

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-134

**ЭКЗОМЕТАБОЛОМНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НОВЫХ ШТАММОВ ДРОЖЖЕЙ,
ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ТРАДИЦИОННЫХ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ,
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДОВ АНАЛИЗА БОЛЬШИХ ДАННЫХ**

**EXOMETABOLOMIC STUDY OF NOVEL YEAST STRAINS ISOLATED FROM TRADITIONAL
FERMENTED FOODS USING BIG-DATA ANALYTICAL METHODS**

М. А. Сотникова¹⁻⁴, А. Ю. Лысенко¹, А. А. Степанова¹, В. В. Толкачева¹, А. В. Адамовская⁵, Н. В. Басов¹⁻³, А. Н. Иркитова⁶, А. Д. Рогачев^{2,3}, Е. В. Гайслер², А. Г. Покровский², В. А. Иванисенко^{2,5}, Д. Н. Щербаков⁶

¹*Специализированный учебно-научный центр НГУ, Новосибирск*

²*Новосибирский государственный университет*

³*Новосибирский институт органической химии им. Н. Н. Ворожцова СО РАН*

⁴*НИИ клинической и экспериментальной лимфологии — филиал ИЦиГ СО РАН, Новосибирск*

⁵*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск*

⁶*Алтайский государственный университет, Барнаул*

М. А. Sotnikova¹⁻⁴, А. Yu. Lysenko¹, А. A. Stepanova¹, V. V. Tolkacheva¹, А. V. Adamovskaya⁵, N. V. Basov¹⁻³, А. N. Irkitova⁶, А. D. Rogachev^{2,3}, Е. V. Gaisler², А. G. Pokrovsky², V. A. Ivanisenko^{2,5}, D. N. Shcherbakov⁶

¹*Specialized Educational Scientific Center NSU, Novosibirsk*

²*Novosibirsk State University*

³*N. N. Vorozhtsov Novosibirsk Institute of Organic Chemistry SB RAS*

⁴*Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology —
branch of Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk*

⁵*Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk*

⁶*Altai State University, Barnaul*

 m.sotnikova1@g.nsu.ru

Аннотация

Работа демонстрирует потенциал применения экзометаболомного скрининга (скрининга внеклеточных метаболитов) методом ВЭЖХ-МС/МС в исследовании дрожжевых штаммов и отборе перспективных производителей биотехнологически ценных соединений.

Abstract

The work suggests that exometabolomic screening (the screening of extracellular metabolites) using LC-MS/MS has potential applications in the study of yeast strains and the selection of promising producers of biotechnologically valuable compounds.

Передовые методы метаболомного анализа, в частности высокоэффективная жидкостная хроматография в сочетании с tandemной масс-спектрометрической детекцией (ВЭЖХ-МС/МС), предоставляют уникальные возможности для изучения микроорганизмов посредством анализа низкомолекулярных метаболитов, секретируемых в культуральную среду. Среди них особое значение имеет экзометаболомный скрининг — анализ внеклеточных метаболитов, являющийся перспективным подходом при оценке биосинтетического потенциала микроорганизмов. Данный подход особенно полезен при исследовании новых природных штаммов.

Целью данного исследования было комплексное изучение метаболических особенностей дрожжевых штаммов, выделенных из традиционных ферментированных продуктов (кумыс, медовуха, кефирный гриб), с применением экзометаболомного скрининга в сочетании с многомерной статистикой и исследовательским анализом данных, а также идентификация белков, ответственных за наблюдаемые различия в экзометаболомных профилях. В качестве объектов исследования выступили дрожжевые штаммы, полученные из образцов, собранных в Казахстане и Кыргызстане, с использованием штамма *Kluuyveromyces lactis* в качестве контрольного. Пробоподготовка образцов культуральных сред осуществлялась по оригинальному протоколу, включающему осаждение белков 100%-м изопропанолом, что обеспечило высокое метаболомное покрытие. Метаболомный скрининг проводил-

ся методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с tandemной масс-спектрометрической детекцией (ВЭЖХ-МС/МС) в режиме мониторинга множественных реакций (MRM) в соответствии с ранее разработанной методикой [1, 2].

Полученные данные обрабатывались с использованием комплекса статистических методов, включая нормализацию, построение тепловых карт, анализ главных компонент (PCA), частичный дискриминантный анализ (PLS-DA), непараметрические статистические тесты и анализ перепредставленности метаболических путей.

В результате анализа были получены данные об относительном содержании 336 метаболитов в культуральных средах исследуемых штаммов. Методологический подход выявил значимые различия в метаболомном профиле двух природных штаммов по сравнению с контрольным штаммом *Kluyveromyces lactis*. Для данных штаммов были обнаружены характерные сдвиги в биосинтезе азотистых оснований, метаболизме аминокислот и углеводов, что может свидетельствовать об особых адаптационных механизмах и биотехнологическом потенциале. Полученные результаты подтвердились с помощью PCA и визуализации тепловых карт, которые отразили формирование специфических метаболомных кластеров, характерных для отдельных штаммов.

С использованием базы данных KEGG были выявлены перепредставленные метаболические пути, демонстрирующие различия в экспрессии метаболитов между штаммами. Применение инструмента ANDSystem [3] позволило реконструировать сети белок-белковых взаимодействий для всех ферментов, участвующих в этих метаболических путях. Полученные данные демонстрируют устойчивые различия в экспрессии ферментов и регуляторных белков у природных дрожжевых штаммов кумыса по сравнению с лабораторным штаммом *Kluyveromyces lactis*. Были идентифицированы потенциальные белки-мишени, воздействие на которые может приводить к изменению экспрессии метаболитов — участников перепредставленных путей. Анализ биологических процессов показал, что ключевыми процессами, связанными с наблюдаемыми различиями в экспрессии белков, являются защита клетки и генома, регуляция биосинтеза белков и деление клеток.

Таким образом, комбинация экзометаболомного скрининга и инструментов исследовательского анализа данных позволяет эффективно оценивать биосинтетический потенциал дрожжевых штаммов. Данный подход перспективен для широкого применения в оценке биотехнологического потенциала природных микроорганизмов в промышленных масштабах.

Литература

1. Басов Н. В., Рогачев А. Д. и др. Исследование хроматографического поведения метаболитов из плазмы крови методом ВЭЖХ-МС/МС с использованием монолитной колонки с сорбентом на основе 1-винил-1,2,4-триазола // Химия в интересах устойчивого развития. 2022. Т. 30 (6). С. 591–598.
2. Basov N. V., Rogachev A. D. et al. Global LC-MS/MS targeted metabolomics using a combination of HILIC and RP LC separation modes on an organic monolithic column based on 1-vinyl-1,2,4-triazole // Talanta. 2024. Vol. 267. P. 125168.
3. Ivanisenko V.A. et al. ANDSystem: an Associative Network Discovery System for automated literature mining in the field of biology // BMC systems biology. 2015. Vol. 9. Suppl. 2. P. S2.