

ПЕРСПЕКТИВНІ ПРОДУЦЕНТИ ЛІКОПЕНУ

Гриценко К. В.

КШ ім. Ігоря Сікорського, hrytsenko.kateryna@iik.kpi.ua

Лікопен є С40 ізопреноїдом родини каротиноїдів. Він широко використовується у фармацевтиці, харчовій та косметичній промисловостях завдяки своїм антиоксидантним та антиканцерогенним властивостям [1, 2]. Лікопен можна синтезувати хімічно, добувати з рослин або отримувати культивуванням мікроорганізмів. У порівнянні з іншими методами, мікробний синтез є більш економічно вигідним та стабільним [2, 3].

Отримувати лікопен можна як з допомогою організмів, які природньо накопичують каротиноїди, так і генетично-сконструйованих, початково нездатних до синтезу, шляхом введення відповідних генів. Модифікація природних штамів з метою посилення продукування лікопену включає зняття генетичних блоків, посилення експресії певних генів, перенаправлення потоку ключових метаболітів.

Здатність до синтезу лікопену та інших каротиноїдів мають гриби *Blakeslea trispora*, які накопичують 103,58 мг лікопену/г сухої біомаси. Вони продукують переважно транс-форми лікопену, легко культивуються та не потребують особливих умов для росту [3]. На даний час *B. trispora* широко використовується в промисловості, однак механізм регуляції біосинтезу каротиноїдів все ще недостатньо вивчений для ниткоподібних грибів, а використання генетичних маніпуляцій ускладнено, що перешкоджає можливості метаболічного конструювання для поліпшення виходу лікопену.

Для конструювання мікроорганізмів з високим виходом лікопену актуальними є методи генетичної інженерії. В даний час дослідження з гетерологічного біосинтезу лікопену в основному зосереджені на бактеріях (*Escherichia coli*) та дріжджах (*Saccharomyces cerevisiae*, *Yarrowia lipolytica*).

Y. Lipolytica має переваги за рахунок великого пулу ацетил-КоА (важливого прекурсорю шляху синтезу лікопену) та високого вмісту ліпідів, що сприяє зберіганню лікопену. При оптимізації умов культивування вихід лікопену становив близько 170 мг/г сухої біомаси, що свідчить про перспективність використання *Y. Lipolytica*. Крім того, оскільки *Y. lipolytica* може споживати багато гідрофобних субстратів, у промисловому виробництві можна використовувати дешевшу сировину, таку як рослинна олія або інші відходи для досягнення такого ж ефекту, як від використання пальмітинової кислоти [4]. Попри це, генетичне конструювання *Y. lipolytica* є обмеженим.

Незважаючи на те, що найбільший вихід лікопену (448 мг/г сухої біомаси) був отриманий саме з генетично-модифікованого штаму *E. coli* [1], її використання для синтезу лікопену є суперечливим, оскільки даний мікроорганізм вивільняє ендотоксин. Цього недоліку позбавлений представник галофільних архей *Haloferox mediterranei*. Цей продуцент *de novo* має мевалонатний шлях синтезу лікопену, але останній не накопичується, а перетворюється далі в інші типи каротиноїдів. Дану проблему вдалося вирішити

з допомогою генно-інженерних підходів, посиливши експресію гену *crtB*, відповідального за утворення фітоен-синтази, зупинивши подальше перетворення лікопену на бактеріоруберин та заблокувавши конкуруючі за прекурсори лікопену шляхи. Таким чином, вихід лікопену досяг 119,25 мг/г. Перевагою *H. mediterranei* над іншими мікроорганізмами є можливість широкого вибору джерел карбону для поживного середовища, швидкий ріст та стійкість до високих концентрацій натрій хлориду в середовищі, що дає можливість проводити культивування в нестерильних умовах та значно знизити собівартість виробництва. Крім того, відносно простішою стає й екстракція каротиноїдів, оскільки клітини піддаються лізису в умовах низької концентрації солі [2].

Надзвичайно перспективним є використання й іншого представника екстремофільних мікроорганізмів – *Deinococcus radiodurans*. У порівнянні з традиційними продуцентами, такими як *E. coli* та *S. cerevisiae*, виробництво лікопену з його допомогою є економічно-вигідним завдяки більшому потоку вуглецю у напрямку каротиноїдних біосинтетичних шляхів та високому рівню внутрішньоклітинного пулу НАД(Ф)Н, що є важливим для біосинтезу лікопену. Крім того, він може використовувати різні субстрати, включаючи більшість поширених цукрів та дешеві джерела вуглецю, такі як органічні відходи. Так, вирощування генетично-модифікованого *D. radiodurans* на середовищі на основі гліцерину дозволило отримати 203,5 мг/г сухої біомаси [5].

Отже, враховуючи розглянуті переваги й недоліки існуючих продуцентів лікопену, перспективним є використання та вдосконалення саме екстремофільних організмів, прикладом яких є *H. mediterranei* та *D. radiodurans*. Частою проблемою, що перешкоджає вдосконаленню штамів з метою підвищення виходу лікопену, є складність генетичного конструювання, тому подальший розвиток підходів генетичної інженерії дозволить поліпшити й оптимізувати промислове виробництво лікопену мікроорганізмами.

Список використаної літератури:

1. Coussement, P., Bauwens, D., Maertens, J., and De Mey, M. (2017). Direct combinatorial pathway optimization. *ACS Synth. Biol.* 6, 224–232.
2. Zuo Z, Xue Q, Zhou J, Zhao D, Han J, Xiang H (2018) Engineering *Haloferax mediterranei* as an efficient platform for high level production of lycopene. *Front Microbiol* 9:2893.
3. Wang, Y. L., Pang, J., Zheng, Y. M., Jiang, P. P., Gong, W. F., Chen, X. W., et al. (2017). Genetic manipulation of the bifunctional gene, *carRA*, to enhance lycopene content in *Blakeslea trispora*. *Biochem. Eng. J.* 119, 27–33.
4. Luo Z, Liu N, Lazar Z, Chatzivasileiou A, Ward V, Chen J, Zhou J, Stephanopoulos G (2020) Enhancing isoprenoid synthesis in *Yarrowia lipolytica* by expressing the isopentenol utilization pathway and modulating intracellular hydrophobicity. *Metab Eng* 61: 344–351.
5. Kang CK, Jeong S, Yang JE, Choi YJ (2020) High-yield production of lycopene from corn steep liquor and glycerol using the metabolically engineered *Deinococcus radiodurans* R1 Strain. *J Agric Food Chem* 68(18):5147–5153.