

Научная статья
УДК 577.3
EDN: SRPVFQ
DOI: 10.21285/achb.946



Сравнительный анализ структурно-функциональных особенностей эндоглюканаз с разным температурным оптимумом действия

О.С. Петухова*✉, А.А. Приставка*, Е.А. Приставка**,
Д.Е. Гавриков*, В.П. Саловарова*

*Иркутский государственный университет, Иркутск, Российская Федерация

**Институт солнечно-земной физики СО РАН, Иркутск, Российская Федерация

Аннотация. Целлюлазы, температурный оптимум которых сдвинут к экстремально высоким или низким значениям, представляют особый интерес, так как их применение позволяет более гибко регулировать технологические условия их промышленного использования. Тем не менее механизмы, объясняющие адаптации ферментов к предельным температурам, полностью не установлены. Целью проведенной работы являлось исследование методами биоинформатики зависимости структуры микробных эндоглюканаз от двух факторов – принадлежности продуцентов к разным таксономическим группам высшего ранга (бактерии, грибы, археи) и температурного оптимума их среды обитания (психро-, мезо- и термофилы). Ферменты, извлеченные из Uniprot и GenBank, анализировались с помощью попарного и множественного выравнивания последовательностей, попарного выравнивания пространственных структур и сравнения аминокислотных профилей. В результате показано, что последовательности кластеризуются в соответствии с систематикой продуцентов и не содержат паттернов, связанных с адаптациями к температурным условиям. В то же время аминокислотный профиль белков зависит также от температурных условий среды обитания микроорганизмов – частоты некоторых аминокислот (E, I, Y, D, Q) достоверно различаются у ферментов с разными температурными оптимумами. Также идентифицирована выборка ферментов с низкой идентичностью последовательностей, но с высоким сходством 3D-структур, включающая как ферменты из близких таксонов, но с разным термооптимумом, так и эндоглюканазы из микроорганизмов, далеких в систематическом отношении, но обитающих в сходных температурных условиях. Помимо прочего, представлено обсуждение возможных механизмов наблюдаемых различий между показателями идентичности разных структурных уровней белка.

Ключевые слова: эндоглюканазы, психрофилы, мезофилы, термофилы, множественное выравнивание, аминокислотный состав

Для цитирования: Петухова О.С., Приставка А.А., Приставка Е.А., Гавриков Д.Е., Саловарова В.П. Сравнительный анализ структурно-функциональных особенностей эндоглюканаз с разным температурным оптимумом действия // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2024. Т. 14. N 4. С. 596–604. DOI: 10.21285/achb.946. EDN: SRPVFQ.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Original article

Comparative analysis of the structural and functional features of endoglucanases with different temperature optima

Olga S. Petukhova*✉, Aleksei A. Pristavka*, Egor A. Pristavka**,
Dmitrii E. Gavrikov*, Valentina P. Salovarova*

*Irkutsk State University, Irkutsk, Russian Federation

**Institute of Solar-Terrestrial Physics SB RAS, Irkutsk, Russian Federation

Abstract. Cellulases whose temperature optimum is shifted to extremely high or low values are of particular interest since they allow for greater flexibility in controlling the technological conditions of their industrial use.

© Петухова О.С., Приставка А.А., Приставка Е.А., Гавриков Д.Е., Саловарова В.П., 2024

Nevertheless, the mechanisms that explain enzymatic adaptations to limiting temperatures are not fully established. The study was aimed at using bioinformatics methods to examine how the structure of microbial endoglucanases depends on two factors: the belonging of producers to different taxonomic groups of higher rank (bacteria, fungi, and archaea) and the temperature optimum of their habitat (psychro-, meso-, and thermophiles). Enzymes retrieved from Uniprot and GenBank were analyzed via pairwise and multiple sequence alignment, pairwise structural alignment, and comparison of amino acid profiles. It is shown that the sequences cluster according to the systematics of producers and do not contain patterns associated with adaptations to temperature conditions. However, the amino acid profile of proteins depends also on the temperature conditions of the microbial habitat: the frequencies of some amino acids (E, I, Y, D, and Q) differ significantly in enzymes with different temperature optima. The study also identified a set of enzymes with low sequence identity but high similarity of 3D structures. This set includes enzymes from related taxa but with different temperature optima, as well as endoglucanases from microorganisms that are systematically distant while living under similar temperature conditions. Among other things, the possible mechanisms of the observed differences between the identity scores of different structural levels of protein are discussed.

Keywords: endoglucanases, psychrophiles, mesophiles, thermophiles, multiple alignment, amino acid composition

For citation: Petukhova O.S., Pristavka A.A., Pristavka E.A., Gavrikov D.E., Salovarova V.P. Comparative analysis of the structural and functional features of endoglucanases with different temperature optima. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2024;14(4):596-604. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.946. EDN: SRPVFQ.

ВВЕДЕНИЕ

Целлюлазы представляют собой ферменты, гидролизующие 1,4-β-гликозидную связь между остатками глюкозы. Большинство целлюлаз являются мультидоменными белками, содержащими три функционально различающихся домена: каталитический, целлюлозосвязывающий и линкерный фрагмент между ними¹. Целлюлазный комплекс микроорганизмов, как правило, состоит из ферментов нескольких типов, находящихся в синергических отношениях, что позволяет повысить эффективность гидролиза. Ключевую роль в таком комплексе играют эндоглюканызы (КФ 3.2.1.4), которые расщепляют связи, удаленные от концов полимерной цепи, с образованием целлоолигосахаридов и уменьшением степени полимеризации целлюлозы¹ [1, 2].

Целлюлазы выполняют важнейшую биосферную функцию, участвуя в глобальном круговороте углерода [3, 4], но также они находят практическое применение во многих секторах экономики: аграрно-промышленном комплексе, энергетике, целлюлозно-бумажной, пищевой, текстильной промышленности [5, 6]. Технологии, основанные на использовании целлюлаз, экологически безопасны, что дает им преимущества в сравнении с традиционными производствами [7].

В последнее время особый интерес вызывают целлюлазы, температурный оптимум которых сдвинут к экстремально высоким или низким значениям. Термостабильные целлюлазы востребованы из-за более короткого периода гидролиза, меньшего риска загрязнения культуры посторонней микрофлорой и меньших затрат энергии на процесс охлаждения после предварительной обработки [8–11]. Применение холодоактивных ферментов позволяет снизить энергетические расходы на поддержание оптимальной температуры гидролиза [12, 13].

Термостабильность ферментов (в том числе, целлюлаз) связывают со многими факторами: аминокислотным составом, внутримолекулярными связями, гидрофобными

взаимодействиями, компактностью пространственной структуры и т.д. [8, 9]. Белки психрофильных организмов имеют более длинные и гибкие линкеры, которые отличаются от мезофильных аналогов аминокислотным составом и более слабыми внутримолекулярными взаимодействиями [14–17]. В то же время в целом механизмы, объясняющие адаптации целлюлаз к предельным температурам, не установлены. Применение биоинформатических методов может позволить не только понять эти механизмы, но и открыть перспективы в разработке новых биокатализаторов, сохраняющих активность в экстремальных условиях.

Цель проведенного исследования заключалась в выявлении в структуре микробных эндоглюканыз паттернов, связанных с температурными условиями среды обитания их продуцентов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Общая схема исследований представлена на рис. 1. Из GenBank и UniProt было извлечено 105 аминокислотных последовательностей эндоглюканыз – по 35 белков из мезо-, термо- и психрофильных микроорганизмов; 33 последовательности имели грибное происхождение, 59 – бактериальное, 13 – архейное.

Для анализа использовались как полноразмерные последовательности эндоглюканыз, так и фрагменты, соответствующие их каталитическим доменам. Так как для большей части выборки доменная структура не аннотирована, границы фрагментов идентифицировались с помощью ресурса SWISS-MODEL² [18].

Для всех последовательностей были определены частоты встречаемости аминокислот (в процентах). Для сравнения частотных распределений аминокислот у эндоглюканыз с разным температурным оптимумом использовались критерий согласия Пирсона (χ^2) и дискриминантный анализ (Past.4.15).

Множественное выравнивание последовательностей осуществлялось в программе MEGA (11.0.9)³ по алго-

¹ Саловарова В.П., Козлов Ю.П. Эколого-биотехнологические основы конверсии растительных субстратов: учеб. пособие. М.: Издательский дом «Энергия», 2007. 544 с.

² SWISS-MODEL // [Swissmodel.expasy.org](https://swissmodel.expasy.org/). Режим доступа: <https://swissmodel.expasy.org/> (дата обращения: 17.06.2024).

³ MEGA // [Megasoftware.net](https://www.megasoftware.net/). Режим доступа: <https://www.megasoftware.net/> (дата обращения: 17.06.2024).

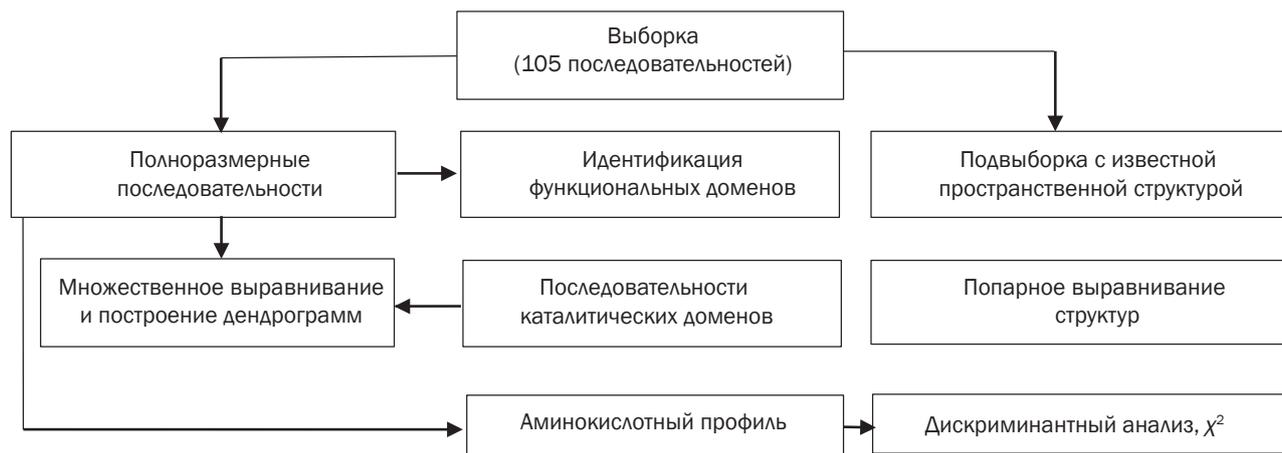


Рис. 1. Общая схема исследований

Fig. 1. General research scheme

ритму ClustalW, а построение дендрограмм – с использованием модели генетических дистанций Maximum Likelihood и модели эволюции белков WAG [19].

Попарное выравнивание последовательностей проводилось в программе BLAST, попарное выравнивание 3D-структур осуществлялось с помощью инструмента Pairwise Structure Alignment⁴.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В литературе уже отмечалось, что температурный оптимум ферментов связан с их аминокислотным составом. В термостабильных ферментах наблюдается большее число заряженных и меньшее число незаряженных полярных остатков, а также повышенное содержание гидрофобных аминокислот. Предпочтительными аминокислотами для белков термофильных организмов считаются глутамат, лизин, тирозин, изолейцин, а для белков мезофилов – глутамин, гистидин, аланин, цистеин

[8, 9, 20]. Гибкость линкера у психрофилов связывают с повышенной долей отрицательно заряженных аминокислотных радикалов и пониженной долей положительно заряженных [8, 9].

Сравнение аминокислотных профилей эндоглюканаз из исследуемой выборки (рис. 2), в принципе, не противоречит этим данным, хотя и не совпадает с ними полностью.

Вероятно, глутамат, изолейцин и тирозин действительно обеспечивают устойчивость ферментов к повышенным температурам, а аспарат и глутамин поддерживают их внутримолекулярную подвижность при низких температурах. При этом не подтвердилось повышенное содержание пролина и аргинина в эндоглюканах из термофилов и пониженное их содержание в психрофильных ферментах, повышенное содержание треонина у психрофилов и пониженное – у термофилов, а также увеличенная доля гистидина у мезофилов (таблица).

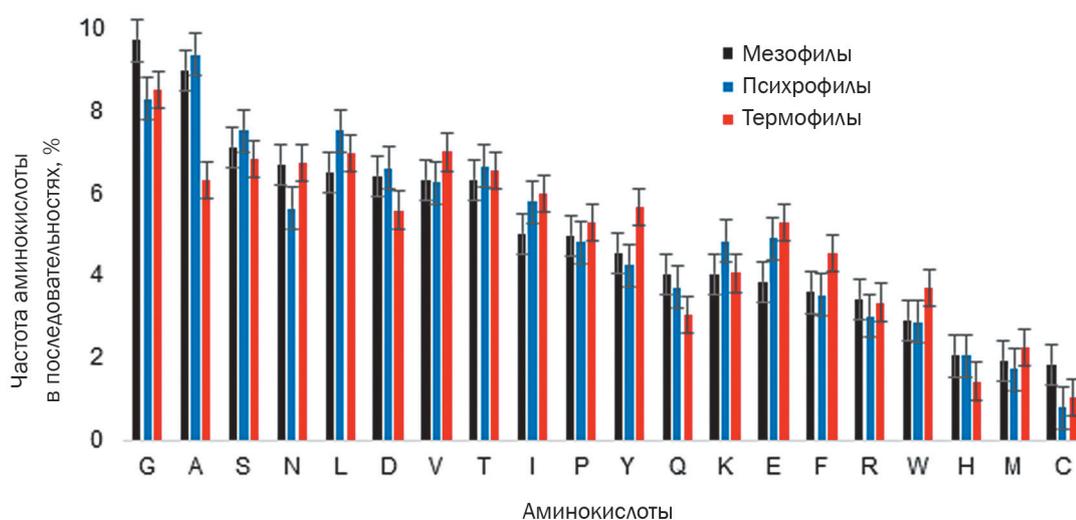


Рис. 2. Относительные частоты встречаемости аминокислотных остатков в последовательностях с разным температурным оптимумом

Fig. 2. Comparative frequencies of occurrence of amino acid residues in sequences with different temperature optima

⁴ Pairwise Structure Alignment // Rcsb.org. Режим доступа: <https://www.rcsb.org/alignment> (дата обращения: 17.06.2024).

Аминокислоты, специфичные к ферментам с разным температурным оптимумом [8, 9, 13–17, 20]

Amino acids specific to enzymes with different temperature optima [8, 9, 13–17, 20]

Экологическая группа продуцентов ферментов	Аминокислоты с более высокими частотами	Аминокислоты с более низкими частотами
Мезофилы	A*, C*, H, Q*	–
Термофилы	E*, I*, K, P, R, V, Y*	C*, H*, N, Q*, S, T
Психрофилы	D*, E, G, Q*, T	P, R

Примечание. Звездочкой помечены аминокислоты, подтверждающие литературные данные.

Влияние таксономических и температурных характеристик ферментов на их аминокислотный профиль показано на графике двумерного распределения в пространстве первых двух дискриминантных функций (рис. 3). Хотя области, соответствующие разным группам ферментов, друг с другом частично перекрываются, частоты корректных отнесений подтверждают принадлежность белков к «своей» группе. Данный показатель составляет 90,5% при разбивке выборки по систематическим категориям и 76,2% по температурному оптимуму, то есть разные группы достоверно разделяются в пространстве двух дискриминантных функций.

При аналогичном сравнении белковых фрагментов, соответствующих каталитическим доменам, были получены результаты, сходные с отображенными на рис. 2 и 3 данными. Таким образом, действительно, ферменты с разным температурным оптимумом отличаются специфичным аминокислотным профилем. Вероятно, повышенное содержание одних аминокислот и пониженное содержание других определяет особенности нативной структуры, от которой зависит, с одной стороны, устойчивость белка к высоким температурам, а с другой – сохранение необходимого уровня внутримолекулярной динамики при низких температурах.

На втором этапе было проведено множественное выравнивание аминокислотных последовательностей, входящих в исследуемую выборку (рис. 4).

В этом случае полные последовательности эндоглюканаз группируются преимущественно в соответствии с мегасистематикой – грибные, бактериальные и архейные белки формируют кластеры, относительно гомогенные в таксономическом плане, но довольно неоднородные по отношению к температуре. Встречаются также отдельные случаи объединения ферментов по температурному признаку: эндоглюканазы психрофильных грибов *Glaciozyma antarctica*, *Aureobasidium pullulans* и *Debaryomyces hansenii* попали в кластеры психрофильных бактерий; ферменты термофильных и гипертермофильных бактерий *Spirochaeta thermophila*, *Dictyoglomus turgidum*, *Thermobispora bispora* и *Thermotoga petrophila* кластеризуются с последовательностями из гипертермофильных архей. Наконец, выделяется наиболее гетерогенная группа, объединяющая гипертермофильную архею *Pyrococcus horikoshii*, 2 вида грибов и 6 видов бактерий с разными температурными оптимумами.

Результаты множественного выравнивания доменных фрагментов принципиально не отличаются – только немного увеличивается неоднородность состава кластеров по таксономическому признаку.

Таким образом, множественное выравнивание не позволило выявить явную взаимосвязь между последовательностями эндоглюканаз и температурными условиями среды обитания микроорганизмов. Имеющиеся примеры высокой идентичности последовательностей из неродственных видов, вероятно, можно объяснить горизонтальным переносом генов и только в последнюю очередь действием естественного отбора.

На заключительном этапе исследований было проведено сравнение пространственного строения ферментов с известными 3D-структурами – таких белков оказалось всего 14 (13,3% от всей выборки). Структуры белков выравнивались попарно с помощью алгоритма TM-align, не зависящего от порядка аминокислот в сравниваемых молекулах. Параллельно проводилось попарное выравнивание аминокислотных последовательностей этих же белков (рис. 5).

Распределения уровней идентичности между последовательностями и между пространственными структурами заметно отличалось. В первом случае

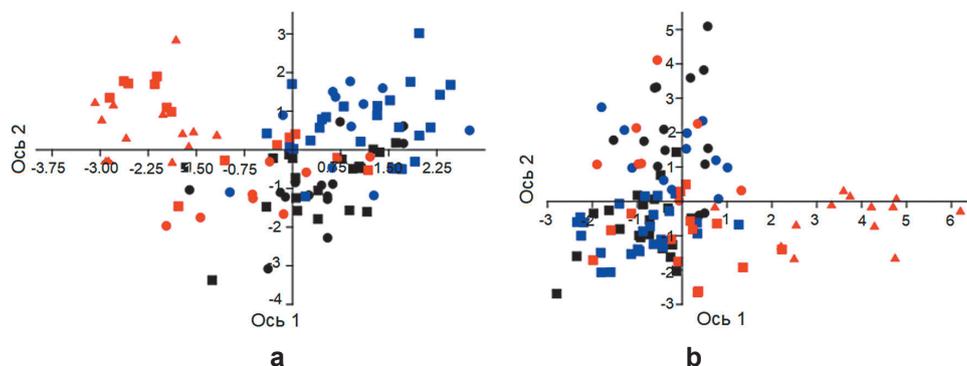


Рис. 3. Распределение частот встречаемости аминокислот у разных групп эндоглюканаз в пространстве первой и второй дискриминантных функций: группирование последовательностей по температурному оптимуму (а) и по таксономической принадлежности (б) (красным цветом маркированы термофильные организмы, черным – мезофильные, синим – психрофильные; круглые маркеры – грибы, квадратные – бактерии, треугольные – археи)

Fig. 3. Frequency distribution of amino acids in different groups of endoglucanases in the space of the first and second discriminant functions: grouping of endoglucanases by temperature optimum (a) and by taxonomic belonging (b) (thermophilic organisms are marked in red, mesophilic in black, psychrophilic in blue; round markers – fungi, square – bacteria, triangular – archaea)

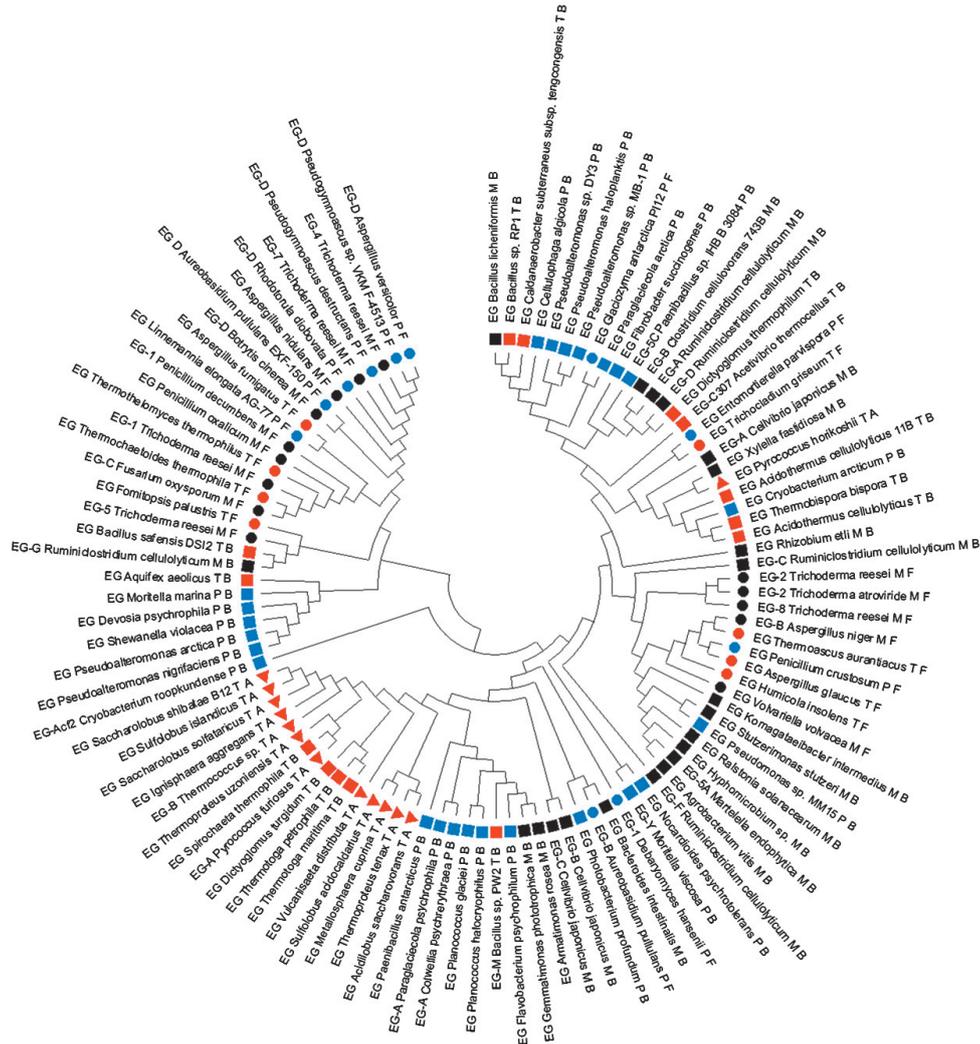


Рис. 4. Дендрограмма полноразмерных последовательностей эндоглюканаз (маркировка ферментов аналогична приведенной на экспликации к рис. 3)

Fig. 4. Dendrogram of full-size sequences of endoglucanases (the marking of enzymes is similar to Fig. 3)

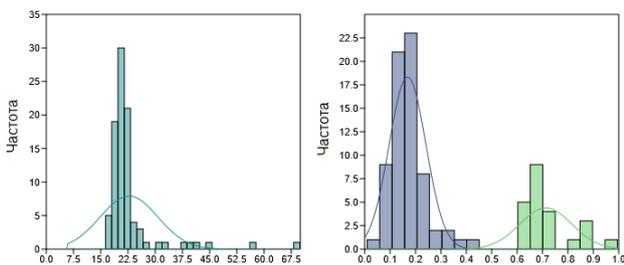


Рис. 5. Распределения показателей сходства при попарном выравнивании аминокислотных последовательностей (а) и пространственных структур (б) 14 эндоглюканаз (по оси абсцисс – идентичность, % (а) и TM-score (б))

Fig. 5. Distributions of identity values in pairwise alignment of amino acid sequences (a) and 3D-structures (b) of endoglucanases (the x-axis shows identity, % (a) and TM-score (b))

оно имеет характер нормального распределения с очень низкими средним (22,8%) и медианным (20,8%) значениями. Распределение уровней идентичности фолдов имеет выраженный двухвершинный характер с максимумами при степени сходства 0,16 и 0,67. Другими словами, в исследуемой выборке имеется подвыборка ферментов с низкой идентичностью последовательностей, но с высоким уровнем пространственного сходства. В эту группу входят как ферменты из относительно близкородственных таксонов, но с разным термооптимумом, так и эндоглюканазы из микроорганизмов, далеких в систематическом отношении, но обитающих в сходных температурных условиях. Например, бактериальные эндоглюканазы из мезофильного *Ruminiclostridium cellulolyticum* и термофильного *Acidothermus cellulolyticus* имеют значение TM-score 0,65 и идентичность последовательностей всего в 17%. А термофильные ферменты из археи *Pyrococcus horikoshii* и гриба *Thermoascus aurantiacus* похожи по структуре на 0,62 и по последо-

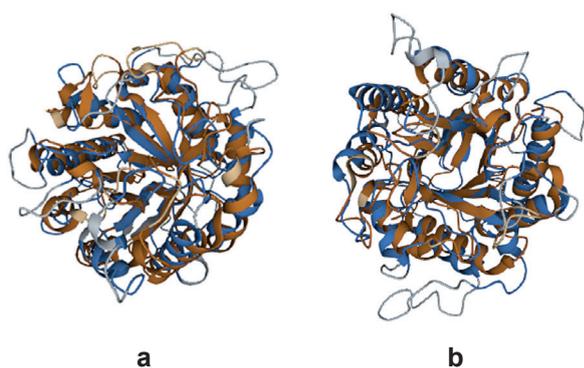


Рис. 6. Пример попарного выравнивания 3D-структур эндоглюканаз: а – *Acidothermus cellulolyticus* (PDB ID: 1ECE) и *Thermoascus aurantiacus* (PDB ID: 1GZJ); б – *Acidothermus cellulolyticus* (PDB ID: 1ECE) и *Pseudoalteromonas haloplanktis* (PDB ID: 1TVN)

Fig. 6. Example of pairwise alignment of endoglucanase 3D-structures: а – *Acidothermus cellulolyticus* (PDB ID: 1ECE) and *Thermoascus aurantiacus* (PDB ID: 1GZJ); б – *Acidothermus cellulolyticus* (PDB ID: 1ECE) and *Pseudoalteromonas haloplanktis* (PDB ID: 1TVN)

вательности на 20%. Термостабильные эндоглюканазы гриба *Thermoascus aurantiacus* и бактерии *Acidothermus cellulolyticus* имеют структурную идентичность 0,65, а идентичность последовательностей 21,8% (рис. 6, а). Соответствующие показатели бактериальных эндоглюканаз из термофила *Acidothermus cellulolyticus* и психрофила *Pseudoalteromonas haloplanktis* составляют 0,68 и 19,3% (рис. 6, б).

Таким образом, функциональные свойства эндоглюканаз могут определяться не столько их первичной структурой, сколько особенностями пространственной организации молекулы. Вероятно, естественный отбор в этом случае работает на закрепление вариантов фолда, наиболее оптимальных для работы ферментов при конкретных условиях, в том числе связанных с температурой среды обитания.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Клесов А.А., Григораш С.Ю. Ферментативный гидролиз целлюлозы. Регуляторное влияние нерастворимого субстрата на эффективность ферментативной реакции // Биохимия. 1982. Т. 47. N 3. С. 409–418.
2. Singhanian R.R., Adsul M., Pandey A., Patel A.K. Cellulases // Current developments in biotechnology and bioengineering / eds A. Pandey, S. Negi, C.R. Soccol. Elsevier, 2017. P. 73–101. DOI: 10.1016/B978-0-444-63662-1.00004-X.
3. Ahmed A., Bibi A. Fungal cellulase; production and applications: minireview // LIFE: International Journal of Health and Life-Sciences. 2018. Vol. 4, no. 1. P. 19–36. DOI: 10.20319/ijlhls.2018.41.1936.
4. Magrey A., Sahay S., Gothwal R. Cellulases for biofuel: a review // International Journal of Recent Trends in Science and Technology. 2018. P. 17–25. Available from: https://www.statperson.com/Journal/ScienceAnd-Technology/Article/SpecialIssue/ACAEE_4.pdf [Accessed 17th June 2024].
5. Srivastava N., Srivastava M., Mishra P.K., Gupta V.K., Molina G., Rodriguez-Couto S., et al. Applications of fungal

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В аминокислотных последовательностях исследованных эндоглюканаз не удалось выявить паттерны, связанные с адаптациями ферментов к предельным температурам: различия в первичной структуре ферментов закономерно отражают только принадлежность продуцентов к таксонам высшего ранга – грибам, бактериям и археям. В то же время аминокислотный профиль белков формируется в зависимости как от таксономических характеристик микроорганизмов, так и от температурных условий их среды обитания – относительные частоты некоторых аминокислот (E, I, Y, D, Q) достоверно различаются у ферментов с разными температурными оптимумами. Следовательно, эти аминокислоты принимают участие в поддержании оптимального (для конкретного температурного диапазона) баланса между устойчивостью молекулярной структуры и ее конформационной подвижностью, необходимой для каталитической активности ферментов. Такой баланс достигается за счет изменения и перераспределения контактов и связей внутри белковой глобулы, что сопровождается возникновением определенной пространственной укладки полипептидной цепи. Результатом подобного сочетания структурных факторов являются эндоглюканазы, которые при низкой идентичности последовательностей характеризуются высоким подобием пространственных структур.

Возможные механизмы столь значимых (в 3–4 раза) различий между показателями идентичности разных структурных уровней белка сводятся к двум альтернативным вариантам: либо это гомологичные белки, которые накопили большое количество аминокислотных замен, но сохранили исходную пространственную «упаковку», либо это неродственные белки, которые приобрели сходную 3D-структуру в процессе адаптации к выполнению конкретных функций. К сожалению, низкая доля в базах данных эндоглюканаз с известным пространственным строением препятствует проведению более глубокого анализа, поэтому для дальнейших исследований в данном направлении необходимо привлечение алгоритмов структурного моделирования.

cellulases in biofuel production: advances and limitations // Renewable and Sustainable Energy Reviews. 2018. Vol. 82. P. 2379–2386. DOI: 10.1016/j.rser.2017.08.074.

6. Chang W.H., Lai A.G. Mixed evolutionary origins of endogenous biomass-depolymerizing enzymes in animals // BMC Genomics. 2018. Vol. 19. P. 483. DOI: 10.1186/s12864-018-4861-0.

7. Thapa S., Mishra J., Arora N., Mishra P., Li H., O'Hair J., et al. Microbial cellulolytic enzymes: diversity and biotechnology with reference to lignocellulosic biomass degradation // Reviews in Environmental Science and Bio/Technology. 2020. Vol. 19. P. 621–648. DOI: 10.1007/s11157-020-09536-y.

8. Ajeje S.B., Hu Y., Song G., Peter S.B., Afful R.G., Sun F., et al. Thermostable cellulases / xylanases from thermophilic and hyperthermophilic microorganisms: current perspective // Frontiers in Bioengineering and Biotechnology. 2021. Vol. 9. P. 794304. DOI: 10.3389/fbioe.2021.794304.

9. Akram F., ul Haq I., Aqeel A., Ahmed Z., Shah F.I. Thermostable cellulases: structure, catalytic mechanisms,

directed evolution and industrial implementations // *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2021. Vol. 151. P. 111597. DOI: 10.1016/j.rser.2021.111597.

10. Akram F., ul Haq I., Imran W., Mukhtar H. Insight perspectives of thermostable endoglucanases for bioethanol production: a review // *Renewable Energy*. 2018. Vol. 122. P. 225–238. DOI: 10.1016/j.renene.2018.01.095.

11. Cai L.-N., Xu S.-N., Lu T., Lin D.-Q., Yao S.-J. Salt-tolerant and thermostable mechanisms of an endoglucanase from marine *Aspergillus niger* // *Bioresources and Bioprocessing*. 2022. Vol. 9. P. 44. DOI: 10.1186/s40643-022-00533-3.

12. Kasana R.C., Gulati A. Cellulases from psychrophilic microorganisms: a review // *Journal of Basic Microbiology*. 2011. Vol. 51, no. 6. P. 572–579. DOI: 10.1002/jobm.201000385.

13. Chavan S., Shete A., Mirza Y., Dharne M.S. Investigation of cold-active and mesophilic cellulases: opportunities awaited // *Biomass Conversion and Biorefinery*. 2023. Vol. 13. P. 8829–8852. DOI: 10.1007/s13399-021-02047-y.

14. Gupta S.K., Kataki S., Chatterjee S., Prasad R.K., Datta S., Vairale M.G., et al. Cold adaptation in bacteria with special focus on cellulase production and its potential application // *Journal of Cleaner Production*. 2020. Vol. 258. P. 120351. DOI: 10.1016/j.jclepro.2020.120351.

15. Yunus G., Kuddus M. Cold-active microbial cellulase: novel approach to understand mechanism and its

applications in food and beverages industry // *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. 2021. Vol. 10, no. 4. P. 524–530. DOI: 10.15414/jmbfs.2021.10.4.524-530.

16. Yusof N.A., Hashim N.H.F., Bharudin I. Cold adaptation strategies and the potential of psychrophilic enzymes from the Antarctic yeast, *Glaciozyma antarctica* PI12 // *Journal of Fungi*. 2021. Vol. 7, no. 7. P. 528. DOI: 10.3390/jof7070528.

17. Öten A.M., Atak E., Karaca B.T., Firtina S., Kutlu A. Discussing the roles of proline and glycine from the perspective of cold adaptation in lipases and cellulases // *Biocatalysis and Biotransformation*. 2023. Vol. 41, no. 4. P. 243–260. DOI: 10.1080/10242422.2022.2124111.

18. Waterhouse A., Bertoni M., Bienert S., Studer G., Tauriello G., Gumienny R., et al. SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes // *Nucleic Acids Research*. 2018. Vol. 46, no. W1. P. W296–W303. DOI: 10.1093/nar/gky427.

19. Tamura K., Stecher G., Kumar S. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11 // *Molecular Biology and Evolution*. 2021. Vol. 38, no. 7. P. 3022–3027. DOI: 10.1093/molbev/msab120.

20. Farias S.T., Bonato M.C.M. Preferred amino acids and thermostability // *Genetics and Molecular Research*. 2003. Vol. 2, no. 4. P. 383–393.

REFERENCES

1. Klyosov A.A., Grigorash S.Yu. Enzymatic hydrolysis of cellulose. Regulatory effect of the non-soluble substrate on the effectiveness of the enzymatic reaction. *Biokhimiya*. 1982;47(3):409-418. (In Russian).

2. Singhanian R.R., Adsul M., Pandey A., Patel A.K. Cellulases. In: Pandey A., Negi S., Soccol C.R. (eds). *Current developments in biotechnology and bioengineering*. Elsevier; 2017, p. 73-101. DOI: 10.1016/B978-0-444-63662-1.00004-X.

3. Ahmed A., Bibi A. Fungal cellulase; production and applications: minireview. *LIFE: International Journal of Health and Life-Sciences*. 2018;4(1):19-36. DOI: 10.20319/lijhls.2018.41.1936.

4. Magrey A., Sahay S., Goyalwal R. Cellulases for biofuel: a review. *International Journal of Recent Trends in Science and Technology*. 2018;17-25. Available from: https://www.statperson.com/Journal/ScienceAndTechnology/Article/SpecialIssue/ACAE_4.pdf [Accessed 17th June 2024].

5. Srivastava N., Srivastava M., Mishra P.K., Gupta V.K., Molina G., Rodriguez-Couto S., et al. Applications of fungal cellulases in biofuel production: advances and limitations. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2018;82:2379-2386. DOI: 10.1016/j.rser.2017.08.074.

6. Chang W.H., Lai A.G. Mixed evolutionary origins of endogenous biomass-depolymerizing enzymes in animals. *BMC Genomics*. 2018;19:483. DOI: 10.1186/s12864-018-4861-0.

7. Thapa S., Mishra J., Arora N., Mishra P., Li H., O'Hair J., et al. Microbial cellulolytic enzymes: diversity and biotechnology with reference to lignocellulosic biomass degradation. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*. 2020;19:621-648. DOI: 10.1007/s11157-020-09536-y.

8. Ajeje S.B., Hu Y., Song G., Peter S.B., Afful R.G., Sun F., et al. Thermostable cellulases / xylanases from thermophilic and hyperthermophilic microorganisms: current

perspective. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2021;9:794304. DOI: 10.3389/fbioe.2021.794304.

9. Akram F., ul Haq I., Aqeel A., Ahmed Z., Shah F.I. Thermostable cellulases: structure, catalytic mechanisms, directed evolution and industrial implementations. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2021;151:111597. DOI: 10.1016/j.rser.2021.111597.

10. Akram F., ul Haq I., Imran W., Mukhtar H. Insight perspectives of thermostable endoglucanases for bioethanol production: a review. *Renewable Energy*. 2018;122:225-238. DOI: 10.1016/j.renene.2018.01.095.

11. Cai L.-N., Xu S.-N., Lu T., Lin D.-Q., Yao S.-J. Salt-tolerant and thermostable mechanisms of an endoglucanase from marine *Aspergillus niger*. *Bioresources and Bioprocessing*. 2022;9:44. DOI: 10.1186/s40643-022-00533-3.

12. Kasana R.C., Gulati A. Cellulases from psychrophilic microorganisms: a review. *Journal of Basic Microbiology*. 2011;51(6):572-579. DOI: 10.1002/jobm.201000385.

13. Chavan S., Shete A., Mirza Y., Dharne M.S. Investigation of cold-active and mesophilic cellulases: opportunities awaited. *Biomass Conversion and Biorefinery*. 2023;13:8829-8852. DOI: 10.1007/s13399-021-02047-y.

14. Gupta S.K., Kataki S., Chatterjee S., Prasad R.K., Datta S., Vairale M.G., et al. Cold adaptation in bacteria with special focus on cellulase production and its potential application. *Journal of Cleaner Production*. 2020;258:120351. DOI: 10.1016/j.jclepro.2020.120351.

15. Yunus G., Kuddus M. Cold-active microbial cellulase: novel approach to understand mechanism and its applications in food and beverages industry. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. 2021;10(4):524-530. DOI: 10.15414/jmbfs.2021.10.4.524-530.

16. Yusof N.A., Hashim N.H.F., Bharudin I. Cold adaptation strategies and the potential of psychrophilic enzymes from the Antarctic yeast, *Glaciozyma antarctica*

PI12. *Journal of Fungi*. 2021;7(7):528. DOI: 10.3390/jof7070528.

17. Öten A.M., Atak E., Karaca B.T., Firtina S., Kutlu A. Discussing the roles of proline and glycine from the perspective of cold adaptation in lipases and cellulases. *Biocatalysis and Biotransformation*. 2023;41(4):243-260. DOI: 10.1080/10242422.2022.2124111.

18. Waterhouse A., Bertoni M., Bienert S., Studer G., Tauriello G., Gumienny R., et al. SWISS-MODEL: homology

modelling of protein structures and complexes. *Nucleic Acids Research*. 2018;46(W1):W296-W303. DOI: 10.1093/nar/gky427.

19. Tamura K., Stecher G., Kumar S. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution*. 2021;38(7):3022-3027. DOI: 10.1093/molbev/msab120.

20. Farias S.T., Bonato M.C.M. Preferred amino acids and thermostability. *Genetics and Molecular Research*. 2003;2(4):383-393.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Петухова Ольга Сергеевна,

аспирант,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация,
✉ petukhova4olga@gmail.com
<https://orcid.org/0009-0004-7785-4255>

Приставка Алексей Александрович,

к.б.н., доцент, доцент,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация,
pristavk@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-0724-8565>

Приставка Егор Алексеевич,

инженер-программист,
Институт солнечно-земной физики СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 126а,
Российская Федерация,
pristavkaegor03@gmail.com
<https://orcid.org/0009-0001-6981-0269>

Гавриков Дмитрий Евгеньевич,

к.б.н., доцент, доцент,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация,
dega.irk@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-0046-7762>

Саловарова Валентина Петровна,

д.б.н., профессор, заведующий кафедрой,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация,
vsalovarova@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-3693-9058>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Olga S. Petukhova,

Postgraduate Student,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
✉ petukhova4olga@gmail.com
<https://orcid.org/0009-0004-7785-4255>

Aleksei A. Pristavka,

Cand. Sci. (Biology), Associate Professor,
Associate Professor,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
pristavk@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-0724-8565>

Egor A. Pristavka,

Software Engineer,
Institute of Solar-Terrestrial Physics SB RAS,
126a, Lermontov St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
pristavkaegor03@gmail.com
<https://orcid.org/0009-0001-6981-0269>

Dmitrii E. Gavrikov,

Cand. Sci. (Biology), Associate Professor,
Associate Professor,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
dega.irk@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-0046-7762>

Valentina P. Salovarova,

Dr. Sci. (Biology), Professor, Department Chair,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
vsalovarova@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-3693-9058>

Вклад авторов

О.С. Петухова – сбор данных, проведение экспериментов, обработка полученных данных, обсуждение результатов, написание текста статьи.
А.А. Приставка – постановка задачи, разработка концепции исследования, обсуждение результатов, написание текста статьи.
Е.А. Приставка – разработка алгоритмов для выполнения исследований, обработка полученных данных.
Д.Е. Гавриков – обработка полученных данных.
В.П. Саловарова – систематизация данных.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 22.06.2024.
Одобрена после рецензирования 16.09.2024.
Принята к публикации 30.11.2024.

Contribution of the authors

Olga S. Petukhova – data collection, conducting experiments, data processing, results discussing, writing the text of manuscript.
Aleksei A. Pristavka – problem formulation, research concept development, results discussing, writing the text of manuscript.
Egor A. Pristavka – development of research algorithms, data processing.
Dmitrii E. Gavrikov – data processing.
Valentina P. Salovarova – data systematization.

Conflict interests

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

The final manuscript has been read and approved by all the co-authors.

Information about the article

The article was submitted 22.06.2024.
Approved after reviewing 16.09.2024.
Accepted for publication 30.11.2024.