

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
Національний університет харчових технологій

Т.П. Пирог

Ю.М. Пенчук

**Біохімічні основи
мікробного синтезу**

КИЇВ 2019

Рецензенти:

Іутинська Г.О., член-кор. НАН України, проф., д.б.н. (Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України);

Стрельников Л.С., проф., д.ф.н. (Національний фармацевтичний університет);

Верьовка С.В., ст.н.с., д.б.н. (ДУ «Інститут отоларингології ім. О.С. Коломійченка НАМН України)

Рекомендовано Вченою радою Національного університету харчових технологій як підручник для студентів закладів вищої освіти.

Протокол № 10 від 26 квітня 2018 р.

Пирог Т.П., Пенчук Ю.М. Біохімічні основи мікробного синтезу: підручник – К.: Видавництво Ліра-К, 2019. – 304 с.

У підручнику наведено шляхи біосинтезу препаратів на основі біомаси мікроорганізмів (синтез структурних компонентів мікробної клітини: полімерів – білків, нуклеїнових кислот, ліпідів, полісахаридів і відповідних мономерів – амінокислот, нуклеотидів, вуглеводів, жирних кислот), біогенез первинних метаболітів (органічних кислот, амінокислот і вітамінів), детально розглядаються шляхи регуляції біосинтезу амінокислот та підходи до створення штамів-надсинтетиків цих мікробних метаболітів. Охарактеризовано шляхи біосинтезу вторинних метаболітів (екзополісахариди, гібереліни, поверхнево-активні речовини) у мікроорганізмів та фізіологічні основи регуляції їх синтезу, а також дані про біосинтез продуктів бродиння (етанол, молочна кислота, бутанол та органічні розчинники) та ферментів.

З використанням сучасних даних Кіотської енциклопедії генів і геномів (KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) розглянуто шляхи біосинтезу антибіотиків, що походять від єдиного первинного метаболіта (хлорамфенікол, феназинові та нуклеотидні); утворюваних конценсацією кількох первинних метаболітів (лінкоміцин, новобіоцин, клавуланова кислота, пуроміцин, стауроспорин); поліпептидних (граміцидин С, бацитрацин, ванкоміцин, теїксобактин) та β -лактамних (пеніциліни, цефалоспорини, карбапенеми, монобактами); утворюваних полімеризацією ацетатних і пропіонатних одиниць (гризофульвін, тетрацикліни, полікетиди першого (еритроміцини, мегаломіцини, пікроміцин, тилозин, олендоміцин, авермектини та рифаміцини) і другого (доксорубіцин) типу; терпеноїдних (фузидієва кислота) та аміноглікозидних (стрептоміцин, неоміцин, канаміцин, гентаміцин, тобраміцин); а також C_7N -аміноциклітолів (валідаміцин А).

Для студентів спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» та споріднених спеціальностей (091 «Біологія», 226 «Фармація»), а також для спеціалістів, які працюють в галузі біотехнології та біології.

УДК 577+579

ЗМІСТ

	стор.
ПЕРЕДМОВА.....	4
РОЗДІЛ 1. КЛАСИФІКАЦІЯ ПРОДУКТІВ МІКРОБІОЛОГІЧНОГО СИНТЕЗУ.....	8
1.1. Особливості та закономірності мікробного синтезу.....	8
1.2. Етапи розвитку мікробних технологій.....	9
1.3. Класифікація продуктів мікробного синтезу.....	10
1.3.1. Препарати на основі біомаси мікроорганізмів.....	10
1.3.2. Продукти метаболізму мікроорганізмів.....	16
1.3.2.1. Загальна характеристика первинних і вторинних метаболітів.....	16
1.3.2.2. Розмаїття вторинних мікробних метаболітів.....	18
1.3.2.3. Продукти бродіння.....	24
1.3.2.4. Ферменти.....	26
1.3.2.5. Неповні окиснення.....	28
<i>Контрольні запитання до розділу 1.....</i>	29
РОЗДІЛ 2. БІОСИНТЕЗ ПРЕПАРАТІВ НА ОСНОВІ БІОМАСИ. СИНТЕЗ КОМПОНЕНТІВ МІКРОБНОЇ КЛІТИНИ.....	31
2.1. Потреби в АТФ і НАДФН для утворення бактеріальних клітин із глюкози.....	32
2.2. Основні шляхи утворення попередників біосинтезу.....	33
2.3. Біосинтез амінокислот.....	34
2.4. Біосинтез нуклеотидів.....	38
2.5. Біосинтез ліпідів.....	40
2.5.1. Інтермедіати метаболізму – попередники ліпідів.....	40
2.5.2. Біосинтез фосфогліцерину.....	42
2.5.3. Біосинтез жирних кислот.....	42
2.5.4. Біосинтез фосфо- та гліколіпідів.....	44
2.5.5. Біосинтез нейтральних ліпідів.....	45
2.6. Утворення вуглеводів – компонентів клітинної стінки прокариот..	46
2.6.1. Біосинтез пептидоглікану.....	47
2.7. Біосинтез компонентів клітинної стінки дріжджів і грибів.....	48
<i>Контрольні запитання до розділу 2.....</i>	49
РОЗДІЛ 3. ПЕРВИННІ МЕТАБОЛІТИ. БІОГЕНЕЗОРГАНІЧНИХ КИСЛОТ І АМІНОКИСЛОТ.....	51
3.1. Біосинтез органічних кислот.....	51
3.1.1. Утворення оцтової кислоти.....	54
3.1.2. Утворення органічних кислот грибами.....	55
3.1.2.1. Глюконова кислота.....	55
3.1.2.2. Лимонна кислота.....	56
3.2. Біосинтез амінокислот.....	58
3.2.1. Використання і способи одержання амінокислот.....	58
3.2.2. Регуляція синтезу амінокислот у мікроорганізмів.....	60
3.2.3. Методи одержання штамів – продуцентів амінокислот.....	64
3.2.4. Біосинтез L-глутамінової кислоти.....	67
3.2.5. Біосинтез L-проліну.....	68
3.2.6. Біосинтез L-лізину.....	69
3.2.7. Біосинтез L-треоніну.....	71
3.2.8. Біосинтез ароматичних амінокислот.....	73
<i>Контрольні запитання до розділу 3.....</i>	77
РОЗДІЛ 4. ПЕРВИННІ МЕТАБОЛІТИ. БІОСИНТЕЗ ВІТАМІНІВ.....	80
4.1. Вітамін В ₁₂	80
4.1.1. Продуценти.....	80
4.1.2. Будова вітаміну В ₁₂	84
4.1.3. Біогенез вітаміну В ₁₂	86
4.1.3.1. Дані 80-х років ХХ ст.....	87
4.1.3.2. Сучасні дані про біосинтез вітаміну В ₁₂	93

4.2. Рибофлавін (вітамін В ₂).....	98
4.2.1. Будова, продуценти та умови надсинтезу рибофлавіну.....	99
4.2.2. Біосинтез рибофлавіну (дані 80-х років ХХ ст.).....	101
4.2.3. Сучасні дані про біогенез вітаміну В ₂	103
4.3. β-каротин – попередник вітаміну А.....	104
4.3.1. Будова та продуценти.....	104
4.3.2. Біосинтез.....	106
4.3.3. Регуляція синтезу β-каротину.....	110
4.4. Ергостерин – попередник вітаміну D.....	112
4.4.1. Будова.....	112
4.4.2. Біогенез стеринів.....	114
4.5. Участь мікроорганізмів у синтезі вітаміну С.....	117
4.5.1. Синтез Рейхштейна.....	117
4.5.2. Мікробний синтез 2-Кето- <i>L</i> -гулонової кислоти.....	119
4.5.3. Мікробний синтез аскорбінової кислоти.....	122
<i>Контрольні запитання до розділу 4.....</i>	123
РОЗДІЛ 5. БІОСИНТЕЗ ВТОРИННИХ МЕТАБОЛІТІВ.....	125
5.1. Шляхи синтезу мікробних екзополісахаридів.....	125
5.1.1. Класифікація екзополісахаридів мікробного походження.....	125
5.1.2. Особливості біосинтезу полісахаридів на вуглеводних субстратах.....	128
5.1.2.1. Особливості синтезу декстрану.....	131
5.1.3. Витрати енергії на синтез полісахаридів.....	131
5.1.4. Синтез полісахаридів на неуглеводних субстратах.....	137
5.2. Біосинтез гіберелінів.....	141
5.2.1. Загальна характеристика гіберелінів.....	141
5.2.2. Особливості біосинтезу гіберелінів.....	144
5.3. Біосинтез поверхнево-активних речовин.....	146
5.3.1. Загальна характеристика.....	146
5.3.2. Біосинтез трегалозоліпідів з тетрадекану.....	150
5.3.2.1. Катаболізм <i>n</i> -алканів.....	150
5.3.2.2. Біосинтез трегалозоліпідів.....	151
5.3.3. Біосинтез рамноліпідів.....	152
5.3.3.1. Регуляція біосинтезу рамноліпідів.....	155
<i>Контрольні запитання до розділу 5.....</i>	156
РОЗДІЛ 6. БІОСИНТЕЗ ВТОРИННИХ МЕТАБОЛІТІВ. АНТИБІОТИКИ..	158
6.1. Загальна характеристика антибіотиків.....	158
6.2. Світовий ринок антибіотиків.....	159
6.3. Особливості мікробного синтезу антибіотиків.....	162
6.4. Будова деяких антибіотиків.....	166
6.5. Шляхи біосинтезу антибіотиків.....	175
6.5.1. Біосинтез антибіотиків, що походять від єдиного первинного метаболіту.....	175
6.5.1.1. Хлорамфенікол.....	175
6.5.1.2. Феназинові антибіотики.....	178
6.5.1.3. Нуклеозидні антибіотики.....	181
6.5.2. Антибіотики, утворені конденсацією кількох метаболітів.....	183
6.5.2.1. Лінкоміцин.....	183
6.5.2.2. Новобіоцин.....	184
6.5.2.3. Клавуланова кислота.....	187
6.5.2.4. Пуроміцин.....	190
6.5.2.5. Стауроспорин.....	191
<i>Контрольні запитання до розділу 6.....</i>	196
РОЗДІЛ 7. БІОСИНТЕЗ ПОЛІПЕПТИДНИХ І β-ЛАКТАМНИХ АНТИБІОТИКІВ.....	198
7.1. Основні етапи біогенезу поліпептидних антибіотиків.....	198
7.2. Граміцидин С.....	200

7.3. Бацитрацин.....	203
7.4. Біогенез ванкоміцину.....	204
7.4.1. Загальна характеристика ванкоміцину.....	204
7.4.2. Шлях біосинтезу ванкоміцину.....	207
7.5. Теїксобактин.....	209
7.6. Пеніциліни і цефалоспорици.....	210
7.7. Карбапенеми.....	215
7.8. Монобактами.....	217
<i>Контрольні запитання до розділу 7.....</i>	221
РОЗДІЛ 8. БІОСИНТЕЗ АНТИБІОТИКІВ ПОЛІМЕРИЗАЦІЄЮ АЦЕТАТНИХ І ПРОПІОНАТНИХ ОДИНИЦЬ.....	223
8.1. Особливості біосинтезу антибіотиків і жирних кислот.....	223
8.1.1. Відмінності у біосинтезі антибіотиків і жирних кислот.....	225
8.1.2. Особливості утворення антибіотиків з ароматичною структурою.....	227
8.1.3. Утворення макролідів і анзаміцинів з частково відновлених полікетидних ланцюгів.....	229
8.1.4. Вихідні метаболіти для синтезу антибіотиків, утворюваних полімеризацією ацетатних і пропіонатних одиниць.....	229
8.2. Біосинтез гризеофульвіну.....	231
8.3. Біосинтез тетрациклінів.....	232
8.3.1. Загальна характеристика тетрациклінових антибіотиків.....	232
8.3.2. Біогенез тетрациклінів.....	232
8.4. Біосинтез 12-, 14- і 16-членних макролідів (полікетидів I типу)....	236
8.4.1. Еритроміцин.....	236
8.4.2. Мегаломіцини.....	238
8.4.3. Пікроміцин.....	240
8.4.4. Тилозин.....	243
8.4.5. Олеандоміцин.....	244
8.4.6. Авермектини.....	246
8.4.7. Анзаміцини (рифаміцини).....	250
8.4.8. Полікетиди II типу. Біосинтез доксорубіцину.....	252
<i>Контрольні запитання до розділу 8.....</i>	254
РОЗДІЛ 9. БІОСИНТЕЗ ТЕРПЕНОЇДНИХ ТА АМІНОГЛІКОЗИДНИХ АНТИБІОТИКІВ.....	256
9.1. Біосинтез фузидієвої кислоти.....	256
9.2. Біосинтез аміноглікозидних антибіотиків.....	258
9.2.1. Стрептоміцин.....	260
9.2.2. Неоміцин.....	263
9.2.3. Канаміцин.....	267
9.2.4. Гентаміцин.....	270
9.2.5. Тобраміцин.....	274
9.3. Біосинтез C ₇ N-аміноциклітолів: валідаміцин А.....	277
9.3.1. Загальна характеристика C ₇ N-аміноциклітолів.....	277
9.3.2. Біосинтез валідаміцину А.....	279
<i>Контрольні запитання до розділу 9.....</i>	281
РОЗДІЛ 10. БІОСИНТЕЗ ПРОДУКТІВ БРОДІННЯ І ФЕРМЕНТІВ.....	283
10.1. Загальна характеристика процесу бродіння.....	283
10.1.1. Утворення етанолу.....	285
10.1.2. Форми бродіння, відкриті К. Нейбергом.....	287
10.2. Утворення молочної кислоти.....	288
10.3. Продукти маслянокислого та ацетоно-бутилового бродіння.....	290
10.4. Синтез ферментів (білка).....	292
<i>Контрольні запитання до розділу 10.....</i>	295
ЛІТЕРАТУРА.....	297

ПЕРЕДМОВА

Мікробний синтез є невід'ємною і найважливішою складовою сучасної біотехнології. Практично всі основні досягнення біотехнології базуються прямо чи опосередковано на використанні мікроорганізмів або продуктів їх обміну.

Створення високоефективних технологій одержання практично важливих метаболітів базується на цілеспрямованій регуляції процесу біосинтезу, що в свою чергу потребує глибоких знань фізіології, біохімії та генетики продуцентів.

Відомо, що у послідовності метаболічних реакцій, пов'язаних з утворенням ключових інтермедіатів конструктивного метаболізму, може бути «вузьке місце» – реакція, швидкість якої нижча від інших або пов'язана з великою витратою енергії чи втратою вуглецю субстрату. Виявлення таких сайтів метаболічного лімітування, розробка підходів до їхнього усунення і визначення на основі цих знань принципів регуляції енергетичного та конструктивного метаболізму дасть змогу реалізувати біотехнологічні процеси з найвищою ефективністю.

Крім того, у біотехнологічних процесах як біологічні агенти використовуються мутантні штами мікроорганізмів, які характеризуються наявністю дефектів у системі регуляції чи генетичному матеріалі клітини. У багатьох випадках тільки мікроорганізми з порушеним обміном речовин можуть забезпечити надсинтез цільового продукту. Для цілеспрямованого одержання мутантів і грамотного підходу до ведення технологічного процесу необхідно досконально знати біохімічний шлях біогенезу продукту і чітко уявляти собі регуляторні механізми, що забезпечують функціонування систем, відповідальних за здійснення кожного з етапів біосинтезу, починаючи від реакцій метаболізму ростового субстрату.

У 2009 р. викладачами кафедри біотехнології і мікробіології Національного університету харчових технологій вперше в Україні видано підручник «Загальна біотехнологія» (Пирог Т.П., Ігнатова О.А. Загальна біотехнологія. К.: НУХТ. 2009, 336 с.), в одному з розділів якого було наведено відомі на той час дані про шляхи біосинтезу препаратів на основі біомаси мікроорганізмів, а також їх первинних (амінокислоти, органічні кислоти, вітаміни) і вторинних (антибіотики, екзополісахариди, поверхнево-активні речовини) метаболітів.

Проте за останні 10 років в Київській енциклопедії генів і геномів (www.genome.jp/kegg/KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. Pathway Database) з'явилось багато інформації про шляхи біосинтезу мікробних метаболітів (зокрема, антибіотиків, причому як давно відомих, так і нових), і стало значно більше даних про особливості метаболізму мікроорганізмів, використовуваних як біологічні агенти у біотехнологічних процесах. Зазначимо, що обсяг нової наявної на даний час інформації про мікробний синтез первинних і вторинних метаболітів виходить за межі окремого розділу, і тому читачеві вперше в Україні пропонується підручник, присвячений біохімічним основам мікробного синтезу.

У єдиному подібному підручнику Безбородова О.М. випуску 1984 року, відомому на радянському і пострадянському просторі, шляхи біосинтезу мікробних метаболітів розглядалися не за групами продуктів мікробного синтезу (антибіотики, амінокислоти тощо), а за спільними попередниками їх біосинтезу (біосинтез через мевалонову кислоту, біосинтез через шикімову кислоту, через ацетил-КоА та ін.). Тому одночасно розглядався, наприклад, біосинтез ароматичних амінокислот і антибіотика хлорамфеніколу, біосинтез ціанкобаламіну і антибіотика фузидієвої кислоти, що значно ускладнювало сприйняття матеріалу і унеможливлювало його систематизацію.

Даний підручник структурований так, щоб викладення матеріалу було логічним і послідовним, починаючи від класифікації продуктів мікробного синтезу, характеристики первинних і вторинних метаболітів, наведення їх структурних формул до шляхів їх біосинтезу, причому шляхи біосинтезу розглядаються з найпростіших (біосинтез органічних кислот) і закінчуються найскладнішими (біогенез антибіотиків).

У першому розділі наведено класифікацію продуктів мікробного синтезу та їх загальну характеристику, у другому – шляхи біосинтезу препаратів на основі біомаси, зокрема, синтез структурних компонентів мікробної клітини (полімерів – білків, нуклеїнових кислот, ліпідів, полісахаридів і відповідних мономерів – амінокислот, нуклеотидів, вуглеводів, жирних кислот).

Третій і четвертий розділи присвячено біогенезу первинних метаболітів (органічних кислот, амінокислот і вітамінів) у мікроорганізмів, детально розглядаються шляхи регуляції біосинтезу амінокислот та підходи до створення штамів-надсинтетиків цих мікробних метаболітів.

У п'ятому розділі наведено дані про шляхи біосинтезу таких вторинних метаболітів як екзополісахариди, гібереліни та поверхнево-активні речовини (трегалозоміколати та рамноліпіди).

Наступні чотири розділи (від шостого по дев'ятий) присвячені біогенезу антибіотиків, що походять від єдиного первинного метаболіта (хлорамфенікол, феназинові та нуклеотидні); утворених конденсацією кількох первинних метаболітів (лінкоміцин, новобіоцин, клавуланова кислота, пуроміцин, стауроспорин); поліпептидних (граміцидин С, бацитрацин, ванкоміцин, теїксобактин) та β -лактамних (пеніциліни, цефалоспорини, карбапенеми, монобактами); утворених полімеризацією ацетатних і пропіонатних одиниць (гризофульвін, тетрацикліни, полікетиди I (еритроміцини, мегаломіцини, пікроміцин, тилозин, олендоміцин, авермектини та рифаміцини) і II (доксорубіцин) типів; терпеноїдних (фузидієва кислота) та аміноглікозидних (стрептоміцин, неоміцин, канаміцин, гентаміцин, тобраміцин); а також C_7N -аміноциклітолів (валідаміцин А).

У десятому розділі наведено дані про біосинтез продуктів бродіння (етанол, молочна кислота, бутанол та органічні розчинники) та ферментів.

Кожен розділ закінчується контрольними запитаннями для самоперевірки знань.

Наведені у підручнику матеріали рекомендовано не тільки для студентів спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія», а й споріднених (091 «Біологія», 226 «Фармація»), а також для спеціалістів, які працюють в галузі біотехнології та біології.

