МУТАНТНЫЙ ШТАММ *Mycobacterium* SP. ПРОДУЦИРУЮЩИЙ 9 α -ГИДРОКСИАНДРОСТЕНДИОН ИЗ СИТОСТЕРИНА

И. Ф. Пунтус, С. А. Гулевская, Д.В. Довбня, А. Е. Филонов*, М. В. Донова

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов РАН, Пушино, Московская область, 142290, Россия
puntus@ibpm.pushchino.ru

9 α -гидроксиандроста-1,4-диен-3,17-дион (9 α -ОН-АД) - ключевой предшественник синтеза большого числа фармацевтических стероидных препаратов.

Окисление стерина до 3,17-кетостероидов представляет собой сложный полиферментный процесс. Образующийся в результате окисления алифатической боковой цепи стерина АД может быть далее деградирован микобактериями по известному механизму: в результате действия стероидных 9 α -гидроксилазы и 1(2)-дегидрогеназы образуется химически нестабильное соединение - 9 α -гидроксиандроста-1,4-диен-3,17-дион, подвергающееся неферментативной ароматизации по кольцу А с разрывом С-С- связи в кольце В. Образующееся 9(10)-секосоединение далее метаболизируется по известному катаболическому пути до CO₂ и воды. Последовательность реакций 9 α -гидроксилирования и 1(2)-дегидрирования штамм-специфична. Как было показано для *M. fortuitum*, 1,2-дегидрирование АД и 9 α -гидроксиандростендиона (9 α -ОН-АД) микобактериями может осуществляться под действием двух различных 3-кетостероид-1,2-дегидрогеназ (СДГ): СДГ 1, катализирующей реакцию АД→АДД, и СДГ 2, специфичной к 9 α -ОН-АД (9 α -ОН-АД→[9-ОН-АДД][1]).

Очевидно, что образование и накопление в среде 9 α -ОН-АД в качестве основного продукта трансформации стерина возможно при условии ингибирования или полного блокирования активности 1,2-дегидрогеназы.

В настоящее время 9 α -ОН-АД получают из ситостерина двумя способами: 1) двухстадийный ферментативный процесс с получением АД из ситостерина в процессе микробиологического синтеза бактериями рода *Mycobacterium*, а затем - 9 α -ОН-АД из АД в результате трансформации другими микроорганизмами, и 2) получение 9 α -ОН-АД из ситостерина.

Целью данной работы являлось получение мутантных штаммов из *Mycobacterium* sp. 1815D, способных продуцировать 9 α -ОН-АД.

Штамм *Mycobacterium* sp. ВКМ Ас-1815D способен селективно окислять боковую цепь стерина с образованием андростендиона (АД) в качестве основного продукта с молярным выходом 63-68%, что свидетельствует об отсутствии 1,2-дегидрогеназной и 9 α -гидроксилазной активности [2].

В процессе работы были получены штаммы данного микроорганизма, отличающиеся от исходного по резистентности к ряду антибиотиков. Эти штаммы были подвергнуты воздействию мутагенных агентов (химических и физических) в сочетании с полунепрерывным культивированием в среде, содержащей ситостерин, с целью получения штаммов, продуцирующих 9 α -ОН-АД.

Получен в ходе работы штамм *Mycobacterium* sp. 2-4 М продуцирующий 9 α -ОН-АД из ситостерина как основной продукт с молярным выходом 50%. Этот штамм наряду с 9 α -ОН-АД продуцировал АД и 9 α -гидроксилированные метаболиты. Штамм был неспособен деградировать 9 α -ОН-АД, но деградировал АДД, что свидетельствует об отсутствии активности 1,2-дегидрогеназы и наличии 9 α -гидроксилазной активности.

Показано, что мутагенная обработка штаммов, способных продуцировать АД из ситостерина, с селекцией их под действием ситостеринового давления в течение длительного времени, является эффективным методом получения штаммов, продуцирующих 9 α -ОН-АД.

ССЫЛКИ:

1. Wovcha M. et al. // Biochim. Biophys. Acta. 1979. V. 574. P. 471-479.
2. Egorova O.V., Gulevskaya S.A., Puntus I.F., Filonov A.E., Donova M.V. Production of androstenedione using mutants of *Mycobacterium* sp. 2002. Journal of Chemical Technology and Biotechnology. V. 77. P. 141-147.