



**ДФУ**  
ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫЙ  
ФЕДЕРАЛЬНЫЙ  
УНИВЕРСИТЕТ



ГЕНОМИКА  
И БИОТЕХНОЛОГИЯ  
МИКРООРГАНИЗМОВ

# ГЕНОМИКА И БИОТЕХНОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

*Всероссийская научная  
молодежная конференция*

**Владивосток,  
19–23 сентября 2022**

**Тезисы докладов**

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации  
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова  
Дальневосточного отделения Российской академии наук  
(ТИБОХ ДВО РАН)



ГЕНОМИКА  
И БИОТЕХНОЛОГИЯ  
МИКРООРГАНИЗМОВ

# ГЕНОМИКА И БИОТЕХНОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

Всероссийская научная  
молодежная конференция

*Владивосток  
19–23 сентября 2022 г.*

Тезисы докладов

Владивосток



2022

© Оформление. ФГАОУ ВО ДВФУ, 2022

ISBN 978-5-7444-5358-9

УДК 579:60(082)

ББК 28.07я43 + 28.4я43

Мероприятие проведено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках реализации отдельных мероприятий Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019–2027 годы по соглашению № 075-15-2021-1052 от 29.09.2021 г.

Организационный комитет выражает благодарность за оказанную поддержку Дальневосточному федеральному университету и ООО «Биолабмикс».

**Геномика и биотехнология микроорганизмов.** Всероссийская научная молодежная конференция, Владивосток, 19–23 сентября 2022 г. : тезисы докладов / ТИБОХ ДВО РАН. – Владивосток : Издательство Дальневосточного федерального университета, 2022. – [80 с.]. – ISBN 978-5-7444-5358-9. – DOI <https://doi.org/10.24866/7444-5358-9>. – URL: <https://www.dvfu.ru/science/publishing-activities/catalogue-of-books-fefu/>. – Дата публикации: 11.10.2022. – Текст. Изображение : электронные.

Сборник включает материалы пленарных лекций ведущих ученых, устных и стендовых докладов студентов, аспирантов и молодых специалистов, представленные на Всероссийской научной молодежной конференции «Геномика и биотехнология микроорганизмов». Тематика представленных докладов охватывает актуальные разделы микробиологии, биохимии, биологии и биотехнологии.

Материалы рассчитаны для студентов, аспирантов, научных сотрудников и специалистов в области микробиологии и биотехнологии.

---

*Текстовое электронное издание*

Минимальные системные требования:

Веб-браузер Internet Explorer версии 6.0 или выше,  
Opera версии 7.0 или выше, Google Chrome версии 3.0 или выше.

Компьютер с доступом к сети Интернет.

Минимальные требования к конфигурации и операционной системе компьютера определяются требованиями перечисленных выше программных продуктов.

Размещено на сайте 11.10.2022 г.

Объем 7,10 Мб

Дальневосточный федеральный университет  
690922, Приморский край, г. Владивосток, о. Русский, п. Аякс, 10.

E-mail: [prudkoglyad.sa@dvfu.ru](mailto:prudkoglyad.sa@dvfu.ru)

Тел.: 8 (423) 226-54-43

© Оформление. ФГАОУ ВО ДВФУ, 2022

### **Председатель программного комитета**

**Михайлов Валерий Викторович**, д.б.н., профессор, член-корреспондент РАН, зав. лабораторией микробиологии, Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН.

### **Члены программного комитета**

**Хотимченко Юрий Степанович**, д.б.н., профессор, директор Института наук о жизни и биомедицины, Дальневосточный федеральный университет.

**Винников Кирилл Андреевич**, к.б.н., директор Института Мирового океана ДВФУ, зав. лабораторией экологии и эволюционной биологии водных организмов, Дальневосточный федеральный университет.

**Текутьева Людмила Александровна**, к.т.н., доцент, директор передовой инженерной школы «Институт биотехнологий, биоинженерии и пищевых систем», Дальневосточный федеральный университет; генеральный директор ООО «Арника».

**Богатыренко Елена Александровна**, к.б.н., зав. лабораторией морской микробиологии, Дальневосточный федеральный университет.

**Кумейко Вадим Владимирович**, к.б.н., зам. директора по развитию Института наук о жизни и биомедицины, Дальневосточный федеральный университет.

**Шкрыль Юрий Николаевич**, к.б.н., рук. лаборатории бионанотехнологий и биомедицины, Федеральный научный центр Биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН.

**Исаева Марина Петровна**, к.м.н., зав. лабораторией морской биохимии, Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН.

### **Председатель организационного комитета**

**Исаева Марина Петровна**, к.м.н., зав. лабораторией морской биохимии, Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН.

### **Члены организационного комитета**

**Куриленко Валерия Валерьевна**, к.б.н., с.н.с. лаборатории микробиологии, Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН.

**Штарев Дмитрий Сергеевич**, д.ф.-м.н., зам. директора по научной работе Института наукоемких технологий и передовых материалов, Дальневосточный федеральный университет.

**Кокоулин Максим Сергеевич**, к.х.н., с.н.с. лаборатории химии неинфекционного иммунитета, Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН.

**Пелагеев Дмитрий Николаевич**, к.х.н., с.н.с. лаборатории органического синтеза, Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН.

**Лещенко Елена Владиславовна**, к.х.н., н.с. лаборатории биологически активных соединений Института наукоемких технологий и передовых материалов, Дальневосточный федеральный университет; м.н.с. лаборатории химии микробных метаболитов, Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН.

**Кветкина Александра Николаевна**, к.х.н., н.с. лаборатории молекулярной фармакологии и биомедицины, Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН.

**Гузев Константин Викторович**, директор ООО «Бюротика».

**Ермаченко Валентина Юрьевна**, гл. специалист Института наукоемких технологий и передовых материалов, Дальневосточный федеральный университет.

## Содержание

<b>БИОРАЗНООБРАЗИЕ, СИСТЕМАТИКА И ЭВОЛЮЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ</b>	
<b>Пленарные доклады</b>	
<b>К. В. Гузев, И. Е. Ильин, В. В. Куриленко, М. П. Исаева</b> Информационная система биоресурсной коллекции — высокотехнологичная электронная среда для эффективной работы «Коллекции морских микроорганизмов ТИБОХ ДВО РАН»	9
<b>О. В. Карначук</b> Метагеномика в изучении биоразнообразия прокариот: обратная сторона медали	10
<b>В. В. Куриленко, Л. А. Романенко, О. И. Недашковская, М. В. Пивкин, М. С. Кокоулин, А. Н. Юрченко, С. П. Ермакова, М. П. Исаева, В. В. Михайлов</b> Роль биоресурсной микробной коллекции КММ ТИБОХ ДВО РАН в изучении и сохранении морской микробиоты	11
<b>С. П. Синецкий</b> Целевое изучение природных микробных биоресурсов, перспективных для использования в промышленной биотехнологии	12
<b>В. Е. Чаусова, Н. Н. Киричук, Ю. В. Худякова, М. В. Пивкин, М. П. Исаева</b> Молекулярно-генетическая идентификация морских микроскопических грибов из КММ ТИБОХ ДВО РАН	13
<b>Доклады молодых ученых</b>	
<b>Н. В. Агафонова, Е. Н. Капаруллина, Н. В. Доронина</b> <i>Aurantimonas soli</i> sp. nov. - новый вид аэробных метилотрофных бактерий из соленой почвы	14
<b>Е. М. Алексеева, Н. Н. Киричук, В. И. Еремеев, В. Е. Чаусова</b> Мицелиальные грибы рода <i>Aspergillus</i> из морских мест обитаний	15
<b>С. Н. Балдаев, Е. П. Быстрицкая, К. В. Гузев, М. П. Исаева</b> Микробиомный анализ донных осадков Курило-Камчатского желоба Тихого океана	16
<b>Т. И. Дункай, Е. О. Писарева, Е. А. Богатыренко, А. В. Ким</b> Метагеномный анализ бактериальных сообществ донных отложений из прибрежных акваторий юга Приморского края	17
<b>В. И. Еремеев, Н. Ю. Отставных, Л. А. Романенко, М. П. Исаева</b> Генетическая идентификация морских бактерий, выделенных из донных осадков Охотского моря	18
<b>Е. Н. Капаруллина, А. А. Чемодурова, Н. В. Агафонова, Н. В. Доронина</b> Новый вид аэробных метилотрофных бактерий из филлосферы дуба	19
<b>А. В. Ким, Е. А. Богатыренко, Т. И. Дункай</b> Влияние антропогенного загрязнения на изменение биологических свойств культивируемых бактерий акваторий Приморского края	20
<b>И. С. Ковтун, М. В. Филонова, А. С. Дорошенко</b> Биобанк как инструмент широкомасштабного поиска и изучения микробных сообществ, ассоциированных с сельскохозяйственными животными	21
<b>Д. О. Личманюк, Н. Ю. Отставных, В. В. Куриленко, М. П. Исаева</b> Мультилокусный анализ морских бактерий рода <i>Vibrio</i> , выделенных из мукуса ловчей сети морской полихеты <i>Chaetopterus variopedatus</i>	22
<b>А. П. Лукина, Л. Б. Глухова, В. В. Кадников, Н. В. Равин, О. В. Карначук</b> Выделение микроорганизмов с гидролитической активностью из отходов сельскохозяйственных животных	23
<b>Ю. А. Бронникова (Молонова), Н. Ю. Отставных, О. И. Недашковская</b> Идентификация морских бактерий, выделенных из донных осадков Курило-Камчатского желоба Тихого океана	24

<b>А. Е. Павлюк, В. Е. Чаусова, С. Н. Балдаев, Н. Н. Киричук</b> Грибы рода <i>Penicillium</i> , ассоциированные с дальневосточным трепангом <i>Apostichopus japonicus</i>	25
<b>Е. С. Пильникова, С. Н. Балдаев, А. И. Иващенко, В. В. Куриленко</b> Физиолого-биохимические и генетические характеристики штамма морской бактерии <i>Bizionia</i> sp. 041-53-Urb6 выделенной из морского ежа <i>Strongylocentrotus intermedius</i>	26
<b>В. Н. Поливцева, О. И. Сазонова, И. П. Соляникова</b> Изучение ультраструктурной организации покоящихся клеток и способности <i>Rhodococcus</i> sp. 7B сохранять биодegradативный потенциал после длительного хранения	27
<b>Ю. В. Савичева, Л. А. Романенко, В. И. Еремеев, М. П. Исаева</b> Изучение таксономического состава бактерий донных осадков прибрежной зоны Японского моря	28
<b>ПАТОГЕННЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ БОРЬБЫ С НИМИ</b>	
<b>Пленарные доклады</b>	
<b>Б. Г. Андрюков</b> Нестабильность генома и её роль в эволюции, адаптации и персистенции патогенных бактерий	29
<b>Е. П. Быстрицкая, М. П. Исаева</b> Вклад цис- и транс- регуляторных элементов в экспрессию главных поринов <i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	30
<b>Е. В. Гризанова</b> Молекулярно-генетические технологии совершенствования энтомопатогенных микроорганизмов	31
<b>Доклады молодых ученых</b>	
<b>М. К. Кадырбаев, А. Е. Нгуене Яна, О. П. Иккерт, О. В. Карначук</b> Устойчивые к антибиотикам <i>Desulfovibrio</i> являются источником сероводорода в отходах крупного свиного комплекса	32
<b>Т. И. Крыцына, Е. В. Гризанова, И. М. Дубовский</b> Молекулярно-генетические механизмы выживания бактерий <i>Bacillus thuringiensis</i> в устойчивом хозяине	33
<b>Е. А. Богатыренко, С. А. Мезенцева, А. В. Ким</b> Распространение микоплазм, хламидий и риккетсий среди микробиоты тихоокеанской устрицы <i>Crassostrea gigas</i> из прибрежных акваторий г. Владивостока	34
<b>Д. Д. Недорезова, М. В. Дубовиченко, А. И. Андриянова, Г. А. Бобков, Г. Ф. Курбанов, В. С. Андриянов, Д. М. Колпащиков</b> РНК-расщепляющие ДНК-машины для эффективного подавления экспрессии бактериальных генов	35
<b>Л. В. Слепченко, А. В. Сейткалиева, Ю. А. Носкова, Л. А. Балабанова</b> Регуляция генов пленкообразования у <i>Pseudomonas aeruginosa</i> рекомбинантной альфа-галактозидазой морской бактерии <i>Pseudoalteromonas distincta</i>	36
<b>М. Р. Сорокина, В. Е. Силантьев, Ю. А. Югай, Ю. Н. Шкрыль</b> Выделение и характеристика нановезикул фитопатогенной бактерии <i>Rhizobium rhizogenes</i>	37
<b>БИОИНФОРМАТИКА И СРАВНИТЕЛЬНАЯ ГЕНОМИКА</b>	
<b>Пленарные доклады</b>	
<b>Л. А. Балабанова</b> Генетические стратегии локальной адаптации у бактерий-космополитов: от экологической специализации до видообразования	38
<b>Г. Л. Бурьгин</b> Особенности поиска и аннотации генных кластеров биосинтеза О-полисахаридов в геномах представителей разных классов протеобактерий	39

<b>М. П. Исаева</b> Геномика морских микроорганизмов – глобальный океан возможностей и перспектив	40
<b>Доклады молодых ученых</b>	
<b>Е. А. Богатыренко, А. В. Ким, А. Д. Медведева</b> Функциональные гены деструкции ПАУ углеводородокисляющих бактерий Японского моря	41
<b>Т. И. Дункай, Е. А. Богатыренко</b> Таксономическое разнообразие некультивируемых форм бактерий, ассоциированных с пищеварительной системой мидии Грея ( <i>Crenomytilus grayanus</i> ) Японского моря	42
<b>А. А. Лаврентьев, К. А. Винников</b> Предсказание интрон-экзонных границ в белок-кодирующих генах с помощью методов машинного обучения	43
<b>Н. Ю. Отставных, О. И. Недашковская, М. П. Исаева</b> Пангеном рода <i>Zobellia</i> : взгляд на метаболические и адаптационные возможности бактерий	44
<b>Ю. К. Пентехина, Л. А. Балабанова, О. И. Недашковская, А. В. Сейткалиева, А. Б. Подволоцкая, Л. А. Текутьева</b> Генетический анализ хитиновых систем морских бактерий рода <i>Vibrio</i>	45
<b>Е. А. Тельная, А. А. Семенченко, Д. А. Танадбаева, К. А. Винников</b> Протокол анализа данных УСЕ секвенирования для дублированных геномов	46
<b>БИОТЕХНОЛОГИЯ БИОПРЕПАРАТОВ И ПРОДУКТОВ НА ИХ ОСНОВЕ</b>	
<b>Пленарные доклады</b>	
<b>В. А. Арляпов</b> Электроактивные биопленки микроорганизмов активного ила на наноструктурированной поверхности как основа высокочувствительного БПК-биосенсора	47
<b>С. П. Ермакова, М. И. Кусайкин, Р. В. Усольцева, О. С. Маляренко, А. С. Сильченко</b> Перспективы использования рекомбинантных ферментов морских микроорганизмов для трансформации сульфатированных полисахаридов из бурой водоросли <i>Fucus evanescens</i> и возможности создания лекарственных препаратов на их основе	48
<b>О. А. Каманина, П. В. Рыбочкин, Л. С. Кузнецова</b> Особенности формирования кремнийорганической золь-гель матрицы вокруг смеси дрожжевых клеток	49
<b>И. Е. Кашеверов, Л. В. Сон, И. А. Иванов, Д. А. Сухов, В. Ю. Кост</b> Использование экспрессионной системы простейших <i>Leishmania tarentolae</i> для получения белковых биопрепаратов в исследовательских и медицинских целях	50
<b>К. В. Киселев, О. А. Алейнова, Н. Н. Нитяговский, А. А. Ананьев, А. Р. Супрун</b> Исследование микробиома винограда амурского и его биотехнологического потенциала	51
<b>М. Н. Терешин, А. М. Комякова, Н. С. Шошина, В. Н. Степаненко, В. В. Бритиков, Е. В. Бритикова, С. А. Козлов</b> Биотехнологические подходы для получения полипептидных токсинов для фундаментальных исследований и для медицины	52
<b>М. С. Кокоулин, А. С. Кузьмич, Л. А. Романенко, О. В. Черников</b> Углеводсодержащие биополимеры отдельных представителей морских грамотрицательных бактерий: структура и биологическая активность	53
<b>А. П. Павленко, Д. В. Попкова, О. В. Синцова, А. Н. Кветкина, И. Н. Гладких, Е. В. Лейченко</b> Особенности получения пептидных токсинов морских анемонов в бактериальной системе <i>Escherichia coli</i>	54
<b>В. Н. Степаненко, Д. А. Макаров, Д. М. Павленко, Т. Д. Мелихова, М. Н. Терешин, И. В. Мягких</b> Методы получения активных фармацевтических субстанций с использованием ферментов технической чистоты	55

<b>А. Н. Юрченко</b> Биотехнологический потенциал морских микроскопических грибов	56
<b>Доклады молодых ученых</b>	
<b>О. А. Алейнова, Н. Н. Нитяговский, А. Р. Супрун, К. В. Киселев</b> Эндوفиты дикорастущего винограда <i>Vitis amurensis</i> Rupr. и их биотехнологический потенциал	57
<b>А. А. Ананьев, О. А. Алейнова, Н. Н. Нитяговский, А. Р. Супрун, К. В. Киселев</b> Влияние эндوفитов винограда <i>Vitis amurensis</i> Rupr. на ростовые характеристики модельного растения <i>Arabidopsis thaliana</i> (L.) Heynh.	58
<b>Е. Б. Белоусова, Е. А. Юрченко, О. И. Журавлева</b> Совместное культивирование <i>Aspergillus carneus</i> и <i>Beauveria felina</i> как способ получения новых биологически активных лекарственных средств	59
<b>Г. В. Боркунов, С. А. Дышловой, Д. В. Бердышев, Е. В. Леценко</b> Ингибиторы р-гликопротеина из морского гриба <i>Penicillium antarcticum</i> КММ 4685	60
<b>К. И. Ганжа, А. В. Белоусов, А. А. Глущенко, В. В. Кумейко, А. М. Стенкова</b> Антибактериальный и противоопухолевый потенциал морских бактерий, ассоциированных с беспозвоночными залива восток японского моря	61
<b>А. О. Зуева, А. С. Сильченко, А. Б. Расин, О. С. Маляренко, С. П. Ермакова</b> Влияние продуктов ферментативной трансформации фукоидана из бурой водоросли <i>Fucus evanescens</i> на энергетический метаболизм опухолевых клеток	62
<b>О. О. Карпова, Ю. Мехда, А. М. Занадворова, Д. И. Мелещеня</b> Программный комплекс по управлению проектами Dataæch для проектирования, производства, тестирования и сервисного обслуживания технологического оборудования для биотехнологической отрасли	63
<b>А. С. Кузьмич, Л. А. Романенко, Т. О. Мизгина, М. С. Кокоулин</b> Механизм антипролиферативного действия сульфатированного полисахарида из морской грамтрицательной бактерии <i>Kangiella japonica</i> КММ 3897 на клетки аденокарциномы молочной железы линии Т-47D	64
<b>Е. А. Ланцова, Д. В. Извольская</b> Получение гибридного золь-гель материала на основе смеси дрожжей для определения БПК	65
<b>Е. В. Леценко, Ю. В. Худякова</b> Использование подхода OSMAC (один штамм – много соединений) для поиска перспективных «молекул-лидеров» из морских микроскопических грибов <i>Penicillium thomii</i>	66
<b>Н. А. Лучникова, В. В. Гришко, И. Б. Ившина</b> Родокочки как эффективные катализаторы биосинтеза терапевтически значимых соединений на основе олеанановых тритерпеноидов	67
<b>Н. С. Ляховченко, В. Ю. Сенченков, В. А. Ефимова, С. С. Ахапкина, А. О. Селезнев, А. Е. Корешкова</b> <i>Janthinobacterium lividum</i> ВКМ В-3515 – перспективная тест-культура для поиска потенциальных микроорганизмов-антагонистов чувства кворума	68
<b>Л. Е. Нестеренко, Р. С. Попов, Е. А. Юрченко</b> Влияние условий культивирования на метаболитный профиль морского гриба <i>Penicillium dimorphosporum</i> КММ 4689	69
<b>Н. К. Рубцов, А. С. Сильченко, С. П. Ермакова</b> Сравнительная биохимическая характеристика и субстратная специфичность $\alpha$ -L-фукозидаз фукоидан-деградирующего локуса морской бактерии <i>Wenyngzhuangia fucanilytica</i> CZ1127 <sup>T</sup>	70
<b>А. О. Сапронова</b> Вопросы стандартизации специализированных продуктов на основе биотехнологии	71
<b>И. Ю. Сокол, А. Е. Котельников</b> Технология дегазации угольных шахт с применением метанооксиляющих бактерий	72



<b>В. В. Суриц, Р. А. Шкрабов, Р. В. Усольцева, Н. М. Шевченко, С. П. Ермакова</b> Биологически активные полисахариды бурых водорослей <i>Sargassum microcystum</i> и <i>Sargassum serratum</i>	73
<b>С. Н. Тиморшина, А. А. Осмоловский</b> Свойства и получение кератинолитических ферментов штамма <i>Aspergillus clavatus</i> ВКПМ F-1593	74
<b>Е. А. Тюмина, Г. А. Бажутин, Д. С. Бадалова, С. М. Тян, С. М. Польшгалов, М. В. Субботина, И. Б. Ившина</b> Фармполлютанты – новая разновидность эмерджентных загрязнителей природной среды: поиск путей их биодegradации	75
<b>Е. Н. Чухломина, В. П. Григорчук, Е. А. Васюткина, Ю. А. Югай, Ю. Н. Шкрыль</b> Активация биосинтеза вторичных метаболитов новым представителем онкогенов <i>RolB/RolC</i> из бактерий рода <i>Agrobacterium</i>	76
<b>В. Н. Шелковникова, М. Е. Дмитриева, Е. В. Переляева, А. Ю. Бельшенко, Д. В. Аксёнов-Грибанов</b> Термофильный штамм <i>Streptomyces</i> как источник биологически активных соединений	77
<b>Авторский указатель</b>	78-79

## **БИОРАЗНООБРАЗИЕ, СИСТЕМАТИКА И ЭВОЛЮЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ**

*Пленарные доклады*

**Информационная система биоресурсной коллекции — высокотехнологичная электронная среда для эффективной работы коллекции КММ ТИБОХ ДВО РАН**

К. В. Гузев<sup>1</sup>, И. Е. Ильин<sup>1</sup>, В. В. Куриленко<sup>2</sup>, М. П. Исаева<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ООО «Бюротика», Владивосток

<sup>2</sup>Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток

Электронная почта: science@riboc.dvo.ru

Система предназначена для информационной поддержки процессов адаптивного управления биоресурсными коллекциями. Позволяет синтезировать системы управления, изменять параметры или структуру регулятора в зависимости от изменения параметров объекта управления и внешних возмущений, действующих на объект управления. Обеспечивает регистрацию документального сопровождения и контроль всех стадий процесса управления, сбор, обработку, анализ, систематизацию, синтез информации, постановку целей, выбор метода управления и прогнозирование результатов. Оценивает эффективность выбранного метода и схемы управления. Обеспечивает сбор, хранение, обработку, сопровождение, консолидацию различных типов научных данных. Формирует реестры, каталоги, картотеки, собрания, коллекции биоресурсов, аналитико-статистические отчеты по различным группам данных.

Предоставляет широкие возможности импорта и экспорта данных. Обеспечивает территориально распределенное и централизованное сопровождение данных с управляемым доступом. Имеет программируемый генератор шифров элементов коллекции, средства статистической обработки, математического моделирования и подготовки данных для научных публикаций. Обеспечивает однонаправленный и двунаправленный обмен данными, сигналами состояний и управляющими командами с лабораторным оборудованием. Производит автоматический обмен данными с другими информационными системами и базами данных. Проводит автоматическое уведомление персонала посредством электронной почты и СМС, дает авторизованный доступ к информации через локальную сеть, Интранет, Интернет и СМС запросы. Информационная система снабжена генератором отчетных форм и встроенной защитой от вирусов.

Потребителями программного обеспечения Системы являются руководители и работники Заказчика, специалисты контрагентов Заказчика, члены научных сообществ и др.

*Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019-2027 годы (соглашение № 075–15-2021-1052).*

**Метагеномика в изучении биоразнообразия прокариот: обратная сторона медали**

О. В. Карначук

Томский государственный университет, Томск

Электронная почта: olga.karnachuk@green.tsu.ru

Метагеномные исследования революционизировали наши представления об экологии микроорганизмов. Однако иногда исследования разнообразия прокариот, основанные только на метагеномных исследованиях, могут приводить к ошибочным заключениям. Далее под «метагеномными исследованиями» в докладе будут рассмотрены методы, основанные на высокопроизводительном секвенировании, включая: 1) определение последовательностей ампликонов гена 16S рРНК; 2) определение последовательности метагеномов сообществ прокариот и 3) сборка и анализ композитных геномов (metagenome assembled genomes – MAG).

В докладе на конкретных примерах изучения сообщества прокариот будет продемонстрирована необходимость дополнения метагеномных исследований физиологическими экспериментами, определением активности прокариот и культивированием. Будут рассмотрены примеры сообществ термальных пород, ассоциированных с горящими отходами добычи угля и подземных водоносных горизонтов. Необходимость дополнения молекулярных методов физиологическими экспериментами будет продемонстрирована на примере изучения микробного сульфидогенеза в отходах животноводства. Культивирование и определение активности в условиях *in situ* показали, что представляющие «редкую биосферу» *Desulfovibrio*, являются основными агентами, осуществляющими «криптическую» сульфатредукцию» и вносящими основной вклад в образование H<sub>2</sub>S в отходах крупной свинофермы. Использование подхода, основанного только на профилировании гена 16S рРНК, не позволяет оценить роль микроорганизмов, присутствующих в биотопе в незначительных количествах.

*Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019-2027 годы (соглашение № 075-15-2021-1401).*

**Роль биоресурсной микробной коллекции КММ ТИБОХ ДВО РАН в изучении и сохранении морской микробиоты**

В. В. Куриленко, Л. А. Романенко, О. И. Недашковская, М. В. Пивкин, М. С. Кокоулин, А. Н. Юрченко, С. П. Ермакова, М. П. Исаева, В. В. Михайлов

*Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток*  
Электронная почта: science@riboc.dvo.ru

Коллекция морских микроорганизмов Федерального государственного бюджетного учреждения наук Тихоокеанского института биоорганической химии им. Г. Б. Елякова Дальневосточного отделения Российской академии наук была основана в 1985 году одновременно с созданием лаборатории микробиологии. Коллекция является единственной в России, целиком специализирующейся на морских гетеротрофных бактериях, а также грибах-микромикетах из домена *Eukarya*, собранных из всех регионов Мирового океана, включая Арктику и Антарктику, во время экспедиций на борту НИС «Академик Опарин» и других научно-исследовательских судов. Сотрудниками лаборатории микробиологии валидно описано около 200 новых видов, 50 родов и 10 новых семейств морских бактерий и 5 новых видов грибов. Это - выдающийся результат. В настоящее время Коллекция представляет собой хранилище генофонда морского микробного разнообразия, включающего более 4000 штаммов бактерий и более 1000 штаммов грибов (около 300 видов, 80 родов, 7 классов, 5 филумов, 2 царства, 2 домена), что составляет стратегический запас государства. С 2017 г. Коллекция также функционирует как Центр коллективного пользования (СКР\_461006), предоставляя научно-сервисные услуги, в том числе по идентификации штаммов бактерий и грибов. Коллекция получила широкую известность и является членом Всемирной федерации коллекций культур (WFCC, <http://www.wfcc>) и имеет официальный номер 644 и международный акроним КММ.

Морские микроорганизмы существенно отличаются от наземных и синтезируют различные биологически активные вещества, которые не были найдены в почвенных микроорганизмах, несмотря на более, чем полувековую историю таких поисков. Подходы, основанные на принципе «биоразнообразие-экология-биотехнология», позволили обнаружить ряд микробных продуцентов необычных биоактивных соединений, таких как рН-зависимые цитостатики, сурфактины, антибиотики. Обнаружены и изучены штаммы-продуценты таких ферментов как щелочные фосфатазы, тирозиназы, каррагиназы, эластазы, нуклеозидкиназы,  $\beta$ -1,3-глюканазы,  $\alpha$ -галактозидазы, фукоиданазы и некоторые другие.

Бактерии и грибы из Коллекции морских микроорганизмов являются постоянными объектами исследования для нескольких лабораторий института. Одно из направлений - изучение уникальных ферментов морских организмов, расщепляющих полисахариды бурых водорослей. Гликозидазы (О-гликозидгидролазы) морских бактерий, принимают участие в катаболизме нейтральных и полианионных полисахаридов бурых водорослей.

В последние годы проведен биоинформационный анализ геномов морских бактерий *Wenyngzhuangia fucanilytica* CZ1127<sup>T</sup> и *Formosa algae* КММ3553<sup>T</sup>. Идентифицированы четыре гена, кодирующие гипотетические фукоиданазы и гены пяти альгинат-лиаз. Получены рекомбинантные формы ферментов. С помощью фукоиданаз уточнена структура фукоиданов бурых водорослей *Fucus evanescens* и *Sargassum horneri*. Применение фукоиданаз различной специфичности позволяет получить более детальную информацию о структурах фукоиданов, которая, с применением традиционных химических методов, была недоступна.

*Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019-2027 годы (соглашение № 075-15-2021-1052).*

**Целевое изучение природных микробных биоресурсов, перспективных для использования в промышленной биотехнологии**

С. П. Синеокий

*Всероссийская коллекция промышленных микроорганизмов НИЦ «Курчатовский институт»,  
Москва*

Электронная почта: sineokey@genetika.ru

Изучение микробных биоресурсов важно, как для расширения общих знаний о природном микробном биоразнообразии, так и для целевого выявления микроорганизмов или их отдельных генов, перспективных для использования при создании промышленных продуцентов. От удачного использования изученных микробных генетических ресурсов в значительной степени зависит возможность повышения промышленно-значимых свойств продуцентов и обеспечение конкурентоспособности биотехнологий, основанных на их использовании. Выявление штаммов микроорганизмов/генов, перспективных для использования в подобных целях, невозможно без правильной постановки задачи с учетом сведений о характеристиках уже имеющихся продуцентов, теоретических возможностях улучшения продуцентов, экономической оценки зависимости себестоимости продукта от возможных модификаций продуцента, формулировании требований к генетическим ресурсам, использование которых может позволить повысить характеристики продуцента и влияние этих характеристик на себестоимость целевого продукта.

**Молекулярно-генетическая идентификация морских микроскопических грибов из КММ ТИБОХ ДВО РАН**

В. Е. Чаусова, Н. Н. Киричук, Ю. В. Худякова, М. В. Пивкин, М. П. Исаева  
*Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток*  
Электронная почта: v.chausova@gmail.com

Морские грибы – это эколого-физиологическая группа грибов, включающая облигатные и факультативные виды, адаптированные к морским условиям. На сегодняшний день морские грибы изучены значительно меньше, чем наземные, и являются одним из перспективных источников пополнения таксономического разнообразия грибов. Они принимают участие в процессах биосинтеза, деструкции и модификации веществ в морских биоценозах [1]. Грибы являются важным компонентом биоразнообразия и играют значительную роль в различных экологических циклах [2].

Начало создания Коллекции морских микроорганизмов ТИБОХ ДВО РАН (КММ ТИБОХ ДВО РАН) приходится на 1985 г. Она является членом Всемирной федерации коллекций культур (WFCC) и имеет официальный акроним – КММ и официальный номер – 644 [1]. В КММ ТИБОХ ДВО РАН, помимо штаммов бактерий, хранится более 1000 штаммов грибов-микромикетов, собранных в разных регионах Тихого океана.

Классическая идентификация грибов на основе только морфологических характеристик становится недостаточной, и большее распространение получают молекулярно-генетические методы анализа, результаты которых не зависят от изменения фенотипичных признаков под воздействием различных факторов. Для молекулярно-генетической идентификации коллекционных штаммов грибов из фонда КММ ТИБОХ ДВО РАН были отобраны 40 штаммов, которые ранее были идентифицированы только на основе морфологических характеристик. На первом этапе идентификации грибов использовали универсальные филогенетические маркеры: гены 18S рРНК и ITS. В работе использовали стандартные молекулярные методы: выделение геномной ДНК, амплификация генов с помощью ген-специфичных праймеров, гель-электрофорез, прямое секвенирование по Сэнгеру, анализ нуклеотидных последовательностей в программе MEGA X (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) и поиск гомологов в базе данных GenBank. Анализ последовательностей генов 18S рРНК и ITS показал, что степень идентичности с типовыми штаммами ближайших видов по гену 18S рРНК составила от 99,53 до 100%, по гену ITS – от 95 до 100%.

В докладе будут представлены примеры генетической идентификации морских грибов из биоресурсной коллекции КММ ТИБОХ ДВО РАН, и разобраны случаи неправильного отнесения.

*Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019-2027 годы (соглашение № 075–15-2021-1052).*

**Ссылки:**

1. Пивкин М.В. и др. // Дальнаука. 2006. С. 248.
2. Gautam A.K. et al. // J. Fungi. 2022. V. 226, N. 8. P. 1–49.

***Aurantimonas soli* sp. nov. – новый вид аэробных метилотрофных бактерий из соленой почвы**

Н. В. Агафонова, Е. Н. Капаруллина, Н. В. Доронина  
Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г. К. Скрябина РАН,  
ФИЦ Пуцинский научный центр биологических исследований РАН, Пуццино  
Электронная почта: nadyagafonova@gmail.com

Представители рода *Aurantimonas* принадлежат семейству *Aurantimonadaceae* класса *Alphaproteobacteria*. В настоящее время род *Aurantimonas* представлен четырьмя видами: *A. coralicida* (недавно объединен с *A. manganohydans* на основании геномного анализа), *A. endophytica*, *A. aggregata* и *A. marina*. Филогенетически представители рода *Aurantimonas* близки с родом *Aureimonas*, но четко отличаются от него отсутствием сульфохиновозилдиацилглицерина в фосфолипидном профиле клеток. Представители рода *Aurantimonas* изолированы преимущественно из соленых мест обитания (глубоководные морские осадки, кораллы, корни галофита *Anabasis elatior*), выдерживают до 12% NaCl в среде, имеют желтопигментированные колонии, клетки представлены грамотрицательными подвижными палочками, в жирнокислотном составе преобладает цис-11-октадеценовая кислота (C<sub>18:1ω7c</sub>). Интересно, что среди описанных представителей рода *Aurantimonas* метилотрофов до настоящего времени выявлено не было.

Из проб соленой почвы, отобранной в окрестностях Соликамского калийного рудоуправления, г. Соликамск Пермского края, на минеральной среде К с 3% NaCl и метанолом (в качестве единственного источника углерода и энергии) нами выделен метилотрофный штамм МН4, идентифицированный как новый вид рода *Aurantimonas*.

Цель работы – характеристика нового аэробного метилотрофного изолята – штамма МН4. Новый изолят представлен грамотрицательными подвижными палочками, 0,8–1,2 × 1,7–2,4 мкм, капсул, спор и протек не образует, размножается бинарным делением, колонии желтопигментированные, на 2-3 сут роста на среде Marine agar 2216 (Difco) достигают 2 мм в диаметре, но <1 мм на среде К с 3% NaCl (об/об) и 0,5% (об/об) метанола, оптимально растут при температуре 28–37 °С, pH 5,5–6,5 и 2–5% NaCl в среде, используют широкий спектр углеводов в качестве источника углерода и энергии. Доминирующими фосфолипидами являются фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилмонометилэтаноламин, фосфатидилглицерин, дифосфатидилглицерин; сульфохиновозилдиацилглицерин не обнаружен. Последовательность генома штамма МН4 доступна в базах данных NCBI GenBank и GCM Type strains Genome Database под номерами JAJAVB000000000 и GCM60017664, соответственно. Имеет длину 5,51 Мbp, содержание G+C пар в ДНК – 66,4%. Полная последовательность гена 16S рРНК имеет длину 1479 bp, депонирована NCBI GenBank под номером MT982221. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК выявил, что штамм МН4 наиболее сходен с представителями рода *Aurantimonas*: 98,4% с *A. coralicida* DSM 14790<sup>T</sup> и 98,3% с '*A. litoralis*' HTCC 2156. Данный уровень сходства оказался ниже порогового значения (98,7%), рекомендованного для разделения видов. Геномный анализ также выявил отличия: значения ANI (79,6%) и dDDH (21,4%) между штаммом МН4 и ближайшим типовым штаммом *A. coralicida* DSM 14790<sup>T</sup> были ниже порога для разделения видов (ANI <95%, dDDH <70%).

Таким образом, новый метилотрофный изолят, штамм МН4 (=ВКМ В-3413) представляет новый вид рода *Aurantimonas*, для которого предложено название *Aurantimonas soli* sp. nov.

## Мицелиальные грибы рода *Aspergillus* из морских мест обитаний

Е. М. Алексеева<sup>1</sup>, Н. Н. Киричук<sup>2</sup>, В. И. Еремеев<sup>2</sup>, В. Е. Чаусова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

<sup>2</sup>Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток  
Электронная почта: alek.3m@yandex.ru

Микроскопические грибы рода *Aspergillus*, ассоциированные с морскими субстратами, выполняют важные функции в структуре морских микробных сообществ. Следствием их адаптации к различным экологическим нишам стала способность к продукции ряда вторичных метаболитов с высокой биологической активностью, чем и обусловлен повышенный научный интерес к этой группе микроорганизмов.

КММ ТИБОХ ДВО РАН содержит ряд штаммов, род которых был определен как *Aspergillus* на основе морфологического анализа. Однако видовая идентификация грибов этого рода исключительно морфологическими методами представляется проблематичной ввиду наличия у некоторых видов перекрывающихся фенотипических характеристик.

В рамках данного исследования была проведена идентификация 10 штаммов микроскопических грибов из КММ ТИБОХ ДВО РАН, выделенных из различных источников в Японском (бухта Троицы, залив Петра Великого) и Южно-Китайском морях. После подтверждения сохранности чистоты культур методами культурально-морфологического анализа и световой микроскопии, таксономическое положение штаммов подтверждалось на основе анализа последовательностей 18S рРНК и ITS. В результате проведенного исследования восемь из 10 штаммов были идентифицированы до вида: *Aspergillus toenus* (КММ 4717, КММ 4122, КММ 4223, КММ 4254, КММ 4710), *Aspergillus appendiculatus* (КММ 4176, КММ 4364) и *Aspergillus hortae* (КММ 4707).

Также изучалась способность исследуемых штаммов к продукции соединений, обладающих антибиотической и антиканцидозной активностью. Анализ суммарных этилацетатных экстрактов показал, что штамм КММ 4703 проявляет высокую антибиотическую активность. В дальнейшем планируется культивирование этого штамма с целью выделения индивидуальных биологически активных соединений.

Проведенное исследование указывает на необходимость использования молекулярно-генетических методов. В дальнейшем планируется увеличить количество высоко консервативных эукариотических генов (тубулин, кальмодулин) для точной видовой идентификации штаммов микроскопических грибов, депонированных в КММ ТИБОХ ДВО РАН.

*Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019-2027 годы (соглашение № 075–15-2021-1052).*



**Микробиомный анализ донных осадков Курило-Камчатского желоба Тихого океана**

С. Н. Балдаев<sup>1</sup>, Е. П. Быстрицкая<sup>1</sup>, К. В. Гузев<sup>2</sup>, М. П. Исаева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток

<sup>2</sup>ООО «Бюротика», Владивосток

Электронная почта: baldaevsergey@gmail.com

Одним из малоизученных источников уникальных микробных сообществ являются океанические донные осадки, играющие важную роль в существовании морских глубоководных экосистем. Изучение биоразнообразия таких сообществ вызывает особый интерес ввиду перспектив обнаружения новых видов и раскрытия биотехнологического потенциала отдельных представителей.

Ранее, в ходе экспедиционного рейса №91 НИС «Академик Лаврентьев» в 2020 году, были получены образцы донных осадков акватории п-ова Камчатка со стороны Берингового моря и Тихого океана, включая Курило-Камчатский желоб. В работу были взяты образцы четырех точек: 52°14'36.0"N 159°21'00.0"E (станция 27, глубина 2720 м), 52°21'00.4"N 158°31'55.9"E (станция 29, 26 м), 52°34'58.2"N 158°31'45.2"E (станция 33, 29 м), 56°37'54.0"N 163°42'39.0"E (станция 38, 2900 м). Из данных образцов с помощью набора PureLink™ Microbiome DNA Purification Kit (Thermo Fisher Scientific, США) была выделена суммарная ДНК и проведена амплификация фрагментов генов малых субъединиц рибосом. Секвенирование ампликонов было произведено с использованием NGS-технологии на платформе MiSeq (Illumina, США) при помощи набора реагентов Nextera DNA Flex kits (Illumina, USA). Анализ полученных данных производился с помощью CLC Genomic Workbench 22.0 (Qiagen, Германия).

Наиболее представленными таксономическими группами бактерий в донных осадках были *Proteobacteria*, *Desulfobacterota*, *Bacteroidota* и *Cyanobacteria*. В глубоководных образцах (станции 27 и 28) наблюдалось приблизительно одинаковое распространение *Proteobacteria* и *Desulfobacterota* (28% и 24% для станции 27, 28% и 31% для станции 38), остальные – менее 11%. В образцах станций 29 и 33 представители *Proteobacteria* составили 36% и 45%, соответственно, остальные – менее 18%. Наиболее представленным типом в домене архей был *Crenarchaeota* (более 90% для станций 29 и 33, более 76% для станций 27 и 38). В образцах станций 27 и 38 наиболее часто встречающимся был тип *Thermoplasmata* (14% и 19%, соответственно). В ампликонах бактерий гена 16S рДНК более 80% последовательностей относилось к некультивируемым микроорганизмам, около 18% не были классифицированы и менее 2% были определены как культивируемые. Среди архей, как культивируемые, определено менее 1%. Таким образом впервые была проведена оценка разнообразия микробных сообществ донных осадков Курило-Камчатского желоба и восточной акватории п-ова Камчатка.

*Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № 13.1902.21.0012 (соглашение № 075-15-2020-796).*

## Метагеномный анализ бактериальных сообществ донных отложений из прибрежных акваторий юга Приморского края

Т. И. Дункай<sup>1,2</sup>, Е. О. Писарева<sup>1</sup>, Е. А. Богатыренко<sup>1</sup>, А. В. Ким<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

<sup>2</sup>Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, Владивосток

<sup>3</sup>ФНЦ Биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Владивосток  
Электронная почта: bogatyrenko.ea@dvfu.ru

Для донных отложений характерна способность накапливать различные вещества, в том числе и поллютанты, что делает их индикатором экологического состояния водного объекта. Также донные отложения являются средой с более богатым разнообразием субстратов, доступных для микроорганизмов, так как практически все вещества, попадающие в воду, оседают [1]. В настоящее время имеются данные только о культивируемых формах бактерий, составляющих лишь малую долю микробиома донных отложений прибрежных акваторий Приморского края, так как в основном используются только традиционные микробиологические методы. Полное представление о составе бактериальных сообществ донных отложений может дать проведение метагеномного анализа.

В качестве районов исследования были выбраны 5 акваторий Приморского края с разной степенью антропогенной нагрузки. ДНК из образцов выделяли с помощью набора «НК-сорбент» комплектации «Base» (ЛИТЕХ, Россия). Регион V3-V4 гена 16S рРНК амплифицировали с помощью праймеров 343F (5'-СТССТАСGGRRSGCAGCAG-3') и 806R (5'-GGACTACNVGGGTWTСТААТ-3'). Полученные образцы отправляли в ЦКП «Геномика» СО РАН (ИХБФМ СО РАН), г. Новосибирск для секвенирования на платформе MiSeq (Illumina, США).

В образцах доминировал филум *Proteobacteria* (47,66–76,4%). Существенную долю заняли представители филумов *Bacteroidetes* (4,51–18,07%), *Actinobacteria* (4,95–14%) и *Firmicutes* (1,43–10,2%). Представленные в различном соотношении и составлявшие не более 6,5% - филумы *Acidobacteria*, *Patescibacteria* и *Chloroflexi*. Менее 3% от всех последовательностей заняли филумы *Epsilonbacteraeota*, *Latescibacteria*, *Gemmatimonadetes* и *Planctomycetes*. В минорных количествах (менее 1%) в бактериальных сообществах донных отложений были идентифицированы представители филумов *Spirochaetes*, *Tenericutes*, *Nitrospirae*, *Calditrichaeota* и *Deinococcus-Thermus*.

Проделанная работа позволила получить представление о бактериальном составе изучаемых акваторий. В будущем эти данные могут быть применены для оценки влияния абиотических и антропогенных факторов на структуру сообществ микроорганизмов, для поиска потенциальных видов и новых генов с интересными для биотехнологического производства свойствами. Изучение микробиома донных отложений может помочь идентифицировать, например, места скопления природных полезных ископаемых или области выхода/разлива нефти, так как в таких местах обнаруживаются типичные углеводородокисляющие бактерии, например группа *Terrabacteria*, куда входят классы *Dehalococcoidia* и *Anaerolineae* из филума *Chloroflexi* [2].

### Ссылки:

1. Walsh E. A. // ISME J. 2016. V. 10, № 4. P. 979 – 989.
2. Dong X. // Nat Commun. 2019. V. 10, № 1. P. e1816.

**Генетическая идентификация морских бактерий, выделенных из донных осадков  
Охотского моря**

В. И. Еремеев, Н. Ю. Отставных, Л. А. Романенко, М. П. Исаева

*Тихоокеанский институт биоорганической химии имени Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток*  
Электронная почта: wieremeew@gmail.com

Поиск и изучение уникальных природных сообществ микроорганизмов является необходимым этапом в процессе обнаружения новых продуцентов биологически активных веществ. С этой точки зрения особенный интерес вызывают биоценозы, имеющие высокую биологическую продуктивность с неясным источником. Недавно такой биоценоз был обнаружен в акватории Шантарского архипелага Охотского моря, залив Академии [1].

По результатам гидрохимического исследования залива Академии был установлен импульсный характер эвтрофикации его вод в осенний период, предположительно связанный с сезонной миграцией лосося и горбатых китов. Циклический характер изменения концентрации биогенных элементов в среде, в сочетании с периодичным привнесением извне новой микрофлоры, создают прекрасные условия для формирования здесь уникального микробного сообщества, с чем и связано пристальное внимание к этому региону.

В лаборатории микробиологии ТИБОХ ДВО РАН из проб грунта, взятых со дна залива Академии в сентябре 2020 г., были изолированы 38 аксеничных бактериальных культур. Для генетической идентификации штаммов была выделена геномная ДНК, амплифицированы и секвенированы последовательности гена 16S рРНК.

На основе филогенетического анализа последовательностей 16S рРНК было обнаружено, что исследуемые штаммы микроорганизмов принадлежат к 5 классам бактерий, а именно: *Flavobacteriia* (6), *Bacilli* (1), *Actinomycetia* (1), *Alphaproteobacteria* (10) и *Gammaproteobacteria* (20). В классе *Flavobacteriia* выделенные штаммы относились к 4 родам семейства *Flavobacteriaceae*. В классе *Alphaproteobacteria* – к 5 родам семейств *Rhodobacteraceae* и *Rhizobiaceae*. Класс *Gammaproteobacteria* был представлен штаммами девяти родов из 7 семейств. Наибольшее количество штаммов (13%) принадлежало к классу *Gammaproteobacteria*, семейству *Pseudoalteromonadaceae*, роду *Pseudoalteromonas*. Обнаружено 8 штаммов, филогенетическое положение которых позволяет предположить их принадлежность к новым видам (7) и родам (1).

Полученные данные свидетельствуют о широком таксономическом разнообразии микроорганизмов, выделенных из донных осадков залива Академии. Дальнейшее изучение этого биоценоза может привести к открытию новых таксономических единиц и новых продуцентов биологически активных веществ.

*Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019-2027 годы (соглашение № 075–15-2021-1052).*

Ссылки:

1. Тищенко П.Я. и др.// Океанология. 2022. Т. 62, № 1. С. 98–111

## Новый вид аэробных метилотрофных бактерий из филлосферы дуба

Е. Н. Капаруллина, А. А. Чемодурова, Н. В. Агафонова, Н. В. Доронина  
Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г. К. Скрябина РАН,  
ФИЦ Пушчинский научный центр биологических исследований РАН, Пушкино  
Электронная почта: lenokap80@gmail.com

Аэробные метилотрофные бактерии используют в качестве источников углерода и энергии различные C<sub>1</sub>-соединения (метанол, метиламин, формальдегид, формиат и др.) и выполняют функцию природного биофильтра на пути эмиссии этих соединений в атмосферу. Одноуглеродные соединения образуются в различных биотопах, присутствуют в стоках многих производств, а также являются естественными продуктами метаболизма растений, поэтому неудивительно, что метилотрофы широко распространены и колонизируют ризосферу и филлосферу. Установлено, что многие метилотрофы являются фитосимбионтами и стимулируют рост растений с помощью самых разнообразных механизмов. Бактерии рода *Ancylobacter* обнаружены в различных экологических нишах (активный ил, водная среда, донные отложения, различные виды растений) и играют важную роль в круговороте углерода. Некоторые виды рода *Ancylobacter* являются фитосимбионтами, представляют интерес для биотехнологии, поэтому их изучение и выделение из различных растений географически удаленных ареалов является весьма актуальным. Из листьев дуба *Quercus pubescens* Willd., отобранных вблизи пгт Никита (Крым), на минеральной среде Канада с 0.5% метанолом (в качестве единственного источника углерода и энергии) нами был выделен штамм бх-1.

Цель работы – характеристика нового метилотрофного изолята - штамма бх-1. Новый изолят представлен граммотрицательными короткими овоидными палочками, размножается бинарным делением, колонии на минеральной агаризованной среде с метанолом круглые, матовые, кремовые, с ровным краем, с выпуклым профилем, гладкой поверхностью и однородной структурой. Аэроб, оксидазо- и каталазоположителен. Штамм бх-1 растет при 17–37 °С (оптимально 28 °С) и рН 7,2–8,5 (7,5), в присутствии 0–1,5% NaCl (0,5% NaCl). В качестве источника углерода использует широкий спектр полиуглеродных соединений. Синтезирует индолпроизводные из триптофана на среде, содержащей нитраты в качестве источника азота. Обладает активностью триптофандеаминазы. Не продуцирует H<sub>2</sub>S и ацетоин. Растет на арабинозе, ксилозе, раффинозе, фруктозе, сукцинате, манните, сорбите, метаноле, метиламине и этаноле, а также газовой смеси H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub>. Слабо растет на глюкозе, лактозе, мальтозе, сахарозе, малате, пирувате натрия, формиате, серине, инозите, ацетамиде, DL-пролине, N-ацетил-D-глюкозоамине и аланине. Не растет на α-кетоглутарате, диметиламине, формальдегиде, диметилсульфоксиде, дихлорметане и глицерине. На основании секвенирования гена 16S рРНК (номер NCBI GenBank MK929090) штамм бх-1 имеет наибольшее сходство с представителями рода *Ancylobacter*: 97.4% с *A. rudongensis* CGMCC 1.1761<sup>T</sup> и *A. oerskovii* DSM 18746<sup>T</sup>. Данный уровень сходства ниже порогового значения (98.65%), рекомендованного для разделения видов (Chun et al., 2018). Последовательность генома штамма бх-1 доступна в базе данных NCBI GenBank под номером JALKCH000000000. Имеет длину 4,3 Мбр, содержание G+C пар в ДНК – 67,3%. Геномный анализ также выявил отличия: значения ANI (77,7–78,3%) и dDDH (22,1–22,5%) между штаммом бх-1 и ближайшими типовыми штаммами *A. rudongensis* CGMCC 1.1761<sup>T</sup> и *A. oerskovii* DSM 18746<sup>T</sup> были ниже порога для разделения видов (ANI <95%, dDDH <70%). Таким образом, новый метилотрофный изолят, штамм бх-1 (=ВКМ В-3256) представляет новый вид рода *Ancylobacter*, для которого предложено название *Ancylobacter crimeensis* sp. nov.

Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019-2027 годы (№ 075-15-2021-1051).

**Влияние антропогенного загрязнения на изменение биологических свойств культивируемых бактерий акваторий Приморского края**

А. В. Ким<sup>1,2</sup>, Е. А. Богатыренко<sup>1</sup>, Т. И. Дункай<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

<sup>2</sup>ФНЦ Биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Владивосток

Электронная почта: kim\_avyache@dvfu.ru

На сегодняшний день в прибрежных водах некоторых районов Приморского края отмечается высокая степень антропогенного воздействия, связанная с увеличением численности населения на побережье и активным вовлечением прибрежной полосы в сферу хозяйственной деятельности человека. Загрязнение водоемов различными поллютантами приводит не только к изменению состава микробных ценозов, но и влияет на физиолого-биохимические свойства микроорганизмов. Вместе с тем экологические и эпидемиологические последствия этих изменений еще до конца не определены.

Целью данной работы является изучение влияния антропогенного загрязнения на изменение биологических свойств у бактерий, выделенных из акваторий Приморского края с разной степенью загрязнения.

Взятые в работу штаммы бактерий были изолированы из поверхностных вод акваторий Приморского края с разной антропогенной нагрузкой (б. Золотой Рог, б. Находка, б. Киевка и зал. Восток). Идентификацию выделенных штаммов бактерий проводили на основе морфофизиологических и биохимических свойств, а также на основе анализа структуры их гена 16S рРНК.

Для выявления у бактерий факторов патогенности изучали их способность к адгезии по методу Бриллис, а также синтезу гемолизина, плазмокоагулазы и гиалуронидазы. Цитопатические свойства бактерий изучали на культуре клеток линии Vero E6. Вирулентность определяли с помощью LD<sub>50</sub> на беспородных белых мышах. Антибиотикочувствительность изучали диско-диффузионным методом.

По результатам работы было выявлено, что штаммы бактерий из акваторий с хроническим антропогенным загрязнением, чаще проявляли высокую адгезивность и обладали плазмокоагулазной, гиалуронидазной и гемолитической активностями, чем штаммы из условно чистых районов. Впервые было показано, что вирулентностью и устойчивостью к широкому спектру антимикробных соединений обладали штаммы бактерий только из акватории с существенной антропогенной нагрузкой.

Таким образом, бактерии под влиянием антропогенного загрязнения способны изменять свои биологические свойства в сторону повышения патогенного потенциала. Загрязнение морской среды приводит к проявлению и появлению агрессивных свойств у бактерий, в качестве ответной реакции на воздействие стрессового фактора. Полученные результаты имеют как общебиологическое, так и важное эколого-эпидемиологическое значение.

**Биобанк как инструмент широкомасштабного поиска и изучения микробных сообществ, ассоциированных с сельскохозяйственными животными**

И. С. Ковтун, М. В. Филонова, А. С. Дорошенко

*Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск*

Электронная почта: kovtunirina2@gmail.com

При проведении широкомасштабных исследований, связанных с поиском новых видов микроорганизмов, ассоциированных с сельскохозяйственными животными для развития биотехнологии, необходимым и уникальным инструментом могут служить методы и подходы гражданской науки, способствующие привлечению к научным исследованиям непрофессионалов, позволяя им совершать отбор проб для дальнейших исследований учеными-профессионалами. Данный подход, с одной стороны, позволяет увеличить географический охват мест отбора проб микробиома и разнообразие отбираемых образцов, а также способствует популяризации и возрастанию интереса со стороны общественности, однако, с другой стороны, такой опыт сопряжен с ошибками и возможностью некорректного отбора проб, а также с нарушениями условий хранения. В связи с чем, важно наличие контролирующего звена при отборе и верификации проб, отобранных как учеными-профессионалами, так и гражданскими учеными. Эту роль может взять на себя биобанк, как орган, организующий и координирующий процесс.

Создание биобанка не является рутинной задачей, поскольку в настоящее время не существует стандартных протоколов и процедур для создания биобанка образцов микробиома и микробных сообществ, ассоциированных с сельскохозяйственными животными. Представленный тип сохраняемого материала требует не только тщательно продуманного подхода к хранению, но и строго регламентированных процедур по отбору и транспортировке проб. Все сложности, связанные с разработкой протоколов, стандартных операционных процедур берет на себя биобанк. Причем для профессиональных ученых и гражданских ученых описание протоколов и процедур должно отличаться, что связано с разным базовым уровнем профессиональной подготовки, и тем, что отбор проб микробиома требует определенных навыков.

Таким образом, именно создание биобанка сельскохозяйственно значимых микроорганизмов НИ ТГУ позволило объединить труд ученых-профессионалов и гражданских ученых для развития научно-исследовательской и прикладной деятельности.

*Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019-2027 годы (соглашение № 075-15-2021-1401).*

**Мультилокусный анализ морских бактерий рода *Vibrio*, выделенных из мукуса ловчей сети морской полихеты *Chaetopterus variopedatus***

Д. О. Личманюк<sup>1</sup>, Н. Ю. Отставных<sup>2</sup>, В. В. Куриленко<sup>2</sup>, М. П. Исаева<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

<sup>2</sup>Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток  
Электронная почта: lichmanyukdarina@gmail.com

Гуанидин-содержащие соединения, выделенные из морских беспозвоночных, способны проявлять противогрибковые, антибактериальные, противовирусные и противоопухолевые свойства [1]. Благодаря высокому уровню биологической активности и растворимости в воде, они могут рассматриваться в качестве кандидатов для разработки лекарственных препаратов. Продуцентами одних из таких соединений являются штаммы бактерий рода *Vibrio*.

Объектом данного исследования являлись 15 штаммов бактерий рода *Vibrio* из Коллекции Морских Микроорганизмов ТИБОХ ДВО РАН, ранее выделенные из ловчей сети морской полихеты *Chaetopterus variopedatus* (тип Annelida) [2]. Для генетической идентификации штаммов бактерий рода *Vibrio* был разработан и проведен мультилокусный анализ (MLSA) на основе восьми генов «домашнего хозяйства»: *ftsZ*, *gapA*, *gyrA*, *gyrB*, *mreB*, *purH*, *rpoA*, и *recA*. Филогенетические деревья максимального правдоподобия были построены с использованием веб-сервера IQ-TREE по модели GTR+F+I+G4, определенной с помощью ModelFinder. Достоверность топологии дерева оценивалась по значениям непараметрического бутстрепа на основе 100 реплик. Для более наглядной визуализации связей между штаммами рода *Vibrio* дополнительно была построена филогенетическая сеть с использованием программы SplitsTree4 методом NeighbourNet с поправкой Jukes–Cantor.

По результатам мультилокусного анализа восемь штаммов были отнесены к двум валидно описанным видам *Vibrio*, образуя с ними тесные кластеры. Шесть штаммов группировались с видом *V. mediterranei* (расстояния MLSA между штаммами внутри вида составляли в среднем  $0,001 \pm 0,0005$ ); три штамма – с видом *V. barjanei* (расстояния в среднем  $0,003 \pm 0,0009$ ). Остальные шесть штаммов попали в три отдельные ветви, являясь вероятными кандидатами на новые виды бактерий рода *Vibrio*. Одна из этих ветвей была сформирована штаммом СВ1-5. Другие две ветви были представлены двумя (СВ2-1 и СВ2-7) и тремя штаммами (СВ1-14, СВ2-8 и СВ2-10) с расстояниями  $0,003 \pm 0,001$  и  $0,006 \pm 0,001$  соответственно. Расстояния между штаммами, претендующими на новые виды, с типовыми штаммами близкородственных им видов были в диапазоне 0,045–0,237. *V. mediterranei* и *V. barjanei* являются, по-видимому, эволюционно недавно разошедшимися видами ( $0,018 \pm 0,003$ ). В целом, род *Vibrio* представлен хорошо разграниченными видами с расстояниями от 0,033 до 0,248. Таким образом, на основе разработанного MLSA проведена идентификация 15 коллекционных штаммов бактерий рода *Vibrio*, среди которых могут быть представители новых видов.

*Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019-2027 годы (соглашение № 075–15-2021-1052).*

Ссылки:

1. Berlinck R.G.S. et al. // Nat. Prod. Rep. 2017. V. 34. P. 1264–1301.
2. Makarieva T. et al. // Marine drugs 2019. V. 17, N 4. P. 213.

**Выделение микроорганизмов с гидролитической активностью из отходов сельскохозяйственных животных**

А. П. Лукина<sup>1</sup>, Л. Б. Глухова<sup>1</sup>, В. В. Кадников<sup>2</sup>, Н. В. Равин<sup>2</sup>, О. В. Карначук<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск,

<sup>2</sup>Институт Биоинженерии ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

Электронная почта: anastasiya-lukina-93@mail.ru

Бактерии, продуцирующие гидролитические экзоферменты, имеют большое значение для промышленных биопроцессов. Вырабатывая разнообразный набор внеклеточных гидролитических ферментов, кишечная микрофлора осуществляет широкий спектр катаболических реакций, которые отличаются от метаболических процессов хозяина, но дополняют их. Компост (перегной), может быть использован для культивирования перспективных бактерий, способных деградировать растительные полисахариды, в том числе целлюлозу и крахмал.

Микроорганизмы с гидролитической активностью выделяли из образца коммерческого перегноя. Профилирование по гену 16S рРНК образца ДНК из перегноя выявил следующие доминантные (>1%) последовательности генов 16S рРНК филумов бактерий и архей: *Proteobacteria* (в среднем 22,70%), *Bacteroidota* (18,26%), *Chloroflexi* (15,88%), *Actinobacteriota* (9,87%), *Firmicutes* (6,00%), *Halobacterota* (5,82%), *Mycococcota* (3,82%), *Verrucomicrobiota* (3,68%), *Acidobacteriota* (2,77%), *Planctomycetota* (2,50%), *Gemmatimonadota* (2,04%), *Patescibacteria* (1,66%), *Fibrobacterota* (1,30%), *Crenarchaeota* (0,58%), *Deinococcota* (0,51%) и *Campylobacterota* (0,13%).

Первичные накопительные культуры из компоста получены на различных средах с добавлением микрокристаллической целлюлозы в качестве ростового субстрата при разных температурах (50, 60 и 70 °С). Получено несколько чистых культур. Штамм, обозначенный 1250, анаэробно рос на среде DSM 1004 при 60 °С. Ближайшим родственником со сходством последовательностей гена 16S рРНК 99,9% является *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum*. Ранее показано, что *T. thermosaccharolyticum*, обладает высокой целлюлолитической активностью, а также в ходе деградации целлюлозы наблюдают высокий выход H<sub>2</sub>. Это делает *T. thermosaccharolyticum* потенциальным кандидатом для быстрого превращения лигноцеллюлозы в биоводород. Штамм 1251, анаэробно рос на среде DSM 1004 при 70 °С. Ближайшим родственником бактерии 1251 со сходством последовательностей гена 16S рРНК 96,5% является *Caloramator australicus*. Ранее в исследованиях показано, что чистая культура *C. australicus* способна генерировать электричество, бактерия является новым термофильным экзоэлектрогеном. Штамм 1255, рос анаэробно на среде Видделя-Бака при 60 °С. Ближайшим родственником бактерии 1255 со сходством последовательности гена 16S рРНК 99,5% является *Thermoanaerobacterium saccharolyticum*. Ранее *T. saccharolyticum* был использован для производства этанола с выходом, эквивалентным дрожжам.

*Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019-2027 годы (соглашение № 075-15-2021-1401).*



**Идентификация морских бактерий, выделенных из донных осадков Курило-Камчатского желоба Тихого океана**

Ю. А. Бронникова (Молонова)<sup>1</sup>, Н. Ю. Отставных<sup>2</sup>, О. И. Недашковская<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Дальневосточный федеральный университет

<sup>2</sup>Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток  
Электронная почта: molonova.yulya@gmail.com

Идентификация морских микроорганизмов представляет особый интерес, позволяя обогатить базы данных и найти потенциально полезные для человека свойства. Целью работы являлось определение таксономической принадлежности морских бактерий, выделенных из донных осадков Курило-Камчатского желоба Тихого океана, с использованием метода молекулярно-генетической идентификации на основе последовательности гена 16S рРНК.

Исследуемые штаммы были изолированы из проб донных осадков, собранных стерильно с глубины 7135 м в Охотском море, Россия, в районе расположения Курило-Камчатского жёлоба (координаты: 45°38,604' N 152°55,911' E), во время научной экспедиции KuramBioII, НИС «SONNE» 28 августа 2016 года.

В ходе проделанной работы были выделены геномные ДНК и амплифицирован ген 16S рРНК из 15 аксеничных бактериальных культур. Установление нуклеотидных последовательностей далее было проведено в ходе прямого секвенирования методом Сэнгера на генетическом анализаторе SeqStudio Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific, США). Полученные последовательности сравнивались с базами данных GenBank NCBI и EzBioCloud, используя алгоритм BLAST, и далее обрабатывались с помощью свободного программного обеспечения MEGA11.

Все исследуемые штаммы являлись представителями трех разных родов филума *Bacteroidetes* семейства *Flavobacteriaceae*. Установлено, что штамм 4DSBS-19 является филогенетически наиболее близким к *Arenibacter palladensis* LMG 21972<sup>T</sup> (идентичность 99,43%); штамм 4DSBS-22 – к *Maribacter dokdonensis* DSW-8<sup>T</sup> (99,63%), а штамм 4DSBS-41 – к *Joostella marina* En5<sup>T</sup> (99,93%). Бактерии данного семейства являются типичными представителями морских микробных сообществ. Они играют важную экологическую роль, в том числе связанную с образованием биопленок и способностью вызывать заболевания морских организмов.

*Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019-2027 годы (соглашение № 075–15-2021-1052).*

**Грибы рода *Penicillium*, ассоциированные с дальневосточным трепангом *Apostichopus japonicus***

А. Е. Павлюк<sup>1</sup>, В. Е. Чаусова<sup>2</sup>, С. Н. Балдаев<sup>2</sup>, Н. Н. Киричук<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

<sup>2</sup>Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток  
Электронная почта: anastasiavl1996@gmail.com

Грибы представляют собой совершенно особое четвертое царство природы, обособившееся в обширную группу эукариот. Адаптивные возможности грибов позволяют им заселять разнообразные субстраты как в наземных, так и в водных экосистемах, в том числе и морских. В настоящее время существенной проблемой остается недостаточная изученность грибов морских экосистем. В связи с этим, большой интерес представляет изучение грибов, ассоциированных с морскими гидробионтами. Целью данной работы являлось изучение видового богатства микромицетов дальневосточного трепанга *Apostichopus japonicus* с использованием современных молекулярно-генетических методов. Особое внимание было уделено таксономическому и филогенетическому анализу представителей рода *Penicillium*, а также изучению их физиолого-биохимических свойств.

Для морфологического анализа грибы были посеяны на чашки Петри на следующих средах: СУА (при температуре 30, 37 °С), МЕА, YES. Колонии на СУА органиченнорастущие, на 7-е сутки достигающие диаметра около 2-3 см, бархатистые, со складчатой или бороздчатой поверхностью колоний, со слабо выраженным серо-зелёным спороношением, с белым по краям и в центральной части колонии мицелием, желтоватым реверзум, растворимый пигмент не образуется, у некоторых образцов прослеживалось наличие пигмента. На среде МЕА колонии бархатистые, в диаметре достигают в среднем 3 см., обильно спороносящие в серо-зелёных тонах с белым краем, оттенки реверзума варьировались от светло-желтого до темно-коричневого. Колонии, на среде YES также бархатистые, складчато-бороздчатого типа, местами с прожилками, оттенками реверзума от светло-желтого до коричневого, в некоторых образцах присутствовал коричневый пигмент.

На основе последовательностей ITS были идентифицированы до вида три штамма, два из которых были отнесены к *Penicillium aurantiocandidum*, один к *Penicillium lapidosum*, остальные семь могут быть кандидатами на новый вид. Восемь штаммов было изучено на наличие антибиотической активности. Все из них показали бактериостатическое действие, из которых два продемонстрировали бактерицидную активность.

Таким образом, на основании полученных данных была проведена первичная видовая идентификация 10 штаммов грибов рода *Penicillium*, ассоциированных с трепангом. В дальнейшем эти штаммы могут быть использованы для культивирования с целью выделения индивидуальных биологически активных соединений.

*Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019-2027 годы (соглашение № 075–15-2021-1052).*

**Физиолого-биохимические и генетические характеристики штамма морской бактерии *Bizionia* sp. 041-53-Ur6, выделенной из морского ежа *Strongylocentrotus intermedius***

Е. С. Пильникова<sup>1</sup>, С. Н. Балдаев<sup>2</sup>, А. И. Иващенко<sup>1</sup>, В. В. Куриленко<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Дальневосточный федеральный университет

<sup>2</sup>Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток  
Электронная почта: elizapil654@gmail.com

Морская микробиология является одной из перспективных, но при это малоизученных направлений микробиологии. Морские микроорганизмы в отличие от микробов из других местообитаний синтезируют уникальные вещества, которые могут найти применение для различных областей деятельности человека. Одним из перспективных источников новых микроорганизмов являются морские животные. Так, в ходе экспедиционного рейса НИС «Академик Опарин» в сентябре 2011 г., был отобран образец полостной жидкости морского ежа *Strongylocentrotus intermedius*, из которого позднее была выделена аксеничная культура бактерий, получившая рабочее название 041-53-Ur6. Предварительно данный штамм был отнесен к роду *Bizionia*. Целью данной работы являлось изучение физиолого-биохимических и генетических характеристик этого штамма.

Были произведены определение температурных пределов роста штамма, толерантности к различным концентрациям NaCl, тест на способность гидролизировать ДНК, казеин, амилазу, тирозин, твина 20, твина 40, твина 80 и желатина. Также была определена возможность нитратредукции, проведен тест на выделение сероводорода, изучен рост при различных значениях pH и определена чувствительность к некоторым антибиотикам. Для более точного определения таксономического положения исследуемого штамма была амплифицирована и секвенирована последовательность гена 16S рДНК,. Полученные данные позволили более подробно охарактеризовать штамм 041-53-Ur6. Морфологически колонии круглые, выпуклые, диаметром 1-2 мм, окрашенные в желто-оранжевый, оранжевый и желтый цвета. Данный штамм способен восстанавливать нитраты в нитриты, образовывать сероводород, продуцировать амилазу. Также гидролизованы желатин, твин 20, ДНК. Определение толерантности к различным концентрациям NaCl показало, что для роста колоний необходимо присутствие NaCl. Температурные пределы роста находятся вне диапазона 5 °С – 35 °С, а pH оптимум определен при значениях pH 7 – 8,5. Тесты на чувствительность к антибиотикам показали, что бензилпенициллин (10 ЕД), гентамицин (10 мкг), неомицин (30 мкг), налидиксовая кислота (30 мкг), цефазолин (30 мкг), полимиксин (300 ЕД), канамицин (30 мкг), оксациллин (10 мкг) не ингибируют рост клеток. На основе нуклеотидных последовательностей 16S рДНК исследуемого штамма и типовых штаммов рода *Bizionia* было построено филогенетическое дерево методом наибольшего правдоподобия. Полученные данные позволяют предположить, что штамм 041-53-Ur6 может представлять новый вид рода *Bizionia*.

*Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019-2027 годы (соглашение № 075–15-2021-1052).*

**Изучение ультраструктурной организации покоящихся клеток и способности *Rhodococcus* sp. 7B сохранять биодеградативный потенциал после длительного хранения**

В. Н. Поливцева, О. И. Сазонова, И. П. Соляникова  
ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН», Пущино  
Электронная почта: valentina.polivtseva@yandex.ru

Состояние покоя не только служит способом переживания неблагоприятных условий, но и способствует в некоторых случаях к изменению метаболизма микроорганизмов [1]. Нами были поставлены эксперименты по введению в состояние покоя клеток штамма *Rhodococcus* sp. 7B двумя способами: длительное хранение (до 1,5 лет) при 24 °С (обозначен 7B(24) и хранение 4 мес при 4 °С (обозначен 7B(4)). В обоих случаях клетки штамма 7B быстро возвращаются в метаболически активное состояние: на 2 сут после посева биомассы покоящихся клеток (ПК) на богатую среду наблюдается активный рост клеток родококков. При пересеве выросших клеток в минеральную среду, содержащую фенол в концентрации 0,2 г/л в качестве единственного источника углерода, наблюдается увеличение оптической плотности культур и снижение концентрации фенола. Последующий пересев в колбы с минеральной средой и фенолом в концентрациях 0,5 и 1 г/л, показал, что штамм 7B(24) не только не утратил способность расти при концентрациях фенола 0,5 г/л, но и показал активный рост на 1 г/л фенола, что ранее не обнаруживалось.

По сравнению с вегетативными клетками, покоящиеся имеют более конденсированную цитоплазму, у них практически отсутствуют длинные ветвящиеся клетки, характерные для рода *Rhodococcus*. Обнаруживаются отличия между вегетативными и покоящимися клетками и на ультраструктурном уровне. Различие наблюдается в структуре клеточной стенки (в состоянии покоя пространство между цитоплазмой и пептидогликановым слоем практически не различается, а наружный слой пептидогликанового слоя разрыхляется), разной плотности цитоплазмы, наличии включений и особых мезосомоподобных структур, которые не обнаруживаются в ПК (Рисунок 1).

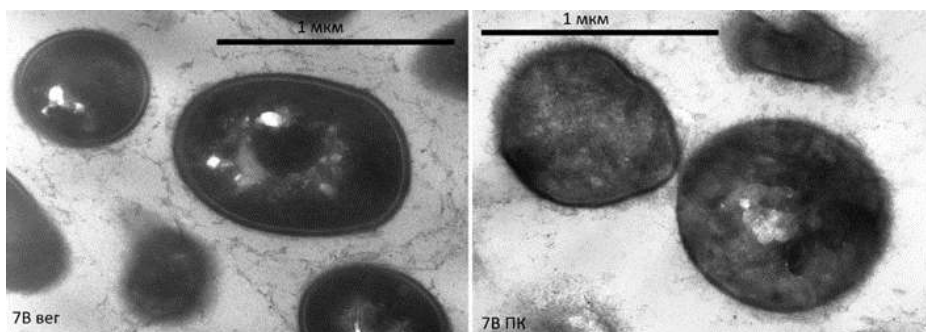


Рисунок 1. Ультратонкие срезы вегетативных и покоящихся клеток штамма 7B

РЕР-ПЦР продемонстрировал, что профили геномных фингерпринтов образцов вегетативных клеток 7B(4) и 7B(24) сходны между собой и отличаются от ПК, хотя и незначительно. Такое отличие объясняется вероятно тем, что именно в условиях покоя в геноме происходят обратимые перестройки, являющиеся адаптивной реакцией на стресс и обеспечивающие выживание клеток после выхода из состояния покоя.

*Исследование поддержано грантом РФФИ № 19-54-80003.*

Ссылки:

1. Solyanikova I.P. et al. // J. Environ. Sci. Health, Part B. V. 46. P. 638 – 647.

**Изучение таксономического состава бактерий донных осадков прибрежной зоны Японского моря**

Ю. В. Савичева<sup>1</sup>, Л. А. Романенко<sup>2</sup>, В. И. Еремеев<sup>2</sup>, М. П. Исаева<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

<sup>2</sup>Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток  
Электронная почта: iu.savicheva0@yandex.ru

Биоресурсная коллекция КММ ТИБОХ ДВО РАН располагает огромным необъявленным фондом, накопление которого осуществлялось за счет проведения морских и береговых научных экспедиций. Штаммы, содержащиеся в резервном фонде, представляют интерес как с научной, так и с практической точки зрения, что делает задачу их каталогизации и систематизации одной из приоритетных для развития Коллекции.

20 аксеничных бактериальных культур, находящиеся в резервном фонде КММ ТИБОХ ДВО РАН, были использованы для таксономической идентификации на основе секвенирования гена 16S рРНК. По данным проведенного филогенетического анализа установлено, что изучаемые штаммы принадлежат к 5 классам: *Flavobacteriia* (5), *Cytophagia* (1), *Alphaproteobacteria* (6), *Gammaproteobacteria* (3) и *Actinomycetes* (4). Класс *Flavobacteriia* включал 4 рода семейства *Flavobacteriaceae*. К классу *Alphaproteobacteria* относилось 6 родов семейств *Erythrobacteraceae*, *Sphingomonadaceae* и *Rhodobacteraceae*. В рамках класса *Gammaproteobacteria* обнаружено 2 рода семейств *Alteromonadaceae* и *Cellvibrionaceae*. К *Actinomycetes* принадлежало 4 рода семейств *Microbacteriaceae*, *Cellulomonadaceae* и *Micrococcaceae*.

Таксономическое положение одного из штаммов (рабочее название Le25) не удалось однозначно определить. На основе филогенетического анализа гена 16S рРНК и степени идентичности штамма Le23 с наиболее филогенетически близкими видами (96,43% для *Mariniflexile soesokkakense* RSSK-9 и 96,15% для *Gaetbulibacter lutimaris* D1-y4) предложено секвенировать геном этого штамма с целью установления принадлежности к новому роду.

Кроме того, были изучены физиологические и биохимические свойства 14 штаммов. Можно выделить некоторые особенности, характерные для бактериальных изолятов морского шельфа. Большинство изолятов аэробные неферментирующие пигментированные бактерии, способные расти при температуре 5°C. Многие бактерии гидролизуют Tween 20, 40, 80. Отдельные штаммы обладают агаролитической, желатиназной, казеиназной и ДНКазной активностью. Все бактерии показали отрицательный результат по гидролизу L-тирозина. Бактерии продуцируют щелочную фосфатазу, эстеразу (С 4), эстеразу липазу (С 8), лейцин ариламидазу, кислую фосфатазу, нафтол-AS-B1-фосфогидролазу. Ни один из штаммов не способен продуцировать  $\alpha$ -фукозидазу и  $\beta$ -глюкуронидазу.

Проведенное исследование доказывает необходимость продолжения изучения необъявленного фонда биоресурсной коллекции КММ ТИБОХ ДВО РАН. Дальнейшая систематизация находящихся здесь штаммов позволит в полной мере раскрыть научно-технический потенциал коллекции.

*Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019-2027 годы (соглашение № 075–15-2021-1052).*

## ПАТОГЕННЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ БОРЬБЫ С НИМИ

*Пленарные доклады*

### **Нестабильность генома и её роль в эволюции, адаптации и персистенции патогенных бактерий**

Б. Г. Андрюков

*НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова Роспотребнадзора, г. Владивосток*  
Электронная почта: andrukov\_bg@mail.ru

Согласно современным представлениям, многочисленному семейству мобильных генетических элементов (МГЭ) – дискретным единицам ДНК, способным занимать различные положения в геноме, отводится ключевая роль в эволюции всех живых организмов, включая бактерий и архей. Эти подвижные генетические элементы составляют прокариотический мобилом и являются важным звеном, опосредующим эволюцию, фенотипическую адаптацию, формирование вирулентности и резистентности к антибиотикам у патогенных бактерий.

Семейство прокариотического мобилома включает чрезвычайно пёстрый спектр элементов с различной склонностью к оседлости и подвижности. Помимо плазмид, интегративно-конъюгативных элементов и транспозонов, в него также входят бактериофаги, интегроны, интроны, трансповироны, геномные острова и другие элементы, широко распространенные в различных бактериальных таксонах. Установлено, что последствия горизонтального переноса генов, опосредованного МГЭ, имеют фундаментальное значение для генетики бактерий – они опосредуют новые функции генов, влияя на их экспрессию в микробных популяциях, в том числе, устойчивость к антибиотикам.

Первый источник устойчивости – мутации в генах белков, на которые действует антибиотик. Второй же – более необычный – горизонтальный перенос генов. Именно в нем участвуют МГЭ. Особенности структурной организации МГЭ опосредованы внутри- и межклеточной подвижностью нуклеиновых кислот, а также их способностью к активному распространению собственных генетических последовательностей. Этот процесс сопровождается выработкой механизмов, подавляющих активность прокариотической системы адаптивного иммунитета CRISPR-Cas, основной функцией которых у архей и бактерий является защита от МГЭ, включая бактериофагов, плазмид и транспозонов.

Способность наделять клетки-реципиенты полезными свойствами – одна из наиболее важных характеристик большинства МГЭ. Несмотря на то, что эти «прыгающие» гены известны уже несколько десятилетий, только с появлением технологий секвенирования мы начали понимать их уникальный вклад в эволюцию бактерий и быстрое развитие мультирезистентности.

Микробный мобилом рассматривается в качестве основного компонента метагенома бактерий и ключевого механизма адаптивной эволюции прокариотических сообществ, патогенных бактерий, развития наследственности и изменчивости, распространения факторов вирулентности и формирования антибиотикорезистентности бактериями различных таксонов.

**Вклад цис- и транс- регуляторных элементов в экспрессию главных поринов *Yersinia pseudotuberculosis***

Е. П. Быстрицкая, М. П. Исаева

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток  
Электронная почта: belyjane@gmail.com

Главные неспецифические порины (OmpF и OmpC) играют ключевую роль в адаптации бактерии к среде обитания. Они формируют каналы для транспорта низкомолекулярных гидрофильных молекул (питательных веществ, метаболитов, антибиотиков, токсинов) и способны изменять проницаемость наружной мембраны клетки в ответ на воздействие различных факторов. На примере *Escherichia coli* и других энтеробактерий было показано, что уровень экспрессии данных белков зависит от осмолярности, температуры, pH среды, доступности питательных веществ, кислорода и др. Изменение количества неспецифических поринов в условиях антибиотикового стресса может стать причиной развития адаптивной антибиотикорезистентности.

Механизм регуляции поринов является комплексным, их экспрессия находится под контролем сложной сети транскрипционных и трансляционных факторов, большинство из которых участвует в глобальном стрессовом ответе бактерий. Одним из наиболее хорошо изученных регуляторов является двухкомпонентная система EnvZ/OmpR, состоящая из мембранной сенсорной гистидинкиназы и цитоплазматического фактора ответа, где фосфорилированный белок OmpR-P, связываясь с промоторами генов поринов, контролирует их транскрипцию. Другим глобальным регулятором является MagA, который участвует в адаптации бактерии к антибиотиковому стрессу. Он может как напрямую снижать уровень транскрипции пориновых генов за счет связывания с консервативными Mag-боксами в их промоторной области, так и посттранскрипционно за счет активации малых РНК.

Развитие РНК-технологий позволило обнаружить вклад малых антисмысловых РНК в экспрессию неспецифических поринов. Среди них, MicF и MicC репрессируют продукцию OmpF и OmpC на посттранскрипционном уровне. Они блокируют процесс трансляции белков за счет гибридизации с рибосомными сайтами связывания на мРНК соответствующих поринов.

Уровень неспецифических поринов также регулируется на посттрансляционном уровне. Периплазматические протеазы DegS и DegP способны деградировать несобранные порины в случае их чрезмерной экспрессии.

В настоящее время знания о системе регуляции порообразующих белков продолжают расширяться, обнаруживаются и исследуются новые глобальные и локальные регуляторные каскады и элементы (Rob, BluR, YcgZ, Lon, RamA-RamR, CRISPR-Cas, OmpX и др.), вовлеченные в эту сложную сеть.

Исследование адаптационных изменений наружной мембраны бактерий представляет как теоретический интерес для понимания физиологии микроорганизмов, так и практическое значение, в частности, для решения проблемы антибиотикорезистентности.

В докладе будут рассмотрены некоторые аспекты сложной системы регуляции главных неспецифических поринов энтеробактерий, а также представлены результаты сравнительного анализа экспрессии OmpF и OmpC белков и вклада регуляторных факторов на примере двух патогенных штаммов *Yersinia pseudotuberculosis* из разных филогенетических сублиний.

**Молекулярно-генетические технологии совершенствования энтомопатогенных микроорганизмов**

Е. В. Гризанова

*Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск*

Электронная почта: katalasa\_2006@yahoo.com

Обеспечение продовольствием растущее с каждым годом население нашей планеты – непростая задача для агрономов по всему миру. Различные природные условия и технологии возделывания сельскохозяйственных культур не являются преградой для насекомых, которые способны питаться, размножаться и даже формировать устойчивость под "прессом" химических средств защиты растений. Получение экологически чистой продукции, снижение использования химических пестицидов и агрохимикатов, снижение выбросов климатически активных газов, возможно благодаря использованию биологических средств защиты растений. Энтомопатогенные бактерии и грибы являются основой биологических инсектицидов для защиты сельскохозяйственных растений от различных насекомых вредителей во всем мире.

Чтобы знать, как навредить вредителю, необходимо понять, как они защищаются. Используя полученные знания о механизмах формирования устойчивости насекомых к биологическим агентам, и вооружившись новейшими молекулярно-генетическими методами, защитники растений создают современное биологическое оружие для контроля численности насекомых- вредителей сельского хозяйства.

В докладе будут представлены современные подходы повышения эффективности и рационального применения биологических инсектицидов. Будут рассмотрены факторы, влияющие на вирулентность бактерий *Bacillus thuringiensis*, а именно диссоциация исходной культуры бактерий на морфологические варианты, вклад спор, кристаллических токсинов бактерий (Сгу-токсинов), различных токсинов и ферментов, синтезируемых вегетативными клетками в процессе размножения. Будут рассмотрены механизмы устойчивости насекомых к бактериям и грибным патогенам. Будут показаны варианты повышения вирулентности бактерий *B. thuringiensis* и грибов рода *Metarhizium* за счет подавления защитных реакций насекомых, в том числе методом РНК-интерференции. Рассмотрим варианты использования симбионтной микрофлоры насекомых для доставки РНК-интерферирующих продуктов в организм насекомых-вредителей. Будут продемонстрированы варианты повышения вирулентности грибных энтомопатогенов за счет генетической модификации. Будет представлен опыт использования ДНК-инсектицидов для контроля численности вредных организмов.

*Исследование поддержано грантом РФФИ № 22-16-20031.*



**Устойчивые к антибиотикам *Desulfovibrio* являются источником сероводорода в отходах крупного свиного комплекса**

М. К. Кадырбаев, А. Е. Нгуене Яна, О. П. Иккерт, О. В. Карначук  
Томский государственный университет, Томск  
Электронная почта: Kadyrbaev.maks@mail.ru

Едкий запах свиного навоза является хорошо известной проблемой, связанной с животноводческими хозяйствами и системами хранения отходов животноводства. Наиболее заметным и высокотоксичным пахучим газом в отходах производство животных является сероводород, который можно узнать по типичному запаху тухлых яиц. В природных биотопах большая часть  $H_2S$  образуется за счет восстановления сульфата ( $SO_4^{2-}$ ) сульфатредуцирующими бактериями (СРБ) и лишь небольшая доля сульфидов поступает из серосодержащих аминокислот, входящих в состав белков. Разница в масштабах образования сероводорода связана с энергетическим метаболизмом.

На данный момент мало данных о присутствии СРБ в свином навозе и их активности. Цель исследования состояла в определении разнообразия и активности СРБ в кумулятивных отходах крупного свиного комплекса «Томский». Сильный запах от мест складирования отходов достигает города Томска и является причиной активных дискуссий населения.

Образцы отходов были отобраны из двух лагун свиного комплекса. Параллельно с отбором проб для микробиологического анализа, измеряли концентрацию  $H_2S$  в воздухе газоанализатором ОКА-Т (Информаналитика, Россия) с электрохимическим датчиком (точность  $\pm 25\%$  от показаний) в непосредственной близости от пруда-накопителя отходов. Измерения проводили в период после схода снегового покрова, начиная с мая до ноября 2019 года. В мае отсутствовали следы сероводорода, его присутствие обнаруживали, начиная с июня. Измеренная нами концентрация  $H_2S$  в воздухе в окрестностях прудов-накопителей колебалась от 0,08 до 0,69 мг/м<sup>3</sup>  $H_2S$ , превышая предельно допустимую концентрацию (ПДК) для воздуха населенных мест, 0,008 мг/м<sup>3</sup>  $H_2S$ , почти в сто раз. Значения рН обеих лагун составляли 7,7–7,8, а окислительно-восстановительный потенциал +212–217 мВ, что свидетельствует об аэробных условиях. Концентрация сульфатов в поровой воде составляла 17,4 мг/л<sup>-1</sup>, а хлорид был основным анионом с концентрацией 300 мг/л<sup>-1</sup>. Источником сульфата для СРБ также является гипс ( $CaSO_4$ ), добавляемый в подстилку животных.

С помощью высокопроизводительного секвенирования ПЦР фрагментов гена 16S рНК был определен состав микробного сообщества отходов. Единственной группой, для которой известна способность к диссимиляционной сульфатредукции, обнаруженной в метагеноме, являлись представители рода *Desulfovibrio*. Информация о составе сообщества, полученная молекулярными методами, была использована для разработки стратегии выделения чистых культур *Desulfovibrio* из проб отходов. Анализ последовательности гена 16S рНК показал, что выделенные штаммы, представляли классические виды *Desulfovibrio*, *D. vulgaris* и *D. desulfuricans*. Анализ геномов штаммов показал присутствие генов устойчивости к антибиотикам.

*Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019-2027 годы (соглашение № 075-15-2021-1401).*

**Молекулярно-генетические механизмы выживания бактерий *Bacillus thuringiensis* в устойчивом хозяине**

Т. И. Крыцына, Е. В. Гризанова, И. М. Дубовский  
Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск  
Электронная почта: krytsyna@list.ru

Бактерии *Bacillus thuringiensis* являются распространенными возбудителями болезней насекомых в природе. Они широко используются для создания биологических препаратов против насекомых-вредителей сельского хозяйства и насекомых-переносчиков опасных заболеваний человека и животных. При многократном применении биопрепаратов за сезон, насекомые способны формировать устойчивость к бактериям *B. thuringiensis*. В свою очередь бактерии используют широкий арсенал токсинов и ферментов для развития и размножения в организме хозяина. При определенной численности популяции бактерии запускают сложный механизм межклеточного взаимодействия (Quorum sensing, QS), позволяющий скоординировать экспрессию генов, в зависимости от условий окружающей среды, посредством активации транскрипционных регуляторов вирулентной (PlcR), некротрофной (NprR) или споробразующей (Spo0A) стадии жизненного цикла.

Вопрос о стратегии выживания, размножения и образования спор бактерий *B. thuringiensis* в устойчивом хозяине остается малоизученным. Чтобы понять «гонку вооружений» между вирулентностью *B. thuringiensis* и механизмами резистентности насекомых проведено изучение развития инфекции *B. thuringiensis* в восприимчивой и устойчивой к *B. thuringiensis* популяции вошинной огневки *Galleria mellonella* на уровне экспрессии генов.

Показано, что устойчивые насекомые обладают повышенным базовым уровнем экспрессии антимикробных пептидов, в частности гловерина, что, вероятно, является эволюционной стратегией «быть готовыми» к *B. thuringiensis*-инфекции. Также устойчивые к *B. thuringiensis* насекомые способны очищать средний кишечник от бактерий в течение 48 часов после заражения. Впервые представлен анализ относительных уровней экспрессии по ряду генов, относящихся к регуляторам бактериальной системы QS и подконтрольным им факторам вирулентности. Показано, что *B. thuringiensis*, сталкиваясь с устойчивым хозяином, быстро модулируют экспрессию генов, чтобы инициировать ускоренную споруляцию. Эта стратегия подтверждается повышенным уровнем экспрессии регулонов NprR и Spo0A, и сниженной экспрессией PlcR у *B. thuringiensis* в погибших личинках устойчивого хозяина, а также сниженным уровнем экспрессии факторов вирулентности, таких как гемолизина и энтеротоксины. При этом бактерии, развивающиеся в погибших чувствительных насекомых, формируют несколько субпопуляций, одна из которых продолжает экспрессировать факторы вирулентности под контролем PlcR.

Наша работа дает новое представление о механизмах выживания бактерий *B. thuringiensis* в устойчивом хозяине в контексте разработки стратегий повышения эффективности биопрепаратов.

*Исследование поддержано грантом РФФИ и НСО № 22-16-20031.*

**Распространение микоплазм, хламидий и риккетсий среди микробиоты тихоокеанской устрицы *Crassostrea gigas* из прибрежных акваторий г. Владивостока**

Е. А. Богатыренко<sup>1</sup>, С. А. Мезенцева<sup>1</sup>, А. В. Ким<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

<sup>2</sup>ФНЦ Биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Владивосток

Электронная почта: bogatyrenko.ea@dvfu.ru

Тихоокеанская устрица - один из немногих видов морских беспозвоночных организмов, имеющих большое значение в пищевом рационе народов, живущих по берегам умеренной зоны Мирового океана. Среди промысловых беспозвоночных устрицы прочно занимают первое место по объему добычи. Однако, растущая урбанизация морского побережья неизбежно ведет к увеличению антропогенного пресса на естественные местообитания моллюсков. В связи этим, представляет интерес изучение влияния антропогенного загрязнения на снижение иммунитета гидробионтов и их подверженность различным инфекционным заболеваниям.

Цель работы – провести ПЦР-диагностику образцов внутренних органов тихоокеанских устриц *Crassostrea gigas* из прибрежных акваторий г. Владивостока для выявления в них микоплазм, риккетсий и хламидий.

В качестве районов исследования были выбраны акватории города Владивостока с разной степенью антропогенной нагрузки: пролив Босфор Восточный, бухта Второй речки, бухта Новик, бухта Аякс, пролив Старка. Животных отбирали на глубине 1,5–2 м. В стерильных условиях ткани желудочно-кишечного тракта, гонады и жабры были извлечены и гомогенизированы. Суммарную ДНК выделяли из образцов с помощью коммерческого набора «НК-сорбент Base» (Литтех, Россия). Для ПЦР-диагностики использовали праймеры на соответствующие группы бактерий [1,2,3]. Все ПЦР-продукты визуализировали с помощью горизонтального электрофореза в 1,5% агарозном геле на Трис-боратном буфере, содержащем бромистый этидий.

ПЦР-диагностика образцов внутренних органов устриц выявила наличие микоплазм у 45% исследуемых особей моллюсков, хламидий – у 20% и риккетсий – у 25%. У 20% гидробионтов были обнаружены все три патогена. Частота обнаружения бактерий в разных органах животных была одинаковой, что не позволило определить четкой связи между возбудителями инфекционных заболеваний и их преимущественной локализацией в организме. Наибольшее количество положительных проб было зафиксировано в животных из районов с наибольшей антропогенной нагрузкой – из пролива Босфор Восточный и бухты Второй речки. В то же время в образцах из пролива Старка, который подвержен меньшему по сравнению с другими исследуемыми акваториями воздействию, патогены не были обнаружены. Для выявления достоверной связи между уровнем антропогенного пресса на прибрежные зоны и частотой заражения двустворчатых моллюсков внутриклеточными паразитами требуется проведение дополнительных исследований.

Ссылки:

1. Ёлшин Н.Д. // Санкт-Петербург: БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. 2017. С.173-179.
2. Everett K.D. // Int. J. Syst. Bacteriol. 1999. P. 415-440.
3. Еремеева М.Е. // Инфекция и иммунитет. 2014. 113-134.

**РНК-расщепляющие ДНК-машины для эффективного подавления экспрессии бактериальных генов**

Д. Д. Недорезова<sup>1</sup>, М. В. Дубовиченко<sup>1</sup>, А. И. Андриянова<sup>1</sup>, Г. А. Бобков<sup>1</sup>, Г. Ф. Курбанов<sup>1</sup>,  
В. С. Андриянов<sup>1</sup>, Д. М. Колпащиков<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Университет ИТМО, Санкт-Петербург

<sup>2</sup>Университет Центральной Флориды, Орlando, США

Электронная почта: darianedorez@icloud.com

ДНКзимы представляют собой синтетические одноцепочечные ДНК молекулы, обладающие ферментативной способностью расщеплять целевые матричные РНК (мРНК), что является одним из перспективных подходов к терапии бактериальных заболеваний. Установлено, что сложная вторичная структура биологических мРНК способна препятствовать их эффективному расщеплению при помощи ДНКзимов. Для решения этой проблемы было предложено использовать ДНК-машины с дополнительными РНК-связывающими доменами для раскручивания стабильной вторичной структуры РНК мишеней. Целью работы являлось исследовать влияние использования дополнительных РНК-связывающих доменов на эффективность ДНК-машин по сравнению с родительскими и оптимальными ДНКзимами на РНК мишенях с различной стабильностью вторичной структуры.

В качестве РНК мишеней использовали четыре фрагмента мРНК биологически значимых генов, из которых два для лечения бактериальных инфекций: кассеты устойчивости к стрептомицину (pKNG101, РНК-1), гена инициации трансляции *Escherichia coli* (IF-2, РНК-4); один для лечения опухолевых заболеваний (DAD1, РНК-2) и ген зеленого флуоресцентного белка (GFP, РНК-3). Все четыре фрагмента РНК обладали различной стабильностью глобальной ( $\Delta G_{\text{глоб}}$ ) и локальной ( $\Delta G_{\text{лок}}$ ) вторичных структур, предсказанных при помощи веб-сервера mFold (таблица 1). Эффективность расщепления РНК мишеней оценивалась *in vitro* в условиях многооборотного эксперимента при 37 °С и в буфере с физиологическим рН = 7,4 и содержанием ионов  $K^+ = 150$  мМ,  $Na^+ = 15$  мМ,  $Mg^{2+} = 2$  мМ, с последующим разделением образцов в полиакриламидном гель-электрофорезе и обчислением процента расщепления.

Таблица 1 – Предсказанная стабильность РНК мишеней, использованных в исследовании

Название РНК	pKNG101, РНК-1	DAD1, РНК-2	GFP, РНК-3	IF-2, РНК-4
$\Delta G_{\text{глоб}}$ , ккал/моль	-15,5	-12,4	-13,7	-7,5
$\Delta G_{\text{лок}}$ , ккал/моль	-14,4	-5,2	-1,7	-6,5

В результате проведенных экспериментов было обнаружено, что ДНК-машины способны увеличивать эффективность родительских ДНКзимов, имеющих равную длину РНК-связывающих доменов, в 3 раза для расщепления РНК-1, в 2,5 раза – для РНК-2 и в 2 раза – для РНК-4 за счет использования дополнительных РНК-связывающих доменов, когда в случае РНК-3 изменения эффективности не было отмечено. Более того, было показано, что ДНК-машина способна значимо увеличивать эффективность оптимального ДНКзима для расщепления РНК-2 на 64%, что связано с ингибированием оптимального ДНКзима, нацеленного на РНК-2, продуктами реакции расщепления. В данном случае, ДНК-машина, обладающая меньшей длиной РНК-связывающих доменов по сравнению с ДНКзимом, способствовала ускорению стадии высвобождения продуктов расщепления, а также ускорению стадии присоединения за счет использования дополнительных доменов.

Таким образом, дополнительные РНК-связывающие домены ДНК-машин способны увеличивать эффективность родительских ДНКзимов для расщепления РНК-мишеней со стабильной локальной структурой за счет ускорения стадии присоединения, а также оптимальных ДНКзимов за счет ускорения стадии высвобождения продуктов реакции, ингибирующих каталитический цикл. Полученные результаты могут быть использованы для подавления экспрессии бактериальных генов с терапевтической целью.

*Исследование поддержано грантом РФФ № 22-24-00664.*

**Регуляция генов пленкообразования у *Pseudomonas aeruginosa* рекомбинантной альфа-галактозидазой морской бактерии *Pseudoalteromonas distincta***

Л. В. Слепченко, А. В. Сейткалиева, Ю. А. Носкова, Л. А. Балабанова  
Тихоокеанский институт биоорганической химии, ДВО РАН, Владивосток  
Электронная почта: slepchenko.lubov@gmail.com

Многие штаммы патогенных бактерий характеризуются высокой способностью к продукции биопленок, образование и разрушение которых происходит под строгим контролем генетической и пост-трансляционной регуляции. Такая способность позволяет бактериям противостоять факторам окружающей среды, таким как ультрафиолетовое облучение, дезинфектанты и антибиотики, иммунный ответ организма-реципиента. Для удаления бактериальных биопленок используют жесткую механическую и химическую обработку поверхностей. Однако такой способ не подходит для удаления биопленок внутри организма, в результате наблюдается персистенция инфекции и хронизация воспалительного процесса. Также со способностью образовывать бактериальные биопленки связаны проблемы хранения и безопасности продукции на производстве, в пищевой отрасли и сельском хозяйстве. В качестве альтернативы химическим и механическим методам обработки, применение ферментов может способствовать диспергированию биопленок в мягких условиях при физиологических температурах и рН.

Для оценки влияния холодоактивной альфа-галактозидазы морской бактерии *Pseudoalteromonas distincta* на пленкообразующие свойства условно-патогенного штамма *Pseudomonas aeruginosa* РАЕМ, выделенного из замороженных мясных полуфабрикатов, определяли уровни экспрессии генов, участвующих в формировании биопленки, в присутствии различных количеств фермента. Полученные данные позволяют разделить выбранные гены на 5 групп по паттерну их экспрессии в ответ на воздействие рекомбинантного фермента. Большую группу генов составили *eddA*, *eddB*, *HDGyP*, *rpfG*, *lasI*, *pelF* и *morA*, которые отвечали увеличением экспрессии в 1,4-3,5 раза в ответ на присутствие фермента. Гены этой группы отвечают за коммуникацию (quorum sensing, QS), деградацию ДНК, метаболизм экзополисахаридов и формирование жгутиков. Дозозависимую активацию экспрессии показали *pslA* и *pprB*. Для *roeA* и *sadC* наблюдалось снижение экспрессии под действием 2 ед. фермента, но увеличение при 10 и 20 ед. фермента. Продукты этих генов напрямую участвуют в продукции внеклеточного полисахаридного матрикса и формировании биопленок. Экспрессия гена *pelA*, ответственного за синтез Pel-полисахарида, не менялась под действием фермента. Регуляция генов пленкообразования у *P. aeruginosa* РАЕМ в присутствии галактозоспецифичной гидролазы может свидетельствовать как о наличии галактозосодержащего компонента в структуре штаммоспецифичной биопленки, так и об участии продуктов ее расщепления в системе QS.

**Выделение и характеристика нановезикул фитопатогенной бактерии  
*Rhizobium rhizogenes***

М. Р. Сорокина<sup>1,2</sup>, В. Е. Силантьев<sup>2</sup>, Ю. А. Югай<sup>2</sup>, Ю. Н. Шкрыль<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

<sup>2</sup>ФНЦ Биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Владивосток

Электронная почта: sorokina.96@gmail.com

Везикулы наружной мембраны (ВНМ) представляют собой липидные везикулы, которые отпочковываются от внешней мембраны грамотрицательных бактерий. Они выполняют разнообразные функции, в том числе участвуют в развитии инфекций у животных и растений. Чаще всего содержат фосфолипиды, липополисахариды, пептидогликаны, белки, нуклеиновые кислоты, антибиотики, эндотоксины [1, 2]. При этом свойства и функции ВНМ патогенной бактерии *Rhizobium rhizogenes*, которая вызывает неопластический рост "бородатых корней", остаются не изученными.

Нами впервые были выделены и изучены ВНМ *R. rhizogenes*. С помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) были получены данные о морфологии ВНМ *R. rhizogenes*: форма округлая, размер составил  $95,55 \pm 6,42$  нм. Анализ траектории движения наночастиц показал, что средний размер ВНМ составляет  $220,18 \pm 23,84$  нм. Большой размер везикул, по сравнению с данными СЭМ, связан тем, что гидродинамический диаметр включает размер как самой везикулы, так и окружающий ее слой ассоциированных с поверхностью молекул, удерживаемых за счет электростатических сил.

Анализ белкового состава ВНМ производили при помощи электрофореза в полиакриламидном геле в денатурирующих условиях. Было установлено, что в составе везикул масса белков составляет от 30 до 60 кДа. Методом масс-спектрометрии было идентифицировано два белка: флагеллин и рибосомальный белок 50S-субъединицы RplC.

Далее мы изучили влияние ВНМ на защитные реакции модельного растения *Arabidopsis thaliana*. Для этого проводили вакуумную инфльтрацию ВНМ в проростки в течение 5 минут. С помощью ПЦР в реальном времени было установлено, что ВНМ вызывают незначительное повышение экспрессии генов *PAL1*, *PRI*, *WRKY40* в 1,7-2,3 раза. Экспрессия стресс-индуцируемой формы NADPH-оксидазы (*RbohF*) активизировалась в 4,3 раза, а конститутивной формы (*RbohD*), участвующей в поддержании гомеостаза АФК, осталась неизменной.

Таким образом, в данной работе мы впервые выделили и охарактеризовали ВНМ из бактерии *R. rhizogenes*. Можно отметить, что по размеру, морфологии и содержанию белковых компонентов везикулы соответствуют описанным у других бактерий, в т.ч. близкого вида – *R. tumifaciens*. Установлено, что ВНМ обладают способностью активировать экспрессию защитных генов, участвующих в биосинтезе фитоалексинов и генерации активных форм кислорода.

**Ссылки**

1. Schwechheimer C., Kuehn M.J. // Nat. Rev. Microbiol. 2015. V. 13. P. 605-619.
2. Meers P.R. et al. // Appl. Environ. Microbiol. 2018. V. 84, No. 20.
3. Bahar O. et al. // Mol. Plant Microbe Interact. 2016. V. 29, No. 5. P. 374-384.

## БИОИНФОРМАТИКА И СРАВНИТЕЛЬНАЯ ГЕНОМИКА

### *Пленарные доклады*

#### **Генетические стратегии локальной адаптации у бактерий-космополитов: от экологической специализации до видообразования**

Л. А. Балабанова

*Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток*  
Электронная почта: lbalabanova1@gmail.com

В неоднородных средах обитания особи внутри популяций могут адаптироваться к преобладающим условиям в их локальной среде. Драйверами локальной адаптации у микроорганизмов являются такие факторы, как взаимодействие с организмом-реципиентом, межмикробные коммуникации (конкуренция или сотрудничество), олиготрофные или эвтрофные зоны обитания, специфичность источника углерода, температурный режим, аэрация, хроническая контаминация токсинами и пр. Локальная адаптация является результатом дивергентного отбора микробных популяций и связана с огромным генетическим разнообразием микроорганизмов в природе. Метаболическая изменчивость за счет дубликации ключевых генов и регуляции размера генома, содержания G/C и оптимизации кодонов лежит в основе экологической дифференциации внутри бактериальных таксонов. Однако бактерии-космополиты характеризуются способностью колонизировать гораздо более широкие экологические ниши, зачастую становясь оппортунистами. Благодаря быстрому совершенствованию технологий секвенирования и возможности исследования разнообразных микробных сообществ с высоким геномным разрешением было обнаружено, что как свободноживущие, так и ассоциированные с хозяином, космополиты проявляют значительную генетическую и фенотипическую гетерогенность на самых малых филогенетических масштабах. Наблюдаемая вездесущность представителей одного и того же вида у бактерий родов *Synechococcus*, *Pseudoalteromonas*, *Cobetia*, *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Alteromonas* и др. сводится к сложному набору экологических специалистов, приспособленных к достаточно узким нишам, при этом у каждого штамма существует ядро генов, ответственных за поддержание видоспецифичных признаков в условиях перестройки генома. Функциональное разнообразие у близкородственных штаммов, имеющее значение для концепции видов бактерий, можно исследовать через пангеном таксономической группы (репертуар базовых и переменных генов) для выявления генотипических вариантов с экологической специализацией. Экологическая дифференциация связана с двумя категориями переменных генов: дополнительным (общим для нескольких штаммов) и уникальным (ограниченным отдельными штаммами) геномами. Этот переменный репертуар часто закодирован в эквивалентных локусах у разных штаммов - геномных островках с активным механизмом генетического обмена. Известно, что они влияют на нишевую специализацию у цианобактерий, актинобактерий и розеобактеров, регулируя метаболизм углерода, продукцию сидерофоров, бактериоцинов и сборку жгутиков. Эти адаптивно-эволюционные процессы часто усиливаются плазмидами и другими мобильными генетическими элементами, приводя к горизонтальному переносу генов и диверсификации в короткие промежутки времени. Бактериальные адаптации также могут быть связаны с заменами нескольких нуклеотидов посредством гомологичной рекомбинации и мутаций.

*Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019-2027 годы (соглашение № 075-15-2021-1052).*

## Особенности поиска и аннотации генных кластеров биосинтеза О-полисахаридов в геномах представителей разных классов протеобактерий

Г. Л. Бурьгин

Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова, Саратов  
Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов ФИЦ СЦ РАН, Саратов  
Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов  
Электронная почта: burygingl@gmail.com

Липополисахариды (ЛПС) являются важными компонентами наружной мембраны грамотрицательных бактерий, определяющие полупроницаемость клеточной стенки и взаимодействие с различными объектами, в том числе с бактериофагами, клетками растений и животных. Процессы биосинтеза ЛПС являются высоко консервативными и конститутивными, что подчеркивает их функциональную значимость для жизнедеятельности бактериальных клеток. С другой стороны, общность организации молекул ЛПС позволяет бактериофагам и иммунным системам растений и животных распознавать бактерии, что является для них одним из главных негативных факторов естественного отбора, приводящим к активным эволюционным изменениям в химической структуре полисахаридной составляющей ЛПС. В докладе будут рассмотрены генетические основы биосинтеза О-полисахаридов, входящих в состав ЛПС, протеобактерий классов *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria* и *Gammaaproteobacteria*.

Модельным объектом в изучении структуры и генетики О-полисахаридов является кишечная палочка (*Escherichia coli*, *Gammaaproteobacteria*), для которой описано около 200 серотипов, различающихся строением олигосахаридов повторяющихся звеньев. Использование полногеномных данных позволило выявить, что гены, вовлеченные в биосинтез О-полисахаридов, у *E. coli* находятся в едином опероне, включающем гены ферментов биосинтеза необходимых моносахаридных предшественников, гликозилтрансфераз и белков процессинга (переноса олигосахаридного звена через мембрану и присоединения его к растущей полисахаридной цепи). Для многих представителей *Gammaaproteobacteria* позднее была описана подобная же организация генных кластеров биосинтеза О-полисахаридов. Однако огромное разнообразие структур олигосахаридов повторяющихся звеньев ЛПС этой группы бактерий обуславливает сохраняющуюся неоднозначность аннотации генов гликозилтрансфераз и белков процессинга. Также малоизученными остаются вопросы нестехиометрических модификаций О-полисахаридов и эволюции генных кластеров их биосинтеза.

Аннотация генных кластеров биосинтеза О-полисахаридов представителей *Alphaproteobacteria* и *Betaproteobacteria* продемонстрировала их существенные различия в геномном составе и организации от кластеров *Gammaaproteobacteria*. Одними из отличий могут служить присутствие генов биосинтеза моносахаридных предшественников и гликозилтрансфераз, не участвующих в биосинтезе О-полисахарида, профаговые последовательности и гены, кодирующие ферменты общего и/или вторичного метаболизма, не связанные с ЛПС. Дополнительные сложности могут возникать в определении генов из-за филогенетического удаления разных классов протеобактерий, вследствие чего процент идентичности между нуклеотидными и аминокислотными последовательностями гомологичных генов и их продуктов у представителей разных классов оказывается низким. В итоге, поиск и функциональная аннотация генов, вовлеченных в биосинтез О-полисахаридов представителей *Alphaproteobacteria* и *Betaproteobacteria* на сегодняшний день является нетривиальной задачей.

Исследование поддержано грантом РФФ № 22-26-00293.



**Геномика морских микроорганизмов – глобальный океан возможностей и перспектив**

М. П. Исаева

*Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток*  
Электронная почта: issaeva@gmail.com

Геномика — это наука о геномах, совокупности составляющих их генов и функций. Что мы можем узнать из геномных данных? В первую очередь, это достаточно точно определить таксономическое положение микроорганизма. И этим занимается новая научная дисциплина – филогеномика. Роль других научных дисциплин, таких как сравнительная, структурная и функциональная геномики заключается в анализе геномных данных с целью реконструкции метаболизма, предсказания метаболических и биосинтетических путей, их регуляции, выявления геномных приобретений, дупликаций, потерь или перестроек, определения корового («ядро») и добавочного («оболочка» и «облако») генома.

Морские микроорганизмы (бактерии, археи, микромицеты и простейшие) составляют большую часть биоразнообразия Мирового океана, на долю которых приходится около 90% биомассы. В глобальном же круговороте энергии и вещества их вклад становится еще более значительным, поскольку морские микроорганизмы регулируют биогеохимические циклы, такие как глобальные циклы углерода, азота и серы.

Применение геномных и метагеномных технологий для описания штаммов морских микроорганизмов позволяет открывать новые виды, расширяя и углубляя наше понимание разнообразия морских микробов, их роли в океанических экосистемах. В докладе проиллюстрированы примеры собственных и литературных данных секвенирования и анализа геномов морских микроорганизмов – источника ценных биокатализаторов и метаболитов.

*Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019-2027 годы (соглашение № 075–15-2021-1052).*

**Функциональные гены деструкции ПАУ углеводородокисляющих бактерий Японского моря**

Е. А. Богатыренко<sup>1</sup>, А. В. Ким<sup>1,2</sup>, А. Д. Медведева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

<sup>2</sup>ФНЦ Биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Владивосток

Электронная почта: angelinka.medvedeva@list.ru

В водах прибрежных акваторий Японского моря традиционно отмечается повышенное содержание нефти и нефтепродуктов вследствие выбросов промышленных отходов, активного судоходства, аварийных разливов и т.д. [1]. Нефтяные отходы или сырая нефть, загрязняющие почву и воду, как правило, представляют собой сложную смесь из углеводородов различного строения: алифатические углеводороды (н-алканы, изо-алканы, циклоалканы), а также ароматические парафины (моно- и полиароматические (ПАУ)) [2]. Бактериальные организмы имеют множество механизмов, позволяющих им трансформировать углеводороды с помощью внутриклеточных ферментов, образование которых контролируется специфическими генами. Кроме того, за деградацию углеводородов могут отвечать целые группы ферментных комплексов [3]. В настоящий момент в научной литературе уже имеются данные о таких генах, как: группа генов *GN-PAH*, ответственных за синтез диоксигеназы ПАУ грамтрицательных бактерий; *Nah*, кодирующих фермент нафталиндиоксигеназу; *xylE*, ответственный за синтез фермента катехол-2,3-диоксигеназы и другие [4,5].

Цель данной работы – выявить у углеводородокисляющих бактерий, выделенных из различных акваторий Японского моря, наличие маркерных генов, ответственных за деструкцию ПАУ.

Взятые в работу штаммы бактерий были ранее идентифицированы сотрудниками лаборатории Морской микробиологии ИМО ДВФУ [6]. В ходе проведенной работы у 47 штаммов выделенных углеводородокисляющих бактерий Японского моря были выявлены гены, ответственные за синтез ферментов, опосредующих деструкцию ПАУ. Среди маркерных генов окисления ПАУ и их производных наиболее часто в выделенной коллекции встречались гены *xylE* и *Nah*. Следующими по встречаемости оказались гены *GN-PAH*, *phn*, *ndo* и *narAa*. Наименее распространенными оказались гены *nahAc*, а также *narAb*, *pdo* и *BphA*.

Ссылки:

1. Ващенко М.А. // Биол. моря. 2000. Т. 26, № 3. С. 149-159.
2. Fuentes S. et al. // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2014. V. 98, No. 11. P. 4781-4794.
3. Batista S.B. et al. // Biores. Technol. 2006. V. 97, No. 6. P. 868-875.
4. Edlund A., Jansson J.K. // FEMS Microbiol. Ecol. 2008. V.65, No. 3. P.513-525.
5. Измалкова Т.Ю. и др. // Генетика. 2013. Т.49. С.703-711.
6. Богатыренко Е.А. и др. // Биол. моря. 2021. Т. 47, №3. С. 209-216.

**Таксономическое разнообразие некультивируемых форм бактерий, ассоциированных с пищеварительной системой мидии Грея (*Crenomytilus grayanus*) Японского моря**

Т. И. Дункай<sup>1,2</sup>, Е. А. Богатыренко<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

<sup>2</sup>Национальный научный центр морской биологии им. Жирмунского ДВО РАН, Владивосток  
Электронная почта: bogatyrenko.ea@dvfu.ru

Мидии – это фильтрующие двустворчатые моллюски, имеющие большое экологическое и экономическое значение. Было показано, что двустворчатые моллюски играют роль в биогеохимических циклах, способствуют денитрификации и накоплению тяжелых металлов в прибрежных районах. Кроме того, мидии, как вид, составляют значительную и растущую часть индустрии аквакультуры. Учитывая их экологическое и экономическое значение, более полное понимание факторов, влияющих на физиологию мидий, это могло бы иметь потенциальную пользу для управления прибрежными районами и культивирования гидробионтов. Многие культивируемые роды бактерий, ассоциированных с кишечной микробиотой мидии Грея, были ранее изучены. Однако, меньше известно о некультивируемых микроорганизмах и их потенциальной связи с физиологическими и экологическими функциями в пищеварительной системе моллюска. В данной работе было проведено исследование по изучению таксономического состава бактериальных сообществ мидий Грея из Японского моря Приморского края.

Образцы мидий Грея отбирались с 2016 по 2019 года в летний период из бухты Аякс, пролива Старка и залива Восток Японского моря. Секвенирование V3 – V4 региона гена 16S рНК проводили на платформе Illumina (США). Классификацию операционных таксономических единиц (ОТЕ) проводили по базе данных последовательностей Silva v. 138 с достоверностью идентификации 80%.

В результате метагеномного секвенирования было получено 103375 прочтений, которые составили 50 ОТЕ.

В мидиях Грея (*Crenomytilus grayanus*) из бухты Аякс 18,4% заняли некультивируемые формы порядка *Pseudomonadales*, 14,8% *Haematobacter*, 7,7% *Polaromonas*, 6,9% *Luteococcus*, 6,3% *Corynebacterium*, 5,4% некультивируемые представители порядка *Chlamydiales*, 4,9% *Streptomyces* и 3,4% *Micrococcus*. Только в моллюсках из пролива Старка были получены роды *Bacillus* в 57,3% и *Paenibacillus* в 19%, а также *Asinibacterium* в 5,9%. В мидиях из залива Восток уникальным и доминирующим родом стал *Alicyclophilus* (27,4%).

Таким образом, вне зависимости от местообитания основными родами, формирующие микробиом моллюсков из исследуемых районов являются *Sphingomonas*, *Pseudomonas*, *Sediminibacterium*, *Pelomonas*, *Acinetobacter*, *Bradyrhizobium*, *Corynebacterium*, *Alicyclophilus*, *Flaviflexus*, *Nitrosomonadaceae\_DSSD61*, *Polyangia\_mle1-27*, *Caulobacter*, *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Asinibacterium*, *Reyranella*, *Novosphingobium*, *Phreatobacter* и сем. *Gemmatimonadaceae*.

## Предсказание интрон-экзонных границ в белок-кодирующих генах с помощью методов машинного обучения

А. А. Лаврентьев, К. А. Винников  
Дальневосточный федеральный университет, Владивосток  
Электронная почта: aaa.lavrentev@gmail.com

Для обучения нейронной сети, предсказывающей кодирующие участки в геномных данных немодельных организмов, можно использовать последовательности сплайс-сайтов известных модельных организмов. В настоящей работе была разработана такая модель нейронной сети, и приведены данные об эффективности ее обучения на геномных данных *Homo sapiens* с последующим тестированием на данных других модельных видов, которые не были включены в обучение: *Drosophila melanogaster*, *Arabidopsis thaliana*, *Mus musculus* и *Danio rerio*. Значения показателей, оценивающих точность классификации и предсказания (*train accuracy* и *validation accuracy*), возрастают с продолжительностью обучения модели. Значения показателей, связанных с оценкой ошибок модели (*train loss* и *validation loss*), снижаются от старта до конца обучения модели. В результате тестирования по матрице ошибок классифицированы верно как донор сплайс-сайт 15511 раз, как акцепторный сплайс-сайт 0 раз и как не сплайс-сайт 263 раза. Акцепторный сплайс-сайт классифицирован верно 15625 раз, 1 раз как донор сплайс-сайт и 228 раз как не сплайс-сайт. Последовательность, которая не является сплайс-сайтом классифицирована верно 49201 раз, классифицирована как акцептор сплайс-сайт 177 раз и как донор сплайс-сайт 213 раз (Рисунок 1). По данным метрики AUC модель практически не ошибается – линия поднимается по вертикали от координат (0,0) до (0,1) и затем по горизонтали распространяется до (1,1). При сравнении с существующими подходами, основанными на классических алгоритмах машинного обучения [1], предлагаемая модель значительно превосходит по метрике AUC PR результаты, полученные на тех же самых выборках данных. Для частного случая тестирования модели на транскрипте человека F53H8.4.1 из ENSEMBL определены следующие позиции интронов: (5117, 6150), (6375, 7004), (7212, 7688), (7839, 7905) и (8083, 8482).

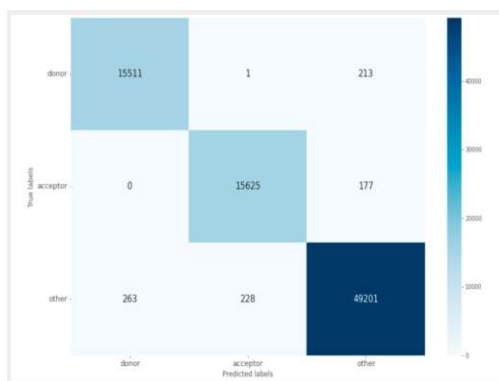


Рисунок 1. Матрица ошибок дает табличное представление предсказанных и реальных классов

### Ссылки:

1. Sonnenburg S. et al. // BMC Bioinformatics. 2007. V. 8, No. 10. P. 1-16.

**Пангеном рода *Zobellia*: взгляд на метаболические и адаптационные возможности бактерий**

Н. Ю. Отставных, О. И. Недашковская, М. П. Исаева

*Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток*  
Электронная почта: chernysheva.nadezhda@gmail.com

В настоящее время исследование таксонов любого порядка через определение и анализ их пангеномов является важным этапом для фундаментального понимания процессов микро- и макроэволюции микроорганизмов. Интерес к роду *Zobellia* (сем. *Flavobacteriaceae*, класс *Flavobacteriia*, тип *Bacteroidota*) обусловлен широкой географией распространения его представителей – с 2001 года по настоящее время валидно описано восемь видов, которые были выделены из морских водорослей, воды и поверхностных отложений, собранных в акваториях Тихого и Атлантического океанов. Методами сравнительной геномики было показано, что богатый гидролитический потенциал, присущий типовому штамму вида *Zobellia galactanivorans* Dsij<sup>T</sup>, сохраняется на уровне рода.

Анализ пангенома рода *Zobellia* был проведен средствами мультиомиксной платформы Anvi'o v.7.1 с использованием последовательностей 15 полных геномов представителей рода, депонированных в базу данных GenBank, NCBI (август, 2022 год). Размер пангенома составил 8956 групп ортологов, включающих 63372 гена. К универсальным генам, составляющим «ядро» было отнесено 2604 группы генов, из которых 91% приходился на однокопийные гены. К умеренно консервативным генам «оболочки» было отнесено 130 кластеров («soft-core») и 3427 кластеров («shell»). Уникальные гены, представляющие «облако», составили 2795 групп. Динамика и функциональная аннотация пангенома были оценены с помощью программного обеспечения PanGP v.1.0.1 и веб-сервера eggNOG-mapper 2.1.9, соответственно. Согласно функциональной аннотации, наблюдалось равномерное распределение функциональных классов среди универсальных и переменных генов. Наибольшее количество генов было отнесено к следующим категориям: «транспорт и метаболизм неорганических ионов» (P, 6%–18%), «транспорт и метаболизм углеводов» (G, 8%–16%) и «биогенез клеточной стенки, мембраны и оболочки» (M, 9%–13%). Установлено, что пангеном является открытым и обладает большим потенциалом для расширения репертуара переменных генов за счет механизмов горизонтального переноса генов. Последующее изучение процессов эволюции отдельных ортологических групп позволит установить пути развития нишевой адаптации и макроэволюции рода.

*Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019-2027 годы (соглашение № 075–15-2021-1052).*

## Генетический анализ хитиназных систем морских бактерий рода *Vibrio*

Ю. К. Пентехина<sup>1,2</sup>, Л. А. Балабанова<sup>1,2,3</sup>, О. И. Недашковская<sup>3</sup>, А. В. Сейткалиева<sup>2,3</sup>,  
А. Б. Подволоцкая<sup>1,2</sup>, Л. А. Текутьева<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

<sup>2</sup>R&D центр «Агробиоэкономика», ООО «Арника», Владивосток

<sup>3</sup>Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток  
Электронная почта: pentekhina@gmail.com

В морской среде представлено огромное количество хитина, который состоит из звеньев N-ацетилглюкозамина (GlcNAc), связанных  $\beta$ -1,4-гликозидными связями, и является основным компонентом панциря ракообразных и клеточной стенки грибов, а также источником углеводов для многих морских бактерий. Хитин-деградирующие бактерии продуцируют ряд хитинолитических ферментов, которые расщепляют хитин, в том числе нерастворимые его формы, до хитоолигосахаридов разной степени полимеризации. Согласно структурной классификации ферментов углеводного обмена в базе данных CAZy (Carbohydrate-Active EnZymes database), хитинолитические ферменты представлены хитиназами семейств гликозидгидролаз GH18 и GH19 и литическими полисахаридмонооксигеназами (LPMOs) семейства AA10, совместное использование которых позволяет достичь высокоэффективной деградации хитина путем синергизма. Бактерии рода *Vibrio* являются одними из самых распространенных хитинолитиков в морской биосфере, они продуцируют хитиназы, при помощи которых осуществляют расщепление хитина до N,N – диацетилхитобиозы [(GlcNAc)<sub>2</sub>], и утилизируют продукты его деградации как источник питания путем транспортировки веществ через транспортные системы.

При скрининге хитинолитической активности у 17 морских изолятов 3 штамма относились к роду *Vibrio*, из которых Sgm 5 и Sgm 22 были изолированы из морского ежа *Strongylocentrotus intermedius* и 14G-20 – из грунта (б. Троица, Японское море). Штаммы депонированы в коллекции КММ ТИБОХ ДВО РАН. Молекулярно-генетическая идентификация штаммов-ассоциантов морского ежа указывает на их принадлежность к новым видам рода *Vibrio*. Хитинолитическая активность анализируемых штаммов была подтверждена при их культивировании на обедненной агаризованной среде в присутствии 0,2% коллоидного хитина, а также в жидкой среде до достижения полной деградации субстрата (в течение 3 дней), и дальнейшего анализа полученного супернатанта при помощи электрофореза SDS-PAGE. Штамм Sgm 5 показал наиболее высокую активность по сравнению с Sgm 22 и 14G-20, а также отмечено наличие значительного количества экспрессируемых ферментов штаммом в культуральную среду в ответ на присутствие хитина как индуктора экспрессии. Известно, что хитинолитические бактерии и их ферменты также могут обладать антифунгицидной активностью. В нашем исследовании анализируемые штаммы культивировали в присутствии *Aspergillus niger*, подавление роста гриба наблюдалось у штамма Sgm 5. С целью детального анализа хитиназных систем штаммов Sgm 5, Sgm 22 и 14G-20 провели их полногеномное секвенирование и биоинформатический поиск ортологичных генов, предположительно участвующих в синтезе хитин-деградирующих ферментов. Наибольшую значимость представляют хитиназы семейства GH19 как агенты биоконтроля, которые в дальнейшем могут быть использованы в сельском хозяйстве для борьбы с фитопатогенными грибами.

*Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019-2027 годы (соглашение № 075–15-2021-1052).*

## Протокол анализа данных UCE секвенирования для дублицированных геномов

Е. А. Тельная<sup>1</sup>, А. А. Семенченко<sup>2</sup>, Д. А. Танадбаева<sup>2</sup>, К. А. Винников<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Научно-технологический университет «Сириус», Сочи

<sup>2</sup>Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

Электронная почта: vinnikov.ka@dvfu.ru

В настоящей работе мы предлагаем протокол точной диагностики единичных нуклеотидных полиморфизмов (SNPs) для многократно дублицированных геномов на основе данных геномного секвенирования ультраконсервативных элементов ДНК (UCE-секвенирование). В качестве примера мы использовали данные UCE-секвенирования ДНК нескольких видов хариусовых рыб (Salmoniformes: Thymallidae) на платформе Ion S5 (Thermo Fisher Scientific). Геном хариусовых рыб эволюционно дублицировался 4х-кратно, как у большинства лососеобразных, так и более раз. Использование стандартных подходов сборки последовательностей, содержащих ультраконсервативные элементы на дублицированных хромосомах, приводит к выявлению большого количества ложноположительных SNPs. Поэтому для корректной сборки последовательностей UCE в дублицированных геномах нами предложен оригинальный способ решения проблемы выявления и анализа паралогов.

После получения сырых данных UCE секвенирования по шести видам хариусовых рыб было выбрано несколько модельных UCE для выявления отличий между дублицированными хромосомами. На основе имеющегося референсного генома европейского хариуса [1] было выбрано три UCE, имеющих уникальные положения в геноме, и четыре UCE, имеющих не менее четырех паралогов, и один UCE, имеющий не менее трех паралогов. Посредством выравнивания паралогичных участков в MAFFT мы определили степень сходства между дублицированными парами хромосом и построили карты соответствующих нуклеотидных замен.

Тем не менее, референсная сборка UCE показала невозможность точного выявления паралогов за счет сильной вариабельности между количеством паралогов в референсном геноме и в исследуемых видах, что было наглядно показано при выравнивании коротких последовательностей на референс с помощью BWA и анализа геномов в IGV. Поэтому мы использовали методы *de novo* сборки чтений, смешанных в единый пул для всех видов, в ассемблерах SPADES и Trinity. При использовании Trinity качество сборки всегда получалось гораздо выше, чем в SPADES. Далее, производилось аннотирование каждой полученной сборки с помощью известных последовательностей UCE через BLASTn, во время которого для каждого UCE была выявлена или одна последовательность контига или его несколько изоформ. С помощью программы CD-HIT полученные изоформы контигов с UCE были сгруппированы в кластеры, которые затем пересобирались в CAP3. В итоге наш протокол позволил получить количество контигов, точно соответствующее количеству хромосом в модельных UCE. Далее на контиги происходило выравнивание коротких чтений для каждого отдельного вида. Исправление неизбежных ошибок выравнивания коротких чтений и сам поиск SNPs при наличии паралогов в геноме были реализованы в пользовательском скрипте на языке Python3.

### Ссылки:

1. Sävilammi T. et al. // G3 (Bethesda). 2019. V. 9, № 5. P. 1283-1294.

## БИОТЕХНОЛОГИЯ БИОПРЕПАРАТОВ И ПРОДУКТОВ НА ИХ ОСНОВЕ

*Пленарные доклады*

### **Электроактивные биопленки микроорганизмов активного ила на наноструктурированной поверхности как основа высокочувствительного БПК-биосенсора**

В. А. Арляпов

*Тульский государственный университет, Тула*

Электронная почта: v.a.arlyapov@gmail.com

Биохимическое потребление кислорода (БПК) является одним из наиболее широко используемых показателей для контроля чистоты водных сред и представляет, по определению, количество кислорода, необходимое для биохимического окисления органических веществ, содержащихся в образце воды. Основным недостатком методики – длительность анализа (минимум 5 суток), что привело к разработке экспресс-методов, в частности, созданию биосенсорных анализаторов, основанных на применении микроорганизмов, метаболизирующих широкий спектр органических соединений, которые позволяют определять этот же показатель за несколько минут. В последние несколько лет наблюдается значительный рост числа публикаций, в которых отмечена успешная интеграция биопленок и наноматериалов, однако эти работы в основном относятся к области разработки биотопливных элементов и зачастую носят сугубо прикладной характер. Целью данной работы является комплексное исследование электрохимических параметров переноса электронов, биологических и физических свойств биопленок, которое позволит разработать биосенсорное устройство для раннего предупреждения о загрязнении природных вод. Важно отметить, что при создании БПК-биосенсора известное свойство биопленок – высокая устойчивость к негативным для микроорганизмов факторам и стабильность во времени – использовано для создания чувствительных и стабильных сенсорных систем. Применение микроорганизмов, способных образовывать электроактивные биопленки, позволяет отказаться от введения экзогенного медиатора электронного транспорта, что значительно упростит и удешевит аналитическую систему. В работе исследована возможность создания БПК-биосенсора на основе электроактивных биопленок активного ила, выращенного на поверхности графито-пастового электрода, модифицированного углеродными нанотрубками. Контроль формирования биопленок проводился с использованием оптической микроскопии с фазовым контрастом, сканирующей электронной микроскопии и лазерной конфокальной микроскопии. Особенности переноса заряда в полученных электроактивных биопленках изучали с помощью методов циклической вольтамперометрии и электрохимической импедансной спектроскопии. Были определены константа скорости взаимодействия микроорганизмов с внеклеточным переносчиком электронов ( $0,79 \pm 0,03 \text{ дм}^3(\text{г}\cdot\text{с})^{-1}$ ) и гетерогенная константа скорости переноса электронов ( $0,34 \pm 0,02 \text{ см}\cdot\text{с}^{-1}$ ), по которым было выявлено, что модификация поверхности электрода УНТ позволяет создавать электроактивные биопленки. Анализ метрологических и аналитических характеристик созданных биосенсоров показал, что нижняя граница БПК-биосенсора на основе электроактивной биопленки активного ила составляет  $0,41 \text{ мгО}_2/\text{дм}^3$ , что позволяет проводить анализ практически любых образцов воды. Анализ 12 образцов поверхностных вод показал высокую корреляцию ( $R^2=0,99$ ) с результатами стандартного метода определения биохимического потребления кислорода.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания по теме "Синтез целевых биологически активных ионных соединений и новых биокomпозитных материалов" (FEWG-2021-0011).*



**Перспективы использования рекомбинантных ферментов морских микроорганизмов для трансформации сульфатированных полисахаридов из бурой водоросли *Fucus evanescens* и возможности создания лекарственных препаратов на их основе.**

С. П. Ермакова, М. И. Кусайкин, Р. В. Усольцева, О. С. Маляренко, А. С. Сильченко  
Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток  
Электронная почта: swetlana\_e@mail.ru

Бурые водоросли являются источником таких биологически активных полисахаридов как альгиновые кислоты, ламинараны и фукоиданы. Преимущества использования водорослей состоят в том, что они имеют не только широкий ареал распространения и легко возобновляются, но также могут искусственно выращиваться в виде марикультуры. Полисахариды из бурых водорослей не токсичны для организма; не проявляют побочных эффектов; экологически безопасны. Важным свойством этих соединений является проявление широкого спектра биологических активностей. Они обладают иммуномодулирующим, противовоспалительным, противовирусным, противоопухолевым, антикоагулянтным, антиадгезивным, антиангиогенным действием.

В докладе будут представлены исследования лаборатории химии ферментов ТИБОХ ДВО РАН в области изучения фукоиданов из бурой водоросли *Fucus evanescens* с применением рекомбинантных ферментов морских бактерий *Formosa algae* КММ 3553<sup>T</sup> и *Wenyingshuangia fucanilytica* CZ 1127<sup>T</sup> (фукоиданазы, сульфатазы). Основное внимание будет уделено методам выделения и изучения структурных характеристик фукоиданов; преимуществам использования рекомбинантных ферментов для получения стандартных препаратов на основе фукоиданов; способности фукоиданов влиять на пролиферацию и самопроизвольное формирование колоний опухолевых клеток, процессы миграции и апоптоза, а также их радиопротекторном, радиосенсибилизирующем и противовирусном действиях.

## Особенности формирования кремнийорганической золь-гель матрицы вокруг смеси дрожжевых клеток

О. А. Каманина, П. В. Рыбочкин, Л. С. Кузнецова  
Тульский государственный университет, Тула  
Электронная почта: o.a.kamanina@gmail.com

В последние годы интенсивно развивается область создания новых биогибридных материалов на основе клеток микроорганизмов, иммобилизованных в золь-гель матрицы. Подобные биоматериалы возможно применять в качестве биопрепаратов, в сельском хозяйстве, биотехнологии (в том числе экологической), биомедицине, при производстве продуктов питания, синтетической химии и биоэлектроники. Золь-гель материалы на основе алкилалкосисиланов перспективны для создания гибридных материалов и применения в биотехнологии, поскольку они демонстрируют высокую совместимость с ферментами и клетками, обладают защитными свойствами, имеют высокую механическую и биологическую устойчивость.

Структуру полученного гетерогенного катализатора на основе смеси дрожжей *O. polymorpha*, *A. adenivorans*, *D. hansenii*, иммобилизованных в золь-гель матрицу состава метилтриэтоксисилан/тетраэтоксисилан 85/15, исследовали при помощи метода сканирующей электронной микроскопии (рисунок 1).

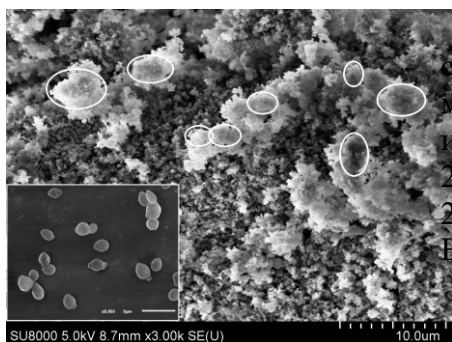


Рисунок 1. Фотографии, полученные с помощью сканирующей электронной микроскопии: золь-гель матрица на основе МТЭС/ТЭОС 85/15 с инкапсулированными дрожжами *O. polymorpha* ВКМ У-2559, *A. adenivorans* ВКМ У-2677, *D. hansenii* ВКМ У-2482. На вставке - свободные клетки *O. polymorpha* ВКМ У-2559 [1].

На рисунке 1 видны иммобилизованные дрожжи: цилиндрические частицы размером 2-8 мкм, покрытые пористой шероховатой оболочкой, которые являются инкапсулированными клетками микроорганизмов. Вокруг клеток микроорганизмов образуется самособирающаяся матрица. Овалами выделены иммобилизованные клетки дрожжей. Согласно результатам энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии (ЭДС) основными составляющими элементами для золь-гель матрицы с иммобилизованными культурами дрожжей являются Si, O, C, P, K и Na. Такое распределение связано с тем, что кремний и кислород являются основными элементами в составе органосиликатных оболочек, формирующихся вокруг дрожжей, а кислород также входит в состав структуроуправляющего агента - поливинилового спирта. Углерод входит в состав негидролизуемого алкильного радикала (CH<sub>3</sub>-) и ПВС. Фосфор, калий и натрий входят в состав фосфатного буферного раствора (рН = 6,8), который использовали при работе с культурами дрожжей. Отсутствие азота в ЭДС спектре показывает, что клетки дрожжей отсутствуют на поверхности золь-гель матриц. Таким образом, показано что клетки микроорганизмов покрыты органосиликатными капсулами. Подобные гетерогенные биокатализаторы могут быть использованы в биотехнологии как носители микроорганизмов, поскольку они надежно покрыты золь-гель капсулой и защищены от вредных факторов окружающей среды, это будет показано далее.

Исследование поддержано грантом Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых ученых-кандидатов наук № МК-4049.2022.1.3.

### Ссылки:

1. Lavrova D.G. et al // Enzyme Microb. Technol. 2021. V. 150. P. 109879.

**Использование экспрессионной системы простейших *Leishmania tarentolae* для получения белковых биопрепаратов в исследовательских и медицинских целях**

И. Е. Кашеверов, Л. В. Сон, И. А. Иванов, Д. А. Сухов, В. Ю. Кост  
Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,  
Москва  
Электронная почта: shak\_ever@yahoo.com

Была оценена возможность использования недорогой и удобной экспрессионной системы LEXSY для получения белковых биопрепаратов, используемых как в научных, так и медицинских целях. Для данной работы был взят штамм простейших *Leishmania tarentolae*, выделенный из африканского геккона *Tarentola mauritanica*, непатогенный для человека. В качестве целевых белков были выбраны активно используемые в наших исследованиях ацетилхолин-связывающий белок (АХСБ) из прудовика *Lymnaea stagnalis* и рецептор-связывающий домен (RBD) шпилечного S-белка вируса SARS-CoV-2, вызывающего Ковид-19. Первый из этих белков активно используется в качестве пространственного и фармакологического гомолога никотиновых ацетилхолиновых рецепторов (nAChR) – трансмембранных 5-ти субъединичных ионных каналов, участвующих в проведении нервного импульса, нервно-мышечной передаче, различных когнитивных, воспалительных и многих других физиологических процессах. Открытие АХСБ и получение его рекомбинантной формы привело к прорыву в понимании структурной организации и принципа работы многочисленных подтипов nAChR и он активно применяется в исследовательских целях до настоящего времени. Успешная экспрессия АХСБ была достигнута только в клетках дрожжей, насекомых и млекопитающих. Другой белок – RBD – на сегодня является основным антигеном для создания противоковидных антител, а также активно используется в наше время для поиска соединений, с ним взаимодействующих, как возможных антивирусных агентов. Его не удается получить в бактериальной системе и приходится использовать для экспрессии клетки млекопитающих. Применение системы LEXSY в обоих случаях выявило удачное совмещение качества эукариотической и бактериальной систем, приводящее к нативному фолдингу экспрессируемых белков, к близкому к нативному профилю постраницационных модификаций, а также к стабильности клеток и скорости роста биомассы, к высокой технологичности культивации. Как результат, в клетках *Leishmania* был получен рекомбинантный RBD, эффективно узнающийся коммерческими антителами к нему, и АХСБ, демонстрирующий параметры связывания его специфического лиганда, аналогичные таковым для белка, экспрессированного в клетках насекомых.

*Исследование поддержано грантом РФФ № 22-24-01051 (<https://rscf.ru/project/22-24-01051/>).*

**Исследование микробиома винограда амурского и его биотехнологического потенциала**

К. В. Киселев, О. А. Алейнова, Н. Н. Нитяговский, А. А. Ананьев, А. Р. Супрун  
ФНЦ Биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Владивосток  
Электронная почта: kiselev@biosoil.ru

Микробиом – в широком понимании это сообщество микроорганизмов, населяющих конкретную среду, например почву, воду или другие живые организмы. Микроорганизмы, населяющие растения, принято называть эндофитами. К эндофитам растений относят бактерии, археи, грибы и протисты, которые колонизируют внутреннюю часть растения независимо от исхода их ассоциации. Эндофиты оказывают колоссальное влияние на рост и развитие растений, на их урожайность и устойчивость к неблагоприятным условиям произрастания.

В последние 5 лет в ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН начата активная работа по изучению биоразнообразия бактерий и грибов дикорастущего винограда амурского *Vitis amurensis* Rupr. Интерес к данному виду объясняется тем, что это один из самых морозостойких видов винограда, более того он содержит высокие значения ценных вторичных метаболитов, например стильбенов.

В докладе будут рассмотрены основные направления работы, связанные с изучением биоразнообразия эндофитов разными методами, выделением отдельных штаммов грибов и бактерий, исследованием влияния отдельных штаммов на рост и развитие растений и других эндофитов, поиском и анализом вторичных метаболитов, синтезируемых полученными штаммами.

*Исследование поддержано грантом РФФ № 22-74-10001.*

**Биотехнологические подходы для получения полипептидных токсинов для фундаментальных исследований и для медицины**

М. Н. Терешин<sup>1</sup>, А. М. Комякова<sup>1</sup>, Н. С. Шошина<sup>1</sup>, В. Н. Степаненко<sup>1</sup>, В. В. Бритиков<sup>2</sup>,  
Е. В. Бритикова<sup>2</sup>, С. А. Козлов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова  
РАН, Москва*

<sup>2</sup>*Государственное научное учреждение «Институт биоорганической химии» Национальной  
академии наук Беларуси, Минск, Беларусь  
электронная почта: serg@ibch.ru*

Патогенные бактерии, а также ядовитые животные и растения продуцируют токсины, которые нацелены на различные биологические мишени, но имеют общую цель - способствовать распространению вида и его сохранению. Изначальная тотальная опасность токсинов для людей была переосмыслена после успехов в биохимических исследованиях, и сегодня многие токсины осмысливаются как лекарственные или косметологические средства. Цитотоксины и антимикробные полипептиды природных ядов позиционируются сегодня как средства для терапии онкологических заболеваний и борьбы с острыми инфекционными заболеваниями, компоненты природных ядов с определенной ферментативной активностью уже давно используются в медицине и косметологии. Нейротоксины, способные взаимодействовать с рецепторами нервной системы, пока более востребованы в фундаментальной науке, но постепенно проникают и в медицину. Получение рекомбинантных полипептидных токсинов для медицинских целей сопряжено с рядом ограничений и особенностей в технологии их производства. При получении терапевтических полипептидов особенно важно сохранить природную аминокислотную последовательность, исключить использование опасных химических веществ в производственном процессе, исключить вероятность модификации отдельных аминокислотных остатков, и самое важное сделать синтез масштабируемым. Рационально в свете таких требований применять биотехнологические подходы для синтеза токсинов в прокариотических или эукариотических микроорганизмах. Биологическая активность токсинов, особенно с цитолитической или антимикробной функцией, может накладывать ограничение на выбор продуцентов. Рациональнее всего защищать клетки хозяина используя индуцированную экспрессию продукта и слитные белки с дополнительными функциональными доменами. Такой подход сегодня наиболее востребован в биотехнологии, так как позволяет выстраивать менее сложные и более масштабируемые схемы получения конечного полипептида. Множество вариантов белков партнеров и способов протеолиза слитных белков описано в литературе, но для фармацевтических задач не все из них можно применять.

*Исследование поддержано грантом РФФИ № 20-54-81015 ЕАПИ\_m.*

**Углеводсодержащие биополимеры отдельных представителей морских грамотрицательных бактерий: структура и биологическая активность**

М. С. Кокоулин, А. С. Кузьмич, Л. А. Романенко, О. В. Черников

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток  
Электронная почта: maxchem@mail.ru

Мировой океан — самый обширный и наименее изученный биотоп на планете Земля. Грамотрицательные бактерии являются неотъемлемым компонентом морской экосистемы и представляют значительную часть микробных сообществ океана. Ареалы их весьма разнообразны и охватывают прибрежные и открытые акватории океанов, глубоководные и гидротермальные впадины, грунты; некоторые виды бактерий способны колонизировать внешние оболочки и внутренние поверхности морских животных и растений. На большей части морской среды обитания преобладают низкие температуры, низкие концентрации питательных веществ, высокое давление, и выживание в этих условиях требует сложного набора физиологических, морфологических и метаболических адаптивных стратегий. Углеводсодержащие биополимеры, связанные с клеточной стенкой, участвуют во взаимодействиях между микроорганизмом и окружающей средой и играют важную роль в адаптации бактерий к специфическим условиям обитания. С другой стороны, интерес к изучению морских грамотрицательных бактерий связан с их способностью продуцировать биологически активные соединения, имеющие фармакологический и биотехнологический потенциал. Особое место среди таких соединений занимают углеводсодержащие биополимеры, которые часто проявляют низкую токсичность, а их структурные особенности могут быть использованы при разработке новых лекарственных препаратов.

Нами были выделены, установлены структуры и изучены биологические свойства капсульных полисахаридов (КПС) и липополисахаридов (ЛПС) отдельных представителей морских грамотрицательных бактерий. Обнаружено, что микроорганизмы *Cobetia pacifica* КММ 3879<sup>T</sup> и КММ 3878, *C. litoralis* КММ 3880<sup>T</sup>, *Idiomarina abyssalis* КММ 227<sup>T</sup>, *Kangiella japonica* КММ 3897, *Halomonas halocynthiae* КММ 1376<sup>T</sup>, *Poseidonocella sedimentorum* КММ 9023<sup>T</sup> и *P. pacifica* КММ 9010<sup>T</sup> продуцируют уникальные сульфатированные КПС, не характерные для большинства грамотрицательных бактерий и проявляющие антипролиферативные свойства по отношению к различным линиям опухолевых клеток. Изучен механизм антипролиферативного действия КПС из микроорганизма *K. japonica* КММ 3897 в отношении клеток протоковой карциномы молочной железы линии Т-47D. Показано, что полисахарид индуцирует арест клеточного цикла в фазе G0/G1 и митохондриально-зависимый апоптоз.

Установлены структуры липидных фрагментов молекул ЛПС из микроорганизмов *C. pacifica* КММ 3879<sup>T</sup>, *Echinicola pacifica* КММ 6172<sup>T</sup>, *E. vietnamensis* КММ 6221<sup>T</sup>, *K. japonica* КММ 3897 и *I. zobellii* КММ 231<sup>T</sup>. Отличительной особенностью молекул липида А морских бактерий является их низкая степень ацилирования и фосфорилирования, а также содержание жирных кислот, не характерных для ЛПС энтеробактерий. Показано, что все исследованные ЛПС являются слабыми индукторами синтеза про-воспалительных цитокинов и проявляют антагонистические свойства по отношению к ЛПС патогенных микроорганизмов.

*Исследование поддержано грантами РНФ № 22-24-00919, РФФИ и МНТ № 21-51-52005 и стипендией Президента Российской Федерации № СП-4729.2022.4.*

**Особенности получения пептидных токсинов морских анемонов в бактериальной системе  
*Escherichia coli***

А. П. Павленко, Д. В. Попкова, О. В. Синцова, А. Н. Кветкина, И. Н. Гладких, Е. В. Лейченко  
*Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН*  
Электронная почта: leychenko@gmail.com

Морские анемоны – древнейшие активно-ядовитые организмы, являются богатейшим источником различных биоактивных пептидных нейро- и цитотоксинов, эффективность которых варьируется в зависимости от структуры и биологической мишени, предназначенной для поражения различных животных, таких как ракообразные и позвоночные. Эти пептиды активно применяются в качестве инструментов в нейробиологических исследованиях и служат основой для разработки лекарств. Несмотря на важность этих соединений для фундаментальной и прикладной науки выделение их из природных источников связано как с проблемами биодоступности и сохранением популяций морских анемонов, так и сложностью хроматографического разделения отдельных изоформ пептидов, вследствие большой схожести их физико-химических свойств.

Развитие современных генно-инженерных и биотехнологических подходов, в частности, экспрессия генов пептидов в бактериальной среде, сделало возможным эффективное получение индивидуальных соединений в достаточных для исследований количествах. Гетерологичная экспрессия токсинов в *Escherichia coli* упрощает их получение и снижает экологический ущерб популяции морских анемонов. Еще одним преимуществом гетерологичной экспрессии в бактериальной системе является достижение высоких уровней целевого пептида при низких затратах. Однако получение токсинов путем гетерологичной экспрессии также требует решения ряда нетривиальных задач. Одной из них является получение токсина, обладающего сформированной пространственной укладкой, другой – решение проблемы токсичности получаемого пептида для бактериальной клетки. Известно, что в бактериальной цитоплазме не предусмотрен механизм образования дисульфидных связей, которыми богаты практически все эукариотические белки, в том числе токсины морских анемонов, что делает их стабильными и устойчивыми к изменению pH среды и температуры. Молекулы токсинов, не стабилизированные дисульфидными связями, подвергаются протеолитической деградации или образуют тельца включения. В связи с этим, бактериальная продукция эукариотических токсинов представляет собой сложную задачу и во многих случаях требует применения нестандартных подходов.

*Исследование поддержано грантами РФФИ № 19-74-20088, № 21-74-00082 и № 21-74-20147.*

**Методы получения активных фармацевтических субстанций с использованием ферментов технической чистоты**

В. Н. Степаненко<sup>1</sup>, Д. А. Макаров<sup>1</sup>, Д. М. Павленко<sup>1</sup>, Т. Д. Мелихова<sup>1</sup>, М. Н. Терешин<sup>1,2</sup>,  
И. В. Мягких<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова  
РАН, Москва*

<sup>2</sup>*МИРЭА-Российский технологический университет, Москва*  
Электронная почта: svn@ibch.ru

Препараты на основе рекомбинантных белков, таких как: гормоны, моноклональные антитела, цитокины, факторы свертывания крови, находят все более широкое применение в отечественной системе здравоохранения. Вне зависимости от используемых для получения данных продуктов экспрессионных систем возникает необходимость в их последующей очистке за оптимальное количество стадий до соответствия заданным показателям качества, обусловленным фармакопейной статьей или нормативными документами на конечный или промежуточный продукт. В ряде случаев экономически целесообразно ввести в технологический процесс стадию аффинной хроматографии, например металл-хелатной, что позволяет значительно сократить количество последующих стадий очистки, поднять конечный выход продукта и, как следствие, снизить сопутствующие производственные издержки. Однако вводимая в состав рекомбинантного белка аффинная метка, в большинстве случаев должна быть отделена от конечного продукта, для чего использую сайт-специфические протеолитические ферменты. Такие ферменты представляют отдельный коммерческий интерес, поскольку они могут быть включены в разрабатываемую технологию получения биофармацевтической субстанции. Нами были разработаны методы получения ферментативных препаратов на основе TEV-протеиназы, легкой цепи энтерокиназы человека [1], Ulp1 – протеазы и сортазы А технической чистоты, а также их иммобилизованных вариантов. Ферментативные препараты были успешно использованы в биотехнологиях получения субстанций Интерферона альфа2б, Терипаратида [2], Лираглутида, Гревала [3], HCRG21 и ряда других биофармацевтических субстанций.

Ссылки:

1. Макаров Д.А. и др. // Биоорганич. химия 2020. Т. 46, № 6. С. 676-685 DOI 10.31857/S0132342320050140.
2. Мягких И.В. и др. // Патент РФ на изобретение RU 2700452 C1 от 17.09.2019.
3. Степаненко В.Н. и др. // Патент РФ на изобретение RU 2714114C1 от 11.02.2020.



## Биотехнологический потенциал морских микроскопических грибов

А. Н. Юрченко

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток  
Электронная почта: yurchant@ya.ru

Биотехнологическое использование микроскопических грибов началось около двух тысяч лет назад. И сегодня такие продукты как соевый соус, сыры камембер и рокфор не мыслимы без грибов *Aspergillus oryzae*, *Penicillium camemberti* и *P. roqueforti*. Другие грибы широко используются для получения целого ряда ферментов, а миллионы тонн лимонной и итаконовой кислот являются 100% продуктами жизнедеятельности *Aspergillus niger* и *A. terreus* [1].

Начиная с первой половины XX века началось активное изучение фармацевтического потенциала грибов-микромикетов. В 1940 году был выделен в чистом виде первый антибиотик пенициллин F, а через 10 лет был получен и первый антибиотик из морского гриба *Cephalosporium acremonium* (позднее переопределенного как *Acremonium chrysogenum*) – цефалоспорин С, ставший началом еще одного нового класса  $\beta$ -лактамных антибиотиков. Не менее знаменитым примером является тритерпеноидный антибиотик фузидиевая кислота, которая обладает выдающейся активностью к большинству мультилекарственно-устойчивых штаммов *Staphylococcus aureus* [2].

Способность продуцировать те или иные метаболиты конкретным штаммом условно зависит от трех групп факторов: видовая принадлежность, природная экосистема, в которой гриб существовал, и условия, в которых этот штамм культивируется в лаборатории. Сказать наверняка какой из этих факторов является определяющим, пожалуй, невозможно.

Видовая принадлежность гриба является безусловно базовым фактором, от которого зависит биотехнологический потенциал гриба. Действительно, зачастую метаболиты родственных видов имеют много общего. Однако практика показывает, что штаммы, относящиеся даже к хорошо изученным видам, могут продуцировать уникальные по структуре и свойствам метаболиты. Вероятно, причиной этого являются особенности природной среды обитания этих штаммов. Несмотря на то, что до сих пор не удалось доказать, что морская среда сама по себе «побуждает» грибы продуцировать уникальные соединения, особенности отдельных морских экосистем, а также малоизученность обитающих там грибов по сравнению с наземными экоформами позволяют получать «выдающиеся» метаболиты [3].

Для максимального развития способности морских грибов продуцировать уникальные соединения в лабораторных условиях используется целый ряд методов. Этот принцип в англоязычной литературе получил название OSMAC (one strain – many compounds). При этом изменяют физические условия культивирования (температура, освещение), химический состав питательной среды (соленость, pH, ионы металлов), используют эпигенетические модификаторы, а также воздействуют другими микроорганизмами, совместно культивируя несколько штаммов грибов или грибы и бактерии.

### Ссылки:

1. Bennett J.W. // J. Biotech. – 1998. – Vol. 66. – P. 101–107.
2. Falagas M.E. // Expert. Rev. Anti Infect. Ther. 2008. V. 6, N. 5. P. 593-600.
3. Yurchenko A.N. et al. // Mar. Drugs. 2021. V. 19. Art. 88 [1–38].

**Эндوفиты дикорастущего винограда *Vitis amurensis* Rupr. и их биотехнологический потенциал**

О. А. Алейнова, Н. Н. Нитяговский, А. Р. Супрун, К. В. Киселев  
ФНЦ Биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Владивосток  
Электронная почта: aleynova@biosoil.ru

Виноград является экономически важной плодовой культурой. Урожайность винограда и качество плодов сильно зависят от внешних факторов, таких как местоположение виноградника, погодные условия, методы ведения сельского хозяйства, и различных биотических факторов, такие как микробные патогены и эндофитный микробиом. Эндوفиты растений – это бактерии, археи, грибы и протисты, которые колонизируют внутреннюю часть растения независимо от исхода ассоциации. Известно, что некоторые эндوفиты оказывают взаимовыгодное воздействие на растение-хозяина. Эндوفиты обладают значительным потенциалом для применения в сельском хозяйстве в качестве природных агентов для биологического контроля, стимулирования роста растений, повышения урожайности сельскохозяйственных культур и борьбы с экологическим стрессом.

В данной работе впервые выполнен метагеномный анализ (next generation sequencing, NGS) биоразнообразия эндофитных бактерий и грибов в дикорастущем винограде *Vitis amurensis* Rupr. Известно, что *V. amurensis* обладает высокой устойчивостью к низким температурам и микробным заболеваниям, таким как мучнистая роса, белая гниль винограда и антракноз. В ходе NGS-анализа было установлено, что в тканях винограда встречаются представители 38 классов бактерий (343 рода). Согласно анализу, 17 таксонов были представлены в различных органах виноградной лозы (стебель, лист, ягода, семя) с относительной представленностью выше 0,1%. Среди 17 таксонов, относящихся к 5 классам, были наиболее представлены: *Gamma*proteobacteria – 75,8%, *Alphaproteobacteria* – 18,7%, *Actinobacteria* – 15,4% и *Bacilli* – 6,6%. Микобиомный анализ показал, что в тканях винограда встречаются эндофитные грибы, которые являются представителями 22 классов (213 родов), где основная часть относится к классам *Dothideomycetes*, *Eurotiomycetes*, *Tremellomycetes*, *Taphrinomycetes*, *Sordariomycetes*. В пятерку наиболее представленных таксонов вошли *Aureobasidiaceae*, *Cladosporium*, *Vishniacozyma*, *Septoria* и *Papiliotrema*. Для анализа биоразнообразия эндофитных бактерий и грибов мы также использовали культивационно-зависимый метод (высев микроорганизмов из поверхностно-стерилизованных тканей винограда). Полученные штаммы эндофитных бактерий и грибов анализировали на содержание стилибенов – ценные для здоровья человека вещества. При помощи ВЭЖХ нами обнаружены штаммы эндофитов винограда, которые синтезируют стилибены. Штамм эндофитных бактерий *Gordonia* sp., содержал 0,11-12,9 мкг/мл вещества, по всем хроматографическим характеристикам схожее с *транс*-резвератролом. Также обнаружены стилибены в штаммах эндофитных грибов винограда *V. amurensis*: *Pestalotiopsis* sp. (*транс*-резвератрол 0,15-1,2 мкг/мл), *Biscogniauxia* sp. (0,32-2,2 мкг/мл), *Didymella* (0,45 мкг/мл), *Alternaria* sp. (0,17-0,55 мкг/мл), *Notophoma* sp. (0,2-1,12 мкг/мл). При помощи метода масс-спектрометрии наличие *транс*-резвератрола было подтверждено в образцах *Pestalotiopsis* sp., *Biscogniauxia* sp. и *Didymella* sp.

Таким образом, полученные данные о биологическом разнообразии эндофитных бактерий дикого винограда *V. amurensis* открывают большие перспективы в поиске альтернативных источников биологически активных веществ.

*Исследование поддержано грантом РФФ № 22-74-10001.*

**Влияние эндофитов винограда *Vitis amurensis* Rupr. на ростовые характеристики модельного растения *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.**

А. А. Ананьев, О. А. Алейнова, Н. Н. Нитяговский, А. Р. Супрун, К. В. Киселев  
ФНЦ Биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Владивосток  
Электронная почта: Ananev.All@yandex.ru

В последние годы активно развивается направление, основанное на изучении влияния эндофитов растений и препаратов на их основе на устойчивость растений к биотическим и абиотическим стрессам, а также на урожайность растений и качество продукции, в том числе на содержание полезных для здоровья человека веществ. Использование этих природных симбионтов в сельском хозяйстве дает возможность относительно дешево максимизировать урожайность и повысить устойчивость растений к различному роду стрессов при одновременном снижении воздействия сельского хозяйства на окружающую среду. В данной работе исследовано влияние эндофитов винограда *Vitis amurensis* Rupr. на ростовые характеристики модельного растения *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. Эндофиты дикорастущего винограда *V. amurensis* Rupr. являются интересным объектом исследования, так как известно, что некоторые эндофиты культурного винограда *Vitis vinifera* обладают противогрибковыми, бактерицидными свойствами, а также способны синтезировать стильбены. Дикорастущий *V. amurensis* является морозоустойчивым видом винограда, а также обладает устойчивостью ко многим болезням винограда, таким как милдью и антракноз. Кроме того, эндофитное сообщество дикорастущих растений намного богаче, чем их культивируемых сортов, поэтому изучение эндофитного сообщества дикорастущего *V. amurensis* является актуальной задачей. В данной работе нами произведена оценка ростовых характеристик модельного растения *A. thaliana* (длина 10-ти дневных проростков, диаметр розетки и количество листьев 30-ти и 60-ти дневных растений) после совместного проращивания семян с наиболее часто встречаемыми эндофитами винограда *V. amurensis*, а именно бактерий *Antracocystis* sp., *Agrobacterium* sp., *Bacillus* sp., *Erwinia* sp., *Frondehabitans* sp., *Gordonia* sp., *Pantoea* sp., *Sphingomonas* sp., *Xantomonas* sp. и грибов *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Aspergillus* sp., *Biscogniauxia* sp. 1, *Biscogniauxia* sp. 2, *Cladosporium* sp., *Exobasidium* sp., *Komatogella* sp., *Didymella* sp., *Notophoma* sp., *Penicillium* sp., *Pestalotiopsis* sp., *Pestalotiopsis* sp., *Xylaria* sp. Кроме того, методом количественного ПЦР с детекцией результатов в реальном времени (ПЦР-РВ) был произведен количественный анализ транскрипционного профиля генов маркеров, регулирующих биосинтез фитогормонов и фотосинтез *A. thaliana*. Показано положительное влияние на рост растений *A. thaliana* после совместного проращивания с эндофитными грибами *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp., *Komatogella* sp., *Pestalotiopsis* sp. и бактериями *Frondehabitans* sp., *Sphingomonas* sp. Анализ профиля транскриптов генов маркеров биосинтеза фитогормонов и фотосинтеза (*AtNIT1*, *AtTAA1*, *AtYUCCA1*, *AtGA20ox2*, *AtGA3*, *AtCKX4*, *AtCKX5*, *CYP735A2*, *UGT76C2*, *rbcl*) в растениях *A. thaliana* после совместного проращивания с эндофитными микроорганизмами винограда показал, что стимуляция роста растений происходит путем активации экспрессии отдельных путей биосинтеза фитогормонов растений. Например, эндофитный гриб *Komatogella* sp., который показал наибольший положительный эффект на размер растений *A. thaliana*, действует на растения путем активации биосинтеза ауксинов, цитокининов и активации фотосинтеза через экспрессию генов *AtYUCCA1*, *AtCKX5*, *AtrbcL*, соответственно. Таким образом, эндофитные бактерии и грибы дикорастущего винограда *V. amurensis* являются потенциальными естественными стимуляторами роста растений.

*Исследование поддержано грантом РФФ № 22-74-10001.*

## Совместное культивирование *Aspergillus carneus* и *Beauveria felina* как способ получения новых биологически активных лекарственных средств

Е. Б. Белоусова<sup>1</sup>, Е. А. Юрченко<sup>1</sup>, О. И. Журавлева<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток

<sup>2</sup>Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

Электронная почта: belousova.elena.99@mail.ru

Морские микроскопические грибы представляют собой неисчерпаемый источник потенциально новых природных соединений с широким спектром биологической активности [1]. Совместное культивирование двух или более микроорганизмов является одним из направлений стратегии OSMAC («один штамм, много соединений»), согласно которой каждый микробный штамм может продуцировать большое разнообразие соединений при культивировании в различных условиях. Совместное культивирование позволяет в определенной степени смоделировать природный микробный комплекс, где микроорганизмы продуцируют биоактивные вторичные метаболиты, необходимые для выживания в конкурентном окружении [2].

Ранее в лаборатории химии микробных метаболитов ТИБОХ ДВО РАН из экстрактов морских грибов *Aspergillus carneus* КММ 4638 и *Beauveria felina* КММ 4639 было выделено несколько десятков новых соединений различных природных классов, продемонстрировавших широкий спектр биологической активности [3–5]. Кроме того, исходя из набора продуцируемых метаболитов в грибе *B. felina* был предположен целый комплекс окислительных ферментов, что привело к идее использования окислительной способности ферментов *B. felina* с целью получения новых аналогов известных соединений.

Был исследован метаболитный профиль совместной культуры штаммов грибов *Aspergillus carneus* КММ 4638 и *Beauveria felina* КММ 4639, из экстракта которой выделено 22 индивидуальных метаболита. Восемь выделенных соединений ранее были описаны нами в качестве метаболитов монокультур использованных штаммов грибов, а 7 соединений являются очевидным результатом действия оксигеназ *B. felina* на метаболиты, продуцируемые *A. carneus*.

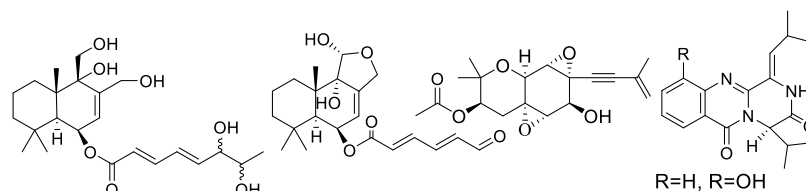


Рисунок 1 – Структуры некоторых выделенных соединений

Для ряда выделенных соединений была изучена цитотоксическая активность в отношении клеток глиобластомы крысы С6, рака молочной железы человека МСF-7, рака простаты человека РС-3, лимфомы Беркитта человека Raji, а также нормальных кардиомиоцитов крысы H9c2.

*Исследование поддержано грантом РФФИ № 21-53-54005.*

### Ссылки:

1. Peng X.Y. et al // MLST. 2021. V. 3, N. 3. P. 363-374.
2. Pinedo-Rivilla C. et al. // Mar. Drugs. 2022. V. 20, N. 2. P. 1-34.
3. Zhuravleva O.I. et al // Phytochemistry. 2012. V. 80. P. 123-131.
4. Zhuravleva O.I. et al // Nat. Prod. Commun. 2013. V. 8, N. 8. P. 1071-1074.
5. Smetanina O.F. et al // Phytochem. Lett. 2012. V. 5, N. 1. P. 165-169.

## Ингибиторы р-гликопротеина из морского гриба *Penicillium antarcticum* КММ 4685

Г. В. Боркунов<sup>1</sup>, С. А. Дышловой<sup>1</sup>, Д. В. Бердышев<sup>2</sup>, Е. В. Лещенко<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

<sup>2</sup>Тихоокеанский институт биоорганической химии им Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток  
Электронная почта: borkunovg@bk.ru

Известно, что более 50% лекарственных препаратов созданы на основе соединений, выделенных из природных источников [1]. Поэтому выделение новых биологически активных природных соединений является важной фундаментальной задачей на пути к поиску «молекул-лидеров» – основы для создания лекарственных препаратов. С 2014 по 2018 гг. количество выделенных новых природных соединений из морских грибов выросло на 85% [2]. Таким образом морские грибы являются перспективными и богатыми источниками новых биологически активных соединений.

Представители рода *Penicillium* являются одними из самых распространённых микроорганизмов на земле. *Penicillium antarcticum* один из наиболее распространенных видов микромицетов, относящийся к подроду *Aspergilloides*, секции *Canescentia*, серии *Atroveneta*. Способность грибов этой секции к широкому распространению и колонизации различных наземных и морских субстратов, как полагают, обусловлена их высокой метаболической активностью, что также делает грибы этой группы перспективными источниками биологически активных соединений.

Из этилацетатного экстракта гриба *P. antarcticum* КММ 4685 были выделены меротерпеноиды – мероантарктины А–С (1–3) (Рисунок 1), с уникальными 6/5/6/6, 6/5/6/5/6 и 6/5/6/5 полициклическими системами. Их структуры были установлены на основании спектроскопических методов, РСА анализа и квантово-химических расчетов.

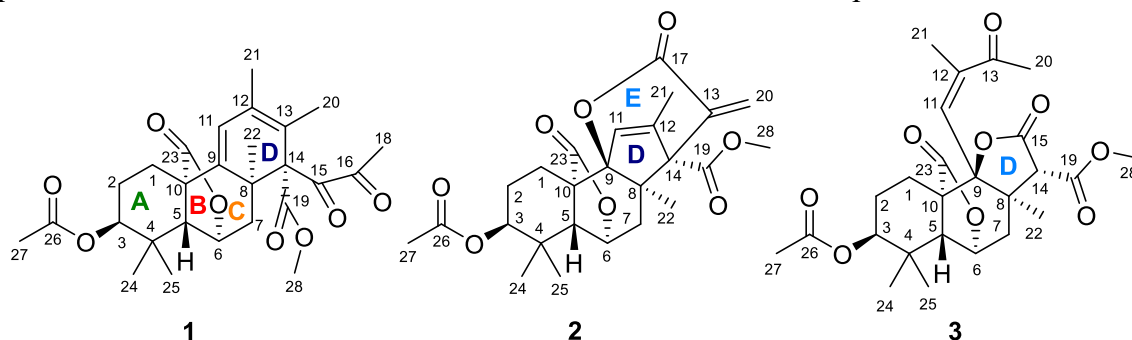


Рисунок 1 – Химические структуры мероантарктинов А–С (1–3)

Мероантарктины А–С (1–3) показали, что они являются ингибиторами активности р-гликопротеина и могут повышать чувствительность раковых клеток, устойчивых к лекарственным средствам, к доцетакселу.

*Исследование поддержано грантом РФФ № 19-74-10014.*

Ссылки:

1. Moloney M.G. // Trends Pharmacol. Sci. 2016. V. 37, N 8. P. 689-701.
2. Carroll A.R. et al. // Nat. Prod. Rep. 2020. V. 37, N 2. P. 175-223.

**Антибактериальный и противоопухолевый потенциал морских бактерий, ассоциированных с беспозвоночными залива восток японского моря**

К. И. Ганжа, А. В. Белоусов, А. А. Глущенко, В. В. Кумейко, А. М. Стенкова  
Дальневосточный федеральный университет, Владивосток  
Электронная почта: poteshkina.ki@dvfu.ru

Уже сегодня открытия новых природных соединений морского происхождения формируют основу для целого кластера будущих фармацевтических препаратов. В связи с возникновением устойчивости патогенных микроорганизмов к существующим на рынке антимикробным препаратам, в мире активно ведется поиск новых антибиотиков с принципиально новыми механизмами действия. Еще более актуален поиск противоопухолевых веществ. Несмотря на значительный прогресс в диагностике и лечении рака, онкологические заболевания являются одной из основных причин смерти во всем мире. Побочные эффекты при химиотерапии и возникновение лекарственной устойчивости у некоторых типов рака значительно осложняют лечение. Таким образом, поиск новых противораковых веществ очень важен. Перспективным источником таких веществ являются, пока ещё мало изученные, морские микроорганизмы. Целью данного исследования является выделение и характеристика морских бактерий – продуцентов новых веществ с противомикробной и противоопухолевой активностью из морских беспозвоночных.

В настоящей работе из беспозвоночных залива Восток всего было выделено 211 штаммов морских бактерий, из них 93 грамположительных (44%) и 118 грамотрицательных (56%). Среди этих штаммов антибиотическая активность была обнаружена у 28 (13%). Из них идентифицировано 22 штамма морских бактерий, среди которых 18 грамотрицательных и три штамма грамположительных. Установлено, что наиболее высокая противомикробная активность вторичных метаболитов исследуемых штаммов наблюдалась в отношении грамположительных *Staphylococcus aureus* и *Bacillus subtilis*, 21 (75%) и 22 (78%) соответственно.

Штаммы, проявляющие противомикробное действие в отношении тестовых культур *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, были отобраны для исследования противоопухолевой активности в отношении клеточных линий MDA-MB – метастатическая аденокарцинома легких человека и U87 MG – метастатическая глиома (глиобластома) человека. Всего протестировано 12 водных и 9 спиртовых экстрактов метаболитов морских бактерий, из них противоопухолевым действием обладало 4 спиртовых и 2 водных экстракта. При этом экстракты метаболитов морских бактерий проявляли активность сразу против двух клеточных линий. Два активных штамма морских бактерий идентифицированы как *Acinetobacter pitii*, *Pseudoalteromonas* sp., еще два штамма не определены.

**Влияние продуктов ферментативной трансформации фукоидана из бурой водоросли *Fucus evanescens* на энергетический метаболизм опухолевых клеток**

А. О. Зуева, А. С. Сильченко, А. Б. Расин, О. С. Маляренко, С. П. Ермакова  
Тихоокеанский институт биоорганической химии им Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток  
Электронная почта: zstasya95@gmail.com

Онкологические заболевания являются одной из ведущих причин смертности в большинстве стран мира и представляют собой тяжелую проблему как с медицинской, так и с социально-экономической точки зрения. Актуальной проблемой остается поиск новых соединений, обладающих противоопухолевой активностью, а также соединений способных регулировать метаболические и функциональные процессы, происходящие в клетках. Среди морских природных источников особенное внимание привлекают бурые водоросли. Они широко распространены по всему миру, обладают значительным биоразнообразием и легко культивируются. Среди полисахаридов бурых водорослей большим потенциалом обладают фукоиданы благодаря широкому спектру биологических активностей и низкой токсичности по отношению к нормальным клеткам и тканям человека [1]. Фукоиданы представляют собой семейство структурно разнообразных сульфатированных фукозосодержащих гомо- и гетерополисахаридов, ферментативные и химические модификации которых являются перспективным подходом к получению новых соединений с улучшенными биологическими свойствами.

Целью работы является получение производных фукоидана из бурой водоросли *F. evanescens* с различной структурой, исследование их противоопухолевой активности и способности оказывать влияние на метаболизм опухолевых клеток. Высоко- (ВМП) и низкомолекулярные (НМП) производные фукоидана были получены с помощью рекомбинантных фукоидаз FWf1, FWf2 [2], FWf3 и FWf4 морской бактерии *Wenyingshuangia fucanilytica* CZ1127<sup>T</sup>. Основные фрагменты структур полученных производных были установлены с помощью ЯМР спектроскопии. Было показано, что полученные производные имеют значительные структурные различия благодаря строгой специфичности каждого из используемых ферментов. Проведен сравнительный анализ противоопухолевой активности *in vitro* полученных производных в отношении клеточной линии рака молочной железы MDA-MB-231, а также в отношении клеток MDA-MB-231, обработанных олигомицином (ингибитором АТФ-синтазы, вызывающим митохондриальную дисфункцию в клетках вследствие блокирования процесса окислительного фосфорилирования). Установлено, что нативный фукоидан FeF и его производные способны подавлять рост колоний клеток *in vitro*. Фракции НМП, продуцируемые фукоидазами FWf1, FWf2 и FWf4, обогащенные 2,4-диО-сульфатами, обладали более высоким противоопухолевым действием на клетки MDA-MB-231, по сравнению с нативным FeF. Фракция ВМП, продуцируемая FWf3, содержащая фрагменты фукоидана только с 2О-сульфатированием, практически не влияла на рост колоний раковых клеток. Также было показано, что клетки, обработанные олигомицином, проявляли большую восприимчивость к фукоидану и его ферментативным производным. Полученные данные указывают на то, что фукоиданы оказывают влияние на биоэнергетические процессы, протекающие в раковых клетках MDA-MB-231.

*Исследование поддержано грантом РФФ № 21-14-00321.*

Ссылки:

1. Senthilkumar K. et al. // Int. J. Biol. Macromol. 2013. V. 60. P. 366-374.
2. Zueva A.O. et al. // Int. J. Biol. Macromol. 2020. V.164. P. 3025-3037.

**Программный комплекс по управлению проектами Datach для проектирования, производства, тестирования и сервисного обслуживания технологического оборудования для биотехнологической отрасли**

О. О. Карпова<sup>1,2</sup>, Ю. Мехда<sup>1</sup>, А. М. Занадворова<sup>1</sup>, Д. И. Мелещеня<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Общество с ограниченной ответственностью «БИОТЕХНО», Москва*

<sup>2</sup> *Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности, Лосино-Петровский, Московская обл.*

Электронная почта: rumolga98@mail.ru

Индустрия 4.0 или тренд развития автоматизированного цифрового производства, основанный на управлении интеллектуальными системами в режиме реального времени во взаимодействии с внешней средой, обеспечивает успешный переход к цифровизации процессов. ООО «БИОТЕХНО» разрабатывает софт полного цикла по ведению проектов для создания сложных технологических комплексов Datach. Основная задача – сопровождение оборудования на всех стадиях производства – от проектирования до сервиса. Datach используется на предприятиях биотехнологической, фармацевтической, химической, пищевой и других высокотехнологичных отраслей. Управляет проектными документами в цифровом формате, помогает оперативно согласовывать и утверждать документы онлайн, отражает все этапы реализации проекта на одной электронной площадке, вовлекает заказчика в процесс работы над проектом для учета всех его пожеланий, стандартизирует работу над проектами согласно критериям GMP, унифицирует шаблоны испытаний, автоматизирует расчеты при тестировании и ферментации микроорганизмов. Программный комплекс ориентирован как на ферментацию прокариот, так и ферментацию дрожжей.



**Механизм антипролиферативного действия сульфатированного полисахарида из морской грамотрицательной бактерии *Kangiella japonica* КММ 3897 на клетки аденокарциномы молочной железы линии Т-47D**

А. С. Кузьмич, Л. А. Романенко, Т. О. Мизгина, М. С. Кокоулин

Тихоокеанский институт биоорганической химии им Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток  
Электронная почта: assavina@mail.ru

Грамотрицательные бактерии являются неотъемлемым компонентом морской экосистемы и представляют значительную часть микробных сообществ океана. Одним из основных интересов к изучению морских грамотрицательных бактерий является их способность продуцировать биологически активные соединения, имеющие фармакологический и биотехнологический потенциал. Особое место среди них занимают углеводсодержащие биополимеры, которые часто проявляют низкую токсичность, а их структурные особенности могут быть использованы при разработке новых лекарственных препаратов.

Ранее нами была установлена структура капсульного полисахарида (КПС) из морской грамотрицательной бактерии *Kangiella japonica* КММ 3897. Показано, что полисахарид построен из линейных трисахаридных повторяющихся звеньев, состоящих из двух остатков D-глюкозамина, один из которых сульфатирован по 4 и 6 положениям, и 2-амино-2-дезоксид-маннуроной кислоты. В данном сообщении представлены результаты исследования влияния КПС из морской грамотрицательной бактерии *K. japonica* КММ 3897 на жизнеспособность, прогрессию клеточного цикла и индукцию апоптоза в модели с использованием клеток аденокарциномы молочной железы линии Т-47D.

С помощью MTS-метода установлено, что исследуемый полисахарид обладает избирательным антипролиферативным эффектом по отношению к клеткам линии Т-47D. Методом проточной цитометрии показано, что антипролиферативное действие опосредовано арестом клеточного цикла в фазе G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>. С помощью метода вестерн блоттинга подтверждено, что КПС ингибирует основные белки, участвующие в прогрессии клеточного цикла в фазе G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>, а именно активные комплексы CDK4/CDK6/D1 и фосфорилированной формы белка-супрессора опухоли Rb. Кроме того, методом вестерн блоттинга было установлено, что сульфатированный полисахарид вызывает активирование таких маркеров апоптоза, как PARP и каспаза-3. Активация про-апоптотических белков p53, цитохрома С и Вах, а также ингибирование анти-апоптотического белка Bcl-2, свидетельствовало о том, что апоптоз идет по внутреннему (митохондриальному) пути.

Таким образом, на основании полученных данных можно сделать вывод, что антипролиферативный эффект КПС из морской грамотрицательной бактерии *K. japonica* КММ 3897 в отношении клеток линии Т-47D обусловлен арестом клеточного цикла в фазе G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> и индукцией апоптоза по митохондриальному пути.

*Исследование поддержано грантом РФФ № 22-24-00919.*

## Получение гибридного золь-гель материала на основе смеси дрожжей для определения БПК

Е. А. Ланцова, Д. В. Извольская  
Тульский государственный университет  
Электронная почта: dart.liza@yandex.ru

Для экологического контроля существуют различные методы определения количества органических веществ в воде. В последнее время для этого все чаще используют микробные сенсоры [1]. Дрожжи наиболее предпочтительны для использования в качестве биопрепарата, поскольку данные микроорганизмы более устойчивы к воздействию негативных факторов среды [2]. Для увеличения числа окисляемых субстратов используют ассоциации микроорганизмов, состоящие из двух-трех штаммов.

Для предотвращения потери активности микроорганизмов используются различные методы иммобилизации биоматериала, что позволяет создавать биопрепараты с уникальными свойствами. Использование для этого золь-гель метода характеризуется простотой исполнения, экспрессностью, нетоксичностью, сохранением биологической активности биоматериала [3]. Для формирования золь-гель оболочек используются эфиры кремниевых кислот, алкоксисиланы. В процессе образования матрицы протекают реакции гидролиза и поликонденсации. Если силановый прекурсор содержит алкильный заместитель, то использование такого вещества приводит к увеличению гибкости матрицы, которая способна захватывать большее число клеток и снижать механическое давление на них [4].

В работе был сформирован биогрибридный материал на основе смеси дрожжей, инкапсулированной в золь-гель матрицу, содержащую 65 об.% метилтриэтоксисилана и 35 об.% тетраэтоксисилана. С помощью биосенсорного метода проанализирована каталитическая активность полученного биопрепарата на основе иммобилизованных клеток.

Параметр/метод иммобилизации	Золь-гель матрица	Модифицированный гидрогель ПВС [4]
Коэффициент чувствительности, $10^{-3} \cdot \text{мин}^{-1}$	$36 \pm 4$	$0,6 \pm 0,1$
Диапазон определяемых концентраций, мг/дм <sup>3</sup>	1,4-25	2,4-80
Долговременная стабильность, сутки	23	17
Относительное стандартное отклонение, %	4,9	8,9

Сформированный биоматериал характеризуется большей чувствительностью, более стабильным ответом и возможностью определять более низкие концентрации по сравнению с аналогом, иммобилизованным другим методом. Планируется создать биопрепарат на основе разработанного биогрибридного материала для определения индекса БПК.

*Исследование поддержано грантом РНФ № 22-23-20129 (<https://rscf.ru/project/22-23-20129>) и правительством Тульской области.*

### Ссылки:

1. Nakanishi A. et al. // Handbook of cell biosensors. 2022. P. 911.
2. Ponamoreva O.N. et al. // Appl. Biochem. Microbiol. 2018. V. 54. P. 736-742.
3. Hernández-González A.C. et al. // Carbohydr. Polym. 2021. V. 267. P. 118186.
4. Clement S., Mehdi A. // Molecules. 2020. V. 25, No. 11. P. 2538

**Использование подхода OSMAC (один штамм – много соединений) для поиска перспективных «молекул-лидеров» из морских микроскопических грибов *Penicillium thomii***

Е. В. Лещенко<sup>1,2</sup>, Ю. В. Худякова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

<sup>2</sup>Тихоокеанский институт биоорганической химии им Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток

Электронная почта: leshchenko.ev@dvfu.ru

Известно, что более 50% лекарственных препаратов созданы на основе соединений, выделенных из природных источников. Одним из подходов к созданию новых лекарственных препаратов, является поиск «молекул-лидеров» среди природных соединений, проявляющих желаемую биологическую активность. Поэтому выделение новых биологически активных природных соединений является важной фундаментальной задачей на пути к поиску «молекул-лидеров» – основы для создания лекарственных препаратов. Известно, что морские микроорганизмы являются источником новых природных соединений с широким спектром биологической активности, применимой в различных отраслях промышленности.

Постоянно растущее количество секвенированных микробных геномов выявило несоответствие между количеством генных кластеров потенциально кодирующих производство метаболитов и фактического количества химически охарактеризованных метаболитов, выделенных из данных микроорганизмов. Гомологическая и гетерологичная экспрессия этих биосинтетических генов, которые часто не активны в условиях экспериментального лабораторного культивирования, может привести к открытию «скрытых» природных соединений, представляющих медицинский и биотехнологический интерес. Подход OSMAC (один штамм — много соединений), основанный на модификации условий роста, оказался мощной стратегией для открытия новых потенциально активных природных соединений.

Нами был проведен подбор оптимальных условий культивирования путем варьирования солености (осмотический стресс) по стратегии OSMAC ранее изученного нами гриба *Penicillium thomii* КММ 4645 (морская бурая водоросль *Sargassum miyabei*) с целью увеличения выхода биоактивных соединений и/или активации спящих генов, отвечающих за синтез «скрытых» метаболитов.

Исследование поддержано грантом РФФ № 22-73-00190 (<https://rscf.ru/project/22-73-00190>).

**Родококки как эффективные катализаторы биосинтеза терапевтически значимых соединений на основе олеанановых тритерпеноидов**

Н. А. Лучникова<sup>1,2</sup>, В. В. Гришко<sup>1</sup>, И. Б. Ившина<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Пермский федеральный исследовательский центр УрО РАН, Пермь

<sup>2</sup>Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь

Электронная почта: luchnikova.n@mail.ru

На фоне недостатка высокоэффективных фармакологических средств для лечения социально-значимых заболеваний актуальной задачей является синтез новых соединений с потенциальной биологической активностью, в том числе на основе пентациклических тритерпеноидов, в частности олеаноловой (ОК) и глицирретовой (ГК) кислот. Технологически перспективным направлением исследований в данной области является применение ферментов и целых клеток микроорганизмов, что обусловлено их исключительной хемо- и стереоселективностью, отсутствием проблемы минимизации побочных реакций и необходимости защиты реакционно-активных центров молекулы. Одной из активно разрабатываемых в биотехнологии групп микроорганизмов являются непатогенные актинобактерии рода *Rhodococcus*, характеризующиеся высокой каталитической активностью в отношении широкого спектра сложных гидрофобных субстратов. На основе биоресурсов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (официальный акроним коллекции ИЭГМ, номер 285 во Всемирной федерации коллекций культур, УНУ 73559, ЦКП 480868, www.iegmcoll.ru) отобран штамм *R. rhodochrous* ИЭГМ 1360, способный к направленной биоконверсии высоких (до 1,0 г/л) концентраций ОК и ГК; определены условия, обеспечивающие максимальный (до 100%) выход 3-оксо-производных ОК и ГК с прогнозируемой противоопухолевой и антиоксидантной активностью; с применением традиционных и современных биофизических и микробиологических методов выявлены механизмы взаимодействия родококков с ОК и ГК; с использованием отдельных клеточных фракций доказано участие мембранносвязанных ферментных систем в процессе биоконверсии тритерпеноидов; методом NGS-секвенирования расшифрован полный геном штамма-биотрансформатора *R. rhodochrous* ИЭГМ 1360 (номер GenBank JAJNCN000000000.1); в результате проведенного биоинформатического анализа результатов секвенирования выявлены функциональные гены биотрансформации ОК и ГК.

*Работа поддержана грантом РФФИ-аспиранты № 20-34-90104, выполнена в рамках госзаданий (№ АААА-А19-119112290008-4, № 122010800029-1) и при частичной финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № 075-15-2021-1051(131/21) с использованием оборудования ЦКП “Исследования материалов и вещества” и ЦКП “Региональная профилированная коллекция алканотрофных микроорганизмов” Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН.*

***Janthinobacterium lividum* ВКМ В-3515 – перспективная тест-культура для поиска потенциальных микроорганизмов-антагонистов чувства кворума**

Н. С. Ляховченко, В. Ю. Сенченков, В. А. Ефимова, С. С. Ахапкина, А. О. Селезнев,  
А. Е. Корешкова

Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород  
Электронная почта: lyakhovchenko@bsu.edu.ru

Из реки Везелка города Белгород выделен штамм, идентифицированный как *Janthinobacterium lividum*, образующий пигмент сине-фиолетового цвета, предположительно, виолацеин. Его биосинтез тесно связан с чувством кворума (ЧК) – это явление межклеточной коммуникации у микроорганизмов, обусловленное различными сигнальными молекулами (аутоиндукторами), которые обеспечивают взаимодействие между клетками, при этом координируют групповое поведение. Благодаря механизмам ЧК бактерии могут ощущать изменения в плотности популяции своего вида и других в сообществе. С увеличением плотности микробных клеток, а также концентрации сигнальных молекул в окружающей среде, бактерии изменяют и координируют взаимодействия между клетками, активируя экспрессию генов, участвующих в достижении определенных физиологических функций и регуляторных механизмов. Аутоиндукторы многих микроорганизмов связаны с вирулентностью, образованием биопленок и устойчивостью к антибиотикам.

Поиск микроорганизмов-перспективных антагонистов чувства кворума необходим для расширения ассортимента способов ингибирования инфекций и культура *J. lividum* ВКМ В-3515 может быть использована в качестве тест-культуры для выделения искомой группы микроорганизмов за счет образования виолацеина сине-фиолетового цвета.

Методом перпендикулярного штриха выявлен антагонистический потенциал ряда штаммов, выделенных из различных источников. В качестве отрицательного контроля выступал штамм *Pseudomonas putida* из рабочей коллекции авторов, так как он не оказывает антагонистического влияния. В свою очередь, *P. chlororaphis* ВКМ В-3546D использовали как положительный контроль культуры с антагонистической активностью.

Изоляты с кожных покровов лягушки прудовой (*Rana lessonae*), обозначенные как ВКРЛ5 и ВКРЛ6, оказали антагонистическую активность в отношении *J. lividum* ВКМ В-3515 в разной степени, в том числе и ингибирующий эффект в отношении пигментации тест-культуры. Тот же эффект оказал штамм, выделенный из отходов птицеводства, обозначенный как А<sub>1,2</sub>, тогда как изолят А<sub>1,1</sub> не проявил антагонистической эффективности.

Таким образом, с использованием виолацеин-образующей культуры *J. lividum* ВКМ В-3515 были отобраны штаммы с антагонистическим потенциалом. Следовательно, янтинобактерия может быть использована в качестве тест-культуры для поиска потенциальных антагонистов чувства кворума.

**Влияние условий культивирования на метаболитный профиль морского гриба  
*Penicillium dimorphosporum* КММ 4689**

Л. Е. Нестеренко<sup>1,2</sup>, Р. С. Попов<sup>1</sup>, Е. А. Юрченко<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток

<sup>2</sup>Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

Электронная почта: nesterenkoliliana@yandex.ru

В последнее время усилия исследователей направлены на разработку новых стратегий и подходов с целью увеличения химического разнообразия вторичных метаболитов, выделяемых из морских грибов. Влияние условий культивирования и состава питательных веществ на выход вторичных метаболитов исследуется многими научными группами, и было показано, что даже незначительные изменения состава среды или температуры могут модулировать биосинтез вторичных метаболитов [1-2].

Ранее в Тихоокеанском институте биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН (ТИБОХ ДВО РАН) из культуры морского гриба *Penicillium dimorphosporum* КММ 4689 была выделена серия индольных алкалоидов [3]. В продолжение этих исследований было изучено влияние условий культивирования этого продуцента на выход биологически активных соединений. Гриб был культивирован при температуре 21–24 °С и 30 °С и при содержании морской соли от 0 до 50 г/л культуральной среды. Далее были получены экстракты культур гриба, и изучены их метаболитный профиль и цитотоксическая активность в отношении клеток рака простаты человека РС-3.

Наименее токсичным для РС-3 клеток оказался экстракт гриба, культивированного при 21-24 °С и 5 г/л морской соли, а наиболее токсичными для клеток РС-3 являлись экстракты гриба, культивированного при отсутствии морской соли и при максимально высоком ее содержании (50 г/л). Среди экстрактов грибов, культивированных при 30° С, не было обнаружено экстрактов с высокой цитотоксической активностью в отношении клеток рака простаты РС-3.

Методом ВЭЖХ-МС при помощи базы данных GNPS в экстрактах, обладающих цитотоксической активностью, были детектированы вещества трипростатин В, эмодин, 2-хлоро-ω-гидроксиэмодин и секалоновая кислота D, для которых известна цитотоксическая активность. Ранее было показано, что трипростатин В проявлял цитотоксическую активность в отношении пяти линий опухолевых клеток человека НСТ–8, Bel-7402, BGC-823, A549 и A2780 [4]. Эмодин может подавлять пролиферацию раковых клеток и индуцировать апоптоз, а также усиливает апоптоз раковых клеток поджелудочной железы [5]. 2-Хлоро-ω-гидроксиэмодин проявлял антипролиферативную активность в отношении клеток линии МК [6]. Секалоновая кислота D проявляла сильную цитотоксическую активность в отношении клеток линий HL60 и K562 [7]. Таким образом, цитотоксическая активность экстрактов *P. dimorphosporum* КММ 4689 может быть обусловлена присутствием в них этих соединений.

*Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019-2027 годы (соглашение № 075–15-2021-1052).*

**Ссылки:**

1. Igboeli H.A. et al. // *Mar. Drugs*. 2019. V. 17, No. 8. P. 435.
2. Overy D. et al. // *Mar. Drugs*. 2017. V. 15, No. 8. P. 254.
3. Zhuravleva O.I. et al. // *Mar. Drugs*. 2021. V. 19, No. 1. P. 32.
4. Liu Y.X. et al. // *Helv. Chim. Acta*. 2012. V. 95, No. 8. P. 1401-1408.
5. Guo Q. et al. // *Biochem. Pharmacol.* 2009. V. 77, No. 11. P. 1674-1683.
6. Fredenhagen A. et al. // *J. Antibiot.* 1995. V. 48, No. 11. P. 1355-1358.
7. Zhang J.Y. et al. // *Cell Cycle*. 2009. V. 8, No. 15. P. 2444-2450.

**Сравнительная биохимическая характеристика и субстратная специфичность  $\alpha$ -L-фукозидаз фукоидан-деградирующего локуса морской бактерии *Wenyngzhuangia fucanilytica* CZ1127<sup>T</sup>**

Н. К. Рубцов, А. С. Сильченко, С. П. Ермакова

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток  
Электронная почта: rubtsov.nk@yandex.ru

Фукоиданы – сульфатированные гомо- и гетерополисахриды, состоящие преимущественно из остатков  $\alpha$ -L-фукозы, обнаруженные во всех известных на сегодняшний день бурых водорослях. Широкий спектр биологических активностей этих соединений определяет перспективы их использования в биомедицине [1]. Однако, структурные элементы фукоиданов, ответственные за проявляемые ими биологические эффекты, сложно установить. Применение арсенала различных охарактеризованных ферментов для установления и модификации структур фукоиданов является актуальным, поскольку существующие методы установления структур фукоиданов несовершенны. Поиск и изучение новых фукоидан-трансформирующих ферментов является необходимым для совершенствования и разработки новых методов изучения структур этих сложных биополимеров и получения производных с усиленными биологическими свойствами.  $\alpha$ -L-Фукозидазы – ферменты, катализирующие гидролитическое отщепление терминальных остатков L-фукозы от различных гликанов или гликоконъюгатов. В настоящий момент  $\alpha$ -L-фукозидазная активность обнаружена у представителей 29, 95, 141 и 151 структурных семейств гликозидгидролаз (GH) (классификация CAZy, [www.cazy.org](http://www.cazy.org)).  $\alpha$ -L-Фукозидазы, вероятно, играют одну из ключевых ролей в деградации фукоиданов, поскольку геномы фукоидан-деградирующих бактерий содержат большое количество генов, кодирующих предполагаемые  $\alpha$ -L-фукозидазы семейств GH29 и GH95. В то же время, функция, выполняемая  $\alpha$ -L-фукозидазами в процессе деградации фукоиданов морскими бактериями, практически не изучена.

Ранее в геноме морской бактерии *Wenyngzhuangia fucanilytica* CZ1127<sup>T</sup> нами был идентифицирован кластер генов, кодирующий широкий набор потенциальных фукоидан-трансформирующих ферментов. Наряду с генами, кодирующими сульфатазы семейства S1 (классификация SulfAtlas) и эндо-фуканазами семейства GH107, данный кластер содержит шесть предполагаемых фукозидаз, относящихся к семействам GH29 и GH95 [2]. Нами была проведена биохимическая характеристика пяти рекомбинантных фукозидаз. Биоинформационный анализ аминокислотных последовательностей исследуемых ферментов позволил идентифицировать каталитически значимые аминокислоты их активных центров. Функция некоторых аминокислот была подтверждена с помощью сайт-направленного мутагенеза в тандеме с дифференциальной сканирующей флуориметрией (ДСФ). Методом ДСФ показаны различия в способности рекомбинантных фукозидаз семейств GH29 и GH95, связывать в активных центрах L-фукозу и другие моносахариды (глюкозу и галактозу). Впервые, с использованием ферментативно-модифицированных сульфатированных фукоолигосахаридов и фукоиданов различной структуры была установлена детальная специфичность пяти фукоидан-активных фукозидаз. Полученные данные указывают на различную специализацию фукоидан-активных фукозидаз семейств GH29 и GH95 по отношению к олиго- и полисахаридам.

Ссылки:

1. Usov A.I., Bilan M.I. // Russ. Chem. Rev. 2009. V. 78. No. 8. P. 785-799.
2. Silchenko A.S. et al. // Arch. Biochem. Biophys. 2022. V. 728. P. 109373.

**Вопросы стандартизации специализированных продуктов на основе биотехнологии**

А. О. Сапронова

*Дальневосточный федеральный университет, Владивосток*

E-mail: sapronova.ao@students.dvfu.ru

Проведена сравнительная нормативно-правовая характеристика отдельных видов пищевых продуктов специализированного назначения - биологически активных добавок (БАД) и витаминно-минеральных комплексов (ВМК).

Специализированные продукты питания регулируются более 460 действующими правовыми и нормативно-техническими документами. Все продукты специализированного питания подлежат государственной регистрации, функции которой выполняет Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор).

Сравнительный анализ показал, что специализированный продукт питания готовый к употреблению ВМК может также позиционироваться и регистрироваться в качестве БАД. Однако, чаще всего ВМК используется в немедикаментозных формах лечения различных заболеваний в виде готовых к употреблению продуктов и компонентов диетического лечебного и диетического профилактического питания. В этих случаях в основе регламентации и государственной регистрации ВМК лежат нормативно-правовые документы методические рекомендации и указания, приказы Министерства здравоохранения РФ.

По данным проведенного анализа определено, что регулирование и государственная регистрация БАД и ВМК имеют различия. Нормативно-правовое регулирование ВМК, применяемых в стандартах (протоколах) лечения в качестве диетического питания, имеет существенные особенности, основанием для которых являются нормативно-правовая документация Министерства здравоохранения РФ.

Кроме того, с точки зрения экономической составляющей, в разработках технологий для производства с последующим выходом на рынок новых БАД и ВМК, необходимо также учитывать особенности их льготных режимов налогообложения и таможенных пошлин.

Таким образом, нормативно-правовое регулирование специализированных продуктов питания, а именно БАД и ВМК, имеет существенные различия.оборот ВМК, в отличие от БАД, может регламентироваться Министерством здравоохранения РФ с одной стороны, Роспотребнадзором с другой и установленными Федеральной налоговой службой РФ и Федеральной таможенной службой РФ экономическими преференциальными режимами с третьей стороны. Полученные данные исследования могут быть применены для бизнес-планирования, разработки, производства и выхода на рынок новых БАД и ВМК.



**Технология дегазации угольных шахт с применением метанокисляющих бактерий**

И. Ю. Сокол, А. Е. Котельников

*Российский университет дружбы народов, Москва*

Электронная почта: imrepharm-iu@yandex.ru

Технология дегазации угольных шахт планируется к разработке для угледобывающих предприятий, ведущих добычу подземным способом с высокой газоносностью угольных пластов. В настоящее время на угольных шахтах внедряются новые технологии добычи угля, а также высокопроизводительная техника, однако основным сдерживающим фактором остается высокая газообильность угольных пластов, а с увеличением глубины разработки количество метана будет только увеличиваться. Существующие и применяемые на практике методы дегазации угольных пластов показывают свою эффективность только в комплексе и в течение длительного времени, что в свою очередь не позволит добиться высоких объемов добычи полезных ископаемых. Предлагается биологический метод с использованием метанотрофов. Данный биологический метод потенциально более экономичный и эффективный. В качестве потенциальных источников для создания микробиологических препаратов для дегазации будут использованы *Methylomonas methanica*, *Methylomonas fodinarum* и другие бактерии. Отобранный штамм микроорганизма в настольном биореакторе должен будет удалять не менее 90% метана, в смеси 35% метан/воздух за 24 часа. Биопрепарат должен быть в сухой форме.

**Биологически активные полисахариды бурых водорослей *Sargassum microcystum* и *Sargassum serratum***

В. В. Суриц<sup>1</sup>, Р. А. Шкрабов<sup>1,2</sup>, Р. В. Усольцева<sup>1</sup>, Н. М. Шевченко<sup>1</sup>, С. П. Ермакова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток

<sup>2</sup>Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

Электронная почта: suritsw@yandex.ru

Полисахариды бурых водорослей известны как перспективные биологически активные биополимеры, практически лишенные токсических свойств. Фукоиданы представляют собой обширный класс сульфатированных, иногда ацелированных фукозосодержащих полисахаридов, структурное разнообразие которых чрезвычайно велико [1]. Ламираны, напротив, обладают достаточно простым строением и состоят из 1,3- и 1,6-связанных остатков β-D-глюкозы [2].

Установлены структурные характеристики и противоопухолевое действие водорастворимых полисахаридов из двух видов вьетнамских бурых водорослей, принадлежащих к роду *Sargassum* (*S. microcystum* и *S. serratum*). Анализ моносахаридного состава ламинарана SmL показал, что он является чистым глюканом, в то время как оба фукоидана представляли собой гетерогенные полисахариды, построенные преимущественно из остатков фукозы и в меньшей степени остатков галактозы. Фукоидан SsF также содержал относительно большие количества остатков маннозы и ксилозы. Содержание сульфатов в SmF и SsF составило соответственно 24 и 29% от навески фукоиданов.

Модификации полисахаридов зачастую используются с целью получения производных, обладающих более выраженным биологическим действием. Ламиран SmL, выделенный из *S. microcystum* был сульфатирован при помощи сульфатирующей смеси «хлорсульфоновая кислота – пиридин – диметилформамид» в безводных условиях. Выход полученного производного SmLS составил 90% от веса исходного ламинарана; содержание сульфатных групп – 33% от навески.

Присоединение сульфатных групп было подтверждено с помощью спектроскопии ЯМР путем сравнения химических сдвигов сигналов, соответствующих C2, C4, C6 нативного ламинарана SmL и его сульфатированного производного SmLS. Также мы наблюдали увеличение средней молекулярной массы полученного производного за счет присоединения сульфатных групп – 21,2 кДа в сравнении с Mw (SmL) = 6,3 кДа.

Исследование *in vitro* противоопухолевой активности выделенных полисахаридов на клетки меланомы человека RPMI-7951 и карциномы тонкого кишечника человека HuTu-80 показало, что данные полисахариды не являются цитотоксичными в концентрации до 400 мкг/мл. Было показано, что противоопухолевая активность всех исследуемых полисахаридов по отношению к клеткам меланомы человека RPMI-7951 является низкой. В то же время ламинаран и его сульфатированное производное значительно ингибируют самопроизвольное формирование и рост колоний клеток HuTu-80; действие фукоиданов на данный тип клеток менее выражено.

*Исследование поддержано грантом РФФИ и ВАНТ № 21-53-54003.*

Ссылки:

1. Zvyagintseva T.N. et al. // Carbohydr. Polym. 2021. V. 273. P. 118551.
2. Usoltseva R.V. et al. // Int. J. of Biol. Macromol. 2020. V. 163. P. 1010-1015.

**Свойства и получение кератинолитических ферментов штамма *Aspergillus clavatus* ВКПМ F-1593**

С. Н. Тиморшина, А. А. Осмоловский

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

Электронная почта: timorshina.svetlana@mail.ru

Кератинолитические микроорганизмы и их ферменты востребованы в сельском хозяйстве для биодegradации отходов животноводства и получения ценных продуктов, таких как удобрения и кормовые добавки, а также в медицине, текстильной промышленности и производстве биополимеров. Разнообразие микромицетов, способных гидролизовать кератин, в настоящее время изучено мало, однако существуют обширные данные о секреции этими организмами протеаз, активных по отношению к фибриллярным белкам. В рамках представленной работы впервые была показана возможность получения кератиназы путем культивирования мицелиального гриба, относящегося к секции *Clavati* рода *Aspergillus* – *A. clavatus* ВКПМ F-1593, и изучены некоторые свойства фермента.

Для получения кератинолитических ферментов продуцент культивировали в глубинных условиях в жидкой среде следующего состава (%):  $\text{NaNO}_3$  – 0,3,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 0,1,  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,05,  $\text{KCl}$  – 0,05,  $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,001, глюкоза – 3,0, гидролизат рыбной муки – 0,5, перемолотое куриное перо – 0,5. Также была показана возможность синтеза целевых ферментов микромицетом *A. clavatus* ВКПМ F-1593 при твердофазном культивировании на цельных куриных перьях с добавлением среды аналогичного состава без перемолотого куриного пера. Внеклеточные белки осаждали сульфатом аммония на сутки, соответствующие максимуму накопления кератинолитических ферментов. Полученный осадок диализовали, лиофильно высушивали и использовали для последующих исследований. Комплексный препарат внеклеточных белков *A. clavatus* ВКПМ F-1593 разделяли методом изоэлектрофокусирования в колонке в градиенте рН амфолинов и сахарозы. Чистоту протеазы с кератинолитической активностью подтверждали при проведении денатурирующего электрофореза в полиакриламидном геле. Фракции с чистым ферментом использовали для дальнейших биохимических анализов.

*Aspergillus clavatus* ВКПМ F-1593 – первый известный микромицет секции *Clavati*, для которого показана возможность применения в качестве продуцента кератинолитических ферментов. Нарботка целевых ферментов возможна при росте *A. clavatus* ВКПМ F-1593 на отходах животноводства, богатых кератином – куриных перьях, что способствует переработке невостребованных побочных продуктов сельского хозяйства уже на стадии получения ферментного биопрепарата. Было показано, что в выбранных условиях культивирования изучаемый мицелиальный гриб секретирует одну щелочную субтилизин-подобную кератиназу, стабильную и сохраняющую более 50% активности в диапазоне рН 7-10 и температуры 25-40 °С.

*Исследование поддержано грантом РНФ № 22-24-00674. Вклад авторов: получение и обработка результатов – С.Н. Тиморшина; концептуализация работы и общее руководство – А.А. Осмоловский.*

**Фармполлютанты – новая разновидность эмерджентных загрязнителей природной среды: поиск путей их биодеградации**

Е. А. Тюмина<sup>1,2</sup>, Г. А. Бажутин<sup>1,2</sup>, Д. С. Бадалова<sup>2</sup>, С. М. Тянь<sup>2</sup>, С. М. Польшгалов<sup>1,2</sup>, М. В. Субботина<sup>1,2</sup>, И. Б. Ившина<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Пермский федеральный исследовательский центр УрО РАН, Пермь

<sup>2</sup>Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь  
Электронная почта: tyumina@psu.ru

К числу актуальных и наиболее значимых факторов экологического риска относятся активные фармацевтические ингредиенты и комбинации разных лекарственных средств, обладающих множественными видами терапевтического действия. Фармацевтические ингредиенты как новый вид потенциально опасных загрязнителей накапливаются в значительных концентрациях (мкг/л) в экологических средах, пищевых цепях, органах сельскохозяйственных животных и человека и вызывают интенсивный ответ водной и почвенной микробиоты. В качестве активных природных агентов, обладающих высоким трансформирующим и деструктурирующим действием в отношении фармацевтических соединений, рассматриваются нокардиоформные бактерии рода *Rhodococcus*, занимающие доминирующее положение в антропогенно загрязненных биотопах и выделяющиеся среди других микроорганизмов наибольшим разнообразием деградируемых поллютантов.

Напримере нестероидных противовоспалительных средств (НПВС), наиболее часто детектируемых в окружающей среде, изучена кинетика и механизмы процессов метаболизации фармзагрязнителей с использованием генетических ресурсов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (официальный акроним коллекции ИЭГМ, номер 285 во Всемирной федерации коллекций культур, [www.iegmc01.ru](http://www.iegmc01.ru), реестровый номер Уникальной научной установки 73559, реестровый номер Центра коллективного пользования 480868). С помощью системы совмещенного атомно-силового и конфокального лазерного сканирования выявлены изменения морфометрических параметров и физико-химических свойств клеточной поверхности родококков при отдельном и совместном воздействии фармполлютантов (ибупрофена, напроксена, кетопрофена, мелоксикама, в частности); методом высокоточной респирометрии исследована физиология ключевых биоокислителей; методом NGS-секвенирования расшифрованы полные геномы штаммов-биодеструкторов; в результате проведенного биоинформатического анализа геномов изучены функциональные гены биодеградации экотоксикантов, а также роль антиоксидантных ферментов в адаптации родококков к фармполлютантному стрессу; расшифрованы пути биодеструкции фармполлютантов и обнаружены новые метаболиты с выраженной биоактивностью; получена серия работающих прототипов биокатализаторов с высокой функциональной стабильностью при многократном использовании и хранении в течение 6 и более месяцев. Разработанные биокатализаторы перспективны для использования в процессах доочистки сточных вод предприятий фармацевтического профиля, а также для утилизации опасных фармацевтических отходов.

*Исследование выполнено за счет гранта РФФИ № 21-14-00132 (<https://rscf.ru/project/21-14-00132/>) и при частичной финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № 075-15-2021-1051).*

**Активация биосинтеза вторичных метаболитов новым представителем онкогенов *RolB/RolC* из бактерий рода *Agrobacterium***

Е. Н. Чухломина<sup>1,2</sup>, В. П. Григорчук<sup>2</sup>, Е. А. Васюткина<sup>2</sup>, Ю. А. Югай<sup>2</sup>, Ю. Н. Шкрыль<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

<sup>2</sup>ФНЦ Биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Владивосток

Электронная почта: chukhlominaekaterina@mail.ru

*Rol*-гены (**r**oot **l**ocus genes – гены корневых локусов), обнаруженные в геноме фитопатогенных бактерий рода *Agrobacterium*, относятся к семейству онкогенов *plast* и вызывают в растениях развитие неопластических новообразований в виде корончатых галлов или «бородатых» корней в результате смены гормонального статуса трансформированных клеток. Кроме того, гетерологичная экспрессия генов *RolB* и *RolC* приводит к повышенному накоплению ценных продуктов вторичного метаболизма, имеющих высокий потенциал применения в биотехнологии [1]. Недавно был обнаружен новый представитель семейства *plast* онкогенов, ген *RolB/C*, имеющий гомологию как с геном *RolB*, так и *RolC* [2]. Сведения о свойствах гена *RolB/C* в настоящее время в литературе отсутствуют, поэтому данная тематика представляется важной и актуальной задачей.

На первом этапе работы нами была получена бинарная векторная конструкция pPZP-RCS2-35S:rolBC, содержащая ген *RolB/C* под контролем промотора вируса табачной мозаики. Далее методом агробактериальной трансформации были получены трансгенные линии модельного растения *Arabidopsis thaliana*, экспрессирующие ген *RolB/C*. С помощью ВЭЖХ-МС было обнаружено, что сверхэкспрессия гена *RolB/C* вызывает значительные изменения в содержании вторичных метаболитов. В частности, содержание гликозидов флавоноидов в трансгенных растениях увеличилось до 2 раз по сравнению с контрольным растением, тогда как накопление индольных и алифатических гликозинолатов, напротив, снизилось в 1,6 раза. Стоит отметить, что наибольший вклад в увеличение содержания флавоноидов внесли производные двух соединений, кверцетин и изорамнетин, известные своими антиоксидантными и антиканцерогенными свойствами [3]. Одним из интересных эффектов *RolB/C* была значительная индукция синтеза камалексина – алкалоида, обладающего антибиотической активностью. Содержание этого соединения в трансгенных линиях увеличилось до 21 раза. Изменения в содержании вторичных метаболитов привели к увеличению в 2 раза антиоксидантной активности экстрактов, приготовленных из *RolB/C*-экспрессирующих растений.

С помощью метода ПЦР с детекцией в реальном времени мы провели анализ экспрессии ключевых факторов транскрипции, вовлеченных в регуляцию вторичного метаболизма *A. thaliana*. Было установлено, что уровень мРНК регуляторов биосинтеза флавоноидов (MYB11, MYB12 и TT8) был значительно повышен, тогда как фактор MYB76, участвующий в образовании алифатических гликозинолатов был слабо подвержен влиянию трансгена на транскрипционном уровне. Несмотря на повышенную экспрессию фактора MYB34, регулирующего продукцию индольных гликозинолатов, его активности оказалось недостаточно для стимуляции пути накопления данных соединений.

Таким образом, мы впервые установили влияние нового онкогена на биосинтез вторичных метаболитов растений. Было обнаружено, что *RolB/C* стимулирует накопление флавоноидов и камалексина, обладающих терапевтическим потенциалом, а также повышает антиоксидантные свойства трансгенных растений. Влияние гена проявляется в специфической модуляции экспрессии ключевых факторов транскрипции, вовлеченных в биосинтез вторичных метаболитов, в первую очередь MYB11, MYB12 и TT8.

Ссылки:

1. Bulgakov V.P. //Biotechnol. Adv. 2008. V. 26, No. 4. P. 318-324.
2. Kyndt T. et al. //Proceedings Nat. Acad. Sci. 2015. V. 112, No. 18. P. 5844-5849.
3. Ullah A. et al. //Molecules. 2020. V. 25, No. 22. P. 5243.

## Термофильный штамм *Streptomyces* как источник биологически активных соединений

В. Н. Шелковникова, М. Е. Дмитриева, Е. В. Переляева, А. Ю. Бельшенко, Д. В. Аксёнов-Грибанов

Иркутский государственный университет, Иркутск

Электронная почта: shelkovnikova551@gmail.com

Микроорганизмам, обитающим в экстремальных условиях среды, уделяется особое внимание, т.к. они имеют ряд адаптаций к неблагоприятным условиям, в связи с чем растет их биотехнологический потенциал и возможность выделения биологически активных метаболитов. Это приобретает особую значимость ввиду того, что одной из значимых проблем современного здравоохранения является рост смертности населения от различных заболеваний и поиск новых продуцентов биологически активных веществ.

Целью данного исследования являлась оценка антимикробной активности и синтеза природных соединений термофильного штамма *Streptomyces* 019-1HS. Штамм выделен из байкальской губки *Lubomirskia baikalensis* в результате нагрева при 110 °С в течение 2 часов. Далее *Streptomyces* 019-1HS был культивирован при шести температурах (13 °С, 28 °С, 37 °С, 45 °С, 55 °С и 65 °С) в одиннадцати питательных средах, различных по составу. С использованием подходов высокоэффективной жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии была проведена оценка синтезируемых соединений штаммом *Streptomyces* при 13 °С, 28 °С и 37 °С. Антимикробная активность была оценена с помощью диско-диффузионного метода для всех температурных условий.

В ходе культивирования при 13 °С было обнаружено 279 соединений, при 28 °С – 386, а при 37 °С – 375. При всех температурных условиях штаммом были синтезированы 87 природных соединений, в т.ч. противоопухолевые средства JBIR 120, Nivelactam, Anguinomycin C и Usabamycin A, противобактериальный агент Albaflavenone.

Исключительно при температуре 13 °С штамм синтезировал 111 соединений, большинство которых представлено антибиотиками – Antibiotic INA 2770, Penicillin N, Megacidin, Antibiotic OA 6129E и Herbimycin B. Также было обнаружено соединение Cyclo(leucylprolyl); (3S,8aS)-form с противоопухолевыми и противогрибковыми эффектами.

Исключительно при температуре 28 °С штамм *Streptomyces* синтезировал 158 соединений. Идентифицированные вещества представлены противогрибковыми N-Acetylquestiomycin A и Butyrolactol A, гербицидом Herboxidiene, ингибиторами эстеразы Ebelactone B и желудочной АТФазы A 88696F, а также нематоцид и митицид Milbemycin β5.

Особенно стоит отметить, что при температуре 37 °С термофильный штамм *Streptomyces* синтезировал 194 соединения, которые не были обнаружены при 13 °С и 28 °С. Большинство идентифицированных соединений являются антибиотиками – Antibiotic Sch 382583, Antibiotic FL 120B, Antibiotic JI 20B, Antibiotic GEX 1Q3 и Antibiotic TPU 0043; Stereoisomer(2), 1',14-dihydroxy. Также присутствовали фитотоксины Thaxtomin C и Thaxtomin A; 3,3"-Dideoxy, противогрибковые агенты Carbazomycin B и Venturicidin X.

Антимикробная активность была отмечена против роста *Bacillus subtilis* при 28 °С, 37 °С и 45 °С, и *Mycobacterium smegmatis* при 28 °С, 37 °С, 45 °С и 55 °С. Более того, при температуре 37 °С была зафиксирована антимикробная активность против роста *Escherichia coli*, *Pseudomonas putida* и *Candida glabrata*.

Исследование проведено при финансовой поддержке проекта Минобрнауки РФ в рамках создания лабораторий под руководством молодых ученых при научно – образовательных центрах (соглашение № 075-03-2021-141/4, НОЦ Байкал), гранта Президента Российской Федерации № МК-1245.2021.1.4 и грантов Иркутского государственного университета, направленных на поддержку молодых ученых.

## АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

Агафонова Н. В.	14, 19	Иващенко А. И.	26
Аксёнов-Грибанов Д. В.	77	Извольская Д. В.	65
Алейнова О. А.	51, 57, 58	Иккерт О. П.	32
Алексеева Е. М.	15	Ильин И. Е.	9
Ананьев А. А.	51, 58	Исаева М. П.	11, 18, 28
Андриянов В. С.	35	Кадников В. В.	23
Андриянова А. И.	35	Кадырбаев М. К.	32
Андрюков Б. Г.	29	Каманина О. А.	49
Арляпов В. А.	47	Карначук О. В.	10, 23, 32
Ахапкина С. С.	68	Карпова О. О.	63
Бадалова Д. С.	75	Капаруллина Е. Н.	14, 19
Бажутин Г. А.	75	Кашеверов И. Е.	50
Балабанова Л. А.	36, 38, 45	Кветкина А. Н.	54
Балдаев С. Н.	16, 25, 26	Ким А. В.	17, 20, 34, 41
Белоусова Е. Б.	59	Киричук Н. Н.	13, 15, 25
Бельшенко А. Ю.	77	Киселев К. К.	51, 57, 58
Бердышев Д. В.	60	Ковтун И. С.	21
Бобков Г. А.	35	Козлов С. А.	52
Богатыренко Е. А.	17, 20, 34, 41, 42	Кокоулин М. С.	11, 53, 64
Боркунов Г. В.	60	Колпашиков Д. М.	35
Бритиков В. В.	52	Комякова А. М.	52
Бритикова Е. В.	52	Корешкова А. Е.	68
Бронникова (Молонова) Ю. А.	24	Кост В. Ю.	50
Бурыгин Г. Л.	39	Котельников А. Е.	72
Быстрицкая Е. П.	16, 30	Крыцына Т. И.	33
Васюткина Е. А.	76	Кузнецова Л. С.	49
Винников К. А.	43	Кузьмич А. С.	53, 64
Ганжа К. И.	61	Курбанов Г. Ф.	35
Гладких И. Н.	54	Куриленко В. В.	9, 11, 22, 26
Глухова Л. Б.	23	Кусайкин М. И.	48
Григорчук В. П.	76	Лаврентьев А. А.	43
Гризанова Е. В.	31, 33	Ланцова Е. А.	65
Гришко В. В.	67	Лейченко Е. В.	54
Гузев К. В.	9, 16	Лещенко Е. В.	60, 66
Дмитриева М. Е.	77	Личманюк Д. О.	22
Доронина Н. В.	14, 19	Лукина А. П.	23
Дорошенко А. С.	21	Лучникова Н. А.	67
Дубовиченко М. В.	35	Ляховченко Н. С.	68
Дубовский И. М.	33	Макаров Д. А.	55
Дункай Т. И.	17, 20, 42	Маляренко О. С.	48, 62
Дышловой С. А.	60	Медведева А. Д.	41
Еремеев В. И.	15, 18, 28	Мезенцева С. А.	34
Ермакова С. П.	11, 48, 62, 70, 73	Мелещеня Д. И.	64
Ефимова В. А.	68	Мелихова Т. Д.	55
Журавлева О. И.	59	Мехда Ю.	63
Занадворова А. М.	63	Мизгина Т. О.	64
Зуева А. О.	62	Михайлов В. В.	11
Иванов И. А.	50	Мягких И. В.	55
Ившина И. Б.	67, 75	Нгуене Яна А. Е.	32

**Всероссийская научная молодежная конференция «Геномика и биотехнология микроорганизмов»**

Недашковская О. И.	11	Тиморшина С. Н.	74
Недорезова Д. Д.	35	Тюмина Е. А.	75
Нестеренко Л. Е.	69	Тян С. М.	75
Нитяговский Н. Н.	51	Усольцева Р. В.	48, 73
Носкова Ю. А.	36	Филонова М. В.	21
Осмоловский А. А.	74	Худякова Ю. В.	13, 66
Отставных Н. Ю.	18, 22, 24, 44	Чаусова В. Е.	13, 15, 25
Павленко А. П.	54	Чемодурова А. А.	19
Павленко Д. М.	55	Черников О. В.	53
Павлюк А. Е.	25	Чухломина Е. Н.	76
Пентехина Ю. К.	45	Шевченко Н. М.	73
Переляева Е. В.	77	Шелковникова В. Н.	77
Пивкин М. В.	11, 13	Шкрабов Р. А.	73
Пильникова Е. С.	26	Шкрыль Ю. Н.	37, 76
Писарева Е. О.	17	Шошина Н. С.	52
Подволоцкая А. Б.	45	Югай Ю. А.	37, 76
Поливцева В. Н.	27	Юрченко А. Н.	11, 56
Польгалов С. М.	75	Юрченко Е. А.	59, 69
Попкова Д. В.	54		
Попов Р. С.	69		
Равин Н. В.	23		
Расин А. Б.	62		
Романенко Л. А.	11, 18, 28, 53, 64		
Рубцов Н. К.	70		
Рыбочкин П. В.	49		
Савичева Ю. В.	28		
Сазонова О. И.	27		
Сапронова А. О.	71		
Сейткалиева А. В.	36, 45		
Селезнев А. О.	68		
Семенченко А. А.	46		
Сенченков В. Ю.	68		
Силантьев В. Е.	37		
Сильченко А. С.	48, 62, 70		
Синеокий С. П.	12		
Синцова О. В.	54		
Слепченко Л. В.	36		
Сокол И. Ю.	72		
Соляникова И. П.	28		
Сон Л. В.	50		
Сорокина М. Р.	38		
Степаненко В. Н.	52, 55		
Субботина М. В.	75		
Супрун А. Р.	51, 57, 58		
Суриц В. В.	73		
Сухов Д. А.	50		
Танадбаева Д. А.	46		
Текутьева Л. А.	45		
Тельная Е. А.	46		
Терешин М. Н.	52, 55		



COVID-19:  
Специальные  
предложения



Наборы для  
выделения  
ДНК/РНК



Наборы и  
смеси для ПЦР



ОТ и ОТ-ПЦР



ДНК-маркеры



Ферменты



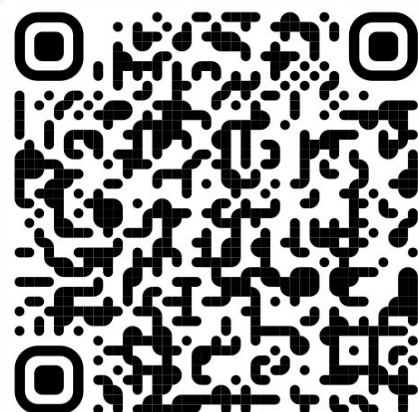
Олиго-  
нуклеотиды



Платформа  
для синтеза  
мРНК



ЭЛЕКТРОННЫЙ ЗАКАЗ НА САЙТЕ  
[WWW.BIOLABMIX.RU](http://WWW.BIOLABMIX.RU)



Отдел продаж:  
+7 (383) 363 22 40  
[sales@biolabmix.ru](mailto:sales@biolabmix.ru)