

**IN SILICO РЕКОНСТРУКЦИЯ ФУКОИДАН-УТИЛИЗИРУЮЩИХ ЛОКУСОВ
МОРСКИХ БАКТЕРИЙ *FORMOSA ALGAE*, *FORMOSA HALIOTIS* И
*WENYINGZHUANGIA FUCANILYTICA***

Зуева А. О.¹, Сильченко А. С.², Ермакова С. П.³

¹Зуева Анастасия Олеговна - бакалавр,
кафедра биоорганической химии и биотехнологии,
Школа естественных наук,
Дальневосточный федеральный университет;

²Сильченко Артем Сергеевич – кандидат химических наук, научный сотрудник;

³Ермакова Светлана Павловна - доктор химических наук, заведующая лабораторией,
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова
Дальневосточное отделение Российской академии наук, г. Владивосток

Аннотация: микроорганизмы играют ключевую роль в метаболических процессах различных экосистем. Выявление микроорганизмов и метаболических путей, ответственных за деградацию полисахаридов бурых водорослей, является важным для понимания глобального метаболизма углеводов. Ферментативный аппарат морских бактерий, участвующий в катаболизме сульфатированных полисахаридов бурых водорослей, практически не изучен. В данной работе нами впервые представлен *in silico*-анализ фукоидан-утилизирующих локусов (FUL) морских бактерий *Formosa algae*, *Formosa haliotis* и *Wenyngzhuangia fucanilytica*. Методом сравнительной геномики определены границы оперонов и их регуляторы, предположена функция некоторых, ранее не изученных белков и предложен путь катаболизма сульфатированных фукозосодержащих полисахаридов морскими бактериями.

Ключевые слова: морские бактерии, геном, полисахариды бурых водорослей, фукоиданы, фукоидан-утилизирующий локус.

**IN SILICO RECONSTRUCTION OF FUCOIDAN UTILAZATION LOCI OF
FORMOSA ALGAE, *FORMOSA HALIOTIS* AND *WENYINGZHUANGIA
FUCANILYTICA***

Zueva A.¹, Silchenko A.², Ermakova S.³

¹Zueva Anastasiya - undergraduate, Department of bioorganic chemistry and biotechnology,
School of natural sciences,
Far eastern federal university;

²Silchenko Artem – PhD in chemistry, scientific researcher;

³Ermakova Svetlana – Doctor in chemistry, head of laboratory,
G.B. Elyakov pacific institute of bioorganic chemistry far eastern branch,
Russian academy of sciences, Vladivostok

Abstract: microorganisms play a key role in metabolic processes in different ecosystems. Determination of microorganisms and metabolic pathways responsible for the degradation of polysaccharides from brown algae is important for understanding of the global carbohydrate metabolism. Enzymatic machinery of marine bacteria that involved in the catabolism of sulfated polysaccharides from brown algae, practically has not been studied. In present work we describe *in silico*-analysis of fucoidan utilization loci (FUL) of marine bacteria *Formosa algae*, *Formosa haliotis* and *Wenyngzhuangia fucanilytica*. We identified the borders of operons and their transcriptional regulators, assume the function of some hypothetical proteins and proposed catabolic pathways of sulfated fucose-containing polysaccharides by marine bacteria.

Keywords: marine bacteria, genome, brown algae polysaccharides, fucoidan, fucoidan utilization loci.

УДК 577.151.52

Введение

Морские макроводоросли играют огромную роль в глобальном цикле углерода, а различные полисахариды составляют большую часть их сухого вещества. Выявление микроорганизмов и метаболических путей, ответственных за деградацию этих полисахаридов, является не только важным для понимания метаболизма углеводов, но также предлагает потенциал для производства биотоплива с использованием морских водорослей в качестве сырья.

Фукоиданы являются важным классом структурно-неоднородных сульфатированных полисахаридов, найденных в бурых водорослях. Однако, лишь немногие организмы, как было показано, способны

метаболизировать этот сложный полисахарид [1]. Эти полисахариды представлены сульфатированными фуканами, галактофуканами и сложными по составу гетерополисахаридами, в которых кроме остатков фукозы в большом количестве содержатся и другие моносахариды, такие как галактоза (Gal), манноза (Man), ксилоза (Xyl) и уроновые кислоты (U) [2]. Ферментативный аппарат морских бактерий, участвующий в катаболизме сульфатированных полисахаридов бурых водорослей, практически не изучен. Интерес к этим ферментам возрастает, поскольку они могут быть использованы как инструменты в изучении сложных молекул фукоиданов, обладающих широким спектром биологических активностей [3-5].

Ферменты, которые могут деполимеризовать молекулы фукоиданов, слабо изучены [1]. Гипотетически, в его расщеплении могут принимать участие фукоиданазы, сульфатазы, фукозидазы, различные гликозидазы, а так же лиазы. Штаммы морских микроорганизмов, способные катаболизировать молекулы фукоиданов, в основном, являются изолятами донных отложений [6-8], морских водорослей и беспозвоночных [9-11]. Имеются публикации о нуклеотидных последовательностях геномов некоторых из них [12, 13].

Гены, кодирующие деполимеризацию полисахаридов в бактериях, относящихся к типу *Bacteroidetes*, часто организованы в большие опероны или регулоны, которые называются полисахарид-утилизирующими локусами (PULs) [14]. Эти локусы обычно кодируют SusC- и SusD-подобные белки, а также транскрипционные регуляторы и различные транспортеры [15]. Эти белки участвуют в регуляции транскрипции оперонов, захвате продуктов расщепления полисахаридов и поступлении этих продуктов внутрь бактериальной клетки. Каждый локус имеет свою специализацию. В зависимости от типа расщепляемого полисахарида различается состав генов входящих в локус. К примеру, в катаболизме растительных ксиланов, состоящих из остатков глюкозы, ксилозы и фукозы, участвуют, по меньшей мере, 10 генов, кодирующих различные гликозидгидролазы (GH) и полисахарид-связывающие модули (CBM) [14].

Устройство фукоидан-утилизирующих локусов морских бактерий до сих пор не описано. Поиск этих локусов и характеристика белков кодируемых ими являются не только ключом к пониманию катаболизма фукоиданов, но и помогут создать модифицированные микроорганизмы с желаемым ферментативным аппаратом, как для эффективной конверсии биомассы водорослей, так и получения различных биологически активных олигосахаридов.

Результаты и их обсуждение

Ранее было показано, что штамм морской бактерии *Formosa algae* является продуцентом фукоиданаз [16]. Геном данной бактерии был секвенирован (GenBank: GCA_001439665.1) и проведен поиск генов-гомологов фукоиданаз (GH107) 107 семейства гликозидгидролаз (GH, CAZy). В результате были обнаружены два гена кодирующие фукоиданазы (Рисунок 1, *F. algae*, номера 31 и 32). Гены, находящиеся в непосредственной близости к генам фукоиданаз, подвергались тщательному анализу и ручному аннотированию.

Границы фукоидан-утилизирующего локуса (FUL) *F.algae* были определены по наличию транскрипционного регулятора *LytTR* и гена кодирующего транспозазу. FUL *F.algae* на начальном этапе его реконструкции представлял собой кластер из 17 различных генов (рисунок 1, *F.algae*, гены 23-38). Для уточнения структуры фукоидан-утилизирующего локуса *F. algae* (FUL_F.a.) и его сравнения с другими микроорганизмами был использован метод сравнительной геномики. Алгоритм BLASTp был применен для поиска белков - гомологов FUL_F.a., что позволило выявить 14 ортологов генов FUL_F.a., включая фукоиданазы, в геномах *Formosa haliotis* LMG 28520 (GenBank: GCA_001685485.1) и *Wenyngzhuangia fucanilytica* CZ1127 (GenBank: GCA_001697185.1).

Некоторые гены-ортологи FUL_F.a. были обнаружены в морских бактериях *Polaribacter* sp. KT25b (GenBank: GCA_900105145.1), *Flagellimonas* sp. DK169 (GenBank: GCA_001413955.1), *Tamlana sedimentorum* JCM 19808 (GenBank: GCA_000943565.1), *Rhodopirellula* sp. SWK7 (GenBank: GCA_000346425.1) и *Echinicola pacifica* DSM 19836 (GenBank: GCA_000373245.1) (таблица 1).

Стоит отметить, что все ортологи генов FUL_F.a. в этих организмах находились внутри одного локуса. Локусы данных организмов аналогично FUL_F.a. имели в своем составе гены, кодирующие сульфатазы (SE) и фукозидазы (GH29 и GH95), за исключением генов фукоиданаз GH107. Можно предположить, что часть из этих микроорганизмов способны расщеплять молекулы фукозосодержащих сульфатированных полисахаридов, либо являются частью сообщества микроорганизмов, которые принимают в этом участие.

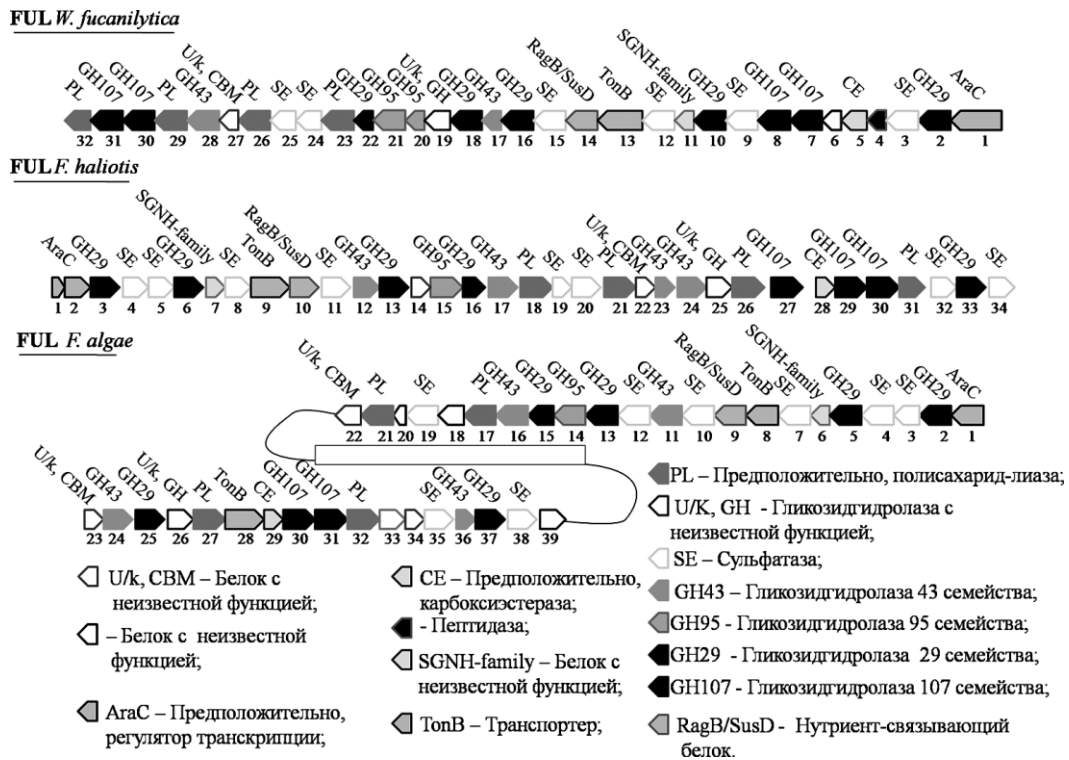


Рис. 1. Структура фукоидан-утилизирующих локусов (FUL) морских бактерий *W. fucanilytica*, *F. haliotis* и *F. Algae*

Таблица 1. Ортологи генов *FUL_F.a.* присутствующие в некоторых штаммах бактерий

Штаммы бактерий	Семейство	Номера генов-ортологов <i>FPUL_F.a</i> (номера соответствуют рисунку 1, <i>F.algae</i>)
<i>Polaribacter</i> sp. KT25b	<i>Flavobacteriaceae</i>	25 (GH29); 28 (TonB); 29 (CE); 38 (SE).
<i>Flagellimonas</i> sp. DK169	<i>Flavobacteriaceae</i>	25 (GH29); 29 (CE); 33 (U/k); 34 (U/k); 36 (GH43).
<i>T. sedimentorum</i> JCM 19808	<i>Flavobacteriaceae</i>	25 (GH29); 26 (U/k, GH); 28 (TonB); 29 (CE); 35 (SE); 36 (GH43); 37 (GH29).
<i>Rhodopirellula</i> sp. SWK7	<i>Planctomycetaceae</i>	25 (GH29); 26 (U/k, GH); 27 (PL); 28 (TonB); 29 (CE); 32 (PL); 35 (SE); 36 (GH43); 37 (GH29); 38 (SE).
<i>E. pacifica</i> DSM 19836	<i>Cyclobacteriaceae</i>	29 (CE); 27 (PL); 35 (SE); 38 (SE).

Анализ *FUL F. haliotis* (*FUL_F.h.*) и *W. fucanilytica* (*FUL_W.f.*) позволил уточнить организацию *FUL* в целом. *FUL_F.h.* и *FUL_W.f.* представлены 33 и 32 различными генами (рисунок 1, таблица 2). Предполагаемые опероны *FUL* этих микроорганизмов регулируются *AraC*-подобным транскрипционным регулятором. В *FUL_F.h.* и *FUL_W.f.* присутствуют, гомологичные между собой, гены *Sus* системы (Starch utilizing system), представленные *RagB/SusD* –нутриент-связывающим белком и пориноподобным *TonB*-зависимым транспортером. Суть работы этой системы состоит в захвате коротких олигосахаридов белком *RagB/SusD*, продуктов действия гликозидгидролаз и их транспорте через наружную мембрану в периплазматическое пространство с помощью транспортера, где осуществляется их дальнейшее расщепление до моносахаридов [17]. Участие этой системы в катаболизме различных полисахаридов характерна для бактерий типа *Bacteroidetes* [14], однако, не была описана ранее для катаболизма фукоиданов.

Таблица 2. Расшифровка функции генов *FUL* морских бактерий *F. algae*, *F. haliotis* и *W. Fucanilytica*

Название генов в <i>FUL</i>	КФ шифр	Функция	Количество генов в <i>FUL</i>		
			<i>FUL_F.a.</i>	<i>FUL_F.h.</i>	<i>FUL_W.f.</i>
<i>GH107</i>	3.2.1.-; 3.2.1.44	Эндо-гликозидгидролазы. Гидролиз гликозидных связей между 1,3- или 1,4-связанными остатками сульфатированной α -L-фукозы внутри основной цепи фукоиданов.	2	3	4
<i>GH29</i>	3.2.1.51;	Отщепление α -L-фукозы	6	5	5

	3.2.1.11; 3.2.1.63; 3.2.1.-	связанных 1,3/1,4- гликозидными связями.			
GH95	3.2.1.51; 3.2.1.63; 3.2.1.-.	Отщепление α -L-фукозы связанных 1,2-гликозидными связями. β -Галактозидаза широкой специфичности действия.	1	1	2
GH43	3.2.1.37; 3.2.1.55; 3.2.1.99; 3.2.1.8; 3.2.1.145.	β -Ксилозидаза; α -L-арабинофуранозидаза; арабиназа; ксилазидаза; галактан 1,3- β -галактозидаза; β -1,3-ксилозидаза	4	4	2
SE	3.1.6.-	Сульфэстеразы. Гидролиз сульфэфирных связей.	8	8	6
CE	3.1.1.-	Предположительно, карбоксиэстеразы. Отщепление карбоксильных групп.	1	1	1
PL	4.2.2.-	Гипотетические полисахарид-лиазы. Расщепление гликозидных связей между остатками уроновых кислот или уроновой кислотой и другим моносахоридным остатком, по механизму β -элиминирования.	4	4	4
U/k, CBM6	-	Функция неизвестна.	2	1	1
U/k, GH	-	Функция неизвестна. Предсказанный фолд (β/α) ₈ – характерен для большинства гликозидаз (в основном экзо-типа).	1	1	1
SGNH-family	3.1.1.-	Предположительно ацетилэстераза. Гидролаза, которая отщепляет ацетатные группы от различных соединений, в том числе от моно- и полисахаридов.	1	1	1
TonB	-	TonB-зависимый транспортер. Транспорт моно- и олигосахаридов через наружную мембрану в периплазматическое пространство.	2	1	1
RagB/SusD	-	Нутриент-связывающий белок. Мембранный белок. Связывает олигосахариды в непосредственной близости от транспортера.	1	1	1
AraC	-	Регулятор транскрипции. Иницирует начало транскрипции оперонов.	1	1	1

Гены AraC, TonB, RagB/SusD, различные гликозидгидролазы, сульфатазы и полисахарид-лиазы, гомологичные генам FUL_F.h. и FUL_W.f., так же обнаружены и в *F. algae*, однако, они присутствовали в другой области генома нежели область локализации фукоиданаз GH107 (рисунок 1, *F. algae*, номера генов 1-22). Это может быть результатом транслокации части генов FUL_F.a. в другую область генома *F. algae*, свидетельством этого служат гены, кодирующие транспозазы, которые расположены в непосредственной близости. Таким образом FUL_F.a. был разорван на две части (рисунок 1).

Наличие генов фукозидаз (GH29 и GH95), сульфатаз (SE) и фукоиданаз (GH107) указывает на способность FUL расщеплять сульфатированные фуканы, которые встречаются в бурых водорослях и некоторых представителях иглокожих [2]. Фукансульфаты различаются типом гликозидных связей между остатками фукозы и положением сульфатных групп в их молекулах. Наличие большого разнообразия генов кодирующих GH29, SE и GH107 (таблица 2) указывает на их различную специфичность действия.

Во всех исследуемых FUL обнаружены гены предположительно кодирующие полисахарид-лиазы (PL). Гомологи этих генов отсутствовали в базе данных CAZy, однако, PSI-BLAST и InterProScan выявили наличие в PL доменов пектин-лиаз и, в некоторых случаях, гепариназ. Фукоиданы различных видов бурых водорослей имеют различную структуру и моносахоридный состав. Часто в составе фукоиданов встречаются остатки глюкуроновой кислоты (GlcUA), остатки других уроновых кислот в

фукоиданах пока не обнаружены [18]. Вероятно, PL участвуют в расщеплении гликозидных связей между остатками GlcUA-GlcUA или GlcUA и остатком другого моносахарида, например фукозой (Fuc) или галактозой (Gal), которые часто присутствуют в фукоиданах [2]. На сегодняшний день известна только одна лиаза, действующая на фукоидан [19]. Однако, гены PL FUL не являются гомологами описанной фукоидан-лиазы.

В FUL присутствует большое число генов GH43, которые действуют на ксилозосодержащие полисахариды [14, 20]. Остатки ксилозы (Xyl) так же обнаружены в фукоиданах, однако, часто содержатся в минорных количествах. Вероятно, ферменты семейства GH43 действуют на сульфатированный ксилофукоглокуронаны (рисунок 2), которые как и фукоиданы присутствуют в клеточной стенке бурых водорослей [21]. Гены, кодирующие PL, GH29, GH95 и SE, так же могут принимать участие в расщеплении этого типа полисахаридов. Наличие всех вышеперечисленных генов указывает на широкую специализацию локусов FUL, способных расщеплять не только сульфатированные фуканы, но и сложные фукозосодержащие полисахариды (рисунок 2).

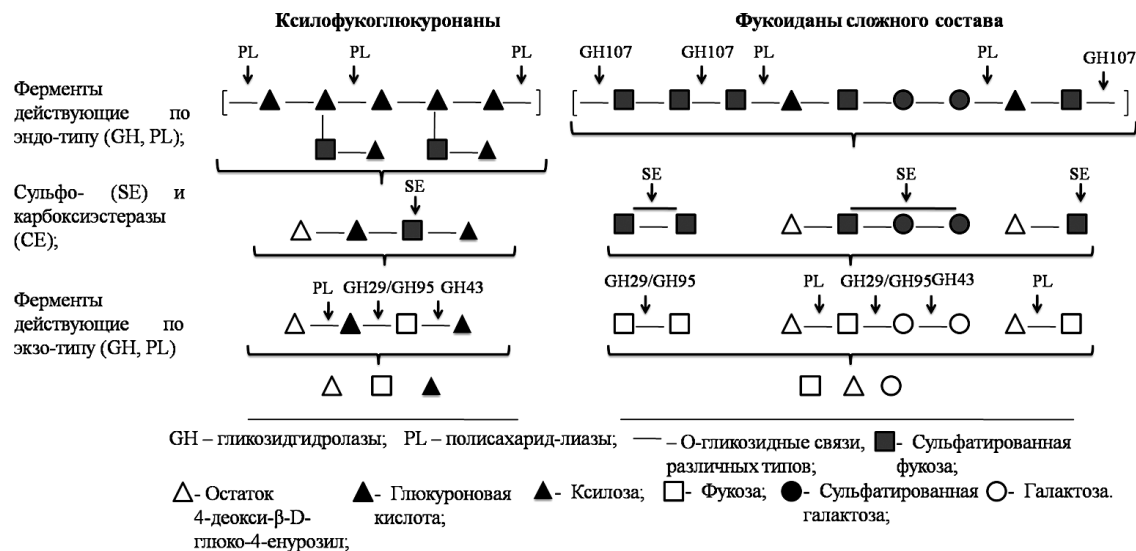


Рис. 2. Схематическое действие ферментной системы FUL на модели фукозосодержащих полисахаридов сложного состава

Часть генов FUL не поддается анотированию ввиду отсутствия какой либо информации о доменной организации этих белков в существующих на сегодняшний день базах данных. Дальнейшее изучение продуктов генов FUL методами структурной биологии поможет установить взаимосвязь между структурой и функцией новых, не изученных ранее, белков и ответить на вопрос о том, каким образом функционирует FUL.

Заключение

Показано, что, как и большинство PULs бактерий типа Bacterioidetes, в состав фукоидан-утилизирующих локусов входят гены, кодирующие Sus-подобные белки и транскрипционные регуляторы. В состав FUL входит большое количество различных фукоиданаз (GH107), фукозидаз (GH29 и GH95) и сульфатаз (SE), что является закономерным и согласуется со структурой фукансульфатов. Наличие генов, кодирующих другие гликозидазы (GH) и полисахарид-лиазы (PL), указывает на способность этих локусов расщеплять не только фукансульфаты, но и фукоиданы сложного состава. Таким образом, в данной работе впервые представлена информация об организации FUL: определены границы оперонов и их регуляторы, предположена функция некоторых, не изученных ранее белков и предложен путь катаболизма сульфатированных фукозосодержащих полисахаридов морскими бактериями.

Материалы и методы

Поиск гомологов фукоиданаз 107 структурного семейства (GH107, CAZy) проводили методом BLASTp в базе данных NCBI. Нуклеотидные последовательности геномов морских бактерий, содержащие гены GH107, подвергались автоматизированному анотированию с помощью сервера RAST [22]. Для анализа, реконструкции и визуализации генов использовали программное обеспечение Artemis [23]. Наличие сигнальных последовательностей определяли с помощью ServerIP [24]. Доменную организацию белков и их функцию определяли с помощью IntrProScan [25]. Принадлежность белков к семействам гликозидгидролаз (GH), полисахарид-лиаз (PL) и эстераз (SE, CE) проводили с помощью dbCAN HMMs и алгоритма BLASTp базы данных CAZy [26], достоверными считали значения, где «E-value» было не ниже $1e-30$, а идентичность не меньше 30 %. Белки с неизвестной функцией подвергались дополнительному анализу путем поиска генов-ортологов, с помощью BLASTp (NSBI) в других

организмах и дополнительным анализом соседних генов в организмах, которых они встречаются (реконструкция функции локуса). На основании предсказанной функции расположенных рядом генов выстраивалась гипотеза о функции этих белков.

Благодарность

Данна работа выполнена при поддержке гранта программы Дальний восток - «Исследования биологически активных веществ с участием студентов, аспирантов и молодых ученых как путь подготовки квалифицированных кадров» (№ 15-I-5-002 о).

Список литературы / References

1. Kusaykin M. I., Silchenko A.S., Zakharenko A. M., Zvyagintseva T. N. Fucoidanases // *Glycobiology*, 2015. V. 1. P. 1–10.
2. Li B., Lu F., Wei X., Zhao R. Fucoidan: Structure and Bioactivity // *Molecules*, 2008. V. 13. P. 1671-1695.
3. Zonga A., Cao H., Wang F. Anticancer polysaccharides from natural resources: A review of recent research // *Carbohydr. Polym.*, 2012. V. 90. P. 1395-1410.
4. Hayashi K., Nakano T., Hashimoto M., Kanekiyo K., Hayashi T. Defensive effects of a fucoidan from brown alga *Undaria pinnatifida* against herpes simplex virus infection // *Int. J. Immunopharmacol.*, 2008. V. 8, N 1. P. 109-116.
5. Collic S., Jozefonvicz J. A low molecular weight fucoidan fraction from the brown seaweed *Pelvetia canaliculata* // *The International Journal of Plant Biochemistry*, 1994. V. 35. № 3. P. 697-700.
6. Descamps V., Colin S., Lahaye M., Jam M., Richard C., Potin P., Barbeyron T., Yvin J., Kloareg B. Isolation and culture of a marine bacterium degrading the sulfated fucans from marine brown algae // *Mar. Biotechnol.*, 2006. V. 8. № 1. P. 27–39.
7. Woo-Jung K., Kim S., Lee Y., Kim H., Kim H., Moon S., Suh H., Jang K., Park Y. Isolation and characterization of marine bacterial strain degrading fucoidan from korean *Undaria pinnatifida* sporophylls // *J. Microbiol. Biotechnol.*, 2008. V. 18. № 4. P. 616-623.
8. Barbeyron T., L'Harold S., Michel G., Czjzek M. *Mariniflexile fucanivorans* sp. nov., a marine member of the *Flavobacteriaceae* that degrades sulphated fucans from brown algae // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2008. V. 58. P. 2107-2113.
9. Chang Y., Xue C., Tang Q., Li D., Wu X., Wang J. Isolation and characterization of a sea cucumber fucoidan utilizing marine bacterium // *Lett. Appl. Microbiol.*, 2010. V. 50. № 3. P. 301–307.
10. Sakai T., Ishizuka K., Shimanaka K., Ikai K., Kato I. Structure of oligosaccharides derived from *Cladosiphon okamuranus* fucoidan by digestion with marine bacterial enzymes // *Mar. Biotechnol.*, 2003. V. 5. № 6. P. 536-544;
11. Бакунина И. Ю., Шевченко Л. С., Недашковская О. И., Шевченко Н. М., Алексеева С. А., Михайлов В. В., Звягинцева Т. Н. Поиск фукоидан-гидролаз среди морских микроорганизмов // *Микробиология*, 2000. Т. 69. № 3. С. 370-376.
12. Tanaka R., Mizutani Y., Shibata T., Miyake H., Iehata S., Mori T., Kuroda K., Ued M. Genome Sequence of *Formosa haliotis* Strain MA1, a Brown Alga-Degrading Bacterium Isolated from the Gut of Abalone *Haliotis gigantean* // *Genome Announc.*, 2016. V. 4. № 6. P. 1312-1316.
13. Chen F., Chang Y., Dong S., Xue C. *Wenyngzhuangia fucanilytica* sp. nov., a sulfated fucan utilizing bacterium isolated from shallow coastal seawater // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2016. V. 66: P. 3270-3275.
14. Sonnenburg E. D., Sonnenburg J. L., Manchester J. K., Hansen E. E., Chiang H. C., Gordon J.I. A hybrid two-component system protein of a prominent human gut symbiont couples glycan sensing *in vivo* to carbohydrate metabolism // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2006. V. 103. P. 8834–8839.
15. Larsbrink J., Rogers T. E., Hemsworth G. R., McKee L. S., Tauzin A. S., Spadiut O., Klintner S., Pudlo N. A., Urs K., Koropatkin N. M., Creagh A. L., Haynes C. A., Kelly A. G., Cederholm S. N., Davies G. J., Martens E. C., Brumer H. A discrete genetic locus confers xyloglucan metabolism in select human gut Bacteroidetes // *Nature*, 2014. V. 506. № 7489. P. 498–502.
16. Silchenko A. S., Kusaykin M. I., Kurilenko V. V., Zakharenko A. M., Isakov V. V., Zaporozhets T. S., Gazha A. K., Zvyagintseva T. N. Hydrolysis of Fucoidan by Fucoidanase Isolated from the Marine Bacterium *Formosa algae* // *Mar. Drugs*, 2013. V. 11. P. 2413-2430.
17. Koropatkin N. M., Martens E. C., Gordon J. I., Smith T. J. Starch catabolism by a prominent human gut symbiont is directed by the recognition of amylose helices // *Structure*, 2008. V. 16. № 7. P. 1105–1115;
18. Leite E. L., Medeiros M. G. L., Rocha H. A. O., Farias G. G. M., da Silva L. F., Chavante S. F., de Abreu L. D., Dietrich C. P., Nader H. B. Structure and pharmacological activities of a sulfated xylofucoglucuronan from the alga *Spatoglossum schroederi* // *Plant Science*, 1998. V. 132. P. 215–228.
19. Sakai T., Kimura H., Kato I. Purification of sulfated fucoglucuronomannan lyase from bacterial strain of *Fucobacter marina* and study of appropriate conditions for its enzyme digestion // *Mar. Biotechnol.*, 2003. Vol. 5. № 4. P. 380-387;

20. Youssef N. H., Farag I. F., Rinke C., Hallam S. J., Woyke T., Elshahed M. S. *In Silico* Analysis of the Metabolic Potential and Niche Specialization of Candidate Phylum "Latescibacteria" (WS3) // PLoS ONE, 2015. V.10. № 6. e0127499.
21. Michel G., Tonon T., Scornet D., Cock J.M., Kloareg B. The cell wall polysaccharide metabolism of the brown alga *Ectocarpus siliculosus*. Insights into the evolution of extracellular matrix polysaccharides in Eukaryotes // New Phytologist., 2010. V. 188. P. 82–97.
22. Aziz R. K., Bartels D., Best A. A., DeJongh M., Disz T., Edwards R. A., Formsma K., Gerdes S., Glass E. M., Kubal M., Meyer F., Olsen G. J., Olson R., Osterman A. L., Overbeek R. A., McNeil L. K., Paarmann D., Paczian T., Parrello B., Pusch G. D., Reich C., Stevens R., Vassieva O., Vonstein V., Wilke A., Zagnitko O. The RAST Server: Rapid Annotations using Subsystems Technology // BMC Genomics, 2008. V. 9. № 75.
23. Rutherford K., Parkhill J., Crook J., Horsnell T., Rice P., Rajandream M. A., Barrell B. Artemis: sequence visualization and annotation // Bioinformatics, 2000. V. 16. № 10. P. 944-955.
24. Petersen T. N., Brunak S., von Heijne G., Nielsen H. Signal P 4.0: discriminating signal peptides from transmembrane regions // Nature Methods., 2011. V. 8. P. 785-786.
25. Jones P., Binns D., Chang H.-Y., Fraser M., Li W., McAnulla C., McWilliam H., Maslen J., Mitchell A., Nuka G., Pesseat S., Quinn A. F., Sangrador-Vegas A., Scheremetjew M., Yong S.-Y., Lopez R., Hunter S. InterProScan 5: genome-scale protein function classification // Bioinformatics, 2014. V. 30. № 9. P. 1236-1240.
26. Yin Y., Mao X., Yang J., Chen X., Mao F., Xu Y. dbCAN: a web resource for automated carbohydrate-active enzyme annotation // Nucleic Acids Res., 2012. V. 40. P. 445–453.