

УДК: 663.1; 582.26

<sup>1</sup>К. Болатхан\*, <sup>1</sup>А.К. Садвакасова, <sup>1</sup>Д.К. Кирбаева, <sup>2</sup>К.Ж. Жамбакин, <sup>1</sup>Б.К. Заядан

<sup>1</sup>Казахский национальный университет им. аль-Фараби, г. Алматы, Казахстан,

<sup>2</sup>Институт биологии и биотехнологии растений, г. Алматы, Казахстан

\*e-mail: kenzhe\_3@yahoo.com

## Вторичные метаболиты цианобактерий перспективные для биотехнологии

Обзор освещает имеющееся разнообразие токсинов цианобактерий и их перспективы для биотехнологии. Особое внимание уделяется видам токсинов, представляющим с одной стороны опасность для людей и животных, и в тоже время интересным для медицины и биотехнологии как источник различных фармацевтических препаратов. Разнообразие токсинов цианобактерий связаны с генетической регуляцией и биосинтезом, а также влиянием окружающей среды на токсинообразование. Цианобактерии являются перспективным источником структурно новых типов вторичных метаболитов, некоторые из которых могут быть использованы в качестве медицинских препаратов.

**Ключевые слова:** цианобактерии, *Microcystis aeruginosa*, *Microcystis aeruginosa* Kutz, *Nostoc rivulare*, токсины, гепатотоксины, цитотоксины микроцистины.

К. Болатхан, А.К. Садвакасова, Д.К. Кирбаева, К.Ж. Жамбакин, Б.К. Заядан,

### Биотехнологияда перспективті цианобактериялардың екіншілік метаболиттері

Бұл мақалада биотехнологияға маңызды цианобактериялардың алуан түрлі токсиндеріне шолу жасалынды. Цианобактерия токсиндері адамзат пен жануарларға қауіпті болғанымен, оларды биотехнологиялық медицинада әртүрлі фармацевтикалық препараттардың шикізат көзі ретінде пайдалануға болатындығы қарастырылған.

**Түйінді сөздер:** цианобактерия, *Microcystis aeruginosa*, *Microcystis aeruginosa* Kutz, *Nostoc rivulare*, токсин, гепатотоксин, цитотоксин микроцистин.

K. Bolatkhan, A.K. Sadvakasova, D.K. Kirbayeva, K.Zh. Zhambakyn, B.K. Zayadan,

### Biotechnology for promising secondary metabolites of cyanobacteria

The review describes the available diversity toxins of cyanobacteria and their prospects for biotechnology. Particular attention is paid to types of toxins, representing on the one hand a danger to humans and animals, and at the same time interesting for medicine and biotechnology as a source of various pharmaceuticals.

**Keywords:** cyanobacteria, *Microcystis aeruginosa*, *Microcystis aeruginosa* Kutz, *Nostoc rivulare*, toxins, hepatotoxins, cytotoxicity, microcystins.

Цианобактерии успешно колонизировали различные местообитания по всему земному шару, включая водные экосистемы, почвы, сухие скалы и даже воздух. Они способны к столь широкому распространению за счет своих способностей к адаптации к различным условиям среды.

Цианобактерии - являются модельными организмами в изучении фотосинтеза, фиксации атмосферного азота, клеточного деления, получения водорода и при решении целого ряда других фундаментальных и практических задач. Это обеспечивается в первую очередь легкостью их культивирования, высокой скоростью роста и их большими метаболическими возможностями [1].

Как известно, цианобактерии могут метаболизировать природные ароматические углеводороды и ксенобиотик [2]. Микробные цианобактериальные маты способствуют очистке загрязненных нефтью вод, поскольку цианобактерии используют сырую нефть и отдельные *n* алканы, как источники углерода и энергии.

Цианобактерии являются эффективными биологическими сорбентами металлов в водной среде. Слизь с оболочки цианобактерий *Microcystis aeruginosa* и *Aphanothece halophytica* имеет сильное сродство к ионам тяжелых металлов, таких как медь, свинец и цинк [3].

В прикладном аспекте цианобактерии привлекают внимание исследователей как

организмы, способные синтезировать жирные кислоты. Одним из примеров такой способности является синтез эйкозапентаеновой кислоты (20:5n<sub>3</sub>, EPA) [3, 4]. Помимо этого они являются источниками фикоцианина - водорастворимого, нетоксичного, флуоресцентного белка с сильными антиоксидантными, противовоспалительными и противоопухолевыми свойствами, находящим применение в пищевой промышленности, косметике, биотехнологии, диагностике и медицине [3, 4, 5].

Особый интерес представляет способность цианобактерий к образованию большого количества вторичных метаболитов, в том числе различных токсинов и антибактериальных веществ, многие из которых проявляют высокую токсичность в отношении живых организмов [6, 7, 8].

В результате длительной эволюции, приспособившись к существованию в различных экстремальных условиях, цианобактерии стали продуцентами различных вторичных метаболитов, включая биотоксины и цитотоксины [9, 8]. Цитотоксины влияют на отдельные функции клеток, в частности являются ингибиторами ферментов, но не убивают многоклеточный организм, вызывая массовые отравления людей с поражением тканей печени и почек. Некоторые цитотоксины убивают водоросли и бактерии [10]. Их активность исследуют на клеточных культурах млекопитающих (часто на опухолевых клетках). В свою очередь биотоксины разделяют на две группы - гепатотоксичные циклические пептиды, вызывающие гибель лабораторных животных (мышей) в течение 1–4 ч и нейротоксичные алкалоиды, вызывающие гибель в течение 2–30 мин [4]. Кроме того, живые клетки цианобактерий в воздухе могут стать причиной аллергических реакций у людей и теплокровных животных, а также нанести экономический ущерб путем загрязнения питьевой воды или повреждений архитектурных сооружений и произведений искусства ведь известно, что для очистки воды от токсинов требуются значительные материальные средства [2].

Отравление подобными токсинами возможно при употреблении зараженных

цианобактериями воды и продуктов, а так же при внутрибрюшном введении. Известно, что различные пути поступления токсинов в организм вызывают различные клинические симптомы [2]. Известны случаи острых отравлений токсинами цианобактерий (микроцистинами) сотен пациентов хемодиализного центра в Бразилии, из которых 52 человека погибли.

Имеются данные о том, что в Великобритании после выполнения упражнений на берегу водоема, в котором наблюдалось «цветение» воды, вызванное *Microcystis aeruginosa* Kutz., люди испытывали боль в животе, тошноту, рвоту, диарею, боль в горле, сухой кашель, горечь во рту и головную боль; двое даже были госпитализированы с симптомами, напоминающими а-типичную пневмонию. Высказывалось предположение, что эти проблемы были вызваны микроцистином, присутствующим в «цветущем» водоеме [2].

Большинство публикаций, посвященных поступающим в воздух токсинам цианобактерий, касаются морского вида динофлагеллят *Karina brevis* и выделяемого ею токсина, названного бреветоксином [2, 3, 1].

Однако необходимо отметить, что, не смотря на то что, эти вторичные метаболиты представляют опасность для людей и животных, они в тоже время могут оказаться интересными для медицинской биотехнологии как источник различных фармацевтических препаратов.

Разнообразные цианобактерии из микробных матов, образующихся в придонных слоях Антарктических озер, используются для поиска новых антибиотиков и веществ, обладающих противоопухолевой активностью. На сегодня известно порядка 800 соединений цианобактериального происхождения, среди которых есть фармакологически перспективные вещества, обладающие противоопухолевым, антимикробным действием, и вещества, понижающие повышенное кровяное давление. Многочисленные метаболиты, образуемые «биохимическими фабриками» цианобактерий, принадлежащих к семейству *Nostocaceae*. У ряда представителей рода *Nostoc* обнаружен широкий спектр вторичных метаболитов, включая антимикробные вещества и токсины.

Имеются данные, свидетельствующие о том, что «цветение», вызванное *Nostoc rivulare* оказалась токсичным для диких и домашних животных. У штаммов *Nostoc sp.strain152*, *Nostoc sp.strain DUN901*, *Nostoc sp.strain IO-102* выявлена способность синтезировать гепатотоксичные микроцистины. Подобным образом и *Nostoc muscorum Ag.ex Born.et Flah.* демонстрировал антагонистическое действие против бактерий и грибов [3,9,12].

По химической структуре токсины цианобактерий делятся на три основные группы: пептиды (циклические и линейные), алкалоиды и липо-полисахариды [1]. Первые и вторые являются вторичными метаболитами, т.е. не участвуют в генеральном метаболизме. Третьи представляют собой структурные компоненты наружной клеточной мембраны. Токсины обладают нейротоксичностью, иммунотоксичностью, генотоксичностью, мутагенностью, канцерогенностью, эмбриотоксичностью и дерматотоксичностью.

Цианобактерии синтезируют гепатотоксины (микроцистины и нодулярины), цитотоксины (цилиндроспермопсины), нейротоксины (анатоксина, анатоксина (S), и сакситоксины), дерматотоксины, раздражающие токсины (липополисахариды) и другие морские биотоксины (апписиатоксины, дебромоеписиатоксины, лингбиатоксина) [11].

Цианобактериальные гепатотоксины, часто присутствующие в пресноводных цветущих водоемах, являются гептапептидами – это микроцистины, в то время как в соленых водах распространен пентапептид – нодулярин. Микроцистины были обнаружены у представителей цианобактериальных родов *Anabaena*, *Anabaenopsis*, *Hapalosiphon*, *Microcystis*, *Nostoc*, *Planktothrix*, *Phormidium* и *Synechococcus* [3].

Микроцистины являются циклическими гептапептидами с необычной химической структурой и некоторым количеством небелковых аминокислот. Микроцистины синтезируются нерибосомально большими ферментными комплексами, состоящими из пептидсинтетаз и поликитидсинтетаз. Совокупно эти биосинтетические особенности приводят к высокому многообразию цианобактериальных микроцистинов. У *Anabaena* этот ферментный комплекс кодируется генным кластером, содержащим 10

генов (*mscA–J*). [3,4,5] Если известны гены, кодирующие биоактивные компоненты, можно с помощью направленного мутагенеза получить соответствующие мутанты с нарушенным биосинтезом этих веществ и попытаться изучить и понять функции этих метаболитов. В случае микроцистинов такие мутанты были получены путем инсерции или делеции *msc* генов в штаммах *M. aeruginosa* и *P. agardhii*. С помощью инсерционного мутагенеза впервые было показано, что гены, кодирующие пептидсинтетазы, вовлечены в продукцию микроцистина и то, что один генный кластер ответствен за продукцию всех вариантов микроцистина в штамме *Microcystis aeruginosa* PCC 7806. Применение современных экспериментальных подходов, таких как транскриптомика и протеомика, в сочетании с генетическими методами могло бы помочь исследованию ключевых стадий биосинтеза цианобактериальных токсинов [3].

Цианотоксины синтезируются и сохраняются в клетках цианобактерий, но во время массового цветения при старении или воздействии экстремальных факторов клетки лизируются и токсины попадают в окружающую среду. При этом разные группы токсинов из-за различий в химической структуре обладают разной стабильностью и биологической активностью в воде.

Таким образом, цианобактерии являются перспективным источником структурно новых типов вторичных метаболитов, некоторые из которых могут быть использованы в качестве медицинских препаратов. Уже сейчас биологически активные вещества некоторых микроорганизмов используются в косметической, пищевой и фармацевтической промышленности. Для этих целей из 30 тыс. видов микроводорослей и цианобактерий используются не более 50. В связи с этим поиск новых перспективных объектов является актуальной задачей современной биотехнологии и открывает большие возможности для решения важнейших задач в медицине и фармацевтике.

В настоящее время в лаборатории фотобиотехнологии КазНУ им.аль-Фараби проводятся научные работы по выделению и идентификации альгологически и бактериологически чистых культур цианобактерий и изучению их физиолого-

биохимических характеристик как продуцентов вторичных метаболитов.

Цианобактерии являются удобными модельными объектами для фундаментальных исследований молекулярных механизмов фотосинтеза, устойчивости к стрессовым факторам, фиксации атмосферного азота, метаболизма углерода и водорода, клеточного деления, молекулярной эволюции. Они представляют собой огромный, но еще малоиспользуемый, ресурс для получения большого количества различных биотехнологически важных соединений, поскольку синтезируют разнообразные биологически активные вещества, обладающие различным эффектом, это и антифунгальная, антибактериальная, антивирусная активности и ингибирующая активность в отношении

различных ферментов. В связи с этим необходимость разработки прикладных проектов с использованием этих микроорганизмов в настоящее время представляется актуальным. А поиск и выделение новых объектов и правильный выбор продуцентов биологически активных веществ открывает большие возможности и перспективы в данной области. При этом наличие эффективных генетических методов позволяет найти применение цианобактериям в биотехнологии для производства специфических продуктов, включая фотосинтетические пигменты, токсины, молекулярный водород и наночастицы, важных для решения многих других практических задач.

### Литература

- 1 Волошко Л.Н., Плющ А.В., Титова Н.Н. Токсины Цианобактерий (*Cyanobacteria*, *Cyanophyta*) // Альгология. – 2008. – Т. – 18. - №1. – С.3-21.
- 2 Шарма Н.К. Сингх С. Влияние Токсинов *Nostoc Muscorum* Ag. Exborn. Et Flah. На Верхние Дыхательные Пути Мышей // *Algologia*. – 2008. – Т. – 18. - №1. – С.29-36.
- 3 Кокшарова О.А. Применение Методов Молекулярной Генетики и Микробиологии в Экологии и Биотехнологии Цианобактерий // *Микробиология*. – 2010. – Т.79. - № 6. – С.734–747.
- 4 Hrouzek P., Kuzma M., Cerny J. The Cyanobacterial Cyclic Lipopeptides Puwainaphycins F/G Are Inducing Necrosis via Cell Membrane Permeabilization and Subsequent Unusual Actin Relocalization // *Chem. Res. Toxicol.* – 2012. – V.25. – P. 1203–1211.
- 5 Wiesner C., Kopecky J., Pfluegerb M. Endothelial Cell-Based Methods for the Detection of Cyanobacterial Anti-Inflammatory and Wound-Healing Promoting Metabolites // *Drug Metabolism Letters*. – 2007. – V.1. -№ 3. – P. 1-7.
- 6 Thummajitsakul S. Antibacterial activity of crude extracts of cyanobacteria *Phormidium* and *Microcoleus* species // *African Journal of Microbiology Research*. – 2012. – V.6(10). – С. 2574-2579.
- 7 Hrouzek P., Kuzma M., Cerny J. The Cyanobacterial Cyclic Lipopeptides Puwainaphycins F/G Are Inducing Necrosis via Cell Membrane Permeabilization and Subsequent Unusual Actin Relocalization // *Chem. Res. Toxicol.* - 2012. – V.25. – P. 1203–1211.
- 8 Vacek J., Hrbac J., Kopecky J. Cytotoxicity and Pro-Apoptotic Activity of 2,2'-Bis[4,5-bis(4-hydroxybenzyl)-2-(4-hydroxyphenyl)cyclopent-4-en-1,3-dione], a Phenolic Cyclopentenedione Isolated from the Cyanobacterium Strain *Nostoc* sp. str. Lukesova 27/97 // *Molecules*. – 2011. – V.16. – P. 4254-4263.
- 9 Voloshko L., Kopeckyc J., Safronova T. Toxins and other bioactive compounds produced by *cyanobacteria* in Lake Ladoga // *Estonian Journal of Ecology*. – 2008. – V.57(2). – P. 100-110.
- 10 Hisem D., Hrouzek P., Tomek P. Cyanobacterial cytotoxicity versus toxicity to brine shrimp *Artemia salina*. – Elsevier Ltd. All rights reserved, 2010. – P. 1-8.
- 11 Wiesner C., Kopecky J., Pfluegerb M. Endothelial Cell-Based Methods for the Detection of Cyanobacterial Anti-Inflammatory and Wound-Healing Promoting Metabolites // *Drug Metabolism Letters*. – 2007. – V.1. -№3. – P. 1-7.
- 12 Klejdus B., Kopecky J., Benesova L., Vaceka J. Solid-phase/supercritical-fluid extraction for liquid chromatography of phenolic compounds in freshwater microalgae and selected cyanobacterial species // *Journal of Chromatography A*. – 2009. – V. 1216. – P.763-771.