

УДК 579.222

DOI: 10.17072/1994-9952-2019-4-464-470.

Д. О. Егорова, А. А. Пьянкова

Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ПФИЦ УрО РАН, Пермь, Россия

СКРИНИНГ ГЕНА АЛЬФА-СУБЪЕДИНИЦЫ БЕНЗОАТ ДИОКСИГЕНАЗЫ В БАКТЕРИАЛЬНЫХ АССОЦИАЦИЯХ, ПОЛУЧЕННЫХ В РЕЗУЛЬТАТЕ СЕЛЕКЦИИ НА (ХЛОР)АРОМАТИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЯХ

Показано, что в тотальной ДНК шести бактериальных ассоциаций, полученных в результате накопительного культивирования в присутствии бифенила/хлорированных бифенилов, обнаружены фрагменты гена *benA*, кодирующего альфа-субъединицу бензоат диоксигеназы. В результате филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей амплифицированных фрагментов гена *benA* установлено, что большинство изученных фрагментов формируют кластеры с гомологичными генами представителей отдела/филума *Proteobacteria*, уровень сходства при этом составил 100%. Уровень сходства с *benA*-генами известных грамотрицательных штаммов-деструкторов составил 79.5–89.7%. В ассоциации CHN4 выявлен ген *benA*, формирующий единый кластер с геном *benA* штаммов рода *Rhodococcus*, и на 96% схожий с гомологичным геном штамма-деструктора *R. jostii* RHA1.

Ключевые слова: полихлорированные бифенилы; бактериальные ассоциации; бензоат диоксигеназа; ген.

D. O. Egorova, A. A. Pjankova

Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the Ural Branch RAS, Perm, Russian Federation

ALPHA-SUBUNIT BENZOATE DIOXYGENASE GENE SCREENING IN BACTERIAL ASSOCIATIONS OBTAINED BY SELECTION ON (CHLORINE) AROMATIC COMPOUNDS

It was shown that fragments of the *benA* gene encoding the alpha subunit of benzoate dioxygenase were found in the total DNA of six bacterial associations obtained as a result of enrichment cultivation in the presence of biphenyl / chlorinated biphenyls. As a result of phylogenetic analysis of the nucleotide sequences of amplified *benA* gene fragments, it was found that most of the studied fragments form clusters with homologous genes of the department / phylum *Proteobacteria*, the similarity level was 100%. The level of similarity with *benA* genes of known gram-negative strains-destructors was 79.5 - 89.7%. The *benA* gene, which was found in the DNA of the CHN4 association, forms a single cluster with the *benA* gene of strains of the genus *Rhodococcus*, and was 96% similar to the homologous gene of the strain-destructor *R. jostii* RHA1.

Key words: polychlorinated biphenyls; bacterial associations; benzoate dioxygenase; gene.

Введение

Бензойная кислота по химической структуре принадлежит к классу ароматических соединений, имеющих в своем составе одно ароматическое кольцо. В окружающей среде широко встречаются как замещенные бензойные кислоты, содержащие в молекуле в качестве заместителей гидрокси-, метокси- группы, атомы хлора, так и незамещенная бензойная кислота. Данные соединения являются компонентами метаболических путей растений и бактерий, в результате чего они попадают в почву, воду и донные отложения [Abd El-Mawla, Beerhues, 2002; Field, Sierra-Alvarez, 2008a; Solyanikova et al., 2015].

Значительное количество бензойной кислоты, выявленной в объектах окружающей среды, имеет антропогенное происхождение. Бензойная кислота используется в качестве консерванта при производстве широкого круга продуктов питания, а также в составе препаратов противомикробного и фунгицидного действия. Кроме этого, бензойная кислота входит в состав лекарственных средств, направленных против кожных заболеваний грибкового и клещевого происхождения. В промышленности бензойная кислота используется как исходное сырье для синтеза широкого спектра химических соединений [<https://pcgroup.ru/blog/>]. Стоит отметить, что при биотрансформации соединений группы стойких органических загрязнителей, та-

ких как полихлорированные бифенилы (ПХБ), также возможно образование бензойной/хлорбензойной кислоты [Pieper, 2005; Field, Sierra-Alvarez, 2008b].

Основными биологическими агентами, осуществляющими разложение бензойной кислоты в природе, являются аэробные бактерии. Способность к трансформации замещенных и незамещенных бензойных кислот описана для представителей филумов *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Fermicutes* [Pieper, 2005; Field, Sierra-Alvarez, 2008a, b]. Биоразложение бензойной кислоты начинается с окисления молекулы под действием фермента бензоат 1,2-диоксигеназы (БДО) [Parales, Resnick, 2006]. БДО (КФ 1.14.12.10) состоит из двух α - и двух β -субъединиц [<https://www.genome.jp>]. Показано, что субстратная специфичность обуславливается α -субъединицей БДО [Parales, Resnick, 2006; Solyanikova et al., 2015]. Анализ нуклеотидной последовательности гена *benA*, кодирующего α -субъединицу БДО, выявил существенные различия данного гена у грамположительных и грамотрицательных бактерий [Haddad, Eby, Neidle, 2001; Field, Sierra-Alvarez, 2008a; Solyanikova et al., 2015]. Высказано предположение, что эволюция гена *benA* у данных групп бактерий протекала независимо друг от друга, однако они имеют общего предка [Haddad, Eby, Neidle, 2001; Field, Sierra-Alvarez, 2008a].

Цель настоящей работы – изучить разнообразие гена *benA*, кодирующего α -субъединицу бензоат 1,2-диоксигеназы, в тотальной ДНК бактериальных ассоциаций, полученных в результате селекции почвенных микробиоценозов в присутствии бифенила/полихлорированных бифенилов.

Материалы и методы исследования

Бактериальные ассоциации

Бактериальные ассоциации СН1, СН2, СН3, СН4, СН5, СН6 были получены в результате накопительного культивирования в присутствии бифенила/ПХБ из почв, отобранных на территории ОАО «СВЗХ» (г. Чапаевск, Самарская обл., Россия), а РН1 и РН2 – в результате селекции бактериоценоза почв, отобранных на территории ОАО «Пермский завод смазок и СОЖ» (г. Пермь, Пермский край, Россия) с применением в качестве селективного фактора бифенила/ПХБ.

Культивирование бактериальных ассоциаций

Все бактериальные ассоциации, использованные в настоящем исследовании, поддерживаются в метаболически активном состоянии методом периодического культивирования в минеральной среде К1 состава (г/л): $K_2HPO_4 \times 3H_2O$ – 3.2, $NaH_2PO_4 \times 2H_2O$ – 0.4, $(NH_4)_2SO_4$ – 0.5,

$MgSO_4 \times 7H_2O$ – 0.15, $Ca(NO_3)_2$ – 0.01 с внесением в качестве селективного фактора бифенила в концентрации 1 г/л.

Тотальная ДНК

Тотальную ДНК из бактериальных ассоциаций выделяли с использованием коммерческого набора реактивов FastDNA Spin Kit for Soil (MP Biomedicals, USA). Концентрацию ДНК измеряли на приборе Qubit™ Fluorometer (Invitrogen, США) с применением реактивов производителя.

Аmplификация гена *benA*, кодирующего α -субъединицу бензоат диоксигеназы

Аmplификацию гена *benA* на матрице тотальной ДНК, выделенной из бактериальных ассоциаций, проводили с использованием бактериальных праймеров прямого *benA*-F [5'-GCCACGAGAGCCAGATTCCC-3'] и обратного *benA*-R [5'-GGTGGCGGCGTAGTTCCAGTG-3'] [Baggi et al., 2008]. Праймеры подобраны к консервативному участку гена *benA* штамма *Acinetobacter baylyi* ADP1, амплифицируемая область со 175 нуклеотида до 712 нуклеотида (размер фрагмента 521 пн) [Baggi et al., 2008]. ПЦР проводили в 25 мкл смеси, содержащей 1x буфер для *Taq*-полимеразы с $MgCl_2$ (Синтол, Россия), 0.25 мМ дНТФ, 0.5 мкМ каждого праймера, 2 ед. акт. *Taq*-полимеразы (Синтол, Россия) и 2 мкл ДНК матрицы. Амплификацию осуществляли на приборе C1000 Touch («Bio-Rad Laboratories», США) в режиме: начальный денатурирующий шаг при 95°C в течение 5 мин., далее 30 циклов: 40 сек. при 94°C, 50 сек. при 60°C с понижением при каждом шаге на 0.4°C, 1 мин. при 72°C, завершающий шаг 7 мин. при 72°C.

Визуализация амплифицированных фрагментов ДНК

Продукты ПЦР разделяли электрофорезом в агарозном геле (концентрация агарозы 0.8%) в 1x Трис-боратном буфере (Thermo scientific, Литва) при напряжении 10V/см и визуализировали в проходящем УФ-свете с использованием системы Gel Doc XR™ («Bio-Rad Laboratories», США) после окрашивания в растворе бромистого этидия.

Определение нуклеотидных последовательностей амплифицированных фрагментов ДНК

Определение нуклеотидных последовательностей гена *benA* осуществляли на автоматическом секвенаторе Genetic Analyzer 3500xl (Applied Biosystems, США), с применением реактивов Big Dye Terminator Ready Reaction Kit v 3.1 (Applied Biosystems, США), согласно рекомендациям производителя, в молекулярно-генетической лабора-

тории кафедры ботаники и генетики растений ПГНИУ.

Анализ нуклеотидных последовательностей амплифицированных фрагментов гена *benA*

Поиск гомологичных последовательностей был произведен по базе данных GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). С применением пакета программ Mega версия 7.0, выявленные по базе данных и секвенированные в настоящем исследовании нуклеотидные последовательности гена *benA* были выровнены с последующим расчетом их сходства, которое было отображено в виде графической модели эволюционного дерева.

Размещение нуклеотидных последовательностей в международных базах данных

Нуклеотидные последовательности фрагмента гена *benA*, полученные в настоящем исследовании, были депонированы в международной базе данных GenBank. Номера, присвоенные данным последовательностям, представлены в разделе «Результаты и обсуждение».

Результаты и их обсуждение

Бактериальные ассоциации, полученные в результате селекции на минеральной среде в условиях, когда источником углерода является труднодоступное ароматическое вещество (бифенил/полихлорированные бифенилы), характеризуются наличием определенного набора генов, обуславливающих способность членов ассоциации использовать данный источник углерода в качестве ростового субстрата. Одним из таких генов является ген

benA, кодирующий α -субъединицу бензоат диоксигеназы.

На ДНК-матрице бактериальных ассоциаций CHN1, CHN2, CHN3, CHN4, CHN5, CHN6, PN1 и PN2 с помощью праймеров *benA*-F и *benA*-R были амплифицированы фрагменты гена *benA*. Со всех образцов тотальной ДНК были получены ПЦР-продукты ожидаемого размера – 500 п.н. (рис. 1).

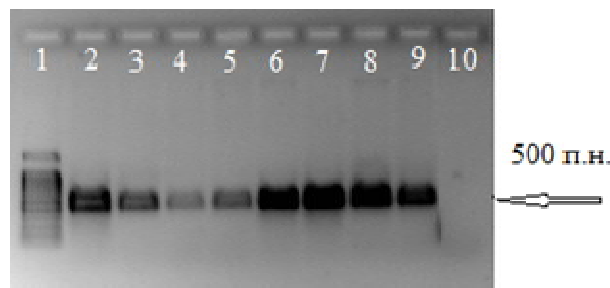


Рис. 1. Электрофореграмма продуктов амплификации гена *benA*, кодирующего α -субъединицу бензоат диоксигеназы:

1 – молекулярный маркер O'GeneRuler™ 100bp Plus DNA Ladder (Fermentas, Lithuania), 2 – CHN1, 3 – CHN2, 4 – CHN3, 5 – CHN4, 6 – CHN5, 7 – CHN6, 8 – PN1, 9 – PN2, 10 – отрицательный контроль

В результате проведения секвенирующей реакции и последующего секвенирования по Сэнгеру амплифицированных фрагментов, были получены хроматограммы, позволяющие осуществлять дальнейший анализ нуклеотидных последовательностей.

Проведены филогенетический и кластерный анализы полученных фрагментов гена *benA* с гомологичными последовательностями из базы данных GenBank (таблица, рис. 2).

Филогенетический анализ амплифицированных фрагментов гена *benA* из тотальной ДНК бактериальных ассоциаций

Ассоциация / номер в GenBank	Штамм с наиболее близким геном <i>benA</i> , номер GenBank Штамм-деструктор с наиболее близким геном <i>benA</i> , номер GenBank	Сходство, % / Перекрывание, %	Количество проанализированных нуклеотидов
CHN1 / MN396893	<i>Pseudomonas putida</i> JBC17 (CP029693.1) <i>Pseudomonas putida</i> KT2440 (LT799039.1)	100 / 100 89.7 / 96	540
CHN2 / MN396894	<i>Ralstonia eutropha</i> JMP134 (CP000091.1)	82.3 / 100	485
CHN3 / MN396895	<i>Methylobacterium currus</i> PR1016A (CP028843.1) <i>Ralstonia eutropha</i> JMP134 (CP000091.1)	100 / 100 83.3 / 99	517
CHN4 / MN396896	<i>Rhodococcus</i> sp. S2-17 (CP021354.1) <i>Rhodococcus jostii</i> RHA1 (CP000431.1)	100 / 100 96 / 100	476
CHN5 / MN396897	<i>Ralstonia solanacearum</i> SL3022 (CP023016.1) <i>Ralstonia eutropha</i> JMP134 (CP000091.1)	100 / 99 88.8 / 99	493
CHN6 / MN396898	<i>Burkholderia gladioli</i> Co14 (CP033431.1) <i>Ralstonia eutropha</i> JMP134 (CP000091.1)	100 / 100 79.5 / 98	498
PN1 / MN396900	<i>Pseudomonas stutzeri</i> CCUG 29243 (CP003677.1) <i>Pseudomonas putida</i> KF715 (AP015029.1)	100 / 100 82.5 / 100	491
PN2 / MN396899	<i>Pseudomonas putida</i> JBC17 (CP029693.1) <i>Pseudomonas knackmussii</i> B13 (HG322950.1)	100 / 100 89.5 / 100	524

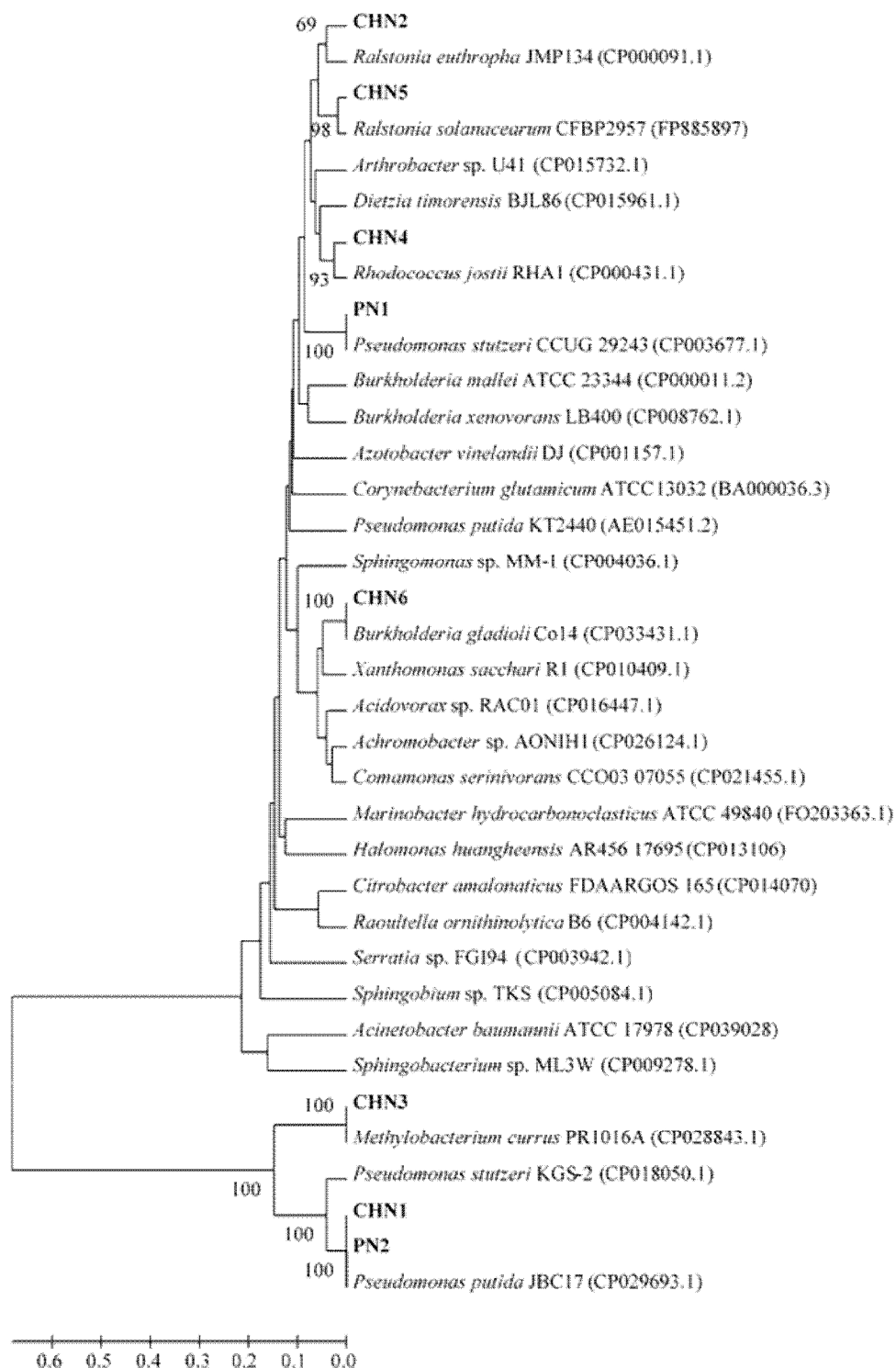


Рис. 2. Дерево сходства выявленных генов с известными генами α -субъединицы бензоат 1,2-диоксигеназы, построенное методом UPGMA.

Масштаб соответствует 10 нуклеотидным заменам на каждые 100 нуклеотидов. «Bootstrap»-анализ проведен на 1000 повторностях. Значения рядом с «ветвями» показывают вероятность расположения последовательностей в данных группах. Жирным шрифтом выделены нуклеотидные последовательности, исследуемые в настоящей работе

Выявлен высокий уровень сходства амплифицированных участков гена *benA* исследуемых ассоциаций (100%) с генами подсемейства бензоат

диоксигеназ бактерий различных таксономических групп, осуществляющих деструкцию ароматических соединений (таблица). Установлено, что в

ДНК исследуемых ассоциаций преимущественно амплифицировались гены бензоат диоксигеназ, характерных для бактерий отдела/филума *Proteobacteria*. Наиболее филогенетически близким среди генов бензоат диоксигеназы активных штаммов-деструкторов ароматических соединений для фрагментов гена *benA* из ассоциаций CHN2, CHN3, CHN5 и CHN6 является соответствующий ген штамма *Ralstonia eutropha* JMP134 (уровень сходства 79.5–88.8%). Известно, что штамм *R. eutropha* JMP134 осуществляет разложение широкого спектра ароматических соединений, в том числе бензойной и хлорбензойных кислот [Field, Sierra-Alvarez, 2008a]. Стоит отметить, что для фрагмента гена *benA* ассоциации CHN1 наиболее близким является ген бензоат диоксигеназы другого известного штамма-деструктора *Pseudomonas putida* KT2440 (таблица). Штамм *P. putida* KT2440 осуществляет разложение ароматических соединений и является одним из модельных штаммов, при анализе генетических систем [Kahlon R.S., 2016].

Фрагмент гена *benA* ассоциации CHN4, формирует единый кластер с соответствующим геном штаммов рода *Rhodococcus* класса *Actinobacteria* (таблица, рис. 2). Стоит отметить, что *benA*_{CHN4} имеет высокий уровень сходства (96%) с соответствующим геном известного штамма-деструктора бифенила/ПХБ *Rhodococcus jostii* RHA1 [Kitagawa et al., 2001].

Таким образом, в ассоциациях, селектированных из почв, отобранных на территории ОАО «СВЗХ» (г. Чапаевск, Самарская обл., Россия), выявлены фрагменты гена бензоат диоксигеназы, обладающие высоким уровнем сходства с *benA*-генами штаммов разных таксономических групп.

Иная картина получена при анализе нуклеотидных последовательностей фрагментов гена бензоат диоксигеназы, амплифицированных с тотальной ДНК ассоциаций PN1 и PN2, селектированных из почв ОАО «Пермский завод смазок и СОЖ» (г. Пермь, Пермский край, Россия). Наиболее близкими в данном случае по *benA* гену являются штаммы рода *Pseudomonas*, в том числе деструкторы *Pseudomonas putida* KF715 и *Pseudomonas knackmussii* B13 (уровни сходства 82.5 и 89.5%, соответственно). Штамм *P. putida* KF715 является высокоактивным деструктором хлорированных бифенилов, содержащих различное количества атомов хлора в молекуле бифенила, а также смесей ПХБ и обладает ферментативными путями, обуславливающими разложение бифенила до соединений основного обмена клетки [Suenaga et al., 2017; Kimura et al., 2018]. Штамм *P. knackmussii* B13 активно разлагает хлорбензойные кислоты, а в результате переноса ряда его генов в реципиентные штаммы получены трансконъюганты, способные использовать широкий спектр моно- и ди-

хлорбензойных кислот [Kahlon, 2016]. Ранее было показано, что при культивировании почвенных микробиоценозов в присутствии бензола и 4-хлорбензойной кислоты в качестве селективных факторов, так же формируются сообщества, в которых присутствует бензоат диоксигеназа бактерий рода *Pseudomonas* [Назарова, Кирьянова, Егорова, 2019]. Стоит отметить, что кластерный анализ показал наличие существенных различий в нуклеотидных последовательностях выявленных генов *benA* ассоциаций PN1 и PN2 (рис. 2). Вероятно, ген бензоат диоксигеназы имеет значительную вариабельность в пределах рода *Pseudomonas*, что подтверждается формированием нескольких кластеров при графической визуализации результата анализа (рис. 2). Такое разнообразие может быть обусловлено как длительными эволюционными изменениями, так и адаптационными процессами, вызванными присутствием в окружающей среде химических поллютантов.

Заключение

В результате проведенных исследований изучены фрагменты гена *benA*, кодирующего α -субъединицу бензоат 1,2-диоксигеназы, присутствующие в тотальной ДНК восьми ассоциаций аэробных бактерий, селектированных на бифениле/полихлорированных бифенилах.

Показано, что амплифицированные участки гена *benA* имеют высокий уровень сходства (до 100%) с генами бензоат диоксигеназ штаммов, принадлежащих родам *Burkholderia*, *Methylobacterium*, *Pseudomonas*, *Ralstonia* и *Rhodococcus*. Установлено, что выявленные нуклеотидные последовательности были сходны на 79.5–96.0% с *benA*-генами известных штаммов-деструкторов бензойных/хлорбензойных кислот и бифенила/полихлорированных бифенилов. Полученный результат позволяет высказать предположение, что в результате селекции в присутствии бифенила/ПХБ формируются бактериальные сообщества, обладающие набором генетических систем, обуславливающих биотрансформацию ароматических соединений.

Таким образом, в результате проведенных исследований изучено разнообразие гена *benA*, представленного в аэробных бактериальных ассоциациях, селектированных из почвенных микробиоценозов под воздействием бифенила/полихлорированных бифенилов.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, грант №18-29-05016мк.

Библиографический список

- Назарова Э.А., Кирьянова Т.Д., Егорова Д.О. Разнообразие гена бензоат диоксигеназы в бактериальных ассоциациях, сформировавшихся под давлением хлорорганического загрязнения // Экологическая генетика. 2019. Т. 17, № 3. С. 13–22. doi: 10.17816/ecogen17313-22
- Abd El-Mawla A.M., Beerhues L. Benzoic acid biosynthesis in cell cultures of *Hypericum androsaemum* // *Planta*. 2002. Vol. 214. P.727. <https://doi.org/10.1007/s004250100657>
- Baggi G. et al. Co-metabolism of di- and trichlorobenzoates in a 2-chlorobenzoate-degrading bacterial culture: Effect of the position and number of halo-substituents // *International Biodeterioration and Biodegradation*. 2008. Vol. 62, № 1. P. 57–64. doi:10.1016/j.ibiod.2007.12.002
- Field J.A., Sierra-Alvarez R. Microbial transformation of chlorinated benzoates // *Reviews in Environmental Science and BioTechnology*. 2008a. Vol. 7. P. 191–210. doi 10.1007/s11157-008-9133-z
- Field J.A., Sierra-Alvarez R. Microbial transformation and degradation of polychlorinated biphenyls // *Environmental Pollution*. 2008b. Vol. 155, № 1. P. 1–12.
- Haddad S., Eby D.M., Neidle E.L. Cloning and expression of the benzoate dioxygenase genes from *Rhodococcus* sp. strain 19070. // *Applied Environmental Microbiology*. 2001. Vol. 67. P. 2507–2514.
- Kahlon R.S. *Pseudomonas: Molecular and Applied Biology*. Springer International Publishing Switzerland, 2016. 519 p. doi: 10.1007/978-3-319-31198-2_4
- Kimura N. et al. *Pseudomonas furukawaii* sp. nov., a polychlorinated biphenyl-degrading bacterium isolated from biphenyl-contaminated soil in Japan // *International Journal Systematic Evolution Microbiology*. 2018. Vol. 68, № 5. P. 1429–1435
- Kitagawa W. et al. Cloning and characterization of benzoate catabolic genes in the gram-positive polychlorinated biphenyl degrader *Rhodococcus* sp. strain RHA1 // *Journal of Bacteriology*. 2001. Vol. 183. P. 6598–6606.
- Parales R.E., Resnick S.M. Aromatic Ring Hydroxylating Dioxygenases // *Pseudomonas* / J.L. Ramos, R.C. Levesque, eds. Boston: Springer, 2006. P. 287–340. doi:10.1007/2F0-387-28881-3_9
- Pieper D.H. Aerobic degradation of polychlorinated biphenyls. // *Applied Microbiology Biotechnology*. 2005. Vol. 67, № 2. P. 170–191. <https://doi.org/10.1007/s00253-004-1810-4>
- Solyanikova I.P. et al. Peculiarities of the degradation of benzoate and its chloro- and hydroxy-substituted analogs by *Actinobacteria*. // *International Biodeterioration and Biodegradation*. 2015. Vol. 100. P. 155–164. doi: 10.1016/j.ibiod.2015.02.028
- Suenaga H. et al. Insights into the genomic plasticity of *Pseudomonas putida* KF715, a strain with unique biphenyl-utilizing activity and genome instability properties // *Environmental Microbiology Reports*. 2017. Vol. 9, № 5. P. 589–598.

References

- Nazarova E.A., Kiryanova T.D., Egorova D.O. [Diversity of the gene of benzoate dioxygenase in bacterial associations isolated from long term organochlorine-contaminated soils]. *Ėkologiĉeskaja genetika*. V. 17, N 3 (2019): pp. 13-22. doi: 10.17816/ecogen17313-22. (In Russ.).
- Abd El-Mawla A.M., Beerhues L. Benzoic acid biosynthesis in cell cultures of *Hypericum androsaemum*. *Planta*. V. 214 (2002): p. 727. <https://doi.org/10.1007/s004250100657>.
- Baggi G. et al. Co-metabolism of di- and trichlorobenzoates in a 2-chlorobenzoate-degrading bacterial culture: Effect of the position and number of halo-substituents. *International Biodeterioration and Biodegradation*. V. 62, N 1 (2008): pp. 57-64. doi:10.1016/j.ibiod.2007.12.002.
- Field J.A., Sierra-Alvarez R. Microbial transformation of chlorinated benzoates. *Reviews in Environmental Science and BioTechnology*. V. 7 (2008a): pp. 191-210. doi 10.1007/s11157-008-9133-z.
- Field J.A., Sierra-Alvarez R. Microbial transformation and degradation of polychlorinated biphenyls. *Environmental Pollution*. V. 155, N 1 (2008b): pp. 1-12.
- Haddad S., Eby D.M., Neidle E.L. Cloning and expression of the benzoate dioxygenase genes from *Rhodococcus* sp. strain 19070. *Applied Environmental Microbiology*. V. 67 (2001): pp. 2507-2514.
- Kahlon R.S. *Pseudomonas: Molecular and Applied Biology*. Springer International Publishing Switzerland, 2016. 519 p. doi: 10.1007/978-3-319-31198-2_4
- Kimura N. et al. *Pseudomonas furukawaii* sp. nov., a polychlorinated biphenyl-degrading bacterium isolated from biphenyl-contaminated soil in Japan. *International Journal Systematic Evolution Microbiology*. V. 68, N 5 (2018): pp. 1429-1435.
- Kitagawa W. et al. Cloning and characterization of benzoate catabolic genes in the gram-positive polychlorinated biphenyl degrader *Rhodococcus* sp. strain RHA1. *Journal of Bacteriology*. V. 183 (2001): pp. 6598-6606.
- Parales R.E., Resnick S.M. Aromatic Ring Hydroxylating Dioxygenases. In: Ramos J.L., Levesque R.C. (eds) *Pseudomonas*. Springer,

- Boston, MA. 2006, pp. 287-340. doi: 10.1007/2F0-387-28881-3_9
- Pieper D.H. Aerobic degradation of polychlorinated biphenyls. *Applied Microbiology Biotechnology*. V. 67, N 2 (2005): pp. 170-191. <https://doi.org/10.1007/s00253-004-1810-4>.
- Solyanikova I.P. et al. Peculiarities of the degradation of benzoate and its chloro- and hydroxy-substituted analogs by *Actinobacteria*. *International Biodeterioration and Biodegradation*. V. 100 (2015): pp. 155-164. doi: 10.1016/j.ibiod.2015.02.028.
- Suenaga H. et al. Insights into the genomic plasticity of *Pseudomonas putida* KF715, a strain with unique biphenyl-utilizing activity and genome instability properties. *Environmental Microbiology Reports*. V. 9, N 5 (2017): pp. 589-598.

Поступила в редакцию 08.11.2019

Об авторах

Егорова Дарья Олеговна, кандидат биологических наук, доцент, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии и биотехнологии
Институт экологии и генетики микроорганизмов
УрО РАН – филиал ПФИЦ УрО РАН
ORCID: 0000-0003-4753-4061
614081, г. Пермь, ул. Голева, 13; daryao@rambler.ru; (342)2808431

Пьянкова Анна Александровна, инженер лаборатории молекулярной микробиологии и биотехнологии
Институт экологии и генетики микроорганизмов
УрО РАН – филиал ПФИЦ УрО РАН
ORCID: 0000-0003-2210-783X
614081, Пермь, ул. Голева, 13; annpjankva@mail.ru; (342)2808431

About the authors

Egorova Darya Olegovna, candidate of biology, senior scientist researcher of the laboratory of molecular microbiology and biotechnology
Institute of Ecology and Genetics of Microorganism UB RAS.
ORCID: 0000-0003-4753-4061
13, Golev str., Perm, Russia, 614081; daryao@rambler.ru; (342)2808431

Pjankova Anna Aleksandrovna, Engineer of the laboratory of molecular microbiology and biotechnology
Institute of Ecology and Genetics of Microorganism UB RAS.
ORCID: 0000-0003-2210-783X
13, Golev str., Perm, Russia, 614081; annpjankva@mail.ru; (342)2808431

Информация для цитирования:

Егорова Д.О., Пьянкова А.А. Скрининг гена альфа-субъединицы бензоат диоксигеназы в бактериальных ассоциациях, полученных в результате селекции на (хлор)ароматических соединениях // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2019. Вып. 4. С. 464–470. DOI: 10.17072/1994-9952-2019-4-464-470.

Egorova D.O., Pjankova A.A. [Alpha-subunit benzoate dioxygenase gene screening in bacterial associations obtained by selection on (chlorine) aromatic compounds]. *Vestnik Permskogo universiteta. Biologija*. Iss. 4 (2019): pp. 464-470. (In Russ.). DOI: 10.17072/1994-9952-2019-4-464-470.

