

УДК 579.017.7

МЕТАКРИЛАТНЫЕ РЕДОКС СИСТЕМЫ АНАЭРОБНЫХ БАКТЕРИЙ

© 2023 г. О. В. Архипова*

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, ФИЦ Пушчинский научный центр биологических исследований РАН, Пушкино Московской обл., 142290 Россия

*e-mail: aroksan@gmail.com

Поступила в редакцию 21.06.2023 г.

После доработки 30.06.2023 г.

Принята к публикации 06.07.2023 г.

В обзоре проанализированы современные представления об анаэробном типе дыхания с использованием не природного соединения метакрилата в качестве акцептора электронов. Рассматриваются как сами метакрилатные редокс системы, так и анаэробные бактерии, в клетках которых они обнаружены. Эти комплексы состоят из флавиносодержащей редуктазы и мультигемового цитохрома c_3 . Гены компонентов метакрилатных редокс систем разных микроорганизмов гомологичны и организованы в один оперон. Метакрилатвосстанавливающая активность определяется в периплазме. Единственная известная бактериальная акрилатредуктаза, восстанавливающая природное соединение, отличается от метакрилатных редокс систем. Обсуждаются физиологическая роль, происхождение и перспективы исследований уникальной ферментной системы.

Ключевые слова: метакрилатредуктаза, мультигемовый цитохром c , анаэробное дыхание, *Geobacter sulfurreducens* AM-1, *Anaeromyxobacter dehalogenans* 2CP-1^T, *Denitrovibrio acetiphilus* DSM 12809^T, *Wolinella succinogenes* DSM 1740^T

DOI: 10.31857/S0555109923060016, **EDN:** CUDALZ

Анаэробные бактерии способны получать энергию в виде АТФ, окисляя при этом субстраты-доноры электронов и используя электронтранспортные цепи (ЭТЦ) и даже разветвлённые ЭТЦ, называемые сетями. ЭТЦ, состоящие из белков-переносчиков, локализованы в цитоплазматических мембранах бактерий. Процесс, осуществляемый ЭТЦ в отсутствие кислорода, называется анаэробным дыханием и называется по субстрату-акцептору электронов. Терминальными акцепторами электронов могут быть как неорганические соединения (нитратное дыхание, нитритное, серное, железистое и т.д.), так и органические (фумаратное дыхание, ферулатное, пентеноатное, уроканатное, акрилатное, метакрилатное). Терминальные редуктазы ЭТЦ согласно международной классификации ферментов относятся к классу 1 (оксидоредуктазы).

Терминальные редуктазы анаэробных бактерий, использующие разные субстраты для катализа, отличаются друг от друга не только функцией, но и размерами, составом (количеством субъединиц, кофакторами), локализацией в клетке. Терминальные редуктазные системы, катализирующие одинаковые или сходные реакции, также могут отличаться друг от друга [1]. Такие редокс системы, восстанавливающие ненасыщенные органические соединения, можно объединить в две группы:

1) флавопротеиновые комплексы, осуществляющие катализ в цитоплазме: кофеатредуктазная система (*Acetobacterium woodii*) [2] и мембранные фумаратредуктазы (*Wolinella succinogenes*, *Escherichia coli*) [3–5]; 2) периплазматические флавиносодержащие ферментные системы: флавоцитохромы с фумаратредуктазы (бактерии рода *Shewanella*) [6–9] и метакрилатредуктазные системы (*Geobacter sulfurreducens* AM-1, *Anaeromyxobacter dehalogenans* 2CP-1, *Denitrovibrio acetiphilus* DSM 12809, *Wolinella succinogenes* DSM 1740) [10–13], а также уроканатредуктаза (*Shewanella oneidensis*) [14, 15].

Метакрилатные редокс системы интересны тем, что они катализируют реакцию превращения не природного и токсичного соединения. Целью работы было обобщение данных о бактериях и их ферментных системах, использующих метакрилат в качестве терминального акцептора электронов.

АКРИЛОВАЯ И МЕТАКРИЛОВАЯ КИСЛОТЫ, ИХ ПРОИЗВОДНЫЕ

Акриловая (пропеновая, этенкарбоновая) кислота (табл. 1) является простейшим представителем одноосновных непредельных карбоновых кислот. Акрилат — соединение природное [16, 17], встречается в морской среде. Известно, что с помощью ферментных систем акрилат как образу-

Таблица 1. Акриловая и метакриловая кислоты: производство, применение, встречаемость в природе, токсичность

Характеристика	Акриловая кислота (=пропеновая)	Метакриловая кислота (=2-метилпропеновая)
Формула	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{C}=\text{C}-\text{C} \begin{array}{l} \text{O} \\ \parallel \\ \text{OH} \end{array} \\ \\ \text{H} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{C}=\text{C}-\text{C} \begin{array}{l} \text{O} \\ \parallel \\ \text{OH} \end{array} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
Ежегодное производство	1 000 000 т	3 000 000 т (метилметакрилатов)
Применение	Пластики, покрытия, резины, гели, лаки, краски	Пломбировочный материал, протезы, косметологические средства
Наличие в природе	Морской компонент: образуется при расщеплении диметилсульфониопропионата водорослями фитопланктона, аэробными бактериями и <i>Halodesulfobivrio aestuarii</i>	Микроколичества в масле ромашки <i>Anthemis nobilis</i>
Токсичность	Сильное раздражающее и разъедающее действие на кожу и органы дыхания, необратимые травмы глаз, отек легких	Аллергический контактный стоматит, паронихия, онихолизис
ПДК	5 мг/м ³	10 мг/м ³

ется в экосистеме [16, 17], так и подвергается дальнейшим превращениям [18]. По всей видимости, представители морского фитопланктона используют акрилаты для ядовитой защиты от хищников – представителей простейших. Когда хищник атакует фитопланктон, диметилсульфониопропионат-лиаза расщепляет диметилсульфониопропионат (осмолит морских водорослей и некоторых растений) на диметилсульфид и акрилат [16]. Кроме водорослей, к расщеплению диметилсульфониопропионата из морских осадков способны ряд аэробных бактерий и анаэроб *Halodesulfobivrio aestuarii* (ранее *Desulfobivrio acrylicus*) [18]. *H. aestuarii* использует акрилат в качестве терминального акцептора электронов [18]. Терминальная акрилатредуктаза *H. aestuarii* до сих пор не описана, однако есть данные об акрилатредуктазе *ARD Vibrio harveyi* [19].

Метакриловая (2-метилпропеновая) кислота (табл. 1) – соединение синтетическое, в природе практически не встречается. Микроколичества метакрилата на сегодняшний день обнаружены только в масле ромашки римской *Anthemis nobilis*. Кроме того, есть информация об участии метакриловой кислоты или ее производных в ряде метаболических реакций. Например, метакриловая кислота превращается в гидроксиизобутират клетками *Pseudomonas putida* [20]. Метакрилат и метилметакрилат вовлечены в образование антибиотика монензина у *Streptomyces cinnamonensis* [21].

Производные акриловой и метакриловой кислот являются крупнотоннажными ксенобиотиками [22]. На их основе выпускаются лаки, краски, смолы, масла, органическое стекло, водорастворимые резины, фотографические эмульсии, зубные

пасты, ортопедические и пломбировочные материалы, пропитка для одежды, упаковочные пленки и пакеты. Широкий спектр применения и у полиметилметакрилатов, особенно в остеклении, средствах передвижения, инструментах [22].

Экологическая опасность акрилатов и их производных обусловлена присутствием этих соединений в отходах химических заводов (например, производящих метакрилатные соединения) и токсичностью этих соединений для человека [22–24]. Генотоксичность метакриловой кислоты и ее производных для млекопитающих, скорее, отсутствует [25]. Однако полиметилметакрилат считается потенциальным канцерогеном [22]. Для человека показано раздражающее действие акрилатов и метакрилатов на кожу и слизистые [22, 23, 26]. Это обусловлено взаимодействием двойных связей обсуждаемых соединений и SH-групп белков клеточных мембран [23]. Известно о цитотоксичном действии мономеров – производных метакрилата на клетки ротовой полости в случае нарушения процесса полимеризации стоматологических композитных смол [27]. Отмечены необратимые травмы глаз [23] и даже астма [22, 28] как следствие контакта с полиметилметакрилатом. Предполагают, что метакрилаты менее токсичны и менее реакционноспособны, чем акрилаты [23].

АНАЭРОБНЫЕ БАКТЕРИИ, ОБЛАДАЮЩИЕ МЕТАКРИЛАТВОССТАНАВЛИВАЮЩЕЙ АКТИВНОСТЬЮ

Периплазматическая метакрилатредуктазная активность. В настоящее время получены экспериментальные доказательства наличия метакрилатвосстанавливающей активности у клеток четырёх

Таблица 2. Метаакрилатвосстанавливающая активность в клетках анаэробных бактерий

Бактерия	Субстрат для роста	Рост культур на ацетате и метакрилате	Скорость восстановления метакрилата (нмоль мин ⁻¹ /1 мг клеточного белка)	Ссылка
<i>Geobacter sulfurreducens</i> AM-1	Ацетат + метакрилат	+	1800	[29]
<i>Wolinella succinogenes</i> DSM 1740	Формиат + фумарат	—	1000	[12]
<i>Anaeromyxobacter dehalogenans</i> 2CP-1	Ацетат + фумарат	—	17	[10]
<i>Denitrovibrio acetiphilus</i> DSM 12809	Ацетат + нитрат	—	130	[10]

грамотрицательных анаэробных представителей трёх классов домена *Bacteria* (табл. 2): *Geobacter sulfurreducens* AM-1 и *Anaeromyxobacter dehalogenans* 2CP-1 из класса *Deltaproteobacteria* [10, 11, 29], *Wolinella succinogenes* DSMZ 1740 из класса *Epsilonproteobacteria* [12] и *Denitrovibrio acetiphilus* DSM 12809 из класса *Deferribacteres* [10]. Метаакрилатвосстанавливающая активность найдена в растворимой фракции клеток этих бактерий. Для бактерий *G. sulfurreducens*, *A. dehalogenans* и *D. acetiphilus* обнаружена метакрилатвосстанавливающая активность в экстракте периплазматических белков. Для *W. succinogenes* показано, что метакрилатвосстанавливающей активностью обладают периплазматические белки. Бактерии *G. sulfurreducens*, *A. dehalogenans* и *D. acetiphilus*, окисляющие ацетат, используют его в качестве донора электронов.

В геномах этих четырех микроорганизмов выявлено большое количество генов, кодирующих цитохромы *c* [30–32]. В геноме *G. sulfurreducens* обнаружено 111 генов цитохромов *c* [33, 34], среди них несколько генов мультигеновых цитохромов, имеющих от 4 до 27 генов *C* [33]. В геноме *A. dehalogenans* 2CP-1 найдено 68 генов цитохромов *c* [31]. В геноме *D. acetiphilus* DSM 12809 определено не менее 32 генов цитохромов *c*, среди них 20 генов мультигеновых цитохромов *c*, в том числе один ген 28-генового цитохрома *c*. В геноме *W. succinogenes* DSM 12809 определено 27 генов цитохромов *c*, из которых 7 мультигеновых. В геномах *G. sulfurreducens*, *A. dehalogenans* и *D. acetiphilus* присутствуют гены ферментов цикла Кребса [31–33].

***Wolinella succinogenes*.** Облигатный анаэроб *W. succinogenes*, выделенный из бычьего рубца и различных медицинских образцов тканей человека, способен расти в присутствии доноров электронов, таких как H_2 и формиат, и акцепторов электронов, таких как фумарат, нитрат, нитрит, оксид азота, полисульфид, ДМСО [4, 35–40]. Бактерия *W. succinogenes* долгое время была моделью для изучения фумаратного дыхания и синтеза АТФ в процессе дыхания [4]. Восстановление фумарата

мембранной фумаратредуктазой *W. succinogenes* описано в обзоре 2005 г. [1] как “классический” вариант использования анаэробными бактериями ненасыщенного органического соединения в качестве терминального акцептора дыхательной цепи.

***Anaeromyxobacter dehalogenans*.** Факультативно анаэробная миксобактерия *A. dehalogenans* (класс *Deltaproteobacteria*) была выделена в чистую культуру из почв и осадков [41]. *A. dehalogenans* растет за счет анаэробного дыхания, сочетая окисление ацетата и восстановление нитрата до аммония, с нитритом в качестве промежуточного соединения [41].

A. dehalogenans также использует в качестве донора электронов сукцинат, пируват, формиат и водород, а в качестве акцепторов — галогенфенолы, нитрат, нитрит, оксид азота N_2O , фумарат, гуминовые вещества, кислород, Fe(III), U(VI), Se(IV) [41–45]. Бактерии рода *Anaeromyxobacter* преобладают в сообществах бактерий, осуществляющих диссимиляционную нитратредукцию в водных экосистемах рек или заболоченных территорий [46, 47]. Показано, что *Anaeromyxobacter* spp. осуществляет азотфиксацию при окислении арсената As(III) в As(V) в речных отложениях, загрязненных солями мышьяковой кислоты [48].

***Denitrovibrio acetiphilus*.** Морская бактерия *D. acetiphilus* DSM 12809 (класс *Deferribacteres*) была получена в чистую культуру из модельной экосистемы, которая находилась в нефтяном резервуаре, продуцировала сероводород и была обработана богатой нитратами искусственной морской водой [49]. Подобно *A. dehalogenans*, *D. acetiphilus* способен к анаэробному дыханию с помощью сопряжения окисления ацетата и нитратредукции, с образованием нитрита в качестве интермедиата [49].

D. acetiphilus может сбрасывать фумарат [49]. Первое время после описания микроорганизма нитрат считался единственным терминальным акцептором электронов для роста *D. acetiphilus* на ацетате. Позднее в геноме *D. acetiphilus* [32] были найдены гены предполагаемых дыхательных редуктаз [50]. На основании знаний об этих генах был продемонстрирован рост *D. acetiphilus* на аце-

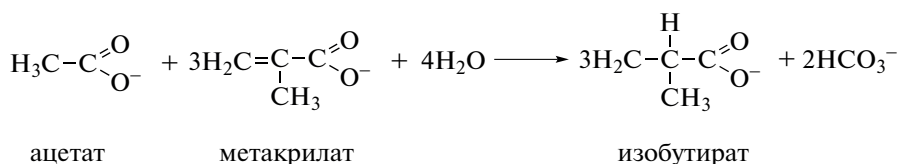


Рис. 1. Окисление ацетата при одновременном превращении метакрилата в изобутират бактерией *Geobacter sulfurreducens* AM-1 [71].

тате и As(V) (NaAsO_2), Se(VI) (Na_2SeO_4) и диметилсульфоксиде в качестве акцепторов электронов [50]. Один из обнаруженных генов, по-видимому, кодирует дыхательную арсенатредуктазу ArrA [50].

***Geobacter sulfurreducens*.** Интерес к бактериям рода *Geobacter* связан с их ключевой ролью в глобальном круговороте углерода, поскольку они наиболее многочисленные Fe(III)-восстанавливающие микроорганизмы почв и осадков [51]. Жизнедеятельность этих бактерий сопряжена с внеклеточным переносом электронов (extracellular electron transfer — EET) [52, 53] и прямым межвидовым переносом электронов (direct interspecies electron transfer — DIET) [54] к метаногенам в природных и искусственных экосистемах [55–57].

Бактерии рода *Geobacter* способны проводить электрический ток [58, 59]. *G. sulfurreducens* полностью окисляет органические доноры электронов до углекислого газа при использовании электрода в качестве единственного акцептора электронов, что позволяет считать эту бактерию экзоэлектрогеном [51, 60–62]. Кроме того, *G. sulfurreducens* может быть электротрофом [58, 59]: он восстанавливает нитрат до нитрита или фумарат до сукцината с помощью графитового электрода, служащего донором электронов [51].

Способность *G. sulfurreducens* к переносу электронов и электропроводности обусловлена образованием у них микрометровых нанопроволок [53, 63, 64]. С помощью нанопроволок осуществляется прямой внеклеточный транспорт электронов (DEET — direct extracellular electron transfer) между клетками [62, 64–66]. Существуют два мнения относительно состава нанопроволок: 1) это белковые цепочки из мономеров белка пилина PilA с высоким содержанием ароматических аминокислот [51, 53]; 2) это цитохромовые нити из гексагемовых цитохромов OmcS [51, 52, 59, 63, 67, 68]. Структура и состав электропроводящих нанопроволок — предмет продолжающихся исследований. Факты же соединения бактерий друг с другом и передачи электронов с помощью нанопроволок не подвергаются сомнениям [53].

Типовой штамм *Geobacter sulfurreducens* PCA^T (класс *Deltaproteobacteria*) был выделен в чистую культуру из поверхностных осадков канавы, загрязненной углеводородами [69]. Установлено,

что штамм PCA^T растет на формиате, ацетате и водороде в качестве донора электронов и пиррофосфате железа, оксигидроксиде железа, цитрате железа, элементарной сере, Co(III)-EDTA, фумарате или малате в качестве единственного акцептора электронов [69, 70]. Штамм AM-1 бактерии *G. sulfurreducens* был выделен в чистую культуру из гранулированного ила UASB-реактора [71], разлагающего отходы метакрилатных производств до метана с помощью анаэробного сообщества бактерий [72, 73]. *G. sulfurreducens* AM-1 использует синтетический метакрилат, а, кроме того, фумарат, малат, Fe(III) и S(0) в качестве терминального акцептора электронов в дыхательной цепи бактерии [71]. Донором электронов при росте с помощью метакрилатного дыхания может быть ацетат, формиат или молекулярный водород [71]. Таким образом, *G. sulfurreducens* AM-1 растет на ацетате (донор) и метакрилате (акцептор) и обозначен, как AM-1 (рис. 1) [71].

В настоящее время рост на ацетате и метакрилате показан только для *G. sulfurreducens* AM-1 [29, 71]. Попытки вырастить культуры *W. succinogenes*, *A. dehalogenans* и *D. acetiphylus* на метакрилате в качестве терминального акцептора электронов не увенчались успехом [10, 12]. Вместе с тем ферментативная метакрилатвосстанавливающая активность у клеток *W. succinogenes*, *A. dehalogenans* и *D. acetiphylus* была обнаружена [10, 12]. Различия в способности этих бактериальных клеток расти на метакрилате и восстанавливать метакрилат — показатель сложности организации метакрилатвосстанавливающей системы и ее регуляции.

Экспериментально доказано, что ацетат и в клетках типового штамма *G. sulfurreducens* PCA^T, и в клетках штамма *G. sulfurreducens* AM-1 дегидрируется с помощью цикла Кребса [11, 74]. ЦТК у *G. sulfurreducens* оказывается замкнутым в цикл (рис. 2) в двух случаях: 1) если *G. sulfurreducens* использует в качестве терминального акцептора метакрилат [11], 2) если *G. sulfurreducens* растет в синтрофной ассоциации с *W. succinogenes* [74, 75]. Когда *G. sulfurreducens* растет, используя в качестве терминального акцептора фумарат, ацетат окисляется через неполный ЦТК, в котором отсутствует сукцинатдегидрогеназа [74].

Мембраны бактерии *G. sulfurreducens* AM-1 содержат менахинон-8 (менахинон с 8 остатками

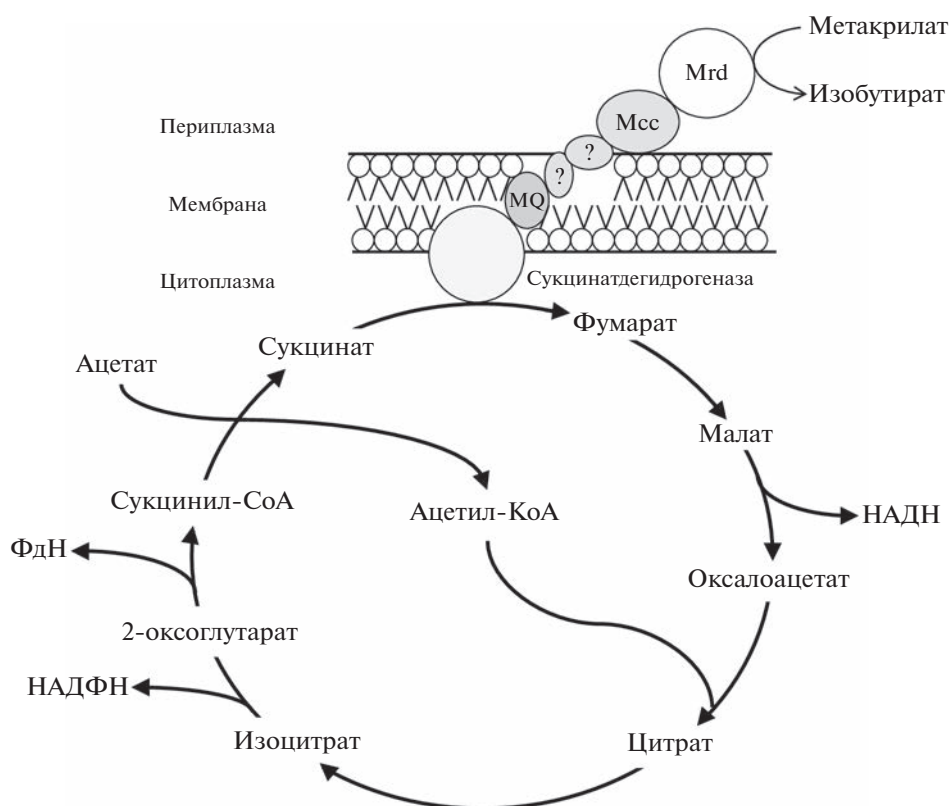


Рис. 2. Метаболизм *Geobacter sulfurreducens* AM-1, растущего на ацетате в качестве донора электронов и метакрилате в качестве акцептора электронов [11].

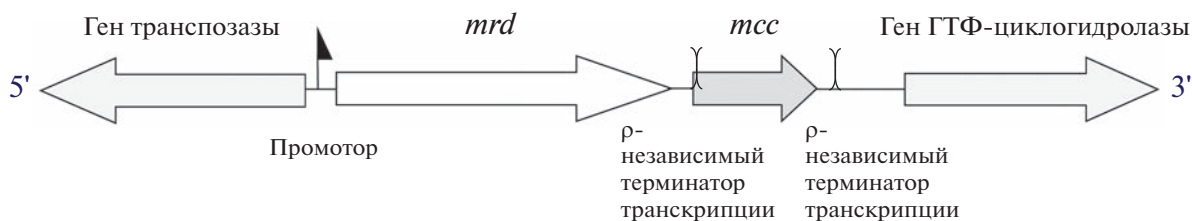


Рис. 3. Организация оперона метакрилатной редокс системы у *Geobacter sulfurreducens* AM-1 [77].

изопрена в боковой цепи) [11]. Восстановительные эквиваленты поступают в дыхательную цепь, локализованную во внутренней мембране бактериальной клетки. Они могут направляться от НАДФН в хиноновый пул через НАДФН: менахинон оксидоредуктазу [11]. Электроны от менахинона через неустановленный переносчик передаются периплазматическим белкам метакрилатной редокс-системы (рис. 2). Кандидатами на роль переносчика электронов от менахинона к компонентам этой редокс системы могут быть периплазматические цитохромы *c* (12.5 и 15.5 кДа) и мембранный цитохром *c* (67.6 кДа) [76].

БЕЛКИ МЕТАКРИЛАТНЫХ РЕДОКС СИСТЕМ И ИХ ГЕНЫ

Две субъединицы метакрилатных редокс систем. Метакрилатная редокс система у *G. sulfurreducens* AM-1, а также, вероятно, у *A. dehalogenans* и *D. acetiphilus* состоит из двух хромопротеидов (табл. 3, 4): Mrd (ФАД-содержащей метакрилатредуктазы) и Msc (мультигетового цитохрома *c*) [11, 77]. Причем Msc служит физиологическим донором электронов для Mrd [11]. Гены метакрилатных редокс систем (*mrd* и *mcc*) *G. sulfurreducens*, *A. dehalogenans* и *D. acetiphilus* имеют высокое сходство и организованы в один оперон (рис. 3) [77].

Таблица 3. (Мет)акрилатредуктазные активности анаэробных бактерий

Организм	(Мет)акрилатная редокс система	Метакрилатредуктазная активность				Акрилатредуктазная активность			
		очищенные препараты белков	целые клетки	фракция белков периплазмы	растворимая фракция клеток	очищенные препараты белков	целые клетки	фракция белков периплазмы	растворимая фракция клеток
<i>Geobacter sulfurreducens</i> AM-1	Периплазматические Mrd, Mcc	+	+	+	+	+	Н.о.	Н.о.	Н.о.
<i>Wolinella succinogenes</i> DSM 1740	Периплазматические FccA, FccB	Н.о.	+	Н.о.	+	Н.о.	+	Н.о.	+
<i>Anaeromyxobacter dehalogenans</i> 2CP-1	Периплазматические Mrd _A , Mcc _A	Н.о.	+	+	Н.о.	Н.о.	–	–	Н.о.
<i>Denitrovibrio acetiphilus</i> DSM 12809	Периплазматические Mrd _D , Mcc _D	Н.о.	+	+	Н.о.	Н.о.	–	–	Н.о.
<i>Vibrio harveyi</i> ATCC 33843	Цитоплазматический ARD	+	Н.о.	Н.о.	Н.о.	+	+	Н.о.	Н.о.

Примечание: + – наличие ферментативной активности; – отсутствие ферментативной активности; Н.о. – не определяли.

Таблица 4. Белки метакрилатной редокс системы *Geobacter sulfurreducens* AM-1

Характеристика	Метакрилатредуктаза Mrd	Цитохром с Mcc
Кажущаяся молекулярная масса	50 кДа	30 кДа
Молекулярная масса незрелого белка	57.1 кДа	24.5 кДа
Молекулярная масса зрелого белка	51.4 кДа	22.1 кДа
Молекулярная масса зрелого белка с небелковым компонентом	52.2 кДа	26.9 кДа
Длина незрелого белка	526 аминокислот	231 аминокислота
Отщепляемый сигнальный пептид	Типа Tat 55 аминокислот	Типа Sec 23 аминокислоты
Небелковый компонент	1 молекула нековалентно связанного ФАД	7 гемов С
Предполагаемый компартмент, в котором происходит приобретение третичной структуры	Цитоплазма	Периплазма

Оба компонента метакрилатной редокс системы Mrd и Mcc у *G. sulfurreducens* AM-1 были получены в чистом виде и охарактеризованы (рис. 4) [11]. Максимальная активность метакрилатной редокс системы наблюдалась, когда оба белка присутствовали в молярном соотношении $\approx 1 : 1$ [11]. Кроме восстановления метакрилата, редокс система катализировала восстановление других α , β -ненасыщенных карбоновых кислот, таких как акрилат, кротонат и пентеноат. Акрилат восстанавливался со скоростью, сравнимой с таковой восстановления метакрилата. Активность восстановления кротоната и пентеноата была на порядок ниже скорости восстановления акрилата и метакрилата. Для метакрилатной редокс системы

G. sulfurreducens AM-1 не была обнаружена способность восстанавливать фумарат и производные коричной кислоты ферулат и кофеат [11].

Предполагается, что продукты генов *mrd* и *mcc* *A. dehalogenans* и *D. acetiphilus*, как и Mrd и Mcc *G. sulfurreducens* AM-1, имеют консервативные участки и синтезируются с отщепляемыми сигнальными последовательностями, обеспечивающими периплазматическую локализацию обоих белков [77]. Наличие сигнальных пептидов разных типов (типа Tat у Mrd и типа Sec у Mcc) свидетельствует о разных механизмах биогенеза обоих белков. Укладка белковой глобулы Mrd и нековалентное присоединение флавина к Mrd, по всей видимости, осуществляется в цитоплазме клетки.

Синтезированный апоцитохром Мсс, очевидно, преодолевает цитоплазматическую мембрану до приобретения им третичной структуры, гемы С присоединяются к белковой молекуле в периплазме.

Активность восстановления метакрилата у *W. succinogenes* обеспечивается функционированием продуктов оперона *fccABC* [12, 13]. Этот оперон кодирует синтез двух периплазматических белков FccA и FccB, а также расположенного во внутренней мембране FccC. FccA содержит в качестве протетической группы 1 молекулу ФАД, а FccB и FccC — по четыре гема С [13]. Незрелый белок FccA состоит из 515 аминокислот, причем 34 из них образуют отщепляемый сигнальный пептид типа Tat [13]. По размеру и аминокислотной последовательности зрелый белок FccA имеет сходство с С-концевой частью Fcc₃ из *Shewanella frigidimarina* NCIMB 400 [13] и Mrd из *G. sulfurreducens* AM-1 [77]. Незрелый белок FccB содержит 146 аминокислот, 26 из них составляют отщепляемый сигнальный пептид типа Sec [13]. По размеру и аминокислотной последовательности зрелый белок FccB имеет сходство с N-концевой частью Fcc₃ из *S. frigidimarina* NCIMB 400 [13] и Мсс из *G. sulfurreducens* AM-1 [77]. Предполагается, что четырехгемовый FccC имеет N-концевую гидрофобную спираль, которая закрепляет белок в мембране [13]. Представлены результаты, подтверждающие, что восстановление метакрилата и акрилата у *W. succinogenes* катализирует периплазматический флавопротеин FccA или комплекс периплазматических флавопротеина FccA и тетрагемового цитохрома с FccB [12, 13].

Менахинол:цитохром с оксидоредуктаза — возможное звено метакрилатной дыхательной цепи. Аминокислотная последовательность белка FccC *W. succinogenes* имеет высокое сходство с последовательностями цитохромов с семейства белков NirT/NapC и, в частности, гомологична таковой белка СумА *Shewanella oneidenis* MR-1 [13]. Белки семейства NirT/NapC отвечают за перенос электронов от пула хинонов к редуктазам, локализованным в периплазме или связанным с внешней мембраной. Цитохром с СумА *S. oneidenis* MR-1 состоит из 187 аминокислот и имеет молекулярную массу 21 кДа [78]. Как и FccC *W. succinogenes*, СумА *S. oneidenis* имеет N-концевую гидрофобную α -спираль, удерживающую белок в мембране, и глобулярный четырехгемовый периплазматический домен [78]. Три из четырех гемов типа С — низкоспиновые, каждый из них координирован двумя остатками гистидина, редокс потенциалы низкоспиновых гемов равны -110 , -190 , -265 мВ [79]. Четвертый гем — высокоспиновый, расположен около хинолсвязывающего сайта, координирован в дистальной позиции молекулой воды, его редокс потенциал равен -240 мВ [79, 80].

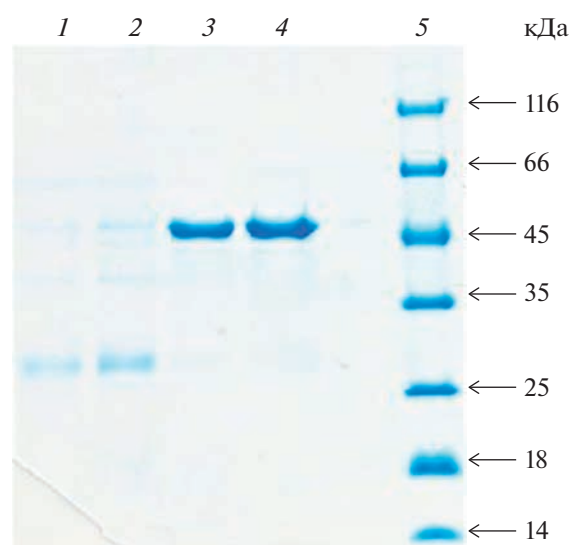


Рис. 4. Электрофоретически гомогенные препараты метакрилатредуктазы Mrd и цитохрома с Мсс из *Geobacter sulfurreducens* AM-1: 1, 2 — Мсс (1 и 2 мкг соответственно), 3, 4 — Mrd (2.5 и 5 мкг соответственно), 5 — маркеры молекулярной массы.

СумА играет центральную роль в анаэробном дыхании *S. oneidenis* MR-1 в качестве хаба для переноса электронов в периплазматическую редокс сеть. Он собирает электроны от менахинонового пула в цитоплазматической мембране бактерии и распределяет их между периплазматическими белками (мультигемовыми цитохромами с), среди которых как терминальные редуктазы, так и периплазматические редокс шаттлы, переносящие электроны к терминальным редуктазам [78, 79, 81–83]. СумА использует менахинон-7 (MQ-7) в качестве субстрата и кофактора для превращения хинонов, в том числе и отличных от MQ-7 [84]. По всей видимости, СумА имеет сложную систему регулирования переноса электронов к определенным редуктазам. Так, например, образование стабильного комплекса между СумА и периплазматической фумаратредуктазой Fcc₃ меняет направление катализа и перенос электронов в сторону окисления MQ-7, т.е. на противоположное по сравнению с этими же процессами у индивидуального СумА [85]. СумА участвует в восстановлении Fe(III), Mn(IV), нитрата, нитрита, фумарата, диметилсульфоксида, O₂ у *S. oneidenis* MR-1 [78, 81–83, 86, 87]. Кроме того, получены результаты о функционировании СумА *S. oneidenis* в качестве терминальной редуктазы нитроароматических соединений (например, дихлорнитробензола) и азокрасителей [88].

Таким образом, недостающим звеном, обозначенным на рис. 2 вопросительным знаком, поставляющим восстановительные эквиваленты белкам метакрилатной редокс системы *G. sulfurreducens*,

Таблица 5. Субстратная специфичность периплазматических метакрилатных редокс систем и цитоплазматической акрилатредуктазы

Организм	Образец, в котором была определена активность	K_m к метакрилату, мкМ	K_m к акрилату, мкМ	Ссылка
<i>Geobacter sulfurreducens</i> AM-1	Очищенные препараты метакрилатной редокс системы Mrd и Msc	80	100	[11]
<i>Wolinella succinogenes</i> DSM 1740	Гомогенаты клеток, содержащие FccA, FccB и FccC	230	500	[12]
<i>Vibrio harveyi</i> ATCC 33843	Очищенный препарат акрилатредуктазы ARD	690	16	[19]

может оказаться переносчик — менахинол : цитохром *c* оксидоредуктаза, похожий на хаб СумА электронтранспортной сети *S. oneidensis*.

АКРИЛАТРЕДУКТАЗА

Обладающий акрилатредуктазной активностью фермент ARD (табл. 3) был выделен и охарактеризован в результате гетерологичной экспрессии гена *ard* *Vibrio harveyi* ATCC 33843 в клетках *E. coli* [19]. Выбор этой цитоплазматической НАДН-зависимой флавиноксидоредуктазы (GenBank ID: AIV07243) для работы был обоснован неизвестной субстратной специфичностью предполагаемого фермента и наличием в аминокислотной последовательности белка домена *FAD_binding_2* (Pfam ID: PF00890), который содержит фумаратсвязывающий сайт [19]. Мономерный фермент состоит из 1004 аминокислот, имеет молекулярную массу 95 кДа. На 1 моль белка приходится 1 моль нековалентно связанного ФАД, 1 моль нековалентно связанного ФМН и 1 моль ковалентно связанного ФМН. Локализован ARD, судя по отсутствию отщепляемого сигнального пептида у продукта гена, в цитоплазме. Синтез мРНК *ard* бактерией *V. harveyi* стимулировался присутствием 2 мМ акрилата в среде культивирования, содержащей сахарозу и дрожжевой экстракт в качестве субстратов для роста, как в аэробных условиях, так и в анаэробных [19]. В качестве субстрата ARD использовал еще и метакрилат, проявляя 15.5% от акрилатредуктазной активности. Было показано, что НАДН является непосредственным донором электронов для ARD. ARD проявлял минимальную активность с фумаратом и кротонатом и не использовал уроканат и циннамат в качестве субстратов для проявления активности.

Безусловно, ARD из всех известных (мет)акрилатредуктаз — фермент, проявляющий наибольшее сродство к такому субстрату как акрилат (табл. 5). Но способность *V. harveyi* расти на акрилате в качестве акцептора электронов, используя цитоплазматический фермент в качестве терминальной редуктазы, нужно подтвердить экспери-

ментально. *V. harveyi* обитает в морях и способен как к брожению, так и анаэробному дыханию [19, 89]. Акрилат, будучи природным компонентом морских экосистем [16, 17], в концентрации более 2 мМ значительно ингибирует рост бактерии [19]. Наиболее вероятная физиологическая функция ARD — детоксикация акрилата.

МЕТАКРИЛАТНАЯ РЕДОКС СИСТЕМА — ФЛАВОЦИТОХРОМ *c*

Метакрилатные редокс системы — как экспериментально исследованные у *G. sulfurreducens* AM-1 и *W. succinogenes*, так и предполагаемые у *A. dehalogenans* и *D. acetiphilus* — периплазматические. Они состоят, по-видимому, из флавиносодержащей субъединицы и мультигемового цитохрома *c*. Тесное взаимодействие флавопротеинов и гемсодержащих белков всех известных и потенциальных метакрилатных редокс систем закреплено генетически: их гены организованы в один оперон. Это является основанием для того, чтобы считать метакрилатные редокс системы флавоцитохромами *c* — необычной группой редокс белков бактерий [90–93]. Для флавоцитохромов *c* характерна тесная связь между гемсодержащей и флавиносодержащей составляющими [90]. У каждой из субъединиц флавоцитохрома *c* есть свой редокс центр, связанный с пептидной цепью [90]. Среди флавоцитохромов *c* отмечены как белковые комплексы из двух или нескольких субъединиц [91, 92], так и мономеры [7, 94].

Для флавоцитохромов *c* показаны разные ферментативные активности (табл. 6). Например, флавоцитохромы *c* фотосинтезирующих пурпурной серной бактерии *Allochrochromatium vinosum* [95–97] и зеленой серной бактерии *Chlorobium thiosulfatophilum* [95], гетеротрофной бактерии *Cupriavidus necator* H16 [98] и галофильной бактерии *Thioalkalivibrio paradoxus* [99] обладают сульфид:цитохром *c* — оксидоредуктазной активностью (Fcc, флавоцитохром *c* сульфиддегидрогеназа). Они катализируют превращение сульфида в элементарную серу, что сопровождается переносом электро-

Таблица 6. Ферментативные активности флавоцитохромов с анаэробных бактерий

Ферментативная активность	Флавоцитохром с	Микроорганизм	Ссылки
Сульфид:цитохром с – оксидоредуктазная	ФссВ (46 кДа; 1 молекула ковалентно связанного ФАД) и ФссА (21 кДа; 2 гема С)	<i>Allochrodatum vinosum</i>	[95–97]
Флавоцитохром с <i>p</i> -крезол-метилгидроксилазная	две субъединицы (48 кДа каждая; 1 молекула ковалентно связанного ФАД у каждой) и две субъединицы цитохрома с (9 кДа каждый)	Несколько видов псевдомонад	[90, 91, 102]
Фумаратредуктазная	Фсс ₃ (63.4 кДа; 1 моль ковалентно связанного ФАД, 4 моль гемов С)	<i>Shewanella frigidimarina</i> NCIMB 400	[103]
Фумаратредуктазная <i>in vitro</i>	Фсс ₃ (65 кДа; 1 моль ковалентно связанного ФАД, 4 моль гемов С)	<i>Shewanella oneidenis</i> MR-1	[105]
Фумаратредуктазная <i>in vitro</i>	Ifc ₃ (63.9 кДа; 1 моль ковалентно связанного ФАД, 4 моль гемов С)	<i>Shewanella frigidimarina</i> NCIMB 400	[104]
Метакрилатредуктазная, акрилатредуктазная	Mrd (52.2 кДа; 1 молекула нековалентно связанного ФАД) и Мсс (26.9 кДа; 7 гемов С)	<i>Geobacter sulfurreducens</i> AM-1	[11, 77]

нов на цитохром с [98, 99]. Периплазматический растворимый гетеродимер Фсс у этих организмов состоит из двух субъединиц: более крупного, сульфидсвязывающего, флавопротеина ФссВ и цитохрома с ФссА [92, 95–98, 100]. У *A. vinosum* флавопротеин ФссВ имеет молекулярную массу 46 кДа и содержит 1 молекулу ковалентно связанного ФАД, цитохром с ФссА имеет молекулярную массу 21 кДа и содержит две молекулы гема С [90, 91, 95, 101].

Флавоцитохром с *p*-крезол-метилгидроксилаза [90, 91, 102], найденная в периплазме у нескольких видов псевдомонад, катализирует окисление *p*-крезола в *p*-гидроксибензиловый спирт и затем в гидроксибензальдегид [90, 91, 102]. Этот флавоцитохром является гетеротетрамером (116 кДа), состоящим из двух флавопротеиновых субъединиц, 48 кДа каждая и двух субъединиц цитохрома с, 9 кДа каждая [90, 91]. Флавопротеиновые субъединицы содержат ковалентно связанный ФАД.

Фумаратредуктазные активности показаны для трех растворимых флавоцитохромов с двух видов бактерий-железоредакторов рода *Shewanella* [6–9, 94]: для периплазматических Фсс₃ и Ifc₃ из *S. frigidimarina* NCIMB 400 [103, 104] и Фсс₃ из *S. oneidenis* MR-1 [105]. Эти флавоцитохромы с Фсс₃ и Ifc₃ из *S. frigidimarina* и Фсс₃ из *S. oneidenis* имеют нековалентно связанный ФАД (1 моль ФАД на 1 моль белка), 4 гемсвязывающих центра и синтезируются с N-концевой секреторной сигнальной последовательностью типа Sec [7, 104, 10]. Физиологической активностью для флавоцитохрома Ifc₃, восстанавливающего фумарат только *in vitro*, считается восстановление железа [94, 104]. Кри-

сталлы растворимых фумаратредуктаз шеванелл показали наличие трех доменов в структуре: небольшого N-концевого тетрагемового домена, С-концевого домена с нековалентно связанным ФАД и домена-“зажима”, контролирующего доступность активного сайта для субстрата [9].

Все упомянутые флавоцитохромы с шеванелл являются гомологами как Mrd, так и Мсс метакрилатной редокс системы *G. sulfurreducens* AM-1 [77]. Компьютерным моделированием пространственной структуры Mrd и Мсс *G. sulfurreducens* AM-1 было показано их высокое структурное сходство с растворимыми фумаратредуктазами *Shewanella* [106]. Флавопротеин Mrd и по последовательности, и по структуре повторяет два каталитических домена С-конца трех флавоцитохромов с *Shewanella*. Мультигемовый цитохром с Мсс и по последовательности, и по структуре сходен с малым N-концевым гемсодержащим доменом фумаратредуктаз *Shewanella*. Значительное сходство этих белков, по всей видимости, обеспечивается общностью их происхождения, эволюции и природных функций.

Физиологическая роль всех упомянутых флавоцитохромов с – предмет дискуссий [92, 97, 99]. Наличие же ферментативных активностей у отмеченных флавоцитохромов с бесспорно.

РОЛЬ И ПРОИСХОЖДЕНИЕ МЕТАКРИЛАТНОЙ РЕДОКС СИСТЕМЫ, ПЕРСПЕКТИВЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Таким образом, ферментативная активность восстановления синтетического соединения метакрилата показана для клеток анаэробных бакте-

рий *G. sulfurreducens* AM-1, *A. dehalogenans* 2CP-1, *W. succinogenes* DSMZ 1740 и *D. acetiphilus* DSM 12809 (табл. 2–5). Эта активность в двух, а вероятно, и во всех четырех случаях обусловлена функционированием периплазматических двухкомпонентных флавоцитохромов *c* (табл. 3), состоящих из ФАД-содержащей субъединицы и мультимерового цитохрома *c*. Определение объективной роли и происхождения подобных ферментных комплексов — одни из основных задач исследования дыхательных редокс систем.

Метакрилатная редокс система является представителем обширного семейства флавоцитохромов *c* и других флавопротеинов, имеющих редуктазную активность [77]. Среди гомологов белков метакрилатной редокс системы — периплазматический флавоцитохром *c* Fcc₃, являющийся дыхательной фумаратредуктазой у *S. oneidenis*. В геноме у *S. oneidenis* обнаружены гены 42 потенциальных цитохромов *c*, среди них несколько мультимеровых цитохромов *c*, содержащих до 10 гемов [94]. Периплазматические флавоцитохромы *c* многофункциональны [107]. Кроме участия в фумаратном дыхании [9], они служат переносчиками электронов при преодолении периплазмы и временными узлами, накапливающими электроны, для таких типов дыхания, когда в качестве акцептора электронов используется металл, нитрат или диметилсульфоксид [107]. Основной ролью растворимого флавоцитохрома *c* Fcc₃ из *S. oneidenis*, вероятно, является работа в качестве периплазматического узлового центра накопления, распределения и перемещения электронов между цитоплазматической и внешней мембранами [52, 63, 94, 107]. Выявленное компьютерным моделированием высокое структурное сходство Fcc₃ *S. oneidenis* и белков метакрилатной редокс системы Mrd и Mcc *G. sulfurreducens* [106] — аргумент общности эволюции и функций этих флавоцитохромов *c*. Таким образом, главной природной функцией обсуждаемых метакрилатных редокс систем может оказаться электронтранспортная. Факт отсутствия у других представителей рода *Geobacter* оперона, содержащего *mrd* и *mcc* [77], придает бактерии *G. sulfurreducens* AM-1 исключительность и позволяет предполагать у AM-1 новые свойства, обусловленные функционированием электронтранспортного узла из двух хромопротеидов в периплазме бактерии.

Родство белков метакрилатной редокс системы с флавопротеинами с ферментативной активностью — аргумент в пользу каталитической роли метакрилатной редокс системы [77]. Но метакрилат — соединение неприродное. Природным субстратом как периплазматических метакрилатредуктазных комплексов *G. sulfurreducens*, *A. dehalogenans*, *W. succinogenes* и *D. acetiphilus*, так и цитоплазматической акрилатредуктазы ARD из *V. harveyi* [19] мог бы оказаться образуемый в морской экоси-

стеме акрилат [16, 17]. Это предположение подтверждается: 1) сравнимыми скоростями восстановления метакрилатной редокс системой *G. sulfurreducens* акрилата и метакрилата [11]; 2) более высоким сродством ARD к акрилату, чем к метакрилату (табл. 5) [19]. Восстановление метакрилата может являться одним из дополнительных свойств этих редуктаз. Как и в случае с дыхательными фумаратредуктазами анаэробных бактерий, предполагаемые акрилатредуктазы могли бы быть как внутриклеточными (цитоплазматическими подобно ARD), так и периплазматическими (как у *G. sulfurreducens* AM-1, *A. dehalogenans* 2CP-1, *W. succinogenes* DSMZ 1740 и *D. acetiphilus* DSM 12809). В таком случае логично полагать, что эти акрилатредуктазы возникли в процессе эволюции как адаптационный механизм, трансформирующий токсичный акрилат в менее токсичные соединения. Однако отсутствие акрилатредуктазной активности как в целых клетках, так и в периплазматических фракциях бактерий *A. dehalogenans* 2CP-1 и *D. acetiphilus* DSM 12809 (табл. 3) [10] не подтверждает выдвинутое предположение об акрилате как физиологическом акцепторе электронов для белков метакрилатной редокс системы.

Природными функциями метакрилатной редокс системы могут оказаться одновременно обе обсуждаемые: и ферментативная (восстанавливающая пока неизвестное природное соединение с двойными связями или даже акрилат), и транспортирующая электроны. Комбинация процессов естественного мутагенеза флавоцитохромов *c* и флавопротеинов, а также горизонтального переноса генов могли привести к появлению метакрилатной редокс системы и дать бактерии *G. sulfurreducens* AM-1 адаптивное преимущество при росте в метаногенных сообществах микроорганизмов, очищающих отходы метакрилатных производств [71–73].

Исследования метакрилатных редокс систем анаэробных бактерий продолжают. Для дальнейшего изучения хромопротеидов метакрилатредуктазного комплекса должны быть налажены процедуры получения рекомбинантных белков Mrd и Mcc в клетках хозяев-аэробов. Предстоит преодолеть проблемы продукции рекомбинантного анаэробного мультимерового цитохрома *c*, чтобы достичь корректной пост-трансляционной модификации (присоединение гемов) в периплазме. Получение рекомбинантных хромопротеидов Mrd и Mcc потенциально могло бы способствовать разработке препарата для очистки объектов окружающей среды от токсичных ненасыщенных органических соединений.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор искренне признателен Трошиной О.Ю. (ИБФМ РАН) и Микулинской Г.В. (ФИБХ РАН) за конструктивное обсуждение рукописи.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

В данной публикации отсутствует информации, которая могла бы послужить причиной для конфликта научных интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Arkhipova O.V., Akimenko V.K. // Microbiology (Moscow). 2005. V. 74. P. 629–639.
2. Hess V., González J.M., Parthasarathy A., Buckel W., Müller V. // Appl. Environ. Microbiol. 2013. V. 79. P. 1942–1947.
3. Hägerhäll C. // Biochim. Biophys. Acta. 1997. V. 1320. P. 107–141.
4. Kröger A., Biel S., Simon J., Gross R., Unden G., Lancaster C.R.D. // Biochim. Biophys. Acta. 2002. V. 1553. P. 23–38.
5. Iverson T. // Biochim. Biophys. Acta. 2013. V. 1827. P. 648–657.
6. Morris C.J., Black A.S., Pealing S.L., Manson F.D.C., Chapman S.K., Reid G.A., Gibson D.M., Ward F.B. // Biochem. J. 1994. V. 302. P. 587–593.
7. Pealing S.L., Black A.S., Manson F.D.C., Ward F.D., Chapman S.K., Reid G.A. // Biochemistry. 1992. V. 32. № 48. P. 12132–12140.
8. Pealing S.L., Cheesman M.R., Reid G.A., Thomson A.J., Ward F.B., Chapman S.K. // Biochemistry. 1995. V. 34. № 18. P. 6153–6158.
9. Reid G.A., Miles C.S., Moysey R.K., Pankhurst K.L., Chapman S.K. // BBA. 2000. V. 1459. № 2–3. P. 310–315.
10. Arkhipova O.V., Biryukova E.N., Abashina T.N., Khokhlova G.V., Ashin V.V., Mikoulinskaia G.V. // Microbiology (Moscow). 2019. V. 88. № 2. P. 137–145.
11. Mikoulinskaia (Arkhipova) O., Akimenko V., Galushko A., Thauer R.K., Hedderich R. // Eur. J. Biochem. 1999. V. 263. № 2. P. 346–352.
12. Gross R., Simon J., Kröger A. // Arch. Microbiol. 2001. V. 176. P. № 4. P. 310–313.
13. Simon J., Gross R., Klimmek O., Ringel M., Kröger A. // Arch. Microbiol. 1998. V. 169. № 5. P. 424–433.
14. Bogachev A.V., Bertsova Y.V., Bloch D.A., Verkhovsky M.I. // Mol. Microbiol. 2012. V. 86. № 6. P. 1452–1463.
15. Venskutonytė R., Koh A., Stenström O., Khan M.T., Lundqvist A., Akke M., et al. // Nat. Commun. 2021. V. 12. № 1. 1347. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21548-y>
16. Curson A.R.J., Todd J.D., Sullivan M.J., Johnston A.W.B. // Nat. Rev. Microbiol. 2011. V. 9. № 12. P. 849–859.
17. Curson A.R.J., Burns O.J., Voget S., Daniel R., Todd J.D., McInnis K., Wexler M., Johnston A.W.B. // PLoS One. 2014. V. 9. № 5. e97660.
18. Van der Maarel M.J.E.C., van Bergeijk S., van Werkhoven A.F., Laverman A.M., Meijer W.G., Stam W.T., Hansen T.A. // Arch. Microbiol. 1996. V. 166. P. 109–115.
19. Bertsova Y.V., Serebryakova M.V., Baykov A.A., Bogachev A.V. // Appl. Environ. Microbiol. 2022. V. 88. № 11. <https://doi.org/10.1128/aem.00519-22>
20. Aberhart D.J., Tann C.-H. // J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1. 1979. V. 4. P. 939–942.
21. O'Hagan D., Rogers S.V., Duffin G.R., Reynolds K.A. // J. Antibiot. 1995. V. 48. № 11. P. 1280–1287.
22. Stickler M., Rhein T. Polymethacrylates. // Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., 2012. V. 29. P. 342–353.
23. Greim H., Ahlers J., Bias R., Broecker B., Hollander H., Gelbke H.P. et al. // Chemosphere. 1995. V. 31. № 2. P. 2637–2659.
24. Piirilä P., Hodgson U., Estlander T., Keskinen H., Saalo A., Voutilainen R., Kanerva L. // Int Arch. Occup. Environ. Health. V. 75. № 4. P. 209–216.
25. Albertini R.J. // Regul. Toxicol. Pharmacol. 2017. V. 84. P. 77–93.
26. Kimber I., Pemberton M.A. // Regul. Toxicol. Pharmacol. 2014. V. 70. № 1. P. 24–36.
27. Krifka S., Spagnuolo G., Schmalz G., Schweikl H. // Biomaterials. 2013. V. 34. № 19. P. 4555–4563.
28. Walters G.I., Robertson A.S., Moore V.C., Burge P.S. // Occup. Med. 2017. V. 67. № 4. P. 282–289.
29. Галушко А.С., Микулинская (Архипова) О.В., Лауринавичюс К.С., Образцова А.Я., Акименко В.К. // Микробиология. 1996. Т. 65. № 4. С. 495–498.
30. Baar C., Eppinger M., Raddatz G., Simon J., Lanz C., Klimmek O. et al. // PNAS. 2003. V. 100. № 20. P. 11690–11695.
31. Thomas S.H., Wagner R.D., Arakaki A.K., Skolnick J., Kirby J.R., Shimkets L.J., Sanford R.A., Löffler F.E. // PLoS One. 2008. V. 3. № 5. e2103. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002103>
32. Kiss H., Lang E., Lapidus A., Copeland A., Nolan M., Del Rio T.G. et al. // Stand. Genomic Sci. 2010. V. 2. P. 270–279.
33. Methé B.A., Nelson K.E., Eisen J.A., Paulsen I.T., Nelson W., Heidelberg J.F. et al. // Science. 2003. V. 302. № 5652. P. 1967–1969.
34. Fernandes T.M., Morgado L., Turner D.L., Salgueiro C.A. // Antioxidants. 2021. V. 10. № 844. <https://doi.org/10.3390/antiox10060844>
35. Wolin M.J., Wolin E.A., Jacobs N.J. // J. Bacteriol. 1961. V. 81. № 6. P. 911–917.
36. Kafkewitz D., Goodman D. // Appl. Microbiol. 1974. V. 27. № 1. P. 206–209.
37. Smibert R.M., Holdeman L.V. // J. Clin. Microbiol. 1976. V. 3. № 4. P. 432–437.
38. Kröger A. // Diversity of Bacterial Respiratory Systems. V. 2. Boca Raton: CRC Press, 1980. P. 1–18.
39. Tanner A.C.R., Badger S., Lai C.-H., Listgarten M.A., Visconti R.A., Socransky S.S. // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 1981. V. 31. № 4. P. 432–445.
40. Simon J. // FEMS Microbiol. Rev. 2002. V. 26. P. 285–309.

41. Sanford R.A., Cole J.R., Tiedje J.M. // Appl. Environ. Microbiol. 2002. V. 68. № 2. P. 893–900.
42. Sanford R.A., Wagner D.D., Wu Q., Chee-Sanford J.C., Thomas S.H., Cruz-García C. et al. // Proc. Nat. Acad. Sci. U S A. 2012. V. 109. № 48. P. 19709–19714.
43. He Q., Sanford R.A. // Appl. Environ. Microbiol. 2003. V. 69. № 5. P. 2712–2718.
44. Wu Q., Sanford R.A., Löffler F.E. // Appl. Environ. Microbiol. 2006. V. 72. № 5. P. 3608–3614.
45. He Q., Yao K. // Bioresour. Technol. 2010. V. 101. № 10. P. 3760–3764.
46. Li Q., Bu C., Ahmad H.A., Guimbaud C., Gao B., Qiao Z. et al. // Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 2021. V. 28. № 4. P. 4749–4761.
47. Zhang T., Zhuang X., Ahmad S., Lee T., Cao C., Ni S.-Q. // Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 2022. V. 29. № 16. P. 23823–23833.
48. Li Y., Guo L., Yang R., Yang Z., Zhang H., Li Q. et al. // J. Hazard. Mater. 2023. V. 443. 130220.
49. Myhr S., Torsvik T. // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2000. V. 50. P. 1611–1619.
50. Denton K., Atkinson M.M., Borenstein S.P., Carlson A., Carroll T., Cullity K. et al. // Arch. Microbiol. 2013. V. 195. № 9. P. 661–670.
51. Lovley D.R., Walker D.J.F. // Front. Microbiol. 2019. V. 10. P. 1–18. Article 2078. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02078>
52. Edwards M.J., Richardson D.J., Paquette C.M., Clarke T.A. // Protein Sci. 2020. V. 29. № 4. P. 830–842.
53. Giese B., Karamash M., Fromm K.M. // FEBS Lett. 2023. V. 597. № 1. P. 166–173.
54. Walker D.J.F., Nevin K.P., Holmes D.E., Rotaru A.-E., Ward J.E., Woodard T.L. et al. // The ISME J. 2020. V. 14. P. 837–846.
55. Morita M., Malvankar N.S., Franks A.E., Summers Z.M., Giloteaux L., Rotaru A.E., Lovley D.R. // mBio. 2011. V. 2. № 4. e00159–11. <https://doi.org/10.1128/mBio.00159-11>
56. Rotaru A.-E., Shrestha P.M., Liu F., Shrestha M., Shrestha D., Embree M. et al. // Energy Environ. Sci. 2014. V. 7. P. 408–415.
57. Holmes D.E., Shrestha P.M., Walker D.J.F., Dang Y., Nevin K.P., Woodard T.L., Lovley D.R. // Appl. Environ. Microbiol. 2017. V. 83. № 9. e00223–17. <https://doi.org/10.1128/AEM.00223-17>
58. Lovley D.R. // Environ. Microbiol. Rep. 2011. V. 3. № 1. P. 27–35.
59. Lovley D.R. // Bioresour. Technol. 2022. V. 345. 126553. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126553>
60. Logan B. // Nat. Rev. Microbiol. 2009. V. 7. P. 375–383.
61. Hu Y., Wang Y., Han X., Shan Y., Li F., Shi L. // Front. Bioeng. Biotechnol. 2021. V. 9. Article: 786416. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.786416>
62. Shi M., Jiang Y., Shi L. // Sci. China. Tech. Sci. 2019. V. 62. № 10. P. 1670–1678.
63. Richter K., Schicklberger M., Gescher J. // Appl. Environ. Microbiol. 2012. V. 78. № 4. P. 913–921.
64. Shu C., Zhu Q., Xiao K., Hou Y., Ma H., Ma J., Sun X. // Biomed. Res. Int. 2019. Article ID 6151587. P. 1–12. <https://doi.org/10.1155/2019/6151587>
65. Tabares M., Dulay H., Reguera G. // Trends Microbiol. 2020. V. 28. № 4. P. 327–328.
66. Liu X., Walker D.J.F., Nonnenmann S.S., Sun D., Lovley D.R. // mBio. 2021. V. 12. № 4. <https://doi.org/10.1128/mBio.02209-21>
67. Lovley D.R., Holmes D.E. // Nat. Rev. Microbiol. 2022. V. 20. P. 5–19.
68. Wang F., Craig L., Liu X., Rensing C., Egelman E.H. // Trends Microbiol. 2023. V. 3. № 4. P. 384–392. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2022.11.004>
69. Caccavo F.J.R., Lonergan D.J., Lovley D.R., Davis M., Stolz J.F., McInerney M.J. // Appl. Environ. Microbiol. 1994. V. 60. № 10. P. 3752–3759.
70. Mollaei M., Timmers P.H.A., Suarez-Diez M., Boeren S., Van Gelder A.H., Stams A.J.M., Plugge C.M. // Environ. Microbiol. 2021. V. 23. № 1. P. 299–315.
71. Galushko A.S., Obratsova A.Ya., Shtarkman N.B., Laurinavichus K.S., Akimenko V.K. // Dokl. Biol. Sci. 1994. V. 335. P. 122–123.
72. Штаркман Н.Б., Лауринавичюс К.С., Акименко В.К. // Микробиология. 1992. Т. 61. № 4. С. 709–716.
73. Штаркман Н.Б., Образцова А.Я., Лауринавичюс К.С., Галушко А.С., Акименко В.К. // Микробиология. 1995. Т. 64. № 2. С. 270–274.
74. Galushko A.S., Schink B. // Arch. Microbiol. 2000. V. 174. № 5. P. 314–321.
75. Kaden J., Galushko A.S., Schink B. // Arch. Microbiol. 2002. V. 178. № 1. P. 53–58.
76. Arkhipova O.V., Chuvochina M.S., Trutko S.M. // Microbiology. 2009. V. 78. № 3. P. 296–303.
77. Arkhipova O.V., Meer M., Mikoulinskaia G.V., Zakharova M.V., Galushko A.S., Akimenko V.K., Kondrashov F.A. // PLoS One. 2015. V. 10. № 5. e0125888. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0125888>
78. Myers C.R., Myers J.M. // J. Bacteriol. 1997. V. 179. № 4. P. 1143–1152.
79. Marritt S.J., McMillan D.G.G., Shi L., Fredrickson J.K., Zachara J.M., Richardson D.J., Jeuken L.J.C., Butt J.N. // Biochem. Soc. Trans. 2012. V. 40. № 6. P. 1217–1221.
80. Marritt S.J., Lowe T.G., Bye J., McMillan D.G.G., Shi L., Fredrickson J. et al. // Biochem. J. 2012. V. 444. № 3. P. 465–474.
81. Schwalb C., Chapman S.K., Reid G.A. // Biochemistry. 2003. V. 42. № 31. P. 9491–9497.
82. Alves M.N., Neto S.E., Alves A.S., Fonseca B.M., Carrelo A., Pacheco I. et al. // Front. Microbiol. 2015. V. 6. Article 665. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00665>
83. Тихонова Т.В., Попов В.О. // Успехи биологической химии. 2014. Т. 54. С. 349–384
84. McMillan D.G.G., Marritt S.J., Butt J.N., Jeuken L.J.C. // J. Biol. Chem. 2012. V. 287. № 17. P. 14215–1425.
85. McMillan D.G.G., Marritt S.J., Firer-Sherwood M.A., Shi L., Richardson D.J., Evans S.D. et al. // J. Am. Chem. Soc. 2013. V. 135. № 28. P. 10550–10556.
86. Myers J.M., Myers C.R. // J. Bacteriol. 2000. V. 182. № 1. P. 67–75.

87. Schwalb C., Chapman S.K., Reid G.A. // Biochem. Soc. Trans. 2002. V. 30. № 4. P. 658–662.
88. Zhu T.-T., Cheng Z.-H., Yu S.-S., Li W.-W., Liu D.-F., Yu H.-Q. // Environ. Microbiol. 2022. V. 24. № 4. P. 1838–1848.
89. Proctor L.M., Gunsalus R.P. // Environ. Microbiol. 2000. V. 2. № 4. P. 399–406.
90. Cusanovich M.A., Meyer T.E., Bartsch R.G. // Chemistry and Biochemistry of Flavoenzymes (Muller, F., ed.). Boca Raton FL: CRC Press. 1992. V. II. P. 377–393.
91. Cunane L.M., Chen Z.W., Durley R.C., Barton J.D., Mathews F.S. // Biochem. Soc. Trans. 1999. V. 27. № 2. P. 179–184.
92. Gregersen L.H., Bryant D.A., Frigaard N.-U. // Front. Microbiol. 2011. V. 2. P. 116.
93. Sousa F.M., Pereira J.G., Marreiros B.C., Pereira M.M. // BBA Bioenerg. 2018. V. 1859. № 9. P. 742–753.
94. Paquete C.M., Louro R.O. // Dalton Trans. 2010. V. 39. № 18. P. 4259–4266.
95. Fukumori Y., Yamanaka T. // J. Biochem. 1979. V. 85. № 6. P. 1405–1414.
96. Sakurai H., Ogawa T., Shiga M., Inoue K. // Photosynth. Res. 2010. V. 104. № 2–3. P. 163–176.
97. Xin Y., Gao R., Cui F., Lü C., Liu H., Liu H., Xia Y., Xuna L. // Appl. Environ. Microbiol. 2020. V. 86. № 22. e01835–20.
98. Lü C., Xia Y., Liu D., Zhao R., Gao R., Liu H., Xuna L. // Appl. Environ. Microbiol. 2017. V. 83. № 22. e01610–17. <https://doi.org/10.1128/AEM.01610-17>
99. Tikhonova T.V., Lilina A.V., Osipov E.M., Shipkov N.S., Dergousova N.I., Kulikova O.G., Popov V.O. // Biochemistry (Mosc). 2021. V. 86. № 3. P. 361–369.
100. Nguyen P.M., Do P.T., Pham Y.B., Doan T.O., Nguyen X.C., Lee W.K. et al. // Sci. Total Environ. 2022. V. 852. 158203. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.158203>
101. Chen Z.-W., Koh M., Van Driessche G., Van Beeumen J.J., Bartsch R.G., Meyer T.E. et al. // Science. 1994. V. 266. P. 430–432.
102. Koerber S.C., McIntire W., Bohmont C., Singer T.P. // Biochemistry. 1985. V. 24. № 19. P. 5276–5280.
103. Gordon E.H.J., Peeling S.L., Chapman S.K., Ward F.B., Reid G.A. // Microbiology. 1998. V. 144. № 4. P. 937–945.
104. Dobbin P.S., Butt J.N., Powell A.K., Reid G.A., Richardson D.J. // Biochem. J. 1999. V. 342. № 2. P. 439–448.
105. Maier T.M., Myers J.M., Myers C.R. // J. Basic Microbiol. 2003. V. 43. № 4. P. 312–327.
106. Архипова О.В., Трошина О.Ю., Микулинская Г.В. // Вестн. ТвГУ. Сер.: Биология и экология. 2017. № 2. С. 306–323.
107. Kees E.D., Pendleton A.R., Paquete C.M., Arriola M.B., Kane A.L., Kotloski N.J. et al. // Appl. Environ. Microbiol. 2019. V. 85. № 16. <https://doi.org/10.1128/AEM.00852-19>

Methacrylate Redox Systems of Anaerobic Bacteria

O. V. Arkhipova*

Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms, Russian Academy of Sciences, Pushchino, 142290 Russia

*e-mail: aroksan@gmail.com

The review analyzes current information about the anaerobic type of respiration using a non-natural methacrylate compound as an electron acceptor. Both the methacrylate redox systems themselves and the anaerobic bacteria in whose cells they are found are considered. These complexes consist of flavin-containing reductase and multiheme cytochrome(s) c_3 . The genes of the components of the methacrylate redox systems of different microorganisms are homologous and are organized into one operon. Methacrylate-reducing activity is determined in the periplasm. The only known bacterial acrylate reductase that reduces the natural compound differs from methacrylate redox systems. The physiological role, origin, and research perspectives for this unique enzyme system are discussed.

Keywords: methacrylate reductase, multiheme cytochrome c , anaerobic respiration, *Geobacter sulfurreducens* AM-1, *Anaeromyxobacter dehalogenans* 2CP-1^T, *Denitrovibrio acetiphilus* DSM 12809^T, *Wolinella succinogenes* DSM 1740^T