

ОГЛЯДОВІ ПРАЦІ

УДК 66.065.25:615.46:577

[https://doi.org/10.18524/2307-4663.2026.1\(66\).360389](https://doi.org/10.18524/2307-4663.2026.1(66).360389)

ШТАМИ-ПРОДУЦЕНТИ ГІАЛУРОНОВОЇ КИСЛОТИ, ШЛЯХИ ЇХ УДОСКОНАЛЕННЯ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ПРОМИСЛОВОГО ВИКОРИСТАННЯ

Н. В. Двінських <https://orcid.org/0000-0003-3811-9317>

Н. В. Хохленкова <https://orcid.org/0000-0003-1676-7591>

Національний фармацевтичний університет,
вул. Г. Сковороди, 53, м. Харків, 61002, Україна,
тел. +380667271373, e-mail: begunova1203@gmail.com

*В умовах зростаючого попиту на гіалуронову кислоту (ГК) у фармацевції, медицині та косметології, спричиненого її унікальними властивостями (гідратація, регенерація тканин, відновлення в'язкості суглобової рідини), актуальною є проблема її безпечного та масштабного виробництва. Традиційні джерела (тваринні тканини) та патогенні мікробні продуценти (*Streptococcus zooepidemicus*) мають суттєві обмеження щодо масштабованості та ризику контамінації ендотоксинами. Це стимулює перехід до рекомбінантних штамів зі статусом GRAS. **Мета** дослідження полягала в аналізі сучасних продуцентів ГК, стратегій їх удосконалення та перспектив застосування для промислового мікробного синтезу.*

*Проведено огляд продуцентів, де особливу увагу приділено непатогенній бактерії *Corynebacterium glutamicum* — перспективній платформі для гетерологічного синтезу ГК. За даними наукових статей з наукометричних баз даних (як Google Scholar та PubMed) виявлено значні результати системної метаболічної інженерії, спрямованої на підвищення продуктивності *C. glutamicum*. Вони включають інтеграцію генів біосинтезу (*hasA*, *hasB*, *hasC*), покращення поглинання субстрату, оптимізацію енергетичного балансу та блокування конкуруючих шляхів, таких як утворення лактату. З'ясовано, що рекомбінантні штами здатні досягати високих титрів ГК у режимі культивування з підживленням (*fed-batch*), забезпечуючи при цьому керованість молекулярною масою. Дані з проаналізованих джерел дають змогу зробити висновок, що ГК, отримана мікробним синтезом, має значні перспективи застосування в медицині (ортопедія, офтальмологія, дерматологія) та косметології (антивіковий ефект, філери) через високий рівень чистоти, контрольованість молекулярної маси, відсутність вірусних та пріонних забруднень, економічні переваги (потенціал до збільшення обсягів виробництва та нижча собівартість, ніж при використанні тваринної сировини).*

*Перехід до використання GRAS-продуцентів, зокрема *C. glutamicum*, забезпечує високу чистоту, безпеку та масштабованість, необхідні для відповідності вимогам Належної виробничої практики (GMP). Метаболічна інженерія є ключовою стратегією, що дозволяє не лише збільшувати вихід продукту, а й забезпечити синтез ГК з потрібною молекулярною масою. Подальше вдосконалення штамів, використання альтернативних субстра-*

© Н. В. Двінських, Н. В. Хохленкова, 2026



Це стаття відкритого доступу за ліцензією [CC BY 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).



тів для культивування та автоматизація біопроектів забезпечать стійке та економічно ефективно виробництво високоякісної ГК для задоволення потреб світового ринку.

Ключові слова: гіалуронова кислота, GRAS-продуценти, *Corynebacterium glutamicum*, метаболічна інженерія, біосинтез.

Гіалуронова кислота: будова, основні функції, використання в медицині, косметології, харчовій промисловості та інших галузях

В останні роки зростає попит на гіалуронову кислоту (ГК) в фармації, медицині, косметичі та інших галузях через її унікальні біологічні властивості та широкий спектр застосувань. Особливу увагу привертають дослідження зі стратегій та методів, спрямованих на удосконалення біосинтезу цього біополімера.

Гіалуронова кислота — природний лінійний глікозаміноглікан, що складається з повторюваних дицукридних одиниць N-ацетил-D-глюкозаміну та D-глюкуронової кислоти (рис. 1). Молекулярна маса варіює від 100 кДа до 10 МДа (10^5 – 10^7 Да), визначаючи в'язкопружні властивості. ГК є ключовим компонентом позаклітинного матриксу сполучної, епітеліальної та нервової тканин. Практично половина від загального обсягу ГК в людському організмі міститься в шкірі, друга половина — в зв'язках, сухожиллях, хрящах, нервах, волоссі та склоподібному тілі [2, 5, 17, 24].

Завдяки унікальній здатності утримувати воду в кількості, що в 1000 разів перевищує масу самої ГК, цей біополімер забезпечує гідrataцію, еластичність та амортизацію тканин. З віком синтез ГК знижується: до 50 років її

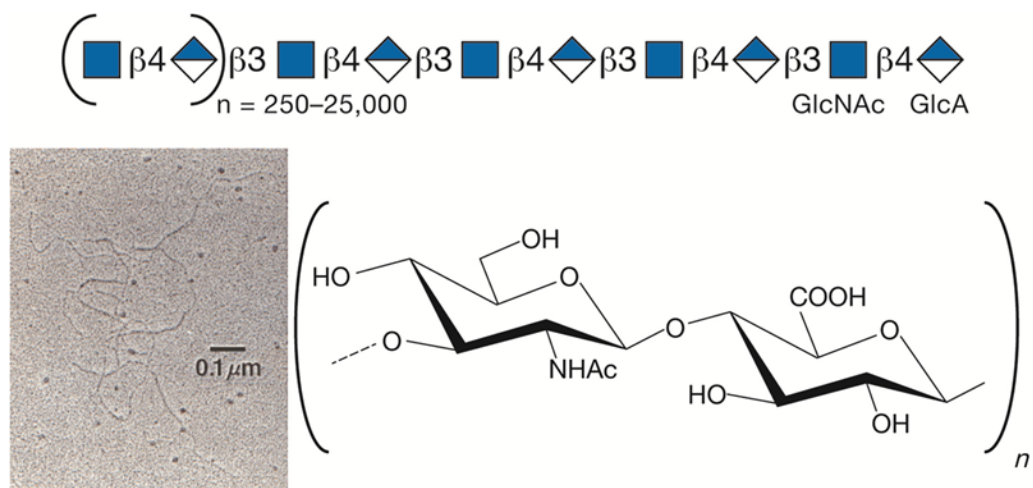


Рис. 1. Молекулярна структура повторюваних дицукридних одиниць, що складаються з N-ацетилглюкозаміну (GlcNAc) та глюкуронової кислоти (GlcA) (Електронна мікрофотографія надана доктором Річардом Мейном та доктором Рендольфом Брютоном, Університет Алабами в Бірмінгемі) [22].

Fig. 1. Molecular structure of repeating disaccharide units composed of N-acetylglucosamine and glucuronic acid, (Electron micrograph provided by Dr. Richard Mayne and Dr. Randolph Brewton, University of Alabama at Birmingham.) [22].



кількість в організмі стає вдвічі меншою, що призводить до дегенеративних змін [1, 2, 19].

Основні функції ГК [1, 2, 10, 17, 19, 24]:

- забезпечення гідrataції тканин. Підтримуючи зволоження шкіри, ГК допомагає її відновити та зменшити появу дрібних зморшок, покращує еластичність, роблячи шкіру більш пружною та молодюю;
- регенерація епітелію, ушкоджених тканин при ранах, опіках, стимуляція проліферації фібробластів, участь в ангиогенезі;
- відновлення в'язкості синовіальної рідини, що зменшує біль у суглобах, збільшує еластичність, покращує рухливість, стимулює відновлення хрящової тканини;
- реабілітація слизових оболонок у післяопераційні періоди, при вагінальної сухості, при лікуванні інтерстиціального циститу;
- модуляція імунітету: взаємодія з CD44-рецептором, трансмембранним глікопротеїном на поверхні імунних клітин (макрофагів, Т-лімфоцитів, дендритних клітин). CD44 розпізнає ГК різної молекулярної маси, що визначає ефект. Високомолекулярна ГК (>1000 кДа) зв'язується з CD44, стабілізуючи клітинні взаємодії, зменшуючи вироблення прозапальних цитокінів. Це сприяє антизапальній відповіді, регенерації тканин і толерантності (наприклад, у ранах). Низькомолекулярна ГК (<500 кДа) активує CD44, запускає посилення прозапальної відповіді: активацію макрофагів, хемотаксис, вироблення IL-1 β , IL-12. Це корисно для імунного захисту, але може спричинити хронічне запалення при патологічних станах (при раку, артриті);
- протизапальні властивості сприяють зменшенню почервоніння та подразнення. Це зумовлює використання ГК в засобах для чутливої шкіри, а також для лікування розацеа або екземи.

Вказані функції зумовлюють використання ГК в медицині – у дерматології, ортопедії та травматології, в офтальмології, хірургії та регенеративній медицині, урології та гінекології, тощо.

У ветеринарній медицині ГК застосовують для лікування захворювань суглобів у тварин, для прискорення загоєння ран [2, 19].

У косметології ГК є ключовим компонентом ін'єкційних та дермальних філерів для корекції зморшок, препаратів для збільшення об'єму губ, контурної пластики обличчя. Вона входить до складу засобів для зволоження шкіри, підвищення її пружності та захисту від старіння. ГК діє як потужний гідрантант, формуючи захисну плівку на поверхні шкіри, зменшуючи трансепідермальні втрати води.

У косметиці використовують і високомолекулярну ГК (800–2250 кДа), і низькомолекулярну (20–300 кДа). Перша залишається на поверхні шкіри, утворює захисну плівку, зменшує втрату вологи, забезпечує миттєвий ефект зволоження, розгладжує і захищає шкіру від зовнішніх факторів, але не проникає глибоко. Друга проникає у глибші шари епідермісу, забезпечує глибоке зволоження, стимулює вироблення колагену, підвищує еластичність шкіри та зменшує зморшки, має виражений антивіковий ефект.

Більшість сучасних косметичних засобів містять комбінацію різних молекулярних фракцій ГК для досягнення комплексного антивікового ефекту [1, 2, 4, 19, 24].



У фармацевтичній практиці ГК застосовується як допоміжна речовина у складі багатьох лікарських форм для пролонгації дії активних компонентів, підвищення біодоступності, покращення реологічних властивостей [2, 15, 19].

У харчовій промисловості ГК використовується як функціональний інгредієнт у продуктах для підтримки здоров'я суглобів, зволоження шкіри та покращення стану волосся [2, 19].

Зростання попиту на ГК у фармації, косметології та ветеринарії зумовлене її біосумісністю, відсутністю імуногенності та широким спектром застосувань [1, 2, 4, 5, 15, 19, 24].

Сучасні тенденції ринку ГК та біотехнологічні перспективи її виробництва в Україні

Ринок ГК оцінюється у \$10,73 млрд. у 2024 р. з прогнозованим ростом до \$16,7 млрд. до 2030 р. Сукупний річний темп зростання (CAGR) у період 2025–2030 рр. складе 7,81%. За іншим джерелом оціночний ринок гіалуронової кислоти у 2019 році становив 7,6 млрд євро. Очікується, що до 2027 року він зростатиме щорічно на 8,1%. Основними сегментами ринку є дермальні філери в косметичці (41,82% у 2024 р.), засоби для лікування остеоартриту та для використання в офтальмології [13, 19].

Традиційні джерела отримання ГК, такі як пуповина та гребені півнів, мають суттєві обмеження порівняно з мікробним синтезом. Вони поступаються за чистотою (ризик контамінації білками, ДНК, вірусами) та масштабованістю (обмеженість сировинних джерел, висока вартість екстракції). Мікробне виробництво забезпечує контрольовані умови, але використання патогенних продуцентів (*Streptococcus zooepidemicus*, *S. equi*) створює серйозні ризики наявності ендотоксинів (ліпополіцукридів клітинної стінки) в готовому продукті, що неприпустимо для фармацевтичних та косметичних застосувань [2, 12, 19].

Зростаюча потреба у ГК високої чистоти та високого рівня біобезпеки стимулює перехід до рекомбінантних продуцентів зі статусом GRAS (Generally Recognized As Safe). Завданням є пошук або селекція та всебічні дослідження таких штамів, які не утворюють токсинів, легко масштабуються і дозволяють контролювати молекулярну масу ГК [2, 6, 9, 19]. Шляхами удосконалення штамів є метаболічна інженерія для підвищення продуктивності, використання альтернативних (відновлюваних) субстратів, оптимізація умов ферментації та очищення продукту, впровадження автоматизованих систем контролю процесу. Особливу увагу приділяють також екологічній безпеці виробництва, мінімізації відходів і використанню «зелених» технологій.

В Україні відсутнє промислове виробництво ГК, що змушує компанії покладатися на імпорт сировини для фармацевтичних та косметичних потреб. Перспективи створення такого виробництва обнадійливі завдяки наявним біотехнологічним потужностям та дешевизні сировини, однак потребують значних інвестицій для закупівлі або адаптації обладнання та проведення сертифікації у відповідності до вимог Належної виробничої практики (GMP).

Отже, є актуальним дослідження щодо пошуку та удосконалення штамів продуцентів ГК для її отримання мікробним синтезом, що відкриває шлях



до безпечного, економічного та екологічного промислового виробництва цінного біополімеру для медицини, ветеринарії та косметології.

Огляд мікробних продуцентів ГК: характеристики, переваги, недоліки та шляхи біосинтезу

Мікробне виробництво ГК є перспективним напрямом біотехнології, що забезпечує високу чистоту, біосумісність та контрольовану молекулярну масу продукту. ГК, як лінійний глікозаміноглікан з повторюваних дицукридних одиниць N-ацетил-D-глюкозаміну та D-глюкуронової кислоти, синтезується мікроорганізмами як компонент позаклітинного матриксу або капсульного поліцукриду, що захищає клітини від імунної відповіді хазяїна [2, 5, 19].

Промислові продуценти поділяються на класичні (патогенні) та рекомбінантні GRAS-штами, які дозволяють уникнути ризиків контамінації ендотоксинами та патогенами. Сучасні тенденції фокусуються на метаболічній інженерії для підвищення виходу ГК (до 30–32 г/л) та оптимізації процесів ферментації [6–9, 17, 19].

Нами розглянуто основні групи продуцентів, їхні біотехнологічні характеристики, переваги, недоліки та стратегії удосконалення.

Історично першими мікроорганізмами для промислового синтезу ГК стали β -гемолітичні стрептококи, зокрема *Streptococcus zooepidemicus* та *Streptococcus equi*. Ці бактерії природно продукують ГК як капсульний поліцукрид, що захищає від фагоцитозу та забезпечує виживання в тканинах хазяїна. Біосинтетичний шлях у стрептококах включає утворення димеру з прекурсорів уридиндифосфат(UDP)-N-ацетилглюкозаміну та UDP-глюкуронової кислоти за участю гіалуронової синтази (кодується геном *hasA*), UDP-глюкозо-дегідрогенази (кодується геном *hasB*) та інших ферментів, з високими енергетичними витратами (3 молекули аденозинтрифосфату (АТР), 2 молекули уридинтрифосфату (УТР), 2 молекули NAD^+ на один дицукридний димер ГК). У оптимальних умовах (*S. zooepidemicus* досягає виходу 6–7 г/л ГК з молекулярною масою 2–3 МДа, що ідеально для медичних застосувань [2, 5, 8, 12, 19].

Однак патогенність цих штамів є ключовим недоліком: вони продукують стрептолізини, гіалуронідази та ендотоксини, що ускладнює очищення та підвищує ризики для персоналу [8, 19].

Pasteurella multocida, інший класичний продуцент, синтезує капсульну ГК, але з низьким виходом (<1 г/л) та подібними проблемами токсичності [8, 12, 17].

Ці обмеження стимулюють перехід до безпечних альтернатив, адже чинні регуляторні документи — Настанова з належної виробничої практики (GMP) та керівництва Системи співробітництва фармацевтичних інспекцій (PIC/S) — регламентують обов'язкову відсутність патогенів у фармацевтичній продукції [3].

З урахуванням обмежень та вимог загальні критерії для вибору ідеального мікроорганізму для виробництва ГК такі: штам повинен мати статус GRAS, не виділяти жодних токсинів і бути здатним безперервно виробляти біополімер, щоб він міг досягти щонайменше 1 мегадальтон (МДа). Моле-



кулярна маса і чистота ГК свідчать про її якість: полімери з більшою масою (>0,5 МДа) мають більшу ринкову цінність [8].

Corynebacterium glutamicum — грампозитивна непатогенна GRAS-бактерія, відома як продуцент амінокислот (глутамінова, лізин) та інших біомолекул, — стала платформою для гетерологічного синтезу ГК завдяки генетичній стабільності та простоті культивування. Інтеграція генів *hasA*, *hasB*, *hasC* з *S. zooepidemicus* дозволяє синтезувати ГК з прекурсорів з гліколізу та пентозофосфатного шляху. Оптимізовані штами (наприклад, CgHA25) досягають титрів 28,7–32 г/л за 60 год у fed-batch режимі, з молекулярною масою >1 МДа. Переваги рекомбінантних штамів *C. glutamicum* включають відсутність патогенності та ендотоксинів, високу щільність клітин при культивуванні (до 100 г/л сухої біомаси), гнучкість складу середовищ (глюкоза + цукроза), здатність засвоювати альтернативні субстрати (агровідходи, гліцерин тощо) [2, 6–9, 23].

Bacillus subtilis, інший GRAS-продуцент, забезпечує вихід до 7–10 г/л завдяки спороутворенню та стійкості до стресів [7, 23]. Рекомбінантні штами з посиленою експресією структурних генів *hasA*, *hasB*, *hasC* та блокуванням лактатдегідрогенази зменшують побічні продукти, підвищуючи ефективність [9].

Lactococcus lactis (рекомбінантні штами) утворюють до 2–3 г/л ГК та мають перевагу як GRAS-продуценти [11, 12, 17].

Інші рекомбінантні продуценти – *Agrobacterium sp.*, *Streptomyces albulus*, *Escherichia coli*. Наприклад, *E. coli* (грамнегативна, генно-модифікована) досягає 3,8 г/л з швидким ростом, але потребує видалення ендотоксинів [8].

Одним з напрямів пошуку продуцентів ГК є використання дріжджів як платформи для виробництва ГК. Серед них *Kluyveromyces lactis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia pastoris*, *Yarrowia lipolytica*. Дріжджі вирізняються високим рівнем біобезпеки, легко піддаються генетичним модифікаціям і не вимагають стерильних умов культивування на відміну від бактерій. Проте титри ГК у дріжджових системах залишаються нижчими за бактеріальні (0,5–2 г/л), а молекулярна маса продукту зазвичай менша. Ключовими завданнями є вдосконалення експресії гіалуронатсинтази та забезпечення достатнього рівня прекурсорів для біосинтезу ГК [8, 11, 12, 19].

Нещодавно досліджували для виробництва гіалуронової кислоти дріжджі *Pichia pastoris* [8]. Цей організм дає високий вихід високомолекулярної ГК (до 1,7 г/л, 1200–2500 кДа), що робить його придатним для використання у фармацевтичній промисловості. Процес виробництва є відносно дешевим і його можна легко масштабувати, що робить його перспективним кандидатом для великомасштабного виробництва.

Для забезпечення виробництва ГК дріжджами *Kluyveromyces lactis* був модифікований їх метаболізм. *K. lactis* має статус GRAS і зазвичай використовується для виробництва молочних продуктів. На відміну від інших дріжджів, *K. lactis* є вигідним для виробництва ГА, оскільки при його дихальному метаболізмі не утворюється етанол, його центральний метаболізм виробляє попередники, необхідні для синтезу ГА, його геном секвенований та використовується в протоколах генетичних маніпуляцій, під час оптимізації процесу



можна досягти високої щільності клітин у *K. lactis*, використовуючи недорогі джерела Карбону, такі як лактоза та сироватка.

Додавання гена *hasA* з *Pasteurella multocida* у поєднанні з геном *hasB* з *Xenopus laevis* забезпечило штамам *K. lactis* здатність продукувати ГК в концентрації 1,89 г/л з молекулярною масою 2,09 МДа. Інтеграція цих генів у геном GRAS-дріжджів створює повний біосинтетичний шлях ГК, уникаючи використання патогенних продуцентів типу *P. multocida* чи стрептококів.

Метаболічний шлях утворення ГК наведено на рис. 2. Зеленим кольором позначені ферменти UDP-глюкозо-6-дегідрогеназа (HASB) та гіалуронатсинтаза (HASA), які не присутні в природньому метаболізмі *K. lactis*, але синтезуються в рекомбінантному штамі [11].

Основні підходи для покращення продуктивності продуцентів ГК

Подальший огляд стратегій удосконалення продуцентів ГК проводили на прикладі *Corynebacterium glutamicum*. Це грампозитивна, аеробна, мезофільна бактерія з унікальною клітинною стінкою, що містить міколові кислоти, арабіногалактан та мезо-діамінопімелінову кислоту, що забезпечує високу стійкість до зовнішніх впливів. Відсутність ендотоксинів (на відміну від грамнегативних видів) та статус GRAS роблять її безпечною для фармацевтичного та косметичного виробництва [19, 21, 23].

Метаболічна гнучкість *C. glutamicum* — активний гліколіз, пентозофосфатний шлях (Pentose Phosphate Pathway, PPP) за наявності глюкози, активація глюконеогенезу та циклу трикарбонових кислот (Tricarboxylic Acid cycle, TCA) за дефіциту — дозволяє використовувати різноманітні джерела Карбону (глюкоза, ксиліоза, органічні кислоти), знижуючи витрати. Висока активність ключових ферментів (піруватдегідрогеназа, ізоцитратдегідрогеназа) та низька активність оксоглутаратдегідрогенази сприяють ефективному спрямуванню вуглецю до прекурсорів ГК [7, 8, 21].

C. glutamicum природно не продукує ГК. Для її синтезу використовують генетичну інженерію, що полягає у введенні чужорідних генів, відповідальних за повний шлях біосинтезу ГК. Ключовими є три гени: *hasA*, *hasB* та *hasC*, які кодують ферменти, необхідні для утворення та полімеризації біополімеру [14, 18]:

– *hasA* — гіалуронова синтаза (гіалуронатсинтаза, HASA), мембранний фермент, що каталізує послідовну полімеризацію ГК шляхом приєднання мономерів UDP-глюкуронової кислоти (UDP-GlcUA) та UDP-N-ацетилглюкозаміну (UDP-GlcNAc). Цей процес відбувається на внутрішній стороні плазматичної мембрани з подальшим транспортом полімеру назовні;

– *hasB* — UDP-глюкозо-6-дегідрогеназа (HASB), що окиснює UDP-глюкозу до UDP-глюкуронової кислоти за участю NAD^+ . Цей етап є енергетично витратним і часто стає лімітуючим у синтезі ГК;

– *hasC* — UDP-глюкозо-пірофосфорилаза (HASC), що перетворює глюкозо-1-фосфат на UDP-глюкозу — попередник обох мономерів ГК. Ефективність цього ферменту визначає загальний потік вуглецю до прекурсорів.

Введення цих генів (зазвичай у складі *hasAB* або *hasABC*) у геном *C. glutamicum* формує повний метаболічний шлях біосинтезу ГК, відсутній у



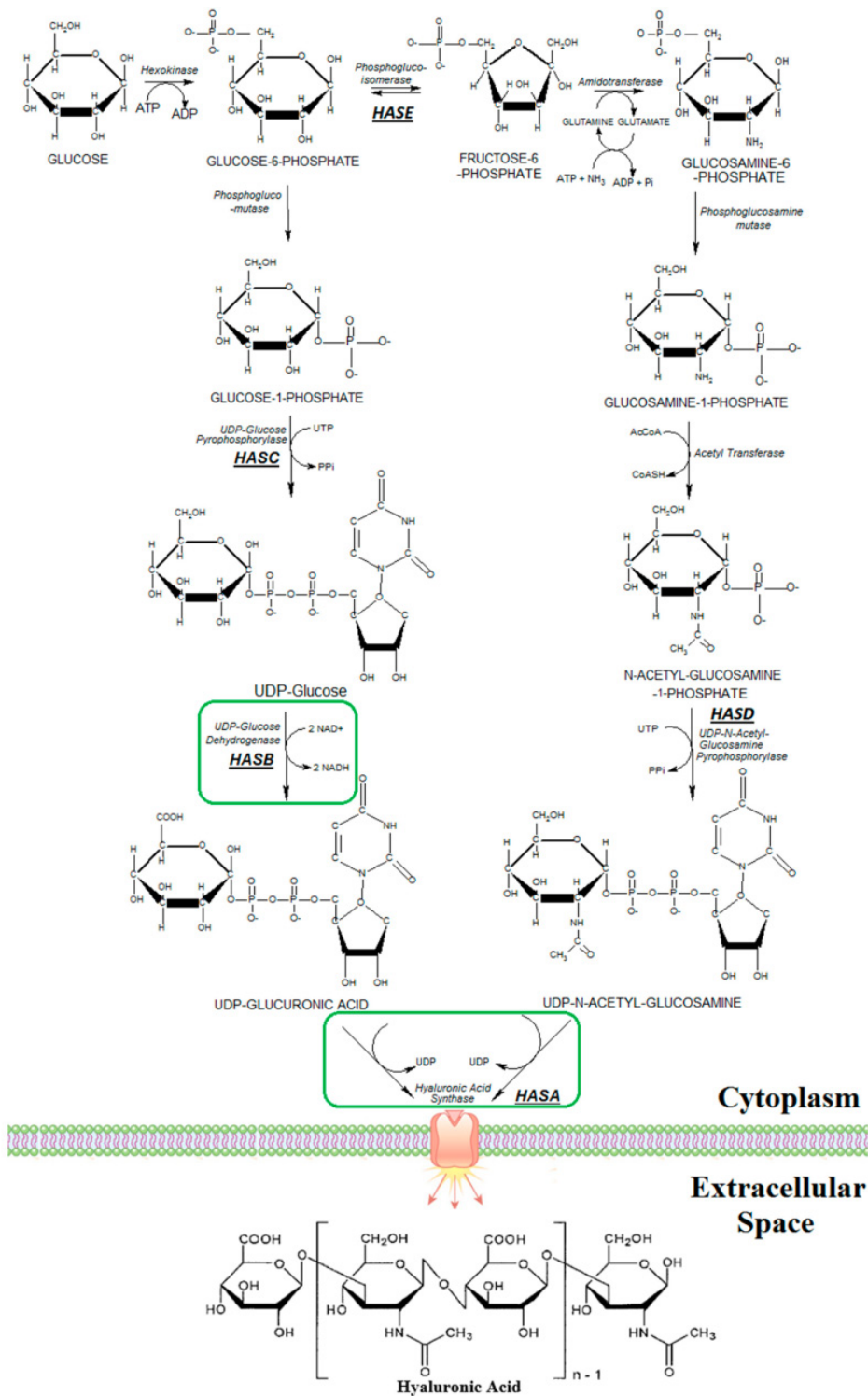


Рис. 2. Метаболічний шлях утворення гіалуранової кислоти [11].

Fig. 2. Metabolic pathway of hyaluronic acid formation [11].



дикого штаму. Це дозволяє перетворити промислового продуцента амінокислот на платформу для синтезу біополімерів.

Біосинтез ГК тісно пов'язаний із центральним вуглеводним метаболізмом клітини: гліколізом, PPP та ТСА. Глюкоза, основне джерело вуглецю, надходить у клітину через транспортери іолТ1/іолТ2, далі метаболізується до фруктозо-1,6-бісфосфату, а потім — до пірувату. Частина потоку спрямовується в PPP для генерації NADPH — кофактора, необхідного для окиснення UDP-глюкози *hasB* [9].

Для підвищення продукції ГК застосовують комплексні стратегії метаболічної інженерії [9, 14, 18]:

– *покращення поглинання глюкози*. Репресор іолR пригнічує експресію транспортерів глюкози та глюкокінази. Його делеція знімає репресію, значно підвищуючи швидкість надходження субстрату та доступність прекурсорів для синтезу ГК;

– *підсилення синтезу кардіоліпіну*. Кардіоліпін — ключовий компонент мембрани, що стабілізує мембранні білки, зокрема гіалуронатсинтазу. Надекспресія генів *pgsA1*, *pgsA2* та *cls* збільшує вміст кардіоліпіну, покращуючи активність *hasA* та вихід ГК;

– *оптимізація енергетичного балансу*. Ген *vgb* аеробних бактерій *Vitreoscilla* кодує VHb (*Vitreoscilla hemoglobin*) — гем-білковий кисневий носій, що покращує доставку O₂ у мікроаеробних умовах з високою щільністю. Введення гена *vgb* підвищує експресію VHb у продуцента ГК та покращує постачання кисню в умовах високої щільності культури та збільшення в'язкості культуральної рідини на пізніх етапах ферментації. Це підвищує рівень АТР, співвідношення NAD⁺/NADH та ефективність окиснювальних реакцій, зокрема *hasB*-каталізованої;

– *амінокислотне живлення*. Глутамін є джерелом азоту для синтезу UDP-GlcNAc. Додавання його в середовище (1–5 г/л) суттєво підвищує титри ГК, особливо в fed-batch режимі;

– *блокування конкуруючих шляхів*. Делеція лактатдегідрогенази (*ldh*) зменшує утворення лактату – основного побічного продукту анаеробного метаболізму. Це перенаправляє Карбон від пірувату до прекурсорів ГК, підвищуючи вихід на 20–30%.

Основні напрями розвитку виробництва ГК

Розробка високопродуктивних, безпечних та економічно вигідних штамів-продуцентів ГК орієнтована на промислове отримання безпечних, якісних та доступних продуктів. Подальший прогрес у генетичній інженерії та біопроцесах забезпечить виробництво ГК високої чистоти для медицини, косметології та ветеринарії.

Ключові напрями розвитку виробництва ГК охоплюють [1, 2, 6–9, 12, 14, 16–23]:

– метаболічну інженерію для збільшення титрів і контролю молекулярної маси;

– використання альтернативних відновлюваних субстратів (відходи промисловості та сільського господарства, гідролізати крохмалю та целюлози тощо);



- оптимізацію режимів ферментації (fed-batch, двофазні системи) та очищення (електрофільтрація, хроматографія);
- автоматизацію процесів з використанням сенсорів і систем реального часу.

Оптимізація біосинтезу ГК в *C. glutamicum*: результати метаболічної інженерії та перспективи масштабування

Результати системної інженерії метаболізму демонструють значні досягнення. Штам CgHA25, оптимізований за комплексом *hasAB*, досягає 28,7 г/л ГК у 5-літровому ферментері з молекулярною масою ~210 кДа (~0,2 МДа). Подальша інтеграція стратегій — покращення транспорту глюкози, підсилення синтезу кардіоліпіну, введення гена *vgb* та додавання глутаміну — дозволила отримати 32 г/л ГК за 60 годин у режимі fed-batch [2, 6–9, 14, 17]. Це один із найвищих титрів серед GRAS-продуцентів.

C. glutamicum має низку промислових переваг, які відповідають ключовим напрямкам розвитку виробництва ГК:

- статус GRAS, відсутність ендотоксинів, непатогенність забезпечують біобезпечність;
- висока щільність культури (до 100 г/л сухої біомаси), стійкість до стресів сприяють масштабуванню процесів культивування;
- використання відходів (меляса, гідролізати, агровідходи, гліцерин) в якості субстратів знижують собівартість.
- регуляція молекулярної маси ГК через температуру, рН, тривалість ферментації сприяють отриманню продукту очікуваного рівня якості.

ГК є критично важливим біополімером для фармацевтики, косметології та ветеринарії завдяки своїй здатності забезпечувати гідrataцію, регенерацію тканин та біосумісності. Зростання світового ринку ГК, спричинене її широким спектром застосування, стимулює перехід від традиційних джерел (тваринні тканини) та патогенних стрептококів до безпечніших рекомбінантних продуцентів зі статусом GRAS.

Проведений огляд підтверджує, що використання GRAS-продуцентів, зокрема *C. glutamicum*, є найбільш перспективним напрямом, оскільки забезпечує високу чистоту, відсутність ендотоксинів та масштабованість, що відповідає сучасним вимогам GMP та сталого розвитку.

Ключовим інструментом підвищення ефективності виробництва є системна метаболічна інженерія. Вона дозволяє не лише інтегрувати необхідні гени біосинтезу ГК (*hasA*, *hasB*, *hasC*), а й оптимізувати потік Карбону та енергетичний баланс клітини шляхом покращення поглинання субстрату, підсилення синтезу кардіоліпіну та блокування конкуруючих шляхів (наприклад, утворення лактату). Завдяки цим стратегіям, оптимізовані штами *C. glutamicum* можуть досягати високих титрів високоякісної ГК з контрольованою молекулярною масою (>1 МДа).

Подальший прогрес спрямований на використанні альтернативних (відновлюваних) субстратів (наприклад, агровідходи, гліцерин) та автоматизації біопроектів, що забезпечить економічно ефективно та екологічно стійке виробництво високоякісної ГК для задоволення потреб глобального ринку.



HYALURONIC ACID-PRODUCING STRAINS, WAYS OF THEIR IMPROVEMENT AND PROSPECTS OF INDUSTRIAL USE

N. V. Dvinskykh <https://orcid.org/0000-0003-3811-9317>

N. V. Khokhlenkova <https://orcid.org/0000-0003-1676-7591>

National University of Pharmacy, 53 H. Skovorody St, Kharkiv, 61002, Ukraine,
e-mail: begunova1203@gmail.com

Summary

*In the context of growing demand for hyaluronic acid (HA) in pharmacy, medicine, and cosmetology, driven by its unique properties (hydration, tissue regeneration, restoration of synovial fluid viscosity), the problem of its safe and large-scale production is relevant. Traditional sources (animal tissues) and pathogenic microbial producers (*Streptococcus zooepidemicus*) have significant limitations regarding scalability and risk of endotoxin contamination. This stimulates the transition to recombinant strains with GRAS status. The aim of the study was to analyze modern HA producers, strategies for their improvement, and prospects for industrial microbial synthesis. To achieve this goal, information from scientific publications in the scientometric databases Google Scholar and PubMed was analyzed.*

*A review of producers was conducted, with particular attention to the non-pathogenic bacterium *Corynebacterium glutamicum* — a promising platform for heterologous HA synthesis. According to scientific articles from scientometric databases (such as Google Scholar and PubMed), significant results of systematic metabolic engineering aimed at improving the productivity of *C. glutamicum* have been identified. These include the integration of biosynthesis genes (*hasA*, *hasB*, *hasC*), enhancement of substrate uptake, optimization of energy balance, and blocking of competing pathways, such as lactate formation. It has been established that recombinant strains can achieve high HA titers in fed-batch cultivation mode while maintaining control over molecular weight. Data from the analyzed sources allow us to conclude that microbially produced hyaluronic acid has significant prospects for application in medicine (orthopedics, ophthalmology, dermatology) and cosmetology (anti-aging effects, fillers) due to its high purity level, controllable molecular weight, absence of viral and prion contaminants, and economic advantages (potential for scaling up production volumes and lower cost compared to animal-derived raw materials).*

*The transition to the use of GRAS producers, particularly *C. glutamicum*, ensures high purity, safety, and scalability required to meet Good Manufacturing Practice (GMP) standards. Metabolic engineering is a key strategy that allows not only to increase product yield but also to ensure HA synthesis with the required molecular weight. Further strain improvement, use of alternative substrates for cultivation, and automation of bioprocesses will ensure sustainable and cost-effective production of high-quality HA to meet global market needs.*

*Keywords: hyaluronic acid, GRAS producers, *Corynebacterium glutamicum*, metabolic engineering, biosynthesis.*



СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Грищенко М. І., Старовойтова С. О. Економічні, технологічні та нормативні аспекти глікозаміногліканів біотехнологічного походження в сучасній косметології. *Наукові праці НУХТ*. 2024. Т. 30, № 1. С. 51–67. <https://doi.org/10.24263/2225-2924-2024-30-1-3>
2. Лич І. В., Угрин А. О., Волошина І. М. Гіалуронова кислота: біосинтез та використання. *Український біофармацевтичний журнал*. 2019. № 2(59). С. 6–13.
3. Лікарські засоби. Належна виробнича практика : Настанова СТ–Н МОЗУ 42-4.0:2020 / розроб. ДНУ «НТК «Інститут монокристалів» НАН України». Київ : МОЗ України, 2020. 356 с.
4. Advances in hyaluronic acid: structure, function, and applications [Електронний ресурс]. 2024. 16 квіт. URL: <https://www.chemh.com/advances-in-hyaluronic-acid-structure-function-and-applications/>
5. Alipoor R., Ayuan M., Hamblin M. R., Ranjbar R., Rashki S. Hyaluronic acid-based nanomaterials as a new approach to the treatment and prevention of bacterial infections. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2022. Vol. 10. Article 913912. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.913912>
6. Cheng F., Yu H., Stephanopoulos G. Engineering corynebacterium glutamicum for high-titer biosynthesis of hyaluronic acid. *Metabolic Engineering*. 2019. Vol. 55. P. 276–289. <https://doi.org/10.1016/j.ymben.2019.07.003>
7. Cheng F., Yu H., Stephanopoulos G. Enhanced biosynthesis of hyaluronic acid using engineered corynebacterium glutamicum via metabolic pathway regulation. *Biotechnology Journal*. 2017. Vol. 12, no. 10. <https://doi.org/10.1002/biot.201700191>
8. De Oliveira J. D., Carvalho L. S., Vieira Gomes A. M., Queiroz L. R., Magalhães B. S., Parachin N. S. Genetic basis for hyper production of hyaluronic acid in natural and engineered microorganisms. *Microbial Cell Factories*. 2016. Vol. 15. P. 119. <https://doi.org/10.1186/s12934-016-0517-4>
9. Du Y., Cheng F., Wang M., Xu C., Yu H. Indirect pathway metabolic engineering strategies for enhanced biosynthesis of hyaluronic acid in engineered corynebacterium glutamicum. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2021. Vol. 9. Article 768490. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.768490>
10. Geloso M. C., Ria F., Corvino V., Di Sante G. Expression of CD44 and its spliced variants: innate and inducible roles in nervous tissue cells and their environment. *International Journal of Molecular Sciences*. 2025. Vol. 26, iss. 17. Article 8223. <https://doi.org/10.3390/ijms26178223>
11. Gomes A. M. V., Netto J. H. C. M., Carvalho L. S., Parachin N. S. Heterologous hyaluronic acid production in *Kluyveromyces lactis*. *Microorganisms*. 2019. Vol. 7, iss. 9. Article 294. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7090294>
12. Grabowski M., Gmyrek D., Żurawska M., Trusek A. Hyaluronic acid: production strategies, gel-forming properties, and advances in drug delivery systems. *Gels*. 2025. Vol. 11, iss. 6. Article 424. <https://doi.org/10.3390/gels11060424>
13. Grand View Research. Hyaluronic acid market size, share & trends analysis report by application (dermal fillers, osteoarthritis, ophthalmic, vesicoureteral



- reflux), by region, and segment forecasts, 2024–2030. 2024. URL: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/hyaluronic-acid-market>
14. Hoffmann J., Altenbuchner J. Hyaluronic acid production with *Corynebacterium glutamicum*: effect of media composition on yield and molecular weight. *Journal of Applied Microbiology*. 2014. Vol. 117, iss. 3. P. 663–678. <https://doi.org/10.1111/jam.12553>
 15. Luo Z., Wang Y., Li J., Wang J., Yu Y., Zhao Y. Tailoring hyaluronic acid hydrogels for biomedical applications. *Advanced Functional Materials*. 2023. Vol. 33. Article 2306554. <https://doi.org/10.1002/adfm.202306554>
 16. Marwan-Abdelbaset E., Samy-Kamal M., Tan D., Lu X. Microbial production of hyaluronic acid: the current advances, engineering strategies and trends. *Journal of Biotechnology*. 2025. Vol. 403. P. 52–72. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2025.03.015>
 17. Pérez-Morales G., Poggi-Varaldo H. M., Ponce-Noyola T., Pérez-Valdespino A., Curiel-Quesada E., Galíndez-Mayer J., Ruiz-Ordaz N., Sotelo-Navarro P. X. A review of the production of hyaluronic acid in the context of its integration into GBAER-type biorefineries. *Fermentation*. 2024. Vol. 10, iss. 6. Article 305. <https://doi.org/10.3390/fermentation10060305>
 18. Saadati F., Bahrulolum H., Talebi M., Karimi M., Bozorgchami N., Ghale R. A., Zafar Sh., Aghighi Y., Asiaei E., Tabandeh F. Advances and principles of hyaluronic acid production, extraction, purification, and its applications: a review. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2025. Vol. 312. Article 143839. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.143839>
 19. Serra M., Dias J., Ferreira I.C., Teixeira V., Martins A., Pintado M. Microbial hyaluronic acid production: a review. *Molecules*. 2023. Vol. 28, iss. 5. Article 2084. <https://doi.org/10.3390/molecules28052084>
 20. Shikina E. V., Kovalevsky R. A., Shirkovskaya A. I., Toukach Ph. V. Prospective bacterial and fungal sources of hyaluronic acid: a review. *Computational and Structural Biotechnology Journal*. 2022. Vol. 20. P. 6214–6236. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2022.11.013>
 21. Shuting Y., Zheng Y., Du Y., Song M., Chen Sun C., Cheng F., Yu H. Fine-tuning the cell morphology of *Corynebacterium glutamicum* via dual-valve regulation for enhanced hyaluronic acid production. *Biotechnology Notes*. 2023. Vol. 4. P. 135–145. <https://doi.org/10.1016/j.biotno.2023.12.003>
 22. Simpson M., Schaefer L., Hascall V., Esko J. D. Hyaluronan. *Essentials of glycobiology* / eds.: A. Varki, R. D. Cummings, J. D. Esko et al. 4th ed. Cold Spring Harbor (NY) : Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2022. Chapter 16. <https://doi.org/10.1101/glycobiology.4e.16>
 23. Wang Y., Hu L., Huang H., Wang H., Zhang T., Chen J., Du G., Kang Z. Eliminating the capsule-like layer to promote glucose uptake for hyaluronan production by engineered *Corynebacterium glutamicum*. *Nature Communications*. 2020. Vol. 11. Article 3120. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16962-7>
 24. Yasin A., Ren Y., Li J., Sheng Y., Cao C., Zhang K. Advances in hyaluronic acid for biomedical applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2022. Vol. 10. Article 910290. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.910290>



REFERENCES

1. Hryshchenko MI, Starovoitova SO. Ekonomichni, tekhnolohichni ta normatyvni aspekty hlikozaminohlikaniv biotekhnolohichnoho pohodzhennia v suchasni kosmetolohii [Economic, technological and regulatory aspects of glycosaminoglycans of biotechnological origin in modern cosmetology]. Naukovi pratsi NUKhT. 2024;30(1):51–67. <https://doi.org/10.24263/2225-2924-2024-30-1-3> [in Ukrainian].
2. Lych IV, Uhryn AO, Voloshyna IM. Hialuronova kyslota: biosynteza ta vykorystannia [Hyaluronic acid: biosynthesis and application]. Ukrainskyi biofarmatsevychnyi zhurnal. 2019;(2)59:6–13. [in Ukrainian].
3. Likarski zasoby. Nalezna vyrobnycha praktyka. Nastanova ST-N MOZU 42-4.0:2020 [Medicinal products. Good manufacturing practice]. Kyiv: MOZ Ukrainy; 2020. 356 p. [in Ukrainian].
4. Advances in hyaluronic acid: structure, function, and applications. 2024, April 16. <https://www.chemh.com/advances-in-hyaluronic-acid-structure-function-and-applications>
5. Alipoor R, Ayan M, Hamblin MR, Ranjbar R, Rashki S. Hyaluronic acid-based nanomaterials as a new approach to the treatment and prevention of bacterial infections. Front Bioeng Biotechnol. 2022;10:913912. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.913912>
6. Cheng F, Yu H, Stephanopoulos G. Engineering *Corynebacterium glutamicum* for high-titer biosynthesis of hyaluronic acid. Metab Eng. 2019;55:276–89. <https://doi.org/10.1016/j.ymben.2019.07.003>
7. Cheng F, Yu H, Stephanopoulos G. Enhanced biosynthesis of hyaluronic acid using engineered *Corynebacterium glutamicum* via metabolic pathway regulation. Biotechnol J. 2017;12(10). <https://doi.org/10.1002/biot.20170019>
8. De Oliveira JD, Carvalho LS, Vieira Gomes AM, Queiroz LR, Magalhães BS, Parachin NS. Genetic basis for hyper production of hyaluronic acid in natural and engineered microorganisms. Microb Cell Fact. 2016;15:119. <https://doi.org/10.1186/s12934-016-0517-4>
9. Du Y, Cheng F, Wang M, Xu C, Yu H. Indirect pathway metabolic engineering strategies for enhanced biosynthesis of hyaluronic acid in engineered *Corynebacterium glutamicum*. Front Bioeng Biotechnol. 2021;9:768490. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.768490>
10. Geloso MC, Ria F, Corvino V, Di Sante G. Expression of CD44 and its spliced variants: innate and inducible roles in nervous tissue cells and their environment. Int J Mol Sci. 2025;26(17):8223. <https://doi.org/10.3390/ijms26178223>
11. Gomes AMV, Netto JHCM, Carvalho LS, Parachin NS. Heterologous hyaluronic acid production in *Kluyveromyces lactis*. Microorganisms. 2019;7(9):294. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7090294>
12. Grabowski M, Gmyrek D., Żurawska M, Trusek A. Hyaluronic acid: production strategies, gel-forming properties, and advances in drug delivery systems. Gels. 2025;11(6):424. <https://doi.org/10.3390/gels11060424>
13. Grand View Research. Hyaluronic acid market size, share & trends analysis report by application (dermal fillers, osteoarthritis, ophthalmic, vesicoureteral



- reflux), by region, and segment forecasts, 2024–2030. 2024. <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/hyaluronic-acid-market>
14. Hoffmann J, Altenbuchner J. Hyaluronic acid production with *Corynebacterium glutamicum*: effect of media composition on yield and molecular weight. *J Appl Microbiol.* 2014;117(3):663–678. <https://doi.org/10.1111/jam.12553>
 15. Luo Z, Wang Y, Li J, Wang J, Yu Y, Zhao Y. Tailoring hyaluronic acid hydrogels for biomedical applications. *Adv Funct Mater.* 2023;33(52):2306554. <https://doi.org/10.1002/adfm.202306554>
 16. Marwan-Abdelbaset E, Samy-Kamal M, Tan D, Lu X. Microbial production of hyaluronic acid: the current advances, engineering strategies and trends. *J Biotechnol.* 2025;403:52–72. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2025.03.015>
 17. Pérez-Morales G, Poggi-Varaldo HM, Ponce-Noyola T, Pérez-Valdespino A, Curiel-Quesada E, Galíndez-Mayer J, Ruiz-Ordaz N, Sotelo-Navarro PX. A review of the production of hyaluronic acid in the context of its integration into GBAER-type biorefineries. *Fermentation.* 2024;10(6):305. <https://doi.org/10.3390/fermentation10060305>
 18. Saadati F, Bahrulolum H, Talebi M, Karimi M, Bozorgchami N, Ghale RA, Zafar Sh, Aghighi Y, Asiaei E, Tabandeh F. Advances and principles of hyaluronic acid production, extraction, purification, and its applications: a review. *International Journal of Biological Macromolecules.* 2025;312:143839. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.143839>
 19. Serra M, Dias J, Ferreira IC, Teixeira V, Martins A, Pintado M. Microbial hyaluronic acid production: a review. *Molecules.* 2023;28(5):2084. <https://doi.org/10.3390/molecules28052084>
 20. Shikina EV, Kovalevsky RA, Shirkovskaya AI, Toukach PhV. Prospective bacterial and fungal sources of hyaluronic acid: a review. *Comput Struct Biotechnol J.* 2022;20:6214–36. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2022.11.013>
 21. Shuting Y, Zheng Y, Du Y, Song M, Chen Sun C, Cheng F, Yu H. Fine-tuning the cell morphology of *Corynebacterium glutamicum* via dual-valve regulation for enhanced hyaluronic acid production. *Biotechnol Notes.* 2023;4:135–145. <https://doi.org/10.1016/j.biotno.2023.12.003>
 22. Simpson M, Schaefer L, Hascall V, Esko JD. Hyaluronan. In: Varki A, Cummings RD, Esko JD et al., editors. *Essentials of Glycobiology.* 4th ed. Cold Spring Harbor (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2022. Chapter 16. <https://doi.org/10.1101/glycobiology.4e.16>
 23. Wang Y, Hu L, Huang H, Wang H, Zhang T, Chen J, Du G, Kang Z. Eliminating the capsule-like layer to promote glucose uptake for hyaluronan production by engineered *Corynebacterium glutamicum*. *Nat Commun.* 2020;11:3120. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16962-7>
 24. Yasin A, Ren Y, Li J, Sheng Y, Cao C, Zhang K. Advances in hyaluronic acid for biomedical applications. *Front Bioeng Biotechnol.* 2022;10:910290. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.910290>

Стаття надійшла до редакції 29.12.2025
 Стаття затверджена до друку 20.03.2026
 Стаття опублікована 29.05.2026

