

УДК 579.262: 547.458.5

УГЛЕВОДЫ МИКРОБНЫХ МАТОВ ЩЕЛОЧНЫХ ГИДРОТЕРМ ПРИБАЙКАЛЯ

© *В.Г. Будагаева¹, А.А. Раднагуруева¹, Е.В. Лаврентьева^{1,2}, Д.Д. Бархутова¹, Д.Н. Оленников^{1*}*

¹ *Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН,
ул. Сахьяновой, 6, Улан-Удэ, 670047 (Россия), e-mail: olennikovdn@mail.ru*

² *Бурятский государственный университет, ул. Смолина, 24А, Улан-Удэ,
670000 (Россия)*

Щелочные гидротермы Прибайкалья являются экстремальными водными экосистемами, характеризующиеся присутствием микробных сообществ – матов. Исследование углеводного состава биомассы микробных матов из четырех гидротерм Прибайкалья (Алла, Гарга, Сея, Умхэй) показало присутствие в них маннита (1,93–7,25 мг/г; от массы воздушно-сухого сырья), уроновых кислот (1,15–15,85 мг/г) и нейтральных моносахаридов. В составе последних были выявлены галактоза (2,02–56,56 мг/г), глюкоза (2,00–45,96 мг/г), манноза (4,83–78,86 мг/г), ксилоза (1,18–10,53 мг/г), фукоза (0,23–2,40 мг/г) и следы арабинозы и рамнозы. Показано, что для матов из изученных гидротерм Прибайкалья характерно различное соотношение углеводных групп и специфический моносахаридный состав. Из биомассы микробного мата гидротермы Сея выделена фракция водорастворимых полисахаридов, представляющая собой смесь семи компонентов с молекулярными массами 122–1700 кДа. Доминирующий полимер Se-WSPS-07 с молекулярной массой 122 кДа был выделен и предварительно охарактеризован как гетерополисахарид содержащий галактозу, глюкозу, маннозу в качестве доминирующих моносахаридов, а также белок (5,92%). Выявлено, что Se-WSPS-07 обладает биологической активностью, что демонстрирует перспективность его дальнейшего изучения в качестве терапевтического агента. Химическая характеристика углеводных компонентов микробных матов щелочных гидротерм Прибайкалья осуществлена впервые.

Ключевые слова: микробные маты, щелочные гидротермы, полисахариды, цианобактерии, биологическая активность.

Работа выполнена финансовой поддержке проектов РФФИ № 15-44-04335, №16-34-00254, 15-04-01275, МОН РФ 1990, МО РФ 6.9754.2017/БЧ.

Введение

Щелочные гидротермы (гидротермальные источники) как уникальные водные экосистемы, характеризуются высокими значениями температуры и pH. Щелочность воды в таких источниках определяется

Будагаева Валентина Григорьевна – младший научный сотрудник лаборатории микробиологии, e-mail: valmpa@mail.ru

Раднагуруева Арюна Арслановна – кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории микробиологии, e-mail: aryuana_rg@mail.ru

Лаврентьева Елена Владимировна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории микробиологии, e-mail: lena_l@mail.ru

Бархутова Дарима Дондоковна – кандидат биологических наук, заведующая лабораторией микробиологии, старший научный сотрудник, e-mail: darima_bar@mail.ru

Оленников Даниил Николаевич – доктор фармацевтических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории медико-биологических исследований, e-mail: olennikovdn@mail.ru

общим действием различных анионов слабых неорганических и органических кислот. В большинстве случаев гидротермы имеют смешанный гидрокарбонатно-сульфатный или сульфатно-гидрокарбонатный состав и характеризуются широкими пределами колебаний абсолютного и процентного содержания сульфатов и гидрокарбонатов [1]. Типичным примером подобных гидротерм могут служить щелочные гидротермы Прибайкалья [2].

Микробные (цианобактериальные) маты представляют собой прокариотные сообщества, состоящие из фотосинтезирующих цианобактерий, а также различных аэробных и анаэробных организмов. Являясь высокопродуктивными экосистемами,

* Автор, с которым следует вести переписку.

они занимают в настоящее время экстремальные экологические ниши, каковыми в Прибайкалье являются щелочные гидротермы [2].

Микроорганизмы синтезируют широкий спектр многофункциональных полисахаридов, включая внутриклеточные полисахариды, структурные полимеры и экзополисахариды [3, 4]. Ранними исследованиями было показано, что экзо- и эндополисахариды прокариот обладают металл-хелатирующей, противовоспалительной, противовирусной, противоопухолевой и другими видами биологической активности [5, 6]. В этой связи гидротермы Бурятии могли бы служить источником получения биологически активных полисахаридов, однако недостаточная степень изученности не позволяет осуществлять их широкое применение. Целью настоящей работы является химическая характеристика и изучение биологической активности углеводных компонентов микробных матов из некоторых гидротерм Бурятии.

Экспериментальная часть

Микробные маты. Образцы микробных матов были собраны в 2013–2015 гг. в четырех гидротермах Курумканского района (республика Бурятия, табл. 1). У собранных образцов (кроме образца Умхэй) отделяли верхний (В) и нижний слои (Н), которые высушивали в конвективном шкафу до значений влажности 8–10% от массы образца, измельчали и использовали для анализа.

Общие экспериментальные условия. Спектрофотометрические исследования проводили на спектрофотометре СФ-2000 (Ломо, Санкт-Петербург, Россия) в кварцевых кюветах 10 мм. Содержание маннита в биомассе определяли методом ВЭЖХ после дериватизации с 4-нитробензоил хлоридом [7], уроновые кислоты – спектрофотометрическим методом по реакции с 3,4-диметилфенолом и серной кислотой [8], сульфатные группы – турбидиметрическим методом [9], аминоксахара – спектрофотометрическим методом Элсона-Моргана [10], белок – методом Бредфорд [11].

Гидролиз с ТФУ. Гидролиз измельченных образцов микробных матов (10 мг) осуществляли в запаянных ампулах в присутствии 1,5 мл 2 М трифторуксусной кислоты при 105 °С в течение 6 ч, после чего реакционные смеси центрифугировали и 250 мкл супернатанта выпаривали досуха. Сухой остаток растворяли в 70 мкл воды и использовали для получения РМР-производных.

Получение РМР-производных. Анализ моносахаридного состава осуществляли в виде производных с 3-метил-1-фенил-2-пиразолин-5-оном (РМР). Для этого 50 мкл раствора после гидролиза переносили в пластиковую пробирку (2 мл), приливали 75 мкл 0,5 М раствора РМР в 95% этаноле и 15 мкл 1,5 М гидроксида натрия. Растворы термостатировали 2 ч при 70 °С, после чего охлаждали, приливали 60 мкл 0,5 М хлористоводородной кислоты, 0,5 мл хлороформа и перемешивали не менее 10 сек. Смесь центрифугировали при 3000 g 10 мин и водный слой использовали для анализа методом микроколоночной ВЭЖХ-УФ.

Микроколоночная ВЭЖХ-УФ. Количественный анализ гидролизатов осуществляли на микроколоночном жидкостном хроматографе Милихром А-02 (Эконова, Новосибирск, Россия) на колонке ProntoSIL-120-5-C18 AQ (2 × 75 мм, Ø 5 мкм; Metrohm AG, Herisau, Switzerland); подвижная фаза: 100 мМ CH₃COONH₄ (рН 4,5) (А), MeCN (В); градиентный режим (% В): 0–20 мин 20–26; v 150 мкл/мин; температура колонки 35 °С; УФ-детектор, λ 250 нм. Расчет содержания проводили по смеси моносахаридов, обработанных аналогичным образом. Результаты представлены в виде среднего значения из трех параллельных определений (± стандартное отклонение, SD).

Таблица 1. Описание образцов микробных матов, использованных в работе

Название источника	Тип источника	Координаты	Высота, м в.у.м.	Температура воды, °С	рН воды	Температура мата, °С
Алла	сульфатно-гидрокарбонатный	54°41'735" N, 110°44'710" E	-228	45–54	9,1	36–39
Гарга	сульфатно-натриевый	54°19'203" N, 110°59'646" E	+48	49	8,7	36–39
Сея	гидрокарбонатно-сульфатно-натриевый	54°50'142" N, 111°18'099" E	-190	48–52	9,5	35–44
Умхэй	сульфатно-гидрокарбонатно-натриевый	54°59'253" N, 111°07'152" E	-266	40	9,3	39–40

Гель-проникающая хроматография (ГПХ). Использовали стеклянную колонку, заполненную Sephacryl® 400 HR (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) и соединенную с автоматическим коллектором фракций и спектрометрическим детектором. Колонка 16 × 600 мм, элюент – 0,25 М NaCl, скорость потока – 500 мкл/мин, объем элюатов – 500 мкл, температура колонки – 25 °С. Колонку градуировали с использованием стандартов декстранов с молекулярными массами 12, 70, 270, 500 кДа (Sigma-Aldrich). Внешний объем колонки определяли по синему декстрану (2000 кДа, Pharmacia, Швеция). Концентрация раствора полисахарида – 10 мг/мл, стандартов декстранов – 1 мг/мл, объем вводимой пробы – 500 мкл. Объем выхода полисахаридов определяли спектрофотометрическим методом по Дюбуа при 487 нм, белков – спектрофотометрическим методом при 260 нм [12].

Выделение водорастворимых полисахаридов. Высушенный и измельченный образец сырья [Сея(Н); 250 г] экстрагировали 80% ацетоном (1 : 10) трижды при 45 °С в течение 40 мин в УЗ-ванне (Сапфир, Россия). Далее остаток сырья обрабатывали водой (1 : 15) при 70 °С в течение 50 мин в УЗ-ванне дважды. Водный экстракт отфильтровывали, объединяли, концентрировали в вакууме до 1/20 от исходного объема и осаждали ацетоном (1 : 10). Выпавший осадок отделяли центрифугированием (3000 g, 15 мин), переосаждали дважды, диализовали против воды в диализных трубах (cut-off 2 kDa, Sigma-Aldrich) и удаляли белок по Севага [13]. В результате была получена фракция водорастворимых полисахаридов Se-WSPS с выходом 5,88 г (выход – 2,35% от массы воздушно-сухого сырья). Для выделения доминирующего полимера (Se-WSPS-07) применяли препаративную ГПХ в условиях, описанных выше. Однократная загрузка Se-WSPS составляла 50 мг. В результате разделения 1 г Se-WSPS было получено 445 мг гомогенного полимера Se-WSPS-07 (выход – 44,5% от массы Se-WSPS).

ИК-спектроскопия. ИК-спектры регистрировали на ИК-Фурье спектрометре ФТ-801 (Симекс, Новосибирск, Россия) в интервале 4000–600 см⁻¹ в таблетке с бромидом калия (1 : 100).

Биологическая активность. Определяли антиоксидантную активность методом перекисной деструкции β-каротина (СВА) [14], антирадикальную активность – ДФПГ-методом (DPPH) [15]; Fe²⁺-хелатирующую активность – о-фенантролиновым методом (Fe-CA) [16]; мембраностабилизирующую активность – методом гипотонической стойкости мембран эритроцитов (ORE); антиатерогенную активность – методом связывания атерогенных липопротеидов плазмы крови (AtA) [17]; противовоспалительную активность – методом ингибирования термической денатурации альбумина (TDA) [18]. В качестве образца сравнения использовали альгиновую кислоту (SigmaAldrich).

Обсуждение результатов

Углеводы биомассы микробных матов. Проведенные исследования показали, что для изученных образцов микробных матов характерно присутствие различных углеводных групп, в том числе маннита, нейтральных и кислых моносахаридов (табл. 2). Для верхних и нижних слоев микробных матов выявлено различное распределение отдельных углеводных классов. Наибольшая концентрация маннита обнаружена в верхних слоях (5,41–7,25 мг/г), наименьшая – в нижних слоях (2,59–3,40 мг/г). Напротив, максимальная концентрация уроновых кислот в биомассе была установлена в нижних слоях микробных матов (2,08–15,85 мг/г). В составе нейтральных моносахаридов к числу основных были отнесены галактоза, глюкоза, фукоза, манноза и ксилоза; в следовых количествах присутствовали арабиноза и рамноза. Преобладание маннозы в составе нейтральных моносахаридов было отмечено для большинства изученных образцов, кроме образцов Гарга(В), в котором доминировала галактоза, и Алла(Н) с глюкозой в качестве основного моносахарида.

Таблица 2. Углеводный состав биомассы микробных матов, мг/г^a ± SD

Образец	Маннит	UA ^б	Моносахариды в гидролизате						
			Ara	Gal	Glc	Fuc	Man	Rha	Xyl
Алла(В)	5,41±0,16	6,21±0,12	<0,01	4,47±0,10	5,09±0,10	0,23±0,00	5,89±0,14	<0,01	1,18±0,02
Алла(Н)	2,72±0,08	10,63±0,23	<0,01	14,96±0,34	32,04±0,73	0,30±0,00	25,22±0,58	<0,01	3,06±0,06
Гарга(В)	7,25±0,21	1,15±0,02	<0,01	12,98±0,29	11,67±0,24	<0,01	9,45±0,28	<0,01	2,12±0,05
Гарга(Н)	2,59±0,07	2,08±0,04	<0,01	14,24±0,32	8,81±0,18	1,73±0,04	18,03±0,55	<0,01	5,18±0,10
Сея(В)	6,72±0,20	9,27±0,18	<0,01	2,02±0,04	2,45±0,04	0,39±0,01	4,83±0,09	<0,01	1,42±0,03
Сея(Н)	3,40±0,10	15,85±0,31	<0,01	2,66±0,06	2,00±0,04	0,74±0,02	6,45±0,19	<0,01	1,63±0,03
Умхэй	1,93±0,05	12,54±0,25	<0,01	56,56±1,35	45,96±1,05	2,40±0,04	78,86±2,44	<0,01	10,53±0,21

^a От массы воздушно-сухого материала. ^б UA – уроновые кислоты.

Выявленные особенности накопления отдельных углеводных компонентов являются следствием того, что таксономические спектры бактерий, образующих микробный мат, могут отличаться для различных источников. Анализ филогенетического разнообразия микробного сообщества гидротерм с помощью секвенирования гена 16S rRNA показал, что 50–70% сообщества составляли представители филы Proteobacteria. Далее по распространенности были бактерии филумов Cyanobacteria, Acidobacteria и Firmicutes. Микроорганизмы данных групп известны как производители различных полисахаридов, в частности как потенциальные продуценты экзополисахаридов с новыми и необычными характеристиками и функциональной активностью в экстремальных условиях [4, 19]. Ранее было показано, что формообразующими видами цианобактерий изученных гидротерм являются виды родов *Gloeocapsa*, *Leptolyngbia*, *Phormidium* и *Synechococcus* [20]. В гидротерме Алла дополнительно были обнаружены виды рода *Mycrocystis*, в гидротерме Умхэй – виды родов *Oscillatoria*, *Spirulina* и *Synechocystis*, а в гидротерме Гарга – виды рода *Anabaena*. Способность к продукции полисахаридов из группы маннанов была установлена ранее для видов рода *Phormidium* [21], галактанов – для видов рода *Anabaena* [22], в то время как глюкозаны являются обычными компонентами большинства цианобактериальных видов [23].

Водорастворимые полисахариды микробных матов. Для получения полисахаридов был использован образец из гидротермы Сея, отличающейся высокой продукцией микробных матов. В результате была выделена фракция водорастворимых полисахаридов Se-WSPS с выходом 2,35% от массы воздушно-сухого мата. Согласно данным ГПХ в составе фракции присутствовало не менее семи полимеров с молекулярными массами (м.м.) 122–1700 кДа (рис. 1).

Доминирующим компонентом Se-WSPS являлся полимер Se-WSPS-07 с м.м. 122 кДа, содержание которого в смеси составило 64,6%. На долю минорных полисахаридов пришлось не более 35,3% (табл. 3).

Полимер Se-WSPS-07 был выделен с применением препаративной ГПХ на Sephacryl® 400 HR. Содержание уоновых кислот в Se-WSPS-07 составило $1,47 \pm 0,04\%$, дезоксисахаров – $1,24 \pm 0,04\%$, белка – $5,92 \pm 0,12\%$, присутствие остатков аминокислот и сульфата не обнаружено. Согласно данным ВЭЖХ в составе нейтральных моносахаридов в Se-WSPS-07 выявлены фукоза, рамноза, ксилоза, манноза, глюкоза и галактоза в соотношении 1 : 2,2 : 3,4 : 8,1 : 13,0 : 14,0 (рис. 2).

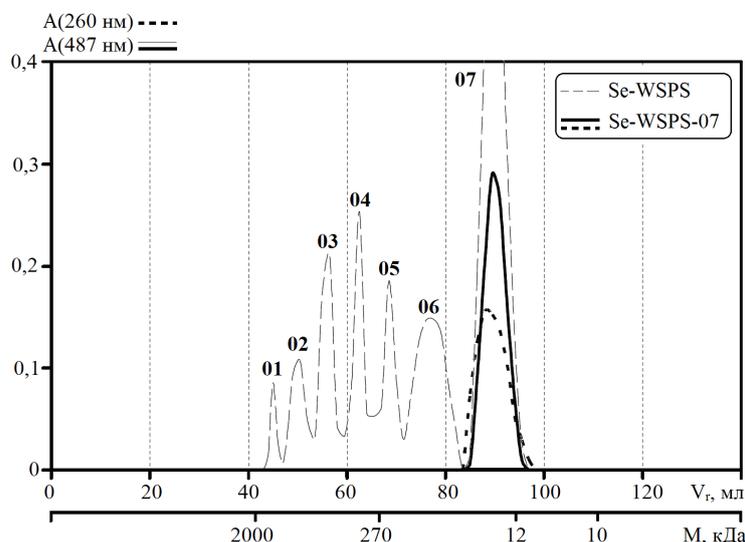


Рис. 1. Хроматографический профиль (ГПХ) фракции полисахаридов Se-WSPS на Sephacryl® 400 HR. Числами (01–07) обозначено положение отдельных компонентов

Таблица 3. Характеристика компонентов фракции Se-WSPS

Показатель	Компонент Se-WSPS						
	01	02	03	04	05	06	07
Содержание, %*	1,5	4,0	6,1	6,4	5,3	12,0	64,6
М.м., кДа	1700	1300	900	530	260	165	122

* от суммарной площади хроматографических пиков.

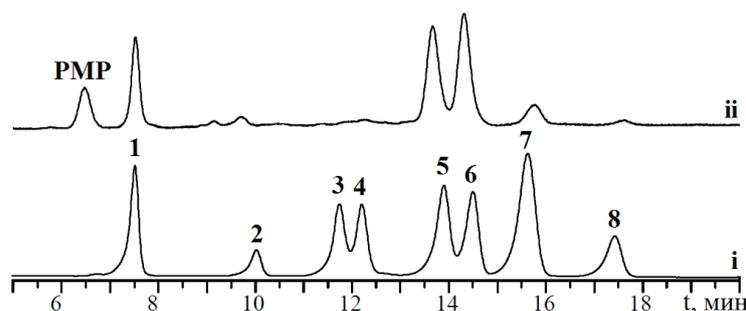


Рис. 2. Хроматограмма (ВЭЖХ-УФ) PMP-производных моносахаридов в смеси веществ сравнения (i) и гидролизате Se-WSPS-07 (ii) при 250 нм. Числами обозначено положение PMP-производных маннозы (1), рамнозы (2), глюкуроновой кислоты (3), галактурановой кислоты (4), глюкозы (5), галактозы (6), ксилозы (7) и фукозы (8). PMP – избыток дериватизирующего агента

ИК-спектр Se-WSPS-07 содержал полосы, вызванные колебаниями α - (917 см^{-1}) и β -связей (891 см^{-1}), свободных карбоксильных групп (1629 см^{-1}) и белковых компонентов (1549 см^{-1}). Таким образом, полимер Se-WSPS-07 представлял собой гетерополисахарид с высоким содержанием галактозы, глюкозы и маннозы.

Биологическая активность полисахарида Se-WSPS-07. В ходе биологических экспериментов было установлено, что, несмотря на слабовыраженные антиоксидантные и антирадикальные свойства у Se-WSPS-07 ($IC_{50} > 100\text{ мкг/мл}$), его растворы обладали способностью к связыванию ионов Fe^{2+} , а также демонстрировали мембраностабилизирующий, антиатерогенный и противовоспалительный эффект, сравнимый с активностью альгиновой кислоты (табл. 4).

Ранее было показано, что цианобактериальные полисахариды являются биологически активными полимерами. Спирулан кальция из *Spirulia platensis* оказывает выраженное противоопухолевое действие, ингибируя опухолевую инвазию и метастазы [24]. Данный полисахарид обладает также противовирусным действием, предотвращая пенетрацию клеток вирусами герпеса и ВИЧ [25]. Для спирулана было выявлено наличие антикоагулянтной, иммуностимулирующей и противовоспалительной активности [26]. Обнаружение биологической активности у полисахаридов микробных матов щелочных гидротерм Прибайкалья указывает на перспективность их дальнейшего исследования.

Таблица 4. Биологическая активность полисахарида Se-WSPS-07

Вид активности	Se-WSPS-07	Альгиновая кислота	Контроль
	Антиоксидантная активность		
CBA ^a , IC_{50} , мкг/мл	>100	>100	$23,47 \pm 0,79$
	Антирадикальная активность		
DPPH ^a , IC_{50} , мкг/мл	>100	>100	$7,84 \pm 0,20$
	Fe^{2+} -хелатирующая активность		
Fe-CA, IC_{50} , мМ/г	$0,74 \pm 0,02$	$1,27 \pm 0,04$	–
	Мембраностабилизирующая активность		
ORE ^b , %	$0,26 \pm 0,00$	$0,25 \pm 0,00$	$0,27 \pm 0,00$
	Антиатерогенная активность		
AtA ^b , % от контроля	$48,73 \pm 1,45$	$56,14 \pm 1,40$	100
	Противовоспалительная активность		
TDA ^c , IC_{50} , мкг/мл	$289,14 \pm 9,80$	$115,32 \pm 4,27$	$324,24 \pm 11,02$

^a Контроль – кверцетин. ^b Концентрация NaCl, при которой наступает гемолиз; контроль – полимер MPP[®] из *Mentha × piperita* [17]. ^b % связывания атерогенных липопротеидов для растворов полисахаридов с концентрацией 100 мкг/мл; контроль – гепарин. ^c Контроль – диклофенак натрия.

Выводы

Исследование химического состава микробных матов из четырех гидротерм Прибайкалья (Республика Бурятия) показало, что они являются продуцентами углеводных групп, в том числе полисахаридов. Для различных гидротерм характерен специфический моносахаридный состав, что свидетельствует об индивидуальных особенностях продукции полисахаридов. Впервые из биомассы микробного мата был выделен индивидуальный полимер, относящийся к группе гетерополисахаридов, и показано, что он обладает биологической активностью.

Список литературы

1. Соломин Г.А., Крайнов С.Р. Щелочные составляющие природных и сточных щелочных вод, геохимические процессы их нейтрализации кислыми и околонейтральными подземными водами // Геохимия. 1998. №2. С. 183–201.
2. Намсараев З.Б., Горленко В.М., Намсараев Б.Б., Бархутова Д.Д. Микробные сообщества щелочных гидротерм. Новосибирск, 2006. 111 с.
3. Chi Z., Fang Y. Exopolysaccharides from marine bacteria // J. Ocean Univ. China. 2005. Vol. 4. Pp. 67–74.
4. Nicolaus B., Kambourova M., Oner E.T. Exopolysaccharides from extremophiles: from fundamentals to biotechnology // Environ. Technol. 2010. Vol. 31. Pp. 1145–1158.
5. Olennikov D.N., Agafonova S.V., Rokhin A.V., Penzina T.A., Borovskii G.B. Branched glucan from the fruiting bodies of *Piptoporus betulinus* (Bull.:Fr) Karst. // Appl. Biochem. Microbiol. 2012. Vol. 48. Pp. 65–70.
6. Gugliandolo C., Spanò A., Maugeri T.L., Poli A., Arena A., Nicolaus B. Role of bacterial exopolysaccharides as agents in counteracting immune disorders induced by herpes virus // Microorganisms. 2015. Vol. 3. Pp. 464–483.
7. Kiyoshima A., Kudo K., Nishida N., Ikeda N. HPLC simultaneous determination of glycerol and mannitol in human tissues for forensic analysis // Forensic Sci. Int. 2002. Vol. 125. Pp. 127–133.
8. Usov A.I., Bilan M.I., Klochkova N.G. Polysaccharides of algae. 48. Polysaccharide composition of several calcareous red algae: Isolation of alginate from *Corallina pilulifera* P. et R. (Rhodophyta, Corallinaceae) // Bot. Mar. 1995. Vol. 38. Pp. 43–51.
9. Jackson S.G., McCandless E.L. Simple, rapid, turbidometric determination of inorganic sulfate and/or protein // Anal. Biochem. 1978. Vol. 19. Pp. 802–808.
10. Максимов В.И., Родоман В.Е., Максимова Е.В. Метод определения гексозаминов в хитиновых гидролизатах // Прикладная биохимия и микробиология. 1999. Т. 35. С. 227–230.
11. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Anal. Biochem. 1976. Vol. 76. Pp. 248–254.
12. Olennikov D.N., Kashchenko N.I., Chirikova N.K., Koryakina L.P., Vladimirov L.N. Bitter gentian teas: Nutritional and phytochemical profiles, polysaccharide characterisation and bioactivity // Molecules. 2015. Vol. 20. Pp. 20014–20030.
13. Olennikov D.N., Rokhin A.V. Water-soluble glucans from true cardamom (*Elettaria cardamomum* White at Maton) seeds // Appl. Biochem. Microbiol. 2013. Vol. 49. Pp. 182–187.
14. Olennikov D.N., Tankhaeva L.M., Agafonova S.V. Antioxidant components of *Laetiporus sulphureus* (Bull.: Fr.) Murr. fruit bodies // Appl. Biochem. Microbiol. 2011. Vol. 47. Pp. 419–425.
15. Olennikov D.N., Chirikova N.K., Okhlopko Z.M., Zulfugarov I.S. Chemical composition and antioxidant activity of Tánara Ótó (*Dracocephalum palmatum* Stephan), a medicinal plant used by the North-Yakutian nomads // Molecules. 2013. Vol. 18. Pp. 14105–14121.
16. Olennikov D.N., Kashchenko N.I., Chirikova N.K. A novel HPLC-assisted method for investigation of the Fe²⁺-chelating activity of flavonoids and plant extracts // Molecules. 2014. Vol. 19. Pp. 18296–18316.
17. Olennikov D.N., Tankhaeva L.M. Lamiaceae carbohydrates. I. Pectinic substances and hemicelluloses from *Mentha × piperita* // Chem. Nat. Comp. 2007. Vol. 43. Pp. 501–507.
18. Saso L., Valentini G., Casini M.L., Grippa E., Gatto M.T., Leone M.G., Silvestrini B. Inhibition of heat-induced denaturation of albumin by nonsteroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs): Pharmacological implications // Arch. Pharm. Res. 2001. Vol. 24. Pp. 150–158.
19. Nicolaus B., Moriello V.S., Lama L., Poli F., Gambacorta A. Polysaccharides from extremophilic microorganisms // Orig. Life Evol. Biosph. 2004. Vol. 34. Pp. 159–169.
20. Шаргаева О.В., Калашников А.М., Цыренова Д.Д. Содержание хлорофилла а и разнообразие цианобактерий в микробных матах гидротерм Бурятии // Вестник БГУ. 2013. №4. С. 158–161.
21. Bar-Or Y., Shilo M. Characterization of macromolecular flocculants produced by *Phormidium* sp. strain J-1 and by *Anabaenopsis circularis* PCC 6720 // Appl. Environ. Microbiol. 1987. Vol. 53. Pp. 2226–2230.
22. Nicolaus B., Panico A., Lama L., Romano I., Manca M.C., De Giulio A., Gambacorta A. Chemical composition and production of exopolysaccharides from representative members of heterocystous and non-heterocystous cyanobacteria // Phytochemistry. 1999. Vol. 52. Pp. 639–647.
23. Pereira S., Zille A., Micheletti E., Moradas-Ferreira P., De Filippis R., Tamagnini P. Complexity of cyanobacterial exopolysaccharides: composition, structures, inducing factors and putative genes involved in their biosynthesis and assembly // FEMS Microbiol. Rev. 2009. Vol. 33. Pp. 917–941.
24. Mishima T., Murata J., Toyoshima M., Fujii H., Nakajima M., Hayashi T., Kato T., Saiki I. Inhibition of tumor invasion and metastasis by calcium spirulan (Ca-SP), a novel sulfated polysaccharide derived from a blue-green alga, *Spirulina platensis* // Clin. Exp. Metastas. 1998. Vol. 16. Pp. 541–550.
25. Hayashi K., Hayashi T., Kojima I.A. A natural sulphated polysaccharide, calcium spirulan, isolated from *Spirulina platensis*: in vitro and ex vivo evaluation of anti-herpes simplex virus and anti-human immunodeficiency virus // AIDS Res. Hum. Retroviruses. 1996. Vol. 12. Pp. 1463–1471.
26. Raposo M.F.J., Morais A.M.M.B., Morais R.M.S.C. Bioactivity and Application of polysaccharides from marine microalgae / in Polysaccharides. Eds. K.G. Ramawat, J.-M. Merillon. Springer, Switzerland, 2015. Pp. 1683–1727.

Поступило в редакцию 11 мая 2017 г.

После переработки 13 октября 2017 г.

Budagaeva V.G.¹, Radnagurueva A.A.¹, Lavrent'eva E.V.^{1,2}, Barkhutova D.D.¹, Olennikov D.N.^{1}* CARBOHYDRATES OF MICROBIAL MATS OF ALKALINE HYDROTHERMS OF BAIKAL REGION

¹ *Institute of General and Experimental Biology, Siberian Branch, Russian Academy of Science, ul. Sakh'yarovoy, 6, Ulan-Ude, 670047 (Russia), e-mail: olennikovdn@mail.ru*

² *Buryat State University, ul. Smolina, 24A, Ulan-Ude, 670000 (Russia)*

Alkaline hydrotherms of the Baikal region are extreme aquatic ecosystems characterized by the presence of the specific microbial communities, mats. A study of the carbohydrate composition of the biomass of microbial mats from four hydrothermal waters of the Baikal region (Alla, Garga, Seya, Umkhei) showed the presence of mannitol (1,93–7,25 mg/g, from the dry weight), uronic acids (1,15–15,85 mg/g) and neutral monosaccharides. The latter were galactose (2,02–56,56 mg/g), glucose (2,00–45,96 mg/g), mannose (4,83–78,86 mg/g), xylose (1,18–10,53 mg/g), fucose (0,23–2,40 mg/g), and arabinose and rhamnose as a trace. It is shown that the mats from the studied hydrothermal waters of the Baikal region characterized by the different ratio of carbohydrate groups and a specific monosaccharide composition. A fraction of water-soluble polysaccharides was isolated from the biomass of the microbial mat of Seya hydrotherm. It was a mixture of seven components with molecular masses from 122 to 1700 kDa. The dominant polymer Se-WSPS-07 with a molecular weight 122 kDa was isolated and preliminarily characterized as a heteropolysaccharide containing galactose, glucose, mannose as dominant monosaccharides, and protein (5,92%). It was found that Se-WSPS-07 possesses biological activity demonstrating its perspective for the further study as a therapeutic agent. The chemical characteristics of the carbohydrate components of microbial mats from the alkaline hydrotherms of the Baikal region were realized for the first time.

Keywords: microbial mats, alkaline hydrotherms, polysaccharides, cyanobacteria, biological activity.

References

1. Solomin G.A., Krainov S.R. *Geokhimiia*, 1998, no. 2, pp.183–201. (in Russ.).
2. Namsaraev Z.B., Gorlenko V.M., Namsaraev B.B., Barkhutova D.D. *Mikrobynye soobshchestva shchelochnykh gidroterm*. [Microbial communities of alkaline fluids]. Novosibirsk, 2006, 111 p. (in Russ.).
3. Chi Z., Fang Y. *J. Ocean Univ. China*, 2005, vol. 4, pp. 67–74.
4. Nicolaus B., Kambourova M., Oner E.T. *Environ. Technol.*, 2010, vol. 31, pp. 1145–1158.
5. Olennikov D.N., Agafonova S.V., Rokhin A.V., Penzina T.A., Borovskii G.B. *Appl. Biochem. Microbiol.*, 2012, vol. 48, pp. 65–70.
6. Gugliandolo C., Spanò A., Maugeri T.L., Poli A., Arena A., Nicolaus B. *Microorganisms*, 2015, vol. 3, pp. 464–483.
7. Kiyoshima A., Kudo K., Nishida N., Ikeda N. *Forensic Sci. Int.*, 2002, vol. 125, pp. 127–133.
8. Usov A.I., Bilan M.I., Klochkova N.G. *Bot. Mar.*, 1995, vol. 38, pp. 43–51.
9. Jackson S.G., McCandless E.L. *Anal. Biochem.*, 1978, vol. 19, pp. 802–808.
10. Maksimov V.I., Rodoman V.E., Maksimova E.V. *Prikladnaia biokhimiia i mikrobiologiya*, 1999, vol. 35, pp. 227–230. (in Russ.).
11. Bradford M.M. *Anal. Biochem.*, 1976, vol. 76, pp. 248–254.
12. Olennikov D.N., Kashchenko N.I., Chirikova N.K., Koryakina L.P., Vladimirov L.N. *Molecules*, 2015, vol. 20, pp. 20014–20030.
13. Olennikov D.N., Rokhin A.V. *Appl. Biochem. Microbiol.*, 2013, vol. 49, pp. 182–187.
14. Olennikov D.N., Tankhaeva L.M., Agafonova S.V. *Appl. Biochem. Microbiol.*, 2011, vol. 47, pp. 419–425.
15. Olennikov D.N., Chirikova N.K., Okhlopova Z.M., Zulfugarov I.S. *Molecules*, 2013, vol. 18, pp. 14105–14121.
16. Olennikov D.N., Kashchenko N.I., Chirikova N.K. *Molecules*, 2014, vol. 19, pp. 18296–18316.
17. Olennikov D.N., Tankhaeva L.M. *Chem. Nat. Comp.*, 2007, vol. 43, pp. 501–507.
18. Saso L., Valentini G., Casini M.L., Grippa E., Gatto M.T., Leone M.G., Silvestrini B. *Arch. Pharm. Res.*, 2001, vol. 24, pp. 150–158.
19. Nicolaus B., Moriello V.S., Lama L., Poli F., Gambacorta A. *Orig. Life Evol. Biosph.*, 2004, vol. 34, pp. 159–169.
20. Shargaeva O.V., Kalashnikov A.M., Tsyrenova D.D. *Vestnik BGU*, 2013, no. 4, pp. 158–161. (in Russ.).
21. Bar-Or Y., Shilo M. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1987, vol. 53, pp. 2226–2230.
22. Nicolaus B., Panico A., Lama L., Romano I., Manca M.C., De Giulio A., Gambacorta A. *Phytochemistry*, 1999, vol. 52, pp. 639–647.
23. Pereira S., Zille A., Micheletti E., Moradas-Ferreira P., De Filippis R., Tamagnini P. *FEMS Microbiol. Rev.*, 2009, vol. 33, pp. 917–941.
24. Mishima T., Murata J., Toyoshima M., Fujii H., Nakajima M., Hayashi T., Kato T., Saiki I. *Clin. Exp. Metast.*, 1998, vol. 16, pp. 541–550.
25. Hayashi K., Hayashi T., Kojima I.A. *AIDS Res. Hum. Retroviruses.*, 1996, vol. 12, pp. 1463–1471.
26. Raposo M.F.J., Morais A.M.M.B., Morais R.M.S.C. *Bioactivity and Application of polysaccharides from marine microalgae / in Polysaccharides*, eds. K.G. Ramawat, J.-M. Merillon. Springer, Switzerland, 2015, pp. 1683–1727.

Received May 11, 2017

Revised October 13, 2017

* Corresponding author.

