

УДК 579.222; 577.15

ВЛИЯНИЕ ПРИРОДЫ РАСТВОРИТЕЛЯ НА НАКОПЛЕНИЕ ЦЕЛЕВЫХ ПРОДУКТОВ ТРАНСФОРМАЦИИ ПРОГЕСТЕРОНА ШТАММАМИ *ASPERGILLUS NIDULANS*

О.С. Савинова¹, Т.В. Федорова¹, Н.К. Давыдова², Т.С. Савинова³

¹ ФИЦ «Биотехнологии» РАН, Москва, Россия

² Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН, Москва, Россия

³ Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Ранее мы сообщали о способности штамма дикого типа *Aspergillus nidulans* ВКПМ F-1069 и генетически-модифицированных штаммов, полученных на его основе, трансформировать прогестерон (ПГ) [1–3]. Было установлено, что мутации *argB2* и *rug89* не изменяют компонентный состав мажорных продуктов. При этом процесс трансформации является двухэтапным: на первом этапе протекает гидроксирование ПГ (I) в 11 α -положение с образованием 11 α -гидрокси-ПГ (II), а затем этот продукт превращается в 11 α -ацетокси-ПГ (III) и 6 β , 11 α -дигидрокси-ПГ (IV). Показано, что направления вторичной модификации 11 α -гидрокси-ПГ являются конкурентными и зависят от условий проведения трансформации (состав среды, температурный режим, аэрация) [2].

В настоящей работе мы изучили влияние природы растворителя, применяемого для внесения ПГ, на накопление целевых продуктов его трансформации – II и III – штаммом *A. nidulans* ВКПМ F-1069 и новым штаммом *A. nidulans* lac № 4 (*argB*-) [3]. Трансформации проводили в ранее описанных условиях [3] с нагрузкой ПГ 1 г/л и концентрацией растворителя 2 % об. Для идентификации, разделения и количественной оценки продуктов использовали методы количественной и препаративной ТСХ, ¹H и ¹³C ЯМР, МС высокого разрешения. Результаты приведены в таблице 1.

Таблица 1

Содержание стероидов	ДМСО		Ацетон		Этилацетат		Этанол		Глицерин	
	F-1069	lac № 4	F-1069	lac № 4	F-1069	lac № 4	F-1069	lac № 4	F-1069	lac № 4
I, mol %*	14,61	5, 63	20,65	8,18	23,68	31,31	33,68	32,39	33,94	12,03
II, mol %*	13,66	24,02	21,41	23,8	11,89	16,66	23,79	30,71	7,14	7,14
III, mol %*	23,66	37,94	23,22	37,99	27,44	22,78	15,83	15,49	15,83	37,99
IV, mol %*	42,8	28,66	24,96	27,23	27,23	24,64	20,42	15,67	27,23	22,69
II+III : IV	0,87:1	2,16:1	1,79:1	2,27:1	1,44:1	1,6:1	1,94:1	2,95:1	1,45:1	1,99:1

*показано среднее значение по 3 техническим повторностям (ошибка 3 %)

В присутствии ДМСО оба штамма наиболее эффективно конвертировали ПГ. Однако с диким штаммом накопление нежелательного соединения IV было максимальным. При использовании *A. nidulans* lac № 4 (*argB*-) максимальное накопление продукта III имело место при применении ДМСО, ацетона и глицерина, а продукта II – в присутствии этанола. Кроме того, у нового штамма в отличие от дикого была обнаружена способность трансформировать ПГ в 17 α -гидрокси-ПГ (V) в присутствии этанола и глицерина (содержание V было 3,5 и 7 mol % соответственно).

На основании полученных результатов был сделан вывод, что для накопления целевых продуктов II и III наиболее предпочтительным растворителем для внесения субстрата при трансформации ПГ штаммом *A. nidulans* ВКПМ F-1069 является ацетон, а для штамма *A. nidulans* lac № 4 (*argB*-) могут быть использованы и ацетон, и ДМСО.

Работа поддержана Российским Фондом Фундаментальных Исследований (грант № 18–34–00653).

ЛИТЕРАТУРА

1. O.S. Savinova et al. FEBS Open Bio 8 (Suppl. S1), 2018, p. 178.
2. O.S. Savinova et al. Steroids, 2019, Vol.149, Article 108421.
3. О.С. Савинова и др. Прикладная биохимия и микробиология, 2020, Т. 56, № 3, стр. 266–274.