

DOI: 10.7868/S3034574X26050102

Оригинальная статья

УДК 579.22

ОЦЕНКА БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА ПРИРОДНЫХ ШТАММОВ *ESCHERICHIA COLI* С ВЫСОКОЙ ЛИЗИНДЕКАРБОКСИЛАЗНОЙ АКТИВНОСТЬЮ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ 1,5-ДИАМИНОПЕНТАНА

А. В. Ахова^{1, *}, В. И. Хабирова¹, М. В. Кузнецова¹, А. Г. Ткаченко¹

¹Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук (ИЭГМ УрО РАН), Пермь, Российская Федерация

*E-mail: akhovan@mail.ru

Аннотация. При создании биокатализатора для конверсии лизина в 1,5-диаминопентан (1,5-ДАП, кадаверин) применяют бактерии с искусственной сверхэкспрессией генов, кодирующих лизиндекарбоксилазы. В работе анализировали способность природных штаммов *Escherichia coli* продуцировать 1,5-ДАП и оценили возможность их использования в составе цельноклеточного биокатализатора конверсии лизина в 1,5-ДАП. Измерена продукция 1,5-ДАП у 70 штаммов *E. coli*, выделенных из разных источников. Обнаружены штаммы, способные со скоростью в 4–5 раз более высокой по сравнению с коллекционным штаммом *E. coli* K12, осуществлять конверсию L-лизина в 1,5-ДАП. Применение культур природных микроорганизмов с плотностью ОП₆₀₀ ≤ 10 обеспечивало скорость накопления 1,5-ДАП и его конечную концентрацию, сравнимые с использованием генно-модифицированных штаммов. Подобран метод иммобилизации бактерий в агар, позволяющий сохранить активность лизиндекарбоксилазы относительно суспензионной культуры, а также при длительном хранении и повторном использовании. В целом, при использовании изученных штаммов в процессе периодического культивирования не удалось достичь максимальных показателей продукции, показанных для генно-модифицированных штаммов, но их способность длительно сохранять активность в суспензионной культуре, а также при иммобилизации делает перспективным их применение в непрерывно-проточном процессе.

Ключевые слова: 1,5-диаминопентан, кадаверин, лизиндекарбоксилаза, цельноклеточный биокатализатор, биополиамид

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда и Пермского края (проект № 25-24-20140).

Соблюдение этических стандартов. Исследования проведены без использования животных и без привлечения людей в качестве испытуемых.

Конфликт интересов. Авторы данной работы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведении исследования и подготовку статьи.

Ссылка цитирования: Ахова А.В., Хабирова В.И., Кузнецова М.В., Ткаченко А.Г. Оценка биотехнологического потенциала природных штаммов *Escherichia coli* с высокой лизиндекарбоксилазной активностью для получения 1,5-диаминопентана. *Прикладная биохимия и микробиология / Applied biochemistry and microbiology*. 2026. Т. 62. № 5. С. 797–808. <https://doi.org/10.7868/S3034574X26050102>

© А. В. Ахова, В. И. Хабирова, М. В. Кузнецова, А. Г. Ткаченко, 2026

Сокращения: 1,5-ДАП – 1,5-диаминопентан; ЛДК – лизиндекарбоксилаза; СБ – сухая биомасса

EVALUATION OF APPLICABILITY OF NATURAL *ESCHERICHIA COLI* STRAINS WITH HIGH LYSINE DECARBOXYLASE ACTIVITY FOR THE BIOTECHNOLOGICAL PRODUCTION OF 1,5-DIAMINOPENTANE

A. V. Akhova^{1,*}, V. I. Khabirova¹, M. V. Kuznetsova¹, A. G. Tkachenko¹

¹*Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of Ural Branch of Russian Academy of Sciences, Perm Federal Research Center of Ural Branch of Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation*

*E-mail: akhovan@mail.ru

Abstract. The most biocatalysts for the process of converting lysine to 1,5-DAP are based on bacteria with artificial overexpression of genes encoding lysine decarboxylase. The aim of the work is to analyze the ability of natural *Escherichia coli* strains to produce 1,5-DAP and to assess the possibility of their use as whole-cell biocatalysts for the conversion of lysine to 1,5-DAP. 1,5-DAP production was measured in 70 *E. coli* strains isolated from various sources. Strains were found that provide 4–5-fold higher rate of L-lysine conversion to 1,5-DAP compared to the *E. coli* K12 strain. The use of cultures of natural strains with a density of $OD_{600} \leq 10$ ensured a level of 1,5-DAP producing rate and its final concentration comparable to the use of genetically modified strains. Further increase in biomass did not lead to an increase in the efficiency of the process. A method for immobilizing bacteria in agar has been developed, which allows keeping lysine decarboxylase activity relative to suspension culture, as well as during long-term storage and reuse. Finally, the using of the studied strains in a batch process did not provide the maximum production rates shown for genetically modified strains, but their ability to maintain activity in suspension culture and after immobilization makes them promising to use as biocatalysts in a flow process.

Keywords: 1,5-diaminopentane, cadaverine, lysine decarboxylase, whole-cell biocatalyst, biopolyamide

Funding. The work was carried out with the financial support of the Russian Science Foundation and Perm Krai (project № 25-24-20140).

Ethics declarations. The studies were conducted without the use of animals and without involving people as test subjects.

Conflict of interests. The authors of this work declare that they have no conflict of interest.

Authors contribution. All authors made a significant contribution to the research and preparation of the article.

For Citation: Akhova A.V., Khabirova V.I., Kuznetsova M.V., Tkachenko A.G. Evaluation of Applicability of Natural *Escherichia coli* Strains with High Lysine Decarboxylase Activity for the Biotechnological Production of 1,5-Diaminopentane. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya / Applied biochemistry and microbiology*. 2026;62(5):797–808. (In Russ.) <https://doi.org/10.7868/S3034574X26050102>

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время большое внимание уделяется теме получения биопластиков — полимерных материалов на основе возобновляемого сырья биологического происхождения [16]. Согласно одному из отчетов общая продукция пластмасс в 2022 г. составила 386 млн. т, из которых 4 млн. т приходится на биопластики, прирост производства которых превышает прирост производства пластиков в целом [17]. Востребованными полимерами с широким спектром применения являются полиамиды, образованные из мономеров, связанных амидными связями. Как и другие полимерные материалы, полиамиды традиционно получают методами химического синтеза из углеводородного сырья. По данным 2018 г. общемировая продукция полиамидов достигла 8.2 млн. т в год, и прогнозировался ее рост до 10.9 млн. т к 2025 г. В 2023 г. объем производства биополиамидов составил 0.352 млн. т, и до 2028 г. прогнозируется ежегодный прирост мирового производства до 29% [17, 5].

Особый интерес представляют биополиамиды на основе 1,5-диаминопентана (1,5-ДАП, кадаверин), для которого пока не разработан эффективный способ химического синтеза из углеводородного сырья. Полиамиды на основе 1,5-ДАП (РА5.Х) благодаря их высокой прочности на разрыв, высокой температуре плавления и устойчивости к растворителям находят применения в различных отраслях промышленности [9, 10]. Путем полимеризации 1,5-ДАП с янтарной кислотой, адипиновой кислотой или себацдиновой кислотой получают полиамиды марки РА5.4, РА5.6 и РА5.10 соответственно. Полиамид 5.6 обладает высокой прочностью и устойчивостью к истиранию и применяется для производства текстильных волокон. Полиамид 5.10 прозрачнее аналогов, получаемых путем нефтехимического синтеза (например, нейлон 6.6), обладает более низкой плотностью и хорошей ударной вязкостью и может найти применение в автомобилестроении, самолетостроении и электротехнике. Кроме того, 1,5-ДАП потенциально может быть использован в сельском хозяйстве, как регулятор созревания плодов и стимулятор урожайности [6].

Среди известных способов получения 1,5-диаминопентана из возобновляемых биологических ресурсов можно перечислить: синтез 1,5-ДАП из пятиуглеродных сахаров (ксилозы) химическим способом; синтез 1,5-ДАП из соединений (метанола, углеводов, метана) в процессах ферментации, осуществляемых целлюлозными биокатализаторами; синтез 1,5-ДАП в результате одностадийного процесса декарбоксилирования L-лизина с применением биокатализаторов. Первый способ сопряжен со всеми сложностями и рисками, присущими методам органического синтеза, в частности: многостадийность процесса, необходимость

применения металлов в качестве катализаторов, образование токсичного промежуточного продукта фурфурала. Преимущество второго способа заключается в использовании простых и разнообразных субстратов, в том числе промышленных отходов, но выход целевого продукта при этом способе получения ниже по сравнению с двумя другими. Третий способ является наиболее простым, а доступность и невысокая цена лизина, используемого в качестве субстрата, делает его экономически выгодным [4, 5, 6, 10].

Основное внимание в современных исследованиях процессов биотехнологического синтеза 1,5-диаминопентана уделяется разработке целлюлозных биокатализаторов. Для создания биокатализатора и проведения биоконверсии лизина в 1,5-ДАП применяют генно-инженерные конструкции, обеспечивающие сверхэкспрессию гена, кодирующего фермент лизиндекарбоксилазу (ЛДК, ЕС 4.1.1.18). Существует две основные изоформы лизиндекарбоксилазы: индуцибельная изоформа, наиболее активная при низких значениях pH среды, и конститутивная изоформа, активная в широком диапазоне значений pH, но оптимальным для фермента являются близкие к нейтральным значения [12]. У *Escherichia coli* конститутивная изоформа лизиндекарбоксилазы кодируется геном *ldcC*, индуцибельная — геном *cadA*. Искусственную сверхэкспрессию осуществляют либо за счет помещения гена, кодирующего лизиндекарбоксилазу, под контроль сильного промотора, что обеспечивает конститутивную сверхэкспрессию, либо под контроль индуцируемого промотора, в частности, в составе плазмид pET и pKE в клетках *Escherichia coli* [8, 14–15, 18]. Микроорганизмы дополнительно подвергаются генетической модификации, направленной на повышение эффективности транспорта лизина и 1,5-ДАП через клеточную оболочку или синтеза кофактора лизиндекарбоксилазы — пиримидоксальфосфата [8, 11, 19].

Следует отметить, что в большей части известных исследований биокатализаторы созданы на основе небольшого количества лабораторных штаммов, не обладавших повышенным уровнем синтеза кадаверина или сверхактивными и устойчивыми лизиндекарбоксилазами. Можно предположить, что природные микроорганизмы характеризуются большим разнообразием и, соответственно, могут обладать более высоким синтетическим потенциалом, имея естественно сформировавшиеся стабильные генные комплексы, обеспечивающие сверхпродукцию целевого вещества, а изоформы лизиндекарбоксилазы могут обладать повышенной активностью и устойчивостью.

Цель работы — анализ способности природных изолятов *Escherichia coli* продуцировать 1,5-диаминопентан и оценка возможности их использования в качестве целлюлозных биокатализаторов в

одностадийном процессе биоконверсии лизина в 1,5-диаминопентан.

МЕТОДИКА

Объекты исследования и условия культивирования

Объектами исследования стали 70 природных штаммов *Escherichia coli* из коллекции лаборатории молекулярной биотехнологии ИЭГМ УрО РАН. Культуры были выделены в 2016-2018 гг. от сельскохозяйственных животных в фермерских хозяйствах Пермского края: от кур ($n=38$), коров ($n=17$), кроликов ($n=5$), свиней ($n=4$) и перепелов ($n=6$). В качестве референсного штамма использовали штамм *E. coli* K12, полученный из Всероссийской коллекции микроорганизмов (ВКМ).

Для получения инокулята микроорганизмы, сохраняемые в полужидком агаре LB, переносили в бульон LB и культивировали в течение 19-20 ч без перемешивания при 37°C.

При первичном скрининге по 20 мкл инокулята вносили в лунки микропланшета, содержащие 180 мкл минимальной среды М9 с добавлением 0.4% глюкозы и 1 г/л L-лизина гидрохлорида и инкубировали в течение 24 ч без перемешивания при 37°C или 20 мкл инокулята вносили в 3 мл бульона LB и инкубировали в течение 24 ч при 37°C и перемешивании со скоростью 120 об./мин.

В экспериментах по изучению биоконверсии лизина в 1,5-ДАП инокулят с определенной оптической плотностью вносили в 1 мл питательной среды в микропробирках или 5 мл питательной среды в пробирках или пенициллиновых флаконах с ватно-марлевыми пробками с добавкой L-лизина гидрохлорида и культивировали при 37°C. Для получения культур с высокой плотностью инокулят выращивали в 50-100 мл бульона LB в колбах Эрленмейера объемом 250 мл в течение 19-20 ч при 37°C с перемешиванием (200 об./мин) в термостатируемом шейкере (1092, «GFL», Германия). Для концентрирования клетки осаждали центрифугированием (45 мл культуры, 3700 г, 20 мин), полученный осадок ресуспендировали в необходимом объеме свежей среды. Процесс биоконверсии с использованием культур с высокой плотностью осуществляли в условиях интенсивного перемешивания. В частности, *E. coli* N82 культивировали в 1 мл среды М9 ($pH=4$) в микропробирках со скоростью перемешивания 800 об./мин (TTS2, «IKA», США), *E. coli* N16 культивировали в 5 мл среды М9 ($pH=4$) в пенициллиновых флаконах со скоростью перемешивания 180 об./мин (1092, «GFL», Германия).

Измерение плотности культуры

Измерение оптической плотности (OP_{600}) культуры проводили с использованием спектрофото-

метра UV-1280 («Shimadzu», Япония) и микропланшетного ридера Feyond-A400 («Allsheng», Китай). Образцы с высокой плотностью предварительно разбавляли необходимым объемом физраствора для получения суспензии клеток с оптической плотностью в интервале от 0.1 до 0.4 ед. Расчет значений сухой биомассы (СБ) производили с использованием предварительно построенных калибровочных кривых зависимости СБ от оптической плотности культуры (OP_{600}).

Определение количества колониеобразующих единиц (КОЕ)

Для подсчета клеток готовили последовательные десятикратные разведения культуры в физиологическом растворе и 10 мкл каждой суспензии наносили на поверхность агара LB в чашках Петри. Чашки инкубировали при 37°C и через 18-20 ч производили подсчет сформировавшихся колоний.

Определение лизиндекарбоксилазной активности бактерий

Для определения лизиндекарбоксилазной активности микроорганизмы культивировали в селективной среде — декарбоксилазном бульоне (ДК-бульон) с добавкой и без добавки 20 г/л L-лизина гидрохлорида. 20 мкл инокулята вносили в лунки микропланшета, содержащие 180 мкл среды, и инкубировали при 37°C в течение 8 ч без перемешивания. Наличие лизиндекарбоксилазной активности оценивали визуально по изменению цвета среды культивирования с желтого на синий.

Измерение концентрации 1,5-диаминопентана в среде

По окончании культивирования 120-200 мкл культуры переносили в микропробирки и центрифугировали (16000 g, 5 мин) (5415D, «Eppendorf», Германия). Затем 100 мкл надосадочной жидкости переносили в микропробирки, содержащие 10 мкл 4 н. $HClO_4$, и замораживали. Количественный анализ 1,5-диаминопентана проводили методом тонкослойной хроматографии после предварительной дериватизации дансилхлоридом [1].

Иммобилизация бактерий в агар и условия реакции биоконверсии

Микроорганизмы, сохраняемые в полужидком агаре LB, переносили в 50-100 мл бульона LB в колбах Эрленмейера объемом 250 мл, культивировали в течение 19-20 ч при 37°C с перемешиванием (200 об./мин) в термостатируемом шейкере (1092, «GFL», Германия) и измеряли OP_{600} полученной суспензии. Для концентрирования клетки осаждали центрифугированием (45 мл культуры, 3700 г, 20 мин), полученный осадок ресуспендировали в необходимом объеме свежей среды или физраствора. Проводили контрольное измерение OP культуры и

рассчитывали концентрацию биомассы. Затем 2 мл концентрированной суспензии клеток смешивали с 18 мл агара (итоговая концентрация агара в смеси — 1.5%), тщательно перемешивали и заливали по 20 мл смеси в чашку Петри диаметром 9 см, что позволило получить слой агара толщиной примерно 4 мм. Застывший агар стерильным скальпелем разрезали на кубики размером примерно 4×4×4 мм, используя разлинованную подложку с нанесенными квадратами 4×4 мм в качестве шаблона. Этот способ получения иммобилизованных клеток являлся основным. Также в ходе работы были опробованы другие способы получения агаровых гранул, описание которых представлено в разделе Результаты. Полученные гранулы промывали физраствором и помещали в пенициллиновые флаконы, содержащие 5 мл среды М9 с добавкой 1 г/л L-лизина гидрохлорида, предварительно измерив суммарную массу гранул, помещаемых в каждый флакон. Реакционную смесь инкубировали при 37°С и скорости перемешивания 200 об./мин и проводили отбор проб для определения концентрации 1,5-ДАП в среде, как описано выше.

Детекция генов вирулентности

Детекцию генов токсинов (*hlyA*, *hlyF*, *east1/astA*, *ehxA*, *estI/estA*, *estII/estB*, *eltA*, *stx1*, *stx2*, *cnfI*), а также прочих генов, ассоциированных с вирулентностью (*papC*, *afa/draBC*, *iha*, *flu*, *ompT*, *kpsMTII*, *iss*, *iroN*, *iutA*), осуществляли в ПЦР по конечной точке с использованием праймеров и режимов амплификации, согласно рекомендациям в работах [3, 13].

Статистический анализ

Статистический анализ проведен с использованием пакета программ Statistica 6.0 («Statsoft Inc.», США). На рисунках, в таблицах и тексте представлены значения среднего и стандартного отклонения, рассчитанных на основе данных не менее трех независимых экспериментов. Для оценки статистической значимости различий средних двух групп использован непарный t-критерий. Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение способности природных изолятов *E. coli* продуцировать 1,5-диаминопентан

На предварительном этапе проанализирована способность природных изолятов *E. coli* продуцировать 1,5-диаминопентан (1,5-ДАП) за счет декарбоксилирования лизина. Для этого проведена качественная оценка наличия лизиндекарбоксилазной активности при культивировании бактерий в ДК-бульоне и количественный анализ продукции 1,5-ДАП при культивировании в бульоне LB или минимальной среде М9 с добавкой 0.4% глюкозы и 0.8 г/л лизина. Культивирование в глюкозо-мине-

ральной среде с добавкой аминокислоты-предшественника способствовало проявлению активности индуцибельной формы лизиндекарбоксилазы, культивирование в бульоне — конститутивной изоформы фермента. Для ранжирования природных штаммов их способность продуцировать 1,5-ДАП сравнили с биосинтетической активностью коллекционного штамма *E. coli* K12, лизиндекарбоксилазы которого послужили основой для разработки ранее созданных биокатализаторов конверсии лизина в 1,5-ДАП [8, 11, 15, 19].

Первичный скрининг показал, что один штамм бактерий (1.4%) не был способен синтезировать 1,5-ДАП, а четыре культуры (5.7%) не проявляли лизиндекарбоксилазную активность при культивировании в ДК-бульоне — селективной среде, позволяющей выявить активность, главным образом, индуцибельной лизиндекарбоксилазы. Наличие способности продуцировать кадаверин на фоне отсутствия лизиндекарбоксилазной активности можно объяснить тем, что при культивировании в ДК-бульоне происходило закисление среды, что приводило к ингибированию конститутивной изоформы фермента, активность которой проявлялась при культивировании в среде LB.

При культивировании в бульоне LB 21.4% изолятов демонстрировали в 1.5 раза более высокую способность синтезировать 1,5-ДАП. Наиболее продуктивные культуры накапливали в среде в 10–15 раз больше диамина по сравнению со штаммом *E. coli* K12. В минимальной среде с добавкой аминокислоты-предшественника 23.9% природных микроорганизмов продуцировали в 1.5 раза больше 1,5-ДАП по сравнению с коллекционным штаммом (максимальный показатель составил 2–2.5 раза). Можно отметить, что среди природных микроорганизмов также встречались культуры с пониженным уровнем продукции 1,5-ДАП. При культивировании в бульоне LB 14% природных изолятов характеризовались в 1.5 раза более низкой продукцией 1,5-ДАП, при культивировании в минимальной среде М9 с добавкой аминокислоты-предшественника — 39% от общего числа культур.

На основе результатов скрининга отобраны перспективные культуры, характеризующиеся наиболее высокой продукцией 1,5-ДАП: изолят N16 превосходил другие изоляты при культивировании в среде М9 с добавкой лизина, изолят N82 продуцировал большие количества 1,5-ДАП как в среде М9, так и в бульоне.

Ввиду потенциального биотехнологического применения важно оценить безопасность используемых штаммов-продуцентов. Молекулярно-генетический анализ штаммов N16 и N82 показал, что они не несут детектированных генов основных токсинов (*hlyA*, *stx1*, *stx2*, *cnfI* и др.), а также генов, ассоциированных с адгезией, инвазией и устойчивостью к сыворотке (*papC*, *afa/draBC*, *iutA*, *iss* и др.)

(см. «Методика»). Оба штамма не проявляли гемолитической активности. Таким образом, отобранные изоляты можно классифицировать как потенциально пригодные для использования в биотехнологических процессах.

Применение природных изолятов E. coli в качестве целноклеточных биокатализаторов процесса биоконверсии L-лизина в 1,5-диаминопентан

На следующем этапе проведен подбор среды культивирования, наиболее подходящей для процесса биоконверсии лизина в 1,5-ДАП с применением выделенных культур. В частности, реакцию биоконверсии проводили в 5 мл бульона LB, минимальной среды M9 или физраствора, которые имели pH=4 или pH=7, а также содержали или не содержали 0.4% глюкозы в качестве источника углерода и энергии. В качестве субстрата вносили 0.8 г/л L-лизина, начальная плотность культуры составляла $OD_{600}=1$. Оптимальной средой для протекания реакции биоконверсии при участии природных штаммов явилась среда M9 с pH=4 (рис. 1, 2). Штаммы N16 и N82 накапливали в среде 1,5-ДАП в концентрации до 5 мМ со скоростью продукции 3.7 ± 0.8 и 3.2 ± 0.8 ммоль/г сухой биомассы/ч соответственно, в то время как штамм K12 – около 2 мМ 1,5-ДАП со скоростью продукции 0.78 ± 0.5 ммоль/г сухой биомассы/ч.

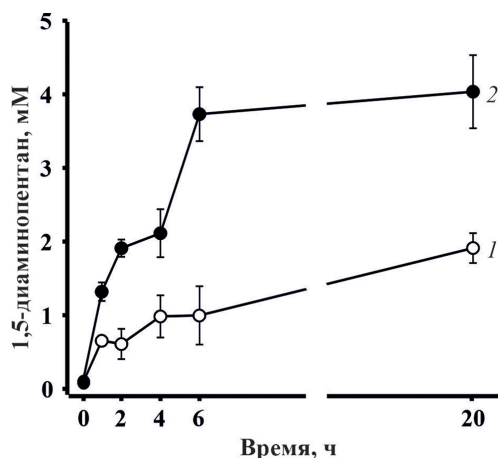


Рис. 1. Продукция 1,5-диаминопентана клетками *E. coli* при культивировании в среде M9 (pH 4) с добавлением 1 г/л L-лизина гидрохлорида ($OD_{600} \approx 1$). 1 – *E. coli* K12, 2 – *E. coli* N16

Fig. 1. Production of 1,5-diaminopentane by *E. coli* cells cultivated in M9 medium (pH 4) with the addition of 1 g/l L-lysine hydrochloride ($OD_{600} \approx 1$). 1 – *E. coli* K12, 2 – *E. coli* N16

Наблюдалась прямая зависимость скорости накопления 1,5-ДАП в среде от количества биомассы в интервале 0.3–3.0 г/л ($OD_{600} \approx 1$ –10) и концентрации L-лизина. Максимальная скорость биоконверсии отмечена в реакционной смеси, где

соотношение биомассы к субстрату 1:2 и выше (в г/л). Однако в условиях периодического культивирования с исходной концентрацией СБ=0.3 г/л полноты конверсии субстрата удавалось достичь только при его низких концентрациях, по-видимому, вследствие ингибирования процесса в результате накопления продукта реакции (табл. 1).

Таблица 1. Влияние начальной концентрации субстрата на эффективность конверсии L-лизина в 1,5-диаминопентан штаммом *E. coli* N16

Table 1. Effect of initial substrate concentration on the efficiency of L-lysine conversion to 1,5-diaminopentane by *E. coli* strain N16

L-лизин, г/л	Скорость конверсии, %	Конверсия субстрата, %			
		2 ч	6 ч	24 ч	
0.80	100	28.7±2.9	62.1±20.1	68.2±3.6	
0.24	37.2±14.0*	63.5±20.7	59.6±38.9	86.1±27.6	
0.08	6.8±3.5* **	20.9±12.2	86.7±28.4	41.6±14.7	

*Статистически значимое отличие от «0.80 г/л», **статистически значимое отличие от «0.24 г/л» (статистический анализ проведен только для показателей скорости конверсии). $OD_{600} \approx 1$

*Statistically significant difference from the «0.8 г/л», **statistically significant difference from the «0.24 г/л» (statistical analysis was performed only for conversion rates). $OD_{600} \approx 1$

Для сравнения потенциала выделенных микроорганизмов с известными штаммами с искусственной сверхэкспрессией генов была проведена оценка их лизиндекарбоксилазной активности в условиях, приближенных к описанным в статьях [7, 8, 14, 19]. Как правило, в таких исследованиях используют бактериальные культуры с высокой плотностью биомассы ($OD_{600} \geq 10$) и большие количества субстрата (≥ 50 г/л). Была измерена продукция кадаверина бактериальными культурами с ОП примерно равной 10 и 50 в среде с добавкой лизина гидрохлорида в концентрации 50–150 г/л в условиях интенсивного перемешивания (рис. 2, 3).

При использовании культуры *E. coli* N16 в качестве биокатализатора максимальная концентрация продукта составила 20 мМ ($OD_{600} \approx 10$, 150 г/л лизина гидрохлорида), при использовании *E. coli* N82 – около 50 мМ ($OD_{600} \approx 10$, 150 г/л лизина гидрохлорида/ОП₆₀₀ ≈ 50 , 50 г/л лизина гидрохлорида). Эффект увеличения плотности бактериальной культуры на скорость протекания процесса биоконверсии зависел от конкретного микроорганизма. В случае *E. coli* N82 скорость биоконверсии значительно возрастала при увеличении плотности культуры до $OD_{600} \approx 10$, а концентрация продукта достигала максимума в течение 2–4 ч. На первых этапах культивирования *E. coli* N16 скорость биоконверсии

для культур с плотностью в интервале $OP_{600}=1-50$ была примерно одинакова, зависимость от плотности увеличение эффективности процесса биоконверсии наблюдалось после 4 ч культивирования. Увеличение плотности бактериальной культуры до $OP_{600} \approx 50$ не оказывало положительного влияния на скорость и продуктивность процесса биоконверсии с использованием обоих изолятов. Это можно связать с ухудшением массообмена в более плотной культуре. При использовании культуры с плотностью $OP_{600} \approx 10$ наблюдалась прямая зависимость эффективности процесса биоконверсии от концентрации субстрата.

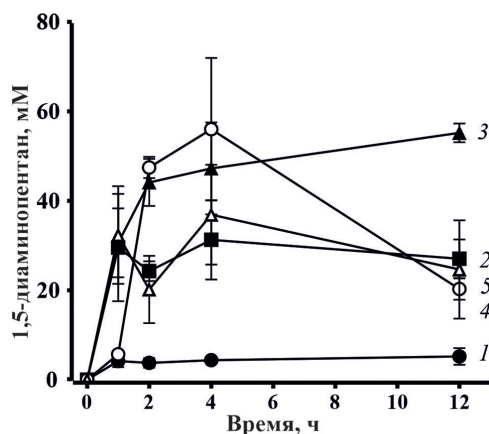


Рис. 2. Продукция 1,5-диаминопентана клетками *E. coli* N82 в зависимости от концентрации субстрата и плотности культуры: 1 – $OP_{600}=10.6$, 1 г/л L-лизина гидрохлорида; 2 – $OP_{600}=10.6$, 50 г/л L-лизина гидрохлорида; 3 – $OP_{600}=10.6$, 150 г/л L-лизина гидрохлорида; 4 – $OP_{600}=40.3$, 50 г/л L-лизина гидрохлорида; 5 – $OP_{600}=40.3$, 150 г/л L-лизина гидрохлорида

Fig. 2. Production of 1,5-diaminopentane by *E. coli* N82 cells depending on substrate concentration and culture density: 1 – $OD_{600}=10.6$, 1 g/l L-lysine hydrochloride; 2 – $OD_{600}=10.6$, 50 g/l L-lysine hydrochloride; 3 – $OD_{600}=10.6$, 150 g/l L-lysine hydrochloride; 4 – $OD_{600}=40.3$, 50 g/l L-lysine hydrochloride; 5 – $OD_{600}=40.3$, 150 g/l L-lysine hydrochloride

Поскольку существенное накопление продукта реакции при использовании клеток *E. coli* N16 в качестве биокатализатора наблюдалось спустя 4 ч от начала культивирования, была проведена оценка влияния добавления источника углерода и энергии (глюкозы) в среду на процесс биоконверсии. Кроме того, проведено исследование влияния режима дробного внесения субстрата (лизина) на эффективность биоконверсии. В этих экспериментах лизин вносился однократно в концентрации 100 г/л или дробно по 25 г/л в 0, 2, 4 и 8 ч после начала реакции биоконверсии. Также в культуру добавляли

0.4% глюкозы на 0, 2, 4 и 8 ч культивирования или не добавляли (табл. 2).

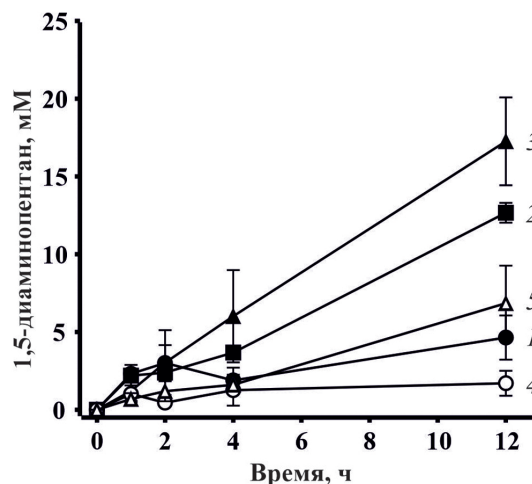


Рис. 3. Продукция 1,5-диаминопентана клетками *E. coli* N16 в зависимости от концентрации субстрата и плотности культуры: 1 – $OP_{600}=8.3$, 50 г/л L-лизина гидрохлорида; 2 – $OP_{600}=8.3$, 100 г/л L-лизина гидрохлорида; 3 – $OP_{600}=8.3$, 150 г/л L-лизина гидрохлорида; 4 – $OP_{600}=40.1$, 50 г/л L-лизина гидрохлорида; 5 – $OP_{600}=40.1$, 150 г/л L-лизина гидрохлорида

Fig. 3. Production of 1,5-diaminopentane by *E. coli* N16 cells depending on substrate concentration and culture density: 1 – $OD_{600}=8.3$, 50 g/l L-lysine hydrochloride; 2 – $OD_{600}=8.3$, 100 g/l L-lysine hydrochloride; 3 – $OD_{600}=8.3$, 150 g/l L-lysine hydrochloride; 4 – $OD_{600}=40.1$, 50 g/l L-lysine hydrochloride; 5 – $OD_{600}=40.1$, 150 g/l L-lysine hydrochloride

Установлено, что дробный режим внесения субстрата не оказывал влияния на накопление продукта реакции. С другой стороны, подпитка культуры источником углерода и энергии позволила получить 1,5-ДАП в концентрации более 100 мМ.

В целом, в сходных условиях культивирования природные изоляты продуцировали 1,5-ДАП в концентрациях, сопоставимых с продукцией генно-модифицированных штаммов со сверхэкспрессией гена, кодирующего лизиндекарбоксилазу. Например, биоконверсия лизина культурой *E. coli* со сверхэкспрессией гена *ldcC* (*E. coli* pKE_ldcC, $OP_{600}=10$, 50 г/л лизин)/(*E. coli* pET_ldcC_pdxY, $OP_{600}=10$, 160 г/л лизин, 0.1 мМ пиридоксальфосфат) обеспечивала накопление 300 мМ 1,5-ДАП в среде культивирования [7, 14]. Применение клеток *E. coli* со сверхэкспрессией гена *cadA* (*E. coli* pSIT_cadA, $OP_{600}=10$, 180 г/л лизин) обеспечивало продукцию ~230 мМ 1,5-ДАП [19]. Более высоких показателей продукции 1,5-ДАП в процессе биоконверсии лизина удавалось достичь за счет увеличения плотности бактериальной культуры [8, 19].

Увеличение концентрации биомассы природных изолятов в реакционной среде не оказывало положительного влияния на эффективность процесса биоконверсии (рис. 2, 3).

Таблица 2. Влияние режима дозирования субстрата и добавки глюкозы в среду на эффективность процесса биоконверсии L-лизина гидрохлорида в 1,5-диаминопентан штаммом *E. coli* N16

Table 2. The effect of substrate dosing regimen and glucose addition to the medium on the efficiency of the bioconversion process of L-lysine hydrochloride to 1,5-diaminopentane by *E. coli* strain N16

Условия культивирования			1,5-диаминопентан, мМ
№	L-лизин-НCl, г/л	Глюкоза (0.4%)	
1	100	-	12.7±1.1
2	25×4	-	13.5±2.5
3	100	+	92.6±6.2* **
4	25×4	+	137.8±37.5* **

*Статистически значимое отличие от условий культивирования № 1, **статистически значимое отличие от условий культивирования № 2. $OD_{600}=7.6$, $T=24$ ч

*Statistically significant difference from the № 1, **statistically significant difference from the № 2. $OD_{600}=7.6$, $T=24$ h

Влияние иммобилизации на стабильность и лизиндекарбоксилазную активность цельноклеточных биокатализаторов на основе природных изолятов *E. coli*

На предварительном этапе опробованы разные методы иммобилизации бактериальных клеток в агаровый носитель и проведено сравнение лизиндекарбоксилазной активности полученных биокатализаторов. Оптимальным оказался метод получения кубических гранул при смешивании в чашке Петри агара и предварительно сконцентрированной центрифугированием бактериальной культуры с последующим затвердеванием нарезанием на кубики размером 4×4 мм (рис. 4а). Скорость биоконверсии L-лизина в 1,5-ДАП иммобилизованными клетками *E. coli* N16 – 3.1 ± 0.1 ммоль/г сухой биомассы/ч. Альтернативные методы иммобилизации – формирование биокатализатора в лунках 96-луночного микропланшета с последующим разрезанием агаровых гранул на две половины и капание суспензии клеток в агаре в холодный концентрированный раствор KCl, оказались либо менее эффективными (снижение активности), либо технологически менее удобными в результате получения аморфных волокон вместо гранул (рис. 4 б, в).

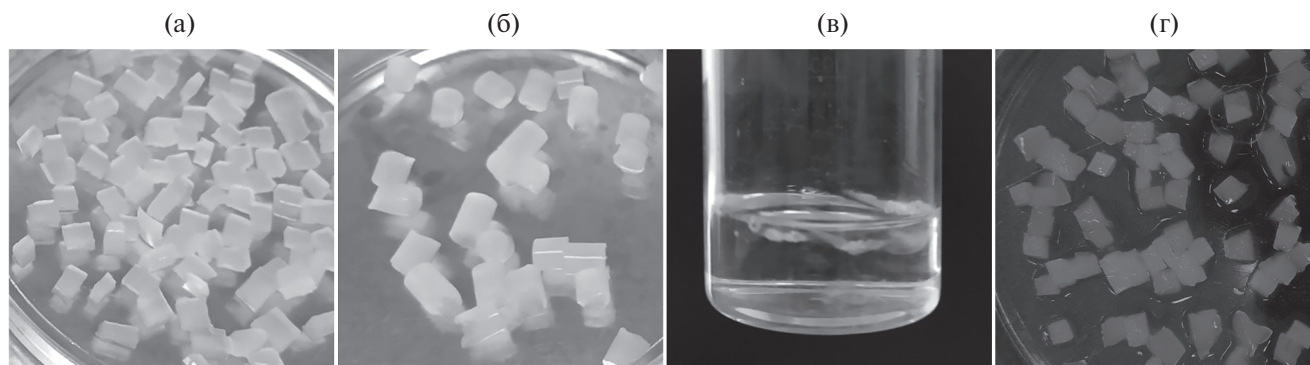


Рис. 4. Иммобилизация клеток *E. coli* N16 в агар. а – гранулы, полученные путем заливки суспензии клеток в агаре в чашку Петри и разрезания на кубики после застывания; б – гранулы, полученные после заливки суспензии клеток в 96-луночный планшет и разрезания на две половины после застывания; в – аморфные волокна агарового носителя, полученные в результате капания суспензии клеток в агаре в холодный раствор KCl; г – гранулы, полученные основным методом (а), после 9 сут использования

Fig. 4. Immobilization of *E. coli* N16 cells in agar. а – granules obtained by pouring the cell suspension in agar into a Petri dish and cutting into cubes after solidification; б – granules obtained after pouring the cell suspension into a 96-well plate and cutting into two halves after solidification; в – amorphous fibers of the agar carrier obtained by dropping the cell suspension in agar into a cold KCl solution; г – granules obtained by the main method (а), after 9 days of use

На следующем этапе исследования изучали влияние иммобилизации и добавления в среду источника углерода и энергии (глюкозы) на сохранение лизиндекарбоксилазной активности (по накоплению продукта реакции) при повторном использо-

вании биокатализаторов (табл. 3). Для повторного использования клеток планктонной культуры в качестве биокатализатора после окончания двухчасового цикла их осаждали центрифугированием и переносили в свежую среду с субстратом. В целом,

иммобилизованные клетки дольше сохраняли свою активность по сравнению с клетками планктонной культуры. Добавка в среду глюкозы способствовала поддержанию активности суспензионной культуры в результате компенсации потерь биомассы, сопровождающих осаждение центрифугированием, за счет роста. Наличие в среде источника углерода и энергии обеспечивало повышение скорости биоконверсии иммобилизованными клетками относительно первого цикла биокатализа. Изменение

количества КОЕ по окончании цикла согласуется с изменением биомассы биокатализатора и подтверждает сохранение жизнеспособности и целостности клеток. В частности, после четырех последовательных циклов количество КОЕ в суспензии без добавления глюкозы равнялось $2.8 \pm 1.5 \times 10^8$ КОЕ/мл, с добавлением глюкозы — $2.0 \pm 0.6 \times 10^9$ КОЕ/мл (начальное количество КОЕ при первой загрузке — $8.1 \pm 2.4 \times 10^8$ и $8.3 \pm 2.0 \times 10^8$ соответственно, среднее $\pm$ стандартное отклонение при $n=3$).

Таблица 3. Сохранение лизиндекарбоксилазной активности и биомассы штамма *E. coli* N16 при повторном использовании

Table 3. Maintenance of lysine decarboxylase activity and biomass of *E. coli* strain N16 upon repeated use

n цикла	Лизиндекарбоксилазная активность, %				Сухая биомасса, г/л	
	планктонная культура		иммобилизованные клетки		планктонная культура	
	M9	M9+0.4% глюкоза	M9	M9+0.4% глюкоза	M9	M9+0.4% глюкоза
1	100	100	100	100	0.32 ± 0.02	0.38 ± 0.01
2	95.8 ± 8.7	104.8 ± 9.9	100.5 ± 5.3	$153.9 \pm 21.0^{1*}$	$0.26 \pm 0.01^{1*}$	0.36 ± 0.01
3	$63.3 \pm 2.9^{1,2*}$	100.9 ± 2.2	91.1 ± 3.8	$135.7 \pm 16.8^{1*}$	$0.23 \pm 0.01^{1*}$	0.36 ± 0.01
4	$41.4 \pm 2.9^{1,2,3*}$	99.6 ± 7.5	102.3 ± 5.6	$146.2 \pm 7.4^{1*}$	$0.19 \pm 0.01^{1,2,3*}$	0.38 ± 0.03

Продолжительность цикла — 2 ч. Активность планктонной культуры рассчитана с учетом концентрации биомассы. Биомасса иммобилизованных клеток в реакционной смеси — 0.23 г/л. ** — статистически значимое отличие от показателей активности после n цикла

The cycle duration is 2 hours. The activity of the planktonic culture is calculated taking into account the biomass concentration. The biomass of immobilized cells in the reaction mixture is 0.23 g/l. ** — statistically significant difference from the activity values after the nth cycle.

Визуальная оценка и взвешивание общей массы иммобилизованного биокатализатора показало, что существенного разрушения агаровых гранул при использовании в описанном режиме в течение 9 сут не происходило (рис. 4г).

Далее была проведена оценка потери активности биокатализатора при хранении. Первоначально проведено сравнение влияния температурных условий хранения (табл. 4). Установлено, что хранение при -20°C и $+4^\circ\text{C}$ в течение 7 сут приводило к одинаковой потере активности. В то же время

показано, что замороженные гранулы биокатализатора для проявления максимальной активности нуждались в преинкубации, которая заключалась в выдерживании иммобилизованных клеток в реакционной смеси при 37°C 30 мин до внесения субстрата.

В условиях хранения при $+4^\circ\text{C}$ обнаружена прямая зависимость между сохранением биокаталитической активности и концентрацией иммобилизованных клеток (табл. 5).

Таблица 4. Влияние температуры хранения на активность иммобилизованных клеток *E. coli* N16

Table 4. Effect of storage temperature on the residual activity of immobilized *E. coli* N16 cells

Температура, $^\circ\text{C}$	Лизиндекарбоксилазная активность, %	
	без преинкубации	с преинкубацией
-20	34.5 ± 5.1	$58.5 \pm 6.0^*$
+4	$61.0 \pm 7.1^{**}$	66.2 ± 8.8

Сухая биомасса в агаре — 0.6 г/л. 100% — активность в 1 сут эксперимента. *статистически значимое различие между постановкой реакции с преинкубацией и без; **статистически значимое отличие от активности биокатализатора, хранившегося при -20°C

Dry biomass in agar — 0.6 g/l. 100% — activity on the first day of the experiment. *statistically significant difference between the reaction with and without preincubation; **statistically significant difference from the activity of the biocatalyst stored at -20°C

Таблица 5. Влияние концентрации иммобилизованных клеток на сохранение лизиндекарбоксилазной активности биокатализатора в процессе хранения**Table 5.** The influence of the concentration of immobilized cells on the maintenance of lysine decarboxylase activity of the biocatalyst during storage

Сухая биомасса в агаре, г/л	Лизиндекарбоксилазная активность, %		
	7 сут	30 сут	6 мес
0.3	53.5±3.6*	23.6±1.2* **	-
0.6	66.2±8.8*	-	-
1.5	79.1±5.3	89.3±9.1	-
3.0	87.5±7.6	104.5±11.9	39.9±4.5* **

100% — активность в первый день эксперимента. Хранение при +4°C. *статистически значимое отличие от активности в первый день эксперимента; **статистически значимое отличие от показателей активности после 7 дней хранения

100% — activity on the first day of the experiment. Storage at +4°C. *statistically significant difference from activity on the first day of the experiment; **statistically significant difference from activity after 7 days of storage.

Ранее было проведено исследование сохранения лизиндекарбоксилазной активности клеток генно-модифицированного штамма с индуцируемой сверхэкспрессией гена *cadA* при иммобилизации в альгинат кальция или бария [2]. Показано, что скорость биоконверсии с применением иммобилизованных клеток снижалась по сравнению со свободными клетками: на 45% и 23% при иммобилизации в альгинат кальция и альгинат бария соответственно. Иммобилизация клеток в агар, также приводила к снижению скорости декарбоксилирования лизина (на 16%). Как показано в работе [2], свободные клетки с индуцированной сверхэкспрессией теряли почти 60% лизиндекарбоксилазной активности после второго цикла использования (время цикла — 1 ч, раствор ацетата натрия с добавкой 0.1 мМ пиридоксальфосфата, 1 М лизин). Снижение эффективности биоконверсии при использовании природных изолятов, которое наблюдалось после трех двухчасовых циклов, было связано с потерей биомассы при отмывке клеток и компенсировалось добавкой в среду источника углерода и энергии. Клетки генно-модифицированного штамма, иммобилизованные в альгинат бария, и клетки исследованного в настоящей работе иммобилизованного в агар природного изолята полностью сохраняли свою активность после четырех последовательных циклов биоконверсии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, выявлены природные изоляты *E. coli*, показавшие в 4–5 раз более высокую скорость конверсии L-лизина в 1,5-ДАП по сравнению с известным лабораторным штаммом *E. coli* K12. Применение культур природных микроорганизмов с плотностью ОП₆₀₀ ≤ 10 (сухая биомасса ≤ 3 г/л) в качестве биокатализаторов процесса биоконверсии

L-лизина в 1,5-диаминопентан обеспечивало скорость накопления продукта реакции и его конечную концентрацию, сравнимые с использованием генно-модифицированных штаммов с искусственной сверхэкспрессией генов, кодирующих лизиндекарбоксилазы. Природные микроорганизмы для проявления лизиндекарбоксилазной активности не нуждались в добавлении в среду специфических индукторов (изопропил-β-D-тиогалактопиранозид) и пиридоксальфосфата в отличие от большинства генно-модифицированных штаммов. Однако дальнейшее увеличение концентрации биомассы в реакционной смеси не приводило к повышению скорости накопления продукта и его конечной концентрации, как это показано для микроорганизмов с искусственно индуцированной сверхэкспрессией. В результате достичь максимальных показателей продукции 1,5-ДАП, ранее продемонстрированных для процессов с использованием генно-модифицированных штаммов, с применением природных микроорганизмов не удалось. В частности, максимальная концентрация 1,5-диаминопентана, полученного в периодическом процессе, составила 2.16 М (*E. coli* pETDuet_pelB_CadB_CadA, обеспечивающий сверхэкспрессию генов, кодирующих лизиндекарбоксилазу и антипортер лизин/кадаверин, 8 г/л сухой биомассы, пиридоксальфосфат, натрий-цитратный буфер, 150 г/л + 150 г/л лизина) [11]. Тем не менее, природные микроорганизмы лучше сохраняли лизиндекарбоксилазную активность в суспензионной культуре при повторном использовании по сравнению с клетками с искусственно индуцированной сверхэкспрессией. Клетки природных микроорганизмов почти не теряли лизиндекарбоксилазную активность при иммобилизации в агар, при этом иммобилизованные клетки сохраняли активность при повторном ис-

пользовании и длительном хранении. Замедление процесса конверсии лизина в 1,5-ДАП при участии природных микроорганизмов, по-видимому, связано с ингибированием активности ферментов по мере накопления продукта реакции, поскольку при переносе клеток в свежую среду их лизиндекарбоксилазная активность сохранялась. Природные штаммы могут быть использованы в качестве био-

катализаторов процесса трансформации лизина в 1,5-ДАП в режиме проточного культивирования. Кроме того, природные микроорганизмы могут послужить источником лизиндекарбоксилаз с улучшенными свойствами, а кодирующие их гены могут быть использованы для создания сверхэкспрессионных конструкций.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Akhova A.V., Tkachenko A.G. Cadaverine biosynthesis in *Escherichia coli* adaptation to hydrogen peroxide // Appl. Biochem. Microbiol. 2022. V. 58. P. 582–589. <https://doi.org/10.1134/S0003683822050039>
2. Bhatia S.K., Kim Y.H., Kim H.J. et al. Biotransformation of lysine into cadaverine using barium alginate-immobilized *Escherichia coli* overexpressing CadA // Bioprocess Biosyst. Eng. 2015. V. 38. P. 2315–2322. <https://doi.org/10.1007/s00449-015-1465-9>
3. Chapman T. A., Wu X.-Y., Barchia I. et al. Comparison of virulence gene profiles of *Escherichia coli* strains isolated from healthy and diarrheic swine // Appl. Environ. Microbiol. 2006. V. 72. P. 4782–4795. <https://doi.org/10.1128/AEM.02885-05>
4. Chung H., Yang J.E., Ha J.Y. et al. Bio-based production of monomers and polymers by metabolically engineered microorganisms // Curr. Opin. Biotechnol. 2015. V. 36. P. 73–84. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2015.07.003>
5. Gupta N.K., Reif P., Palenicek P. et al. Toward renewable amines: recent advances in the catalytic amination of biomass-derived oxygenates // ACS Catalysis. 2022. V. 12. P. 10400–10440. <https://doi.org/10.1021/acscatal.2c01717>
6. Huang Y., Ji X., Ma Z. et al. Green chemical and biological synthesis of cadaverine: recent development and challenges // RSC Adv. 2021. V. 11. P. 23922–23942. <https://doi.org/10.1039/d1ra02764f>
7. Kim H.T., Baritugo K.A., Oh Y.H. et al. High-level conversion of L-lysine into cadaverine by *Escherichia coli* whole cell biocatalyst expressing *Hafnia alvei* L-lysine decarboxylase // Polymers (Basel). 2019. V. 11. № 7. 1184. <https://doi.org/10.3390/polym11071184>
8. Kim H. J., Kim Y. H., Shin J. H. et al. Optimization of direct lysine decarboxylase biotransformation for cadaverine production with whole-cell biocatalysts at high lysine concentration // J. Microbiol. Biotechnol. 2015. V. 25. P. 1108–1113. <https://doi.org/10.4014/jmb.1412.12052>
9. Kind S., Neubauer S., Becker J. et al. From zero to hero - production of bio-based nylon from renewable resources using engineered *Corynebacterium glutamicum* // Metab. Eng. 2014. V. 25. P. 113–123. <https://doi.org/10.1016/j.ymben.2014.05.007>
10. Ma W., Chen K., Li Y. et al. Advances in cadaverine bacterial production and its applications // Engineering. 2017. V. 3. P. 308–317. <https://doi.org/10.1016/J.ENG.2017.03.012>
11. Ma W., Cao W., Zhang H. et al. Enhanced cadaverine production from L-lysine using recombinant *Escherichia coli* co-overexpressing CadA and CadB // Biotechnol. Lett. 2015. V. 37. P. 799–806. <https://doi.org/10.1007/s10529-014-1753-5>
12. Michael A. J. Polyamines in eukaryotes, bacteria, and archaea // J. Biol. Chem. 2016. V. 291. P. 14896–14903. <https://doi.org/10.1074/jbc.R116.734780>
13. Moulin-Schouleur M., Répérant M., Laurent S. et al. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* strains of avian and human origin: link between phylogenetic relationships and common virulence patterns // J. Clin. Microbiol. 2007. V. 45. P. 3366–3376. <https://doi.org/10.1128/JCM.00037-07>
14. Oh Y. H., Kang K. H., Kwon M. J. et al. Development of engineered *Escherichia coli* whole-cell biocatalysts for high-level conversion of L-lysine into cadaverine // J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 2015. V. 42. P. 1481–1491. <https://doi.org/10.1007/s10295-015-1678-6>
15. Qian Z. G., Xia X. X., Lee S. Y. et al. Metabolic engineering of *Escherichia coli* for the production of cadaverine: a five carbon diamine // Biotechnol. Bioeng. 2011. V. 108. P. 93–103. <https://doi.org/10.1002/bit.22918>
16. Rosenboom J. G., Langer R., Traverso G. et al. Bioplastics for a circular economy // Nat. Rev. Mater. 2022. V. 7. P. 117–137. <https://doi.org/10.1038/s41578-021-00407-8>
17. Skoczinski P., Carus M., Tweddle G. et al. Bio-based building blocks and polymers – global capacities, production and trends 2023–2028 // Ind. Biotechnology. 2024. V. 20. P. 52–59. <https://doi.org/10.52548/VXTH2416>

18. Ting W.W., Huang C.Y., Wu P.Y. et al. Whole-cell biocatalyst for cadaverine production using stable, constitutive and high expression of lysine decarboxylase in recombinant *Escherichia coli* W3110 // *Enzyme Microb. Technol.* 2021. V. 148. P. 109811. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2021.109811>
19. Xue C., Hsu K. M., Ting W. W. et al. Efficient biotransformation of l-lysine into cadaverine by strengthening pyridoxal 5'-phosphate-dependent proteins in *Escherichia coli* with cold shock treatment // *Biochem. Eng. J.* 2020. V. 161. P. 107659. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2020.107659>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Ахова Анна Викторовна — кандидат биологических наук, доцент, старший научный сотрудник лаборатории адаптации микроорганизмов, «Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» — филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН, Пермь, Российская Федерация

E-mail: akhovan@mail.ru

<http://orcid.org/0000-0002-3477-750X>

Хабирова Вероника Илнуровна — лаборант лаборатории адаптации микроорганизмов, «Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» — филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН, Пермь, Российская Федерация

E-mail: veronikabarda@mail.ru

<http://orcid.org/0009-0002-1597-1718>

Кузнецова Марина Валентиновна — доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биотехнологии, «Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» — филиал ФГБУН Пермский федеральный исследовательский центр УрО РАН, Пермь, Российская Федерация

E-mail: mar@iegm.ru

<https://orcid.org/0000-0003-2448-4823>

Ткаченко Александр Георгиевич — доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией адаптации микроорганизмов, «Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» — филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН, Пермь, Российская Федерация

E-mail: agtkachenko@iegm.ru

<http://orcid.org/0000-0002-8631-8583>

Поступила в редакцию 25.02.2026

После доработки 09.06.2026

Принята к публикации 11.07.2026

AUTHOR INFORMATION

Akhova, Anna V. — Cand. Sc. in Biology, Associate Professor, senior researcher of the laboratory of microbial adaptation, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms UB RAS, Perm, Russian Federation
E-mail: akhovan@mail.ru

<http://orcid.org/0000-0002-3477-750X>

Khabirova, Veronika I. — laboratory assistant of the laboratory of microbial adaptation, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms UB RAS, Perm, Russian Federation

E-mail: veronikabarda@mail.ru

<http://orcid.org/0009-0002-1597-1718>

Kuznetsova, Marina V. — Dr. Sc. in Medicine, leader researcher of the laboratory of molecular biotechnology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms UB RAS, Perm, Russian Federation

E-mail: mar@iegm.ru

<https://orcid.org/0000-0003-2448-4823>

Tkachenko, Alexander G. — Dr. Sc. in Medicine, head of the laboratory of microbial adaptation, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms UB RAS, Perm, Russian Federation

E-mail: agtkachenko@iegm.ru

<http://orcid.org/0000-0002-8631-8583>

Received February 25, 2026

Revised June 09, 2026

Accepted July 11, 2026