галометанов и метилсернистых соединений в атмосфере



Метилотрофы реализуют уникальные пути C_1 окисления (кофакторы - PQQ, GSH, ТГФ, ТГМП, микотиол) и пути C_1 -ассимиляции (сериновый и пентозофосфатные) с участием специфических ферментов (>20) и генов (>100)

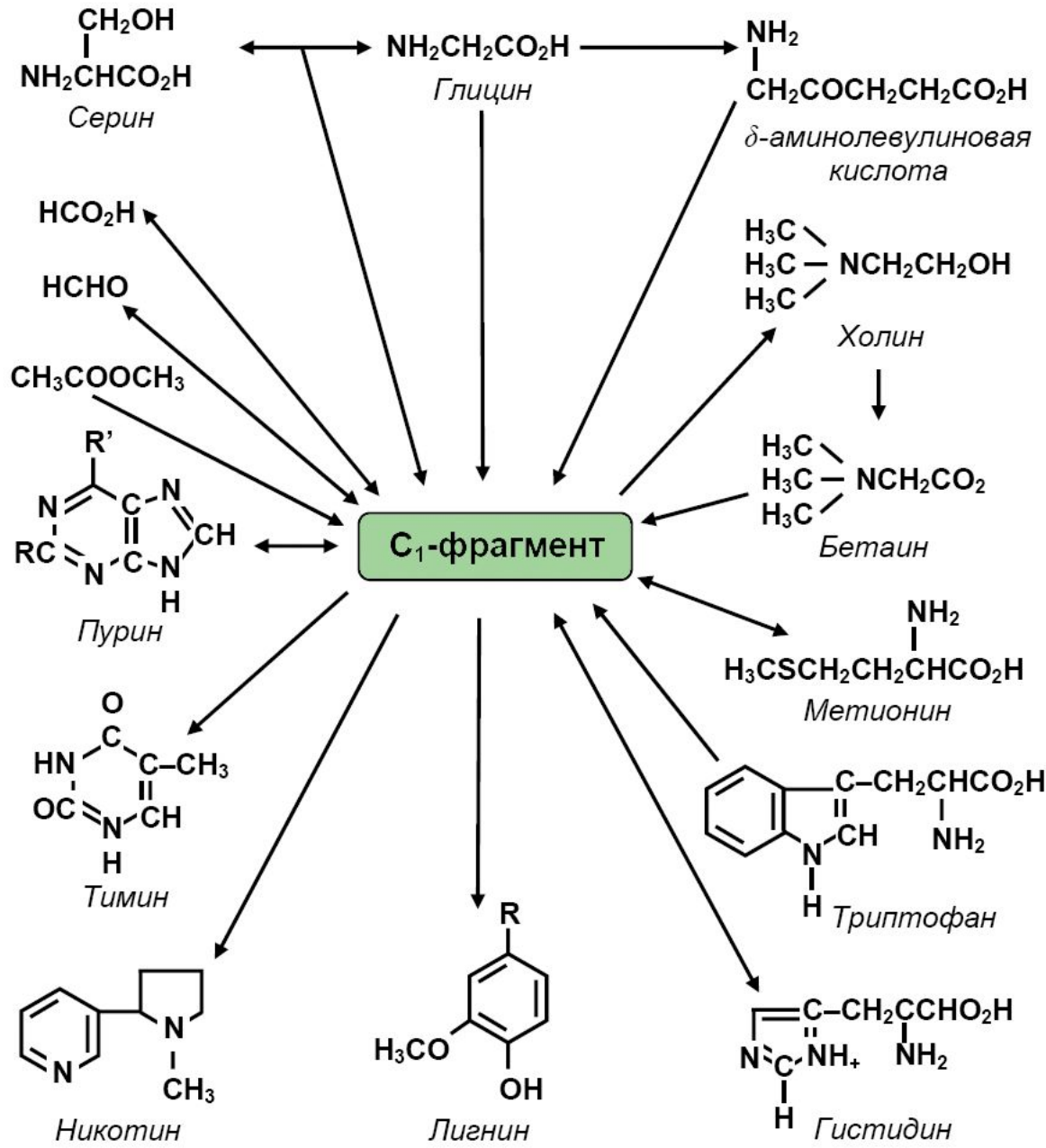


Возрастающий научно-практический интерес к метилотрофам связан с их планетарной биосферной ролью и биотехнологическим потенциалом

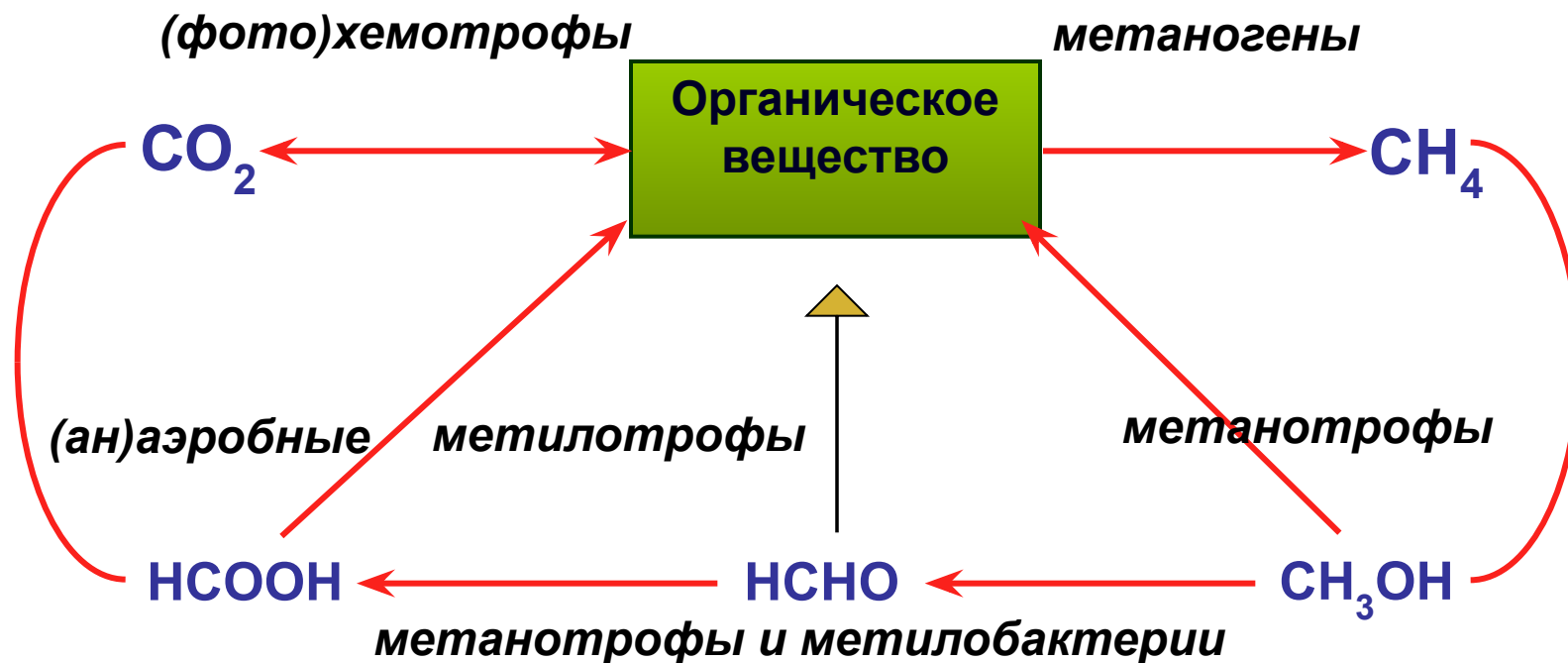
Восстановленные C₁-соединения – ростовые субстраты аэробных метилотрофов

Соединение	Формула	Основной источник
Метан	CH ₄	(A)биогенный метан (Газовые месторождения, метаногенез)
Метанол	CH ₃ OH	Окисление CH ₄ , лигнин, пектин
Формальдегид	HCHO	Деревообрабатывающая промышленность, микробный метаболизм
Формаимид	CHONH ₂	Химический синтез
Диметилформаимид	HCON(CH ₃) ₂	Химический синтез
Мочевина	CO(NH ₂) ₂	Метаболизм животных
Муравьиная кислота	HCOOH	Микробный метаболизм
Монокись углерода	CO	Продукт горения
Диметилвый эфир	(CH ₃) ₂ O	Окисление CH ₄ , химический синтез
Бромметан	CH ₃ Br	Планктон, водоросли
Дибромметан	CH ₂ Br ₂	Планктон, водоросли
Метилйодид	CH ₃ I	Химический синтез
Хлорметан	CH ₃ Cl	Древесина, океаны
Дихлорметан	CH ₂ Cl ₂	Химический синтез
Хлороформ	CHCl ₃	Химический синтез
Тетрахлорметан	CCl ₄	Нефтехимия
Монометиламин	CH ₃ NH ₂	Продукт разложения рыбы
Диметиламин	(CH ₃) ₂ NH	Продукт разложения рыбы
Триметиламин	(CH ₃) ₃ N	Продукт разложения рыбы
Триметиламин N-оксид	(CH ₃) ₃ NO	Рыбы и беспозвоночные
Тетраметиламмоний	(CH ₃) ₄ N ⁺	Химический синтез
Метилнитрат	CH ₃ ONO ₂	Выдыхаемый газ диабетиков
Сероуглерод	CS ₂	Почва, растения
Карбонилсульфид	COS	Продукт окисления CS ₂
Диметилсульфид	(CH ₃) ₂ S	Целлюлозно-бумажная промышленность
Диметилдисульфид	(CH ₃) ₂ S ₂	Микробный метаболизм
Диметилтрисульфид	(CH ₃) ₂ S ₃	Газ, образуемый клетками раковых опухолей
Диметилсульфониопропионат	(CH ₃) ₂ S ⁺ (CH ₂) ₂ COO ⁻	Метаболит фитопланктона, бактерий и растений
Диметилсульфоксид	(CH ₃ O) ₂ SO	Метаболит фитопланктона, бактерий и растений
Метантиол	CH ₃ SH	Метаболит фитопланктона, бактерий и растений
Триметилсульфонат	(CH ₃) ₃ S ⁺	Нефтехимия
Метансульфоная кислота	CH ₃ SO ₃ H	Фотоокисление (CH ₃) ₂ S
Метилсульфат	CH ₃ OSO ₃ H	Химический синтез
Диметилсульфат	(CH ₃ O) ₂ SO ₂	Горение угля
Тиоцианаты	SCN ⁻	Обогащение металлов
Цианиды	CN ⁻	Обогащение металлов
Роданиды	CNS ⁻	Обогащение металлов

Метаболические превращения с участием «активных» C₁-фрагментов



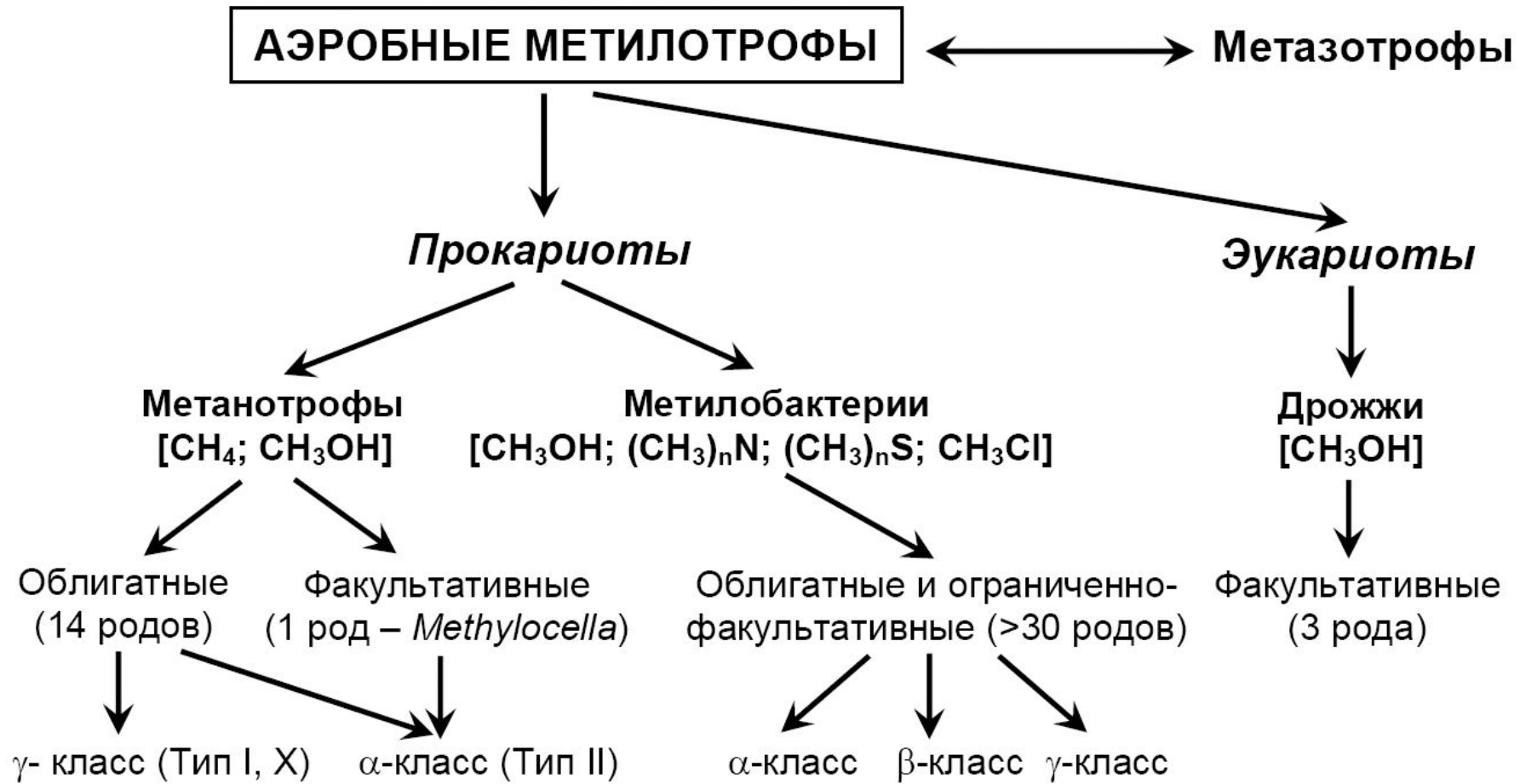
Планетарная роль аэробных метилотрофов в глобальных биосферных циклах метана и метанола



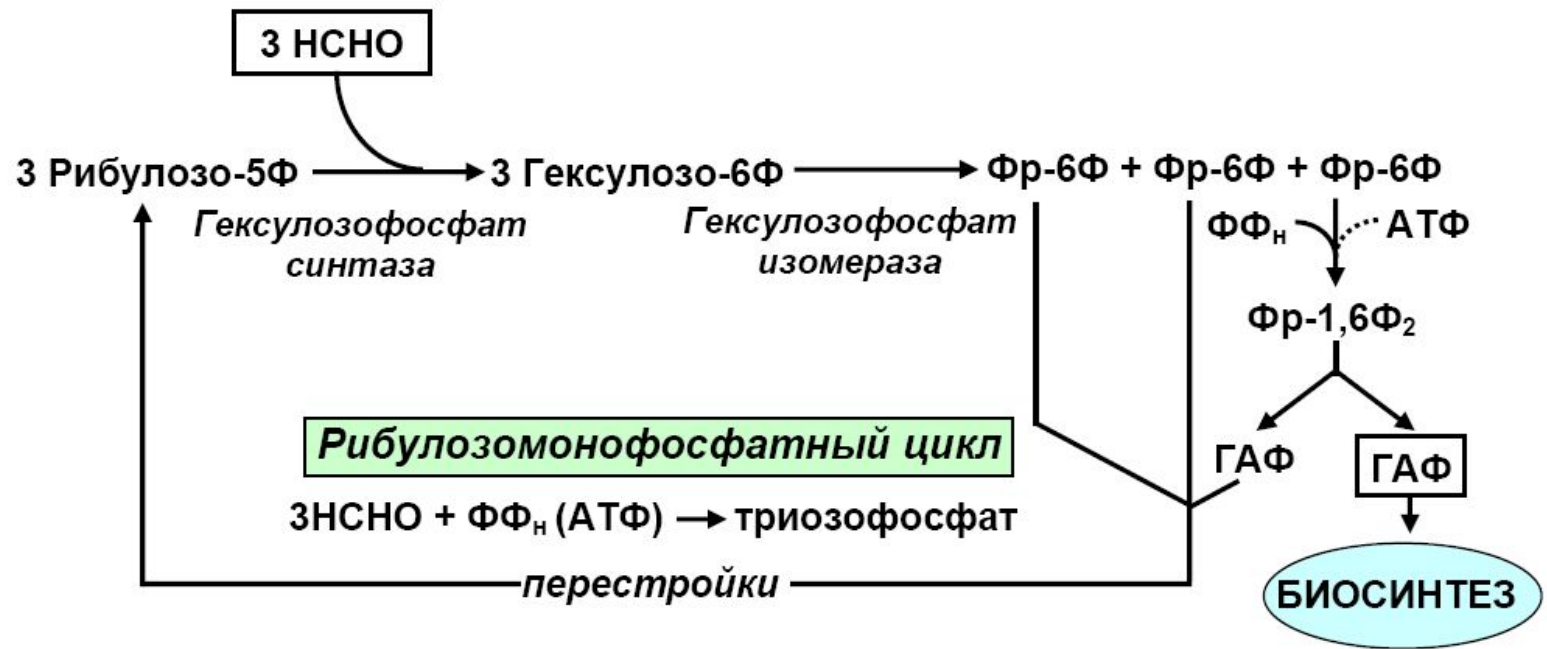
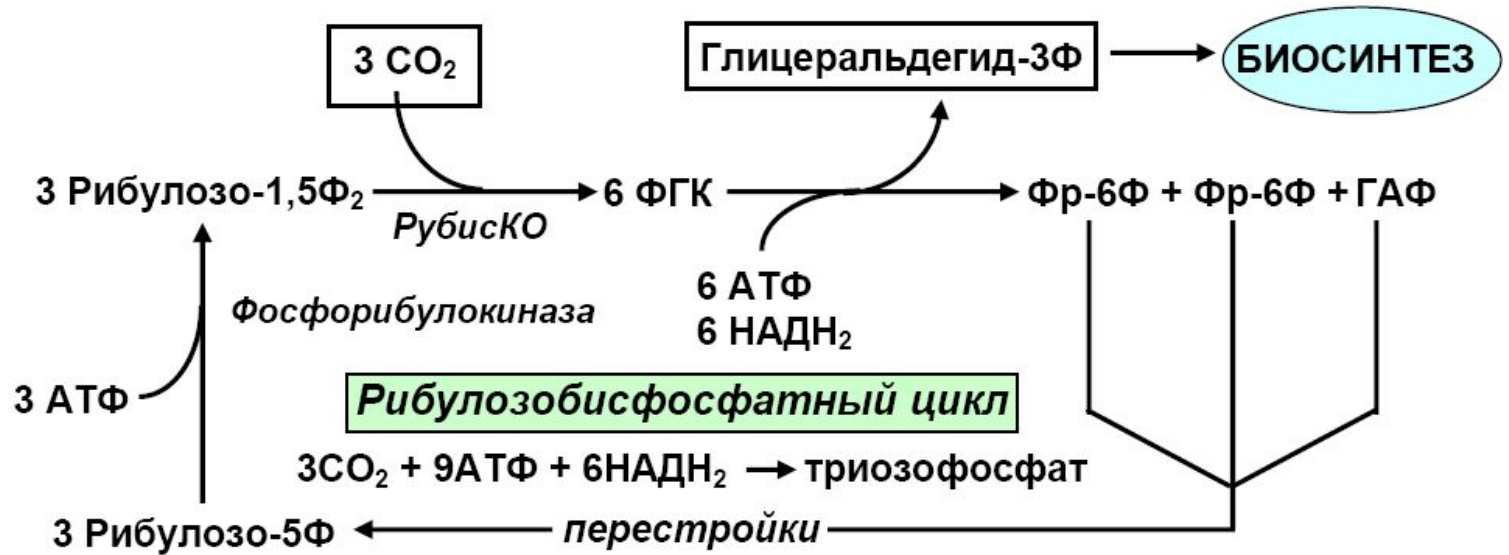
Трофические и метаболические связи анаэробных и аэробных агентов метанового цикла Зёнгена

Парниковые газы: CO_2 ~1500; CH_4 ~800 (>25 х); CH_3OH ~300 (Гт С/год)
Источники метана (50 млрд м³/год, ПНГ) и метанола (>50 млн т/год)
для химической промышленности и биотехнологии

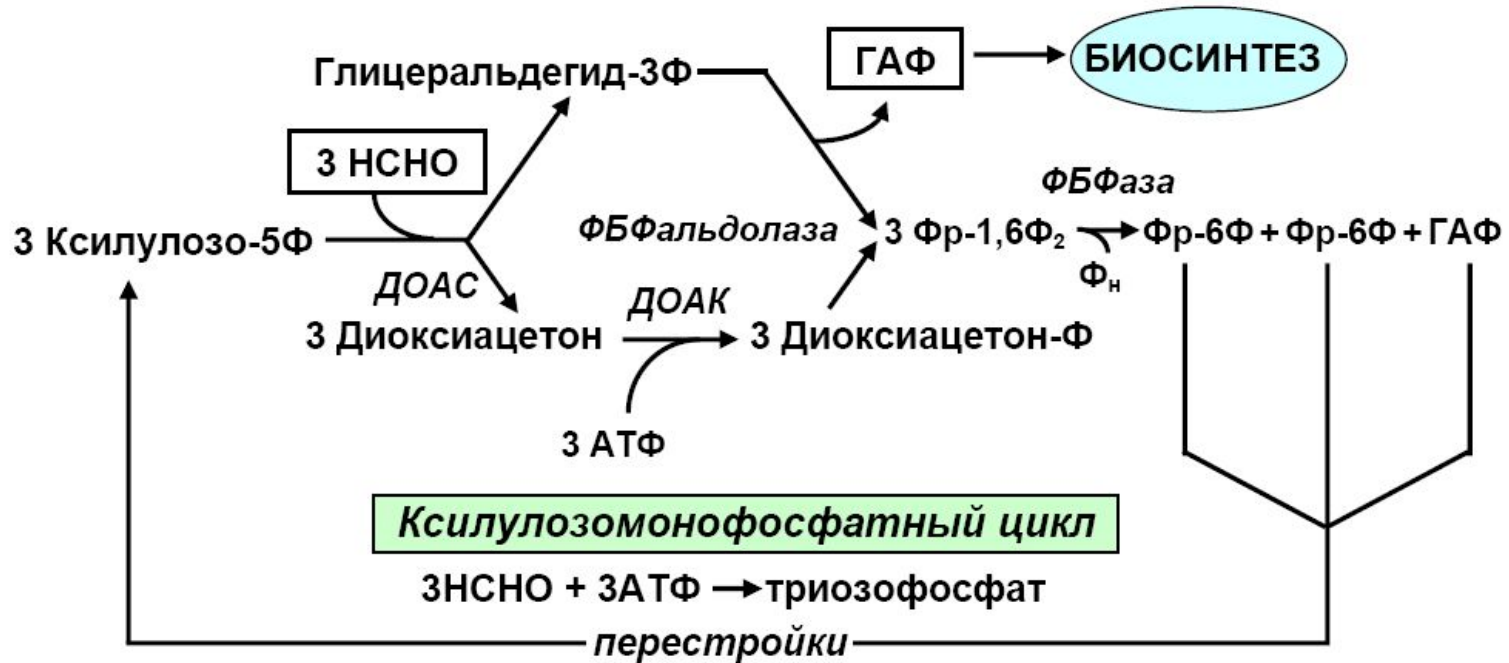
Таксономическое разнообразие аэробных метилотрофов



Пентозофосфатные пути первичной C₁-ассимиляции у метилотрофных бактерий

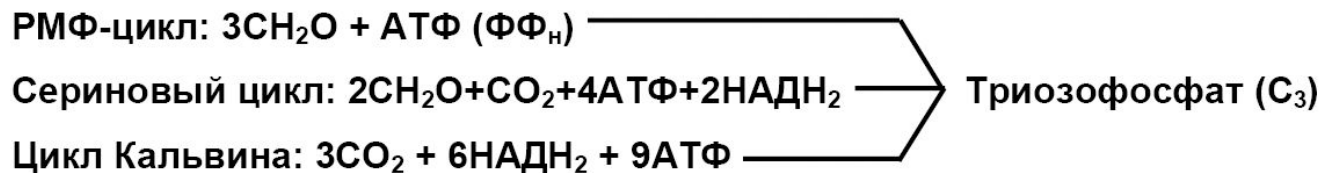


Пентозофосфатный путь первичной C_1 -ассимиляции у метилотрофных дрожжей



Энергетические потребности первичных путей C_1 -ассимиляции у метилотрофов

Бактерии:



Дрожжи:



Классики метилотрофии



Профессор **Дж. Родней Квейл** (1926-2006)

— выдающийся английский биохимик, член Королевского научного общества, основоположник метилотрофии как научного направления. Открыл и расшифровал биохимическую структуру трех путей первичного C_1 -метаболизма (серинового, РМФ- и КМФ) у бактерий и дрожжей, а также доказал участие метанмонооксигеназы (ММО) в окислении метана.



Д.б.н., профессор **Юрий Романович Малашенко** (1930-2007)

— член-корр. Национальной Академии Наук Украины. Совместно с В.А. Романовской создал первую национальную коллекцию таксономически и физиологически охарактеризованных метанотрофных бактерий, экспериментально обосновал их перспективность для биотехнологии.



Профессор **Ховард Далтон** (1944-2008)

— видный английский биохимик, член Королевского научного общества, известен классическими исследованиями по расшифровке структурно-функциональной организации и регуляции ММО.



Кристофер Энтони

— почетный профессор биохимии Университета Саутгемптона. Расшифровал структуру классической PQQ-метанол-дегидрогеназы. Автор первого фундаментального труда по биологии аэробных метилотрофов «The biochemistry of methylotrophs» (1982 г).

Основные этапы исследований биологии аэробных метилотрофов

I. Таксономическое разнообразие аэробных метилотрофов

выделение монокультур метилотрофов

создание коллекций охарактеризованных культур

выделение экстремофильных представителей

II. Экология и биотехнологический потенциал аэробных метилотрофов

Обнаружение глобальной биогеохимической роли метилотрофов в циклах C, N и S

Доказательство симбиоза метилотрофов с беспозвоночными животными и растениями

Реализация биотехнологического потенциала метилотрофов

III. Пути первичного окисления C_1 -соединений

Открытие ферментов окисления метана, метанола и метиламина

Расшифровка кодирующих их генных кластеров

Идентификация генов и ферментов птериновых путей окисления формальдегида

IV. Пути первичной ассимиляции C_1 -соединений

V. Пути промежуточного метаболизма

Выявление дихотомии путей метаболизма C и N у метилотрофов

Обнаружение множественных энзиматических дефектов в центральных путях метаболизма облигатных метилотрофов

Характеристика генов и ферментов азотфиксации у метилотрофных бактерий

VI. Геномика и протеомика аэробных метилотрофов

Метилотрофы перспективны для «зеленой» биотехнологии

- ✓ CH_4 и CH_3OH – доступные и возобновляемые источники С и Е для аэробных метилотрофов, метаболическая организация/регуляция которых хорошо изучена;
- ✓ идеальные хозяева для гомо- и гетерологичной экспрессии белков, обладающие сильными промоторами (МДГ, АО, ФАДГ, ФДГ и др.) и компартиментацией метаболизма;
- ✓ эффективные продуценты биопротекторов и биостабилизаторов (эктоина, ПГБ/В, ЭПС, пигментов), а также S-слоев для точной ультрафильтрации (нанотехнологии, биомедицина);
- ✓ фитосимбионты или ‘маленькие фермеры’, удаляющие C_1 -метаболиты растений и поставляющие ауксины, цитокинины, витамин B_{12} и аммоний, тем самым ускоряющие рост гнотобионтов, регенерантов и эксплантов после генно-инженерных манипуляций. Используются также как продуценты антиоксидантов (пигменты), сидерофоров (метанобактин) и подавляют рост патогенов растений (бактофил и метилобактерин);
- ✓ как агенты биоаналитики (чувствительные элементы биосенсоров), биодеградации и биоремедиации токсичных C_1 - и C_n -соединений, в том числе для снижения эмиссии взрывоопасного метана в угольных шахтах.

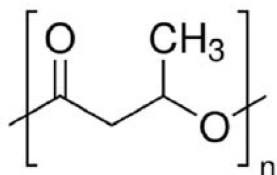
Аэробные метилотрофы как агенты биосинтеза

↓
Валовые продукты

Кормовой

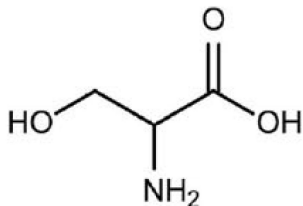
Полигидроксиалканоаты

ПГБ/
В



Органические аминокислоты

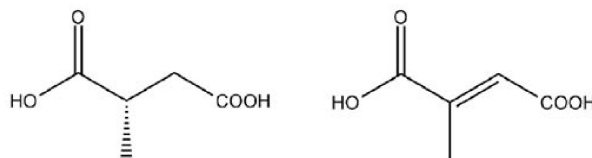
Серин



Экзополисахариды

↓
Чистые вещества

Интермедиаты этилмалонатного



2S-метилсукцинат

Мезаконат

Пигменты
(каротиноиды, меланины, пиовердин)

Поликетиды

Цитохром с

↓
Биоактиваторы

Инсектициды

GFP

Промышленные ферменты

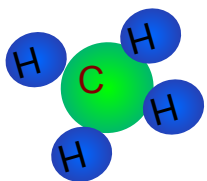
Витамины и коферменты (B₂, B₁₂, ФМН, ФАД, PQQ, ТТQ)

Фитогормоны
(цитокинины, ауксины)

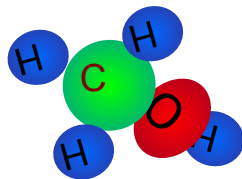
Метилотрофы как агенты биodeградации и биоремедиации

Для деградации токсичных C_1 - и C_n -соединений, содержащих связи:

метан

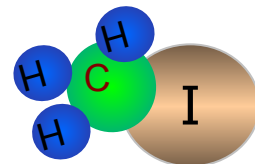
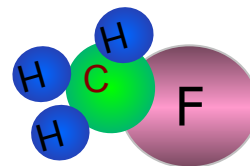
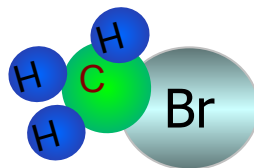
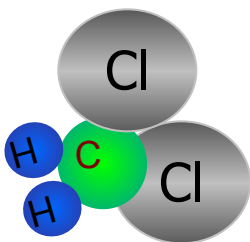
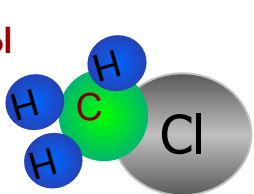


метанол



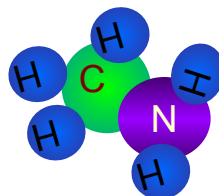
C – Cl метилгалогиды, трихлорэтилен и другие галогенированные углеводороды

галометаны

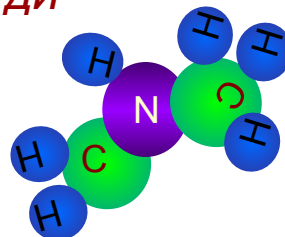


C – N метилированные амины, амиды и нитрилы

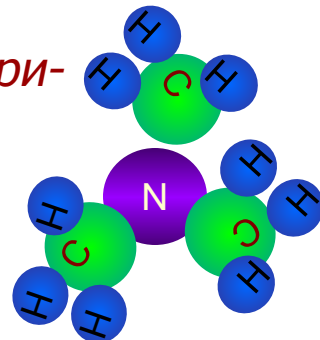
метиламины *МОНО-*



ДИ-

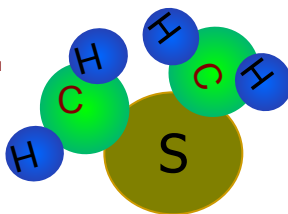


ТРИ-

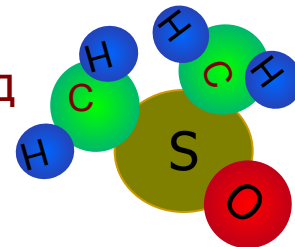


C – S метилсульфиды, метилсульфаты, метилсульфонаты

диметилсульфид

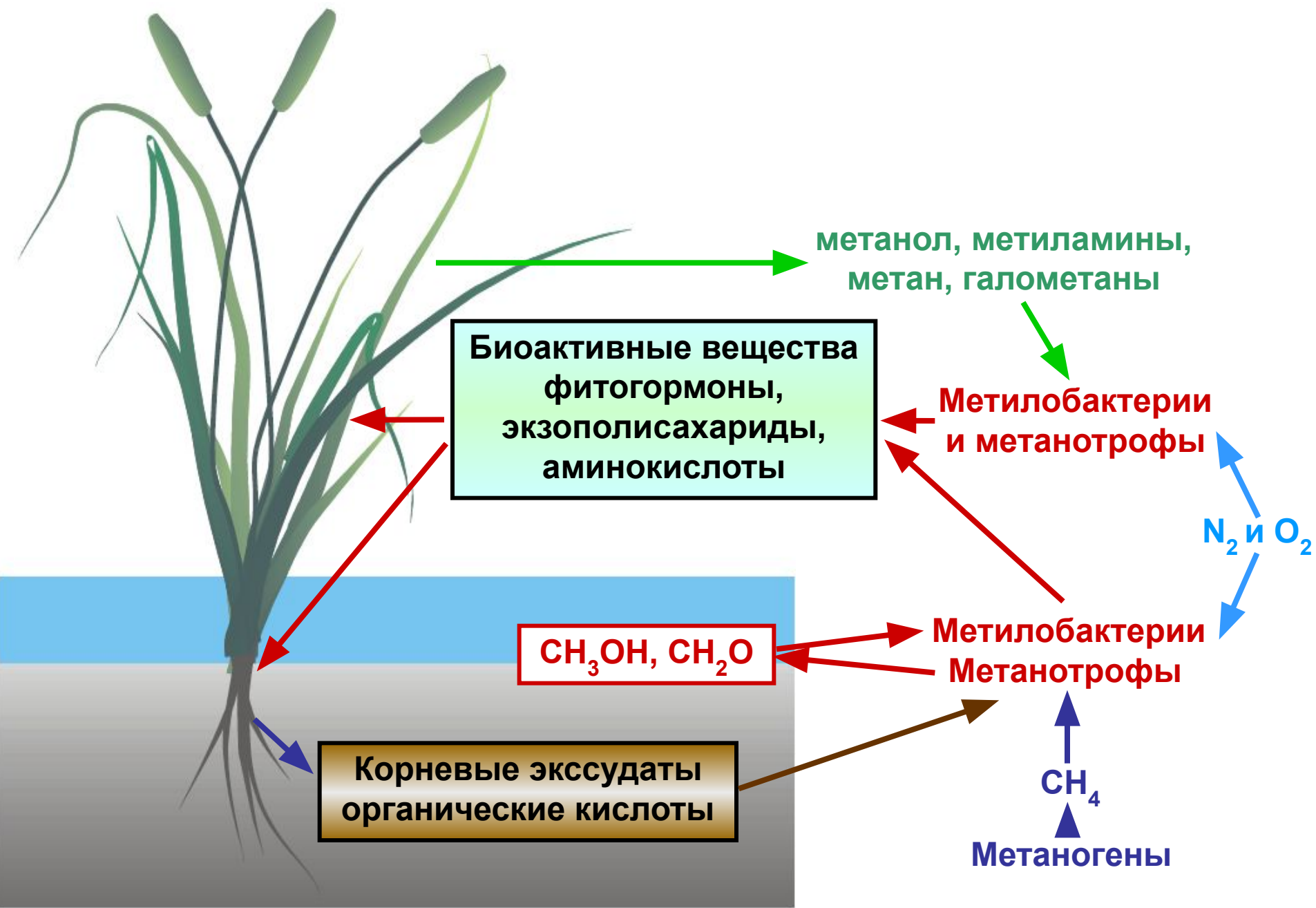


диметилсульфоксид



C – C метил- и этилацетат, метил-трет-бутиловый эфир (МТБЭ)

Взаимоотношения (ан)аэробных метилотрофов с растениями



Темы рефератов

- 1. Растворимая и мембранная метанмонооксигеназы**
- 2. Ca^{2+} -зависимые и Ln^{3+} -зависимые хиноновые метанолдегидрогеназы**
- 3. Пути окисления формальдегида**
(прямой, циклический, 3 кофактор-зависимых)
- 4. Пути C_1 -ассимиляции**
(РМФ, РБФ, сериновый)
- 5. Метилотрофы как фитосимбионты**
- 6. Экстремофильные/толерантные метанотрофы**
(адаптация к pH, NaCl)
- 7. Филогенетические группы метилотрофов**
(сравнение протеобактерий с Verrucomicrobia)
- 8. Метилотрофные дрожжи: таксономия и метаболизм**
- 9. Генопротеомика метанотрофов и метилотрофных бактерий**
- 10. Биотехнологический потенциал метилотрофов**
(SCP, ПГБ, осмолиты, метаболиты, фосфолипиды и т.п.)

Основные источники информации

Троценко Ю.А., Доронина Н.В., Хмеленина В.Н., Понаморева О.Н. Биология и биотехнология аэробных метилотрофов / Учебно-методическое пособие // Тула: Изд-во ТулГУ, 2009. 202 с.

Троценко Ю.А., Хмеленина В.Н. Экстремофильные метанотрофы // Отв. ред.: В.Ф. Гальченко. ОНТИ ПНЦ РАН, Пущино. 2008. 205 с.

Троценко Ю.А., Доронина Н.В., Торгонская М.Л. Аэробные метиловобактерии // Отв. ред.: В.Ф. Гальченко. Пущино: ОНТИ ПНЦ РАН, 2010. 325 с.

Троценко Ю.А., Торгонская М.Л. Метилотрофные дрожжи // Отв. ред.: В.Ф. Гальченко. Москва: «ТР-Принт», 2011. 313 с.

