ВОЛГОГРАДСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ

5-й РОССИЙСКИЙ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ КОНГРЕСС

Сборник тезисов докладов

Волгоград
29 сентября – 3 октября 2025 г.

VOX AUDITA LATET, LITTERA SCRIPTA MANET

Библиотечно-
издательский
центр ВолгГМУ
Волгоград
2025

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ВОЛГОГРАДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

5-й РОССИЙСКИЙ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ КОНГРЕСС

Сборник тезисов докладов

Волгоград

29 сентября – 3 октября 2025 г.

VOX AUDITA LATET, LITTERA SCRIPTA MANET

Библиотечно-
издательский
центр ВолгГМУ
Волгоград
2025

УДК 579(063)
ББК 52.64+66.4(0),6
П998

Все права на размножение и распространение в любой форме остаются за разработчиком.
Нелегальное копирование и использование данного издания запрещено.

Под редакцией проректора по научной деятельности ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России
Д. А. Бабкова

Редакционная коллегия:
И. С. Степаненко – д. м. н., доцент, ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России;
Е. А. Бонч-Осмоловская – д. б. н., чл.-корр. РАН, МГУ им. М. В. Ломоносова;
А. А. Перевалова – к. б. н. МГУ им. М. В. Ломоносова

Тезисы публикуются в полном соответствии с авторскими оригиналами.
Издано в авторской редакции с готового оригинал-макета.
Выпускающий редактор *М. Ю. Лепеско*

П998 **5-й Российский** микробиологический конгресс : сборник тезисов докладов ; Волгоград, 29 сентября – 3 октября 2025 г. / под ред. Д. А. Бабкова. – Волгоград : Библиотечно-издательский центр ВолгГМУ, 2025. – 327 с. – Текст : электронный.

ISBN 978-5-9652-1099-2

В сборнике изложены материалы докладов молодых ученых (ординаторов, аспирантов, преподавателей, научных работников) и студентов вузов России и ближнего зарубежья. Представленные материалы будут интересны студентам, научным сотрудникам, преподавателям вузов и медицинским работникам.

Минимальные системные требования:
Chrome, Firefox, Opera, Internet Explorer выше версии 9.0.

Дата подписания к использованию: 26.09.2025 г.
Заказ № 236.
Уч.-изд. л. 24,39.
Волгоградский государственный медицинский университет
400066, Волгоград, пл. Павших Борцов, 1. http://www.volgmed.ru
Библиотечно-издательский центр ВолгГМУ.
400006, Волгоград, ул. Дзержинского, 45. izdatelstvo@volgmed.ru

© Волгоградский государственный
медицинский университет, 2025.
© Библиотечно-издательский центр ВолгГМУ, 2025.

ОГЛАВЛЕНИЕ

РАЗДЕЛ 1

РАЗНООБРАЗИЕ И ЭКОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

Пленарные доклады

Карначук О.В.
Жизнь микробов в подземных глубинных водоносных горизонтах 27

Кочеткова Т.В.
«Некультивируемые» археи, доминирующие в горячих источниках: преграда или вызов? 28

Плотников А.О., Селиванова Е.А.
Протисты соленых водоемов и их микробиомы:
от симбиоза к биотехнологиям 28

Секционные доклады

Абашина Т.Н., Поливцева В.Н., Сузина Н.Е.
Цитологические особенности межбактериальных антагонистических взаимодействий 29

Аверина С.Г., Батлуцкая М.Ю., Полякова Е.Ю., Сенатская Е.В., Пиневич А.В.
Новое о разнообразии FRL адаптирующихся цианобактерий 30

Бабич Т.Л., Соколова Д.Ш., Семенова Е.М., Романчук А.Ю., Назина Т.Н.
Разнообразие и экологическая роль микробных сообществ водоемов, содержащих
низкоактивные отходы 30

Бадмадашиев Д.В., Строева А.Р., Меркель А.Ю., Клюкина А.А., Полудеткина Е.Н.,
Бонч-Осмоловская Е.А.
Состав и метаболический потенциал прокариотных сообществ глубинных слоев
газонасыщенных отложений Кандалакшского залива 31

Бонч-Осмоловская Е.А., Черных Н.А., Меркель А.Ю., Сметанин Р.В., Кондрашева К.В.,
Алимов Ж.Э., Слободкин А.И., Давранов К.Д.
Разнообразие прокариот в воде и осадках западного Аральского моря 32

Ветрова А.А., Иванова А.А., Петриков К.В., Сазонова О.И.
Устойчивость к антибиотикам
как функциональный аспект микробных сообществ пыли в урбоэкосистеме Москвы 33

Гоголев Ю.В., Фролов Е.Н., Кочеткова Т.В., Полякова Е.Ю., Плотников А.О.,
Балкин А.С., Гоголева Н.Е.
Таксономическая структура и биохимический потенциал микробиомовпещеры Шульган-Таш 33

Горленко В. М., Саввичев А. С. Беленкова В. В., Кадников В. В.
Летаров А. В., Летарова М. А, Лунина О. Н., Калганова Т. В, Сухачева М. В.
Фототрофные сообщества альго-бактериальных матов реликтового водоемаМаныч-Гудило 34

Данилова О.В., Салова В.Д., Иванова А.А., Дедыш С.Н.
Необычные соседи: гетеротрофные представители *Verrucomicrobiota* как спутники
метанотрофных бактерий 35

Дедыш С.Н., Салтыкова В.А., Данилова О.В., Ошкин И.Ю., Белова С.Э.,
Пименов Н.В. «Диверсанты» в биореакторе: новые метилотрофные бактерии, способные
паразитировать на метанотрофах рода *Methylococcu* 36

Заварзина Д.Г.
Алкалотермофильная железоредукция – расширение достоверных знаний об
экофизиологических возможностях анаэробных микроорганизмов цикла железа 36

Захарюк А.Г., Трубицын В.Э., Щербакова В.А.
Микробное восстановление железа в холодных экосистемах 37

Карасева А.И., Ельченинов А.Г., Туленков А.С., Клюкина А.А., Кочеткова Т.В.
Выделение и характеристика новых порядков архей, доминирующих в горячих источниках
Курил и Камчатки 38

Комова А.В., Тощаков С.В., Намсараев З.Б.
Новые аноксигенные фототрофные бактерии из соленых и содовых озер Алтайского края 39

Кураков А.В., Брюханов А.Л., Власов Д.Ю.
Таксономический состав и разнообразие грибов и гетеротрофных бактерий
в поверхностных горизонтах донных грунтов Карского моря 39

Лаврентьева Е.В., Банзаракцаева Т.Г., Дамбаев В.Б., Никитина Е.П.,
Клименко Е.С., Белькова Н.Л.
Таксономическое разнообразие геномов из метагенома в соленых озерах
Баргузинской котловины Байкальской рифтовой зон 40

Лукина А.П., Панова И.А., Авакян М.Р., Равин Н.В., Карначук О.В.
Новые культивируемые '*Desulforudaceae*' из глубинных подземных водоносных горизонтов 41

Михайлов И.С., Букин Ю.С., Петрова Д.П., Сакирко М.В., Захарова Ю.Р.
Пространственно-сезонное разделение ниш близкородственных таксонов бактерий
и микроэукариот в озере Байкал 42

Панкратов Т.А., Акопджанян А.В.
Микобиомы лишайников севера России: молекулярный анализ и культивируемые представители 42

Пименов Н.В., Каллистова А.Ю., Ошкин И.Ю.
Аэробные метанотрофные бактерии в анаэробных эконишах – случайность или
закономерность? 43

Саввичев А. С., Кадников В. В., Русанов И. И., Самылина О. С.,
Захарова Е. Е., Габышев В. А., Пименов Н. В.
Микробные процессы и микробные сообщества в водной толще и донных осадках
термокарстового бессточного озера Чабыда
(Якутия, Республика Саха) 44

Соколова Т.С., Намсараев З.Б., Вольф Е.Р., Сазонов А.Э., Акбердин И.Р.
Экологическое разнообразие и биотопическая специализация представителей семейства
Lactobacillaceae: комплексный анализ данных по источникам изоляции 45

Тутубалина Н.А., Петрова К. О., Козлова А.Д., Крылова А.С., Прокопенко А.В., Алиева З.А.,
Теймуров А.А., Гаджиев А.А., Намсараев З.Б., Тощаков С.В.
Исследование разнообразия и метаболизма микробных сообществ сероводородных
термальных источников Республики Дагестан при помощи shotgun-метагеномики 46

Хомякова М.А., Меркель А.Ю., Слободкин А.И.
Ранее некультивируемые прокариоты Таманского полуострова, принимающие участие в
биодеградации ароматических соединений 46

Постерные доклады

Акопджанян А.В., Панкратов Т.А.
Энтомопатогенные и фитопатогенные грибы из лишайников севера России 47

Бархутова Д.Д., Цыренова Д.Д., Лаврентьева Е.В., Данилова Э.В., Амбага М.
Структура микробных сообществ щелочных гидротерм Монголии 48

Белова С.Э., Данилова О.В., Иванова А.А., Качмазов Г.С., Дедыш С.Н.
Изменение состава микробного сообщества горного сфагнового болота
в национальном парке «Алания» под воздействием вытаптывания 49

Белых О.И., Краснопеев А.Ю., Потапов С.А., Гутник Д.И., Сороковикова Е.Г.,
Муханов В.С., Тихонова И.В.
Планктонные ультрамикробактерии оз. Байкал 50

Власова К.Г., Алешина П.С., Авакян М.Р., Равин Н.В., Карначук О.В., Лукина А.П.
Культивируемые *Geochorda* из подземной биосферы обнаружены в кишечнике животных 50

Гаев К. Г. Варакин И.М., Манучарова Н.А., Пономарева А.Л.,
Шакиров Р.Б., Шематорова Е.К., Рогов А.Г.
Сравнительная характеристика сообществ микроорганизмов поверхностных вод бухт
прибрежной акватории Японского моря, подверженных антропогенному воздействию 51

Гасюк О.А., Седашев А.П., Арзамазова К.А.
Поиск и идентификация штаммов-нефтедеструкторов 52

Гогмачадзе Л.Г., Степанов А.Л., Кравченко И.К.
Влияние стрессовых воздействий на метанотрофные сообщества сельскохозяйственной почвы 53

Грачева Т.А., Лысак Л.В., Никитин Д.А., Шепина К.Д.
Численность и разнообразие прокариотных сообществ солоидов ледника Лавинщиков (полуостров Камчатка) 53

Гутник Д.И., Потапов С.А.,Тихонова И.В., Белых О.И.
Saccharimonadia в планктоне древних озер (Байкал и Хубсугул) 54

Дорченкова Ю.А., Грачева Т.А., Белов А.А., Чепцов В.С., Степанов А.Л.
Актиномицеты в почвах природных заповедников Вьетнама: численность, разнообразие и физиологические свойства 55

Егорова Д.О., Мансурова А.Р., Хотяновская Ю.В.
Особенности микробиоценозов донных отложений рек, протекающих по территории Кокуйского газонефтяного месторождения 55

Еськова А. И., Рыжманова Я. В., Трубицын В. Э., Полоник Н. С.,
Пономарева А. Л., Щербакова В. А.
Desulfosporosinus shakirovi sp. nov. – новый вид морской сульфатвосстанавливающей бактерии, обладающей способностью к анаэробной деструкции углеводородов нефти 56

Жаркова Е.К.
Новый представитель рода *Pseudomonas*, выделенный из ризосферы тимьяна обыкновенного (*Thymus vulgaris L.*) 58

Капаруллина Е.Н., Агафонова Н.В., Доронина Н.В.
Облигатные метилотрофные бактерии из плодов кактуса 59

Кимеклис А.К., Гладков Г.В., Орлова О.В., Лисина Т.О., Андронов Е.Е.
Универсальные закономерности динамики микробных сообществ при разложении растительных остатков 59

Коренкова А.К., Захарюк А.Г., Щербакова В.А., Волкова Е.М.
Анаэробные бактерии различных физиологических групп в торфах разных типов болот Тульской области 60

Кравченко И.К.
Микробиологические процессы стабилизации органического вещества почв различного землепользования 61

Куделина Ю.М., Майорова К.А., Аксёнов А.С., Гончаров А.Е., Намсараев З.Б., Трофимова А.Н.
Изучение бактерий различных экосистем в рамках экспедиции «Арктический Плавучий университет» 61

Курди У., Яковлева Г.Ю., Ильинская О.Н.
Бактериальное разнообразие воды Красного моря на основе секвенирование гена 16S рРНК 62

Лисун В.В, Мальцева А.И., Клюкина А.А., Ельченинов А.Г., Шульга Н.С., Гаврилов С.Н.
Филогенетическое разнообразие микробных сообществ, ассоциированных с быстрорастущими железомарганцевыми конкрециями Балтийского моря 63

Ловдина Т.И., Чупаков А.В., Аксенов А.С.
Таксономическое разнообразие прокариот донных отложений пресноводных озер северо-запада России 64

Малеванник В.Р., Клюкина А.А., Ельченинов А.Г., Кочеткова Т.В.
Первые культивируемые представители глубокой филогенетической линии архей, распространённой в кислых местах обитания 64

Маркова Ю. А., Кривенко Д. А., Галивонджян А. Х., Демкина А. О., Гилеп К. А., Сутормин Д. А.
Сравнительный анализ ризосферных микробиомов *Astragalus olchonensis* и *Vicia olchonensis* – редких эндемичных растений западного побережья оз. Байкал 65

Махортых С.С., Рыжманова Я.В., Щербакова В.А.
Термофильные бактерии родов *Tepidibacillus* и *Thermoanaerobacter* из донных осадков северо-восточной части Курильской котловины Охотского моря 66

Моисеева Е.В., Худокормов А.А., Самков А.А., Волченко Н.Н., Круглова М.Н.
Биоразнообразие культивируемой микрофлоры нефтешлама временного накопления 67

Никиткина Э.Г., Лущаева И.В., Раудина Т.В., Колесниченко Л.Г.
Взаимосвязь микробиологической активности с газовым составом и органическим веществом вод пойменных озёр средней Оби 68

Перевалова А.А., Меркель А.Ю., Бонч-Осмоловская Е.А.
Галофильные археи западного Аральского моря 68

Пихтерева В.А., Гаврилов С.Н., Клюкина А.А., Меркель А.Ю., Чистякова Н.И., Комлева Д.И., Подосокорская О.А., Заварзина Д.Г.
Железоредукция у представителей семейства *Melioribacteraceae*: метаболические особенности и генетические детерминанты внеклеточного переноса электронов 69

Пономарева А.Л., Еськова А. И., Полоник Н.С.
Аэробное и анаэробное окисление углеводородов нефти микробиомами морских донных отложений 70

Романенко М.Н., Шиков А.Е., Савельев Г.К., Шматов Ф.М., Савина Ю.А., Кузнецова И.Г., Чивкунова О.Б, Соловченко А.Е., Нижников А.А., Антонец К.С.
Новый вид *Psychrobacillus*, выделенный из почв Северного Кавказа 71

Сазонова О.И., Ветрова А.А., Иванова А.А.
Влияние антропогенной нагрузки на биоремедиационный потенциал донных отложений р. Ока 71

Салова В.Д., Данилова О.В., Сузина Н.Е., Дедыш С.Н.
Новые веррукомикробы рода *Oleiharenicola*: физиологические характеристики и анализ геномов 72

Самков А.А., Чалая А.О., Цепелева А.Е., Круглова М.Н., Волченко Н.Н., Худокормов А.А., Моисеева Е.В., Карасева Э.В., Хуснутдинова Д.Р., Маркелова М.И.
Изменения таксономического состава и деструкционной активности прокариотной микрофлоры донных отложений при биоэлектрохимической стимуляции 73

Самылина О.С., Косякова А.И., Крылов А.А., Пименов Н.В.
Динамическая стабильность фототрофных сообществ содовых озер Кулундинской степи, обусловленная климатической цикличностью 73

Седова В.В., Дёмин К.А.
Исследование каротиноидсинтезирующих микроорганизмов городской среды 74

Сидорин А.С., Бурыгин Г.Л., Ткаченко О.В.
Реклассификация вида *Bradyrhizobium japonicum* с выделением новых подвидов 75

Сопрунова О.Б., Гальперина А.Р., Бареева А.Ш., Ерофеева А.В.
Ризосферные бактерии зоны аридного климата 75

Тарасов К.А., Зарубин М.П., Яхненко А.С., Гангапшев А.М., Кравченко Е.В.
Метагеномный анализ микробного сообщества из глубокого подземного источника Баксанской нейтринной обсерватории 76

Темралеева А.Д., Редькина В.В., Кривина Е.С.
Подходы к разграничению видов водорослей на примере штаммов всероссийской коллекции микроорганизмов 77

Тюлина А.И., Костина Н.В., Кураков А.В.
Биомасса прокариот и грибов и активность ключевых звеньев цикла углерода и азота в донных грунтах Белого и Карского морей 78

МЕТАБОЛИЗМ И ГЕНОМИКА МИКРООРГАНИЗМОВ

Пленарные доклады

Богачев А.В., Берцова Ю.В.
Вторичные метаболиты как предшественники для синтеза терминальных акцепторов электронов при анаэробном дыхании бактерий 78

Гаврилов С.Н., Щетинин А.М., Лебединский А.В.
Развитие сложности: разнообразие и эволюция путей внеклеточного переноса электронов у анаэробных прокариот 79

Кулаковская Т.В.
Неорганические полифосфаты микроорганизмов: регуляторные функции и практические перспективы 80

Кульбачинский А.В.
Как защититься от вирусов: макромолекулярные комплексы в иммунитете бактерий 81

Летаров А.В.
Распознавание бактериофагами клеточной поверхности: от эволюции к фаговой терапии третьего поколения 82

Секционные доклады

Антонец К.С., Шиков А.Е., Романенко М.Н., Суханова К.В., Нижников А.А.
Программный конвейер BacPack: использование методов анализа геномов бактерий для предсказания их свойств 83

Афошин А.С., Кудрякова И.В., Павленко С.В., Иванков Д.Н., Булавко Е.С., Леонтьевская Е.А., Леонтьевская Н.В.
Специфичность действия β-литической протеазы *Lysobacter capsici* в отношении пептидогликанов патогенных бактерий 84

Булаев А.Г., Кадников В.В., Артыкова А.В., Белецкий А.В., Елкина Ю.А., Колосов А.В., Латюк Е.С., Равин Н.В., Марданов А.В.
Анализ физиологических свойств и генома штамма *Acidiplasma* sp. YE-1 84

Гололобова А.В., Заюлина К.С., Клюкина А.А., Лебединский А.В., Ельченинов А.Г., Фролов Е.Н.
Скрытый метаболический потенциал ацетогенных прокариот: «облегчённый» ацетогенез 85

Диброва Д.В., Рыков С.Ю.
Использование инструмента DomainAnalyser в сравнительной геномике прокариот 86

Заюлина К.С., Ельченинов А.Г.
Геномный анализ термофильных бактерий с целью поиска генов гликозидаз из малоисследованных семейств 87

Кадников В.В., Бегматов Ш.А., Марданов А.В., Белецкий А.В., Равин Н.В.
Взгляд в подземную биосферу: метагеномный анализ микробного сообщества грязевых вулканов Керченского полуострова 87

Косякова А.И., Русанов И.И., Турова Т.П., Сорокин Д.Ю., Пименов Н.В., Самылина О.С.
Фиксация азота и аноксигенный фотосинтез у негетероцистной цианобактерии из содового озера 88

Майорова Е.В., Петушкова Е.П., Старыгина П.А, Брагин Е.Ю., Текучева Д.Н., Цыганков А.А.
Накопление изменений в геноме пурпурной несерной бактерии *Rhodobacter capsulatus*, имеющей естественную профагоподобную систему горизонтального переноса - капсдукцию 89

Мальцева А.И., Ельченинов А.Г., Лебединский А.В., Фролов Е.Н.
Гетеротрофный рост у представителей филума *Thermodesulfobiota* 89

Николайчик Е.А., Вычик П.В., Дигрис А.В., Дувалов Е.И., Скакун В.В.
Анализ регуляторных сигналов в последовательностях бактериальных геномов: проблемы и решения для постгеномной эры 90

Петрова М.А.
Тиофосфатные системы рестрикции-модификации ингибируют конъюгативный перенос плазмид 91

Петровская Л.Е., Зиганшин Р.Х., Крюкова Е.А., Спирина Е.В., Ривкина Е.М., Долгих Д.А., Кирпичников М.П.
Протеомный ответ мембраны *Exiguobacterium sibiricum* на понижение температуры 92

Парфирова О.И., Петрова О.Е., Микшина П.В., Смолобочкин А.В., Горшков В.Ю.
Фосфонаты *Pectobacterium atrosepticum*: роль во взаимодействиях растений и патогенов 92

Пятибратов М.Г., Топилина М.Ю., Галева А.В., Сюткин А.С., Кислов Д.М., Щеголев С.Ю.
Тафи — уникальны е поверхностные структуры галоархей 93

Романова В.А., Маркелова М.И., Куприянова О.В., Шевырин В.А., Григорьева Т.В., Лайков А.В.
Особенности транскриптомного профиля представителя филы *Actinomycetota* при росте на алканах 94

Семашко Т.В., Жуковская Л.А.
Анализ генетических механизмов адаптации мицелиальных грибов рода *Penicillium* как основа стратегии их биотехнологического применения в качестве продуцентов глюкозооксидаз 95

Свиридов А.В., Эпиктетов Д.О., Шушкова Т.В., Тарлачков С.В., Леонтьевский А.А.
Новый путь для старой фосфонатазы: необычные оксидоредуктазы почвенных протеобактерий и их роль в метаболизме органофосфонатов 95

Терёшина В.М., Януцевич Е. А., Данилова О. А., Сахарова С.А.
Роль мембранных липидов и осмолитов в адаптации к стрессу клеточной стенки у *Aspergillus niger* 96

Тутукина М.Н., Казнадзей А.Д., Бессонова Т.А., Гельфанд М.С.
Транскрипционная гетерогенность в популяциях *Escherichia coli* в составе биопленок 97

Фролов Е.Н., Гололобова А.В., Подосокорская О.А., Ельченинов А.Г., Лебединский А.В.
Восстановительный глициновый путь как модуль ацетогенеза 98

Юзихин О.С., Шапошников А.И., Викторов Н.Б., Гоголев Ю.В., Белимов А.А.
Пути катаболизма фитогормона абсцизовой кислоты ризосферными бактериями *Rhodococcus* sp. P1Y и *Novosphingobium* sp. P6W 98

Постерные доклады

Бегматов Ш.А., Белецкий А.В., Ракитин А.Л., Берестовская Ю.Ю., Марданов А.В., Равин Н.В.
Резистом и мобилом бактерий с множественной лекарственной устойчивостью из сточных вод города Москвы 99

Болтянская Ю.В., Деткова Е.Н., Пименов Н.В., Кевбрин В.В.
Использование бетаина галоалкалофильными бактериями из содовых озер в реакции Стикленда 100

Бруман С.М., Багаветдинова А.Л., Лапашина А.С., Фенюк Б.А.
Замены αV363 в F_1-АТФазе *Bacillus* sp. PS3 на заряженные остатки модулируют АДФ-ингибирование АТФазной активности 101

Бугеро Н.В., Титова А.А., Александрова С.М., Якимова Д.В.
Изучение экспрессии гена Hps 70 в клетках в *Lastocystis* spp 101

Вольф Е.Р., Соколова Т.С., Акбердин И.Р.
Реконструкция регулонной структуры *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* на основе массового анализа транскриптомных данных 102

Гривенникова В.Г; Жарова Т.В.
Влияние редокс-состояния убихинона на взаимодействие комплекса I *Paracoccus denitrificans* и ротенона 103

Дёмин К.А., Крылов К.И.
Вирусная нагрузка и деградация антифаговых защитных систем в геномах сульфатредукторов 104

Ельченинов А.Г., Туленков А.С., Сорокин Д.Ю.
Полисахаридлиазы экстремально галофильных архей: скрытые возможности или лишний груз? 105

Жарова Т.В., Гривенникова В.Г.
ITРазная активность Fo·F1-АТРазы *Paracoccus denitrificans* 105

Журина М.В., Плешко Е.М., Мосолова А.М., Мартьянов С.В., Плакунов В.К.
Формирование биопленок бактериями рода *Kocuria* 106

Иванова А.А., Сазонова О.И., Звонарев А.Н., Автух А.Н., Делеган Я.А., Ветрова А.А.
Pseudomonas sp. OVF7: адаптационные особенности при культивировании на углеводородах, анализ генома 107

Иванова А.А., Поливцева В.Н., Ветрова А.А.
Адаптация штамма *Pseudomonas putida* BS3701 к пониженной температуре в присутствии различных источников углерода 107

Канина В.Д., Гололобова А.В., Фролов Е.Н., Клюкина А.А.
Характеристика системы рестрикции-модификации термофильной ацетогенной бактерии '*Acetitalea autotrophica*' 108

Качнов В.А., Мелихова Е.В., Эсембаева М.А., Куляшов М.А.
BioEMMA – автоматическая визуализация потоковых моделей микроорганизмов на основе метаболических карт KEGG 109

Качнов В.А., Соколова Т.С., Акбердин И.Р.
Динамическое моделирование центрального метаболизма *Lactococcus lactis* в аэробных и анаэробных условиях 109

Кирьянова Т.Д., Королев Н.А., Егорова Д.О.
Филогенетическое разнообразие и биодеградативный потенциал штаммов-деструкторов моно-, ди- и трихлорированных бифенилов 110

Копылова О.А., Автух А.Н., Делеган Я.А.
Особенности профиля жирных кислот и роста штамма *R. erythropolis* Par7 на четных и нечетных алканах 111

Коцарев В.И., Белецкая А.В., Бойко М.И., Цой А.В., Дёмин К.А., Куликов М.П., Празднова Е.В.
Использование органосульфонатов почвенными актинобактериями в качестве источника углерода и энергии 111

Краснопеев А.Ю., Липко И.А., Тихонова И.В., Шишлянникова Т.А., Белых О.И.
Геномное исследование штамма *Streptomyces* sp. 21A из озера Байкал 112

Круглова А.В., Шмонова Е.А., Дорошенко В.Г.
Разнообразие дегидрошикиматдегидратаз и их применение в белой биотехнологии 113

Крюкова М.В., Петровская Л.Е., Крюкова Е.А., Ривкина Е.М., Бойко К.М.,
Долгих Д.А. Свойства новых эстераз из микробного сообщества многолетнемерзлых отложений 114

Крючкова Е.В., Бурыгин Г.Л.
Диоксигеназы азоспирилл, расщепляющие ароматическое кольцо 114

Кузичкина Т.Н., Ячкула А.А, Абашина Т.Н., Вайнштейн М.Б., Решетилов А.Н.
Амперометрический метод оценки влияния соединений мышьяка на культуру *Acidithioillus ferrooxidans* 115

Купряшина М.А., Пономарева Е.Г., Мамонова И.А., Кульшань Т.А.
Антимикробное действие наночастиц серебра, полученных «зеленым» синтезом 116

Лапшина Н.В., Иркитова А.Н.
Изучение ферментативной активности бактерий рода *Bacillus* 116

Леконцева Н.В., Михайлина А.О., Панкратова П.Ю., Никулин А.Д.
Структурно-функциональные исследования РНК-связывающих свойств белков холодового шока из *Mycobacterium tuberculosis* 117

Майорова Е.В., Петушкова Е.П., Цыганков А.А.
Влияние физиологических факторов на устойчивость культур пурпурных несерных бактерий к теллуриту калия при подавлении роста *Escherichia coli* S17-1 после конъюгативного переноса ДНК 117

Мальцева И.А., Яковийчук А.В., Черкашина С.В., Кривова З.В., Мальцев Е.И.
Спектр жирных кислот штаммов *Nostoc* 118

Мельник А.Д., Строева А.Р., Полудеткина Е.Н., Меркель А.Ю.
Геномные предпосылки для обособления таксономической группы синтрофных сульфатредукторов внутри клады SEEP-SRB 118

Мельников О.И., Розова О.Н., Бут С.Ю., Доронина Н.В., Хмеленина В.Н.
Фитосимбиотический потенциал галотолерантного штамма *Methylobrevis pamukkalensis* PK2 119

Мелихова Е.В., Эсембаева М.А., Качнов В.А., Куляшов М.А.
Реконструкция потоковой модели перхлоратредуцирующей бактерии *Dechloromonas agitata* 120

Молев С. В., Выборная Т. В., Хозов А. А., Степанова А. А., Синеокий С. П., Бубнов Д. М.
Получение и характеристика вариантов транспортера YhjE *Escherichia coli* K-12
с измененной субстратной специфичностью 121

Мустахимов И.И., Бут С.Ю., Шавкунов К.С., Мельников О.И., Хмеленина В.Н., Розова О.Н.
Транскриптомные изменения у облигатного метанотрофа *M. alcaliphilum*
с инактивированной глюкокиназой 122

Новиков А.Д., Калинина Т.И., Лавров К.В., Яненко А.С.
Гены усвоения мочевины у *Rhodococcus rhodochrous* M8 122

Петрова М.А., Яковлева П.М.
Характеристика новой природной плазмиды из древнего штамма *Brevundimonas* sp. 123

Петушкова Е.П., Старыгина П.А., Майорова Е.В., Тощаков С.В., Намсараев З.Б., Цыганков А.А.
Получение полного генома и выявление анаплеротических путей пурпурной несерной
бактерии *Cereibacter sphaeroides* ВКМ B-3534D 124

Петушкова Е.П., Сердюк О.П., Романова А.И., Майорова Е.В., Цыганков А.А.
Изменение метаболитного профиля цикла трикарбоновых кислот и путей синтеза глюкозы у
пурпурной несерной бактерии *Rhodobacter capsulatus* в различных условиях выращивания 124

Позднякова-Филатова И.Ю., Захарова М.В.
Механизм активации транскрипции белками LysR-семейства на примере регулятора генов
катаболизма салицилата SgpR 125

Потапов С.А., Тихонова И.В., Гладких А.С., Белых О.И.
Характеристика вирома из озера Хубсугул (Монголия) 126

Рудакова Н.Л., Хасанов Д.И.
Функциональная роль минорных протеиназ деградома *Bacillus pumilus* 3-19 126

Соколов М.Н., Зайцева Ю.В.
Скрининг генов Quorum quenching ферментов среди микроорганизмов, ассоциированных с
Phalenopsis sp. 127

Степанова А.А., Выборная Т.В., Хозов А.А., Молев С.В., Бубнов Д.М., Синеокий С.П.
Поиск новых переносчиков аминокислот с разветвленным радикалом через
цитоплазматическую мембрану *Escherichia coli* K-12 128

Суслова М.Ю., Кан Г.В., Тихонова И.В., Рымарева Е.А., Чебунина Н.С., Белых О.И.
Высокая активность щелочной фосфатазы в заливах оз. Байкал, вклад бактериального
сообщества в её продуктивность 129

Сухачева М.В., Гогмачадзе Л.Г., Кравченко И.К.
Оценка эффективности интродукции метанотрофов почвы черневой тайги в агропочву 129

Токмакова И.П., Гнучих Е.Ю.
Плазмида для селективного отбора высокоспецифичных бациллярных промоторов 130

Топилина М.Ю., Любимов М.Д., Бессонова Т.А., Пятибратов М.Г.
Роль тафи в образовании биопленок 131

Третьяков Д., Лапашина А., Фенюк Б.
Регуляция АТФазной активности бактериальных АТФ-синтаз за счет АДФ-ингибирования в
условиях моделирования деэнергизации in vitro. 131

Туленков А.С., Ельченинов А.Г., Карасева А.И., Меркель А.Ю., Заюлина К.С.,
Клюкина А.А., Кочеткова Т.В.
К вопросу о сапротрофной природе термофильных архей *Thermoplasmata* A10 132

Фирсова М.Ю., Миронова А.В., Тризна Е.Ю., Каюмов А.Р.
Изменение структуры и биохимического состава внеклеточного матрикса биопленок *K.*
pneumoniae под действием внеклеточных метаболитов из культуральной жидкости *S. aureus* 133

Фролова А.А., Слободкин А.И.
Серозависимое фумаратное дыхание у *Sulfurospirillum tamanense* 133

Харченко М.С., Озерова А.М., Скрипникова В.С., Юсупова Ю.Р., Самсонов В.В., Ростова Ю.Г., Закатаева Н.П.
Использование маркера контрселекции PheS* для «бесшовных» модификаций генома *Pantoea ananatis* 134

Хасимов М.Х., Майорова Е.В., Руденко. Н.Н., Петушкова Е.П., Цыганков А.А.
Свет и присутствие H2 влияет на экспрессию генов HydSL-гидрогеназного комплекса *Thiocapsa bogorovii* BBS 135

Хохлова Г.В., Звонарев А.Н., Теплоногова М.А., Тихонов К.Г., Остроумов В.Е., Вайнштейн М.Б., Кулаковская Т.В.
Специфичность удаления Mn2+, Fe3+ и P из раствора бактериями *Sphaerotilus montanus* и *Rhodococcus electrodiphilus* 136

Шабаев А. В., Федорова Т. В.
Механизм биодеструкции эндокринных разрушителей грибом белой гнили *Trametes hirsuta* LE-BIN 072 136

Шайкин А.А., Абашина Т.Н., Вайнштейн М.Б.
Исследование влияния лития на галофильные археи *Haloarcula hispanica* B-1755 и *Haloferax gibbonsii* B-1756 137

Шарангович М.А., Гаргун И.В., Николайчик Е.А.
Исследование транскрипционной регуляции пектинолиза у *Pectobacterium versatile* в постгеномную эру 138

Щеголев С.Ю., Муратова А.Ю., Турковская О.В., Матора Л.Ю.
Микробная энзимология in silico в изучении оксидоредуктазных систем азоспирилл 138

Ширшикова Т.В., Хиляс И.В., Шарипова М.Р., Богомольная Л.М.
Идентификация генетических кластеров, ассоциированных с биосинтезом биосурфактантов в *Serratia marcescens* SM6 139

Эпиктетов Д.О., Свиридов А.В., Леонтьевский А.А.
Разнообразие фосфоноацетальдегидгидролаз у почвенных бактерий-деструкторов органофосфонатов рода *Achromobacter* 140

Эсембаева М.А., Мелихова Е.В., Качнов В.А., Куляшов М.А.
Реконструкция потоковой модели гетеротрофной бактерии *Cupriavidus gilardii* 140

Эсембаева М.А., Куляшов М.А., Соколова Т.С., Сазонов А.Э., Акбердин И.Р.
Реконструкция потоковой модели лактобактерии *Lentilactobacillus kefiri* DH5 141

Ясаков Т.Р.
Сравнительно-геномный анализ бактериальных плазмид несущих кластеры генов tfd 141

МИКРОБНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

Пленарные доклады

Грановский И.Э., Измалкова Т.Ю.
Стратегии создания вакцин против бактериальных инфекций сельскохозяйственных животных и птиц: прошлое, настоящее, будущее 143

Марданов А.В., Васягин Е.А., Ураков Н.В., Шаламитский М.Ю., Червяк С.Н., Иванова Е.В., Загоруйко В.И., Белецкий А.В., Ракитин А.Л., Марданова Е.С., Кушниров В.В., Равин Н.В.
Метаболическая инженерия винных дрожжей 143

Цыганов В.Е., Чеботарь В.К., Лактионов Ю.В., Сафронова В.И.
Инновационные микробиологические препараты и удобрения для адаптивного земледелия 144

Секционные доклады

Баженов С.В., Щеглова Е.С., Уткина А.А., Кудрявцева А.А., Степанов Н.Г., Ульянова Ю.А., Манухов И.В.
Бактериальная экспрессионная система на основе LuxR/LuxI системы чувства кворума психрофильных морских бактерий 145

Гаврилова Е.А., Ежкова А.М., Ежков В.О., Никитина Е.В., Яруллина Д.Р., Каюмов А.Р.
Кормовые добавки для птиц на основе новых штаммов лактобактерий 146

Груздев Е.В., Дорофеев А.Г., Пелевина А.В., Берестовская Ю.Ю., Литти Ю.В., Пименов Н.В., Марданов А.В.
Формирование стабильного денитрифицирующего фосфат-аккумулирующего микробного сообщества в анаэробно-аноксидных условиях 147

Жила Н.О., Сапожникова К.Ю., Киселев Е.Г., Волова Т.Г.
Микробиологический синтез целевых продуктов: белка одноклеточных и биоразрушаемых полимеров (полигидроксиалканоатов) 147

Игнатенко А.В., Хижняк Т.В.
Восстановление Cr(VI) новыми галоалкалофильными штаммами. От пробирки до лабораторной установки 148

Карпов М.В., Стрижов Н.И., Лобастова Т.Г., Пошехонцева В.Ю., Николаева В.М., Шутов А.А., Донова М.В.
Инженерия рекомбинантных миколицибактерий для направленной оксифункционализации стероидов 149

Киричек Е.А., Кусакин П.Г., Цыганова А.В., Цыганов В.Е.
Механизмы симбиотической совместимости *Rhizobium laguerreae* и *Pisum sativum* 150

Коллеров В.В., Григорьева В.В., Брагин Е.Ю., Пошехонцева В.Ю., Шутов А.А., Поливцева В.Н., Донова М.В.
Новые стероидтрансформирующие актиномицеты – продуценты ценных биорегуляторов репродуктивной функции костистых рыб 150

Лойко Н.Г., Бабич Т.Л., Биджиева С.Х., Назина Т.Н.
Влияние графена и его соединений на рост и метаболические характеристики углеводородокисляющих и сульфатредуцирующих бактерий из нефтяных пластов 151

Максимова Ю.Г., Пьянкова Е.В., Ременникова М.В., Максимов А.Ю.
Усиление антибиопленочного и антимикробного действия наноуглерода инфракрасным лазером 152

Манухов И.В., Волков Г.В., Новоятлова У.С., Баженов С.В., Колобов М.Ю.
Lux-биосенсоры для экологических исследований на территории северных морей: Белое, Баренцево, Карское и Лаптевых и в водосборном бассейне оз. Байкал 152

Манучарова Н.А., Власова А.П., Уваров Г.В., Коваленко М.А., Филатов И.Д., Гаев К.Г., Степанов А.Л. Метаболический профиль прокариотных сообществ почв, подверженных антропогенной нагрузке 153

Мирошников К.А., Лукьянова А.А., Токмакова А.Д., Евсеев П.В.
Молекулярно-генетическая диагностика фитопатогенных бактерий: проблемы и перспективы 154

Намсараев З.Б., Филимонова А.В., Колосова А.А., Власкина А.В., Петренко Д.Е., Камаев А.В., Пожидаев В.М., Лукашевич С.В., Трашков А.П., Наумова Е.С., Туаева А.Ю., Изотова А.О., Ерофеева Т.В., Бархутова Д.Д., Цыренова Д.Д., Дамбаев В.Б., Нанзатов Б.З., Марсова М.В., Новикова В.А., Шикер А.С., Розанов А.С., Сазонов А.Э., Вострикова А.С., Патрушев М.В., Тощаков С.В.
От микробиоты до истории: междисциплинарное исследование бурятских национальных кисломолочных напитков хурэнгэ и дарасун 155

Николаев Ю.А., О.А. Галуза, Е.В. Дёмкина, Эль-Регистан Г.И., Перминова И.В., Лойко Н.Г., Лапатко А.П., Храмова А.В.
Длительное выживание бактерий в гелях – феномен и причины 156

Рожкова А.М., Семенова М.В., Волков П.В., Хохлов Н.Е., Ерошенко Н.С., Зоров И.Н., Синицын А.П.
Применение мицелиального гриба *Penicillium verruculosum* в сельском хозяйстве – возможности и перспективы 156

Розова О.Н., Мельников О.И., Бут С.Ю., Шавкунов К.С., Хмеленина В.Н., Мустахимов И.И.
Конверсия метана в органические кислоты 157

Садыкова В.С., Георгиева М.Л., Биланенко Е.Н., Соколов В.В., Малышева К.В., Рошка Ю.А., Кураков А.В.
Коллекция микромицетов ФГБНУ НИИНА как основа для поиска продуцентов новых антибиотиков 158

Соколова Д.Ш., Круглова А.А., Семенова Е.М., Майорова Т.А., Марданов А.В., Назина Т.Н.
Разнообразие коррозионно-активных микроорганизмов в системе подготовки воды на нефтяном месторождении на шельфе Арктики (Россия) 159

Степанов А.Л., Поздняков Л.А., Якименко О.В., Манучарова Н.А.
Природоподобные технологии повышения эффективности применения минеральных удобрений 159

Фуфаева С.Р., Довбня Д.В., Шутов А.А., Донова М.В.
Биотрансформация стероидов рекомбинантными бактериями, экспрессирующими ген актинобактерильной 3-кетостероид-1-дегидрогеназы 161

Худяева М.В., Чеботарь В.К., Чижевская Е.П., Баганова М.Е., Келейникова О.В., Ерофеева О.В., Заплаткин А.Н., Тихонович И.А.
Эндофитный микробиом засухоустойчивых растений - перспективы для сельскохозяйственных культур в борьбе с засухой 162

Цыганков А.А.
Полвека изучения HydSL гидрогеназы *Thiocapsa bogorovii*: итоги и перспективы 163

Яковлева Г.Ю., Кацюруба Е.А., Данилаев М.П., Ильинская О.Н.
Биоцидный композитный материал на основе смолыс наночастицами оксида меди 163

Постерные доклады

Абрамова Е.С., Сафонов. А.В.
Микробная коррозия черной и нержавеющей стали в условиях геологических хранилищ радиоактивных отходов 164

Автономова А.В., Зиангирова М.Ю., Шуктуева М.И., Лысакова В.С., Ярина М.С., Краснопольская Л.М.
Базидиальные грибы – продуценты биологически активных соединений 165

Анохина Т.О., Сизова О.И., Соколов С.Л., Кочетков В.В., Кошелева И.А., Сазонова О.И.
Ризосферные бактерии рода *Pseudomonas* нефтезагрязненных почв как основа биопрепаратов для фиторемедиации 166

Барашкова А.С., Рогожин Е.А.
Антимикробные пептиды растений и эндофитных микроорганизмов: функциональная роль в иммунитете растений 166

Баукова А.С., Ветрова А.А., Церфас М.О., Сузина Н.Е., Делеган Я.А.
Характеристика экзополисахаридной капсулы нафталин-деградирующего штамма *Pseudomonas sp.* VD9 167

Беловежец Л.А., Белоусов Д. С., Приставка Е.О., Самульцев Д.О.
«Серая» биотехнология - успехи ФИЦ «Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского сибирского отделения Российской академии наук» 168

Бессонова Т.А., Магкаев А.Т., Кузнецова У.Д., Тутукина М.Н.
Гексуронаты модулируют экспрессию генов, ассоциированных с образованием биопленок у *Escherichia coli* 169

Богданова А.Б., Полякова А.Н., Карпов Д.С.
Дрожжи, выделенные из молока различных животных 170

Валидов Ш.З., Шульга Е.Ю., Исламов Б.Р., Суханов А.Ю.
Выделение и характеристика бактериальных штаммов-деструкторов лигнина из разлагающейся древесины 171

Васильченко А.С., Пошвина Д.В., Степанов А.А., Дилбарян Д.С., Яшников А.В., Шмидт Э., Соромотин А.В., Тесля А.В.
Трансформация микробиома и резистома тундровых почв под влиянием сельскохозяйственной деятельности 172

Васягин Е.А., Ураков Н.В., Шаламитский М.Ю., Червяк С.Н., Иванова Е.В., Загоруйко В.И., Белецкий А.В., Ракитин А.Л., Марданова Е.С., Кушниров В.В., Равин Н.В., Марданов А.В.
Метаболическая инженерия винных дрожжей 173

Волченко Н.Н., Масленников С.И., Лазукин А.А., Лазукин А.А., Кабилов М.Р., Самков А.А., Худокормов А.А.
Функционирование микробных топливных элементов бентосного типа в полевом эксперименте в условиях Японского моря 174

Галуза О.А., Храмова А.В., Эль-Регистан Г.И, Николаев Ю.А.
Новый способ длительного хранения пробиотических культур и повышения их выживаемости 174

Герасимчук А.Л., Ерофеевская Л.А., Сысоева А.Н., Франк Ю.А., Марченко Е.С.
Физиологическая характеристика штамма *Bacillus*, выделенного с поверхности полимерного композиционного материала 175

Герасимчук А.Л., Воробьев Д.С., Трифонов А.А., Косов А.В., Ивасенко Д.А.
Изучение разнообразия культивируемых бактерий, выделенных на селективных питательных средах из сточных вод производства аквакультуры в Индонезии 176

Данилова Ю. В., Васильева Ю. А., Гильмутдинова А. И., Мамчур А. А., Сулейманова А. Д., Рудакова Н. Л., Шарипова М. Р.
Создание синтетического микробного сообщества для разработки биоудобрений нового поколения 177

Доколин Д.А., Паюта А.А., Сысуев А.С., Зайцева Ю.В.
Пробиотический потенциал бактерий рода *Rhodococcus*, выделенных из окуня речного 177

Дудник Д.Е.
Изучение механизмов биологического контроля природных штаммов *Bacillus spp* 178

Дюбарь А.М., Кадников В.В., Белецкий А.В., Литти Ю.В., Меламуд В.С., Марданов А.В., Булаев А.Г.
Выделение сульфатредуцирующих микроорганизмов, устойчивых к низким значениям pH и высоким концентрациям металлов 179

Евдокимов И.Ю., Иркитова А.Н., Ширманов М.В., Дудник Д.Е.
Выделение впРНК из биомассы пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* в полупромышленном масштабе 179

Зубарь В. А., Семашко Т. В.
Конструирование рекомбинантного вектора, несущего ген билирубиноксидазы, для трансформации *Escherichia coli* и *Corynebacterium glutamicum* 180

Измалкова Т. Ю., Грановский И.Э.
Стратегии создания вакцин против бактериальных инфекций сельскохозяйственных животных и птиц: прошлое, настоящее, будущее 181

Измалкова Т. Ю., Устинова В.В., Грановский И.Э.
Аттенуированные штаммы *Salmonella enterica* как платформа для создания векторных вакцин 181

Иркитова А.Н., Евдокимов И.Ю.
Особенности масштабирования микробиологических разработок 182

Канапацкий Т.А., Грачев В.А., Пименов Н.В., Марданов А.В., Кожушко А.Ю., Николаев Ю.А.
Сравнительная эффективность использования инновационной стационарной загрузки в биотехнологии Анаммокс 183

Качанова О.А., Сухинин А.А., Цымбалюк И.Ю., Миркин Я.Б., Бабичев С.А.
Способ получения коменовой кислоты микробиологическим синтезом 183

Карлов Д.С., Кузнецова И.Г., Гуро П.В., Сазанова А.Л., Тихомирова Н.Ю., Белимов А.А., Сафронова В.И. Роль клубеньковых бактерий в развитии сельского хозяйства Арктики 184

Климова А.А., Гольдин И.В., Фурсов М.В., Васина Д.В.
Исследование цитотоксичности и влияния на кожную нормофлору мышей геля с генно-инженерным эндолизином на основе бактериального альгината 185

Коваленко М.А.
Влияние температуры на таксономическую структуру сообществ нефтезагрязненных почв различных климатических зон 186

Колосова А.А., Федосов Д.Ю., З.Б. Намсараев З.Б.
Оценка чувствительности винных штаммов дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* к фунгицидам 186

Коннова С.А., Сигида Е.Н., Федоненко Ю.П.
Культуры галофильных бацилл как мультипродуценты экзополимеров, перспективных для биотехнологии 187

Кремнёва М.К., Шестаков А.И., Щербакова П.А.
Анализ микробных сообществ традиционных кисломолочных продуктов Российской Федерации 188

Кривушина А.А., Мосунова Д.Н., Горяшник Ю.С., Яковенко Т.В.
Коллекция мицелиальных грибов НИЦ «Курчатовский институт»-ВИАМ как основа в исследованиях микробиологической стойкости материалов и изделий 188

Круговых А.А., Якимчук Е.А., Гризанова Е.В.
Морфологическая характеристика бактерий *Bacillus thuringiensis*, полученных при пассажах через чувствительную и устойчивую популяции вощинной огнёвки *Galleria mellonella* 189

Курынцева П.А., Пронович Н.А., Галиева Г.Ш., Галицкая П.Ю., Селивановская С.Ю.
Изучение роли вертикальных и горизонтальных путей в формировании эндосферных бактериальных сообществ салата-латука: сравнительное исследование гидропонных и почвенных систем 190

Лебедева Е.Г.
Биовыщелачивание редкоземельных элементов микроорганизмами из горных пород Приморского края 191

Лендел А.М., Климова А.А., Антонова Н.П., Васина Д.В.
Влияние термической обработки на антибактериальные свойства лизинов 191

Леонович О.А.
Микоплазменная контаминация клеточных культур и вирусных штаммов. Опыт обнаружения и лечения 192

Линдин Е.Ю., Трефилов В.С., Вирясов М.Б., Кубарева Е.А.
Поиск подходов к увеличению биосинтеза липопептидного пав сурфактина клетками *Bacillus subtilis* 193

Лисов А.В., Шушкова Т.В., Кошелев А.В., Лисова З.А., Леонтьевский А.А.
Продукция молочной и уксусной кислот молочнокислыми бактериями 194

Лойко Н.Г., Литти Ю.В.
Использование бактерий, выделенных из фекального ила, для детоксикации сточных вод, загрязненных четвертичными аммониевыми соединениями и производными гуанидина 195

Майорова К.А., Аксёнов А.С., Латипова И.А., Каюмов А.Р.
Древесные олигосахариды: способы получения и пребиотические свойства 196

Мальцева П.Ю., Плотницкая Н.А., Чудинова А.А., Ильина И.В.,
Салахутдинов Н.Ф., Ившина И.Б.
Получение биоактивных производных (−)-изопулегола с использованием клеток *Rhodococcus rhodochrous* ИЭГМ 1362 197

Маркелова М.И., Каюмов А.Р., Чернова О.А., Чернов В.М.
Омикс-технологии для оценки функциональности пробиотиков: полногеномный анализ штаммов *Lactiplantibacillus plantarum* 8p-a3 и DMC-S1 197

Масленникова И.Л., Кузнецова М.В.
Микробиом органических отходов и удобрений агропромышленных комплексов 198

Мельникова А.А., Бауэр Т.В., Намсараев З.Б.
Штамм цианобактерии *Synechocystis* sp. GS-SphU с инактивированным геном slr0741, способный к повышенному поглощению и накоплению фосфора 199

Мирко П.А., Горовцов А.В.
Сравнительная оценка эффективности фунгицидов против фитопатогенных грибов р. *Alternaria, Fusarium, Cladosporium* 200

Михайлина А.О., Зюркалова Д., Балобанов В.А., Костарева О.С.
Разработка новой системы эффективной экспрессии рекомбинантных белков в бактериальных клетках 200

Муратова А.Ю., Голубев С.Н., Сунгурцева И.Ю.
Бифункциональные ризобии как агенты экологической биотехнологии 201

Нечаева И.А., Филиппова А.С.
Применение биосурфактантов родококков в синтезе наночастиц серебра 202

Наумович Н.И., Федоренчик А.А., Алещенкова З.М., Сафронова Г.В.
Выделение эндофитных бактерий люцерны посевной (*Medicago sativa*), стимулирующих рост растений в условиях воздействия стресс-факторов 203

Оглодина Д.Г., Кичемазова Н.В., Федорова В.А.
Оптимизация условий культивирования штамма-продуцента рекомбинантного листериолизина О 203

Онасенко К.А., Амирджанов Ф.Ф., Празднова Е.В.
Антимикробная активность вторичных метаболитов, выделенных из *Bacillus atrophaeus* AG8 204

Паршина С.Н., Потокина В.В., Исупова Я.В., Литти Ю.В.
Продуценты биоводорода
из природных и антропогенных местообитаний 205

Пелевина А.В., Дорофеев А.Г., Груздев Е.В., Пименов Н.В., Марданов А.В.
Влияние соотношения ацетата и пропионата на структуру микробного сообщества денитрифицирующих фосфат-аккумулирующих организмов и эффективность одновременного удаления фосфора и азота 206

Пельтек С.Е., Задорожный А.В., Уварова Ю.Е., Шипова А.А., Богачева Н.В., Шляхтун В.Н., Чесноков Д.О., Хлебодарова Т.М., Банникова С.В., Букатич Е.Ю., Бочков Д.В., Слынько Н.М., Павлова Е.Ю., Коржук А.В., Васильева А.Р.
Генетические технологии получения штаммов продуцентов ферментов на основе генома дрожжей и коллекции микроорганизмов 206

Пригодская В.И., Клишевич Н.Г., Сафронова Г.В., Ананьева И.Н.
Ризосферные бактерии, повышающие стрессоустойчивость растений семейства пасленовые 207

Приставка Е.О., Шадрина Е.С., Беловежец Л.А.
Биодеградирующая способность почвенных грибов в отношении имазамокса 208

Розанцева В. В., Шереметьева М. Е., Дербиков Д. Д., Орлов А. С., Яненко А. С.
Системы транспорта аминокислот с разветвлённой боковой цепью у *Corynebacterium glutamicum*: не только BrnFE и BrnQ 208

Руденко А.П., Комова А.В., Намсараев З.Б.
Разработка метода укрепления известняка на основе комбинирования химических и биологических подходов 209

Рыбак В.А., Терентьева Д.В., Редкозубов С.В.
Сушка смешением биомассы *Saccharomyces cerevisiae* для создания твердой лекарственной формы 210

Семенова Е.М., Соколова Д.Ш., Курбанова Г.Г., Садыков Н.Н., Фаттахов И.Г., Марданов А.В., Назина Т.Н.
Микробное сообщество пластовой воды Биклянского нефтяного месторождения до и после закачки углекислоты 210

Сергеева Ю.Д., Федосеева Е.В., Деревенец Е.Н., Кулачкова С.А., Якименко О.С., Терехова В.А.
Влияние полимерных ремедиантов на почвенный микробиом 211

Синёва О.Н., Маркелова Н.Н., Семёнов И.А., Прохоренко И.А., Кудрякова Г. Х., Левшин И.Б., Садыкова В.С.
Экстремотолерантные актиномицеты как перспективный источник биоактивных соединений 212

Смирнова Т.С., Рогов Г.Н.
Разработка полутвердого сыра с пропионовокислыми бактериями: от штаммов к технологии 213

Соколов С.Л., Сорокин А.С., Джелядин Т.Р., Фурсова К.К., Никанова Д.А., Колодина Е.Н., Артемьева О.А., Зиновьева Н.А., Бровко Ф.А.
Метагеномный анализ микробиоты репродуктивных органов коров с нарушением репродуктивной функции 214

Соколянская Л.О., Лукина А.П., Никитина Е.А., Хандышанова М.М., Авакян М.Р., Ганина В. И., Чурин А.А., Карначук О.В.
Пробиотические свойства свободных от устойчивости к антибиотикам *Lacticaseibacillus paracasei*, выделенных из ферментированного верблюжьего молока 214

Степанов А.А., Дилбарян Д.С., Яшников А.В., Васильченко А.С.
Влияние 2,4-диацетилфлороглюцина на структурно-функциональные свойства почвенного грибного сообщества в условиях лабораторного эксперимента 215

Сулейманова А.Д., Васильева Е.С.
Фитопротекторное действие штаммов *Pantoea brenneri* 216

Сулейманова Э.Р., Клочкова Е.А., Трахтман Н.В.
Клонирование, экспрессия и характеристика гипертермостабильной амилазы из штамма *Bacillus licheniformis* 217

Текучева Д.Н., Лобастова Т.Г., Хомутов С.М., Донова М.В.
Метоксиметилзамещенные стерины на пути создания биотехнологии получения прегненолона 218

Терегулова Г.А.
Штамм хитинолитического актиномицета *Streptomyces baarnensis* для защиты растений от фитопатогенных грибов и стимуляции роста растений 218

Тимакова Т.А., Карпов М.В., Фокина В.В., Николаева В.М., Текучева Д.Н., Шутов А.А., Донова М.В.
Получение 17β-восстановленных андростанов на основе микробиологической трансформации фитостеринов 220

Турковская О.В., Позднякова Н.Н., Бондаренкова А.Д., Муратова А.Ю.
Почвенные микромицеты - антагонисты PGPR 221

Тян С.М.
Gordonia alkanivorans ИЭГМ 1277 – эффективный агент биодеградации мелоксикама 222

Филинова Н. В., Беловежец Л. А.
Оценка перспективности применения некоторых штаммов микоризообразующих грибов в качестве микробного препарата для сеянцев *Pinus silvestris* 222

Филиппова Е.С., Звонарев А.Н., Лаврова Д.Г.
Направленное инкапсулирование дрожжевых и бактериальных клеток в ОРМОСИЛ оболочки 223

Фокина В.В., Карпов М.В., Донова М.В.
Секретируемые рекомбинантные холестриноксидазы, синтезированные в миколицибактериях 224

Французова Е.Э., Кочаровская Ю.Н., Автух А.Н., Звонарев А.Н., Делеган Я.А.
Структурно-функциональная характеристика и метаболический потенциал штамма *Gordonia* sp. 34D, предположительно нового вида, выделенного из техногенно трансформированного грунта 224

Хандышанова М.М., Ганина В. И., Никитина Е.А., Клоков Н.В., Соколянская Л.О., Авакян М.Р., Глухова Л.Б., Лукина А.П., Карначук О.В.
Выделение новых *Lactobacillaceae*, свободных от генов антибиотикорезистентности 225

Хасаева Ф.М.
Утилизация пиридиновых производных представителем рода *Paenarthrobacter* 226

Хиляс И.В., Маркелова М.И., Елистратова А.А., Ширшикова Т.В., Шарипова М.Р.
Сидерофоры эндолитной *Nocardia mangyaensis* NH1: экологические функции и биотехнологический потенциал 227

Хосид С.Л., Кимеклис А.К., Карасев Е.С., Аксенова Т.С., Онищук О.П., Курчак О.Н., Андронов Е.Е., Проворов Н.А.
Геномная изменчивость ризобий: эволюционный и агротехнологический потенциал 227

Чайкина А.П.
Биосорбция кадмия штаммами *Streptomyces*, изолированными из антропогенно-нарушенных почв 228

Червочкина А.С.
Структура и динамика микробиоты лососевых рыб в аквакультуре северных широт 229

Шабаев А.В., Лукин А.С., Савинова О.С., Федорова Т.В.
Биодеструкция ацетохлора грибом белой гнили *Trametes hirsuta* LE-BIN 072 230

Шапиро Т.Н., Дольникова Г.А., Лобакова Е.С.
Модельные бинарные ассоциации штаммов углеводородокисляющих бактерий, выделенных из реактивного топлива 230

Шереметьева М.Е., Рябченко Л.Е., Розанцева В.В., Леонова Т.Е., Яненко А.С.
Изучение регуляции экспрессии оперона *ilv*BNC у *Corynebacterium glutamicum* с помощью белка-репортёра TurboGFP 231

Шестаков А.И., Кремнева М.К., Щербакова П.А. Конструирование заквасок прямого внесения для производства кумыса и кумысного продукта 232

Шорохова А.П., Перов Я.А., Носков А.Е., Поливцева В.Н., Абашина Т.Н., Осепчук Д.В., Зимин А.А., Сузина Н.Е.
Иммобилизация хищных бактерий рода *Bdellovibrio*, как подход для разработки новых биотехнологических методов устранения бактериального загрязнения природных биотопов от патогенных форм грамотрицательных бактерий 233

Шустова М.Н., Агафонова Н.В., Капаруллина Е.Н., Доронина Н.В.
Биотехнологический потенциал галофильных штаммов *Vreelandella neptunia* из гипергалинного Малого Медвежьего озера Курганской области 234

Шьюрова А. А., Ломакина А. М., Мельникова А. В., Лящева С. В., Карпунина Л. В.
Экзополисахарид *Xanthomonas campestris*: перспективы использования в растениеводстве 234

Щербакова П.А., Кремнева М.К., Шестаков А.И.
Молочнокислые микроорганизмы в сообществах беспозвоночных животных Белого моря 235

МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

Пленарные доклады

Ефимов Б.А., Подопригора И.В., Чаплин А.В., Кашатникова Д.А., Захаржевская Н.Б.
Труднокультивируемые и новые 'некультивируемые' таксоны: преодоление границ в изучении бактериального разнообразия микробиоты человека 236

Григорьева Т.В.
Холобиом человека: исследование взаимодействия кишечной микробиоты хозяина – как основа диагностики и коррекции дисбиоза 237

Лисовская С.А., Каюмов А.Р.
Межмикробные взаимодействия в поливидовых консорциумах: новый взгляд на стратегии профилактики и терапии полимикробных заболеваний 237

Огарков О.Б., Кондратов И.Г., Суздальницкий А.Е., Синьков В.В., Орлова Е.А., Белькова Н.Л., Немченко У.М., Жданова С.Н.
Полибактериальное сообщество туберкулезного некроза: «стафилококковая» казеома как наиболее распространенный и неблагоприятный исход 238

Секционные доклады

Бурыгин Г.Л., Астанкова А.С., Кусмарцева Ю.А., Крючкова Е.В.
Достижения органической химии и нанотехнологии в преодолении множественной лекарственной устойчивости бактерий 239

Вабищевич Н.К.
Редкие инфекции у пациентов в травматологии и ортопедии 239

Васильев П.М., Озеров А.А., Голубева А.В., Степаненко И.С., Цибизова А.А., Кузьминов О.В., Козлов С.Ю., Косов В.А., Киценко М.Р., Генатуллина Г.Н., Перфильев М.А., Кочетков А.Н.
Направленный поиск антимикробных соединений с применением мультитаргетной модульной полносвязной сверточной корреляционной нейронной сети на основе множественного докинга 240

Голубева А.В., Васильев П.М., Кочетков А.Н., Перфильев М.А.
Оценка релевантности биомишеней *S. aureus*: новый нейросетевой метод исследования антимикробной активности соединений на основе множественного докинга 240

Дилбарян Д.С., Степанов А.А., Васильченко А.С.
Влияние циклических липопептидов *Bacillus velezensis* на вирулентные свойства *Candida albicans* 242

Исхакова З.И., Сафина Р.Р., Гильфанов И.Р., Гусева Г.Б., Антина Е.В., Никитина Л.Е., Каюмов А.Р.
Антимикробная активность бром- и йодзамещенных BODIPY люминофоров в отношении грибково-бактериальных сообществ 243

Кареткин Б.А., Евдокимова С.А., Панфилов В.И., Градова Н.Б.
Моделирование взаимодействия микробного сообщества кишечника с бифидобактериями и *Bacillus cereus* в одностадийной и трехстадийной модели *in vitro* 243

Каюмов А.Р., Тризна Е.Ю., Миронова А.В., Лисовская С.А., Баранов П.С., Синица А.М., Басманов А.А., Шаривзянов Д.Р., Богачев М.И.
Неинвазивная диагностика состава микробного сообщества биопленок методом гиперспектрального анализа 244

Клименко Е.С., Белькова Н.Л.
Реконструкция геномов бактерий кишечного биотопа у подростков с ожирением 245

Косов В.А., Степаненко И.С., Киценко М.Р., Кузнецов Р.А., Михайлова Л.В.
Антибиотикорезистентность ESKAPE-патогенов в неантологических отделениях 245

Кузнецова М.В., Кочергина Д.А., Михайловская В.С.
Возбудители колибактериоза сельскохозяйственных животных – угроза здоровью населения 246

Ломакина Г.Ю., Угарова Н.Н.
Перспективы использования биолюминесцентной системы светляка *Luciola mingrelica* в биомедицинских исследованиях 247

Миронова А.В., Фирсова М.Ю., Мадумарова Э.Р., Тризна Е.Ю., Каюмов А.Р.
Особенности чувствительности *K. pneumoniae* к антибиотикам в смешанных бактериальных и грибково-бактериальных консорциумах 247

Мокроусов И.В., Ангелова В.Т., Полев Д.Е., Вылчева В.
Первичная адаптация *Mycobacterium tuberculosis* in vitro к действию ароилгидразонов 248

Поливцева В.Н., Шорохова А.П., Абашина Т.Н., Сорокин В.В., Решетников А.С., Делеган Я.А., Зимин А.А., Сузина Н.Е.
Антимикробный потенциал нового изолята *Bdellovibrio bacteriovorus* sp. LR3 и возможности его применения в качестве биологического агента для борьбы с бактериальными инфекциями 249

Слонова Д.А., Абдулкадиева М.М., Антонова Н.П., Собянин К.А., Литвиненко В.В., Паршина О.В., Гусева Т.С., Домнин П.А., Васина Д.В., Сысолятина Е.В.
Интерферон-A2B и эндолизин GRC-ML07 против *Pseudomonas aeruginosa*: новая стратегия терапии инфицированных ран при иммунодефиците 250

Постерные доклады

Астанкова А.С., Филипьечева Ю.А., Чумаков Д.С., Бурыгин Г.Л.
Исследование влияния нанокластеров серебра на резистентность бактерий к антибиотикам и тяжелым металлам 251

Бабичева О.О., Карпунина Л.В.
Антимикробная активность полисахарида *Pleurotus ostreatus* 252

Вагин К.С., Курди У., Яковлева Г.Ю., Колпаков А.И., Ильинская О.Н.
Пробиотики на минеральном наноносителе для восстановления после лучевой терапии 252

Герасимова А.А., Вязовая А.А., Майская М.Ю., Пантелеев А.М., Мокроусов И.В.
Распространенность и генотипическая структура микс-культур *Mycobacterium tuberculosis* среди больных ВИЧ-ассоциированным туберкулезом в Санкт-Петербурге 253

Задорина И.И., Каюмов А.Р.
Комплекс томата и клюквенного сока в отношении биопленок и зубного камня 254

Измалкова Т. Ю., Грановский И.Э., Сазонова О.И., Соколов С.Л., Кошелева И.А.
Плазмида группы несовместимости P-7 контролирует неспецифическую устойчивость к тетрациклину штамма-хозяина 255

Левашов П.А.
Перспективный метод экспрессного турбидиметрического определения бактериолитических факторов молока 255

Маланичева И.А.
Феномен грамицидина С 256

Мухаметова Л.И., Жердев Д.О., Еремин С.А., Скляров О.Д.
Выявление инфекционных заболеваний крупного рогатого скота методом поляризации флуоресценции (FPA) 257

Сериков К.П., Сергеева Ю.Д., Батаков А.Д., Шулаков А.Ю., Рахлеева А.А., Терехова В.А.
Различия в чувствительности стандартизованных тест-культур микроорганизмов к фармацевтическим антибиотикам 258

Синягина М.Н., Ахтариева А.В., Куприянова О.В., Лайков А.В., Григорьева Т.В.
Трансформация холевой кислоты клиническими изолятами *Escherichia coli* 258

Строкач А.А., Захаревич Н.В., Климина К.М.
Микробные маркеры ответа на иммунотерапию меланомы 259

Фомичева Ю.С., Григоров А.С., Скворцова Ю.В., Мартини Б.А., Салина Е.Г., Ажикина Т.Л., Быченко О.С.
Анализ внеклеточных везикул макрофагов при инфекции *Mycobacterium abscessus*: выявление иммуномодулирующих свойств 260

Юртаева Е.А., Степаненко И.С., Тырков А.Г., Утяганова Е.В., Фомичева Е.Д.
Скрининг новых соединений 5-арил (гетарил) метилидендигидропиримидин-2,4,6-трионов в отношении музейных штаммов *E.coli* 25922 АТСС и *S.aureus* 6538-р АТСС 261

Ядыкова Л.Л., Халиуллина А.С., Каюмов А.Р.
Оценка антимикробного действия экстрактов *Salvia officinalis* в отношении различных видов микроорганизмов 261

БИОРЕСУРСНЫЕ КОЛЛЕКЦИИ

Пленарные доклады

Куликовский М.С., Евтушенко Л.И.
Всероссийская коллекция микроорганизмов и современные особенности сохранения и развития микробиологических депозитариев 262

Ившина И.Б., Куюкина М.С.
Российские микробиологические коллекции: стратегия выживания, современный статус и эволюция 263

Синеокий С.П.
Актуальные задачи формирования инфрастркутуры в области микробных генетических ресурсов 264

Щербакова В.А., Кочкина Г.А., Иванов С.В.
Правовое регулирование биоресурсных центров и биологических коллекций: проведение микробиологических исследований в современных условиях 264

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ ДРОЖЖЕЙ

Секционные доклады

Азбарова А.В., Галкина К.В., Кнорре Д.А.
Раннее репликативное старение дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* 265

Епремян Х.Х., Голева Т.Н., Шапошникова Д.А., Рогов А.Г., Звягильская Р.А.
Митохондриальная морфология, окислительный стресс и экспрессия генов антиоксидантной защиты в дрожжах с делециями генов, связанных с митофагией 266

Журавлева Г.А.
Механизмы прион-зависимой летальностимиссенс-мутантов по гену SUP35 дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* 266

Замятнина К.А., Ураков В.Н., Волынкина И.А., Столбоушкина Е.А., Кац Л.М., Каменский П.А., Дмитриев С.Е.
Структурно-функциональный анализ фактора рибосомного рециклинга Tma22p и его активности в реинициации трансляции в пекарских дрожжах *Saccharomyces cerevisiae* 267

Калебина Т.С., Рекстина В.В., Ахтямов А.Ф., Дроздов Н.А.
Парадоксы полисахарид-ремоделирующих ферментов клеточной поверхности дрожжей 268

Кулагин К.А., Сосновцева А.О., Карпов Д. С.
Синергический эффект комбинации ингибиторов протеасомы и рибонуклеотидредуктазы в биохимической модели дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и клеточной линии глиобластомы 268

Кулаковская Е.В., Рязанова Л.П., Ледова Л.А., Трилисенко Л.В.
Белки PHO-пути как участники адаптационных процессов у *Saccharomyces cerevisiae* 269

Кусмарцева Ю.А., Бурыгин Г.Л.
Генетические основы устойчивости ризосферной бактерии *Achromobacter insolitus* LCu2 к токсикантам 270

Лапашина А.С., Галкина К.В., Маркова О.В., Зубарева В.М., Кнорре Д.А., Фенюк Б.А.
Роль ингибирования АТФазной активности АТФ-синтазы в физиологии дрожжей 271

Лютова Л.В., Наумова Е.С.
Молекулярно-генетические особенности морских видов дрожжей рода *Kluyveromyces* 271

Митькевич О.В., Дергалев А.А., Кушниров В.В.
Анализ вклада различных частей амилоидной структуры белка SUP35 в поддержание стабильности фибрилл и фенотипическое проявление «сильного» и «слабого» вариантов приона [PSI+] 272

Муравьёв Г.С., Кашко Н.Д., Кнорре Д.А.
Порог патогенности мтДНК с обширными делециями у дрожжей 273

Никанова Д.А., Артемьева О.А., Колодина Е.Н., Довыденкова М.В.
Каротинсинтезирующие дрожжи *R. mucilaginosa*: характеристика и идентификация 273

Полякова А.Н., Скоморохова В.В., Шамис А.В., Карпов Д.С., Качалкин А.В.
Дрожжи в вулканических почвах островов Атласова, Парамушир, Онекотан и Шумшу 274

Соколов С.С., Сурикова Е.Д., Голышев С.А., Смирнова Е.А. и Северин Ф.Ф.
Роль транспортеров стеринов Lam в поддержании плазматической мембраны и споруляции дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* 275

Черданцев И.А., Полякова А.Н., Белкина П.Д., Карпов Д.С.
Изучение олеогенных дрожжей из природных субстратов: от выделения до молекулярного анализа и оценки липидного профиля 276

Постерные доклады

Адамович А.М., Кнорре Д.А., Галкина К.В.
Роль переносчиков множественной лекарственной устойчивости в формировании и прорастании спор *Saccharomyces cerevisiae* 277

Ахмедзянов М.А., Рогожин Е. А.
Биоинформатический анализ альфа-харпининов растений как основа предсказания их функционала 278

Баринова И.О., Кулагин К.А., Карпов Д.С.
Получение олеогенных штаммов дрожжей ауксотрофных по олеиновой кислоте в качестве продуцентов насыщенных жирных кислот 278

Бидюк В.А., Пахомова М.Д., Кулакова М.В., Каргинов А.В., Агафонов М.О.
Кальциневрин опосредует токсичность SDS для дрожжей *Ogataea parapolymorpha*, участвуя в регуляции кальциевого гомеостаза и активации сигнального пути Hog 279

Бурлака А.А., Галкина К.В., Азбарова А.В., Кнорре Д.А.
Системный поиск генетических факторов чувствительности и устойчивости к протонофорам методом BARseq 280

Голосова Н.Н., Морозова В.В., Козлова Ю.Н., Хлусевич Я.А., Тикунова Н.В., Матвеев А.Л.
Изучение эндолизина LysSte134 и получение химерных Fc-слитых вариантов 281

Давлетшин А. И., Тютяева В. В., Андреева А. А., Гарбуз Д. Г., Карпов Д.С.
Улучшенные геномные редакторы на основе *S. pyogenes* Cas9 с мутациями в PAM-связывающем домене 281

Долматова А.И., Полякова А.Н., Катунина И.В., Качалкин А.В., Карпов Д.С.
Вулканические почвы Северных Курил: биотехнологический потенциал дрожжевого биоразнообразия 282

Землянко О.М., Кадысева А.А., Матвеенко А.Г., Журавлева Г.А.
Влияние мутаций в гене UPF1 на жизнеспособность нонсенс-мутантов по генам SUP45 и SUP35 у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* 283

Карпухин А.Д., Сливинская Е.А., Гронский С.В.
Эффективная оптимизация CRISPR/MAD7-опосредованного одновременного редактирования нескольких геномных локусов дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* 283

Киреева Н.А., Галкина К.В., Соколов С.С., Кнорре Д.А.
Роль PDR5 в коллективной защите клеток дрожжей от липофильных ксенобиотиков 284

Пахомова М.Д., Каргинов А.В., Кулакова М.В., Агафонов М.О.
Дефекты *N*-гликозилирования белков в секреторном пути снижают чувствительность к ортованадату у мутантов *Ogataea polymorpha* с нарушенным фосфоманнозилированием 285

Поряднева Е.О., Хованкина А.В., Сабирзянов Ф.А.
Сравнение свойств репортерных флуоресцентных белков fuGFPb и yEGFP в дрожжах *Saccharomyces cerevisiae* 286

Потапенко Е.Ю., Кашко Н.Д., Кнорре Д.А.
Проточная цитометрия позволяет детектировать накопление митохондриальной ДНК в клетках *Saccharomyces cerevisiae* при аресте клеточного цикла 286

Сурикова Е.Д., Кнорре Д.А., Галкина К.В.
Комплементация роста дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* с нарушением синтеза убихинона Q6 экзогенными хинонами 287

Тимошкова А.М., Третьяков Д.О., Фенюк Б.А.
Влияние механизмов регуляции АТФазной активности АТФ-синтазы на выживаемость и рост *Saccharomyces cerevisiae* 288

Трубицина Н.П., Москаленко С.Е., Журавлева Г.А.
Эффекты замен в каталитическом G-домене фактора терминации трансляции eRF3 *Saccharomyces cerevisiae* 288

Черенкова А.А., Мелькина О.Е.
Белок B28150g дифференциально регулирует экспрессию генов формиатдегидрогеназ дрожжей *Yarrowia lipolytica* 289

БАКТЕРИОФАГИ И ДРУГИЕ ВИРУСЫ МИКРООРГАНИЗМОВ

Секционные доклады

Богданов Е.А., Вишняков А.Э., Котенко О.Н., Летаров А.В., Островский А.Н.
Сложные симбиотические системы с участием морских колониальных беспозвоночных, бактерий и бактериофагов 290

Долгова А.С., Шабалина А.В., Оснач В.А.
Изучение ферментативной активности деполимераз бактериофагов *Klebsiella pneumoniae* 291

Запевалов А.Т., Пасивкина М.А., Анурова М.Н.
Разработка коктейля бактериофагов, специфичных в отношении возбудителей инфекционных поражений кожи и мягких тканей, с перспективой применения в изделиях медицинского назначения 291

Захаревич Н.В., Климина К.М.
Кишечный виром как прогностический инструмент: могут ли бактериофаги стать биомаркерами исхода иммунотерапии? 292

Зюркалова Д., Джус У.Ф., Габдулхаков А.Г., Глухов А.С.
Шаперонин бактериофага ОВР – необходимый компонент для развития фага 293

Казанцева О.А., Шадрин А.М.
Комплексное изучение нового бактериофага *Bquatquinnuvirus eskimopiis* (штаммы B450T и B450C) индуцированного из *B. thuringiensis* VKM B-450 294

Копосова О.Н., Казанцева О.А., Кулябин В.А., Шадрин А.М.
Характеристика пяти Peptidase_M15_3-домен содержащих эндолизинов бациллярных бактериофагов 294

Корниенко М.А., Беспятых Д.А., Медведев К.Е., Киселев С.И., Абдраймова Н.К., Городничев Р.Б., Шитиков Е.А.
Интегразы профагов *Staphylococcus aureus*: глобальный анализ разнообразия и установление сайтов интеграции 295

Кудрявцева А.А., Уткина А.А., Манухов И.В.
Антирестрикционные белки ArdA и ArdB: структуры, функции, перспективы применения 296

Кузнецов А.С., Моисеенко А.В., Матюшкина Д.С., Барбашин Д.Д., Бубенчиков М.А., Голомидова А. К., Куликов Е.Е., Летаров А.В.
Структурная организация бактериофага φ24B и функциональная характеристика его боковых фибрилл 297

Куликов Е.Е., Голомидова А. К., Габдрахманов Р.М., Зурабов Ф.М., Летаров А.В.
Персонализированная фаговая терапия mdr-уропатогенного штамма *E. coli* с использованием фага mimir124 297

Летарова М.А., Зворыгин Е.Д., Барышева Д.С., Летаров А.В.
Метастабильные ассоциации вирулентных бактериофагов и их хозяев 298

Морозова В.В., Гатауллин Н.К., Козлова Ю.Н., Бабкин И.В., Бардашева А.В., Жираковская Е.В., Тикунов А.Ю., Федорец В.А., Ушакова Т.А., Тикунова Н.В.
Бактериофаги природных аэромонад: особенности геномов и биологических свойств 299

Румянцева М.Л.
Фаги и профаги *Sinorhizobium meliloti*: структурное разнообразие, геномика, филогения, горячие сайты интеграции 300

Соколова О.С.
Структурные исследования ранних стадий инфекции бактериофага PhiKZ 301

Сорокина Н.П., Кураева Е.В., Чуксина Т.А.
Распространение и биоразнообразие батериофагов лактококков, циркулирующих на сыродельных предпрятиях 302

Тикунова Н.В., Байков И.К., Бабкин И.В.,Морозова В.В., Тикунов А.Д., Федорец В.А.
Новый тип DGR-кассет, присущий неизвестной группе бактериофагов 302

Уткина А.А., Кудрявцева А.А., Манухов И. В.
ДНК-мимикрирующие антирестрикционные белки имитируют сайты узнавания ферментов рестрикции-модификации 303

Федорова М.С., Задорина И.И., Анисимова А.А., Тризна Е.Ю., Каюмов А.Р.
Бактериофаги *Pseudomonas* для терапии инфекций, вызываемых *Pseudomonas aeruginosa* 304

Шабалина А.В., Долгова А.С.
Получение бактериофагов *Klebsiella pneumoniae* in vitro 304

Шитиков Е.А., Зайчикова М.В., Беспятых Д.А., Киселев С.И.,
Корниенко М.А., Климина К.М, Городничев Р.Б.,
Шлеева М.О., Герман А.М., Внукова А.А., Малахова М.В.
YASNAYAPOLYANA – новый фаг кластера K, активный против *Mycobacterium tuberculosis* 305

Постерные доклады

Абдраймова Н.К., Шитиков Е.А., Беспятых Д.А., Корниенко М.А.
Эффективность бактериофага vB_SauM-515A1 в сочетании с линезолидом против
Staphylococcus aureus 306

Бузиков Р.М., Петухова М.И., Аленко А.М., Рябова Н.А., Шадрин А.М.
Бактериофаги, подавляющие рост энтерококков 307

Бузиков Р.М., Кулябин В.А., Петухова М.И., Аленко А.М,
Рогачевский В.В., Рябова Н.А., Шадрин А.М.
Физиологические свойства и особенности организации генетического материала
бактериофага vB_ElaP_1E1, заражающего бактерий рода *Enterococcus* 307

Глухов А.С., Марченков В.В., Джус У.Ф., Селиванова О.М., Габдулхаков А.Г.
дУТФаза бактериофага T5: необходимый компонент в процессе сборки головок фага 308

Гришковец Д.С., Кузнецов А.С., Барбашин Д.Д., Голова Д.М., Летаров А.В.
Выделение колифагов широкого спектра из почв и твердых атмосферных выпадений г.
Москвы 309

Зимин А.А., Скобликов Н.Э., Кудрявцева А.В., Назипова Н.Н., Осепчук Д.В.,
Сузина Н.Е., Летарова М.А., Летаров А.В.
Филогенетический анализ АТФ-зависимых ДНК-лигаз новых бактериофагов рода *Krischvirus*
семейства *Straboviridae* 310

Зворыгин Е.Д., Летарова М.А.
Коэволюция фага и бактерии-хозяина в перевиваемых ассоциациях фага ph515A1 и
Staphylococcus aureus A515 311

Кулябин В. А., Зиновьева К. Ю., Скорынина А. В., Шадрин А. М.
Конструирование и биохимическая характеристика слитых антимикробных белков с двойной
ферментативной активностью 311

Никулина А.Н., Никулин Н.А., Сузина Н.Е., Зимин А.А.
Отбор T4-родственных бактериофагов с низкой частотой трансдукции для терапии
инфекций, вызываемых *E.coli* 312

Никулина А.Н., Шорохова А.П., Зимин А.А., Сузина Н.Е., Никулин Н.А.
Исследование взаимодействия *Bdellovibrio bacteriovorus* hd100, бактериофага T4
и *E.coli* при концентрациях NaCl, моделирующие природные 313

Скорынина А. В., Рябова Н. А., Шадрин А. М.
Структурно-функциональный анализ рецептор-связывающих белков четырех T7-подобных
фагов *Pseudomonas syringae* 313

Тимошина О.Ю., Иванов П.А., Кривонос Д.В., Корнеенко Е.В., Моисеенко А.В., Летаров А.В.
Выделение и характеристика нового бактериофага рода *Dhillonvirus*, инфицирующего *E. coli* 314

Шорохова И.А., Копосова О.Н., Казанцева, О.А., Кулябин В.А., Шадрин А.М.
Характеристика эндолизина PlyC19 бактериофага B450, заражающего бактерий группы
Bacillus cereus 315

РАЗДЕЛ 2

МЕТАБОЛИЗМ И ГЕНОМИКА МИКРООРГАНИЗМОВ

Устные доклады

Терёшина В.М., Януцевич Е.А., Данилова О.А., Сахарова С.А.
Роль мембранных липидов и осмолитов в адаптации к стрессу клеточной стенки у *Aspergillus niger* 316

Постерные доклады

Айзатуллина Л.М., Миронова А.В., Тризна Е.Ю., Каюмов А.Р.
Изменения восприимчивости микроорганизмов к антимикробным препаратам в грибково-бактериальных сообществах 317

Выборная Т.В., Степанова А.А., Хозов А.А., Молев С.В., Бубнов Д.М.
Поиск новых транспортных систем l-метионина через цитоплазматическую мембрану Escherichia coli к-12 318

РАЗНООБРАЗИЕ И ЭКОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

Постерные доклады

Белимов А.А., Шапошников А.И., Азарова Т.С., Юзихин О.С., Вишневская Н.А., Шахназарова В.Ю., Лебединский М.И., Бородина Е.В., Гоголев Ю.В.
Метаболизация фитогормона абсцизовой кислоты ризобактериями оказывает биоконтрольный эффект и модулирует реакцию растений на инфицирование фитопатогенными грибами 319

Бычкова А.А., Бурыгин Г.Л., Зайцева Ю.А.
Выделение пектолитических штаммов из филлосферы *Phalaenopsis blume* 320

Цыганова А.В., Цыганов В.Е.
Инфекционная нить – уникальный путь ризобий в клубенек 321

МИКРОБНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

Постерные доклады

Гладков Г.В., Кимеклис А.К., Орлова О.В., Лисина Т.О., Андронов Е.Е.
Проблема мобилизации функционального ресурса природных микробиомов в разработке технологий эффективного разложения растительных остатков 322

Камальдинова Д.Р., Максимова К.А., Синягина М.Н., Григорьева Т.В.
Оценка пробиотического потенциала штаммов бацилл для разработки дерматологических биопрепаратов 323

БАКТЕРИОФАГИ И ДРУГИЕ ВИРУСЫ МИКРООРГАНИЗМОВ

Секционные доклады

Пасивкина М.А., Киселева И.А., Анурова М.Н., Лаишевцев А.И.
Синергия бактериофагов и пробиотиков в профилактике кишечных инфекций 324

МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

Секционные доклады

Кудрякова И.В., Афошин А.С., Шишкова Н.А., Иванков Д.Н., Булавко Е.С., Леонтьевская Е.А., Леонтьевская Н.В.
Новая бактериолитическая амидаза Ami *Lysobacter capsici* XL1 325

Постерные доклады

Седашев А.П., Гасюк О.А., Зеркалёва Д.Д.
Видовое разнообразие возбудителей при бактериальном цистите у кошек 326

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ, БИОХИМИЯ И ЭКОЛОГИЯ ДРОЖЖЕЙ

Секционные доклады

Соколов С.С., Сурикова Е.Д., Голышев С.А., Смирнова Е.А., Северин Ф.Ф.
Роль транспортеров стеринов lam в поддержании плазматической мембраны и споруляции дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* 327

РАЗДЕЛ 1

РАЗНООБРАЗИЕ И ЭКОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

ПЛЕНАРНЫЕ ДОКЛАДЫ

ЖИЗНЬ МИКРОБОВ В ПОДЗЕМНЫХ ГЛУБИННЫХ ВОДОНОСНЫХ ГОРИЗОНТАХ

Карначук О.В.

[1]*Томский государственный университет, Томск*

Микробиота глубинных водоносных горизонтов (более 500 м от поверхности) остается наименее исследованной по сравнению с обитателями наземных экосистем. Исследования подземных биотопов затруднены отбором незагрязненных поверхностной биотой проб воды. Артезианские скважины с водой, поступающей под давлением, что гарантирует отсутствие загрязнителей, являются своеобразными «окнами» в глубинную биосферу. Представляемое сообщение обобщает опыт более чем 15-летних исследований микробиоты Западно-Сибирского Артезианского бассейна (ЗСАБ), доступ к которому обеспечивают бывшие нефте- газо-поисковые скважины с термальной артезианской водой. В отличие от глубинных водоносных горизонтов, залегающих в кристаллических породах, нижнемеловые осадочные отложения ЗСАБ содержат литифицированные остатки древних растений и животных, которые наряду с хемолитоавтотрофами, могут служить источниками энергии для разнообразных гетеротрофов. Хемосинтетическая первичная продукция составляет заметную величину со скоростями темновой фиксации углекислоты 5.6-95.0 мкгС/л/сутки. Бактериальная сульфатредукция - одним из ключевых процессов в глубинных слоях, несмотря на небольшие концентрации сульфата в воде. Измеренная скорость процесса, колеблется в пределах от 0.17 до 342 нгS/л/сутки. Парадигматический обитатель подземной биосферы, *Desulforudis audaxviator* gen. nov. sp. nov., может вносить вклад в первичную продукцию при росте на водороде. Однако истинно облигатным хемолитотрофом является другой представитель из клада *Desulforudis* - *Desulfosceptrum tomskiensis* gen. nov. sp. nov. Уникальным свойством клада *Desulforudis* является малая изменчивость генома, обозначаемая как эволюционный стазис. «Замороженные» геномы обнаружены также у *D. tomskiensis* gen. nov. sp. nov. До последнего времени анаэробный характер подземной жизни не вызывал сомнений. Однако последние исследования представляют все больше доказательств присутствия «темного кислорода», образующегося как химически, так и биологически. Новые представители класса *Limnochordia*, выделенные из глубинных биотопов, *Geochorda* gen. nov. и *Carboxidichorda* gen. nov. являются факультативными аэробами. Вероятную гетерогенность подземных местообитаний демонстрирует и одновременное присутствие строго анаэробных *Thermodesulfovibrio* в пробах, характеризующихся активной сульфатредукцией до 41.4 мкгS/л/сутки, и аэробных *Meiothermus*. Остается открытым вопрос об эндемичности обитателей глубинных подземных местообитаний. *Bacillota* из клада *Desulforudis* до сих пор не обнаруживали в надземных экосистемах. Однако *D. audaxviator* сохранил «наземные» черты. В то время как подземные *Geochorda* широко распространены в микробиоте наземных экосистем, а также являются обитателями кишечника животных.

Исследование поддержано грантом РНФ 24-14-00396

E-mail: olga.karnachuk@green.tsu.ru

«НЕКУЛЬТИВИРУЕМЫЕ» АРХЕИ, ДОМИНИРУЮЩИЕ В ГОРЯЧИХ ИСТОЧНИКАХ: ПРЕГРАДА ИЛИ ВЫЗОВ?

Кочеткова Т.В.

ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

Подавляющая часть разнообразия архей относится к «микробной темной материи» – организмам, не поддающимся культивированию, несмотря на их ключевую роль в биогеохимических циклах и значимые доли в сообществах. Хотя современные молекулярные методы (метагеномика, метатранскриптомика, геномика отдельных клеток) позволяют изучать функции этих микроорганизмов без трудоемкого выделения, только работа с чистыми (или высокообогащенными) культурами дает возможность точно охарактеризовать их метаболизм (подтвердить *in silico* предсказания и обнаружить новые свойства), морфологию и симбиотические взаимодействия. Нам удалось преодолеть барьер «некультивируемости» и выделить в чистые культуры первых представителей, доминирующих в горячих источниках архей, относящихся к группам '*Ca*. Marsarchaeota', THSCG, A10/ARK15 и BSLdp215. Комплексный анализ целевых групп с использованием микробиологических и молекулярных подходов позволил (1) отнести эти штаммы к новым семействам и порядкам в филумах *Thermoproteota* и *Thermoplasmatota*, (2) охарактеризовать уникальные метаболические возможности, и (3) определить их роли в экосистемах термальных источников. Эти результаты демонстрируют, что традиционное разделение микроорганизмов на «культивируемые» и «некультивируемые» носит условный характер, а разработка новых подходов к выделению и изучению архей открывает перспективы для более полного понимания микробного разнообразия и их возможностей.
Работа поддержана грантом РНФ №23-14-00312

Email: kochetkova.tatiana.v@gmail.com

ПРОТИСТЫ СОЛЕНЫХ ВОДОЕМОВ, И ИХ МИКРОБИОМЫ: ОТ СИМБИОЗА К БИОТЕХНОЛОГИЯМ

Плотников А.О., Селиванова Е.А.

Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург

В настоящее время микробные сообщества широко используются как индикаторы экологических изменений природных водоемов, в том числе под действием климатических условий, в связи с их особой чувствительностью к факторам среды. В то же время, протисты, представляющие собой одноклеточные и колониальные эукариоты, не относящиеся к растениям, животным, и грибам, исследованы наиболее фрагментарно. Протисты соленых водоемов представляют не только теоретический интерес с точки зрения экологии и эволюции, но и источник биотехнологически перспективных штаммов. В докладе будут представлены результаты многолетних исследований сообществ протистов методом ДНК метабаркодинга в соленых водоемах России (Крымский полуостров, Оренбургская область, Волгоградская область, Алтайский край, Архангельская область), данные об их разнообразии и региональным особенностям. Будет охарактеризовано генетическое разнообразие микроводорослей (*Bacillariophyta* и *Chlorophyta*) в гипергалинных водоемах различной географической локализации. Также будут показаны данные исследования микробиомов отдельных представителей галофильных протистов, их состав и предсказанный метаболический профиль по данным секвенирования 16S рДНК. Отдельное внимание будет

уделено симбиотическим взаимоотношениям протистов и прокариот, а также влиянию симбионтов на ростовые характеристики, накопление каротиноидов и спектр жирных кислот галофильных водорослей – традиционных биотехнологических объектов. Будут представлены данные по составу жирных кислот и пигментов новых штаммов галофильных микроводорослей и оценены перспективы их биотехнологического применения.
Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 25-24-20144, https://rscf.ru/project/25-24-20144/ на базе ЦКП «Персистенция микроорганизмов» ИКВС УрО РАН.

E-mail: protoz@mail.ru

РАЗНООБРАЗИЕ И ЭКОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

СЕКЦИОННЫЕ ДОКЛАДЫ

ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МЕЖБАКТЕРИАЛЬНЫХ АНТАГОНИСТИЧЕСКИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ

Абашина Т.Н., Поливцева В.Н., Сузина Н.Е.

ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН» (Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН), Пущино

Межмикробные взаимодействия являются неотъемлемой частью стратегии выживания, причем как в борьбе за экологическую нишу, так и в среде «среди своих». Многовековая совместная эволюция различных видов приводит их к адаптации, и, как следствие, к большому разнообразию взаимоотношений, как симбиотических, так антагонистических. При помощи комплекса методов световой и электронной микроскопии на ультраструктурном уровне охарактеризованы следующие стратегии межмикробного антагонистического взаимодействия: эпибиоз, стратегия жесткой конкуренции, основанная на преимущественном захвате жизненно важных химических элементов и стратегия взаимодействия по типу «волчьей стаи» (wolfpack). Стратегия взаимодействия по типу «эпибиоз» была охарактеризована на примере бактериальных хищников *Kaistia* sp. NF1 и *Chryseobacteria* sp. NF4. Нами была обнаружена уникальная поверхностная экзо структура в виде полисахаридной «ловчей сети», состоящей из полисахаридных «канатов» и специфических липких гранул, способствующих захвату и стягиванию клеток паразитов и их жертв при участии сил броуновского движения. На примере хищной бактерии *Microbacterium lacticum* шт. F2E предложен механизм бесконтактного антимикробного воздействия в отсутствии диффузного агента, в основе которого лежит стратегия жесткой конкуренции при участии компартментов клеточной стенки с высоким отрицательным зарядом. Стратегию взаимодействия по типу wolfpack реализуют многие бактерии, продуцирующие внеклеточные гидролитические ферменты, которые разрушают другие бактерии в кокультурах. Примером являются почвенные бактерии родов *Myxococcus* и *Lysobacter*. Нами впервые обнаружен новый везикулярный механизм контактного взаимодействия подвижной бактерии-хищника *Stenotrophomonas,* шт. FM3 с клеткой бактерии-жертвы при участии S-слоя, а также, на примере нового изолята хищной бактерии *Microbacterium paraoxydans* шт. Ltr1, была показана способность к секреции везикул у грамположительной бактерии и доказано их участие в антимикробном литическом воздействии.

E-mail: abashina@pbcras.ru

НОВОЕ О РАЗНООБРАЗИИ FRL АДАПТИРУЮЩИХСЯ ЦИАНОБАКТЕРИЙ

Аверина С.Г., Батлуцкая М.Ю., Полякова Е.Ю., Сенатская Е.В., Пиневич А.В.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

Для цианобактерий, в том числе облигатных эндосимбионтов (хлоропластов), типична ассимиляция энергии видимого света длиной волны до 700 нм. Реже встречается, тем не менее, важна в плане глобальной биоэнергетики конститутивная или адаптивная ассимиляция дальнего красного света (>700 нм, FRL). Фотосинтетическая адаптация к FRL достигается комплексной перестройкой пигментного аппарата, в частности образованием так называемых “длинноволновых” хлорофиллов *d* и *f*. Хотя ответственный за данный процесс генный кластер FaRLiP найден у представителей разных таксономических групп цианобактерий, спектр их описанного разнообразия относительно узок, а число опубликованных штаммов (43) мало, что, несомненно, тормозит дальнейшее изучение феномена. В последнее время нами дополнительно изолировано 35 морских, пресноводных и почвенных штаммов из разных ниш и географических регионов. Согласно данным 16S-риботипирования они относятся к пяти филогенетическим порядкам (*Chroococcales, Nostocales, Coleofasciculales, Nodosilineales* и *Leptolyngbyales*). С применением полифазного подхода к анализу этих штаммов нами описаны новые таксоны FLR-адаптирующихся цианобактерий (*Altericista variichlora* gen. et sp. nov., *Kovacikia brocelensis* sp. nov. и *Leptolyngbya fluviusnevae* sp. nov.). Помимо этого, на этапе описания несколько *Leptolyngbya*-подобных штаммов как представители новых таксонов порядка *Nodosilineales* в ранге рода и вида. Реконструкция структуры кластера FaRLiP у штаммов *A. variichlora* CALU1173 и *K. brocelensis* CALU1929 показала его отличия от кластеров, изученных другими исследователями у FRL адаптирующихся цианобактерий. Осуществляются секвенирование и аннотирование геномов новых объектов. Дальнейшее исследование преследует ряд взаимосвязанных целей: 1) расширение числа и разнообразия оригинальных штаммов; 2) полифазное описание и валидное опубликование новых таксонов; 3) создание пула модельных FLR-адаптирующихся штаммов широкого пользования.

Исследование поддержано грантом РНФ №24-24-00052 и выполнено на базе Научного Парка СПбГУ.

E-mail: s.averina@spbu.ru

РАЗНООБРАЗИЕ И ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ ВОДОЕМОВ, СОДЕРЖАЩИХ НИЗКОАКТИВНЫЕ ОТХОДЫ

Бабич[1] Т.Л., Соколова[1] Д.Ш., Семенова[1] Е.М., Романчук[2] А.Ю., Назина[1] Т.Н.

[1]Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва
[2]Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

Широкое использование радионуклидов для производства энергии и в других отраслях приводит к накоплению большого объема щелочных, кислых и нейтральных жидких радиоактивных отходов (РАО), которые захоранивают в поверхностных водоемах или подземных водоносных горизонтах. Микроорганизмы могут влиять на функционирование хранилищ жидких РАО за счет воздействия на радиоактивные и нерадиоактивные компоненты отходов. Целью работы было определение биоразнообразия, численности и потенциальной функциональной активности микроорганизмов в поверхностных хранилищах низкоактивных отходов (НАО) с детекцией сезонных колебаний. Объектом исследования

были пробы воды из водохранилищ (ВХ) и пульпохранилищ (ПХ), расположенных на территории АО «Сибирский химический комбинат» (СХК, Томская обл.), и технологического резервуара 354а на территории Горно-химического комбината (ГХК, Красноярский край). В работе были использованы микробиологические, аналитические, молекулярно-биологические и биоинформатические методы исследования. Методом анализа генов 16S рРНК показано доминирование представителей домена *Bacteria* в микробных сообществах водо- и пульпохранилищ СХК; доля *Archaea* не превышала 0.75%. В водоемах преобладали бактерии филумов *Pseudomonadota, Cyanobacteriota, Bacteroidota* и *Actinomycetota*. Культуральными методами в пробах воды из ВХ и ПХ обнаружены аэробные органотрофные и анаэробные бродильные, денитрифицирующие и железоредуцирующие бактерии. Восстановление нитратов денитрифицирующими бактериями приводило к снижению Eh среды, что может способствовать переводу радионуклидов из окисленной в восстановленную маломобильную форму. Из проб, отобранных на объектах СХК и ГХК, выделено в чистую культуру 8 штаммов аэробных бактерий родов *Allopusillimonas, Castellaniella, Microbacterium, Actinotalea* и *Bacillus*, адаптированных к экстремальным условиям хранилищ ЖРО. Выявлены сезонные изменения численности и состава микроорганизмов в исследованных пробах, позволяющие оценить влияние микроорганизмов на компоненты отходов и безопасность хранилищ при их эксплуатации и консервации.
Работа выполнена при поддержке РНФ (грант № 23-73-30006).

E-mail: microb101@yandex.ru

СОСТАВ И МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ ПРОКАРИОТНЫХ СООБЩЕСТВ ГЛУБИННЫХ СЛОЕВ ГАЗОНАСЫЩЕННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ КАНДАЛАКШСКОГО ЗАЛИВА

Бадмадашиев[1] Д.В., Строева[1] А.Р., Меркель[2] А.Ю., Клюкина[2] А.А., Полудеткина[1] Е.Н., Бонч-Осмоловская[1, 2] Е.А.

[1] Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва
[2] ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

В прокариотных сообществах верхних 50 см донных отложений Кандалакшского залива Белого моря присутствует выраженная стратификация, но в газонасыщенных зонах состав сообществ остаётся однородным до 100 см ниже поверхности морского дна (н.п.м.д.). Цель работы – исследование микробного разнообразия и функционального потенциала сообществ глубинных горизонтов газонасыщенных отложений. Пробоотбор образцов донных отложений Кандалакшского залива производился в 2022-2023 гг. В 2022 г. для анализа было отобрано 2 образца с глубины 30 см н.п.м.д. для полногеномного метагеномного секвенирования, в результате которого было реконструировано 20 метагеномно-собранных геномов (MAG). Метаболические пути аннотированы по KEGG и CAZy. В 2023 г. было отобрано 23 образца с глубин 10–200 см н.п.м.д. в Кандалакшском заливе для секвенирования ампликона V4 региона гена 16S рРНК. По результатам 16S рРНК-профилирования состав сообществ газонасыщенных отложений существенно менялся с глубины 100 см н.п.м.д., ниже которой увеличивалась доля *Sandaracinaceae, Hyphomicrobiaceae* и некультивируемых групп JS1 и 67-14. Анализ отдельных вариантов последовательностей ампликонов (ASV) в доминирующих таксонах показал, что среди них присутствуют как универсальные ASV, так и ассоциированные с определенными слоями отложений. Таксономическая принадлежность реконструированных MAG согласуется с данными 16S рРНК-профилирования. Два MAG *Sandaracinaceae* (SG8-38) содержали кластер генов деградации лигнина и ароматических соединений. Среди MAG, классифицированных как *Hyphomicrobiaceae*, были представители

родов *Hyphomicrobium* (гены *fccAB* – окисление серы) и *Filomicrobium* с полным набором генов денитрификации. MAG *Bathyarchaeia* (Bathy-15) содержали кластер, ассоциированный с метаболизмом C_1-соединений. MAG *Anaerolineales* характеризовались способностью к утилизации полисахаридов и ароматических соединений. Таким образом, прокариоты газонасыщенных отложений демонстрируют широкий метаболический потенциал, отражающий адаптацию к условиям глубинных горизонтов и активную переработку сложноразлагаемой органики.

E-mail: dbadmadashiev@gmail.com

РАЗНООБРАЗИЕ ПРОКАРИОТ В ВОДЕ И ОСАДКАХ ЗАПАДНОГО АРАЛЬСКОГО МОРЯ

Бонч-Осмоловская Е.А., Черных Н.А., Меркель А.Ю., Сметанин Р.В., Кондрашева К.В., Алимов Ж.Э., Слободкин А.И., Давранов К.Д.

МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

Аральское море находится на границе Узбекистана и Казахстана. Еще 70 лет назад Аральское море было одним из 4 крупнейших озер мира; его площадь составляла 66 тыс. км^2, а минерализация воды составляла лишь 1 %. Однако активное развитие сельского хозяйство в регионе истощило впадающие в Арал реки – Сыр-Дарью и Аму-Дарью. В результате южная часть Аральского моря сократилась до узкого гиперсоленого водоема в юго-западной части (Западное Аральское море) с минерализацией 22%. Целью настоящей работы было исследование разнообразия архей и бактерий в Западном Аральском море и оценка их метаболического потенциала. Из образцов воды и осадков Западном Аральского моря была выделена ДНК и проведен анализ вариабельных участков генов 16S рРНК (Черных и др., 2024); для двух образцов воды и одного образца осадков было проведено метагеномное секвенирование и собрано 43 индивидуальных генома архей и бактерий. В образцах воды доминировали галофильные археи семейства *Haloferacaceae* (43.9 и 25.3%) и бактерии рода *Spiribacter* (27.6 и 36.5%). В образце осадков преобладали бактерии рода *Marinibacter* (57.8%) и *Hydrogenovibrio halophilus* (21.4%). Анализ полученных геномов показал присутствие в них генов гидролаз, разлагающих различные биополимеры, а также генов разложения хлорорганических и ароматических соединений, что соответствует данным о присутствии пестицидов и других ксенобиотиков в воде Аральского моря, впадающих в него рек и окружающих почвах. Таким образом, проведенный впервые анализ микробных сообществ Западного Аральского моря показал, что в воде и осадках присутствуют сообщества экстремально-галофильных микроорганизмов, способных в условиях высокой солености разлагать как сложную органику, так и ксенобиотики, загрязняющие окружающие территории – последствие интенсивного развития сельского хозяйства в регионе в 60-70-е годы XX века.

Работа выполняется при финансовой поддержке РНФ №25-14-00073.

E-mail: annprv@gmail.com

УСТОЙЧИВОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ КАК ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АСПЕКТ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ ПЫЛИ В УРБОЭКОСИСТЕМЕ МОСКВЫ

Ветрова А.А., Иванова А.А., Петриков К.В., Сазонова О.И.

ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН», Пущино

Высокая плотность городского населения способствует распространению бактерий, включая оппортунистические и антибиотикорезистентные. Мелкодисперсная пыль может являться переносчиком микроорганизмов и детерминант устойчивости к антибиотикам. Цель работы - структурная и функциональная характеристика бактериальных сообществ пыли в урбоэкосистеме Москвы, сравнение распространённости модулей спрогнозированного резистома и культивируемых антибиотикоустойчивых бактерий в микробиомах. Объект исследования: образцы пыли (микрочастицы воздуха, пыль с поверхности листьев и асфальта), отобранные в разных зонах Москвы. Методы исследования: метабаркодинг; расчет индексов разнообразия; прогнозирование генов резистентности; культивирование изолятов на средах с антибиотиками. Бактериальные сообщества пыли с листьев имели низкие показатели индексов альфа-разнообразия. Сообщества формировали кластеры по типу биотопа на основе матрицы несходства Брея-Кертиса. Секвенирование в сочетании с PICRUSt использовали для описания бактериальных сообществ и их прогнозируемого функционального потенциала в отношении антибиотикорезистентности. Процент представленности генов антибиотикоустойчивости в биотопе воздух был больше, чем в других биотопах. Культивируемые антибиотикорезистентные штаммы относились к 14 родам; 27% из них обладали устойчивостью к одному антибиотику, остальные были мультирезистентными. В сконструированной сети микробного сообщества города наблюдается взаимодействие, как представителей оппортунистических бактерий, так и потенциальных «доноров», и «реципиентов» генетических детерминант антибиотикорезистентности, что повышает потенциальную грозу здоровью при распространении таких микроорганизмов.
Финансирование Минобрнауки РФ (FMRM-2022-0014).

E-mail: phdvetrova@gmail.com

ТАКСОНОМИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА И БИОХИМИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ МИКРОБИОМОВ ПЕЩЕРЫ ШУЛЬГАН-ТАШ

Гоголев[1] Ю.В., Фролов[2] Е.Н., Кочеткова[2] Т.В., Полякова[1] Е.Ю., Плотников[3] А.О., Балкин[3] А.С., Гоголева[1] Н.Е.

[1] Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань
[2] Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва
[3] Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург

Пещерные биотопы, несмотря на олиготрофные условия, часто населены богатыми микробными сообществами. Обильные настенные обрастания с широким спектром морфологии и окраски колоний покрывают стены пещеры Шульган-Таш на Южном Урале, известной уникальной палеолитической живописью. Нами было исследовано разнообразие, распространение и потенциальное влияние этих биопленок на открытые рисунки, одновременно с выяснением возможной взаимосвязи факторов окружающей среды внутри

пещеры с таксономическим составом микробных сообществ. Среди большого разнообразия обрастаний молекулярно-таксономический анализ выявил два основных кластера микробных сообществ, в большинстве из которых доминировали актинобактерии, и уникальное сообщество с преобладанием гамма-протеобактерий, обнаруженное в глубоких участках пещеры с высоким содержанием CO_2. Также было выявлено, что биопленки способствуют коррозии поверхностей стен пещеры, на которых расположены рисунки; предложены модели сопутствующих биохимических процессов. Метагеномный анализ водных экосистем пещеры выявил богатые специфичные сообщества, включающие прототрофных бактерий и архей, а также высокое разнообразие протист. Среди последних преобладали *Choanoflagellatea* и *Synchromophyceae*, что является уникальной особенностью данных сообществ. Для культивируемых микроорганизмов отмечена способность к гидролизу разнообразных органических соединений. Также обнаружены микроорганизмы цикла метана и железа. На основе культивируемых изолятов могут быть получены технологически значимые штаммы, обладающие способностью утилизации широкого спектра субстратов и толерантностью к низким температурам.

E-mail: gogolev.yuri@gmail.com

ФОТОТРОФНЫЕ СООБЩЕСТВА АЛЬГО-БАКТЕРИАЛЬНЫХ МАТОВ РЕЛИКТОВОГО ВОДОЕМА МАНЫЧ-ГУДИЛО

Горленко В. М., Саввичев А. С. Беленкова В. В., Кадников В. В. Летаров А. В., Летарова М. А, Лунина О. Н., Калганова Т. В, Сухачева М. В.

Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва

Озеро Маныч-Гудило - реликтовый водоем, возникший 2-3 миллиона лет назад на месте древнего пролива соединяющего Черное и Каспийское моря. Современное озеро имеет протяженность свыше 100 км. После постройки в 1930-е годы дамбы озеро стало частью Пролетарского водохранилища на реке Маныч. Общая минерализация воды озера превышает 50 г/л солей, причем в рассоле отмечается высокое содержание аниона сульфата и катиона магния по сравнению с солевым составом мирового океана. В небольших мелководных водоемах, связанных с озером Маныч-Гудило на поверхности донных осадков, происходит обильное развитие альго-бактериальных матов. Нами впервые исследованы особенности биоразнообразия микроорганизмов, формирующих альго-бактериальный мат в прибрежной зоне озера. Исследованный микробный мат имеет черты характерные для сообщества-«сульфурета». Основными продуцентами органического вещества в нем являются, микроводоросли рода *Ulothrix* и нитчатые цианобактерии. способные окислять сульфид до молекулярной серы. Получен ряд чистых культур аноксигенных фототрофных бактерий. Преобладали галофильные пурпурные серобактерии *Ectothiorhodospira marina* и *Lamprobacter modestohalophilus*, а также зеленые серобактерии *Prosthecochloris* sp. Присутствующие в мате несерные пурпурные бактерии Rhodovulum adriatica также способны использовать сульфид при фотосинтезе. Впервые обнаружены хищные бактерии филума Bacteroidota, атакующие фототрофные зеленые серобактерии *Prosthecochloris* sp. Идентифицированные виды бактерий цикла серы характерны для соленых и гиперсоленых водоемов с повышенным содержанием сульфата и двухвалентных катионов. Нами был воспроизведен лабораторный альго-бактериальный мат, сформированный при солености 70 г/л. Микробное разнообразие лабораторного мата определяли методом секвенирования фрагментов гена 16S РНК. Полученные данные расширили представление о видовом составе

бактерий микробного мата Маныч-Гудило, созревающего в экстремальных условиях солености.
Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант 25-24-00184).

E-mail: vgorlenko@mail.ru

НЕОБЫЧНЫЕ СОСЕДИ: ГЕТЕРОТРОФНЫЕ ПРЕДСТАВИТЕЛИ *VERRUCOMICROBIOTA* КАК СПУТНИКИ МЕТАНОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ

Данилова О.В., Салова В.Д., Иванова А.А., Дедыш С.Н.

Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва

Филум *Verrucomicrobiota* включает свободноживущие и симбиотические бактерии, обитающие в широком диапазоне сред и специализирующиеся на деградации полисахаридов. Ввиду трудностей культивирования этих бактерий значительная часть имеющейся о них информации была получена в результате молекулярных исследований. Одним из перспективных подходов к получению изолятов веррукомикробов является их совместное культивирование в сообществе с другими микроорганизмами. Целью исследования было изучение веррукомикробов, ассоциированных с метанотрофными бактериями. Ранее из биореактора с метанокисляющим сообществом был выделен новый веррукомикроб семейства *Opitutaceae,* штамм Vm1, представленный ультрамелкими кокками (диаметром до 0.4 мкм). Он был способен использовать органические кислоты и экзополисахариды, продуцируемые метанотрофом, а его геном включал широкий ряд генов, кодирующих CAZymes для деградации полисахаридов. Дальнейший скрининг ряда метанотрофных накопительных культур из осадков пресноводных водоемов выявил присутствие в их составе клеток сходной морфологии. Анализ состава этих сообществ проводили с помощью молекулярного профилирования по генам 16S рРНК. Выделение новых штаммов проводили с использованием минеральной среды с ксиланом (0.02%) и фитагелем (0.7%) и инкубацией с метаном в газовой фазе. Молекулярный скрининг ряда накопительных культур метанотрофов подтвердил присутствие веррукомикробов в их составе. Были выявлены представители семейства *Opitutaceae*, близкие к изоляту Vm1, веррукомикробы родов *Prosthecobacter* и *Terrimicrobium*, а также представители малоизученного порядка *Victivallales*. Работа по культивированию привела к успешному получению новых представителей семейства *Opitutaceae* в чистую культуру. Результаты исследований позволяют рассматривать метанотрофные сообщества как перспективный источник новых веррукомикробов, а также способствуют расширению знаний о метаболических возможностях этой малоизученной группы бактерий.
Работа проводится при финансовой поддержке гранта РНФ №25-24-00426.

E-mail: vinnigo@gmail.com

«ДИВЕРСАНТЫ» В БИОРЕАКТОРЕ: НОВЫЕ МЕТИЛОТРОФНЫЕ БАКТЕРИИ, СПОСОБНЫЕ ПАРАЗИТИРОВАТЬ НА МЕТАНОТРОФАХ РОДА *METHYLOCOCCUS*

Дедыш С.Н., Салтыкова В.А., Данилова О.В., Ошкин И.Ю., Белова С.Э., Пименов Н.В.

Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

Быстрорастущие термотолерантные метанотрофные бактерии рода *Methylococcus* являются ключевыми продуцентами в технологии производства кормового белка из природного газа. Промышленное культивирование *Methylococcus* идет в нестерильных условиях и сопровождается развитием бактерий-спутников, стимулирующих рост метанотрофа за счет использования продуктов его метаболизма. Примеров отрицательного взаимодействия бактерий-спутников с метанотрофом до сих пор описано не было, хотя о сбоях в процессах культивирования сообщалось неоднократно. В настоящей работе была выделена и исследована новая факультативно метилотрофная бактерия, штамм S20, способная паразитировать на метанотрофах рода *Methylococcus.* Массовое развитие этих бактерий в биореакторе приводило к резкому падению продуктивности процесса. Клетки штамма S20 прикреплялись к клеткам метилококков с помощью полярного адгезина и разрушали клеточную стенку метанотрофа, получая доступ к метанолу, образующемуся в периплазме клетки. Анализ генома штамма S20 позволил пролить свет на механизмы его взаимодействия с метанотрофом-жертвой. Эта бактерия описана в качестве нового рода и вида семейства *Ancalomicrobiaceae, Methyloraptor flagellatus* gen. nov., sp. nov. Источником этих бактерий является водопроводная вода, поэтому ее контроль на наличие *Methyloraptor*-подобных бактерий важен для обеспечения стабильности процесса промышленного культивирования.

Работа выполнена в рамках проекта НЦМУ «Направленный поиск и метаболическая инженерия новых метанотрофных бактерий как продуцентов кормового белка для высокоэффективной аквакультуры», финансируемого Министерством науки и высшего образования РФ.

E-mail: dedysh@mail.ru

АЛКАЛОТЕРМОФИЛЬНАЯ ЖЕЛЕЗОРЕДУКЦИЯ - РАСШИРЕНИЕ ДОСТОВЕРНЫХ ЗНАНИЙ ОБ ЭКОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ВОЗМОЖНОСТЯХ АНАЭРОБНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ЦИКЛА ЖЕЛЕЗА

Заварзина Д.Г.

Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

Процесс получения энергии микроорганизмами за счет восстановления минералов окисного железа исследуется с 1980-ых годов. Анализ распределения железоредукторов в координатах pH и T, проведенный Nixon с соавторами в 2022 году, показал, что 40% описанных видов относятся к экстремофилам. Термодинамические расчеты указывали на возможность существования полиэкстремофильных железоредукторов, хотя таких микроорганизмов на момент публикации известно не было, что существенно искажает реальную картину распространенности процессов железоредукции на Земле. Целью наших исследований было закрыть имеющийся пробел знаний об экофизиологии железоредукторов, доказав их присутствие в местообитаниях с повышенными значениями pH и температуры. Нами были исследованы пробы воды и осадков термальных источников Бурятии, характерными особенностями которых является низкая минерализация воды, pH 7.8-9.5 и температуры 50-75 ^{o}C. Исследования проводились с использованием комплекса молекулярных

(профилирование природных проб воды и накопительных культур по гену 16S рРНК, получение метагеномных и геномных данных) и классических микробиологических методов. В качестве акцептора электрона для получения накопительных и чистых культур алкалотермофильных железоредукторов использовали синтезированный минерал ферригидрит. В результате работы были получены несколько накопительных культур, одна из которых (pH 8.8, T 55 ^{o}C) на 50% была представлена новым видом рода *Parvivirga* – одного из первых культивируемых представителей группы OPB41 (ныне порядок *Anaerosomatales*) филума *Actinomycetota*, а также чистая культура (pH 9.0, T 65 ^{o}C) бактерии, представляющей новый класс в филуме *Bacilotta_B.* Таким образом, удалось не только подтвердить предположение о возможности протекания процессов железоредукции при повышенных значениях pH и температуры, но и получить первые чистую культуру алкалотермофильного железоредуктора, глубокое филогенетическое положение которого вносит весомый вклад в знания о бактериальном разнообразии.
Работа поддержана грантом РНФ №24-64-00023.

E-mail: zavarzinatwo@mail.ru

МИКРОБНОЕ ВОССТАНОВЛЕНИЕ ЖЕЛЕЗА В ХОЛОДНЫХ ЭКОСИСТЕМАХ

Захарюк А.Г., Трубицын В.Э., Щербакова В.А.

ФИЦ ПНЦБИ РАН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им Г.К. Скрябина РАН, Пущино

Психрофильные бактерии, восстанавливающие железо, имеют явное преимущество в микробных сообществах холодных мест обитания, богатых различными соединениями Fe(III). Хотя микробиологический процесс железоредуции имеет длительную историю изучения, исследование железовосстанавливающих бактерий (ЖВБ) в низкотемпературных экосистемах только начинается. Целью работы было обобщение имеющейся информации о культивируемом разнообразии бактерий, участвующих в процессах восстановления Fe(III) при низких температурах и выяснение их возможной роли в холодных биотопах. В настоящее время описано более ста видов прокариот, способных к диссимиляционному восстановлению железа и только 14 из них могут осуществлять данный процесс при низкой температуре. Большинство штаммов были выделены из экстремально холодных мест обитания, однако, только четыре изолята были классифицированы как психрофильные. Между тем, в лабораторных экспериментах показано, что все выделенные микроорганизмы способны восстанавливать Fe(III) при температуре 4-8 ^{o}C, окисляя при этом различные органические соединения. Также нельзя не отметить, что только 7 штаммов относятся к облигатным железоредукторам. Остальные являются психрофильными и психротолерантными сульфатредукторами, способными восстанавливать железо в отсутствие сульфатов. Холодоустойчивые ЖВБ показали широкое филогенетическое разнообразие и принадлежали к десяти родам восьми разных семейств филумов *Pseudomonadota, Bacillota* и *Thermodesulfobacteriota*. Таким образом, описанные на сегодняшний день микроорганизмы, способные восстанавливать железо при низкой температуре не принадлежат к определенным таксонам, традиционно ассоциирующимися с железоредукцией, а охватывают широкий спектр филогенетических групп. Анализ доступных геномов ЖВБ выявил незначительные различия в аминокислотном составе ключевых ферментов путей восстановления железа у психрофилов и мезофилов.
Нами впервые получены данные о влиянии микроорганизмов на трансформацию железосодержащих минералов в постоянно холодных экосистемах Арктики. Показано, что

психрофильные микробные сообщества оказывают прямое влияние на окислительно-восстановительный режим криолитозоны.
Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 25-24-00337).

E-mail: kuran82@mail.ru

ВЫДЕЛЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА НОВЫХ ПОРЯДКОВ АРХЕЙ, ДОМИНИРУЮЩИХ В ГОРЯЧИХ ИСТОЧНИКАХ КУРИЛ И КАМЧАТКИ

Карасева[1,2] А.И., Ельченинов[1] А.Г., Туленков[1,2] А.С., Клюкина[1] А.А., Кочеткова[1] Т.В.

[1]ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва
[2]МФТИ, Москва.

Молекулярные методы выявили в экосистемах множество архей глубоких филогенетических линий, в основном остающихся «некультивируемыми». Реконструкция их метаболизма, филогении и экологии по метагеномным данным не всегда точна. В осадках горячих источников по всему миру встречаются и часто преобладают некультивируемые археи филумов *Thermoplasmatota* (группы A10/ARK15, BSLdp215) и *Thermoproteota* (THSCG, '*Ca.* Marsarchaeota', '*Ca.* Geoarchaeota'). Работа посвящена первым выделенным чистым культурам некоторых из этих групп. Из осадков кислого горячего источника (53.5°C, pH 2.6) кальдеры Узон (Камчатка) выделен штамм '*Tardisphaera saccharovorans*' АК-3817, ранее относящийся к '*Ca.* Marsarchaeota'. По нашим данным[1], эти археи в источниках Курил и Камчатки могут составлять до 42.5% от всего сообщества. Они обильно населяют и гидротермы парка Йеллоустоун в США. По данным анализа полного генома предложен '*Tardisphaerales*' ord. nov. внутри филума *Thermoproteota*. Штамм является анаэробным хемоорганогетеротрофом-бродильщиком с большим набором гликозидаз, что подтверждается его ростом на широком спектре полисахаридов. Археа имеет оптимум pH 4.0 и 65 °C. Из осадков источника Заварзин (57 °C, pH 6.1) кальдеры Узон выделен штамм '*Thermolimicoccus acidophilus*' АК-4214, относящийся к порядку A10/ARK15 (нами предложен '*Thermolimicoccales*' ord. nov.). Эти археи могут составлять до 50% микробного сообщества в умеренно горячих кислых источниках[1,3,4]. Штамм является анаэробным хемоорганогетеротрофом, оптимально растет при 70 °C и pH ~4.0. Геномные и экспериментальные данные показывают, что он способен к разложению белковых субстратов. Термоацидофильные археи новых порядков '*Tardisphaerales*' и '*Thermolimicoccales*' в осадках кислых горячих источников Курил и Камчатки могут быть деструкторами сложногидролизуемых в анаэробных условиях оргполимеров. Поэтому они нередко доминируют в сообществах, обеспечивая других гетеротрофов мономерными субстратами или факторами роста. Это подтверждается особенностями выделения и культивирования, молекулярно-генетическими и молекулярно-экологическими данными.
Работа выполнена за счет средств гранта РНФ № 23-14-00312.

E-mail: karaseva.ai@phystech.edu

НОВЫЕ АНОКСИГЕННЫЕ ФОТОТРОФНЫЕ БАКТЕРИИ ИЗ СОЛЕНЫХ И СОДОВЫХ ОЗЕР АЛТАЙСКОГО КРАЯ

Комова А.В., Тощаков С.В., Намсараев З.Б.

НИЦ «Курчатовский институт», Москва

Небольшие степные соленые и содовые озера Алтайского края подвержены сильным сезонным и многолетним колебаниям водного режима и, как следствие, изменениям минерализации, щелочности и pH. Аноксигенные фототрофные бактерии, являющиеся частью микробных сообществ этих экосистем, участвуют в круговороте углерода и азота, внося вклад в первичную продукцию и в процесс азотфиксации. Из образцов донных отложений соленых и содовых озер Алтайского края был выделен ряд штаммов галофильных и галоалкалофильных аноксигенных фототрофных бактерий, которые были изучены при помощи морфофизиологических и молекулярно-генетических методов. Среди вновь выделенных штаммов обнаружены новые аноксигенные фототрофные бактерии, растущие в широком диапазоне минерализации и принадлежащие к новым видам семейств *Rhodobacteraceae* и *Ectothiorhodospiraceae*.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Соглашение № 075-15-2025-527 от 30.05.2025 г.)

E-mail: komovaav@gmail.com

ТАКСОНОМИЧЕСКИЙ СОСТАВ И РАЗНООБРАЗИЕ ГРИБОВ И ГЕТЕРОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ В ПОВЕРХНОСТНЫХ ГОРИЗОНТАХ ДОННЫХ ГРУНТОВ КАРСКОГО МОРЯ

Кураков[1] А.В., Брюханов[1] А.Л., Власов[2] Д.Ю.

[1]Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва
[2]Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

С помощью высокопроизводительного секвенирования изучен таксономический состав сообществ грибов и гетеротрофных бактерий в донных грунтах Карского моря.

Отбор образцов грунтов (в 12 локациях на глубинах от 16 до 417 м) проводили в юго-западной части Карского моря в ходе 89-го рейса НИС «Академик Мстислав Келдыш». Для определения таксономического состава сообществ грибов анализировали вариабельные регионы ITS1 и ITS2, прокариот – вариабельный регион V3-V4 гена 16S рРНК. В донных грунтах Карского моря доминировали грибы из отделов *Ascomycota* (более 50%) и *Basidiomycota* (10-20%), число прочтений ITS хитридиомицетов и представителей других отделов было менее 2%. Среди аскомицетов преобладали ОТЕ классов *Sordariomycetes* и *Eurotiomycetes,* базидиомицеты представлены дрожжевыми организмами семейств *Filobasidiaceae, Sporidiobolaceae, Tremellaceae* и ксилотрофами (*Entolomataceae, Meruliaceae, Polyporaceae, Strophariaceae* и др.). В микобиоме каждого образца обнаруживали до 32 видов. Сообщества были сходны на разных глубинах при сравнении на уровне крупных таксонов, но различны по представленности семейств и родов. Среди аэробных гетеротрофных бактерий выявлены ОТЕ многих семейств и порядков филумов *Pseudomonadota*, *Actinomycetota*, *Bacteroidota*, *Verrucomicrobiota*, *Gemmatimonadota*, *Myxococcota* и *Acidobacteriota*. В верхних окисленных горизонтах обнаружены также нуклеотидные последовательности, характерные для строго анаэробных микроорганизмов: некультивируемых сульфатредуцирующих бактерий из филума *Thermodesulfobacteriota* (3,1-4,2% от всех прочтений гена 16S рРНК) и

хемогетеротрофных бактерий из класса *Anaerolineae* филума *Chloroflexota* (2,7-2,9%). Для поверхностных донных грунтов Карского моря характерно довольно высокое разнообразие грибов и гетеротрофных бактерий разных таксонов, формирующих сложные сообщества.

E-mail: kurakov57@mail.ru

ТАКСОНОМИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ГЕНОМОВ ИЗ МЕТАГЕНОМА В СОЛЕНЫХ ОЗЕРАХ БАРГУЗИНСКОЙ КОТЛОВИНЫ БАЙКАЛЬСКОЙ РИФТОВОЙ ЗОНЫ

Лаврентьева[1,2] Е.В., Банзаракцаева[1] Т.Г., Дамбаев[1] В.Б., Никитина[2] Е.П., Клименко[3] Е.С., Белькова[3] Н.Л.

[1]ФГБУН Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, Улан-Удэ
[2]ФГБОУ ВО Бурятский государственный университет им. Д. Банзарова, Улан-Удэ
[3]ФГБУН «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», Иркутск

На территории Баргузинской котловины Байкальской рифтовой зоны расположены многочисленные содово-соленые и содовые озера, разнообразные по происхождению, морфологии, гидрохимическому составу и гидрологическому режиму [Намсараев и др., 2007]. Впервые реконструированные в этих соленых озерах 37 геномов из метагенома (МАГ) представляют ценные микробные ресурсы для анализа. Таксономическая классификация показала, что преобладающее большинство извлеченных геномов было отнесено к домену *Bacteria* в то время, как только 5 МАГов были отнесены к домену *Archaea*. Эти МАГи охватывали 9 бактериальных и 3 филума архей. Все прокариотные МАГи были отнесены к известным филумам, после аннотирования таксономии с помощью GTDB-Tk. В озере Гуджирганское всего было получено 16 прокариотных МАГов, распределённых по шести филумам: *Pseudomonadota, Gemmatimonadota, Bacteroidota, Desulfobacterota, Bacillota и Deinococcota*. Только три МАГа были классифицированы на уровне рода (один до вида) и принадлежали к галофильным/галоалкалифильным бактериям *Marinobacter, Wenzhouxiangella* и *Isachenkonia alkalipeptolytica*, что подчёркивает важность галоалкалифилов в соленом озере Гуджирганское. В озере Нухэ-Нур было получено 21 прокариотных МАГов, распределённых по шести бактериальным филумам: *Desulfobacterota, Chloroflexota, Bacteroidota, Bipolaricaulota, Deinococcota, Pseudomonadota* и трем архейным филумам: *Aenigmatarchaeota, Halobacteriota* и *Thermoplasmatota*. Только пять МАГов были классифицированы на уровне рода и принадлежали к галофильным/галоалкалифильным бактериям *Desulfosarcina, Desulfurivibrio, Thioalkalivibrio, Nitrincola* и представителю архей - *Methanocalculus* что позволяет предположить возможное доминирование этих прокариот в озере Нухэ-Нур.Ближайшими гомологами собранных МАГов бактерий и архей были последовательности геномов из содовых и содово-соленых озер.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-24-20050, https://rscf.ru/project/24-24-20050/).

E-mail: lena_l@mail.ru

НОВЫЕ КУЛЬТИВИРУЕМЫЕ ‘DESULFORUDACEAE’ ИЗ ГЛУБИННЫХ ПОДЗЕМНЫХ ВОДОНОСНЫХ ГОРИЗОНТОВ

Лукина[1] А.П., Панова[1] И.А., Авакян[1] М.Р., Равин[2] Н.В., Карначук[1] О.В.

[1]Томский государственный университет, Томск
[2]Институт Биоинженерии им. К.Г. Скрябина, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

Кандидатное семейство “*Desulforudaceae*” известно по единственному организму “*Desulforudis audaxviator*”, первоначально описанному в кандидатном статусе на основе композитного генома, полученного из метагенома воды глубинной золотодобывающей шахты в Южной Африке. Метагеномный анализ глубинных термальных вод Западно-Сибирского артезианского бассейна показал присутствие другого представителя семейства, предположительно относящегося к новому роду внутри семейства “*Desulforudaceae*”. Целью настоящего исследования является целевое выделение и изучение новых представителей семейства “*Desulforudaceae”* из глубинных подземных биотопов. Получение чистых изолятов было проведено из глубинных термальных вод артезианских скважин в удаленных друг от друга локациях, включая скважину 3-Р (Ярскую) в Тюмени, скважину Ч-1 в пос. Чажемто (Томская область), скважину 30-РТ в пос. Винокурова (Тобольск) и скважину РН-10 на Нарыкско-Осташкинском метаноугольном месторождении Кузбасса. Предыдущий опыт успешного культивирования “*Desulforudis audaxviator*” штамм BYF позволил разработать эффективную стратегию для получения культур “*Desulforudaceae*” с использованием специальной культуральной среды. В результате было получено четыре чистых изолята, обозначенных как штаммы Tu-874, 1031, 1088 и 1190, со сходством последовательности гена 16S рРНК 100%. Ближайшим культивируемым родственником штаммов являлся “*D. audaxviator*”. Штаммы показали 90.78% сходства последовательности гена 16S рРНК с таковой штамма BYF. Для новых штаммов “*Desulforudaceae*” характерен умеренно термофильный характер роста с оптимумом при 55 °C и узкий спектр возможных доноров электронов для сульфатредукции. Оптимальный рост наблюдали в гидрогенотрофных условиях на среде с H_2 или формиатом с добавлением ацетата в качестве источника углерода. Средняя идентичность аминокислотных последовательностей (AAI) новых штаммов с “*D. audaxviator*” составляла 64.01 – 64.07 %. Мы предлагаем классифицировать штаммы в рамках нового рода *Desulfosceptrum* gen. nov., название, отражающее морфологическую форму спорообразующих клеток в форме скипетра. Типовым видом нового рода является *Desulfosceptrum tomskiensis* sp. nov. Анализ геномных последовательностей штаммов *D. tomskiensis* показал их высокое сходство. Средняя нуклеотидная идентичность (ANI) между новыми штаммами составляла 99.90 – 99.95%, а AAI – 99.94 – 99.99%. Таким образом анализ геномных последовательностей новых штаммов показал, что эволюционный «стазис», продемонстрированный ранее для “*D. audaxviator*” характерен и для новых «*Desulforudaceae»*.

Выделение и изучение физиологии новых штаммов поддержано грантом РНФ 24-14-00396, метагеномный анализ и секвенирование геномов – грантом РНФ 22-14-00178-П.

E-mail: anastasiya-lukina-93@mail.ru

ПРОСТРАНСТВЕННО-СЕЗОННОЕ РАЗДЕЛЕНИЕ НИШ БЛИЗКОРОДСТВЕННЫХ ТАКСОНОВ БАКТЕРИЙ И МИКРОЭУКАРИОТ В ОЗЕРЕ БАЙКАЛ

Михайлов И.С., Букин Ю.С., Петрова Д.П., Сакирко М.В., Захарова Ю.Р.

Лимнологический институт СО РАН, Иркутск

Экологическая (фундаментальная) ниша – это условия окружающей среды, определяющие функциональные свойства вида и позволяющее ему существовать неограниченно долго. Разделение ниши – это использование видами ресурсов и пространства по-разному для стабильного сосуществования и предотвращения конкурентного исключения. Для выявления разделения ниш микроорганизмов с разным уровнем филогенетического родства используется комбинирование подходов по определению ковстречаемости и генетических дистанций микроорганизмов. Целью этой работы было выявление пространственно-сезонного разделения ниш близкородственных таксонов бактерий и микроэукариот в озере Байкал. Пробы воды отбирали в 4 временных точках с весны до осени в фотическом слое 4 станций пелагиали озера Байкал. Структуру сообществ определяли с помощью секвенирования ампликонов V3-V4 региона 16S рРНК и V8-V9 региона 18S рРНК на Illumina MiSeq. Согласно пространственно-сезонным паттернам топ 90 доминирующих ампликон сиквенс вариантов (ASV) бактерий или микроэукариот подразделялись на повсеместные, сезонные (весенние, летне-осенние) и эпизодические. Сезоны, температура, концентрации PO_4^{3-} и NO_3^-, котловины были ключевыми факторами, влияющими на структуру микробных сообществ. Сети ковстречаемости родственных ASV (различия в сиквенсах ≤0.1, уровень до семейства) для каждого из доминирующих таксонов бактерий Acidimicrobiia, Actinobacteria, Cyanobacteriia, Bacteroidia, Verrucomicrobiae и микроэукариот Chrysophyceae, Chlorophyta, Cryptophyceae, Dinophyceae, Ciliophora содержали близкородственные ASV (различия в сиквенсах ≤0.03, уровень до рода), которые имели сходные и различные корреляции между собой и с факторами окружающей среды. В сетях ковстречаемости состоящих из топ 90 ASV бактерий или микроэукариот родственные таксоны имели больше положительных корреляций между собой, что показывает филогенетическую кластеризацию. Дальне родственные или неродственные ASV имели больше отрицательных корреляций между собой, что показывает филогенетическую дивергенцию или сверхдисперсию. Таким образом, с увеличением генетических дистанций между таксонами микроорганизмов увеличивались их функциональные различия (предпочтения к факторам окружающей среды).

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации: 0279–2021-0008.

E-mail: mikhailov-89@mail.ru

МИКОБИОМЫ ЛИШАЙНИКОВ СЕВЕРА РОССИИ: МОЛЕКУЛЯРНЫЙ АНАЛИЗ И КУЛЬТИВИРУЕМЫЕ ПРЕДСТАВИТЕЛИ

Панкратов[1] Т.А., Акопджанян[1,2] А.В.

[1] Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва
[2] Национальный университет «Высшая школа экономики», Москва

Лишайники в северных системах в зонах тундры и северной тайги часто являются эдификаторами экосистем и накапливают значительную биомассу. Из-за особенностей формирования талломов лишайники аккумулируют значительное количество микроорганизмов: бактерии, грибы, простейшие, а также водоросли, не являющиеся

основным фитобионтом. Актуально выявление в лишайниках облигатных и факультативных видов, формирующих пул скрытого разнообразия, неподдающихся культивированию, патогенов и потенциальных продуцентов БАВ. Проведено исследование шести видов лишайников, два из которых сравниваются в аспекте их географической локализации.
Образцы талломов *Cetraria islandica, Nephromopsis nivalis, Cladonia stellaris* и *Stereocaulon vesuvianum* собраны в декабре 2024 г. в Мурманской области (Хибины, окрестности г. Кировск); *C. islandica, N. nivalis, C. arbuscula* и *S. paschale* – в Нарьян-Маре (поселок Искателей). Состав микобиома анализировали двумя методами: NGS секвенирование и посев на питательные среды с последующей идентификацией культур. Метагеномное профилирование показало во всех образцах лишайников преобладание OTE, представляющих отдел Ascomycota (52.3 – 98.7%). Наибольшая доля аскомицетов характерна для образцов, собранных в Нарьян-Маре. OTE, представляющие классы Agaricomycetes, Candelariomycetes, Cystobasidiomycetes, Dothideomycetes, Eurotiomycetes, Lecanoromycetes, Leotiomycetes были доминирующими во всех образцах (1.3 – 51%), а Lecanoromycetes отсутствовали только в *C. stellaris*. Среди порядков наиболее многочисленные и представленные во всех образцах были Atheliales (0.6 – 10%) и Chaetothyriales (1.3 – 51%). Семейство *Atheliaceae* было представлено во всех образцах. Всего выявлено 57 семейств. Значительное количество OTE в ранге семейства были представлены неклассифицированными последовательностями (14 – 68%). Сравнение двух видов лишайников с разной географической локализацией показало, что общими семействами для *C. islandica* были *Hyphodiscaceae, Atheliaceae, Herpotrichiellaceae, Mniaeciaceae, Cladosporiaceae, Cladoniaceae, Dermateaceae*. В образцах *N. nivalis* из Хибин и Нарьян-Мара общими были последовательности, характерные для семейств *Trichomeriaceae, Atheliaceae, Hydnodontaceae, Pezizellaceae, Strophariaceae, Sarocladiaceae, Cladosporiaceae*. Структура культивируемого сообщества грибов была различной у разных видов лишайников, а также зависела от их географической локализации. Общими родами были *Sydowia, Phoma* и *Tolypocladium*. Работа показала, что в лишайниках изученных видов присутствует значительное количество фитопатогенов, паразитов лишайников и насекомых, а также присутствуют новые, ранее некультивируемые таксоны в рангах семейств, родов и видов.
Работа поддержана Российским научным фондом, грант № 25-24-00195 «Грибы в кустистых и листоватых лишайниках России: таксономическое разнообразие и биоцидная активность».

Email: tpankratov@gmail.com

АЭРОБНЫЕ МЕТАНОТРОФНЫЕ БАКТЕРИИ В АНАЭРОБНЫХ ЭКОНИШАХ – СЛУЧАЙНОСТЬ ИЛИ ЗАКОНОМЕРНОСТЬ?

Пименов Н.*В., Каллистова А.Ю., Ошкин И.Ю.*

ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

Несмотря на относительно небольшую площадь, занимаемую континентальными водоемами (около 3% поверхности суши Земли), эти экосистемы в последние годы рассматриваются в качестве значимого источника CH_4 в глобальном метановом бюджете.
Согласно современным представлениям основную роль снижения потока метана из различных наземных и водных экосистем выполняют прокариоты: в аэробных условиях – это аэробные метаноокисляющие бактерии (МОБ), в анаэробных – как бактерии (группа NC10), так и ANME археи. МОБ, в основном представители классов *Alphaproteobacteria* и *Gammaproteobacteria*, используют метан в качестве единственного источника углерода и энергии. Метанмонооксигеназа (растворимая (sMMO) и мембрансвязанная (pMMO)) является ключевым ферментом, ответственным за начальный этап превращения метана в

метанол. Для активации метана и его окисления до метанола sMMO и pMMO требуется O_2, поэтому долгое время считалось, что активность МОБ возможна только в аэробных условиях, хотя жизнеспособные клетки метанотрофов находили и в бескислородных эконишах. В последнее десятилетие появилось множество экспериментальных свидетельств того, что МОБ не только присутствуют, но и активны в бескислородных водах стратифицированных озер и анаэробных осадках. До сих пор остается не до конца понятным вопрос о том, как МОБ выживают и окисляют CH_4 при отсутствии O_2. Известно несколько механизмов, позволяющих МОБ сохранять активность в гипоксидных условиях: МОБ способны экспрессировать терминальные оксидазы с высоким сродством к O_2 (1); МОБ могут устанавливать кооперативные взаимодействия с оксигенными фототрофами, развивающимися при слабом освещении ниже зоны оксиклина, образуя O_2, который сразу же потребляется МОБ для окисления CH_4 (2). Фотозависимое окисление метана было продемонстрировано нами при исследовании различных пресных, слабосоленых и содовых озер. Кроме того, существует гипотеза о том, что МОБ способны осуществлять анаэробное окисление CH_4, используя вместо O_2 различные акцепторы электронов (NO_2^-, NO_3^-, SO_4^{2-}, оксиды Fe и Mn, органические соединения). Мы также неоднократно выявляли активные процессы окисления метана в восстановленных осадках водоемов, где показано присутствие метанотрофов I типа. Основываясь на анализе геномов известных метанотрофов I и II типа, мы предположили, что отдельные представители МОБ способны окислять CH_4 в восстановленных условиях благодаря внутриклеточному образованию O_2 и N_2O в процессе NO-дисмутации. Данный процесс был экспериментально доказан для CH_4-окисляющих бактерий группы NC10 (*Ca.* «Methylomirabilis oxyfera»), а также для амммоний-окисляющих бактерий и архей. Появление у отдельных представителей МОБ O_2-образующего пути дисмутации NO обеспечивает им конкурентное преимущество при колонизации обогащенных CH_4 анаэробных местообитаний, включая гиполимнион и восстановленные осадки водоемов, где их часто детектируют.
Работа финансировалась из средств РНФ (грант № 22-14-00038-П).

E-mail: npimenov@mail.ru

МИКРОБНЫЕ ПРОЦЕССЫ И МИКРОБНЫЕ СООБЩЕСТВА В ВОДНОЙ ТОЛЩЕ И ДОННЫХ ОСАДКАХ ТЕРМОКАРСТОВОГО БЕССТОЧНОГО ОЗЕРА ЧАБЫДА (ЯКУТИЯ, РЕСПУБЛИКА САХА)

Саввичев[1] А. С., Кадников[2] В. В., Русанов[1] И. И., Самылина[1] О. С., Захарова[1] Е. Е., Габышев[3] В. А., Пименов[1] Н. В.

[1]Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва,
[2]Институт биоинженерии им. К.Г. Скрябина, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва
[3]Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск

На приарктических территориях Евразии таяние мерзлотных пород приводит к увеличению количества и расширению площади термокарстовых озер. Таяние озерных мерзлых грунтов приводит к освобождению метана, захороненного в этих породах, что увеличивает общее содержание метана (парникового газа) в атмосфере. В июле 2024 г проведены исследования термокарстового озера Чабыда. При проведении исследований применяли радиоизотопные методы для выявления активности микробных процессов и молекулярно генетические методы для определения состава микробных сообществ. Донные осадки озера Чабыда богаты органическим веществом (38.5%-43.7%). Высокое содержание ОВ в осадках позволяет классифицировать их как сапропели. Было показано, что высокая активность микробного окисления метана соответствует подповерхностному (10-15 см) слою осадков

(МО = 116 мкМ CH_4 $дм^{-3}$ $сут^{-1}$). Активность гидрогенотрофного метангенеза была низкой (0.09-0.22 мкМ CH_4 $дм^{-3}$ $сут^{-1}$). Метилотрофные бактерии в осадках были представлены семействами Methylococcaceae и Methylomonadaceae (род *Crenothrix*). Нитчатые гаммапротеобактерии рода *Crenothrix* окисляют метан в значительных количествах и являются микробной основой природного биофильтра, препятствующего поступлению метана в атмосферу.
Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант 22-14-00038).

E-mail: Savvichev@mail.ru

ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И БИОТОПИЧЕСКАЯ СПЕЦИАЛИЗАЦИЯ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕМЕЙСТВА *LACTOBACILLACEAE*: КОМПЛЕКСНЫЙ АНАЛИЗ ДАННЫХ ПО ИСТОЧНИКАМ ИЗОЛЯЦИИ

Соколова[1] Т.С., Намсараев[1,2] З.Б., Вольф[1] Е.Р., Сазонов[1] А.Э., Акбердин[1] И.Р.

[1]Научный центр генетики и наук о жизни, Научно-технологический университет «Сириус», Сочи
[2]ФГБУ "Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва

Представители семейства *Lactobacillaceae* играют ключевую роль в разнообразных экосистемах. Их значимость обусловлена широким спектром метаболической активности, что делает их незаменимыми в пищевой промышленности и медицине. Несмотря на обширный массив накопленных данных, анализ экологического распространения и биотопической специфичности представителей *Lactobacillaceae*, изоляты культур которых получены и исследованы в лабораторных условиях, показывает, что более 12 процентов природных штаммов из них являются не культивируемыми или пока таксономически не определены. Более того, ключевой проблемой в их идентификации является отсутствие единых стандартов и унифицированных методов классификации штаммов, особенно в отношении описания источников их выделения. Зачастую метаданные, сопровождающие генетические последовательности в базе данных RefSeq NCBI, либо отсутствуют, либо представлены в неструктурированном виде, что делает автоматизированный анализ специфики и особенностей мест обитания данных штаммов малоэффективным. Настоящее исследование направлено на преодоление ограничений в анализе глобального распространения *Lactobacillaceae* и выявление новых мест обитания и функциональных особенностей штаммов этого семейства, которые статистически значимо выявлены в различных географических точках, но для которых не получены лабораторные изоляты. Для этого был разработан скрипт для автоматизированного сбора, анализа и визуализации данных, который принимает на вход таксономический идентификатор семейства согласно базы NCBI Taxonomy. На выходе формируется таблица, содержащая информацию об источнике изоляции, типе эксперимента, научной группе и географическом местоположении образца для всех представителей семейства. Существенным аспектом исследовательской работы стала ручная классификация, унификация и накопление всех собранных источников изолятов семейства *Lactobacillaceae*. Такой комбинированный подход позволил создать структурированный набор данных, пригодный для изучения экологических ниш и глобального распространения *Lactobacillaceae,* основанный на более чем 2000000 записей из базы данных Nucleotide, относящихся к 4009 таксономическим единицам семейства *Lactobacillaceae*. Результаты анализа открывают перспективы для обнаружения перспективных биотопов и поиска новых штаммов молочнокислых бактерий. Данное исследование не только подчеркивает критическую важность стандартизации и полноты

метаданных, депонируемых в публичные базы данных, для проведения более точных и глубоких анализов, но и вносит вклад в будущую автоматизацию подобных анализов.
Финансирование: Исследование поддержано грантом ФТ «Сириус» соглашение №18-03 от 10.09.2024

E-mail: sokolova.ts@talantiuspeh.ru

ИССЛЕДОВАНИЕ РАЗНООБРАЗИЯ И МЕТАБОЛИЗМА МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ СЕРОВОДОРОДНЫХ ТЕРМАЛЬНЫХ ИСТОЧНИКОВ РЕСПУБЛИКИ ДАГЕСТАН ПРИ ПОМОЩИ *SHOTGUN*-МЕТАГЕНОМИКИ

Тутубалина[1] Н.А., Петрова[1] К. О., Козлова[1] А.Д., Крылова[1] А.С., Прокопенко[1] А.В., Алиева[2] З.А., Теймуров[2] А.А., Гаджиев[2] А.А., Намсараев[1] З.Б., Тощаков[1] С.В.

[1] НИЦ «Курчатовский институт», Москва
[2] Институт экологии и устойчивого развития ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный университет», Махачкала

Микробные сообщества термальных источников служат средой обитания для уникальных таксонов, а ферменты термофильных прокариот широко применяются в промышленности и биотехнологии. Однако, несмотря на обилие термальных источников на Северном Кавказе, их микробный состав практически не изучен методами, не зависящими от культивирования.
В этой работе мы провели секвенирование метагеномных проб из девяти термальных источников Республики Дагестан, дополнив ранее полученные данные профилирования по V4 региону гена 16S рРНК. В результате биннинга полученных метагеномных сборок было получено 300 MAG с контаминацией ≤10% и полнотой ≥70%. Более трети полученных MAG относились к филумам Pseudomonadota, Desulfobacterota и Campylobacterota. В источнике близ села Талги большая часть MAG принадлежала некультивируемым прокариотам из преимущественно симбиотических филумов и суперфилумов: DPANN, CPR и Omnitrophota.
Аннотация генов метаболических путей показала, что прокариоты исследуемых сообществ активно метаболизируют соединения серы, эффективно окисляя сульфид- и тиосульфат-ионы. При этом в сборках отсутствовали гены классического пути восстановления элементарной серы (с участием редуктазы серы, sreABC), но были обнаружены гены альтернативных путей: через полисульфид (psrABC) и при помощи НАД(Ф)Н-сера оксидоредуктазы (NSR).
Работа проведена в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатовский институт».

E-mail: nina.tutubalina@gmail.com

РАНЕЕ НЕКУЛЬТИВИРУЕМЫЕ ПРОКАРИОТЫ ТАМАНСКОГО ПОЛУОСТРОВА, ПРИНИМАЮЩИЕ УЧАСТИЕ В БИОДЕГРАДАЦИИ АРОМАТИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

Хомякова М.А., Меркель А.Ю., Слободкин А.И.

Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

Таманский полуостров расположен в западной части Краснодарского края и характеризуется большим количеством заливов, лиманов и грязевых вулканов. Грязевой вулканизм –

геологическое явление, связанное с залеганием углеводородов и оказывающее существенное влияние на баланс атмосферного метана. С использованием микробиологических и молекулярных методов на ароматических соединениях были выделены и охарактеризованы ранее некультивируемые представители глубоких филогенетических линий бактерий и архей из ряда источников полуострова Тамань. Выделенная на 3,4-дигидроксибензоате бактерия, относящаяся к широко распространенной, ранее некультивируемой актинобактериальной группе OPB41, описана как представитель нового порядка *Anaerosomatales, Anaerosoma tenue*. Другая бактерия, выделенная из бинарной культуры на 3,4-диметоксибензоате, относится к ранее некультивируемому порядку класса *Mollicutes*, известному способностью к деградации чужеродной ДНК, и описана как представитель нового порядка *Liberiplasmatales* – *Liberiplasma polymorphum*. Первый культивируемый представитель широко распространенного класса *Bathyarchaeia* был выделен в составе высокоочищенной накопительной культуры на 3,4-диметоксибензоате, детально охарактеризованы его морфофизиологические и геномные особенности, предложено название «*Bathyarchaeum tardum*». Выделенные микроорганизмы являются преимущественно органогетеротрофами и разлагают в анаэробных местообитаниях органические соединения, в т.ч. ароматические. Благодаря наличию чистых культур подтверждены новые метаболические возможности ранее некультивируемых прокариот.
Работа проводилась при финансовой поддержке гранта РНФ 25-24-00052.

E-mail: mary_klimova@mail.ru

РАЗНООБРАЗИЕ И ЭКОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

ПОСТЕРНЫЕ ДОКЛАДЫ

ЭНТОМОПАТОГЕННЫЕ И ФИТОПАТОГЕННЫЕ ГРИБЫ ИЗ ЛИШАЙНИКОВ СЕВЕРА РОССИИ

Акопджанян[1,2] А.В., Панкратов[1] Т.А.

[1]Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва
[2]Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики», Москва

Лишайники известны своей экологической пластичностью, устойчивостью к стрессам высушивания и повышенной инсоляции. Это делает их идеальным убежищем для большого спектра микроорганизмов. Известно, что лишайники способны аккумулировать микроорганизмы, ведущие паразитический образ жизни. В данный момент известно около 2000 видов грибов, паразитирующих на лишайниках. Вместе с тем талломы лишайников могут содержать фитопатогенные и энтомопатогенные грибы, а также патогены человека и животных. Целью данной работы было выделение из талломов лишайников родов *Cetraria, Cladonia, Stereocaulon* и *Nephromopsis* грибов, потенциально способных к паразитированию на насекомых и растениях, выявлению их культуральных и физиологических характеристик.
Посевные инокуляты готовили гомогенизацией пестиком, с последующими разбавлениями в ТРИС-буфере. Посев проводили на агаризованную среду FA+, ранее подобранную для выделения грибов из лишайников. Инкубация посевов проводилась при 16°C в течение двух месяцев с мониторингом и отбором колоний по мере их роста. Филогенетическую принадлежность культур определяли путем сравнения полученных последовательностей генов ITS1, 5.8S, ITS2 с типовыми штаммами из базы NCBI и MycoBank. Среди выделенных грибов из лишайников рода *Cetaria* были обнаружены грибы видов *Cladosporium iridis,*

Ascochyta phacae, Occultifur cladoniae; новые виды в родах *Cladophialophora, Vishniacozyma, Hyalodendriella, Hyphodiscus*; новые роды в семействах *Teratosphaeriaceae, Sakaguchiaceae, Hyphodiscaceae* и др.*;* новые семейства в порядках *Agaricales, Tremellales, Myriangiales, Agaricostilbales, Chaetothyriales, Rhizocarpales, Helotiales.* В талломах *Nephromopsis* найдены: новый вид рода *Lepidopterella*; новые роды в семействах *Hymenogastraceae, Elsinoaceae, Atheliaceae, Herpotrichiellaceae*; новые семейства в порядках *Eurotiales, Agaricostilbales.* Из лишайника *Stereocaulon vesuvianum* изолированы новые виды в роде *Tolypocladium;* новые роды в семействах *Mollisiaceae, Hyphodiscaceae*; новое семейство в порядке *Agaricales*. Из *S. paschale* выделены представители родов *Ascochyta, Penicillium, Beauveria*, нового рода в семействе *Venturiaceae* и нового семейства в порядке *Dothideales.* Новые виды энтомопатогенов *Tolypocladium, Beauveria, Akanthomyces* могут в перспективе стать эффективными инсектицидами. Фитопатогенные грибы были представлены родами *Mycochaetophora, Ascochyta, Cladosporium,* включая виды *Ascochyta phacae, Cladosporium ossifragi, Cladosporium antarcticum, Cladosporium iridis*. Впервые из лишайника выделен новый род в семействе *Sakaguchiaceae,* один из представителей которого является уникальным дрожжеподобным грибом, который был обнаружен в трофосоме (специализированном органе, где обитают симбионты) глубоководных трубчатых червей рода *Lamellibrachia*. Ряд штаммов обладали антимикробной активностью в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий.

Работа поддержана Российским научным фондом, грант № 25-24-00195 «Грибы в кустистых и листоватых лишайниках России: таксономическое разнообразие и биоцидная активность»

E-mail: hakobjanyanarmen0@gmail.com

СТРУКТУРА МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ ЩЕЛОЧНЫХ ГИДРОТЕРМ МОНГОЛИИ

Бархутова[1] Д.Д., Цыренова[1] Д.Д., Лаврентьева[1] Е.В., Данилова[1] Э.В., Амбага[2] М.

[1]Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, Улан-Удэ
[2] Medical University «New Medicine», Улан-Батор, Монголия

Окружающая среда играет большую роль в микробной экологии горячих источников и может способствовать естественному отбору некоторых видов, которые доминируют в экологических нишах (Podar et al., 2020; Saghatelyan et al., 2021). Целью работы было оценить структуру микробного сообщества горячих щелочных источников с разным температурным режимом. Объектами исследования являлись щелочные горячие слабоминерализованные гидротермы Монголии, удаленные друг от друга и расположенные на абсолютной высоте 1087-2140 м с температурой воды ниже 43 °С (Ерoo) и 49-92 °С (Шаргалжуут). Впервые с помощью метода высокопроизводительного секвенирования по гену 16S рРНК было охарактеризовано микробное сообщество. Сравнительный анализ состава доминирующих таксонов показал различия в зависимости от места отбора и типа пробы. Микробное сообщество гидротермы Ерoo характеризовалось значительным видовым разнообразием бактерий - выявлено 349 филотипов (OTU), принадлежащих 32 филумам. Доля домена *Archaea* составляла 0,03-1,59%. Среди бактерий преобладали представители *Pseudomonadota, Cyanobacteria, Chloroflexota, Nitrospirota, Actinomycetota.* Микробное сообщество высокотемпературной сероводородной гидротермы Шаргалжуут включало 18 бактериальных филумов. Доля домена *Archaea* составляла 0,7-28%. Особенностью микробного сообщества матов этого источника было доминирование неклассифицированных бактерий *Candidatus Gloeomargarita*. Известно, что *Ca. G. lithophora* способна производить внутреннюю биоминерализацию, механизм которой является древним в линии цианобактерий (Moreira et al., 2017). Основу цианобактериального мата составляли *Cyanobacteria*, из которых 62%

таксонов являются неклассифированными представителями класса *Cyanobacteria*. Наиболее многочисленный класс *Gammaproteobacteria* в гидротерме Шаргалжуут был представлен неклассифицированными *Comamonadaceae* и *Burkholderiales*, представителей которых относят к «ключевым видам» сообществ флюидов глубоких трещин (Deja-Sikora et al., 2019).
Исследования выполнены в рамках темы госзадания «Микробные сообщества экстремальных природных экосистем Байкальского региона: структурно-функциональная организация и биотехнологический потенциал (№ госрегистрации 121030100229-1)

E-mail: darima_bar@mail.ru

ИЗМЕНЕНИЕ СОСТАВА МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА ГОРНОГО СФАГНОВОГО БОЛОТА В НАЦИОНАЛЬНОМ ПАРКЕ «АЛАНИЯ» ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ВЫТАПТЫВАНИЯ

Белова[1] С.Э., Данилова[1] О.В., Иванова[1] А.А., Качмазов[2] Г.С., Дедыш[1] С.Н.

[1]ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва
[2]Северо-Осетинский государственный университет, Владикавказ

Экотуризм, предлагая потенциальные экологические и образовательные преимущества, может нанести экологический вред, если не управлять им и не учитывать местные экосистемные особенности. Среди различных рекреационных воздействий вытаптывание признано одним из наиболее распространенных и экологически значимых нарушений. Особенно серьезную угрозу вытаптывание представляет для экологической целостности альпийских водно-болотных угодий. Настоящая работа была проведена в Национальном парке «Алания», Северная Осетия, Россия (42º53'47"N, 43º34'36"E). В работе сравнивали образцы почвы, отобранные на высокогорном сфагновом болоте горы Кубус (2058 м над уровнем моря) и проходящей через него экотропе. Влияние вытаптывания на свойства почвы и бактериальные сообщества в болоте оценивали с помощью секвенирования ампликонов гена 16S рРНК. Вытаптывание увеличило плотность почвы на 45% (до 1,26 г/см³) и снизило содержание воды и общего органического углерода, а также вызвало увеличение pH с 4,3 до 4,8. Площадь растительного покрова сократилась до 30%, а сфагновые мхи были замещены травами. Эти изменения сопровождались заметными перестройками состава микробного сообщества. Основными компонентами сообщества оставались *Proteobacteriota*, *Acidobacteriota*, *Verrucomicrobiota* и *Actinobacteriota*, но их относительное обилие значительно снизилось, а в составе доминантов появились представители *Chloroflexota*. Небольшое увеличение pH, вероятно, способствовало замене ацидофильных таксонов, таких как *Granulicella* и *Bryobacter*, на некультивируемые группы, включая *Ca*. Solibacter. Исчезновение *Methylacidiphilaceae* и распространение микроаэрофильных *Roseiarcus* также отражали изменения кислотности почвы и доступности кислорода. Эти результаты показывают, что деградация, вызванная вытаптыванием, изменяет как характеристики почвы, так и структуру микробного сообщества, подчеркивая необходимость регулирования рекреационной нагрузки в чувствительных средах водно-болотных угодий.

E-mail: svet-bel@mail.ru

ПЛАНКТОННЫЕ УЛЬТРАМИКРОБАКТЕРИИ ОЗ. БАЙКАЛ

Белых О.И., Краснопеев А.Ю., Потапов С.А., Гутник Д.И., Сороковикова Е.Г., Муханов В.С., Тихонова И.В.

Лимнологический институт Сибирского отделения Российской Академии наук, Иркутск

Ультрамикробактерии (УМБ) – бактерии с диаметром пролиферирующих клеток менее чем 0.3 мкм, объемом менее 0.1 мкм^3, размером генома от 0.58 до 3.2 Мб – играют важную роль в круговороте вещества и энергии в водных экосистемах. В природных условиях УМБ адаптированы к низкой концентрации нутриентов и характеризуются высокой скоростью роста. Пробы планктона для изучения состава и структуры УМБ отобраны в пелагиали и литорали оз. Байкал на глубинах от 0 до 50 м в 2015-2024 гг. Образцы концентрировали на фильтрах с диаметром пор 0.2 мкм и на фильтрах 0.05 мкм. Высокопроизводительное секвенирование образцов произведено на геномном секвенаторе Miseq Illumina. В оз. Байкал выявлено высокое генетическое и таксономическое разнообразие фемтобактериопланктона. В двух фракциях бактериопланктона размером более и менее 0.2 мкм установлены доминирующие и минорные филумы, порядки, семейства, рода и филотипы бактерий, определен вклад УМБ в состав микробных сообществ. Описаны особенности состава УМБ и фильтрующихся форм бактерий. Из фракции размером менее 0.2 мкм восстановлено 100 геномов УМБ, которые принадлежали 11 филумам, среди них доминировали геномы Actinomycetota, Pseudomonadota, Bacteroidota. Бактерии с геномами более 3.2 Мб представляли фильтрующиеся формы. Наиболее многочисленные ультрамикробактерии – актинобактерии *Planktophila* и протеобактерии *Polynucleobacter*. Результаты показали значительную роль ультрамелких бактерий в экосистеме оз. Байкал.

E-mail: belykh@lin.irk.ru

КУЛЬТИВИРУЕМЫЕ *GEOCHORDA* ИЗ ПОДЗЕМНОЙ БИОСФЕРЫ ОБНАРУЖЕНЫ В КИШЕЧНИКЕ ЖИВОТНЫХ

Власова[1] К.Г., Алешина[1] П.С., Авакян[1] М.Р., Равин[2] Н.В., Карначук[1] О.В., Лукина[1] А.П.

[1]Томский государственный университет, Томск
[2]Институт Биоинженерии им. К.Г. Скрябина, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

Класс *Limnochordia*, представляющий глубокую ветвь дидермных *Bacillota*, долгое время был известен по единственному культивируемому представителю *Limnochorda pilosa*. Недавно нами было описано новое семейство этого класса, *Geochordaceae*, обитающие в глубоких термальных подземных горизонтах. Характерной чертой *Geochorda subterranea* является способность к дыханию «темным» кислородом. Анализ метагеномов из баз данных показал, что представители рода *Geochorda* широко распространены в пробах компоста. В Биобанке СХЗМ ТГУ хранятся более 9000 тысяч проб фекалий животных, для части которых определены профили по гену 16S рРНК и метагеномы. Анализ метагеномных данных показал присутствие молекулярных подписей рода *Geochorda* в фекалиях маралов. Целью настоящего исследования было целевое выделение и изучение новых представителей рода *Geochorda* из проб фекалий маралов. Первоначальные накопительные культуры получены на модифицированной нами ранее для выращивания *G. subterranea* среде DSMZ 963. Первоначальные накопительные культуры инкубировали при температуре 55, 60, 65, 70 °C. Выбор доноров (пируват, глюкоза, сорбитол) и акцептора электронов (фумарат) был основан на физиологии единственного культивируемого представителя *G. subterranea*. В результате из

пробы КМ179 была выделена чистая культура с характерной для *Geochorda* морфологией, обозначенная как штамм 1819. Филогенетический анализ по гену 16S рРНК штамма 1819, показал 98.31 % сходства с таковой последовательностью *G. subterranea* LN^T. Разработанные условия культивирования представителей *Geochorda* из фекалий маралов позволили рутинно выделить на среде с пируватом и фумаратом при 70 °C дополнительные штаммы из проб КМ 177 и КМ 180, обозначенные соответственно 1850 и 1864. Последовательности генов 16S рРНК обеих штаммов были практически идентичны (сходство – 99.93, одна буква) таковой штамма 1819. Надо отметить, что штаммы 1850 и 1964 были выделены из проб фекалий маралов, в которых не было обнаружено молекулярных подписей *Geochorda*. Выделенные представители *Geochorda* являются факультативно анаэробными, термофильными и хемоорганогетеротрофными. Диапазон температур роста штаммов 1819, 1850 и 1864 составляет от 55 до 73 °C, с оптимумом 65-70 °C. Они способны гидролизовать полисахариды, включая крахмал и мальтодекстрин. Арабиноза, глюкоза, сахароза, галактоза и пируват служат донорами электронов при фумаратном дыхании. Выделенные из фекалий маралов штаммы, возможно, представляют новый вид рода *Geochorda*.
Исследования поддержаны грантом РНФ 24-14-00396.

E-mail: Vlasova.ksu0@gmail.com

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СООБЩЕСТВ МИКРООРГАНИЗМОВ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД БУХТ ПРИБРЕЖНОЙ АКВАТОРИИ ЯПОНСКОГО МОРЯ, ПОДВЕРЖЕННЫХ АНТРОПОГЕННОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ

Гаев[1] К. Г. Варакин[3] И.М., Манучарова[3] Н.А., Пономарева[2] А.Л., Шакиров[2] Р.Б., Шематорова[1] Е.К., Рогов[1] А.Г.

[1] НИЦ «Курчатовский институт», Москва
[2] Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичёва ДВО РАН, Владивосток
[3] МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

Прибрежные акватории Японского моря испытывают значительное антропогенное давление из-за урбанизации, судоходства, хозяйственной и промышленной деятельности. Микробные сообщества играют ключевую роль в биоремедиации загрязнений, однако их состав и функциональный потенциал в северо-западной части Приморского края остаются малоизученными. Целью работы являлось изучение таксономического и функционального разнообразия микробиома поверхностных вод ряда бухт Японского моря, выявление доминантных штаммов и определение их адаптационных способностей к загрязнениям. Пробы отбирались в августе 2023 г. в 10 точках, от залива Опричник до Уссурийского залива, по пути следования исторической реконструкции поморской лодии «Пилигрим». Были произведены выделение и секвенирование тотальной бактериальной ДНК и дальнейшая биоинформатическая обработка данных. Установлено, что при движении с севера на юг, от залива Опричник до Уссурийского залива, происходит увеличение концентрации загрязняющих веществ, влияющее на изменение микробиома. Сделан вывод, что каждую исследованную точку необходимо рассматривать как отдельную замкнутую экосистему с характерными для сложившихся локальных средовых условий комбинациями бактериальных сообществ и доминантными родами. Дальнейшие исследования эндемичных и аборигенных штаммов с применением геномных методов, проведение оценки их метаболического и функционального потенциала будут полезны для создания банка штаммов, разработки новых технологий и продуктов, перспективных для биоиндикации и биоремедиации данного региона. Работа выполнена в рамках государственного задания НИЦ «Курчатовский институт» и государственного задания ТОИ ДВО РАН.
E-mail: gaevklim@yandex.ru

ПОИСК И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ШТАММОВ-НЕФТЕДЕСТРУКТОРОВ

Гасюк О.А., Седашев А.П., Арзамазова К.А.

Центр Биотехнологий ФГБОУ ВО Кубанский государственный аграрный университет им. Трубилина, Краснодар

С каждым годом происходит постоянное увеличение антропогенной нагрузка на окружающую среду. В настоящее время очень актуальна проблема загрязнения природной среды нефтяными углеводородами. На восстановление водных и почвенных экосистем потребуется более 10 лет после ликвидации основной массы загрязнителя. Одним из перспективных направлений является поиск бактерий-нефтедестукторов. Для выделения нефтедеструкторов использовался образец почвы, загрязненный легкой пластовой нефтью. Идентификация микроорганизмов осуществлялась методом MALDI-TOF MS. В дальнейшем отбирались потенциальные штаммы-нефтедеструкторы и культивировались в присутствии 1% нефти, полученного с места разлива. Почва культивировалась в жидкой минеральной среде при температурах +5 ºС, +15 ºС, +25 ºС, +35 ºС. В дальнейшем происходил пересев на плотную питательную среду того же состава с добавлением 1% нефти. Изолированные колонии различной морфологии отсевались с целью дальнейшей идентификации. После происходил отбор штаммов, которые могут обладать свойством нефтедеструкции и дальнейшее их культивирование на жидкой среде с добавлением 1% нефти. Были выбраны штаммы: *R. erythropolis, P. oxydans, P. sulphureus, P. putida, D. acidovorans, P. stutzeri, B. cereus.* Культивирование осуществлялось на орбитальном шейкере при температуре +25ºС. Учет деградации нефти происходил визуальным способом. После первой недели культивирования признаки биодеструкции были выражены в присутствии штаммов *R. erythropolis, P. sulphureus, P. putida.* Спустя месяц культивирования следы деградации также были обнаружены в присутствии штаммов *D. acidovorans, P. stutzeri.* Таким образом, нами были выделены штаммы-нефтедеструкторы, которые проявляли свою активность в деградации нефтепродукта. Разложение нефти в среде осуществлялось с различной скоростью, поэтому возможно будет объединить данные штаммы в консорциум для более эффективного удаления нефтепродуктов из окружающей среды.

E-mail: olgagasyuk2000@yandex.ru

ВЛИЯНИЕ СТРЕССОВЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ НА МЕТАНОТРОФНЫЕ СООБЩЕСТВА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ПОЧВЫ

Гогмачадзе[1] Л.Г., Степанов[1] А.Л., Кравченко[2] И.К.

[1]Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, факультет почвоведения, Москва
[2]Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва

Одним из перспективных подходов в оценке устойчивости экосистем к стрессовым воздействиям является изучение ответа микробных сообществ почв, осуществляющих важные эколого-биосферные функции, на природные или антропогенные воздействия. В настоящем исследовании в качестве целевых микроорганизмов были выбраны почвенные метанотрофы. В условиях контролируемых экспериментов с микрокосмами дерново-подзолистой почвы Московской области дана оценка влияния высушивания и аммонийных солей, а также их совместного воздействия на активность и состав метанотрофных сообществ. В результате проведенного исследования установлено, что высушивание, внесение солей аммония и их комбинированное воздействие приводят к снижению метанокисляющей активности почвы, сохраняющемуся на протяжении двух-четырех недель. Наблюдается синергетический эффект при совместном применении этих стрессоров. Анализ показателей альфа-разнообразия показал, что воздействие стрессовых факторов значительно снижало микробное разнообразие и в наибольшей степени этот эффект проявлялся в вариантах с внесением аммония и мультистрессовым воздействием. Стрессовые воздействия привели к снижению разнообразия почвенных метанотрофов. В контрольной почве были обнаружены метанотрофы *Methylobacter, Methylocystis*, *Methylobacillus, Methylomicrobium* и метилотрофы *Methylobacterium-Methylorubrum, Hyphomicrobium*. При стрессовом воздействии наблюдается увеличение представленности *Methylobacter,* вплоть до монодоминирования в варианте с внесением аммония, и облигатного метанотрофа *Methylotenera* (ММ2). Результаты работы могут способствовать разработке современных подходов регуляции активности почвенного «метанового фильтра» и сопутствующей микробиоты, и быть использованы для уточнения безопасных доз аммонийных удобрений при ведении сельского хозяйства в средней полосе России.
Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-24-00418, https://rscf.ru/project/22-24-00418/ .

E-mail: lya.gogmachadze@yandex.ru

ЧИСЛЕННОСТЬ И РАЗНООБРАЗИЕ ПРОКАРИОТНЫХ СООБЩЕСТВ СОЛОИДОВ ЛЕДНИКА ЛАВИНЩИКОВ (ПОЛУОСТРОВ КАМЧАТКА)

Грачева[1] Т.А., Лысак[1] Л.В., Никитин[2] Д.А., Шепина[1] К.Д.

[1]Московский государственный университет М.В. Ломоносова, Москва
[2]Почвенный институт имени В.В. Докучаева, Москва

Особое внимание почвенных микробиологов в последнее время привлечено к микробиомам супрагляциальных почвоподобных тел (солоидов), формирующихся на поверхности ледников. Очевидно, что они играют значительную роль в биокосных взаимодействиях как катализаторы органоминеральных взаимодействий in situ на грунтах, освободившихся ото льда. Исследование микробиомов примитивных почв и солоидов на поверхности ледников

является весьма актуальным в связи с пониманием особенностей формирования и функционирования микробных сообществ в экстремально холодных местообитаниях. Подобные микробные сообщества могут рассматриваться как астробиологические модели возникновения жизни на других планетах. Объектами исследования служили образцы почв, отобранные на западном склоне Авачинского вулкана на полуострове Камчатка. Определение общей численности бактерий и длины актиномицетного мицелия проводилось с помощью прямого люминесценто-микроскопического метода с применением красителя акридина оранжевого. Общая численность бактерий в исследованных образцах солоидов и фоновой почвы варьировала от 0,5 до 1,5млрд. клеток/г в почвоподобных телах до 3,1млрд. клеток/г в фоновой вулканической почве. Содержание прокарионтой биомассы в почвоподобных телах достигало 0,016 мг С/г и было выше (до 0,039 мг С/г) в фоновых вулканических почвах Актиномицетный мицелий был обнаружен в 7 образцах из 17. При этом максимальная длина мицелия обнаружилась в вулканической фоновой почве (305-421 м/г) и составляла около 20% от общей прокариотной биомассы. В солоидах его длина не превышала 74 м/г, а доля в биомассе не более 18%. Наибольшая численность культивируемого сапротрофного комплекса бактерий была обнаружена в верхних слоях солоидов. Наблюдалась явное увеличение численности сапротрофного прокариотного комплекса по зонам: от солоидов верхней более холодной части ледника, далее к серединной части, подножию ледника и максимальное количество культивируемых бактерий и актиномицетов в фоновой вулканической почве. Во всех точках отбора образцов доминировал род *Arthrobacter*, реже выделялись представители родов *Rhodococcus, Micrococcus*. При этом максимальное таксономическое разнообразие наблюдалось в фоновой вулканической почве. Мицелиальные бактерии были представлены родом *Streptomyces*. Таким образом, общая численность бактерий, длины актиномицетного мицелия и биомасса прокариот в исследованных образцах возрастает по зонам: от солоидов на поверхности ледника к фоновой вулканической почве Те же закономерности выявлены для культивируемых бактерий и актиномицетов. В солоидах обнаружены представители родов бактерий, наиболее устойчивых к воздействию низких температур.

E-mail: tanyadunaeva12@mail.ru

SACCHARIMONADIA В ПЛАНКТОНЕ ДРЕВНИХ ОЗЕР (БАЙКАЛ И ХУБСУГУЛ)

Гутник Д.И., Потапов С.А., Тихонова И.В., Белых О.И.

Лимнологический институт Сибирского отделения Российской Академии наук, г. Иркутск

Saccharimonadia – класс суперфилума *Patescibacteria* – с размерами геномов до 1,0 Мб и неполными путями биосинтеза, образ жизни большинства из них ассоциирован с хозяевами. Всесторонние исследования Saccharimonadia ограничены трудностью культивирования, метагеномный подход позволяет реконструировать геномы некультивируемых видов. Общее происхождение и древность, а также уникальные условия экосистем глубоководных олиготрофных озер могут влиять на их функциональные особенности и представлять интерес для изучения эволюции *Saccharimonadia*. Отбор проб из оз. Байкал произведен в южной котловине озера в июле, сентябре и октябре 2024 года на глубинах 5, 20, 1250 и 1350 м. Из оз. Хубсугул – в северной оконечности озера в октябре 2023 года на глубинах до 70 м. Осуществлены: фильтрация, экстрагирование ДНК фенол-хлороформным методом и секвенирование на платформах Illumina Novaseq, SURFSeq 5000, DNBSEQ-G50. Также использовались прочтения, размещенные в биопроектах PRJNA1006167, PRJNA396997, PRJNA521725, PRJNA615165. Сборка осуществлена с помощью собственного конвейера на основе SPAdes v. 3.15.5. Реконструировано 23 генома класса *Saccharimonadia* со средней полнотой 92% и контаминацией 2%. Установлены отдельная клада, состоящая из

байкальских представителей, а также смешанная клада, включающую виды из обоих озер. Показано близкое сходство между отдельными геномами из двух озер, а также разнообразие в метаболизме и образе жизни бактерий, в частности различия в катаболизме углеводов, системе секреции белков и способности к кислородному дыханию.

E-mail: daria_gutnik@mail.ru

АКТИНОМИЦЕТЫ В ПОЧВАХ ПРИРОДНЫХ ЗАПОВЕДНИКОВ ВЬЕТНАМА: ЧИСЛЕННОСТЬ, РАЗНООБРАЗИЕ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Дорченкова Ю.А., Грачева Т.А., Белов А.А., Чепцов В.С., Степанов А.Л.

МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

Актиномицеты – одна из ключевых групп почвенных микроорганизмов, участвующих в разложении органических веществ, синтезе биологически активных соединений и круговороте элементов. Особенно важна их роль в устойчивости природных экосистем. В природных заповедниках Вьетнама, где влияние человека минимально, актиномицеты могут служить индикаторами состояния микробных сообществ и процессов, обеспечивающих устойчивость биоценозов. Исследование проводилось на территории трёх заповедных зон – Батдайшон, Суанлиен и Тэйзянг – с различными климатическими и геологическими условиями. Отобраны образцы почвы, подстилки и подвешенных почв из корзин эпифитных папоротников. Оценивались численность, таксономическое разнообразие и физиологические особенности актиномицетов. В Батдайшон актиномицеты выявлены в диапазоне от $2{,}0\times10^4$ до $3{,}4\times10^5$ КОЕ/г, при этом в почве их количество было значительно выше, чем в подстилке; в Суанлиен численность была сопоставимой в разных субстратах (~10^5 КОЕ/г). В природном заповеднике Тэйзянг наибольшие значения отмечены в лесной подстилке (до $1{,}1\times10^6$ КОЕ/г) и гидроморфной почве, что, вероятно, связано с благоприятными условиями для разложения органического материала. Во всех образцах подвешенных почв актиномицеты были стабильным компонентом прокариотного комплекса. Изолированные штаммы продемонстрировали высокую физиологическую пластичность: рост при 2–37 °C, pH 4-11 и в присутствии до 5% NaCl. Все штаммы разлагали крахмал, более 60% – целлюлозу, что указывает на их участие в углеродном цикле. Эти результаты подчёркивают значимость актиномицетов в поддержании устойчивости и продуктивности тропических почвенных экосистем, а также их потенциал для биотехнологических применений.

E-mail: juliadorchenkova@gmail.com

ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОЦЕНОЗОВ ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ РЕК, ПРОТЕКАЮЩИХ ПО ТЕРРИТОРИИ КОКУЙСКОГО ГАЗОНЕФТЯНОГО МЕСТОРОЖДЕНИЯ

Егорова Д.О., Мансурова А.Р., Хотяновская Ю.В.

ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», Пермь

Многолетняя эксплуатация Кокуйского газонефтяного месторождения (Пермский край, Россия), а также уникальное строение подлежащих пород, привели к выходам нефти на поверхность не только в местах добычи, но и на удаленных от скважин территориях.

Негативному воздействию оказались подвержены реки Одиновская, Каменка, Тураевка и Ясыл, истоки которых и русло находятся на территории Кокуйского газонефтяного месторождения. Цель исследования – анализ состава микробиоценозов донных отложений рек, подвергнутых длительному нефтяному загрязнению. Образцы донных отложений были отобраны в период полевого сезона 2024г в соответствии с нормативными документами. Анализ состава микробиоценозов осуществлялся методами метагеномного секвенирования с последующим биоинформатическим анализом. Установлено, что концентрация нефтяных углеводородов в донных отложениях снижается в ряду р. Одиновская > р. Тураевка > р. Ясыл> р. Каменка. Для микробиоценоза донных отложений р. Одиновская были характерны более низкие показатели индексов биоразнообразия, чем для донных отложений остальных рек. Доминирующими филумами во всех исследованных микробиоценозах являются *Proteobacteria* (17 – 37%) и *Chloroflexi* (16 – 23 %). В микробиоценозах донных отложений рек Тураевка, Ясыл и Каменка доминирующим также является филум *Actinobacteriota* (12 – 17%), в составе микробиоценоза р. Одиновская – филумы *Bacteroidota* (13 %) и *Patescibacteria* (10 %). Таким образом, выявлены особенности бактериального состава хронически нефтезагрязненных донных отложений рек Кокуйского месторождения.
Работа поддержана грантом РНФ и Правительства Пермского края №24-17-20025).

E-mail: daryao@rambler.ru

DESULFOSPOROSINUS SHAKIROVI SP. NOV. – НОВЫЙ ВИД МОРСКОЙ СУЛЬФАТВОССТАНАВЛИВАЮЩЕЙ БАКТЕРИИ, ОБЛАДАЮЩЕЙ СПОСОБНОСТЬЮ К АНАЭРОБНОЙ ДЕСТРУКЦИИ УГЛЕВОДОРОДОВ НЕФТИ

Еськова[1] А. И., Рыжманова[2] Я. В., Трубицын[2] В. Э., Полоник[1] Н. С., Пономарева[1] А. Л., Щербакова[2] В. А.

[1] Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН, Владивосток
[2] Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина Российской академии наук – обособленное подразделение ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», Пущино

Восстановление сульфата микроорганизмами представляет собой важный процесс в разложении органического вещества в морских донных отложениях. Сульфатвосстанавливающие бактерии (СВБ) играют значимую роль в углеродном и серном циклах морских экосистем (Jørgensen et al., 2019). Несмотря на активное изучение микробных сообществ донных отложений морей Дальнего Востока учеными из различных стран, разнообразие культивируемых СВБ остается недостаточно исследованным. Алканы относятся к наиболее распространенным органическим соединениям в биогеосфере и являются основными компонентами сырой нефти и природного газа. Анаэробное окисление алканов осуществляется в присутствии сульфата, нитрата, марганца или Fe (III) как конечных акцепторов электронов либо СВБ, либо археями в тесной ассоциации с СВБ (Kniemeyer et al., 2007; Chen et al., 2019; Hahn et al., 2020). При этом штаммы, доступные в чистой культуре, как правило, способны разлагать ограниченный диапазон углеводородов: короткоцепочечные C_2–C_5 алканы – *Desulfosarcina* sp. BuS5 (Kniemeyer et al., 2007); среднецепочечные C_6–C_{12} алканы – *Desulfoglaeba alkanexedens* (Davidova et al., 2006); C_{13}–C_{20} алканы с длинной цепью – *Desulfococcus oleovorans* Hxd3 и *Desulfatibacillum aliphaticivorans* (Aeckersberg et al., 1991; Cravo-Laureau et al., 2004); либо C_{14}–C_{23} алкены – *Desulfatiferula olefinivorans* (Cravo-Laureau et al., 2007). Цель данной работы состояла в изучении физиолого-биохимических свойств и филогеномном анализе новой сульфатвосстанавливающей бактерии, выделенной из донных

отложений северной части Японского моря и способной использовать компоненты сырой нефти в качестве единственного источника углерода. Объектом исследования служил поверхностный слой донных отложений (0–5 см), отобранный из керна на станции OP54-20a GC (48° 18′699 с.ш., 140° 48′995 в.д.), расположенной на континентальном склоне на глубине 592 м в ходе экспедиции на научно-исследовательском судне «Академик Опарин» (2017 г., рейс 54) (Валитов и соавт., 2019). Для получения накопительных культур СВБ использовали анаэробно приготовленную среду N1 следующего состава: Na_2SO_4 – 3.0 г, KH_2PO_4 – 0.2 г, NH_4Cl – 0.3 г, NaCl – 10.0 г, $MgCl_2 \cdot 6\ H_2O$ – 3.0 г, KCl – 0.5 г, $CaCl_2 \cdot 2\ H_2O$ – 0.15 г, $NaHCO_3$ – 1.5 г, Na_2SeO_3 – 0.003 мг, Na_2WO_4 – 0.004 мг, резазурин – 0.5 мг, $Na_2S \cdot 9\ H_2O$ – 0.1 г, раствор микроэлементов SL-10 – 1.0 мл, раствор витаминов – 10 мл, дистиллированная вода 990 мл. В качестве субстрата использовали (г/л): лактат натрия – 2.5, бензоат натрия – 2.0 или ацетат натрия – 2.5. Среду продували смесью 80% (об./об.) N_2 и 20% (об./об.) CO_2, разливали в пробирки Хангейта и автоклавировали. Накопительные культуры инкубировали при 6 и 20°C. Для получения колоний был применен метод десятикратных разведений на жидкой и твердой среде N1 в пробирках Хангейта с инкубацией при 20°C. Окраску по Граму выделенной чистой культуры, тест на каталазу проводили согласно общепринятым методикам (Murray et al., 1994). Удельную скорость роста оценивали по изменению продукции сульфида (Cline, 1969) в экспоненциальной фазе роста культуры. Температурный диапазон роста штамма определяли при 1, 6, 15, 22, 25, 30, 35 и 37 °C. Диапазон солености – по скорости роста при различных концентрациях NaCl: 0, 1, 2, 5, 10, 15, 20, 30, 40 и 50 г/л. Для определения влияния pH среды клетки культивировали при оптимальных значениях температуры и солености при различных значениях pH: 5.8, 6.3, 6.6, 7.1, 7.3, 7.5, 7.7 и 7.9. Величину pH регулировали фосфатным буфером. Способность штамма использовать различные субстраты в качестве источника углерода определяли на среде с сульфатом. Штамм инкубировали при оптимальных значениях температуры, солености и pH. В работе использовали ацетат (10 мМ), H_2/CO_2 (20% : 80%) + ацетат (2 мМ), аланин (10 мМ), глицин (10 мМ), глутамин (5 мМ), глутамат (5 мМ), пролин (10 мМ), бутират (5 мМ), пируват (10 мМ), лактат (10 мМ), малат (5 мМ), сукцинат (10 мМ), формиат (20 мМ), фумарат (5 мМ), глицерин (10 мМ), бутанол (10 мМ), метанол (10 мМ), этанол (10 мМ), бензоат (10 мМ), глюкозу (10 мМ), фруктозу (10 мМ), дрожжевой экстракт (1 г/л), пептон (1 г/л), казаминовые кислоты (1 г/л), триптиказу (1 г/л), сырую нефть марки ESPO (20 г/л). Все тесты выполняли в трех повторностях и подтверждали тремя последовательными пересевами. Рост бактерий оценивали по изменению оптической плотности при 600 нм на спектрофотометре Agilent Cary 300 (“Agilent Technologies”, США), либо по образованию сульфида. Ионы двухвалентного железа определяли с феррозином по методу Lovley, Phillips (1986). Типовой штамм *Desulfosporosinus lacus* STP12^T, полученный из Всероссийской коллекции микроорганизмов (VKM B-3540T), использовали в качестве референтной культуры. Морфологию клеток изучали с помощью светового микроскопа Axiostar PLUS (“Carl Zeiss”, Германия) с фазовым контрастом и сканирующего электронного микроскопа (СЭМ) Sigma 300VP (“Carl Zeiss” AG, Германия) в режиме высокого вакуума при 2 кВ. Определение биодеградации углеводородов проводили на хромато-масс-спектрометре Shimadzu GCMS 2010 Ultra (“Shimadzu”, Япония). Нуклеотидная последовательность гена 16S рРНК и геномная сборка депонированы в GenBank под номерами MT740695 и GCF_020595055 соответственно. Из донных отложений северной части Японского моря выделена новая сульфатвосстанавливающая бактерия (штамм SRJS8^T), обладающая способностью к биодеградации углеводородов нефти. Изолят был представлен грамположительными подвижными одиночными спорообразующими палочками размером 0.4-0.5 × 2.0-5.0 мкм, рос в диапазоне температуры 6-30 °C (оптимум 25°C), pH 6.3-7.7 (оптимум 7.3) и концентрации NaCl от 0 до 20 г/л (оптимум 2 г/л). Штамм SRJS8^T использовал бутанол, глицерин, метанол, этанол, бутират, лактат, пируват, формиат, дрожжевой экстракт, H_2/CO_2, сырую нефть в качестве доноров электронов и источника углерода в присутствии сульфата. В качестве акцепторов электронов штамм использовал сульфат, сульфит, тиосульфат, элементную серу, фумарат и Fe(III), но не нитрат, арсенат и

ДМСО. Штамм SRJS8^T был способен сбраживать лактат и пируват, но не дрожжевой экстракт в отсутствие сульфата. Штамм SRJS8^T был способен использовать для роста сырую нефть, преимущественно окисляя короткоцепочечные C_9–C_{12} н-алканы: нонан (100%), декан (62.6%), ундекан (57.3%) и додекан (45.6%). Меньшей степени деградации (11.5-31.3%) подвергались C_{13}–C_{20} и C_{28}–C_{31} н-алканы, и лишь в незначительной степени (1.02-6.72%) длинноцепочечные C_{21}–C_{27} н-алканы. Ближайшим родственником штамма SRJS8^T с 98.49% сходства последовательностей гена 16S рРНК является *Desulfosporosinus lacus* STP12^T. У штамма SRJS8^T секвенирован геном размером 5.43 Мб. ДНК–ДНК гомология геномов штамма SRJS8^T и *D. lacus* STP12^T составила 57.4%, а значение ANI – 93.69%. Содержание Г + Ц в ДНК – 42.08%. На основании полученных данных штамм SRJS8T (=VKM B-3489^T =JCM 39189^T) отнесен к новому виду рода *Desulfosporosinus*, для которого предложено название *Desulfosporosinus shakirovi* sp. nov.

E-mail: alena-esya@mail.ru

НОВЫЙ ПРЕДСТАВИТЕЛЬ РОДА *PSEUDOMONAS*, ВЫДЕЛЕННЫЙ ИЗ РИЗОСФЕРЫ ТИМЬЯНА ОБЫКНОВЕННОГО (*THYMUS VULGARIS* L.)

Жаркова Е.К.

ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва

В соответствии с проектом «Возрождение отрасли лекарственного растениеводства в РФ», в рамках направления «Превентивная медицина», была оценена возможность интродукции тимьяна обыкновенного (*Thymus vulgaris* L.) в условия Нечерноземной зоны. Впервые было изучено микробное сообщество, ассоциированное с этим средиземноморским видом тимьяна при его произрастании в зоне дерново-подзолистых почв.

Целью представленного исследования являлось выделение микробных штаммов, способных повысить адаптационный потенциал тимьяна обыкновенного (*T. vulgaris* L.) при культивировании в Нечерноземной зоне. Для ее достижения были использованы как традиционные, так и современные молекулярно-генетические методы.

В результате была сформирована коллекция чистых культур бактерий и грибов, ассоциированных с фитосферой тимьяна обыкновенного (*T. vulgaris* L.). Наиболее перспективной для дальнейшего изучения являлась грамотрицательная бактерия, отнесенная на основании нуклеотидной последовательности 16S рРНК и протеомного анализа к роду *Pseudomonas*. Новый штамм существенно увеличивал всхожесть и энергию прорастания семян изучаемого тимьяна, а также стимулировал их одновременное прорастание, что является важным для такой мелкосемянной культуры с генетически обусловленной и сложно корректируемой разрозненностью в сроках появления всходов, характерной для дикорастущих особей. Выявлен антагонизм исследуемого штамма по отношению к фитопатогенным, а также сапроторофным грибам, отмечена его способность к росту в присутствии тимола, карвакрола и гамма-терпинена – основных компонентов эфирного масла тимьяна обыкновенного, обладающих высокой антимикробной активностью, проявляющейся селектирующим воздействием в отношении микроорганизмов-ассоциантов.

Таким образом, новый штамм может быть подвергнут дальнейшему исследованию в качестве основного компонента биопрепарата, повышающего адаптационный потенциал тимьяна обыкновенного (*T. vulgaris* L.) при его интродукции в зону дерново-подзолистых почв.

E-mail: e.zharkova@fbras.ru

ОБЛИГАТНЫЕ МЕТИЛОТРОФНЫЕ БАКТЕРИИ ИЗ ПЛОДОВ КАКТУСА

Капаруллина Е.Н., Агафонова Н.В., Доронина Н.В.

ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН»,
(Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН), Пущино

Метанол крупнотоннажно синтезируется и используется в химической промышленности, является важным источником углерода на биотехнологических производствах ввиду невысокой стоимости и возможности получения из недефицитного сырья (природного газа, нефти, угля и т.п.). Метилотрофные бактерии утилизируют метанол, синтезируя при этом ценные метаболиты, перспективны в качестве продуцентов кормового белка, полисахаридов, осмопротекторов, аминокислот и др. Все это обуславливает интерес к исследованию их таксономического разнообразия, особенностей экофизиологии и метаболизма. Из тканей плодов питахайи (кактус *Hylocereus* sp., Вьетнам), приобретенных в супермаркете в разное время (январь и март), нами выделены новые метилотрофные штаммы Pita1 и Pita2. Для данных штаммов секвенированы геномы (номера в NCBI GenBank GCA_045984355.1 и GCA_045984385.1, соответственно). Согласно филогеномному анализу новые изоляты являются представителями одного нового вида рода *Methylobacillus*, учитывая низкий уровень сходства нуклеотидных последовательностей 16S рРНК, геномных индексов ANI и dDDH с ближайшими известными видами. Новые метилотрофы облигатно используют только C_1-соединения в качестве источников углерода и энергии, с высокой скоростью растут на минеральной среде с метанолом, не нуждаются в ростовых факторах, реализуют рибулозомонофосфатный путь C_1-метаболизма. Биомасса имеет высокое содержание сырого протеина (около 80%) и незаменимых аминокислот. Новые метилотрофные бактерии перспективны для целей биосинтеза, биокатализа, биодеградации и биодетекции на биосенсорах.

E-mail: kaparullina@pbcras.ru

УНИВЕРСАЛЬНЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ ДИНАМИКИ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ ПРИ РАЗЛОЖЕНИИ РАСТИТЕЛЬНЫХ ОСТАТКОВ

Кимеклис[1,2] А.К., Гладков[1,3] Г.В., Орлова[1] О.В., Лисина[1] Т.О., Андронов[1] Е.Е.

[1]Лаборатория микробиологического мониторинга и биоремедиации почв, ФГБНУ ВНИИСХМ, Пушкин
[2]Кафедра прикладной экологии, СПбГУ, Санкт-Петербург
[3]Зоологический Институт РАН, Санкт-Петербург

Разложение растительных остатков в окружающей среде – процесс, вовлекающий микробные сообщества, включающей множество минорных, а также некультивируемых компонентов. По этой причине микробные препараты для разложения растительных остатков, основанные на одной или нескольких чистых культурах не всегда так же эффективны, как природные ассоциации. В ходе многолетних экспериментов по изучению динамики микробных сообществ при разложении растительных остатков нами были проанализированы как субстраты с разной биодоступностью (солома, листовой опад, костра), так и различные источники целлюлозолитических сообществ, включая почвы, характерные северо-западному региону (дерново-подзолистая), центральному (чернозем), черневой тайги и комплексный микробный препарат БАГС на основе торфа. Долгосрочный процесс сукцессии микроорганизмов в процессе разложения мониторился с применением

высокопроизводительного секвенирования ампликонных библиотек гена 16S рРНК и фрагмента ITS, позволяющий провести быстрый и точный анализ таксономического состава микрофлоры (бактериальной и грибной). Несмотря на то, что нами было детектировано высокое разнообразие участников и динамик процесса, тем не менее можно выявить некоторые общие черты, которые характеризуют развитие и функционирование таких сообществ: в первые дни процесса происходит колонизация субстрата целлюлолитиками из фил *Pseudumonadota*, *Bacteroidota*, *Actinomonadota*, составляющие основную массу сообщества; - сообщество трансформируется в течение первых трех месяцев, увеличивая свое разнообразие; - после четвертого месяца сукцессия замедляется, сообщество принимает стабильный состав, включающий как микроорганизмов-целлюлозолитиков, так и занимающих вспомогательные экологические ниши – хищников (*Myxococcota*, *Bdellovibrionota*), деструкторов хитина, или продуктов, образованных в ходе разложения целлюлозы, или отмирания предыдущих поколений бактерий.
Работа поддержана грантом РНФ № 23-16-00147.

E-mail: akimeklis@arriam.ru

АНАЭРОБНЫЕ БАКТЕРИИ РАЗЛИЧНЫХ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ГРУПП В ТОРФАХ РАЗНЫХ ТИПОВ БОЛОТ ТУЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ

Коренкова[1] А.К., Захарюк[2] А.Г., Щербакова[2] В.А., Волкова[1] Е.М.

[1]Тульский государственный университет, Тула
[2]ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук» Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г. К. Скрябина РАН, Пущино

Болотные системы представляют важнейший ландшафт для обеспечения устойчивости биосферы Земли. На болотах на первом этапе происходит аккумуляция углерода растениями и образование органического вещества. В дальнейшем, после отмирания растений органическое вещество подвергается разложению аэробными микроорганизмами в верхних горизонтах, формируя торф. Постепенное накопление торфяных отложений обеспечивает формирование залежей, в которых с глубиной изменяются окислительно-восстановительные условия и основную роль в деградации органического вещества начинают осуществлять анаэробные бактерии и археи. Цель данной работы состояла в изучении распределения анаэробных бактерий различных физиологических групп по профилям торфяных залежей двух болот Тульской области. Объектами исследования были образцы торфа разных типов болот: эвтрофного пойменного болота Подкосьмово (минерализация – 448-533 мг/л, pH = 6,1-6,5) с низинной торфяной залежью и олиготрофного водораздельного болота Клюква (pH 2,8-2,9; минерализация 42 мг/л) со смешанной залежью, состоящей из переходных и верховых торфов. В образцах торфа болота Подкосьмово численность анаэробных гетеротрофных микроорганизмов составила $2{,}5\cdot10^4$-$2{,}5\cdot10^6$ кл/г с максимальным значением на глубине 50-60 и 80–90 см. Анаэробные гетеротрофы в образцах торфа болота Клюква составляли от десятков до сотен клеток в грамме образца. Численность железовосстанавливающих бактерий варьировала в диапазоне $2{,}5\cdot10^2$-$2{,}5\cdot10^3$ кл/г в образцах болота Подкосьмово и десятки клеток на горизонтах 30-40, 110-120 и 120-130 см болота Клюква. Сульфатредукторы (до 25 кл/г) и метаногены (до 250 кл/г) были обнаружены только в образцах болота Подкосьмово. Изучена метангенерирующая способность исследованных образцов торфа модельных болот. Показано, что в торфах болота Подкосьмово метан образовывался в пробах всех горизонтов (кроме торфа на глубине 10-20 см) в количестве от 30,84 до 77,2 мкмоль/г. Полученные результаты отражают вклад разных типов болот в эмиссию парниковых газов.
E-mail: sasha.korenkova.04@mail.ru

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ СТАБИЛИЗАЦИИ ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА ПОЧВ РАЗЛИЧНОГО ЗЕМЛЕПОЛЬЗОВАНИЯ

Кравченко И.К.

Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва

Лабильный пул органического углерода почвы ($C_{орг}$) является чувствительным индикатором экологического статуса почвы и интенсивности потоков углерода в биосфере, поэтому оценка механизмов его стабилизации является важным и актуальным направлением современных мультидисциплинарных исследований. Изменение землепользования признано основным антропогенным фактором, определяющим процессы стабилизации органического углерода почвы. В то же время, механизмы изменения запасов органического углерода, особенно для зоны холодного климата средних и высоких широт, изучены слабо. Несмотря на общепризнанную роль почвенных микроорганизмов в круговороте углерода в почве, особенно в свете постоянно растущих объемов геномных данных, механизмы микробной регуляции этих процессов остаются неясными. Для того чтобы улучшить прогнозы оценки содержания углерода в почве, необходимо определить ключевые микробные параметры и включить их в существующие глобальные модели. Концептуальная новизна проводимых исследований состоит в том, что изменения таксономического состава и экологической стратегии микробных сообществ почв рассматриваются в качестве основного драйвера изменения $C_{орг}$ в почвах с различным землепользованием. Проведение комплексных исследований, включающих в себя оценку стабильных и лабильных пулов почвенного органического углерода, физико-химических свойств почвы, активности и состава микробных сообществ методами высокопродуктивного секвенирования позволят установить микробиологические показатели, наиболее тесно связанные с динамикой содержания $C_{орг}$ в почве. Это значительно расширит наши знания о механизмах его стабилизации и запасания, которые могут быть востребованы при разработке эффективных стратегий секвестрации углерода и рекарбонизации экосистем.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 25-47-00065, https://rscf.ru/project/25-47-00065/

E-mail: irinakravchenko@inbox.ru

ИЗУЧЕНИЕ БАКТЕРИЙ РАЗЛИЧНЫХ ЭКОСИСТЕМ В РАМКАХ ЭКСПЕДИЦИИ «АРКТИЧЕСКИЙ ПЛАВУЧИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Куделина[1] Ю.М., Майорова[1] К.А., Аксёнов[1] А.С., Гончаров[2,3] А.Е., Намсараев[4] З.Б., Трофимова[1] А.Н.

[1]Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова, Архангельск
[2]Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург
[3]Северо-западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург
[4]НИЦ «Курчатовский институт», Москва

Современные микробиологические подходы позволяют идентифицировать сложные бактериальные сообщества в различных экстремальных местообитаниях мира, в том числе в Арктике. Поиск функциональной роли прокариот в биогеоценозах, оценка их потенциала для практического применения формируют фундаментальную основу для биоремедиации

арктических вод от нефтепродуктов, получения гидролитических ферментов пищевого назначения, создания новых антибиотиков и решения других исследовательских задач. «Арктический Плавучий университет» – уникальная научно-образовательная морская экспедиция, регулярно организуемая САФУ со спонсорами и партнерами проекта в июне-июле в течение двух-четырех недель с 2012 года. Исследования выполняются не только в открытом море, но и в рамках высадок на архипелаги Новая Земля и Земля Франца-Иосифа и территории других удаленных островов. С 2021 года на базе НИС «Профессор Молчанов» и НЭС «Михаил Сомов», проводится мониторинг сообществ планктонных прокариот в Баренцевом море и условно-патогенных бактерий зоогенных экосистем островов Западной Арктики с использованием различных молекулярно-генетических и культуральных методов. С помощью секвенирования ампликонов гена 16S рРНК установлена взаимосвязь между эмиссией углекислого газа и биоразнообразием микробных сообществ почв Новой Земли и Земли Франца-Иосифа. Осуществлена идентификация полисахарид-деградирующей активности микробиоты, ассоциированной с пищеварительной системой некоторых животных. Анализ состава прокариотических сообществ морских вод Баренцева моря свидетельствует о наличии двух кластеров, в которых доминируют распространенные классы бактерий: *Gammaproteobacteria*, *Alphaproteobacteria* и *Bacteroidia*. При мониторинге условно-патогенных бактерий, ассоциированных с белым медведем, птицами отряда гусеобразных, а также орнитогенными почвами на птичьих базарах и субстратами из нор грызунов расшифрована геномы четырех штаммов грамотрицательных условно-патогенных бактерий: *Serratia fonticola, Aeromonas salmonicida, Yersinia kristensenii, Yersinia rochesterensis*, обладающие факторами вирулентности и генами устойчивости к антибиотикам. Начаты работы по анализу состава эпифитных бактериальных сообществ морских водорослей прибрежной зоны арктических островов.Таким образом, разнообразие направлений изучения бактериальных сообществ, привлечение востребованных специалистов и первые результаты проекта «Арктический плавучий университет» свидетельствуют о перспективности данной научной площадки для получения новых знаний о психрофильных микроорганизмах высокоширотных систем.

E-mail: kudelina.y@edu.narfu.ru

БАКТЕРИАЛЬНОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ВОДЫ КРАСНОГО МОРЯ НА ОСНОВЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ ГЕНА 16S РРНК

Курди У., Яковлева Г.Ю., Ильинская О.Н.
Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань

Уникальность Красного моря привлекала внимание исследователей уже более века. Современные метагеномные подходы значительно расширили наше понимание экологии морских микробов, выявив огромное разнообразие ранее неизвестных микробных форм и открывая широкие перспективы для биотехнологического применения. Настоящая работа посвящена изучению состава бактериального сообщества вод Красного моря. Объектом исследования послужили 3 образца воды, отобранные вблизи побережья (100 м от берега, глубина 1.5 м) в районе г. Шарм-эль-Шейх. Для метагеномного анализа ДНК выделяли из 50 мл образца воды с использованием набора Miniprep Kit. Амплификацию гена 16S рРНК проводили методом ПЦР. Секвенирование проводили на платформе Illumina MiSeq. Биоинформатический анализ выполняли на веб-платформе Galaxy с использованием программного обеспечения Mothur и базы данных SILVA 138.1 SSU. Альфа-биоразнообразие оценивали с использованием индекса Шеннона-Винера (H') и богатства S. Альфа-разнообразие, оцененное по числу OTE (207) и индексу Шеннона-Винера (3.57), указывает на высокое разнообразие микробного сообщества. Доминирующими филами оказались

Proteobacteria (83%), *Actinobacteriota* (7%), *Cyanobacteria* (4%) и *Bacteroidota* (4%). В составе *Proteobacteria* преобладали *Alphaproteobacteria* (64%), где доминировало семейство *Rhodobacteraceae* (71%), и Gammaproteobacteria (36%), представленные в основон семействами *Pseudoalteromonadaceae* (25%) и *Oleiphilaceae* (13%). Наиболее распространенными родами были *Sulfitobacter* (12%), *Pseudoalteromonas* (9%), Candidatus *Actinomarina* (7%), HIMB11 (7%) и *Celeribacter* (6%). Анализ образца выявил высокое разнообразие микроорганизмов, где доминировала фила *Poteobacteria*, представленная порядками *Alphaprotobacteria* и *Gammaproteobacteria*. Наиболее распространенными оказались бактерии семейств *Rhodobacteraceae, Pseudoalteromonadaceae* и Clade I, с лидирующими родами *Sulfitobacter* и *Pseudoalteromonas*.

E-mail: william.m.kurdy@hotmail.com

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С БЫСТРОРАСТУЩИМИ ЖЕЛЕЗОМАРГАНЦЕВЫМИ КОНКРЕЦИЯМИ БАЛТИЙСКОГО МОРЯ

Лисун[1] В.В, Мальцева[2] А.И., Клюкина[2] А.А., Ельченинов[2] А.Г., Шульга[3] Н. С., Гаврилов[2] С. Н.

[1]Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова, Москва
[2]Институт микробиологии им. С. Н. Виноградского, Федеральный исследовательский центр Фундаментальных основ биотехнологии РАН, Москва
[3]Институт океанологии им. П. П. Ширшова РАН, Москва

Железомарганцевые конкреции (ЖМК) представляют собой минеральные осадки соединений железа, марганца и других металлов, с прослойками глины. ЖМК по своему происхождению не ограничиваются геохимическими способами, важную роль играет и микробная компонента (Zhang et al., 2023). ЖМК северных морей были открыты еще в конце XIX в., однако их подробное изучение началось в середине XX вв. в связи с их потенциальным использованием в качестве источников металлов и редкоземельных элементов. Балтийское море в зонах большого осадконакопления является источником быстрорастущих конкреций, отличающихся обилием форм и размеров. Методом секвенирования по технологии Illumina гипервариабельных участков генов 16S рРНК, выделенных из ДНК коллекционных образцов ЖМК Балтийского моря, было определено филогенетическое разнообразие микробных сообществ ЖМК, подстилающих их осадков и придонной воды. Исследование показало широкое биоразнообразие микробных сообществ, большую часть которых составляли некультивируемые филотипы, в том числе представители глубоких филогенетических линий. Наиболее близкие культивируемые представители выявленных филотипов, по данным сравнительного анализа BLAST, являются микроорганизмами как с автотрофным, так и с гетеротрофным типом питания. Выявлено, что микробные сообщества ЖМК и донных осадков ближе друг к другу по филогенетическому составу, чем к сообществам придонной воды. Из бактерий, связанных с циклом железа и марганца, заметную роль в сообществе могут играть филотипы родов *Rhodomicrobium, Geopsychrobacter, Arcobacter, Pseudomonas, Shewanella. Sulfuricaulis* и представители филума *Desulfobacterota*, а также еще не охарактеризованные группы родов и семейств бактерий. Также из проб ЖМК Балтийского моря с использованием селективных сред, содержащих минералы железа и марганца, были получены накопительные культуры психрофильных гетеротрофных микроорганизмов, относящихся к родам: *Shewanella, Desulfuromonas, Rhodoferax* и другие. Анализ их разнообразия выявил группы микроорганизмов, ассоциированных с циклом марганца и железа, а также с использующих разнообразные другие металлы как акцепторы электронов.

Полученные данные позволяют предположить важность вклада метаболизма данных прокариот в образования быстрорастущих конкреций Балтийского моря.
Работа выполнена при поддержке гранта РНФ №24-64-00023.

E-mail: lisun.valer@yandex.ru

ТАКСОНОМИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ПРОКАРИОТ ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ ПРЕСНОВОДНЫХ ОЗЕР СЕВЕРО-ЗАПАДА РОССИИ

Ловдина Т.И., Чупаков А.В., Аксенов А.С.

ФГБУН ФИЦ Комплексного изучения Арктики имени Н.П. Лаверова УрО РАН, Архангельск

Проведен 16S рРНК-метабаркодинг для оценки разнообразия сообществ прокариот в донных отложениях гуминовых, олиготрофных, маломинерализованных оз. Опогра (64,296° с.ш., 40,903° в.д.) и Сорожье (64,704° с.ш., 40,892° в.д.), расположенных в Архангельской области. В придонных горизонтах этих озер отмечается увеличение концентраций РОУ, что вызвано влиянием подземных вод и говорит высоких скоростях деструкции ОВ. Оз. Сорожье характеризуется постоянной анаэробной придонной зоной. Пробы донных отложений озер были отобраны на глубинах 0-1 см и 1-3 см. Амплификацию (праймеры 341F/805R) и секвенирование участка V4 гена 16S рРНК (на платформе IlluminaNovaSeq 6000) проводили совместно со специалистами ООО «Секвенцио» (г. Москва). Доля архей в оз. Опогра на глубине 0-1 см составила 5,2% и на 1-3 см менее 0,5%. Доминирующими филумами являются *Methanobacteriota, Halobacteriota* и *Nanoarchaeota*. В озере Сорожье доля архей составляет 3,9 % в поверхностном слое донных отложений и 1,2 % на глубине 1-3 см. Они представлены филумами *Thermoproteota, Aenigmarchaeota, Halobacteriota*. В обоих озерах доминируют филумы *Pseudomonadota* и *Actinomycetota*, а также *Chloroflexota* и *Bacillota* в оз. Сорожье. Среди идентифицированных семейств в оз. Опогра на глубине 0-1 см преобладает *Xanthobacteraceae* (6,6 %) и *Anaerolineaceae* (4,1 %), глубже - *Methylomonadaceae* (2,8 %) и *Beijerinckiaceae* (4,4 %). В оз. Сорожье наибольшая доля в верхнем слое донных отложений приходится на семейства *Mycobacteriaceae* (5,4 %) и *Anaerolineaceae* (4,7 %), глубже - на *Aminicenantaceae* (3,0 %) и *Bacteroidetes vadinHA17* (3,5 %). Полученные результаты показывают, что в донных отложениях оз. Опогра доминируют прокариоты, связанные с циклами углерода и азота, тогда как в оз. Сорожье преобладают анаэробные и хемоорганогетеротрофные таксоны.
Работа проведена в рамках выполнения FUUW-2025-0041.

E-mail: tanya.lovdina@yandex.ru

ПЕРВЫЕ КУЛЬТИВИРУЕМЫЕ ПРЕДСТАВИТЕЛИ ГЛУБОКОЙ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ЛИНИИ АРХЕЙ, РАСПРОСТРАНЁННОЙ В КИСЛЫХ МЕСТАХ ОБИТАНИЯ

Малеванник В.Р., Клюкина А.А., Ельченинов А.Г., Кочеткова Т.В.

Институт микробиологии им. С. Н. Виноградского, ФИЦ Фундаментальные основы биотехнологии РАН, Москва

Первые археи порядка *Thermoplasmatales* были выделены в чистые культуры более пятидесяти лет назад и с тех пор активно изучаются. Интерес к этой группе связан с тем, что

ее представители распространены в кислых антропогенных местах обитания, например, в шахтных водах, негативно воздействующих на окружающую среду. Природные места обитания архей порядка *Thermoplasmatales* – кислые горячие источники, при этом большая часть доминирующих в источниках архей являются некультивируемыми и их свойства остаются неизвестными. Линия BSLdp215 является одной из таких групп, но несмотря на её глобальное распространение в кислых гидротермальных источниках США, России, Индии и Новой Зеландии, до сих пор не было выделено ни одного представителя в чистую культуру.
В ходе нашего исследования представители BSLdp215 были выявлены в кислых термальных источниках Камчатки в значимых количествах (до 25% от всего состава сообщества согласно профилированию по участку гена 16S рРНК). С применением техники длительного инкубирования на сложных полисахаридных субстратах, сопровождаемая мониторингом микробного сообщества и оптимизации условий культивирования, нам удалось выделить две чистые культуры первых представителей линии BSLdp215 - штаммы BSL_4345 и BSL_4364.
Археи представлены небольшими кокками (диаметр 0,5 мкм) без S-слоя и являются умеренными термоацидофильными ($T_{опт.}$ 55°C, $pH_{опт.}$ 4,0) анаэробами. Штаммы способны расти на различных углеводах с предпочтением пентоз и полисахаридов. Анализ полного генома штамма BSL_4345 показал, что изолят относится к глубокой филогенетической линии внутри порядка *Thermoplasmatales* на уровне нового семейства. На основании фенотипических и филогенетических особенностей было присвоено имя для первого представителя этой группы, *Calidiplasma lacustris* gen. nov., sp. nov. Новому семейству было предложено имя *Calidiplasmataceae* fam. nov. Рост новых архей на полисахаридах может указывать на то, что археи обладают ферментами, активными при повышенных температурах и низких pH, что делает их перспективными для применения в различных отраслях белой и зеленой технологий.
Работа выполнялась в рамках гранта РНФ №23-14-00312

E-mail: valeriamalevannik@yandex.ru

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РИЗОСФЕРНЫХ МИКРОБИОМОВ *ASTRAGALUS OLCHONENSIS* И *VICIA OLCHONENSIS* – РЕДКИХ ЭНДЕМИЧНЫХ РАСТЕНИЙ ЗАПАДНОГО ПОБЕРЕЖЬЯ ОЗ. БАЙКАЛ

Маркова[1] Ю. А., Кривенко[1] Д. А., Галивонджян [2] А. Х., Демкина [2] А. О., Гилеп [2] К. А., Сутормин [2] Д. А.

[1]СИФИБР СО РАН, Иркутск
[2]Сколковский институт науки и технологий, Москва

Редкие виды растений – наиболее уязвимая часть биологического разнообразия, поэтому их охрана, а также сохранение растительных сообществ с их участием являются важными и актуальными задачами. Эндемики острова Ольхон – астрагал ольхонский (*Astragalus olchonensis*) и вика ольхонская (*Vicia olchonensis*) – включены в Красную книгу Иркутской области, но их популяции деградируют из-за рекреационной нагрузки. Исследование направлено на выявление ризосферных микроорганизмов, потенциально участвующих в адаптации растений к засушливым условиям. Методом секвенирования гена 16S рРНК (платформа Illumina, регион V3–V4) проанализированы по 10 проб ризосферы (*rAo* – астрагал, *rVo* – вика) и окружающей почвы (S1, S2). Статистическая обработка данных (пакет vegan в R 4.4.1) включала многомерное шкалирование (NMDS) и кластерный анализ. В микробиомах доминировали Actinobacteriota (35%), Proteobacteria (28%) и Acidobacteriota (18%), что характерно для засушливых экосистем. Вариабельность сообществ ризосферы астрагала (*rAo*) оказалась значимо выше, чем у вики (*rVo*) (*p* < 0.05). Это может отражать

различия в экологической пластичности видов или в уровне загрязнения. Селективное обогащение ризосферы астрагала включало семейства Koribacteraceae, *Geodermatophilaceae* и *Burkholderiaceae*, а у вики – *Sphingobacteriaceae* и *Isosphaeraceae*. Кластерный анализ 50 наиболее распространенных операционных таксономических единиц (ОТУ) выявил три группы: таксоны, ассоциированные с астрагалом (актинобактерии), викой и общие для обоих видов. Преобладание актинобактерий и протеобактерий в ризосфере согласуется с их известной ролью в стрессоустойчивости: синтез осмопротекторов, фиксация азота и подавление патогенов. Выявленная специфика микробиома позволяет предложить практическое решение для сохранения эндемиков – инокуляцию саженцев ключевыми микроорганизмами (например, *Burkholderiaceae*) при реинтродукции. Это повысит их выживаемость в условиях антропогенного прессинга и деградации местообитаний.

E-mail: juliam06@mail.ru

ТЕРМОФИЛЬНЫЕ БАКТЕРИИ РОДОВ *TEPIDIBACILLUS* И *THERMOANAEROBACTER* ИЗ ДОННЫХ ОСАДКОВ СЕВЕРО-ВОСТОЧНОЙ ЧАСТИ КУРИЛЬСКОЙ КОТЛОВИНЫ ОХОТСКОГО МОРЯ

Махортых С.С., Рыжманова Я.В., Щербакова В.А.

ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»
Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г. К. Скрябина РАН, Пущино

Донные осадки морей служат резервуаром разнообразных микробных сообществ, играющих важную роль в глобальных биогеохимических циклах. В северо-восточном части Курильской котловины Охотского моря зоны разломов характеризуются газонасыщенными осадками, в которых развиваются активные термофильные прокариотные сообщества, участвующие в процессах трансформации органического вещества и газового обмена. Цель работы – выделение и характеристика новых анаэробных термофильных бактерий из донных осадков Охотского моря. Из проб морских осадков получены накопительные культуры и выделены чистые культуры спорообразующих термофильных бактерий, обозначенных нами LV19, LV27.2, LV27.3, LV47 и LV49. Сравнение секвенированных последовательностей генов 16S рРНК штаммов LV47, LV27.2 и LV27.3 показало 97.8, 96.99 и 96.32% сходства с *Tepidibacillus fermentans* STGH^{T}, а ближайшим родственником штаммов LV19 и LV49 *Thermoanaerobacter mathranii* A3^{T} со сходством 99.61 и 99.39%. Все изоляты являются облигатными анаэробами. Штаммы LV47, LV27.2 и LV27.3 росли в диапазоне температур 37-65ºС, а штаммы LV19 и LV49 росли при 50-75ºС. Все выделенные штаммы являются гетеротрофами, способными использовать широкий спектр сахаров в качестве источника углерода. Анализ метаболических путей в геномах штаммов LV47, LV19 и LV49 показал наличие генов метаболизма углеводородов: Эмбдена-Мейергофа-Парнаса, пентозо-фосфатного пути, деградации галактозы и гликогена и глиоксилатного цикла и пути биосинтеза витаминов. Проведенные эксперименты показали, что штаммы *Tepidibacillus* sp. LV47 и *Thermoanaerobacter* sp. LV47 способны разрушать углеводороды нефти, что делает их перспективными организмами для использования в биотехнологиях защиты окружающей среды.

E-mail: sonyamakh@yahoo.com

БИОРАЗНООБРАЗИЕ КУЛЬТИВИРУЕМОЙ МИКРОФЛОРЫ НЕФТЕШЛАМА ВРЕМЕННОГО НАКОПЛЕНИЯ

Моисеева Е.В., Худокормов А.А., Самков А.А., Волченко Н.Н., Круглова М.Н.

ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, Краснодар

Присутствие микроорганизмов в нефтешламе временного накопления (срок накопления до 11 месяцев) позволяет разрабатывать стратегию его дальнейшей переработки с применением биотехнологических методов. Разнообразный химический, физический и микробиологический состав шлама может негативно сказываться на аллохтонной микрофлоре, используемой при биоремедиации, что может отражаться на сроках проведения работ. Как и любая другая среда обитания, нефтешлам создает условия для развития различных физиологических групп микроорганизмов, постепенно создавая устойчивое микробное сообщество уникальное для каждого отдельно взятого шлама. Знания о текущем микробном разнообразии шлама можно применять для разработки эффективных методов биоремедиации. Исследуемый образец шлама отобран из шламонакопителя временного накопления на территории Краснодарского края. Для количественного определения культивируемой микрофлоры использовались классические микробиологические методы посевов на питательные среды: МПА для учета гетеротрофных бактерий, олигонитрофы (10 % МПА), Дианової-Ворошиловой для нефтеокисляющих бактерий, Гильтая для денитрификаторов, Эшби – азотфиксоторы аэробные, Виноградского – азотфиксаторы анаэробные, целлюлолитики аэробные и анаэробные, нитрификаторы I и II фазы. В результате учета основных физиологических групп в нефтешламе временного накопления выявлено преобладающее количество гетеротрофной (2×10^5 КОЕ/мл) и олиготрофной (7×10^5 КОЕ/мл) микрофлоры. Аэробные азотфиксирующие бактерии присутствовали в количестве $6{,}7\times10^3$ КОЕ/мл, анаэробные не были обнаружены. В данном шламе преобладают микробиологические процессы окисления нитритов до нитратов, осуществляемые нитрификаторами II фазы, которых выявлено 1×10^6 КОЕ/мл. Поэтому в угнетенном состоянии находились денитрифицирующие бактерии, полностью утратившие возможность восстанавливать нитраты до газообразных оксидов и молекулярного азота. Количество аэробных целлюлолитиков $1{,}7\times10^4$ КОЕ/мл указывает на ограниченное количество целлюлозы в шламе. На токсичность данного образца опосредованно указывает отсутствие нефтеокисляющих бактерий. Микробное разнообразие экологических групп непосредственно связано с физиологией микроорганизмов и влиянием среды на количественный состав микрофлоры нефтешлама. Применение универсального подхода с внесением микробных препаратов и биогенных элементов, рассчитанных только из концентрации углеводородов и не учитывающего состав и влияние аборигенного микробного сообщества, способно снизить эффективность биоремедиации шламов. Это может привести к увеличению количеств вносимых биопрепаратов и основных биогенных элементов, что негативно отразится на стоимости и сроках проведения работ по биоремедиации.

E-mail: moisieieva97@inbox.ru

ВЗАИМОСВЯЗЬ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ С ГАЗОВЫМ СОСТАВОМ И ОРГАНИЧЕСКИМ ВЕЩЕСТВОМ ВОД ПОЙМЕННЫХ ОЗЁР СРЕДНЕЙ ОБИ

Никиткина[1,2] Э.Г., Лущаева[1,2] И.В., Раудина[1] Т.В., Колесниченко[1] Л.Г.

[1]Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск
[2]ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, Томск

Изучение микробных сообществ пойменных озёр помогает понять процессы, обеспечивающие трансформацию органического вещества, что важно для прогнозирования последствий климатических изменений и управления водными ресурсами. В работе представлены результаты микробиологического и физико-химического исследования воды поверхностного и придонного слоёв трёх пойменных озёр центральной поймы среднего течения реки Оби (Томская область) в сезонной динамике водного режима (летняя межень – зимняя межень – паводок). Реализованные методики исследований водных объектов поймы включали измерения содержания растворенного кислорода и углекислого газа *in situ*, спектрофотометрическое определение структуры органического вещества воды с последующим расчётом спектральных коэффициентов $SUVA_{254}$, E4/E6, E2/E3, SR, анализ содержания растворённого органического углерода при помощи метода полного сжигания при 800 °C на приборе TOC-L CSN, Shimadzu. Для характеристики микробиологической активности был применён метод мультисубстратного тестирования на тест-системах BIOLOG ECO MicroPlate (США) и микроскопически учтено общее микробное число (ОМЧ) методом прямого подсчёта бактериальных клеток с помощью LIVE/DEAD® Viability/Cytotoxicity Kit. Выявлена положительная корреляция между ОМЧ и концентрацией РОУ, наиболее выраженная в летний период и в поверхностных слоях воды. В зимний период выражена связь ОМЧ с показателем $SUVA_{254}$. Отмечена положительная связь потребления легкоусвояемых углеводов с концентрацией РОУ, интенсивность потребления углеводов в придонных слоях положительно коррелировала с $SUVA_{254}$. Оценена взаимосвязь численности и метаболической активности бактерий пойменных водоёмов с газовым составом в сезонном и стратификационном контексте. Исследование позволило оценить влияние сезонных факторов, стратификации водоёмов и химического и газового состава воды на численность бактерий и их метаболическую активность.
Работа выполнена при финансовой поддержке грантом РНФ 23-16-00218.

E-mail: madderroot@mail.ru

ГАЛОФИЛЬНЫЕ АРХЕИ ЗАПАДНОГО АРАЛЬСКОГО МОРЯ

Перевалова[1] А.А., Меркель[2] А.Ю., Бонч-Осмоловская[1] Е.А.

[1]Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва
[2]Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

Современное Аральское море представляет собой экстремальную экосистему – водоем с крайне высоким содержанием соли. Однако, несмотря на его уникальность и важнейшее значение для региона, сведения о микробных сообществах Аральского моря и окружающих его местообитаний весьма ограничены. Согласно недавно полученным данным (Черных и др., 2024), доминирующими микроорганизмами в воде Аральского моря с минерализацией 22% являются галофильные археи семейства *Haloferacaceae* (22-43%). Анализ генов 16S

рРНК метагеномных последовательностей (MAGs) Аральского моря показал, что ближайшими культивируемыми родственниками детектируемых архей являются представители рода *Halogeometricum* (уровень сходства 92.8%). Из образцов воды Аральского моря на минеральной среде, по составу имитирующей природную аральскую воду с содержанием NaCl 18-30% и с хитином различного происхождения в качестве энергетического субстрата, были получены аэробные накопительные культуры. Их состав проанализирован путем высокопроизводительного секвенирования вариабельного участка гена 16S рРНК; также проведен метагеномный анализ микробных сообществ. При посеве накопительных культур на твердую среду был получен рост розовых колоний, предположительно галофильных архей, которые затем были выделены в чистую культуру. Морфологически новые изоляты представляли собой плеоморфные клетки – кокки и клетки неправильной формы: плоские треугольники и трапеции. Анализ накопительных и чистых культур дополнит данные метагеномных исследований природных образцов, расширив наши представления о метаболическом разнообразии микроорганизмов, обитающих в воде Аральского моря.
Работа выполняется при финансовой поддержке РНФ №25-14-00073.

E-mail: annprv@gmail.com

ЖЕЛЕЗОРЕДУКЦИЯ У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕМЕЙСТВА *MELIORIBACTERACEAE*: МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ДЕТЕРМИНАНТЫ ВНЕКЛЕТОЧНОГО ПЕРЕНОСА ЭЛЕКТРОНОВ

Пихтерева[1] В.А., Гаврилов[1] С.Н., Клюкина[1] А.А., Меркель[1] А.Ю., Чистякова[2] Н.И., Комлева[2] Д.И., Подосокорская[1] О.А., Заварзина[1] Д.Г.

[1]ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва
[2]МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

Бактерии, относящиеся к семейству *Melioribacteraceae,* обладают широким метаболическим потенциалом. Все известные выделенные в чистую культуру представители данного семейства являются термотолерантными или термофильными хемоорганотрофными факультативными анаэробами, способными к диссимиляционной железоредукции. В ходе исследования микробного разнообразия Ессентукского месторождения минеральных вод нами был выделен и таксономически охарактеризован штамм Ez-97, представляющий новый вид рода *Melioribacter*. Было проведено исследование, с целью установления различий в протекании процесса диссимиляционной железоредукции у всех известных на сегодняшний день представителей данного семейства. Типовые штаммы культивировали с ацетатом или целлобиозой в качестве доноров электронов, синтезированным ферригидритом в качестве акцептора электронов и дрожжевым экстрактом в качестве фактора роста. В ходе эксперимента проводили контроль образования Fe(II) (спектрофотометрически) и потребления субстратов (хроматографически), подсчитывали клетки с помощью флуоресцентной микроскопии, а также исследовали преобразование ферригидрита и новообразованные фазы методом Мёссбауэровской спектроскопии. При росте на ацетате наибольшую активность в восстановлении ферригидрита проявил штамм Ez-97, при облегченном брожении на целлобиозе разница в активности штаммов была менее очевидной. Был проведен анализ геномов всех исследованных штаммов, с целью обнаружения детерминант, ответственных за внеклеточный перенос электронов, а также проведено их сравнение для установления детерминант, обуславливающих различия в активности процесса железоредукции у исследованных бактерий. Полученные результаты существенно

расширяют знания об особенностях процесса внеклеточного переноса электронов у представителей семейства *Melioribacteraceae.*
Работа выполнена при поддержке гранта РНФ №24-64-00023

E-mail: pikhtereva.valeria@gmail.com

АЭРОБНОЕ И АНАЭРОБНОЕ ОКИСЛЕНИЕ УГЛЕВОДОРОДОВ НЕФТИ МИКРОБИОМАМИ МОРСКИХ ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ

Пономарева А.Л., Еськова А. И., Полоник Н.С.

Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН, Владивосток

В течение пятилетней экспедиционной работы коллективами лабораторий газогеохимии и комплексных исследований окружающей среды и минеральных ресурсов ТОИ ДВО РАН были проведены работы по исследовании различных районов Мирового океана, связанных с газофлюидной разгрузкой. На базе этих данных было проведено исследование аэробного и анаэробного окисление углеводородов нефти. Более 50 проб донных отложений, отобранные в районах наиболее интенсивных зон выхода метана, культивировались в аэробных и анаэробных условиях с использованием сырой нефти, в качестве единственного источника углерода. Было выявлено, что наименьшее количество станций относились к тем, в которых процессы окисления углеводородов шли с одинаковой интенсивностью. Их число не превышало 10 % от общего количество проб. Наибольшее количество станций относились к тем, на которых преобладало аэробное окисления углеводородов нефти. Их количество составило около 45 %. При этом с помощью хромато-масс-спектрометрии было выявлено, что в анаэробных условиях с наибольшей скоростью утилизируются наиболее короткие углеводороды до С12, а в аэробных со средней длиной цепи углеводородного скелета от С15 до С21. Станции, на которых преобладало анаэробное окисление углеводородов, были связаны либо с районами подводных вулканов, либо районом, в котором были обнаружены газогидраты. Большинство станций, в которых преобладает аэробное окисление, были связаны с континентальным шельфом. Анализ микробиомов показал, что при преобладании анаэробной деструкции углеводородов в пробах фиксировали сульфатредуцирующие и денитрифицирующие прокариоты. Последние чаще всего обладали свойством окислять углеводороды нефти, как в аэробных, так и анаэробных условиях и относились к родам *Pseudomonas* и *Psychrobacter*.

E-mail: ponomareva.al@poi.dvo.ru

НОВЫЙ ВИД *PSYCHROBACILLUS*, ВЫДЕЛЕННЫЙ ИЗ ПОЧВ СЕВЕРНОГО КАВКАЗА

Романенко[1,2] М.Н., Шиков[1] А.Е., Савельев[1,2] Г.К., Шматов[1] Ф.М., Савина[1] Ю.А., Кузнецова[1] И.Г., Чивкунова[3] О.Б, Соловченко[3] А.Е., Нижников[1,2] А.А., Антонец[1,2] К.С.

[1]Лаборатория протеомики надорганизменных систем, ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург;
[2]Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург;
Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

Род *Psychrobacillus* из семейства *Bacillaceae* был выделен Кришнамурти и др. в 2010 году после пересмотра ряда видов рода *Bacillus* с использованием полифазного подхода. Согласно NCBI Taxonomy, на сегодняшний день род включает 10 видов. Новый представитель рода, выделенный нами из почвы в районе озера Сылтранкель (Кабардино-Балкария), представляет собой палочковидные грамотрицательные клетки размером (0,5–0,7) × (2,0–3,5) мкм, формирующие круглые, гладкие, грязно-жёлтые, матовые колонии диаметром 2–5 мм. Бактерии не образуют эндоспор. Световая микроскопия и ТЭМ выявили выраженную подвижность и перитрихальное расположение жгутиков. Оптимальный рост наблюдался при pH 6,5, 30 °C и 0,5 % NaCl на жидкой среде 2TY. Вид был каталазоположительным, уреазонегативным, метаболизировал 45 из 71 субстрата по системе GENIII Microplate и проявлял устойчивость к налидиксовой кислоте. Преобладали жирные кислоты C14:0 (16 %) и C14:1 (52,8 %). Сравнение геномов с ближайшим типовым штаммом *P. glaciei* PB01 выявило, что значения DDH и ANI относительно него составили 31 % и 84,44 % соответственно, что существенно ниже видового порога. Эти данные подтверждают, что бактерия представляет собой отдельный вид. Выявлено восемь метаболических кластеров, в том числе отдаленный гомолог кластера биосинтеза стрептозотоцина с низкой идентичностью (7,69 %). Этот кластер был выявлен только у данного вида *Psychrobacillus* в сравнении с доступными в базе NCBI Assembly геномами. Известно, что стрептозотоцин синтезируется бактериями рода *Streptomyces*, что подчёркивает потенциальную уникальность метаболических возможностей вида. Совокупность фенотипических, физиолого-биохимических и геномных характеристик указывает на принадлежность выделенной нами бактерии к новому виду рода *Psychrobacillus*. Учитывая выявленные особенности, данный вид может представлять интерес как с таксономической, так и с биотехнологической точки зрения.

Работа была выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 24-16-00284).

E-mail: m.romanenko@arriam.ru

ВЛИЯНИЕ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ НА БИОРЕМЕДИАЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ Р. ОКА

Сазонова О.И., Ветрова А.А., Иванова А.А.

ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН», Пущино

Сброс сточных вод и сток поверхностных вод способствуют загрязнению речных систем. Нарушается стабильность биологических сообществ водных экосистем, что приводит к значительному снижению их способности к естественному самоочищению в условиях антропогенного воздействия. Цель исследования – оценка экологического состояния прибрежной зоны бассейна реки Ока в пределах городского округа Серпухов с определением

степени антропогенного загрязнения и его влияния на биоремедиационный потенциал бактериоценозов донных отложений. Отбор проб седиментов проводили вдоль русла р. Ока в районе г.о. Серпухов в семи сайтах с разным типом антропогенной нагрузки. Прямым высевом на Л-агар определена общая численность (ОЧ) бактерий, а высевом на минеральную среду с дизельным топливом - количество деструкторов углеводородов нефти. Содержание углеводородов определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Идентификацию штаммов-деструкторов проводили секвенированием гена 16S рРНК. Количество нефтедеструкторов (НД) составило 0.10 - 0.65% от ОЧ бактерий. Метод главных компонент показал, что ОЧ отрицательно коррелировала с содержанием аценафтена и алканов с длиной цепи С30, С16, С28 и С22. Численность НД положительно коррелировала с содержанием фенантрена, флуорена и алканов с длиной цепи С12 и С15, и отрицательно – с аценафтеном и алканами с длиной цепи С10, С11, С14, С19 – С32. Алифатическая фракция загрязнения в наибольшей степени влияла на численность микроорганизмов, в том числе деструкторов. Выделенные НД относились к 12 родам бактерий. Бактерии рода *Acinetobacter* были наиболее распространены и присутствовали в большинстве образцов. В целом, для бактериальных сообществ образцов седиментов отмечен низкий биоремедиационный потенциал.
Финансирование Минобрнауки РФ (FMRM-2022-0014).

E-mail: sazonova_oi@rambler.ru

НОВЫЕ ВЕРРУКОМИКРОБЫ РОДА *OLEIHARENICOLA*: ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И АНАЛИЗ ГЕНОМОВ

Салова[1] В.Д., Данилова[1] О.В., Сузина[2] Н.Е., Дедыш[1] С.Н.

[1]Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва
[2]Институт фундаментальных проблем биологии, ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований» РАН, Пущино

Филум *Verrucomicrobiota* представляет собой широко распространенную группу бактерий, однако включает сравнительно небольшое количество культивируемых представителей. Большинство веррукомикробов являются аэробными или анаэробными гетеротрофами, населяющими почвы, пресноводные и морские экосистемы, включая экстремальные местообитания, а также желудочно-кишечный тракт различных животных.
Ранее из биореактора с метанокисляющими микроорганизмами нами был выделен новый представитель этого филума, *Oleiharenicola* sp. Vm1, относящийся к семейству *Opitutaceae* и имеющий морфологию ультрамелких кокков и диплоккоков. С помощью фазово-контрастной микроскопии был проведен скрининг ряда накопительных культур метанотрофов на наличие клеток подобной морфологии. В результате из двух накопительных культур были выделены штаммы А3 и Е5, филогенетический анализ которых показал их принадлежность к роду *Oleiharenicola*. Ближайшим филогенетическим родственником полученных изолятов является штамм Vm1 со сходством нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК в 98.97% и 99.10%, соответственно. Все выделенные штаммы являлись аэробными гетеротрофами, способными к росту на сахарах, некоторых полисахаридах и органических кислотах. Особенностью изолятов являлась способность расти на полисахаридах микробного происхождения и дезокси-L-сахарах. Для использования последних необходимо формирование бактериальных микрокомпартментов (БМК), служащих для изоляции токсичного продукта окисления этих субстратов - лактальдегида. Анализ геномов новых изолятов выявил необходимые пути для окисления дезокси-L-сахаров и формирования БМК. Последние были выявлены в клетках штамма Vm1 с помощью электронной микроскопии.

Вероятно, выделенные штаммы используют эти пути при росте в ассоциации с метанотрофами, в состав экзополисахаридов которых входит L-рамноза.
Работа поддержана грантом РНФ №25-24-00426.

E-mail: salovavd@gmail.com

ИЗМЕНЕНИЯ ТАКСОНОМИЧЕСКОГО СОСТАВА И ДЕСТРУКЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ ПРОКАРИОТНОЙ МИКРОФЛОРЫ ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ ПРИ БИОЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОЙ СТИМУЛЯЦИИ

Самков[1] А.А., Чалая[1] А.О., Цепелева[1] А.Е., Круглова[1] М.Н., Волченко[1] Н.Н., Худокормов[1] А.А., Моисеева Е.В., Карасева[1] Э.В., Хуснутдинова[2] Д.Р., Маркелова[2] М.И.

[1] Биологический факультет, Кубанский государственный университет, Краснодар
[2] НИЛ «Мультиомиксные технологии живых систем» ИФМиБ КФУ, Казань

Биоэлектрохимическая система (БЭС), при условии приложения внешнего электрического потенциала к размещенным в донных отложениях и над ними инертных электродов (анода и катода, соответственно), позволяет существенно менять скорость и направленность катаболических процессов, что отражается на составе микробных сообществ поверхности анода и околоанододной зоны. Оценки таксономического состава архейной и эубактериальной микробиоты донных отложений через метабаркодинг тотальной ДНК (праймеры к v3-v4 регионам гена 16S рРНК, платформа MiSeq, анализ по алгоритму Qiime2 и базе Silva138) показали существенные изменения сообществ в условиях анодной зоны БЭС, на разных таксономических уровнях. Обнаружено, что длительная принудительная внешняя поляризация электродов БЭС обуславливает значительные изменения окислительно-восстановительного потенциала донных отложений, зависящие от величины и полярности прилагаемого потенциала. Биодеградация, в том числе, дехлорирование пестицида имидаклоприда в донных отложениях также зависели от биоэлектрохимической стимуляции.

E-mail: andreysamkov@mail.ru

ДИНАМИЧЕСКАЯ СТАБИЛЬНОСТЬ ФОТОТРОФНЫХ СООБЩЕСТВ СОДОВЫХ ОЗЕР КУЛУНДИНСКОЙ СТЕПИ, ОБУСЛОВЛЕННАЯ КЛИМАТИЧЕСКОЙ ЦИКЛИЧНОСТЬЮ

Самылина[1] О.С., Косякова[1] А.И., Крылов[2] А.А., Пименов[1]Н.В.

[1]Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва
[2]Институт океанологии им. П.П. Ширшова РАН, Москва

Для содовых озер Кулундинской степи (Алтайский край, Россия) характерен переменный гидрологический режим с периодами полноводья и мелководья, обусловленный циклическими климатическими процессами. Базой для функционирования озерных экосистем служат микробные сообщества, но до сих пор нет ясного представления о том, какие изменения климата могут стать критическими для их устойчивого существования. Воздействие меняющегося гидрологического режима на первично-продукционное звено микробных сообществ – фототрофные микроорганизмы – было проанализировано за 12-летний период наблюдений (2011–2022 гг.). В качестве модельного объекта было выбрано мелководное содовое озеро Танатар VI (51°37'08.4"N, 79°48'53.0"E). Была проанализирована

встречаемость 39 морфотипов фототрофных микроорганизмов – цианобактерий, водорослей и аноксигенных фототрофных бактерий. Основным подходом было сопоставление полевых наблюдений, инструментальных измерений, спутниковых снимков и данных о солнечной активности. В течение исследуемого периода произошли трёхкратные изменения площади водной поверхности озера, которые имели сильную корреляцию с фазами 24-го и 25-го циклов солнечной активности. Такие изменения носят не резкий (катастрофический), а медленный и закономерный (колебательный) характер. Связанные с объёмом воды значения общей солености изменялись в диапазоне от 13 до 250 г/л. Показано, что многолетняя динамика разнообразия фототрофных микроорганизмов определялась изменением общей солености. Было сделано заключение, что климатические изменения, обусловленные цикличностью солнечной активности, приводят к закономерным повторяющимся изменениям устойчивых альтернативных состояний экосистемы (структурных и/или функциональных), то есть к динамической стабильности микробных сообществ, которую необходимо учитывать в природоохранной и эксплуатационной работе с озёрами региона.
Исследования выполнены при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 22-14-00038-П, https://rscf.ru/project/22-14-00038/.

E-mail: olga.samylina@gmail.com

ИССЛЕДОВАНИЕ КАРОТИНОИДСИНТЕЗИРУЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ ГОРОДСКОЙ СРЕДЫ

Седова В.В., Дёмин К.А.

ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет», Ростов-на-Дону

Деградация естественных сред обитания в ответ на активную урбанизацию является актуальной проблемой. Микробиом, как важный компонент экосистемы, испытывает давление отбора способность переносить неблагоприятные факторы городской среды. Одним из факторов защиты от стресса является биосинтез каротиноидов. Можно ожидать увеличение доли и разнообразия каротиноидсинтезирующих микроорганизмов в городской среде. Для проверки данной гипотезы были проведены культуральный и метагеномный анализ. Суспензии почвы, а также снежных и пылевых осадков городских и естественных сред высевались на соевый агар. После инкубации учитывалась доля окрашенных колоний и смывалась тотальная биомасса (далее – культуром). Также проводилась экстракция и секвенирование тотальной ДНК для оценки разнообразия каротиноидсинтезирующих таксонов и генов синтеза каротиноидов. Для образцов городских почв было показано преобладание (50% и выше) пигментированных колоний по сравнению с «негородскими» образцами. Для образцов пыли и снега разница была менее выражена: для городской пыли доля окрашенных составляла 70%, для «негородских» – 65%. Для снега – 71% и 79%. Отличие результатов для образцов пыли/снега от почвенных можно объяснить большей гомогенностью первых за счёт переноса пылевых частиц и характера образования осадков. В культуроме городской почвы были обнаружены кластеры генов биосинтеза разнообразных каротиноидов, включая ликопин, α- и β-каротин, зеаксантин, лютеин, антераксантин и кантаксантин. Данные кластеры были аффилированы с представителями филумов *Bacteroidota* и *Pseudomonadota*. Культуром негородской почвы содержал отдельные гены, необходимые для биосинтеза стафилоксантина, антераксантина и кантаксантина (аффилированные с представителями *Bacillota*).
Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ № FENW-2023-0008
E-mail: vsedova@sfedu.ru

РЕКЛАССИФИКАЦИЯ ВИДА *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* С ВЫДЕЛЕНИЕМ НОВЫХ ПОДВИДОВ

Сидорин А.С., Бурыгин Г.Л., Ткаченко О.В.

ФГБОУ ВО Вавиловский университет, Саратов

Бактерии рода *Bradyrhizobium* играют важную биологическую роль, благодаря своей способности фиксировать атмосферный азот и вступать в эффективные симбиотические взаимоотношения с растениями семейства *Fabaceae*. Чаще всего для эффективной инокуляции семян используется вид *Bradyrhizobium japonicum*. Целью данной работы является реклассификация некоторых видов рода *Bradyrhizobium* на основе данных полногеномного секвенирования новых изолятов клубеньковых бактерий, выделенных из сои. Из клубеньков сои были выделены медленнорастущие изоляты. Таксономическое определение и филогенетический анализ проводили с использованием результатов расчета средней нуклеотидной идентичности (ANI) и сравнения единичных нуклеотидных полиморфизмов (SNP-анализ). Проведение ANI-теста показало, что 7 из 8 изолятов имели гомологию >95% с типовыми штаммами *B. japonicum*и *B. barranii*. По результатам SNP-анализа штаммы располагались в одном кластере, равноудаленном от *B. japonicum*и *B. barranii*. Анализ геномов всех штаммов *B. japonicum*и *B. barranii* в базе данных NCBI не выявил достаточных различий для определения их, как отдельных видов, а новые штаммы заняли промежуточное положение между ними. На этой основе предлагается реклассифицировать вид *B. japonicum* с включением в него 7 новых штаммов и штаммов *B. barranii*, раздели ввид на три подвида: *Bradyrhizobium japonicum* subsp. *japonicum* subsp. nov., *Bradyrhizobium japonicum* subsp. *saratovii* subsp. nov. и *Bradyrhizobium japonicum* subsp. *barranii* subsp. nov.

E-mail: sasha.sidorin2013@mail.ru

РИЗОСФЕРНЫЕ БАКТЕРИИ ЗОНЫ АРИДНОГО КЛИМАТА

Сопрунова О.Б., Гальперина А.Р., Бареева А.Ш., Ерофеева А.В.

ФГБОУ ВО «Астраханский государственный технический университет», Астрахань

Экосистемы, формирующиеся в аридных климатических зонах, заметно отличаются слагающими их условиями и факторами: температурой, физико-химическими особенностями и др. Соответственно, биота, и в первую очередь, микробиота, также отличается как видовым, так и функциональным разнообразием. Для растений, обитающих в аридных и полуаридных зонах, характерны сложные адаптационные стратегии, включающие в себя биохимические, физиологические и молекулярные механизмы для смягчения различных биотических и абиотических стрессов. Помимо приспособительных функций самих растений в аридных условиях существенно возрастает значимость ризосферной микробиоты, также прошедшей эволюционный отбор на оптимальное функционирование и взаимодействие с макроорганизмом. Сообщество микроорганизмов ризосферы обладает пластичностью и способно адаптироваться к абиотическим стрессам, при этом повышая устойчивость к ним растения. Таким образом, ризосферные микроорганизмы аридных экосистем являются природным резервуаром для выделения штаммов с широким перечнем свойств: солюбилизация нерастворимых соединений фосфора, антагонизм к фитопатогенам, фиксация молекулярного азота, увеличение пула органического углерода, синтез фитогормонов и др. В связи с этим, выделение ризосферных бактерий аридной зоны, изучение физиолого-

биохимических свойств и проведение молекулярно-генетической идентификации позволяет получить результаты, необходимые для расширения сведений о микробном разнообразии аридных почвенных экосистем, разработки способов их применения в современных условиях для развития экологических биотехнологий. Исследования посвящены выделению, созданию коллекции и идентификации бактериальных культур ризосферы и ризопланы растений аридных экосистем Нижнего Поволжья и изучению их физиолого-биохимических свойств.
В ходе экспериментальных исследований из ризосферы дикорастущих растений выделены представители родов *Enterobacter, Mixta, Pseudomonas, Paenibacillus,* обладающие способностью к синтезу ИУК (3,5–146 мкг/мл); из ризосферы культурных растений выделены представители родов *Enterobacter, Klebsiella, Bacillus* с диапазоном синтеза ИУК 20,5–110 мкг/мл, проявляющие ростостимулирующую активность по отношению к семенам сельскохозяйственных растений (семена горчицы, редиса и томата). Полученные результаты исследований позволили впервые получить сведения о представителях ризосферных бактерий культурных и дикорастущих растений почв аридной зоны в пределах Астраханской области, установить их родовую или видовую принадлежность, определить способность к выработке ИУК, выявить наличие ростостимулирующих свойств штаммов, что расширяет представления о свойствах бактерий, ассоциированных с ризосферой растений зоны аридного климата.
Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда № 23-26-00227 «Генетическая паспортизация ризосферных микроорганизмов аридных экосистем с биотехнологически значимыми свойствами».

E-mail: soprunova@mail.ru

МЕТАГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА ИЗ ГЛУБОКОГО ПОДЗЕМНОГО ИСТОЧНИКА БАКСАНСКОЙ НЕЙТРИННОЙ ОБСЕРВАТОРИИ

Тарасов [1] К.А., Зарубин[1] М.П., Яхненко[1] А.С, Гангапшев[2] А.М., Кравченко[1] Е.В.

[1]Лаборатория ядерных проблем, Объединённый институт ядерных исследований, Дубна
[2]Баксанская нейтринная обсерватория, Институт ядерных исследований РАН, Москва

По разным подсчётам биомасса организмов, обитающих глубоко под землёй, составляет 10-20% от всей биомассы планеты. Однако, в связи с труднодоступностью глубокая подземная биота изучена относительно слабо. В данной работе мы представляем результаты метагеномного исследования микробного сообщества биоплёнки из глубокого подземного источника Баксанской нейтринной обсерватории (Кабардино-Балкария, Россия), расположенного на глубине 2 км под поверхностью г. Андырчи. Проведен етагеномный анализ микробного сообщества, химический анализ воды источника. Сообщество источника представлено, в основном, типами *Proteobacteria* (74% метагеномной ДНК) и *Planctomycetota* (16%). Типы *Nitrospirota, Myxococcota, Cyanobacteriota, Armatimonadota* и *Gemmatimonadota* также представлены в сообществе и составляют в сумме около 10%. Сообщество имеет сложный состав: в нём имеется продуценты первичных органических соединений, консументы, хищные бактерии. Первичными источниками углерода являются абиогенный метан (присутствуют метанотрофы I и II типа), а также углекислый газ (имеются представители, осуществляющие фиксацию углекислого газа в цикле Кальвина, пути Вуда-Льюнгдала, цикле Арнона). Биогенные реакции цикла азота представлены широко и разнообразными группами микроорганизмов: в источнике имеются азотфиксаторы, нитрификаторы обеих стадий, денитрификаторы, анаммокс-бактерии, организмы, разлагающие сложные органические соединения азота. Биогенные реакции цикла серы в источнике представлены слабо. Представлена экологическая модель обмена веществ в

источнике. Восстановленные соединения железа, водород, метан и аммиак вулканического и корового происхождения, вероятно, являются источниками энергии для микробного сообщества. Произведено сравнение состава источника БНО с другими данными из глубоких подземных гранитных местообитаний по всему миру, обсуждены совпадающие и отличительные признаки этих сообществ.
Исследование поддержано грантом РНФ № 24-24-00003.

E-mail: ktarasov@jinr.ru

ПОДХОДЫ К РАЗГРАНИЧЕНИЮ ВИДОВ ВОДОРОСЛЕЙ НА ПРИМЕРЕ ШТАММОВ ВСЕРОССИЙСКОЙ КОЛЛЕКЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ

Темралеева А.Д., Редькина В.В., Кривина Е.С.

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, Пущино

Водоросли *sensu lato* – древняя и экологически значимая группа организмов, объединяющая таксономически разнородных представителей отделов Cyanobacteria, Cryptista, Haptophyta, Cercozoa, Dinoflagellata, Heterokontophyta, Chlorophyta, Rhodophyta, Charophyta, Glaucophyta и Euglenophyta. Благодаря уникальной физиологии, высокой экологической валентности и адаптационной пластичности они доминируют в самых разнообразных местообитаниях, и не только демонстрируют эволюционный успех, но и имеют важное практическое значение в мониторинге окружающей среды, сельском хозяйстве, биоэнергетике, а также в фармацевтической, косметической и пищевой промышленности. Альгологическая часть фонда Всероссийской коллекции микроорганизмов (ВКМ) насчитывает более 500 штаммов микроводорослей, выделенных из различных наземных и водных экосистем России, Беларуси, Казахстана, Узбекистана, США, Украины, Швейцарии, Германии, Италии и других стран. Для идентификации известных видов водорослей и валидации новых таксонов в ВКМ применяется комплекс методов ДНК-баркодинга и ДНК-таксономии, соответственно. В первом случае успешно апробирован однолокусный анализ таких молекулярных маркеров, как ген 16S рРНК (цианобактерии), ген *rbc*L (харофитовые и желтозеленые водоросли) и спейсер ITS2 (хлорофитовые и эустигматофитовые водоросли). Во втором случае используется мультилокусный анализ, базирующийся на дистанционном и символьном подходах, а также полногеномное секвенирование штаммов цианобактерий. Особенно перспективными являются алгоритмы ASAP, GMYC и PTP, которые автоматически устанавливают межвидовые границы на основе генетических дистанций или коалесцентных моделей и были успешно применены при ревизии родов *Meyerella, Micractinium, Coelastrella, Bracteacoccus, Chloroidium, Klebsormidium* и др.
Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

E-mail: temraleeva.anna@gmail.com

БИОМАССА ПРОКАРИОТ И ГРИБОВ И АКТИВНОСТЬ КЛЮЧЕВЫХ ЗВЕНЬЕВ ЦИКЛА УГЛЕРОДА И АЗОТА В ДОННЫХ ГРУНТАХ БЕЛОГО И КАРСКОГО МОРЕЙ

Тюлина А.И., Костина Н.В., Кураков А.В.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

На основе комплекса лабораторных методов дана микробиологическая характеристика грунтов Белого и Карского морей.
Отбор образцов проводили с разных глубин (1-30 м в Белом море, районе Беломорской биостанции МГУ и 15-300 м в Карском море в ходе рейсов НИС «Академик Мстислав Келдыш»). Активность азотфиксации, денитрификации, эмиссию CO_2 и CH_4 определяли в образцах грунтов методами газовой хроматографии при +7° и +28 °С без внесения и с добавкой источников углерода и азота, биомассу грибов и прокариот – люминесцентной микроскопией.
Биомасса прокариот составляет 15-38 мкг/г и 103-120 мкг/г в грунтах Карского и Белого морей. Биомасса грибного мицелия была на порядок ниже, на небольших глубинах сопоставима с бактериальной. Доля мицелия составляла 15-30% на этих глубинах, а на больших почти была представлена спорами и дрожжевыми клетками (до 98%). Биомасса прокариот и грибов уменьшаются с глубиной отбора грунта в Карском море. Скорость большинства исследованных процессов в грунтах Карского моря в отличие от Белого моря была сопоставима или выше при низкой температуре +7 °С, чем при +28 °С. Внесение глюкозы стимулирует скорость азотфиксации на несколько порядков в поверхностных слоях грунта Карского моря, и почти не меняло в восстановительном слое, как и денитрификации. Активность денитрификации снижалась с глубиной грунта Белого и Карского морей, азотфиксации росла в – Карском, снижалась в Белом море. Активность трансформации углерода была ниже на больших глубинах, за исключением роста выделения метана
Оценены запасы биомассы прокариот и грибов, актуальная и потенциальная активности азотфиксации и денитрификации, выделения CO_2, CH_4 в грунтах Белого и Карского морей. Значения этих показателей для морских грунтов, как правило, 1-2 порядка ниже, чем для органоминеральных горизонтов почв.

E-mail: kurakov57@mail.ru

МЕТАБОЛИЗМ И ГЕНОМИКА МИКРООРГАНИЗМОВ

ПЛЕНАРНЫЕ ДОКЛАДЫ

ВТОРИЧНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ КАК ПРЕДШЕСТВЕННИКИ ДЛЯ СИНТЕЗА ТЕРМИНАЛЬНЫХ АКЦЕПТОРОВ ЭЛЕКТРОНОВ ПРИ АНАЭРОБНОМ ДЫХАНИИ БАКТЕРИЙ

Богачев А.В., Берцова Ю.В.

НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

В отсутствие кислорода многие микроорганизмы способны к анаэробному «дыханию», используя различные органические соединения в качестве терминальных акцепторов

электронов для электрон-транспортной цепи. Эта область биохимии и физиологии бактерий является на сегодняшний день малоизученной, и многие пути анаэробного дыхания еще неизвестны. Проведенные нами работы показали, что морские бактерии из рода *Shewanella* способны использовать различные вторичные метаболиты в качестве предшественников для синтеза терминальных акцепторов электронов дыхательной цепи. Так, при разложении осмолита морских водорослей и растений диметилсульфониопрпионата (DMSP) может быть получен акрилат. Дезтриметиламинирование таких осмолитов и антиоксидантов цианобактерий как гистидин-бетаин (герцинин) и эрготионеин приводит к образованию уроканата и тиоуроканата, соответственно. Акрилат, уроканат и тиоуроканат могут восстанавливаться соответствующими редуктазами дыхательной цепи. Эти метаболические пути позволяют осуществлять анаэробное дыхание и поддерживать рост бактерий в анаэробных условиях на несбраживаемых субстратах. Осуществление описанных выше реакций микрофлорой кишечника должно приводить к образованию соединений (имидазолилпропионата, триметиламина), участвующих в развитии многих патологий у человека, что делает изучение этих процессов важным для лечения (предупреждения) многих болезней.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 24-24-00043).

E-mail: bogachev@belozersky.msu.ru

РАЗВИТИЕ СЛОЖНОСТИ - РАЗНООБРАЗИЕ И ЭВОЛЮЦИЯ ПУТЕЙ ВНЕКЛЕТОЧНОГО ПЕРЕНОСА ЭЛЕКТРОНОВ У АНАЭРОБНЫХ ПРОКАРИОТ

Гаврилов С.Н., Щетинин А.М., Лебединский А.В.

Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

Химические преобразования минералов железа и марганца прокариотами играют ключевую роль в биогеохимических циклах металлов и углерода и продолжают существенно влиять на минералогический состав земной поверхности, начиная с ранних этапов появления клеточной жизни. Биохимические процессы, вовлекающие нерастворимые соединения в энергетический метаболизм клетки, объединяют термином «внеклеточный перенос электронов» (ВПЭ). В настоящее время выделяют два его механизма: прямой перенос электронов через белки, ассоциированные с поверхностью клетки – редокс-активные цитохромы или электропроводящие структурные пилины, либо опосредованный перенос через секретируемые растворимые органические медиаторы. Прямой перенос накоротко «замыкает» электрон-транспортную цепь клетки на нерастворимый акцептор электронов. Такой вариант ВПЭ является наиболее энергетически выгодным. Его длительная эволюция обусловила широкое разнообразие детерминант этого процесса – порин-цитохромовых комплексов, мультигемовых цитохромов, интегрированных в поверхностные структуры клетки, электропроводящих филаментов, железосерных, молибдоптерин-, медь-, флавин-содержащих белковых комплексов. Многие из этих структур стали важнейшими компонентами путей прямого межвидового обмена электронами в сложноорганизованных микробных сообществах осадочных местообитаний, что привело к формированию природных биоэлектрохимических систем и возможности создания их технических аналогов. Разнообразие детерминант ВПЭ обусловлено множественностью биогеохимических условий, стимулирующих этот процесс, и избыточностью вариантов электрон-проводящих цепей, включающих в себя и белковые, и минеральные структуры. Это значительно затрудняет (мета)геномный анализ микробных сообществ и их отдельных представителей, осуществляющих процессы ВПЭ, что особенно заметно в сравнении с существующими

биоинформатическими методиками выявления путей серного и азотного метаболизма, аэробного дыхания и других окислительно-восстановительных процессов, для которых разнообразие механизмов ферментативных реакций существенно ограничено свойствами субстрата и/или продукта. До настоящего времени встречались лишь единичные попытки создания биоинформатических сервисов, которые на основании анализа эволюции генетических детерминант ВПЭ позволяли бы достоверно предсказывать способность к этому процессу у какого-либо микроорганизма или микробного сообщества. К сожалению, задача осталась нерешённой, особенно в отношении широкого разнообразия экстремофильных прокариот, осуществляющих ВПЭ и имеющих наиболее эволюционно древние и разнообразные варианты редокс-активных белковых структур. Обобщение опыта нашей группы по описанию фено- и генотипов представителей новых глубоких филогенетических ветвей экстремофильных прокариот, осуществляющих ВПЭ, позволило существенно расширить представления о вариациях детерминант этого важнейшего биогеохимического процесса и создать прототип биоинформатического сервиса для глубокого анализа (мета)геномов с целью выявления широкого спектра белков, вовлечённых в окислительно-восстановительные взаимодействия прокариотных клеток с минеральными компонентами их экосистем. Достоверное определение детерминант ВПЭ представляет основу не только для понимания механизмов функционирования и геохимической активности микробных сообществ осадочных мест обитания, но и для целенаправленного поиска новых объектов для биотехнологий получения электричества и энергоносителей в микробных топливных и электролитических элементах.
Работа выполнена при поддержке проекта РНФ 24-64-00023.

E-mail: sngavrilov@gmail.com

НЕОРГАНИЧЕСКИЕ ПОЛИФОСФАТЫ МИКРООРГАНИЗМОВ: РЕГУЛЯТОРНЫЕ ФУНКЦИИ И ПРАКТИЧЕСКИЕ ПЕРСПЕКТИВЫ

Кулаковская Т.В.

ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, Пущино

Неорганические полифосфаты, линейные полимеры, содержащие от нескольких до сотен фосфатных остатков, кроме решающей роли в гомеостазе фосфора, участвуют в контроле экспрессии генов, адаптации к стрессам, мембранном транспорте, образовании биопленок, являются одним из факторов вирулентности. Эти полианионы способны взаимодействовать с ДНК, фосфорилировать белки, изменяя их биологическую активность, а также служить матрицей для иммобилизации внеклеточных ферментов. У млекопитающих полифосфаты участвуют в процессах свертывания крови и воспалительного ответа, в формирования апатита кости, регулируют формирование амилоидов, Интерес представляет взаимодействие полифосфатов кишечного микробиома и организма человека. Микроорганизмы, накапливающие полифосфаты, играют ключевую роль в круговороте фосфора в природных и техногенных экологических нишах. Полифосфаты применяют для умягчения воды, в качестве пролонгированных фосфорных удобрений, они являются разрешенной пищевой добавкой для сохранения влаги и мягкого антисептического действия. Разрабатывают микробные сообщества для осаждения фосфатов из сточных вод для сохранения окружающей среды и рециклинга фосфора. Новые перспективные направления применения неорганических полифосфатов в медицине, такие как создание инновационных костных имплантов, зубных паст, наночастиц для адресной доставки веществ в органах и тканям, разработка лекарственных средств против заболеваний сердечно-сосудистой и нервной

систем требуют технологий получения полифосфатов заданной длины. Наилучшим источником таких полимеров являются микроорганизмы. Важное значение полифосфатов в организме человека требует методик анализа этих соединений, при этом наиболее специфичным является энзиматический анализ с применением ферментов микробного происхождения.

E-mail: alla@ibpm.ru

КАК ЗАЩИТИТЬСЯ ОТ ВИРУСОВ: МАКРОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ КОМПЛЕКСЫ В ИММУНИТЕТЕ БАКТЕРИЙ

Кульбачинский А.В.

Институт биологии гена Российской академии наук, Москва

Взаимодействие с вирусами и чужеродными генетическими элементами является одним из важнейших факторов в экологии и эволюции бактерий. Бактерии содержат множество защитных систем, способных подавлять разные типы вирусов. Многие из недавно открытых систем действуют по механизму абортивной инфекции, убивая зараженную клетку вместе с вирусом или переводя ее в неактивное состояние. Большинство таких систем включают два основных модуля: сенсор и эффектор. Сенсоры могут узнавать разные компоненты вируса или реагировать на состояние инфицированной клетки, а эффекторы действуют на определенные элементы вируса и клетки: нуклеиновые кислоты, белки, мембраны, ключевые метаболиты. Передача сигнала от сенсора к эффектору может происходить или напрямую или через дополнительные сигнальные молекулы. Исследования последних лет показали, что общим принципом активации многих защитных систем является образование олигомерных макромолекулярных комплексов. Поразительным примером подобных механизмов служит образование защитными белками протяженных филаментов с определенной ферментативной активностью: нуклеазной, НАДазной, протеазной и др. Филаменация, вероятно, обеспечивает «взрывную» активацию иммунных систем при узнавании чужеродных элементов. В нашей работе изучены новые защитные системы, ключевыми компонентами которых служат белки-Аргонавты. В таких системах Аргонавты выступают в роли сенсоров чужеродной ДНК, узнавая ее с помощью «гидовых» молекул РНК. Это приводит к образованию филаментов, состоящих из Аргонавтов, и активации ассоциированных с ними эффекторов с нуклеазной активностью. В результате происходит неизбирательное расщепление клеточной и вирусной ДНК и уничтожение инфицированных клеток. Мишень-зависимая нуклеазная активность таких систем потенциально может быть использована для высокочувствительной детекции ДНК или целенаправленного уничтожения целевых клеток и вирусов. Исследование поддержано грантом Российского научного фонда 22-14-00182-П.

E-mail: avkulb@yandex.ru

РАСПОЗНАВАНИЕ БАКТЕРИОФАГАМИ КЛЕТОЧНОЙ ПОВЕРХНОСТИ: ОТ ЭВОЛЮЦИИ К ФАГОВОЙ ТЕРАПИИ ТРЕТЬЕГО ПОКОЛЕНИЯ

Летаров[1,2,3] *А. В.*

[1]Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва
[2]НИИ Системной биологии и медицины Роспотребнадзора, Москва
[3]Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

Использование бактериофагов в качестве агентов антибактериальной терапии насчитывает более 100 лет истории. Фаговая терапия воспроизводит процессы взаимодействия бактериальных и вирусных популяций в природных экосистемах, будучи в своей основе природоподобной технологией. На клеточном уровне результат взаимодействия бактерии и фаговой частицы в значительной мере определяется способностью вириона специфически распознать сигнатуры клеточной поверхности, что приводит к необратимой перестройке вирусной частицы, необходимой для транспорта нуклеиновой кислоты (у подавляющего большинства фагов – днДНК) через сложные структуры оболочки бактериальной клетки. Наши исследования взаимодействий колифагов и их хозяев, как на популяционном уровне (преимущественно на примере кишечного микробиома лошади), так и в лабораторных моделях на выделенных системах фаг-хозяин показали, что критически важное значение для детерминации чувствительности или устойчивости имеет эффект неспецифического экранирования поверхности клетки О антигеном. Большинство структурных типов О антигена (соответствуют О-серотипам) обеспечивают очень высокую степень защиты, что приводит к практически полной устойчивости клеток. Эффективность барьера достаточно высока чтобы препятствовать не только росту фагов в литическом цикле, но и фактически блокировать лизогенизацию О-антиген-продуцирующих клеток умеренными фагами, лишенными соответствующих молекулярных приспособлений для проникновения сквозь слой О антигена. Тем не менее, многие бактериофаги способны инфицировать О-антиген продуцирующие штаммы. Наши результаты и данные литературы позволяют выявить несколько механизмов преодоления фагами барьера О антигена, общим свойством которых является, по-видимому, генерация механического усилия, способного транспортировать ДНК-проводящий хвост вириона хвостатых фагов сквозь слой О антигена. Понимание стратегий инфицирования клеток бактериофагами позволяет выбрать реалистичные схемы систем управления хозяйской специфичностью для ре-таргетирования бактериофагов-платформ к различным штаммам патогенов, что может позволить перейти от ФТ первого-второго поколения, использующей природные изоляты бактериофагов к более современным вариантам данной технологии.

E.mail: letarov@gmail.com

СЕКЦИОННЫЕ ДОКЛАДЫ

ПРОГРАММНЫЙ КОНВЕЙЕР BACPACK: ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ АНАЛИЗА ГЕНОМОВ БАКТЕРИЙ ДЛЯ ПРЕДСКАЗАНИЯ ИХ СВОЙСТВ

Антонец[1,2] К.С., Шиков[1] А.Е., Романенко[1,2] М.Н., Суханова[1] К.В., Нижников[1,2] А.А.

[1]Лаборатория протеомики надорганизменных систем, ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург
[2]Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

Представители различных групп бактерий находят применение в самых разных отраслях экономики, начиная от сельского хозяйства, защиты растений и заканчивая биотехнологией. Определение сферы возможного применения бактерий – долгий и трудоемкий процесс, предполагающий экспериментальную проверку свойств новых изолятов, и как правило предполагающий отбор из большого количества проб по одному-нескольким критериям, к примеру, по способности продуцировать одно определенное вещество. Однако, информация о синтезе различных белков и соединений закодирована в геноме бактерий. Аннотация генома бактерии и определение спектра соединений, которые она может продуцировать – долгий и многостадийный процесс. Нами был разработан программный конвейер, который автоматизирует процесс сборки и аннотации бактериального генома. Он позволяет проводить сборку генома из сырых прочтений, как коротких, так и длинных, а также аннотацию последовательностей с выявлением инсектицидных локусов, детерминант вирулентности и метаболических кластеров генов. Мы провели апробацию данного конвейера, получившего название BacPack на 37 геномах почвенных бактерий, собранных из разных регионов России. Анализ геномов позволил выявить бактерии, для которых были предсказаны инсектицидные, фунгицидные и бактерицидные свойства. Полученные данные сочетались с данными последующей экспериментальной проверки бактериальных изолятов. Таким образом, использование данного программного конвейера позволяет относительно быстро проводить комплексную оценку потенциала анализируемых бактериальных штаммов в целях создания микробиологических препаратов для защиты сельскохозяйственных растений от вредителей и патогенов.

Работа была выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 24-16-00284).

E-mail: k.antonets@spbu.ru

СПЕЦИФИЧНОСТЬ ДЕЙСТВИЯ B-ЛИТИЧЕСКОЙ ПРОТЕАЗЫ *LYSOBACTER CAPSICI* В ОТНОШЕНИИ ПЕПТИДОГЛИКАНОВ ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ

Афошин[1] А.С., Кудрякова[1] И.В., Павленко[1,2] С.В., Иванков[3] Д.Н., Булавко[3] Е.С., Леонтьевская[1] Е.А., Леонтьевская[1] Н.В.

[1] Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина – обособленное подразделение Федерального исследовательского центра «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», Пущино
[2] Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия
[3]Центр молекулярной и клеточной биологии, Сколковский институт науки и технологий, Москва

Распространение в обществе патогенных микроорганизмов, множественно устойчивых ко всем известным антибиотикам, ведет к интенсивному поиску и выделению новых антимикробных агентов - антибиотиков, пептидов и бактериолитических ферментов.
В ИБФМ РАН в течение многих лет изучаются бактериолитические ферменты бактерий рода *Lysobacter.* Одним из наиболее активных бактериолитических ферментов является β-литическая протеаза (Blp). Показано, что Blp гидролизует клетки живых бактерий, таких как: *Staphylococcus aureus, в т.ч. штаммы* MRSA, *S. haemolyticus, S. epidermidis, Micrococcus luteus* Ac–2230^T, *Kocuria rosea* Ac–2200^T, *Enterococcus faecium* FS86, *Streptococcus pyogenes*.
Целью данной работы было изучить специфичность действия Blp на пептидные связи в пептидогликанах патогенных бактерий. Специфичность действия Blp изучали в отношении пептидогликанов бактерий разного хемотипа: A3α у *S. aureus* 209P, A2 у *M. luteus* Ac-2230^T, A4α у *E. faecium* FS86 *и* A1γ у *Bacillus cereus* 217. После ферментативного гидролиза пептидогликанов определяли свободные C-концевые а.о. и N-концевые а.о. с использованием TLC. В результате было показано, что Blp гидролизует связи Gly-Gly и Gly-D-Ala (*S. aureus* 209P), L-Ala-D-Ala (*M. luteus* Ac-2230^T), D-Asp-D-Ala (*E. faecium* FS86). Пептидогликан *B. cereus* 217 Blp не гидролизует. Для предсказания функционально-значимых участков в структуре Blp, которые могут отвечать за связывание с клеточной поверхностью клеток-мишеней использовали молекулярный докинг. В результате в структуре Blp были предсказаны а.о., которые могут участвовать во взаимодействии с углеводной частью пептидогликана. Полученный результат в дальнейшем планируется подтвердить экспериментально. Таким образом, полученные данные расширяют знания о функционировании Blp и могут быть полезны при разработке антимикробных препаратов.
Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 24-75-10078).

E-mail: alex080686@mail.ru

АНАЛИЗ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ И ГЕНОМА ШТАММА *ACIDIPLASMA* SP. YE-1

Булаев А.Г., Кадников В.В., Артыкова А.В., Белецкий А.В., Елкина Ю.А., Колосов А.В., Латюк Е.С., Равин Н.В., Марданов А.В.

ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

Археи *Acidiplasma*, ацидофильные железоокисляющие микроорганизмы, являются одной из доминирующих групп микроорганизмов в реакторах биоокисления сульфидных концентратов. В данной работе были проанализированы физиологические свойств и геном штамма *Acidiplasma* sp. YE-1, исследована дифференциальная экспрессия генов при росте в

присутствии двухвалентного железа Fe^{2+} и серы S^0, а также пирита и арсенопирита, чтобы получить новые данные о взаимодействии микроорганизмов и сульфидных минералов. Штамм был выделен из пробы пульпы реактора биоокисления золотосодержащего концентрата. Были исследованы физиологические свойства штамма и реконструирован полный кольцевой геном длиной 1718531 п.н. С помощью транскриптомного анализа анализировали дифференциальную экспрессию генов. Физиологические свойства штамма *Acidiplasma* sp. YE-1 были типичными для штаммов рода ($T_{опт}$ 50–58°C, pH 0.75–1.0). Штамм активно выщелачивал пирит только в смешанной культуре с сероокисляющим штаммом *Acidithiobacillus caldus*. В геноме выявили ген сульфоцианина – ключевого белка ЭТЦ окисления железа, гены ферментов окисления серы. Транскриптомный анализ показал, что сульфоцианин может играть важную роль как в окислении Fe^{2+}, так и S^0, в окислении S^0 также участвуют белки SOR и TQO. В присутствии пирита подавлялась экспрессия сульфоцианина, что могло быть причиной неспособности штамма окислять этот минерал в чистой культуре.
В ходе проведенной работы были получены новые данные о взаимодействии архей р. *Acidiplasma* с сульфидными минералами.
Исследование было профинансировано Российским Научным Фондом — грант № 21-64-00019.

E-mail: bulaev.inmi@yandex.ru

СКРЫТЫЙ МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ АЦЕТОГЕННЫХ ПРОКАРИОТ: «ОБЛЕГЧЁННЫЙ» АЦЕТОГЕНЕЗ

Гололобова А.В., Заюлина К.С., Клюкина А.А., Лебединский А.В., Ельченинов А.Г., Фролов Е.Н.

Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, Федеральный исследовательский центр фундаментальных основ биотехнологии РАН, Москва

НАД(Ф)Н-зависимая сероредуктаза (NSR) широко распространена среди анаэробных прокариот и необходима клеткам для окисления образовавшегося при брожении избытка восстановительных эквивалентов с последующим сбросом электронов на элементную серу, полисульфид или тиосульфат. Данный фермент локализован в цитоплазме и не связан с запасанием энергии, т. е. он осуществляет холостой сброс электронов на соединения серы. Явление футильного сброса электронов на внешний акцептор при брожении давно известно и хорошо изучено, однако считается, что оно невозможно при каком-либо типе дыхания, так как окисление восстановительных эквивалентов при дыхании происходит мембранными ферментативными комплексами. В ходе нашего исследования впервые был показан холостой сброс электронов на серу с помощью NSR при ацетогенезе - анаэробном дыхании, в котором в качестве терминального акцептора электронов выступает CO_2, а единственным конечным продуктом метаболизма является ацетат. Объектом исследования являлась термофильная облигатно автотрофная ацетогенная бактерия *Aceticella autotrophica*, ранее выделенная нами из горячего источника кальдеры Узон п-ова Камчатка. Добавление в среду элементной серы или полисульфида при хемолитоавтотрофном росте *A. autotrophica* приводило к образованию сульфида и уменьшению количества образовывающегося ацетата. Анализ генома и протеома позволил выявить ген, кодирующий NSR, тогда как детерминант диссимиляционных мембраносвязанных серо- или полисульфидредуктаз выявлено не было. Гетерологичная экспрессия гена, кодирующего NSR, в *E. coli* и дальнейшее изучение биохимических свойств этого белка позволили предложить механизм «облегчённого» ацетогенеза, при котором функцию пути Вуда-Льюнгдаля (окисление НАДН) частично берёт на себя цитоплазматическая NSR, передающая электроны с НАД(Ф)Н на элементную серу или

полисульфид. Это позволяет окислять большую часть Fd^{2-} в энергетическом модуле, тем самым увеличивая выход АТФ.
Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 24-14-00177.

E-mail: sasha.gololobova@yandex.ru

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИНСТРУМЕНТА DOMAINANALYSER В СРАВНИТЕЛЬНОЙ ГЕНОМИКЕ ПРОКАРИОТ

Диброва[1,2] Д.В., Рыков[3] С.Ю.

[1] Научно-Исследовательский Институт Физико-Химической Биологии имени А.Н. Белозерского, МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва
[2] Факультет Биоинженерии и Биоинформатики, МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва
[3] Институт философии РАН, Москва

Функциональная классификация белков прокариот на основании Кластеров Ортологических Групп (КОГов, от англ. Clusters of Orthologous Groups, COGs) была предложена в 1997 г., в самом начале развития сравнительной геномики, и соответствующая база данных поддерживается в актуальном состоянии (Galperin *et al.*, COG database update 2024. *Nucleic Acids Res,* 53(D1):D356–D363, 2025). Мы разработали набор профильных HMM (скрытых марковских моделей) для КОГов, предоставляющий альтернативный по отношению к позиционно-специфичным весовыми матрицами (PSSM) способ соотносить произвольных набор белков с КОГами (Dibrova *et al.*, COGcollator: a web server for analysis of distant relationships between homologous protein families. *Biol Direct*, 12(1):29, 2017). Многие профильные HMM из нашего набора построены после ручного анализа выравнивания, на данный момент он полностью соответствует последней версии базы данных КОГов и содержит 4972 профильные HMM. Инструмент DomainAnalyser (http://boabio.belozersky.msu.ru/DomainAnalyser) может быть использован для поиска гомологичных КОГам (или доменам Pfam) участков в произвольном наборе белков на основании результатов HMMer (http://hmmer.org/). Он может работать с большими наборами данных (более 1000 белков). Интерфейс инструмента доступен на русском и английском языке. DomainAnalyser выдает как интерактивную схему доменной архитектуры, так и векторный SVG-файл с результатом и данные в текстовом виде. Для соотнесения набора белков с КОГами и представления данных в графическом виде можно воспользоваться нашим веб-сервером, а для более масштабной вычислительной задачи, требующей локального запуска HMMer, например одновременного анализа одного или нескольких протеомов прокариот, набор профильных HMM для КОГов можно свободно скачать (http://boabio.belozersky.msu.ru/tools). Исследование выполнено в рамках государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова.
Разработка исходной версии инструмента DomainAnalyser и его теоретической основы осуществлялось в 2014–2017 гг. при поддержке фонда Дмитрия Зимина «Династия».

E-mail: udavdasha@belozersky.msu.ru, dibrova.daria@yandex.ru

ГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ ТЕРМОФИЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ С ЦЕЛЬЮ ПОИСКА ГЕНОВ ГЛИКОЗИДАЗ ИЗ МАЛОИССЛЕДОВАННЫХ СЕМЕЙСТВ

Заюлина К.С., Ельченинов А.Г.

Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, Федеральный исследовательский центр Фундаментальных основ биотехнологии РАН, Москва

В настоящее время микроорганизмы являются основой для огромного количества биотехнологических процессов, что стимулирует поиск и привлечение новых продуцентов, с помощью которых возможно не только оптимизировать некоторые существующие процессы, но и предложить новые. В связи с этим поиск новых эффективных продуцентов для биотехнологии среди некультивируемых микроорганизмов или представителей малоизученных групп становится чрезвычайно актуальным. Одними из таких объектов могут стать бактерии филумов *Planctomycetota*, *Verrucomicrobiota* и *Ignavibacteriota*. Среди представителей этих филумов термофилы были описаны весьма недавно и их число невелико. В то же время почти все из них обладают способностью к росту на различных полисахаридах, что говорит о наличии у них специальных ферментов (гликозидаз, полисахаридлиаз, и др.) и делает их потенциальными продуцентами новых термостабильных ферментов, в частности, гликозидаз. Доклад будет посвящен поиску генов ферментов, участвующих в разложении полисахаридов в геномах термофильных органотрофных представителей филумов Planctomycetota (5), Verrucomicrobiota (3) и Ignavibacteriota (5). Проведенный сравнительно-геномный анализ помог выявить гены (от 39 до 147) примерно ста семейств гликозидаз. В изучаемых геномах, в том числе, были закодированы белки, принадлежащие к семействам, в которых охарактеризованы только ферменты из эукариот (GH93, GH135), или они были представлены всего 1-2 охарактеризованными белками (GH137, GH165). Таким семействам в докладе будет уделено особое внимание.
Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 25-24-00393.

E–mail: zauylinakc@gmail.com

ВЗГЛЯД В ПОДЗЕМНУЮ БИОСФЕРУ: МЕТАГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА ГРЯЗЕВЫХ ВУЛКАНОВ КЕРЧЕНСКОГО ПОЛУОСТРОВА

Кадников В.В., Бегматов Ш.А., Марданов А.В., Белецкий А.В., Равин Н.В.

Институт биоинженерии, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

Грязевые вулканы представляют собой геологические образования, через которые на поверхность выходят газ и грязевой флюид из глубинных разломов. Эти системы служат «окнами» в подземную биосферу и характеризуются наличием различных неорганических и органических соединений, поддерживающих развитие разнообразных сообществ микроорганизмов. Подводные вулканы изучены достаточно хорошо, тогда как микробиота наземных остается малоисследованной. Метагеномный анализ позволяет впервые получить более полную картину микробного разнообразия таких экосистем. Мы провели метагеномное секвенирование образцов флюида из трёх грязевых вулканов, расположенных на Керченском полуострове, Крым. Было реконструировано 37 геномов микроорганизмов с полнотой более 80%. Среди доминирующих архей выявлены представители групп ANME-3 (*Methanosarcinaceae*), ANME-2d (*Candidatus Methanoperedens_A*) и ANME-2a-2b (“*Candidatus Methanocomedenaceae”*), обладающие полным набором генов анаэробного окисления метана. Также собраны геномы архей из кандидатных филумов EX4484-52, B1Sed10-29 и класса E2

(филум *Thermoplasmatota*). Получены также геномы бактерий из филума *Desulfobacterota* (порядки *Desulfobacterales*, *Desulfuromonadales*, *Syntrophales*) и *Bacillota* (порядок *Izemoplasmatales*). Многие из этих бактерий могут участвовать в восстановлении сульфата, нитрата и оксидов металлов, взаимодействуя с ANME-археями. Результаты анализа этих геномов будут представлены в докладе.
Исследование выполнено при поддержке РНФ (проект №22-14-00178 П).

E-mail: vkadnikov@bk.ru

ФИКСАЦИЯ АЗОТА И АНОКСИГЕННЫЙ ФОТОСИНТЕЗ У НЕГЕТЕРОЦИСТНОЙ ЦИАНОБАКТЕРИИ ИЗ СОДОВОГО ОЗЕРА

Косякова А.И., Русанов И.И., Турова Т.П., Сорокин Д.Ю., Пименов Н.В., Самылина О.С.

Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

Содовые озера характеризуются высокой общей минерализацией и стабильно щелочными значениями pH. Кроме того, им часто свойственно повышенное содержание сульфида. Сульфид широко известен как ингибитор оксигенного фотосинтеза, однако некоторые цианобактерии проявляют устойчивость к его действию или используют его как донор электронов в аноксигенном фотосинтезе. Способности к аноксигенному фотосинтезу и фиксации азота распределены среди цианобактерий полифилетически. Несмотря на наличие работ, посвящённых этим процессам в местообитаниях с околонейтральными значениями pH, механизмы их функционирования у цианобактерий в условиях содовых озёр остаются малоизученными. Целью данного исследования было выявление способности натронофильной цианобактерии *Sodalinema* sp. P-1104 фиксировать атмосферный азот и осуществлять аноксигенный фотосинтез, а также изучение влияния сульфида на эти процессы. Анализ генома выявил гены, необходимые для азотфиксации (*nifVBSUHDKE,* оперон, характерный для анаэробных бактерий) и сульфид-зависимого аноксигенного фотосинтеза (*sqr*, тип II с низкой аффинностью к сульфиду). Методом фотоассимиляции $H^{14}CO_3$ показано отсутствие ингибирования фотосинтеза сульфидом и способность осуществлять аноксигенный фотосинтез (при блокировании ФСII диуроном и внесении сульфида в качестве донора электронов). Методом ацетиленредукции было показано, что *Sodalinema* sp. P-1104, способна к фиксации азота как в аэробных, так и в анаэробных условиях в высокоминерализованной богатой карбонатами среде, при экстремально высоких концентрациях сульфида (до 20 ммоль/л, pH 10). Добавление сульфида стимулирует фиксацию азота до 3-кратного увеличения, однако, в большей степени за счет связывания фотосинтетического кислорода, а не за счет аноксигенного фотосинтеза. Полученные результаты позволяют по-новому взглянуть на метаболические адаптации натронофильных цианобактерий и их стратегии выживания в экстремальных условиях.
Работа выполнена при поддержке проекта РНФ (грант №22-14-00038).

E-mail: AnastasiaaKosyakova@yandex.ru

ГЕТЕРОТРОФНЫЙ РОСТ У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ФИЛУМА *THERMODESULFOBIOTA*

Мальцева А.И., Ельченинов А.Г., Лебединский А.В., Фролов Е.Н.

Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, Федеральный исследовательский центр Фундаментальных основ биотехнологии РАН, Москва

Филум *Thermodesulfobiota* был описан в 2023 году в результате реклассификации семейства *Thermodesulfobiaceae* и включает в себя только два вида одного рода: *Thermodesulfobium narugense* Na82^T и *T. acidiphilum* 3127-1^T. Оба являются умеренно термоацидофильными, строго анаэробными, неспорообразующими палочковидными бактериями с грамотрицательной клеточной стенкой, растущими хемолитоавтотрофно путем окисления H_2 или формиата в ходе сульфатного, тиосульфатного, нитратного или нитритного дыхания (последние два только для *T. narugense*). Именно на представителях рода *Thermodesulfobium* впервые было продемонстрировано функционирование трансальдолазного варианта цикла Кальвина, а также было высказано предположение, что данный автотрофный путь был получен исследуемыми микроорганизмами в ходе горизонтального переноса генов. Однако исходный метаболизм у представителей рода *Thermodesulfobium* оставался неясен. Из пробы кислого термального источника кальдеры Узон с использованием анаэробно приготовленной среды Пфеннига в присутствии водорода и сульфата при температуре 42°C и pH 4,2 был выделен штамм 4217-1^T, который согласно филогенетическому анализу является представителем нового вида *T. fumaroxidans* sp. nov. При характеристике нового изолята, помимо ранее известных для рода *Thermodesulfobium* физиологических свойств, была показана способность к хемолитогетеротрофному и хемоорганогетеротрофному росту, а в ходе анализа генома были выявлены генетические детерминанты основных метаболических процессов. Последующий сравнительно-геномный анализ позволил предположить гетеротрофный метаболизм также для *T. narugense* и *T. acidiphilum*, что было подтверждено экспериментально. Таким образом, описание нового представителя филума *Thermodesulfobiota* с последующим сравнительно-геномным анализом позволило выявить у представителей данной филогенетической линии способность к гетеротрофному образу жизни, который, по-видимому, является первичным по отношению к автотрофному.
Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 24-14-00177.

E–mail: an.malts@mail.ru

НАКОПЛЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ В ГЕНОМЕ ПУРПУРНОЙ НЕСЕРНОЙ БАКТЕРИИ *RHODOBACTER CAPSULATUS* B10, ИМЕЮЩЕЙ ЕСТЕСТВЕННУЮ ПРОФАГОПОДОБНУЮ СИСТЕМУ ГОРИЗОНТАЛЬНОГО ПЕРЕНОСА ДНК – КАПСДУКЦИЮ

Майорова[1] Е.В., Петушкова[1] Е.П., Старыгина[1] П.А., Брагин[2] Е.Ю., Текучева[2] Д.Н., Цыганков[1] А.А.

[1]Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук – обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН, г. Пущино
[2]Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН», Пущино

Для большинства природных штаммов *Rba. capsulatus* показана возможность горизонтального переноса генетической информации с участием фагоподобных частиц,

называемых агентами переноса генов (gene transfer agent, GTA), которые не проявляют вирулентности по отношению к другим видам пурпурных бактерий. Эти частицы имеют «головку» диаметром 30 нм с короткими выступами и «хвост» (длиной 45-50 нм и диаметром 5-6 нм) с отростками и чехликом. Несмотря на схожесть с трансдукцией, GTA-опосредованный перенос отличается от классической вирус-опосредованной передачи генетической информации тем, что GTA переносят только случайные последовательности ДНК, тогда как бактериофаги используют ресурсы хозяина для переноса собственного генетического материала [1]. Они содержат только хромосомную ДНК бактерии-донора длиной около 4,5 тысяч пар нуклеотидов. GTA начинают накапливаться во время ранней стационарной фазы роста и вскоре после этого высвобождаются в супернатант. ДНК, переносимая GTA, интегрируется в геном за счет гомологичной рекомбинации. В связи с этой особенностью цель работы заключалась в выявлении возможных модификаций геномной ДНК *Rba. capsulatus* B10, появившихся в процессе культивирования и поддержания лабораторной линии культуры в течение более четырех десятилетий. Это может быть важно при проведении исследований экспрессии генов методом кПЦР, требующим создания уникальных праймеров. Для этого были проведены секвенирование геномной ДНК бактерии на платформах Oxford Nanopore и Illumina, сборка и аннотация полного бактериального генома *de novo* в хромосому в гибридном формате, его биоинформационный анализ. Обсуждаются результаты сравнения полученного полного генома *Rba. capsulatus* B10 с ранее опубликованным геномом дочернего рифампицин-устойчивого штамма *Rba. capsulatus* SB1003, полученного и поддерживающегося в коллекции другим коллективом исследователей.
Работа выполнена в рамках гранта РНФ 25-24-00459, https://rscf.ru/project/25-24-00459/.

E-mail: ekaterina.majorova.97@mail.ru

АНАЛИЗ РЕГУЛЯТОРНЫХ СИГНАЛОВ В ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЯХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ГЕНОМОВ: ПРОБЛЕМЫ И РЕШЕНИЯ ДЛЯ ПОСТГЕНОМНОЙ ЭРЫ

Николайчик Е. А., Вычик П.В., Дигрис А.В., Дувалов Е.И., Скакун В.В.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Большинство бактериальных геномных последовательностей содержит аннотацию только открытых рамок считывания, рРНК и тРНК. Промоторы, операторы, терминаторы и др. регуляторные элементы аннотированы у немногих модельных штаммов, а без этих элементов нельзя понять, когда и на каком уровне экспрессируются гены В основе нашего подхода – концепция КО-тега – «ярлыка» из критичных аминокислотных остатков, контактирующих с азотистыми основаниями ДНК. КО-теги как уникальные идентификаторы пар транскрипционного фактора (ТФ) и его сайта связывания (ССТФ) позволяют корректно переносить регуляторную информацию между любыми бактериальными геномами. BacRegDB содержит 475 моделей экспериментально подтвержденных ССТФ, является крупнейшей в мире базой данных такого типа и предлагает ряд аналитических инструментов: - идентификатор и классификатор ТФ; - аннотаторы операторов, промоторов, терминаторов, повторов; - геномный браузер для визуализации результатов. Приложение SigmoID предоставляет утилиты для работы с мотивами ССТФ: конструирования профилей, конверсии форматов, инверсии, рандомизации, а также конвейер идентификации ССТФ *de novo*. Типичные проблемы анализа регуляторных сигналов у немодельных штаммов и примеры их решения, а также перспективы использования средств искусственного интеллекта будут приведены в докладе. Наши инструменты позволяют работать с

регуляторной информацией в полногеномном масштабе, идентифицировать регулоны большинства ТФ, выявлять регуляторные каскады и регуляторные сети для малоизученных бактерий с базовой (автоматической) аннотацией генома.

E-mail: nikolaichik@bsu.by

ТИОФОСФАТНЫЕ СИСТЕМЫ РЕСТРИКЦИИ-МОДИФИКАЦИИ ИНГИБИРУЮТ КОНЪЮГАТИВНЫЙ ПЕРЕНОС ПЛАЗМИД

Петрова М.А.

Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва,

Хорошо известно, что иммунные системы бактерий участвуют в защите популяции от заражения различными фагами. Работы последних лет, в том числе проведенные в нашей лаборатории, показали, что ряд иммунных систем бактерий может препятствовать горизонтальному переносу генов (ГПГ), подавляя не только фаговые инфекции, но и участвуя в элиминации плазмид, а также в подавлении перемещений инсерционных мобильных элементов. Конъюгативные плазмиды играют ведущую роль в ГПГ. Поэтому логично предположить, что иммунные системы бактерий могут препятствовать их перемещению. Однако, хотя влияние классических систем рестрикции-модификации на конъюгативный перенос плазмид хорошо известно, роль в этом процессе множества других систем остается неизвестной. В данной работе мы оценили влияние двух недавно открытых PT-систем (от *англ.* phosphorothioate) на частоту переноса конъюгативных плазмид из разных групп несовместимости. Действие этих систем основано на внесении в хозяйскую ДНК тиофосфатных модификаций, но точный механизм уничтожения чужеродной ДНК остается неизвестен. Донорами служили созданные на базе *E. coli* MG1655 штаммы, содержащие конъюгативные системы различных типов (MPFF, MPFI, MPFT), а реципиентами – штаммы, содержащие рекомбинантные плазмиды с PT-системами. Показано, что частота конъюгативного переноса каждой из проверенных плазмид снижается не менее чем на два порядка при действии хотя бы одной из проверенных PT-систем. Четкой зависимости степени ингибирования различными PT-системами от типа MPF исследованных плазмид не выявлено. Таким образом, впервые показано, что PT-системы могут существенно ингибировать перенос конъюгативных плазмид.
Исследование поддержано грантом Российского научного фонда 24-44-00107.

E-mail: mpetrova-img@yandex.ru

ПРОТЕОМНЫЙ ОТВЕТ МЕМБРАНЫ *EXIGUOBACTERIUM SIBIRICUM* НА ПОНИЖЕНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ

Петровская[1] Л.Е., Зиганшин[1] Р.Х., Крюкова[1] Е.А., Спирина[2] Е.В., Ривкина[2] Е.М., Долгих[1,3] Д.А., Кирпичников[1,3] М.П.

[1]Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр Российской Федерации Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
[2]Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пущино
[3]Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Москва

Психротрофная грамположительная бактерия *Exiguobacterium sibiricum*, выделенная из ММО северо-востока Сибири, отличается способностью к росту в широком температурном диапазоне и сохраняет жизнеспособность после длительной криоконсервации. Исследования генома, а также результаты транскриптомного и протеомного анализа продемонстрировали наличие у *E. sibiricum* различных механизмов адаптации к низкотемпературным условиям, которые включают изменение текучести мембран за счет повышения доли ненасыщенных жирных кислот в липидах, увеличение синтеза осмолитов и веществ с антиоксидантной активностью. Однако комплексное исследование участия мембранных белков в этих процессах ранее не проводилось. В данной работе впервые исследован протеомный ответ клеточной мембраны *E. sibiricum* на понижение температуры. Проведен сравнительный анализ мембранных фракций клеток *E. sibiricum*, выращенных при 25 и 10 °C, с помощью безметочной количественной хромато-масс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС/МС). Идентифицировано 1604 полипептида, из которых для 104 белков выявлено статистически достоверное отличие в содержании между сравниваемыми группами образцов. По сравнению с клетками, культивировавшимися при комнатной температуре, обнаружены существенные изменения содержания многих белков, осуществляющих важнейшие физиологические процессы, включая ДНК- и РНК-связывающие белки, мембранные транспортеры, белки, обеспечивающие защиту от осмотического и окислительного стресса, и другие. Результаты работы позволяют уточнить механизмы процессов, протекающих в мембранах бактериальных клеток при низких температурах, и дополняют существующие представления о стратегиях адаптации микроорганизмов, обитающих в многолетнемерзлых отложениях.

E-mail: lpetr65@yahoo.com

ФОСФОНАТЫ *PECTOBACTERIUM ATROSEPTICUM*: РОЛЬ ВО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯХ РАСТЕНИЙ И ПАТОГЕНОВ

Парфирова[1] О.И., Петрова[1] О.Е., Микшина[1] П.В., Смолобочкин[3] А.В., Горшков[1,2] В.Ю.

[1]Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, Казань
[2]Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань
[3]Институт органической и физической химии им. А.Е.Арбузова ФИЦ КазНЦ РАН, Казань

Пектобактерии являются широко распространёнными возбудителями мягкой гнили растений. Однако, несмотря на разрушительный потенциал этих бактерий, взаимодействие пектобактерий с растениями может выражаться не только мягкими гнилями, но и бессимптомными инфекциями, при которых патоген и хозяин мирно сосуществуют.

Низкомолекулярные метаболиты, определяющие стратегию взаимодействия бактерии *Pectobacterium atrosepticum* (*Pba*) с растениями, кроме коронофациновой кислоты, не охарактеризованы. Основываясь на результатах транскриптомного анализа, мы предположили, что низкомолекулярные внеклеточные фосфонаты – ранее неописанные у *Pba* метаболиты – влияют на взаимодействие растений и *Pba*, и наша цель состояла в том, чтобы проверить эту гипотезу. Чтобы проверить, действительно ли пектобактерии продуцируют внеклеточные фосфонаты, были подобраны условия *in vitro*, которые обеспечивают индукцию экспрессии генов, связанных с фосфонатами, и проведена экстракция предполагаемых фосфонатов из супернатантов культур пектобактерий. С помощью ^{31}P ЯМР-спектроскопии мы установили, что *Pba* синтезирует фосфонаты, продукция которых индуцируется растительными метаболитами. Методом масс-спектрометрии и ^{13}C и ^{1}H ЯМР-спектроскопии было установлено, что пектобактерии синтезируют два фосфоната: 2-диэтоксифосфорилэтанамин и фенилфосфоновую кислоту. Установлено, что синтез фосфонатов зависит как от присутствия индукторов растительного происхождения, так и от системы кворума. Для выяснения роли фосфонатов был получен фосфонат-дефицитный мутант, у которого была обнаружена повышенная вирулентность за счет увеличения активности пектатлиаз, разрушающих пектиновые вещества растительных клеточных стенок. Таким образом, мы впервые обнаружили у пектобактерий фосфонаты и установили, что пектобактерии продуцируют фосфонаты для снижения проявления своего патогенного потенциала с целью пролонгирования взаимодействия с растением-хозяином, что имеет большое значение как для растения-хозяина, так и для патогена.

E-mail: Parfirovaolga.i@gmail.com

ТАФИ – УНИКАЛЬНЫЕ ПОВЕРХНОСТНЫЕ СТРУКТУРЫ ГАЛОАРХЕЙ

Пятибратов[1] *М.Г., Топилина*[1] *М.Ю., Галева*[1] *А.В., Сюткин*[1] *А.С., Кислов*[1] *Д.М., Щеголев*[2] *С.Ю.*

[1]Институт белка Российской академии наук, Пущино
[2]Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ «Саратовский научный центр РАН», Саратов

Впервые показано, что в образовании нитевидных структур в прокариотических клетках может участвовать Tat-путь секреции. У галоархеона *Haloarcula hispanica* обнаружен новый тип поверхностных структур, названных тафи (Tat-фимбриями), состоящих из трёх белковых субъединиц: TafA, TafC и TafE, из которых TafA является основной. Выявлена группа генов, отвечающих за синтез тафи: *tafA, B, C, D, E, F* и *G*. На основе штамма *Har. hispanica*, адаптированного для генно-инженерных экспериментов, получены мутанты с делециями генов *tafA* и *tafD*. Для контроля синтеза тафи использован электрофорез, электронная микроскопия и иммуноблоттинг с антителами, специфичными к TafA. Адгезивные свойств клеток выявлялись окрашиванием кристаллическим фиолетовым. Моделирование структур белков и белковых комплексов проводили с помощью программ AlphaFold 3 и DALI. Установлено, что белок TafA секретируется по пути двойной аргининовой транслокации (Tat-путь). Предложена модель тафи - линейного полимера с TafC на конце, TafE в роли адаптера, TafA, образующего основную нить, удерживаемую на поверхности клетки мембранным белком TafF. Удаление гена *tafA* приводит к остановке синтеза тафи и значительному ухудшению адгезивных свойств мутанта. Удаление гена *tafD*, кодирующего двухдоменную сигнальную пептидазу с активностью в N-концевом домене, также останавливает синтез тафи с накоплением непроцессированного TafA в клеточных лизатах. Гомологи TafD обнаружены у галоархей, гипертермофильных и термоацидофильных архей и

среди грамположительных бактерий. Анализ геномного окружения обнаруженных генов выявил подобие с кластером *taf*-генов, включая гены, кодирующих белки, структурно гомологичные TafA, способные формировать филаменты, подобные тафи.

E-mail: bratov@vega.protres.ru.

ОСОБЕННОСТИ ТРАНСКРИПТОМНОГО ПРОФИЛЯ ПРЕДСТАВИТЕЛЯ ФИЛЫ *ACTINOMYCETOTA* ПРИ РОСТЕ НА АЛКАНАХ

Романова[1] В.А., Маркелова[1] М.И., Куприянова[1] О.В., Шевырин[2] В.А., Григорьева[1] Т.В., Лайков[1] А.В.

[1]Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань
[2]Уральский федеральный университет, Екатеринбург

В настоящее время в России более миллиона гектар земель в разной степени загрязнены нефтью и нефтепродуктами и нуждаются в рекультивации. Биоремедиация является перспективным методом восстановления загрязненной нефтью воды и почвы благодаря микробным процессам, в результате которого происходит разложение различных углеводородных загрязнителей на более простые соединения. Актинобактерии обладают огромным метаболическим потенциалом для биоремедиации ксенобиотиков благодаря выделению широкого спектра ферментов и вторичных метаболитов, включая различные антибиотики и поверхностно-активные вещества. Целью данной работы являлось охарактеризовать особенности транскриптомного профиля штамма *Tsukamurella tyrosinosolvens* PS2 при культивировании на алканах разной длины.

Штамм *T. tyrosinosolvens* PS2 выделен из твердых отходов предприятия органического синтеза и представляет интерес в области биоремедиации в качестве деструктора жидких алифатических углеводородов. В экспериментах со смесью твердых алканов штамм также проявил активность и утилизировал преимущественно алканы с длиной цепи C20 (убыль составляла 61±4%), C21 (40±4%), C22 (25±5%) и C23 (14±4%) за 7 суток.

Для оценки изменения метаболизма при воздействии алканов разной длины был проведен транскриптомный анализ штамма PS2 при культивировании на сахарозе и алканах с длиной цепи (C12, C16, C20, C24, C36). Наиболее отличающийся транскриптомный профиль наблюдали при культивировании штамма на алканах C36 в качестве единственного источника углерода и энергии, в котором обнаружено 2512 дифференциально экспрессируемых генов, 1419 из которых были повышены, 1093 – с пониженной экспрессией. Обнаружено увеличение экспрессии систем окисления алканов на всех углеводородах: экспрессия гена *alkB* увеличивалась от 11 до 140 раз, гена *P450* – от 13 до 300 раз. В транскриптоме на твердых алканах наблюдали увеличение экспрессии генов синтеза микофактоцина в отличие от жидких алканов. Микофактоцин является окислительно-восстановительным кофактором некоторых алкоголь-дегидрогеназ. Предполагается, что образующиеся в результате окисления углеводородов спирты твердых алканов метаболизируются с помощью микофактоцин-зависимых алкоголь-дегидрогеназ. Синтез внутриклеточных микофактоцинов штаммом PS2 подтвердили с помощью методов масс-спектрометрии высокого разрешения.

Таким образом, полученные результаты позволят получить более четкое представление о механизме окисления алканов штаммами-деструкторами, что дает возможность управлять клеточными процессами, повышая скорость метаболизма и эффективность биокатализа.

Работа выполнена в рамках выполнения проекта № FZSM-2023-0013 государственного задания КФУ.

E-mail: avonamora-94@mail.ru

АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ АДАПТАЦИИ МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ РОДА *PENICILLIUM* КАК ОСНОВА СТРАТЕГИИ ИХ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ В КАЧЕСТВЕ ПРОДУЦЕНТОВ ГЛЮКОЗООКСИДАЗ

Семашко Т.В., Жуковская Л.А.

Государственное научное учреждение «Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси», Минск, Беларусь

В стрессовых условиях все живые организмы, в том числе грибы рода *Penicillium* (*P. adametzii* и *P. funiculosum)* – продуценты глюкозооксидаз, проявляют удивительную способность приспосабливаться к негативным воздействиям. Общим в их ответе на стрессовые воздействия является экспрессия стресс-зависимых генов и синтез белков, активность которых направлена на защиту клеток и поддержку гомеостаза. Ключевые слова: глюкозооксидаза, грибы рода *Penicillium*, антиоксидантная система, экспрессия генов. Цель данного исследования анализ экспрессии генов *P. adametzii* и *P. funiculosum,* кодирующих глюкозооксидазу и белки антиоксидантной системы при воздействии различных изменений в процессе биогенеза данного практически значимого фермента. В рамках исследования проведено полногеномное секвенирование вышеуказанных грибов. Определены последовательности основных генов, отвечающих за адаптацию к окислительным стресс-факторам (глюконовой кислоте, пероксиду водорода, этанолу); а также за синтез глюкозооксидаз, изучена динамика экспрессии данных генов. Определены гены, реагирующие на конкретные стрессы. Установлены зависимости экспрессии генов глюкозооксидаз, супероксиддисмутазы, пероксидаз (в том числе глютатионпероксидазы), каталазы, глютатионов от концентрации таких стресс-факторов, как пероксид водорода и этанол, а также от времени их внесения его в питательную среду. Показано, что в ряде случаев наблюдались кратковременные реакции на стрессоры. Установлено, этанол влияет на увеличение экспрессии генов глюкозооксидазы, и ингибирует экспрессию генов, кодирующих белки-шапероны, отвечающие за фолдинг фермента в процессе его секреции. Полученные результаты дают представление о механизмах адаптации грибов рода *Penicillium* к стрессовым условиям, возникающим в процессе биосинтеза фермента глюкозооксидазы в условиях глубинного культивирования, и могут быть использованы для усовершенствования технологий производства данного фермента.

E-mail: tsemashko@mbio.bas-net.by

НОВЫЙ ПУТЬ ДЛЯ СТАРОЙ ФОСФОНАТАЗЫ: НЕОБЫЧНЫЕ ОКСИДОРЕДУКТАЗЫ ПОЧВЕННЫХ ПРОТЕОБАКТЕРИЙ И ИХ РОЛЬ В МЕТАБОЛИЗМЕ ОРГАНОФОСФОНАТОВ

Свиридов[1] А.В., Эпиктетов[1] Д.О., Шушкова[1] Т.В., Тарлачков[1,2] С.В., Леонтьевский[1] А.А.

[1] ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН» (Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН), Пущино
[2] Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Москва

Органофосфонаты (ОФ) – соединения с ковалентной связью углерод-фосфор ($C–P^{3+}$) распространены в морских экосистемах, а также поступают в окружающую среду в виде пестицидов и средств умягчения воды. Природные фосфонаты выполняют функции

антибиотиков, входят в состав мембран, используются для депонирования фосфора. Наиболее распространенные природные ОФ – 2-аминоэтилфосфоновая кислота (2-АЭФ) и фосфоноацетальдегид (ФАА) – играют существенную роль в глобальном круговороте фосфора. Основной путь метаболизма этих соединений – фосфонатазный, предполагающий переаминирование 2-АЭФ с образованием ФАА трансаминазой PhnW и последующим гидролизом C–P связи фосфонатазой PhnX. Данный путь известен более 50 лет и до недавнего времени считался хорошо изученным. В геномах ряда бактерий-деструкторов синтетических ОФ родов *Achromobacter Ochrobactrum* нами обнаружены фосфонатазные опероны необычной структуры: ген трансаминазы *phnW* заменен на ген оксидазы *hpnW*; у ахромобактеров в контексте фосфонатазы также присутствовал ген железосодержащей диоксигеназы PhnHD, гомологичной ферментам деградации ОФ морских прокариот. У бактерий рода *Pseudomonas* обнаружено как наличие двух различающихся генов фосфонатазы *phnX*, так и присутствие в контексте фосфонатазного оперона *phnWX* гипотетического оперона в составе генов *hpnW phnZ*, гомологичных, соответственно, *hpnW* и *phnHD* ахромобактеров. Новые оксидоредуктазы ахромобактеров получены в рекомбинантном виде и охарактеризованы. Показано, что HpnW замещает трансаминазу PhnW, обеспечивая превращение 2-АЭФ в ФАА по окислительному механизму. PhnHD проявлял активность в отношении 1-гидрокси-2-аминоэтилфосфоната, характерного для морских бактерий. Таким образом, показана ранее неизвестная вариативность фосфонатазных генных кластеров и выявлен новый вариант фосфонатазного пути деструкции ОФ. Полученные данные указывают на приспособленность почвенных бактерий к утилизации «морских» ОФ, что предполагает распространенность таких соединений в сухопутных экосистемах.

E-mail: avsviridov@pbcras.ru

РОЛЬ МЕМБРАННЫХ ЛИПИДОВ И ОСМОЛИТОВ В АДАПТАЦИИ К СТРЕССУ КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ У *ASPERGILLUS NIGER*

Терёшина В. М., Януцевич Е. А., Данилова О. А., Сахарова С.А.

Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва

Стресс клеточной стенки (СКС) возникает под действием соединений (например, азокрасителей, антибиотиков и др.), нарушающих синтез или сборку основных полисахаридов клеточной стенки (КС) – глюканов и хитина. Ответ на СКС запускает сигнальный путь сохранения целостности КС (cell wall integrity pathway), действие которого приводит к усиленному синтезу микрофибриллярных компонентов КС – хитина и глюкана. До настоящего времени ответ на СКС подробно изучался с позиций молекулярной генетики изменений в составе КС. Мы предполагаем, что ответ на СКС может быть связан с осмолитной и мембранной системами клетки. Конкретной задачей является изучение роли осмолитной и мембранной систем клеток микромицета *Aspergillus niger* в адаптации к стрессу клеточной стенки, вызванному азокрасителями калькофлуором белым (КФБ) и конго красным (КК). Липиды экстрагировали методом Николса и анализировали методом двумерной ТСХ и денситометрии с программным обеспечением DENS. Углеводы экстрагировали кипящей водой, после удаления белков и заряженных соединений получали триметилсилильные производные, анализировали методом ГЖХ. Действие КК и КФБ на клетки *A. niger* в начальной стадии формирования мицелия (12 ч) в глубинной культуре приводит к существенному изменению морфологии – торможению апикального роста и вакуолизации гиф. Осмолиты гриба на этой стадии представлены, в основном, двумя

полиолами – глицерином (50% от суммы) и маннитом (40%) с минорным содержанием глюкозы, трегалозы, эритрита, арабита и инозита. Под действием КК и КФБ наблюдается одинаковый эффект – вдвое снижается доля глицерина и возрастает доля маннита до 60%, а также вдвое увеличивается доля минорного компонента – трегалозы. В составе мембранных липидов доминируют фосфатидные кислоты (55% от суммы), доли фосфатидилэтаноламинов, кардиолипинов и фосфатидилхолинов не превышают 10%, а стеринов - 5%. Под действием КК и КФБ достоверных изменений в составе мембранных липидов не выявлено, тогда как в составе клеточной стенки повышаются количество хитина и β-1-4-глюкана.

E-mail: v.m.tereshina@inbox.ru

ТРАНСКРИПЦИОННАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ В ПОПУЛЯЦИЯХ *ESCHERICHIA COLI* В СОСТАВЕ БИОПЛЕНОК

Тутукина М.Н., Казнадзей А.Д., Бессонова Т.А., Гельфанд М.С.

Институт общей генетики им Н.И. Вавилова РАН, Москва
Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН, Москва
Институт биофизики клетки РАН ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино
Сколковский институт науки и технологий, Москва

При изучении бактериальных биопленок исследователи часто сталкиваются с проблемой различной эффективности их формирования клетками одного штамма в одинаковых условиях. Это существенно осложняет поиск факторов, ингибирующих образование биопленок, а также ключевых регуляторов этого процесса. Задачей данного проекта была оценка транскрипционной гетерогенности в нескольких идентичных клонах *Escherichia coli* K-12 MG1655, формирующих биопленки, с помощью RNA-seq. Для оценки влияния потенциальных регуляторов формирования биопленок были исследованы штамм дикого типа и его мутантные производные по генам метаболических регуляторов UxuR, cAMP-CRP и YjjM. Клетки растили в 96-луночном планшете в течение 72 часов при 37°C в микроаэробных условиях. Интенсивность формирования биопленок оценивали с помощью окраски кристаллическим фиолетовым. РНК выделяли с помощью TriZol, секвенирование осуществляли на платформе Illumina NextSeq500. С помощью иерархической кластеризации профилей экспрессии генов были выявлены четкие кластеры, экспрессия которых коррелировала с интенсивностью формирования биопленок. Одним из наиболее ярких примеров таких кластеров является группа генов, отвечающих за подвижность и хемотаксис (*cheA, cheR, cheW, flgA–N, flhB, flhC, fliA–Z, motA, motB, tap, tar,* и *tsr*), экспрессия которых в одних репликах активирована, а в других – ингибирована. Эти гены полностью определяют эффективность формирования жгутика и сигнальную функцию при хемотаксисе и, таким образом, образ жизни клетки. Удаление гена *uxuR*, кодирующего регулятор метаболизма гексуронатов и несколько малых РНК, приводит к значительному усилению транскрипционного шума и, соответственно, гетерогенности формирования биопленок. Удаление гена YjjM, одного из ключевых регуляторов образования биопленок, напротив, приводило к снижению гетерогенности популяции.
Исследования поддержаны РНФ 24-24-00435

E-mail: masha306@gmail.com

ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЙ ГЛИЦИНОВЫЙ ПУТЬ КАК МОДУЛЬ АЦЕТОГЕНЕЗА

Фролов Е.Н., Гололобова А.В., Подосокорская О.А., Ельченинов А.Г., Лебединский А.В.

Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, Федеральный исследовательский центр Фундаментальных основ биотехнологии РАН, Москва

Ацетогенез – это тип анаэробного дыхания, в ходе которого CO_2 выступает в роли терминального акцептора электронов и восстанавливается до ацетата, конечного продукта метаболизма ацетогенных прокариот. Ацетогенез рассматривают как модульный процесс, состоящий из электрон-донорных, электрон-акцепторных и энергозапасающих ферментативных реакций. Электрон-донорные реакции весьма разнообразны, а их выбор зависит от потребляемого субстрата, в то время как электрон-акцепторные реакции у всех известных на данный момент ацетогенов представлены путём Вуда-Льюнгдаля. Энергетический модуль может быть представлен или Rnf комплексом, или ECH гидрогеназой. Упомянутая модульность ацетогенеза, а также разнообразие каждого модуля в отдельности, определяют возможность существования новых вариантов ацетогенеза, что, в свою очередь, обуславливает скрытый метаболический потенциал ацетогенных бактерий. Изучение этого скрытого потенциала имеет большое практическое значение, так как метаболические свойства ацетогенов позволяют получать из H_2/CO_2, CO или же синтез-газа не только ацетат, но и такие ценные продукты как этанол, бутанол, гексанол, изопропанол, 2,3-бутандиол, бутират, 3-гиброксибутират, 3-гидроксипропионат, гексаноат и другие ценные соединения. Доклад будет посвящен метаболизму термофильных ацетогенных бактерий, *Acetitalea autotrophica* и *Anaeroselena agilis*, для которых впервые будет продемонстрировано функционирование восстановительного глицинового пути в электрон-акцепторном модуле ацетогенеза вместо пути Вуда-Льюнгдаля. Кроме того, для ‘*A. autotrophica*’ будет показано функционирование Nuo-подобного комплекса в энергетическом модуле ацетогенеза, о чём также ранее не сообщалось. Также будут представлены сведения по распространённости новых типов ацетогенеза среди прокариот.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 24-14-00177.

E–mail: evgenii_frolov_89@mail.ru

ПУТИ КАТАБОЛИЗМА ФИТОГОРМОНА АБСЦИЗОВОЙ КИСЛОТЫ РИЗОСФЕРНЫМИ БАКТЕРИЯМИ *RHODOCOCCUS* SP. P1Y И *NOVOSPHINGOBIUM* SP. P6W

Юзихин[1] *О.С., Шапошников*[1] *А.И., Викторов*[2] *Н.Б., Гоголев*[3] *Ю.В., Белимов*[1] *А.А.*

[1]ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», Санкт-Петербург
[2]ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет)», Санкт-Петербург
[3]ФГБУН "Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань

Абсцизовая кислота (АБК), являющаяся фитогормоном стресса, способна накапливаться в почве и оказывать негативное влияние на прорастание семян, угнетать рост и повышать чувствительность растений к болезням. За последнее время был выделен ряд штаммов ризосферных бактерий, способных утилизировать АБК, используя её в качестве источника углерода и снижать её концентрацию в корнях растений (Belimov et al., 2014, doi:

10.1016/j.plaphy.2013.10.032). Проведены исследования путей катаболизма АБК ризосферными бактериями *Rhodococcus* sp. P1Y и *Novosphingobium* sp. P6W. Установлено, что утилизация АБК штаммом P1Y происходит путём последовательного укорачивания боковой цепи молекулы через дегидровомифолиол (ДВ) до родококковой кислоты (РК), после чего наблюдается трансформация циклогексенонового цикла через стадии окисления до оксародококковой кислоты и последующего его гидрирования до дигидрооксародококковой кислоты. Комплексом хроматографических методов были выделены и очищены продукты бактериального катаболизма АБК, при этом РК и два продукта её метаболизма были получены и структурно идентифицированы авторами впервые (Yuzikhin et al., 2021, doi:10.3390/biom11030345; Yuzikhin et al., 2022, doi:10.3390/biom12101508). Использование меченного тритием фитогормона при выращивании бактерий подтвердило происхождение выделенных метаболитов из АБК. Предложен оригинальный встречный метод синтеза РК, подтвердивший структуру этого метаболита. Методом ВЭЖХ-МС высокого разрешения была изучена динамика деградации АБК и одновременного накопления ее метаболитов. Доказано, что ДВ является предшественником РК в цепи метаболизма. Предварительные исследования показали, что у штамма P6W, возможен другой путь катаболизма АБК, начинающийся с окисления АБК до фазеевой кислоты с её последующим гидрированием до дигидрофазеевой кислоты и дальнейшим раскрытием цикла молекулы.
Работа поддержана Российским научным фондом (проект № 24-16-00166).

E-mail: yuzikhin@gmail.com

МЕТАБОЛИЗМ И ГЕНОМИКА МИКРООРГАНИЗМОВ

ПОСТЕРНЫЕ ДОКЛАДЫ

РЕЗИСТОМ И МОБИЛОМ БАКТЕРИЙ С МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ ИЗ СТОЧНЫХ ВОД ГОРОДА МОСКВЫ

Бегматов[1] Ш.А., Белецкий[1] А.В., Ракитин[1] А.Л., Берестовская[2] Ю.Ю., Марданов[1] А.В., Равин[1] Н.В.

[1]Институт биоинженерии им. К.Г. Скрябина, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва
[2]Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

Распространение бактерий с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) является важной проблемой для здравоохранения. Установки по очистке коммунальных сточных вод могут служить «идеальной» системой для формирования таких штаммов из-за высокой частоты горизонтального переноса генов. В составе очищенной воды такие бактерии могут попадать в окружающую среду, распространяться в водных экосистемах и почвах, а гены антибиотикорезистентности могут передаваться другим штаммам бактерий. Впоследствии они могут «возвращаться» к человеку, например, через водоснабжение или сельскохозяйственную продукцию, что делает важным регулярный мониторинг распространения устойчивости к антибиотикам не только в здравоохранении, но и в окружающей среде. Мы исследовали штаммы бактерий с МЛУ из сточных вод города Москвы с целью характеристики генетической организации резистома и мобилома. Выделены десятки штаммов бактерий с одновременной устойчивостью к ампициллину, тетрациклину, хлорамфениколу и канамиину, относящихся к родам *Escherichia, Klebsiella, Mixta, Chryseobacterium, Acinetobacter* и *Pseudomonas.* Определены полные последовательности геномов этих штаммов, идентифицированы гены

антибиотикорезистентности, факторы вирулентности, плазмиды и другие мобильные элементы. В докладе будут представлены результаты геномного анализа шести бактерий с МЛУ, выделенных из сточных вод и реки Москва.
Работа поддержана Российским научным фондом (проект 24-74-10045).

E-mail: shabegmatov@gmail.com

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БЕТАИНА ГАЛОАЛКАЛОФИЛЬНЫМИ БАКТЕРИЯМИ ИЗ СОДОВЫХ ОЗЕР В РЕАКЦИИ СТИКЛЕНДА

Болтянская Ю.В., Деткова Е.Н., Пименов Н.В., Кевбрин В.В.

Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

Глицин-бетаин, выполняющий функцию осморегулятора как у прокариот, так и у эукариот, является, вероятно, самым широко используемым в живой природе четвертичным амином. Высвобождаясь при отмирании и лизисе из клеток, он становится доступным для утилизации субстратом. Поскольку в клетках организмов, обитающих в условиях высокой солености, бетаин накапливается в значительных концентрациях, речь идет о достаточно масштабном явлении. К началу данной работы сведений о разложении бетаина в содовых озерах, где высокие концентрации солей сочетаются с карбонатной щелочностью, практически не было. Объектами предварительного скрининга служили галоалкалофильные анаэробы из коллекции лаборатории. Стартовой точкой исследования стало выявление у трех из них – *Halonatronomonas betaini*, *Anoxynatronum sibiricum* и *Alkaliphilus peptidifermentans* – стимуляции роста бетаином на средах, содержащих дрожжевой экстракт. При этом роста на чистом бетаине не наблюдали, что указывало на его использование в качестве акцептора электронов. Опыты с дрожжевым экстрактом позволили предположить, что донорами могут служить аминокислоты. Было обнаружено, что присутствие акцептора (бетаина) существенно расширяет метаболические возможности всех трех микроорганизмов в отношении используемых ими аминокислот. Данные полногеномного секвенирования позволили составить метаболические схемы разложения аминокислот в присутствии бетаина и предложить места присоединения бетаинредуктазного комплекса. Составленные схемы подтверждены стехиометрическими параметрами, полученными из ростовых экспериментов. Для ряда аминокислот такие схемы предложены впервые. Известно несколько путей разложения бетаина, однако его восстановление в реакции Стикленда выявлено у галоалкалофильных обитателей содовых озер впервые. Таким образом, установлена еще одна цепочка в трофической системе алкалофильных микробных сообществ, позволяющая осуществлять сопряжение протеолитического пути разложения биомассы с утилизацией осморегулятора бетаина.

E-mail: juvb@yandex.ru

ЗАМЕНЫ αV363 В F_1-АТФАЗЕ *BACILLUS* SP. PS3 НА ЗАРЯЖЕННЫЕ ОСТАТКИ МОДУЛИРУЮТ АДФ-ИНГИБИРОВАНИЕ АТФАЗНОЙ АКТИВНОСТИ

Бруман[1,2] С.М., Багаветдинова[2] А.Л., Лапашина[1,2] А.С., Фенюк[1,2] Б.А.

[1]НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, Москва
[2]Факультет биоинженерии и биоинформатики, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

F_oF_1 АТФ-синтаза – фермент, катализирующий синтез АТФ из АДФ и неорганического фосфата за счёт энергии трансмембранной разности электрохимического потенциала протонов ($\Delta\tilde{\mu}H^+$). Фермент также может работать генератором $\Delta\tilde{\mu}H^+$, гидролизуя АТФ, что может привести к растрате клеточного АТФ. У бактерии *Bacillus* sp. PS3 эта активность регулируется за счет неконкурентного АДФ-ингибирования, возникающего при связывании MgАДФ в каталитическом центре в отсутствие фосфата, и С-концевого домена ε-субъединицы. Анализ структур F_1-субкомплекса АТФ-синтазы позволил предположить, что в ферменте *Bacillus* sp. PS3 АДФ-ингибированному состоянию соответствует ориентация остатков αV363 и αR365 навстречу друг другу, а активному – когда эти остатки направлены в разные стороны. Целью работы было проверить эту гипотезу и изучить влияние замен αV363 на АДФ-ингибирование F_1-субкомплекса *Bacillus* sp. PS3 на фоне делеции С-концевого домена ε-субъединицы. Ожидалось, что замена αV363R будет благоприятствовать второй конформации и ослабит АДФ-ингибирование, а замена αV363D, напротив, усилит. Вопреки ожиданиям, замена αV363R снизила АТФазную активность и повысила ее чувствительность к детергенту LDAO, что указывает на усиление АДФ-ингибирования. Замена αV363D оказала обратный эффект. Таким образом, тип аминокислоты в позиции α363 влияет на АТФазную активность и АДФ-ингибирование, однако связь АДФ-ингибирования с предполагаемой конформацией не подтверждена.

E-mail: sbruman23@gmail.com

ИЗУЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА HPS 70 В КЛЕТКАХ *BLASTOCYSTIS* SPP.

Бугеро Н.В., Титова А.А., Александрова С.М., Якимова Д.В.

ФГБОУ ВО «Псковский государственный университет», Институт медицины и экспериментальной биологии, Псков

.

Во всем мире отмечается неуклонный рост числа инфекционных заболеваний, в том числе вызванных простейшими эукариотическими организмами. В тоже время в последние десятилетия многочисленными исследователями показано, что и прокариотические организмы постоянно подвергаются действию стрессорных факторов, направленных со стороны макроорганизма. В результате действия этих стрессоров у микроорганизмов развивается состояние стресса, сопровождающееся синтезом дополнительных, так называемых стрессорных, белков, среди которых наиболее известны иммунодоминантные белки теплового шока (БТШ) бактерий и человека. Одним из таких белков является Белок Hsp70. Он принадлежит к индуцибельным представителем семейства белков теплового шока БТШ, которые необходимы клетке во всех процессах ее жизнедеятельности, включая адаптацию к огромному числу цитотоксических факторов, как ксенобиотических, так и естественного происхождения. Несмотря на огромное число исследований, посвященных различным аспектам функционирования Hsp70, нерешенным остается множество вопросов, имеющих принципиальное значение. Помимо широко известных и хорошо диагностируемых

патогенов, населяющих различные биотопы макроорганизма все больший оборот к своему эпидемическому распространению, получают новые или малоизвестные микроорганизмы. К такой группе можно отнести недостаточно хорошо изученного на сегодняшний день патогенного агента – *Blastocystis* spp. Однако, в последние годы появляются достаточно много сведений о данном микробе и установление его этиологической значимости в развитии инфекционных заболеваний различного спектра. *Blastocystis* spp. – одноклеточный простейший, паразитирующий в толстом отделе кишечника человека, способный вызывать различные типы функциональных расстройств желудочно-кишечного тракта. Данный возбудитель, обладает рядом персистентных свойств, которые позволяют ему сосуществовать в макроорганизме. К наиболее распространенным факторам персистенции простейших бластоцист относят антилизоцимную, антилактоферриновую активности и др. Персистируя в макроорганизме возбудитель испытывает давление со стороны защитных свойств организма хозяина, что может служить предпосылкой увеличения стрессорных белков, которые позволяют адаптироваться к занимаемой экологической ниши. Однако, на сегодняшний день до сих пор остается не изученным вопрос о роли экспрессии гена hsp70 на персистирующую активность простейших *Blastocystis* spp. В результате проведенного исследования впервые установлена роль белков теплого шока в течение инфекционного заболевания, вызванного простейшими *Blastocystis* spp. Показана корреляционная связь между факторами персистенции простейших бластоцист и содержанием белков теплового шока, способствующих выживанию клетки простейшего в изучаемом биотопе. Был обнаружен белок теплого шока Hsp70 (Heat shock protein 70). Результаты ПЦР в реальном времени показывают, что существует корреляция между повышением уровня Hsp70 и активностью после инкубации с лизоцимом в исследуемых биологических образцах и количественным содержанием лизоцима. Выявлено высокое содержание изучаемого белка у штаммов *Blastocystis* spp., обладающих средними и высокими значениями антилизоцимной активности 2,3±0,02 мг/мл и 2,7±0,05 мг/мл, соответственно. Следует отметить, что без добавления лизоцима наблюдается пониженная регуляция Hsp70 в течение 3, 6 и 12 часов инкубации. Таким образом, *Blastocystis* spp. реагирует на стрессовую среду для выживания путем регуляции экспрессии гена Hsp70, что может служить маркером их персистентного потенциала. Возможно предположить, что такая зависимость является приспособительным механизмом в условиях взаимодействия микроорганизма с макроорганизмом и направлена на переживание патогенного агента в занимаемой эконише.

Работа частично финансировалась из средств государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации «Молекулярно-генетические детерминанты персистенции простейших *Blastocystis* spp., в формировании инфекционного процесса», № государственной регистрации 124013000716-7.

E-mail: bugero@mail.ru

РЕКОНСТРУКЦИЯ РЕГУЛОННОЙ СТРУКТУРЫ *LACTOCOCCUS LACTIS SUBSP. LACTIS* НА ОСНОВЕ МАССОВОГО АНАЛИЗА ТРАНСКРИПТОМНЫХ ДАННЫХ

Вольф Е.Р., Соколова Т.С., Акбердин И.Р.

Научный центр генетики и наук о жизни, Научно-технологический университет «Сириус», Сочи

Бактерии *Lactococcus lactis subsp. lactis* широко используются в пищевой промышленности, особенно в производстве сыров. Но несмотря на экономическую важность данного микроорганизма, механизмы регуляции его генов все еще остаются слабо изученными.

Одним из подходов изучения регуляции экспрессии является построение сетей ко-экспрессии. Для реконструкции сети ко-экспрессии *Lactococcus lactis subsp. lactis* мы использовали данные из 38 экспериментов, найденных в базах данных GEO и SRA. Условия экспериментов включают в себя тепловой шок, инфицирование бактериофагами, окислительный стресс, нокаут генов *CovRS, CodY* и оверэкспрессию гена *ComX*. На основе обработанных данных был проведен анализ дифференциальной экспрессии генов и была проведена кластеризация с помощью алгоритма Ward.D2 на 50 кластеров. С помощью инструмента GENIE3 была построена сеть ко-экспрессии, которая включает в себя 4000 связей между 1791 генами из 2133 генов, аннотированных в геноме *Lactococcus lactis subsp. lactis*. В реконструированную сеть была добавлена информация о потенциальных транскрипционных факторах (ТФ), обнаруженных в базах данных deepTF, Entraf и p2TF, а также было проведено функциональное обогащение с помощью инструмента eggNOG-mapper. Кроме того, на сеть была добавлена информация о дифференциальной экспрессии генов в 19 парах контроль-эксперимент. Результаты анализа сети показали, что при оверэкспрессии ТФ comX, отвечающего за активацию генов компетентности, повышается уровень экспрессии кластера генов устойчивости к стрессу. Также в этот кластер входит ТФ устойчивости к антибиотикам MarR. Кроме того, в сети присутствует еще 8 кластеров, у которых больше половины генов повышают свой уровень экспрессии в ответ на изменение уровня экспрессии ТФ и многие из них еще не описаны в литературе. При делеции другого транскрипционного фактора устойчивости к стрессу - csrR - в транскриптомных сетях наблюдается значительное количество генов с пониженным уровнем экспрессии. Среди этих генов выделяются кластеры, связанные с транспортом пептидов через клеточную мембрану, а также гены, содержащие Wxl-домен. Wxl-домен играет важную роль в адаптации бактерий к условиям окружающей среды, участвуя в связывании с компонентами внешней среды.
Финансирование: Исследование поддержано грантом ФТ «Сириус» соглашение №18-03 от 10.09.2024

E-mail: akberdinir@gmail.com

ВЛИЯНИЕ РЕДОКС-СОСТОЯНИЯ УБИХИНОНА НА ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ КОМПЛЕКСА I PARACOCCUS DENITRIFICANS И РОТЕНОНА

Гривенникова В.Г; Жарова Т.В.

Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва

Комплекс I локализован в цитоплазматической мембране бактерий. В составе дыхательной цепи фермент катализирует окисление NADH убихиноном (Q), сопряженное с трансмембранным переносом протонов. Создаваемый протонный градиент бактерии используют для синтеза ATP и других энергозависимых реакций. В работе исследовали влияние протонного потенциала на взаимодействие ротенона, специфического ингибитора комплекса I, с Q-связывающим центром фермента почвенной бактерии Paracoccus denitrificans. В энергизованных мембранах окисление NADH ингибируется ротеноном с величиной IC50 около 6 мкМ. В присутствии разобщителей-протонофоров, препятствующих энергизации, NADH-оксидазная активность тормозится со значением IC50 около 2 мкМ, что свидетельствует о влиянии протонного потенциала на способность Q-связывающего центра взаимодействовать с ротеноном. Альтернативной причиной ухудшения сродства комплекса I к ротенону при энергизации мембраны может быть повышение уровня восстановленности Q в дыхательной цепи. Для проверки этого предположения мы изменяли уровень восстановленности Q (соотношение Qred/Qox) в присутствии разобщителя, применяя различные ингибиторы, не затрагивающие Q-связывающий центр, но меняющие

соотношение между скоростями восстановления и окисления Q. ADP-рибоза, тормозящая окисление NADH в нуклеотид-связывающем центре комплекса I, снижает соотношение Qred/Qox и уменьшает IC50 для ротенона до 1 мкМ, а цианид, ингибитор цитохромоксидазы, повышает уровень восстановленности Q и увеличивает IC50 до значений, определенных для окисления NADH в энергизованных мембранах (6 мкМ). Таким образом, мы показали, что энергизация цитоплазматической мембраны влияет на способность Q-связывающего центра взаимодействовать с ротеноном опосредованно, через изменение уровня восстановленности Q в дыхательной цепи P. denitrificans.
Исследование выполнено в рамках государственного задания МГУ имени М.В.Ломоносова.

E-mail: vgrivennikova@mail.ru

ВИРУСНАЯ НАГРУЗКА И ДЕГРАДАЦИЯ АНТИФАГОВЫХ ЗАЩИТНЫХ СИСТЕМ В ГЕНОМАХ СУЛЬФАТРЕДУКТОРОВ

Дёмин К.А., Крылов К.И.

Академия биологии и биотехнологии им. Д. И. Ивановского, Южный Федеральный Университет, Ростов-на-Дону

К настоящему времени накоплены данные о феномене нулевого или почти нулевого роста при сохранении метаболической активности у сульфатредуцирующих бактерий. Известны виды *Desulfosporosinus infrequens* и *Desulfofundulus australicus*, восстанавливающие сульфаты при нулевом росте, а также виды родов *Desulforudis* и *Desulfopertinax*, характерные олиготрофией и большим временем генерации. Гипотетически, такие виды меньше подвержены вирусной нагрузке, их антифаговые защитные системы – деградированы, а количество активных профагов снижено. Для проверки данных гипотез в геномах сульфатредуктов 3-х классов – *Desulfotomaculia* (n=17), *Desulfitobacteriia* (n=11), *Desulfovibrionia* (n=59) – были оценены: количество защитных систем с помощью программы “DefenseFinder”, представленность профагов – с помощью программы “Phigaro”, время генерации – с помощью пакета для R “gRodon”. Оценочное время генерации для видов *Desulfotomaculia* составило в среднем 16 часов и 9 и 7 часов для *Desulfitobacteriia* и *Desulfovibrionia* соответственно. Для видов *Desulforudis*, *Desulfopertinax* и *Desulfofundulus* (к. *Desulfotomaculia*) было характерно в среднем 3–6 защитных систем/геном со средней полнотой <70%. Для видов в составе *Desulfovibrionia* – 2–10 защитных систем/геном со средней полнотой ~80%. Для видов *Desulfitobacteriia* – 1–24 системы с полнотой >80%. Полнота сборки профагов для видов *Desulfotomaculia* составила в среднем 20%, для *Desulfitobacteriia* и *Desulfovibrionia* – 26% и 36% соответственно.
Работа выполнена в рамках государственного задания № FENW-2023-0008.

E-mail: kdyomin@sfedu.ru, i@kincognita.ru

ПОЛИСАХАРИДЛИАЗЫ ЭКСТРЕМАЛЬНО ГАЛОФИЛЬНЫХ АРХЕЙ: СКРЫТЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИЛИ ЛИШНИЙ ГРУЗ?

Ельченинов А.Г., Туленков А.С., Сорокин Д.Ю.

Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, Федеральный исследовательский центр Фундаментальных основ биотехнологии РАН, Москва

Экстремально галофильные археи изучаются долгие годы, однако представление об их метаболическом потенциале до недавнего времени оставалось скудным. Так, практически отсутствовали сведения как о способности этих прокариот утилизировать трудноразлагаемые полисахариды, так и об участвующих в этих процессах ферментах. Но в последнее десятилетие представление о разнообразии галоархей, растущих на полисахаридах, сильно расширилось: были выделены несколько десятков штаммов, растущих на хитине, целлюлозе, амилопектине, маннане и курдлане. В ходе наших предыдущих исследований в геномах некоторых галоархей были обнаружены гены полисахаридлиаз (ПЛаз) – ферментов, которые расщепляют кислые полисахариды, содержащие уроновые кислоты и сульфатированные сахара. ПЛазы встречаются у множества бактерий и эукариот, но до сих пор нет исследований, посвященных полисахаридлиазам архей. Почти 900 геномов экстремально галофильных архей из класса *Halobacteria* были нами проанализированы с целью обнаружения генов ПЛаз. Потенциальные ПЛазы, входящие в одно из 18 известных семейств, были закодированы более чем в 300 геномах в количестве от 1 до 20 генов на геном. Охарактеризованные гомологи обнаруженных нами белков проявляют активности по отношению к пектину (PL1, PL2, PL9, PL22), гиалуронану (PL8, PL33, PL35), хондроитину (PL8) и альгинату (PL7, PL14, PL17, PL38 и PL41). В настоящем докладе внимание будет сфокусировано на филогенетическом анализе и доменной организации галоархейных ПЛаз, что позволит более точно предсказать их функцию, а также выбрать белки, наиболее перспективные для дальнейших биохимических исследований.
Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 25-14-00272.

E–mail: elcheninov.ag@gmail.com

ITPазная АКТИВНОСТЬ $F_O{\cdot}F_1$-ATPазы PARACOCCUS DENITRIFICANS

Жарова Т.В., Гривенникова В.Г.

Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва

Fo·F1-H+-ATPаза(синтаза) – сложный, связанный с мембранами митохондрий, хлоропластов и бактерий комплекс, способный катализировать как pmf-зависимый синтез ATP, так и его гидролиз, сопряженный с генерацией pmf. Активность фермента регулируется природными белками-ингибиторами и ADP(Mg)-торможением. Оба механизма действуют на фермент однонаправленно: тормозят его ATPазную активность и не влияют на синтез ATP. Взаимодействуют ли между собой эти механизмы регуляции или функционируют независимо, неизвестно. ADP(Mg)-торможение строго специфично для ADP. Мы предположили, что применение аналогов субстратов и продуктов ATPазной реакции (ITP и IDP) позволит оценить индивидуальный вклад каждого из этих механизмов в торможение фермента. Fo·F1 в мембранах почвенной бактерии Paracoccus denitrificans регулируется как прочным связыванием ADP(Mg), так и природной дзета-субъединицей. Мы провели сравнительное исследование ATP- и ITPазной активности и роли ADP и IDP в регуляции фермента в составе прочносопряженных мембран P. denitrificans. Известно, что Fo·F1 P.

denitrificans характеризуется латентной АТРазной активностью, которая полностью восстанавливается под действием мембранного потенциала, а рассеивание потенциала вновь приводит к деактивации фермента. Мы показали, что ITPазная активность фермента также латентна и активируется потенциалом, однако последующая деэнергизация не снижает, а увеличивает скорость гидролиза ITP. Стационарный гидролиз ITP активированным ферментом поддерживает генерацию трансмембранного потенциала, а также ITP-зависимый обратный перенос электронов на NAD+, катализируемый совместно с комплексом I дыхательной цепи P. denitrificans. Скорость деактивации АТРазы в деэнергизованных мембранах увеличивается в присутствии ADP, тогда как IDP не ускоряет деактивацию АТРазы. Таким образом, ITPазную активность P. denitrificans можно использовать как модель, позволяющую исключить эффекты ADP(Mg)-торможения при изучении регуляции фермента.
Исследование выполнено в рамках государственного задания МГУ имени М.В.Ломоносова.

E-mail: tzharova@yandex.ru

ФОРМИРОВАНИЕ БИОПЛЕНОК БАКТЕРИЯМИ РОДА *KOCURIA*

Журина М.В., Плешко Е.М., Мосолова А.М., Мартьянов С.В., Плакунов В.К.

Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва

Микроорганизмы рода *Kocuria* – грамположительные аэробные бактерии-космополиты. Представителей этого рода выделяют из ризосферы и в целом из почвы, с поверхности кожи и полости рта человека, морской и пресной воды, осадочных пород, вечной мерзлоты и других источников. Многие штаммы из рода *Kocuria* обладают повышенной устойчивостью к факторам окружающей среды. Поскольку последнее явление часто обусловлено формированием биопленок, мы исследовали формирование биопленок несколькими представителями этого рода. Бактерии культивировали на среде LB: хранили на чашках с агаризованной средой (2% агар-агара), и в жидкой среде LB при перемешивании 250 об/мин и температуре 30˚ С в колбах (50 мл) и 96-луночных планшетах (200 мкл/лунку) Для получения кинетической кривой каждые полчаса измеряли оптическую плотность в лунках планшета при длине волны 540 нм. Оценку формирования биопленок проводили окрашиванием кристаллическим фиолетовым с последующим измерением этанольного экстракта красителя при 590 нм, а биопленки-агрегаты изучали посредством проточной цитометрии и электронной микроскопии. Исследовано образование биопленок рядом штаммов бактерий рода *Kocuria* в нескольких модельных системах (на поверхности планшетов, в системе Калгари и т.д.). Все штаммы продемонстрировали высокую способность к образованию биопленок, но с некоторой спецификой, зависящей от штамма. Штаммы, выделенные на мясоперерабатывающих производствах (*Kocuria rhizophila* 155 и *Kocuria carniphila* 988), лучше образовывали биопленки на поверхности планшетов. Штамм *Kocuria rosea* IEGM 394 напротив, формировал биопленки-агрегаты в толще жидкие среды. Механизмы этого связаны, вероятно, с различиями между штаммами в составе внеклеточного матрикса. Таким образом, мы показали высокую способность к формированию биопленок всеми изученными штаммами. Поскольку эти бактерии не являются патогенными, их можно использовать как модельные микроорганизмы для изучения регуляции формирования биопленок различного происхождения.
Работа поддержана грантом РНФ №24-24-20103

E-mail: mzhurik@mail.ru

PSEUDOMONAS SP. OVF7: АДАПТАЦИОННЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ НА УГЛЕВОДОРОДАХ, АНАЛИЗ ГЕНОМА

Иванова А.А., Сазонова О.И., Звонарев А.Н., Автух А.Н., Делеган Я.А., Ветрова А.А.

ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН», Пущино

Для бактерий рода *Pseudomonas* характерна метаболическая пластичность, что позволяет им использовать различные углеводороды в качестве источника углерода и энергии. Цель работы – изучение геномных и адаптивно-физиологических особенностей штамма *Pseudomonas* sp. OVF7 при культивировании на нафталине, *н*-додекане и их смеси. *Pseudomonas* sp. OVF7 выделен из нефтезагрязненных почв и утилизирует *н*-алканы, нафталин, нефть и дизельное топливо. Геномную ДНК секвенировали с помощью технологий Illumina и Oxford Nanopore, аннотировали с помощью ПО Prokka. Рассчитаны индексы средней идентичности нуклеотидов (ANI) и ДНК-ДНК гибридизации *in silico* (dDDH) с типовыми штаммами рода *Pseudomonas*. Анализ состава жирных кислот (ЖК) выполнен методом ГХ-МС. Адаптивно-физиологические характеристики изучали при культивировании в минеральной среде с нафталином, *н*-додеканом и в смеси нафталин/*н*-додекан. Образование биопленок изучали методом фазово-контрастной, флуоресцентной и сканирующей электронной микроскопии. Геном штамма представлен одной кольцевой хромосомой (7174 т.п.н.), содержание GC – 60.35%. ANI и DDH - 84.44–88.87% и 36.6–59.1%, соответственно, что ниже критерия для отнесения штамма к известному виду. Геном содержит гены, отвечающие за катаболизм *н*-алканов с образованием производных ацил-КоА, и гены деградации нафталина через салицилат и катехол. Анализ ЖК штамма OVF7 выявил доминирование пальмитиновой кислоты, высокое содержание олеиновой кислоты и присутствие редких *цис*-7-гептадекановой и *цис*-9-нонадекановой кислот. Тип субстрата влиял на период *лаг*-фазы, характер кривой роста штамма и структуру биопленки. Вероятно, *Pseudomonas* sp. OVF7 относится к новому виду группы *P.fluorescens*.
Финансирование Минобрнауки РФ (FMRM-2022-0014).

E-mail: mrs.ivanova.a.a@gmail.com

АДАПТАЦИЯ ШТАММА PSEUDOMONAS PUTIDA BS3701 К ПОНИЖЕННОЙ ТЕМПЕРАТУРЕ В ПРИСУТСТВИИ РАЗЛИЧНЫХ ИСТОЧНИКОВ УГЛЕРОДА

Иванова А.А., Поливцева В.Н., Ветрова А.А.

ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН», Пущино

Бактерии рода *Pseudomonas* широко распространены в различных экосистемах. Метаболическая универсальность *P. putida* делает этот организм привлекательным для биотехнологий очистки окружающей среды. В работе исследованы физиологические, метаболические и биохимические различия в процессе культивирования штамма *P. putida* BS3701 при температурах 6 °C и 28 °C в минеральной среде с нафталином, салицилатом и глюкозой. Показано, что активность ключевых ферментов деградации зависит от температуры и субстрата. Скорость роста штамма на нафталине при 6 °C и 28 °C была сопоставимой, что указывает на адаптацию штамма в присутствии углеводорода даже при низких температурах. При культивировании на нафталине при 28 °C наблюдалось накопление салицилата. При 6 °C такого эффекта не отмечалось. Обнаружено, что активность нафталин-диоксигеназы и салицилат гидроксилазы выше при культивировании штамма на нафталине при 6 °C по сравнению с 28 °C, что может быть связано с индукцией ферментных

систем в условиях стрессовой температуры. Выявлены морфологические изменения клеток при разных температурах и субстратах: при 6 °C клетки становятся более крупными, увеличивается количество внутриклеточных включений и образование везикул наружной мембраны. Накопление липидных и полифосфатных включений зависит от типа субстрата и температуры культивирования. Результаты подчеркивают потенциал использования *Pseudomonas putida* BS3701 для биоремедиации загрязнённых территорий, включая холодные климатические зоны. Работа расширяет понимание механизмов адаптации бактерий к экстремальным условиям и способствует развитию эффективных биотехнологий очистки окружающей среды.
Финансирование Минобрнауки РФ (FMRM-2022-0014).

E-mail: mrs.ivanova.a.a@gmail.com

ХАРАКТЕРИСТИКА СИСТЕМЫ РЕСТРИКЦИИ-МОДИФИКАЦИИ ТЕРМОФИЛЬНОЙ АЦЕТОГЕННОЙ БАКТЕРИИ ‘*ACETITALEA AUTOTROPHICA*’

Канина[1,2] *В.Д., Гололобова*[1] *А.В., Фролов*[1] *Е.Н., Клюкина*[1] *А.А.*

[1]Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва
[2]Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва

Проблема отсутствия генетического инструментария у большинства микроорганизмов является важной как для метаболической инженерии, так и для фундаментальных биологических исследований. При разработке такового для новых модельных микроорганизмов одним из важных этапов является преодоление рестрикционного барьера, обусловленного функционированием систем рестрикции-модификации, которые деградируют чужеродную ДНК, метилированную иначе, чем ДНК организма-хозяина. Механизм действия систем рестрикции-модификации и оценка степени рестрикционной активности штамма являются важными параметрами для выбора стратегии преодоления этого барьера. В рамках разработки генетических инструментов для термофильной ацетогенной бактерии *‘Acetitalea autotrophica’* 3819-GS1 была проверена рестрикционная активность бесклеточного экстракта этого микроорганизма в отношении геномной и плазмидной ДНК при температуре оптимальной для роста клеток и при 37 °C, а также в диапазоне pH от 5,0 до 12,0. У бесклеточного экстракта штамма *‘A. autotrophica’* 3819-GS1 наблюдалась высокая степень рестрикционной активности, особенно при оптимумах роста клеток. Анализ генома штамма выявил ряд генов, кодирующих ферменты систем рестрикции-модификации. Анализ протеомных данных показал, что в клетках штамма *‘A. autotrophica’* 3819-GS1 вероятно функционирует только одна эндонуклеаза рестрикции и две метилтрансферазы. Так как у штамма *‘A. autotrophica’* 3819-GS1 обнаружена высокая рестрикционная активность, гены, кодирующие эти метилтрансферазы были клонированы в экспрессионные векторы pLATE51 и pLATE31 и использованы для получения рекомбинантных штаммов *E. coli*. Для подтверждения рестрикционной активности эндонуклеазы рестрикции кодирующий ее ген был клонирован в экспрессионный вектор pLATE31. В настоящее время устанавливается возможность экранирования ДНК от рестрикционной активности эндонуклеазы рестрикции путем in vivo метилирования ДНК рекомбинантными метилтрансферазами.
Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 24-14-00177.

E-mail: valeriakanina89026@gmail.com

BIOEMMA - АВТОМАТИЧЕСКАЯ ВИЗУАЛИЗАЦИЯ ПОТОКОВЫХ МОДЕЛЕЙ МИКРООРГАНИЗМОВ НА ОСНОВЕ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ КАРТ KEGG

Качнов В.А., Мелихова Е.В., Эсембаева М.А., Куляшов М.А.

Научный центр генетики и наук о жизни, Научно-технологический университет «Сириус», Сочи

Потоковое моделирование – один из наиболее широко используемых современных методов системной биологии, который позволяет оценить клеточный метаболизм в стационарном состоянии. При автоматической реконструкции модели, одним из ключевых этапов валидации модели является визуализация модели для оценки корректности распределения потоков и полноты реконструированных метаболических путей. На данный момент, существует ряд инструментов, позволяющих автоматически визуализировать такие модели (KBase, Cave), однако в их основе лежит использование несвязанных графов и/или детерминированные макеты, что приводит к непостоянству структуры и сложности её анализа. Нами разработан конвейер, в рамках компьютерной системы BioUML, для автоматической реконструкции потоковых моделей микроорганизмов на основе геномных данных, который включает следующие этапы: предобработка данных, сборка и аннотация генома, реконструкция модели, оценка качества и визуализация. Для решения задачи визуализации, нами разработан инструмент BioEMMA (BioUML Escher Metabolic Maps Assistant), который на основании сопоставления элементов на метаболических картах KEGG, формирует новую, интерактивную и редактируемую метаболическую карту, которая может быть открыта в широко используемом инструменте Escher. Более того, BioEMMA позволяет одновременно реконструировать несколько карт KEGG, объединяя их в рамках одной метаболической карты. Для валидации инструмента построены метаболические карты модели *E. coli*: гликолиз, пентозофосфатный путь и цикл трикарбоновых кислот. После чего, с использованием разработанного конвейера реконструированы модели для представителей родов *Cupriavidus, Brevibacillus, Azospira* и *Dechloromonas* для которых ранее отсутствовали как метаболические модели, так и карты. Автоматическая визуализация в рамках известного шаблона позволила быстро оценить полноту и правильность реконструкции, и упростила процесс разработки и валидации потоковых моделей.
Финансирование: Исследование поддержано грантом РНФ №25-24-20098

E-mail: vlad.kachnov@gmail.com

ДИНАМИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ЦЕНТРАЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА *LACTOCOCCUS LACTIS* В АЭРОБНЫХ И АНАЭРОБНЫХ УСЛОВИЯХ

Качнов В.А., Соколова Т.С., Акбердин И.Р.

Научный центр генетики и наук о жизни, Научно-технологический университет «Сириус», Сочи

Lactococcus lactis – представители молочнокислых бактерий, использующихся в пищевой промышленности. *L. lacti*s играет ключевую роль в ферментации, обеспечивая характерный вкус, текстуру и консистенцию готовых продуктов, а также используется в биотехнологии как модельный организм для продукции рекомбинантных белков. Важным подходом к изучению метаболизма, а также к поиску потенциальных биотехнологических мишеней, регуляция которых способна приводить к увеличению продукции целевых метаболитов - является динамическое моделирование. Для разработки динамической модели метаболизма *L. lactis* в

качестве исходной выбрана модель Costa et al., 2014. В модели представлены гликолиз, метаболизм маннитола, АТФаза, транспорт фосфата, а также метаболизм пирувата – продукция лактата, этанола, ацетата, ацетоина и бутандиола. С помощью платформы BioUML проведена модификация модели – добавлены реакции окислительного фосфорилирования, упрощённый диффузный транспорт глюкозы, продукция CO_2 и цикл трикарбоновых кислот (ЦТК). У *L. lactis* не представлен полный ЦТК - на основе геномной аннотации выбраны альтернативные метаболические пути, позволяющие реализовать циклическую структуру ЦТК за счет превращения альфакетоглутората, в конечном счете, в фумарат, а также фумарат – в оксалоацетат. Реакции окислительного фосфорилирования включают в себя реакцию ресинтеза НАДН – в исходной модели ресинтез в явном виде отсутствует. Результаты численного моделирования показали, что обновленная версия динамической модели *L. lactis* корректно описывает активацию метаболизма в аэробных условиях роста: наблюдается увеличение активности ЦТК, что соответствует теоретическим предположениям. Проведено численное моделирование роста культуры клеток в режиме «переключения» аэробных-анаэробных условий. Показано, что модель адекватно реагирует на изменения условий культивирования на основе качественно корректной динамики зависимых процессов: потребления глюкозы из внешней среды и скорости наработки лактата.

Финансирование: Исследование поддержано грантом ФТ «Сириус» соглашение №18-03 от 10.09.2024.

E-mail: vlad.kachnov@gmail.com

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И БИОДЕГРАДАТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ШТАММОВ-ДЕСТУРКТОРОВ МОНО-, ДИ- И ТРИХЛОРИРОВАННЫХ БИФЕНИЛОВ

Кирьянова Т.Д., Королев Н.А., Егорова Д.О.

Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН, Пермь

Одной из актуальных проблем современности является воздействие на организм человека и животных органических синтетических соединений, таких как полихлорированные бифенилы (ПХБ), а также их производных, образующихся в окружающей среде под действием аэробных бактерий. Изучение природных бактерий-деструкторов ПХБ позволит оценить перспективы снижения рисков здоровью, обусловленных ПХБ и их метаболитами. Цель исследования – установить филогенетическое разнообразие и биодеградативный потенциал аэробных бактериальных штаммов, осуществляющих разложение низкохлорированных бифенилов, в результате скрининга штаммов-деструкторов ароматических соединений из рабочей коллекции лаборатории микробиологии техногенных экосистем ИЭГМ УрО РАН. Филогенетическую принадлежность штаммов определяли на основании анализа гена 16S рРНК. Биодеградативную активность изучали в экспериментах с отмытыми клетками. Анализ ПХБ и метаболитов осуществляли методами газовой и жидкостной хроматографии. На основе скрининга 250 бактериальных штаммов показано, что штаммы-деструкторы хлорбифенилов принадлежат родам *Achromobacter, Acinetobacter, Bacillus, Brevundimonas, Brevibacterium, Bosea, Delftia, Kocuria, Leucobacter, Micrococcus, Ochrobactrum, Pseudomonas, Rhodococcus* и *Stenotrophomonas*. Доминирующее положение (31.1 %) занимают представители рода *Achromobacter*. Эффективность деструкции монохлорированных бифенилов составила 0,27–100 %, дихлорбифенила – 25,8–99,3 %, трихлорбифенилов – 38,4–98,3 %. Основными метаболитами являлись бензойная и

хлорбензойные кислоты. Таким образом, установлена родовая принадлежность штаммов-деструкторов низкохлорированных бифенилов и их биодеградативный потенциал.
Работа поддержана грантом РНФ №24-24-00498.

E-mail: daryao@rambler.ru

ОСОБЕННОСТИ ПРОФИЛЯ ЖИРНЫХ КИСЛОТ И РОСТА ШТАММА *R.ERYTHROPOLIS* PAR7 НА ЧЕТНЫХ И НЕЧЕТНЫХ АЛКАНАХ

Копылова[1] О.А., Автух[1] А.Н., Делеган[1,2] Я.А.

[1]ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН» (Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН), Пущино
[2]Южный Федеральный Университет, Ростов-на-Дону

Влияние нечетных алканов на клеточный метаболизм бактерий рода *Rhodococcus* на данный момент малоизучено. В связи с этим проведено исследование кинетики роста и изменения жирнокислотного состава штамма *R. erythropolis* Par7 при культивировании, как на четных, так и на нечетных алканах. Культивирование проводилось на минеральной среде Эванса с добавлением 0,5% (об/об) алкана, численность определяли методом последовательных разведений с высевом на чашки Петри с агаризованной средой LB. Состав жирных кислот (ЖК) определяли методом ГХ-МС (Agilent Technologies). Разделение проводили на капиллярной колонке HP-5MS (5% фенил-метил силикон). Продемонстрирована более высокая удельная скорость на нечетных алканах - пентадекане (0,095 $ч^{-1}$) против гексадекана (0,077 $ч^{-1}$) и ундекане (0,054 $ч^{-1}$) против додекана (0,049 $ч^{-1}$), при этом прирост биомассы увеличивается с длиной субстрата, а явление флокуляции максимально проявляется при культивировании на гексадекане. Для пентадекана (C_{15}) наблюдается доминирование пентадекановой кислоты ($C_{15:0}$ - 85.9%), что свидетельствует о синтезе ЖК путем неполного β-окислении субстрата. На гексадекане (C_{16}) образуется значительное количество разветвленных ЖК (суммарно 48.5%), включая изомаргариновую $iC_{17:0}$ (26.9%) и изопальмитолеиновую $iC_{16:1}\omega9$ (21.6%). При культивировании на ацетате калия Par7 демонстрирует типичный состав с доминированием пальмитиновой кислоты $C_{16:0}$ (55.5%), характерный для синтеза ЖК *de novo*. Полученные данные подтверждают различие в кинетике роста и стратегиях синтеза ЖК в зависимости от структуры субстрата. Предполагается, что образование разветвленных ЖК при росте на гексадекане представляет собой адаптационный механизм.

E-mail: oa.kopylova01@gmail.com

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОРГАНОСУЛЬФОНАТОВ ПОЧВЕННЫМИ АКТИНОБАКТЕРИЯМИ В КАЧЕСТВЕ ИСТОЧНИКА УГЛЕРОДА И ЭНЕРГИИ

Коцарев В. И., Белецкая А. В., Бойко М. И., Цой А. В., Дёмин К. А., Куликов М. П., Празднова Е. В.

Академия биологии и биотехнологии им. Д. И. Ивановского, Южный Федеральный Университет, Ростов-на-Дону

Были изучены почвенные изоляты актинобактерий (*Streptomyces anulatus, S. tauricus, Arthrobacter siccitolerans, Rhodococcus gordoniae*), способные к росту на среде с

органосульфонатами (ОС) в качестве единственного источника энергии и углерода; получены их полногеномные сборки и проведён анализ генов метаболизма серы. Все штаммы показали рост на таурине, аминонафтолдисульфоновой, метансульфоновой и гептансульфоновой кислотах. При росте было зафиксировано повышение концентрации свободной серинистой кислоты в среде в первые 5 суток, а затем её снижение к 10-му дню. По всей видимости, изученные штаммы десульфонируют ОС и используют свободную сернистую кислоту по мере истощения источников серы в среде. В геномах штаммов были найдены гены утилизации таурина и алкансульфонатов (*tau*ABC, *tau*D, *ssu*ABC, *ssu*ED), а также гены молибден-содердащих сульфитоксидоредуктаз (*sor*A, SUOX, *soe*B). Функцию этих генов дополнительно подтвердили при помощи сравнения с белками референсных штаммов в AlphaFold3 и PyMol. Вероятно, основная задача этих ферментов – детоксификация сульфита. Известно, что некоторые из них (SorAB и SoeABC), при окислении сульфита передают электроны на цитохромы и хиноны электротранспортной цепи. Можно предположить, что молибденовые сульфитоксидазы используются почвенными актинобактериями не только для детоксификации свободной сернистой кислоты, но и для получения энергии от ее окисления в условиях недостатка питательных веществ.
Работа выполнена в рамках государственного задания № FENW-2023-0008.

E-mail: kotsarev@sfedu.ru

ГЕНОМНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ШТАММА STREPTOMYCES SP. 21A ИЗ ОЗЕРА БАЙКАЛ

Краснопеев А.Ю., Липко И.А., Тихонова И.В., Шишлянникова Т.А., Белых О.И.

Лимнологический институт Сибирского отделения Российской Академии наук, Иркутск

Исследования микробного разнообразия оз. Байкал выявили богатый видовой состав актинобактерий, особенно рода *Streptomyces*, обладающих значительным биосинтетическим потенциалом. Эти микроорганизмы продуцируют широкий спектр вторичных метаболитов с антибиотической, цитотоксической и противовирусной активностями, что делает их перспективными кандидатами для поиска новых лекарственных соединений. Актинобактерии, обитающие в различных экотопах озера – от водной толщи до донных отложений, биопленок и эндемичных губок, демонстрируют разнообразие как на уровне таксономии, так и по функциональной активности. Штамм *Streptomyces* sp. 21A выделен из образца байкальской губки *Lubomirskia baicalensis*, взятого водолазами-исследователями в районе пос. Большие Коты с глубины 13 метров в 2009 году. Секвенирование выполнено на платформе Illumina MiSeq методом парно-концевых прочтений 2x250 п.н. Секвенирование ДНК показало, что бактерия имеет характерный для актинобактерий геном длиной 7,43 Мб с высоким содержанием ГЦ-пар (72%), кодирующий множество биосинтетических генных кластеров (БГК), некоторые из которых показали высокое сходство с известными путями синтеза антибиотиков и другими фармакологически значимыми соединениями. Методами MALDI-TOF-MS и ЯМР-спектроскопии среди идентифицированных метаболитов обнаружены нактины – ионофорные полиэфирные макротетролиды, включая нонактин (13,5%), монактин (28%), динактин (34%), тринактин (20%), тетранактин (4%) и макротетролид С (9%). Согласно геномным данным, *Streptomyces* sp. 21A – хемоорганогетеротроф, что подтверждеается наличием генов ферментации органических кислот (гены *sdh*A, *sdh*B, *sdh*C, *sdh*D, *ldh*, *xfp*, *pta*, *ack*A, *fum*C, *sfc*A, *mdh*). Как многие представители этого рода, он имеет гены усиленного метаболизма фосфора и его накопления (*pst*, *pho*D и регуляторные гены, *ppg*K и *ppa*, гены транспорта и метаболизма фосфонатов *phn*). Штамм способен к ассимиляции сульфатов и нитратов, содержит значительное

количество генов катаболизма таких углеродных полимеров, как полисахариды, синтезирует витамин B12. Обнаружены метаболические особенности, характерные для многих актинобактерий: биосинтез микотиолов – аналогов глутатиона (гены *msh*), синтез кофермента F420, который они используют в защитных целях, значительное количество генов, поддерживающих целостность генома. В целом, штамм *Streptomyces* sp. 21A характеризуется уникальным набор генов, связанных с производством биоактивных соединений.

E-mail: krasnopeev@lin.irk.ru

РАЗНООБРАЗИЕ ДЕГИДРОШИКИМАТДЕГИДРАТАЗ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В БЕЛОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ

Круглова А.В., Шмонова Е.А., Дорошенко В.Г.

АО «Научно-исследовательский институт «Аджиномото-Генетика» (АО «АГРИ»), Москва

3-дегидрошикиматдегидратаза катализирует превращение интермедиата общего ароматического пути (АР) 3-дегидрошикимата (DHS) в 3,4-дегидроксибензойную кислоту (3,4-DHBA), полезную для косметической, фармацевтической и пищевой отраслей. Создав гетерологичный путь, посредством данной реакции можно получать 3,4-DHBA из глюкозы в условиях микробной ферментации. Ранее на основании разнообразия структур 3-дегидрошикиматдегидратазы были разделены на бактериальные однодоменные, бактериальные двудоменные, однодоменные из мицелиальных грибов, мембраносвязанные и QuiC2-подобные. Мы исследовали ферменты первых трех классов: AsbF из *Bacillus thuringiensis*, QsuB из *Corynebacterium glutamicum* и два близкородственных (72% гомологии) фермента, Qa-4 из *Neurospora crassa* и DSD_{Pa} из *Podospora anserina*. AsbF характеризовался низкими k_{cat} (c^{-1}) и K_{eff} (10^{-3}*мкМ$^{-1}$*c^{-1}) – 1/30, соответственно, по сравнению с другими ферментами: QsuB – 60/60; Qa-4 – 220/400; DSD_{Pa} – 125/500. AsbF ингибировался 3,4-DHBA с IC_{50} = 0,08 мМ, тогда как остальные ферменты – в значительно меньшей степени (IC_{50} > 0,3 мМ). Мы связали каталитические параметры 3-дегидрошикиматдегидратаз с их физиологической функцией в клетке. QsuB, Qa-4 и DSD_{Pa} (K_m > 0,2 мМ) были задействованы в катаболизме хината/шикимата и не должны были конкурировать за субстрат DHS с ферментом АР AroE (K_m < 0,2 мМ). AsbF (K_m ~ 0,04 мМ) участвовал в биосинтезе сидерофора, образование которого происходило при тех же концентрациях DHS, что и синтез ароматических кислот. При этом активность AsbF в значительной степени регулировалась 3,4-DHBA. Для тестирования ферментов в пробирочной ферментации гены 3-дегидрошикиматдегидратаз интегрировали в хромосому штамма *Escherichia coli* MG1655Δ*aroE*, накапливающего DHS. Штаммы, экспрессирующие QsuB, Qa-4 и DSD_{Pa}, продуцировали ~ 5 г/л 3,4-DHBA в присутствии плазмиды pVS7-*aroG4*, содержащей ген 3-дезокси-D-арабиногептулозонат 7-фосфатсинтазы *E. coli*, тогда как штамм с AsbF накапливал < 1 г/л 3,4-DHBA. Исследованные ферменты QsuB, Qa-4 и DSD_{Pa} оказались в равной степени перспективными для получения 3,4-DHBA в клетках *E. coli*.

E-mail: Arina_Kruglova@agri.ru

СВОЙСТВА НОВЫХ ЭСТЕРАЗ ИЗ МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА МНОГОЛЕТНЕМЕРЗЛЫХ ОТЛОЖЕНИЙ

Крюкова[1] М.В., Петровская[2] Л.Е., Крюкова[2] Е.А., Ривкина[3] Е.М., Бойко[4] К.М., Долгих[2] Д.А.

[1]НИЦ «Курчатовский институт», Москва
[2]ФГБУН ИБХ им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, Москва
[3] ФИЦ Пущинский научный центр биологических исследований РАН, Пущино
[4]ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва

Эстеразы являются перспективными катализаторами, имеющими применение в широком спектре отраслей промышленности, и сочетающими высокую эффективность и специфичность. Эстеразы из многолетнемерзлых отложений (ММО) позволяют проводить реакций при пониженных температурах, снижая энергозатраты производственных процессов. В результате конструирования и скрининга фосмидной библиотеки из метагеномной ДНК многолетнемерзлых отложений северо-восточной Сибири получены гены, кодирующие новые липолитические ферменты, принадлежащие к семейству гормон-чувствительных липаз (HSL). Выделены и охарактеризованы рекомбинантные эстеразы PMGL2 и PMGL3. Изучены их активность и термостабильность, установлены 3D структуры белков PMGL2 и PMGL3 с разрешением 1.6 и 2.1Å соответственно. Установлено, что эстеразаPMGL2 обладает активностью в широком диапазоне температур (10-40 °C). Аминокислотная последовательность вблизи каталитического остатка серина S174 в этом белке включает в себя новый мотив GCSAG. Исследовано влияние остатка цистеина в этом мотиве на активность и стабильность PMGL2. Эстераза PMGL3 является типичным холодоактивным ферментом (температурный оптимум 30 °C). Инкубация при 50°C приводит к практически полной инактивации PMGL3, также фермент теряет активность при длительном хранении при 4 °C. Показано, что инативация сопровождается формированием тетра- и олигомерных форм белка. С целью повышения термической стабильности PMGL3 внесен ряд мутаций, нацеленных на разрушение интерфейса тетрамеризации и усиление междоменных гидрофобных взаимодействий. Таким образом, показано, что метагеном ММО является перспективным источником генов новых биокатализаторов, в том числе, обладающих эстеразной активностью при пониженной температуре.

E-mail: mar-1-ya@yandex.ru

ДИОКСИГЕНАЗЫ АЗОСПИРИЛЛ, РАСЩЕПЛЯЮЩИЕ АРОМАТИЧЕСКОЕ КОЛЬЦО

Крючкова Е.В., Бурыгин Г.Л.

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов ФИЦ «Саратовский научный центр РАН», Саратов

Диоксигеназы, расщепляющие ароматическое кольцо, делятся на две группы: (а) *интрадиолдиоксигеназы*, расщепляющие связь между двумя гидроксилированными углеродами, например, катехол-1,2-диоксигеназа и протокатехоат-3,4-диоксигеназа, содержащие в качестве кофактора ион Fe^{3+}; (б) *экстрадиолдиоксигеназы*, которые расщепляют связь между одним гидроксилированным углеродом, например, катехол-2,3-диоксигеназа и протокатехоат-4,5-диоксигеназа, содержащие Fe^{2+} или Mn^{2+} в активном центре. Разные виды азоспирилл содержат различные типы и сочетания, расщепляющих кольцо диоксигеназ. Интрадиольные и экстрадиольные диоксигеназы не являются

гомологами, произошли независимо друг от друга. Поэтому представляется интересным понять, что повлияло на тип диоксигеназ в геномах азоспирилл. Мы выдвинули гипотезу, что в зависимости от места обитания, характеризующегося различной субстратной нагрузкой, азоспириллы приобрели и поддерживают тот или иной фермент. Геномный анализ частично подтвердил эту гипотезу. Азоспириллы, выделенные из-под пшеницы и других злаков или из почвы сельхозугодий – *A. brasilense*, *A. baldaniorum*, *A. argentinense*, *A. himalayense*, *A. soli*, *A.agricola*, *A. halopreferense* содержали в своих геномах экстрадиольную протокатехоат-4,5-диоксигеназу. Интрадиольная протокатехоат-3,4-диоксигеназа была выявлена в геномах азоспирилл, выделенных из различных водных местообитаний – *A. thiophilum*, *A. thermophilum*, *A. cavernae*, *A. palustre*, а также корней риса – *A. oryzae* и дорожной смолы - *A. picis*. Геномы азоспирилл, выделенных из нефтезагрязнённой почвы и нефти - *A. rugosum* и *A. oleiclasticum* также содержали интрадиольные катехол-1,2- и протокатехоат-3,4-диоксигеназы. Полученные данные важны для понимания эволюции метаболических путей бактерий рода *Azospirillum*.

E-mail: kryu-lena@yandex.ru

АМПЕРОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОЦЕНКИ ВЛИЯНИЯ СОЕДИНЕНИЙ МЫШЬЯКА НА КУЛЬТУРУ *ACIDITHIOILLUS FERROOXIDANS*

Кузичкина Т.Н., Ячкула А.А, Абашина Т.Н., Вайнштейн М.Б., Решетилов А.Н.

ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН»,
(Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН), Пущино

Бактерии *Acidithioillus ferrooxidans* применяются для биодобычи ценных металлов из минерального сырья. Критерием отбора выщелачиваюших штаммов является степень резистентности к соединениям мышьяка. Целью работы являлась оценка влияния соединений мышьяка на дыхательную активность бактерий *A.ferrooxidans*. В работе использовали два штамма *A.ferrooxidans* ВКМ В-3655 и *A. ferrooxidans* ВКМ В-3906, выделенных из различных мест обитания (арсенопиритовые и латеритовые руды). Преимуществом штаммов *A.ferrooxidans*, применяемых в процессе биовыщелачивания, является их устойчивость к соединениям мышьяка. Механизм устойчивости обеспечивается системой Ars. Эта система кодируется опероном *ars*. Две разные арсенатредуктазы, кодируемые *arsC1* и *arsC2*, обнаружены в обоих геномах. Бактерии выращивали в стационарных условиях в течение 5-7 суток при температуре 28^{o}C на жидкой минеральной среде. Биомассу отделяли центрифугированием, ресуспендировали. Аликвоту суспензии помещали на носитель (иммобилизация методом физической адсорбции) и высушивали. Биорецептор фиксировали на измерительной поверхности кислородного электрода. Максимальная скорость изменения выходного сигнала dI/dt (нА/с) была связана пропорциональной зависимостью со скоростью изменения концентрации потреблённого кислорода. Показано, что оба штамма *A.ferrooxidans* ВКМ В-3655 и ВКМ В-3906 сохраняли дыхательную активность при внесении арсената натрия в концентрации до 1%.

E-mail: kuv@pbcras.ru

АНТИМИКРОБНОЕ ДЕЙСТВИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА, ПОЛУЧЕННЫХ «ЗЕЛЕНЫМ» СИНТЕЗОМ

Купряшина[1,2] М.А., Пономарева[2] Е.Г., Мамонова[1] И.А., Кульшань[1] Т.А.

[1] ФГАОУ ВО Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского, Саратов
[2] Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ «Саратовский научный центр РАН» (ИБФРМ РАН), Саратов

В 2024 году в журнале The Lancet опубликовано исследование, согласно которому к 2050 году бактериальные инфекции, вызванные антибиотикорезистентными микроорганизмами, могут унести жизни более 39 миллионов человек, если не будут приняты меры по разработке новых антибактериальных препаратов. Одной из проблем, с которой сталкиваются при разработке антибиотиков, является однонаправленность действия активного вещества на бактериальную клетку. Возникает необходимость разработки альтернативных противомикробных препаратов, которые могут эффективно преодолевать защитные барьеры бактериальной клетки, благодаря сочетанию различных механизмов действия. В настоящее время наночастицы металлов, в частности серебряные наночастицы, рассматриваются как наиболее перспективные агенты, способные преодолевать множественную антибиотикорезистентность, благодаря разнонаправленным механизмам их действия. В данной работе была оценена антибактериальная активность биообразованных наночастиц серебра в отношении музейных и клинических штаммов Staphylococcus aureus и Pseudomonas aeruginosa in vitro. Методом «зеленого» синтеза с использованием бесклеточного экстракта диазотрофа Azospirillum brasilense нами были получены серебряные наночастицы. Методами электронной микроскопии, УФ-видимой спектроскопии и динамического светорассеяния охарактеризованы размер, форма, однородность и степень их агрегации. Антибактериальное действие различных концентраций наночастиц серебра оценено по уровню метаболической активности клеток с применением резазурин-теста. Полученные частицы проявляли выраженную концентрационнозависимую антимикробную активность как в отношении референтных, так и клинических штаммов P. aeruginosa и S. aureus in vitro. Максимальная антибактериальная активность достигалась при обработке клеток наночастицами серебра в концентрациях от 12,5 мкг/мл до 25 мкг/мл. Полученные результаты подчеркивают возможное применение биообразованных наночастиц в качестве альтернативных противомикробных препаратов.

E-mail: kupryashina_m@mail.ru

ИЗУЧЕНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ БАКТЕРИЙ РОДА *BACILLUS*

Лапшина Н.В., Иркитова А.Н.

ИЦ «ПромбиотехАлтГУ», Барнаул

Бактерии рода *Bacillus* широко применяются в биотехнологии благодаря способности синтезировать ферменты. Они используются в пищевой промышленности, сельском хозяйстве, медицине и экологии. Исследовали 22 штамма *Bacillus* из коллекции ИЦ «Промбиотех». Оценивали амилазную, протеазную, липазную, каталазную и целлюлазную активность с помощью стандартных методов микробиологии. Высокая амилазная активность у 23% штаммов (*B. licheniformis* 10, *B. firmus* 3 и др.). Высокая протеазная активность у 9% (*B. pumilus* 4, 5). Липазная активность отсутствовала. Наблюдали слабый рост на

питательной среде с твин-20 (*B. licheniformis* 8, *B. licheniformis* 10 и др.). Высокая каталазная активность у 27% штаммов (*B. pumilus* 4, *B. licheniformis* 10 и др.). Высокая целлюлазная активность у 14% (*B. licheniformis* 10, *B. firmus* 3). Штамм *B. licheniformis* 10 показал наибольшую ферментативную активность. Перспективные штаммы могут быть использованы для разработки биопрепаратов.

E-mail: natali.lapshina@inbox.ru

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ РНК-СВЯЗЫВАЮЩИХ СВОЙСТВ БЕЛКОВ ХОЛОДОВОГО ШОКА ИЗ *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*

Леконцева Н.В., Михайлина А.О., Панкратова П.Ю., Никулин А.Д.

Институт белка РАН, Пущино

Малые регуляторные РНК (мрРНК) являются важным участником регуляции экспрессии генов, позволяя бактериям быстро адаптироваться к изменяющимся условиям среды. Взаимодействуя со своими целевыми матричными РНК (мРНК), мрРНК могут активировать или ингибировать их трансляцию. У бактерий в этот процесс часто вовлечены специализированные белки – РНК-шапероны, которые способствуют взаимодействию мРНК и мрРНК. Наиболее известными представителями РНК-шаперонов являются белки Hfq и ProQ, однако у *Mycobacterium tuberculosis* гены этих белков обнаружены не были. Потенциальными кандидатами на роль РНК-шаперонов в *M. tuberculosis* могут белки с доменом холодового шока, которые играют важную роль в регуляции экспрессии генов многих бактерий не только в условиях внешнего стресса. В рамках нашего исследования получены генетические конструкции для продукции белков CspA и CspB из *M. tuberculosis* в клетках *E.coli*, белки были выделены и очищены. Методом транскрипции *in vitro* наработаны малые регуляторные РНК MTS0997 (DrrS) и MTS1338 (Mcr11). Сродство белков к мрРНК исследовано с помощью методов электрофоретического анализа связывания (EMSA), аналитической эксклюзионной хроматографии и поверхностного плазмонного резонанса. Проведен химический пробинг оснований мрРНК и идентифицированы участки РНК, взаимодействующие с исследуемыми белками. Был проведен поиск условий кристаллизации белков CspA и CspB из *M. tuberculosis* и получены первые кристаллы.
Работа выполнена при поддержке гранта РНФ №24-24-00071.

E-mail: lekontseva@vega.protres.ru

ВЛИЯНИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА УСТОЙЧИВОСТЬ КУЛЬТУР ПУРПУРНЫХ НЕСЕРНЫХ БАКТЕРИЙ К ТЕЛЛУРИТУ КАЛИЯ ПРИ ПОДАВЛЕНИИ РОСТА *ESCHERICHIA COLI* S17-1 ПОСЛЕ КОНЪЮГАТИВНОГО ПЕРЕНОСА ДНК

Майорова Е. В., Петушкова Е. П., Цыганков А.А.

Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук – обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино

Актуально создание штаммов пурпурных несерных бактерий (ПНСБ) – суперпродуцентов практически значимых соединений. Для получения мутантов перенос генетических конструкций в ПНСБ осуществляют конъюгацией. Ее недостаток – сложность в отборе

целевых трансконъюгантов из смеси родительского штамма и культуры-донора (обычно *E.coli* S17-1). Для неспецифического предотвращения роста грамотрицательных бактерий используются теллуриты. Однако их применение как избирательно подавляющего рост *E.coli* вещества при переносе ДНК методом конъюгации в ПНСБ не получило широкого распространения. Вероятно, это связано с плохой повторяемостью результатов из-за особенностей метаболизма K_2TeO_3 у ПНСБ при разных условиях культивирования. В рамках данной работы показано, что вид углеродного субстрата в среде во взаимосвязи с присутствием O_2 или интенсивность освещения клеток в условиях без O_2 влияют на выживаемость культур ПНСБ *Rhodobacter capsulatus* на агаризованных и в жидких ростовых средах. Показано, что устойчивость культур ПНСБ к K_2TeO_3 имеет не только концентрационные пределы: важную роль играет количество вещества, приходящееся на отдельную клетку. Использование агаризованных пептонно-дрожжевых сред возможно только в аэробных условиях при концентрации K_2TeO_3 50 мкг/мл среды, достаточной для уничтожения *E.coli* (выживаемость ПНСБ до 14,7%), так как в фотогетеротрофных условиях роста нет. На минимальной агаризованной среде с малатом при содержании K_2TeO_3 50 мкг/мл среды в аэробных условиях выживаемость составляла 18%, в случае фотогетеротрофного роста она достигала 98,5%. На основе выявленных закономерностей разработан протокол кратковременной инкубации конъюгационной смеси культур с K_2TeO_3 на жидких средах для эффективного отбора трансконъюгантов ПНСБ.
Работа выполнена в рамках государственного задания №125051305944-7.

E-mail: ekaterina.majorova.97@mail.ru

СПЕКТР ЖИРНЫХ КИСЛОТ ШТАММОВ *NOSTOC*

Мальцева[1] И.А., Яковийчук[1,2] А.В., Черкашина[1] С.В., Кривова[2] З.В., Мальцев[2] Е.И.

[1]Мелитопольский государственный университет, Мелитополь
[2]Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва

Цианобактерии – большая группа организмов, населяющих различные наземные и водные экосистемы. Как продуценты они составляют основу трофических цепей, а их способность синтезировать широкий спектр биологически активных соединений представляет большую ценность для биотехнологических производств. Целью работы было исследование разнообразия жирных кислот у 12 штаммов рода *Nostoc*. Состав жирных кислот в липидных экстрактах определяли методом газожидкостной хроматографии. Основу профиля исследованных штаммов составляли жирные кислоты 16:0, 16:1n-7, 18:2n-6 и 18:3n-3. Они были отмечены в 90–100 % изученных образцов. Содержание пальмитиновой кислоты изменялось у разных штаммов незначительно – от 14,97 % до 27,28 % и в среднем было 21,23 % от общего количества жирных кислот. Мононенасыщенные жирные кислоты являются широко распространенными у цианобактерий и могут образовываться в значительных количествах. У всех штаммов *Nostoc* обнаружена 16:1n-7 в количестве от 8,57 % до 28,12 %. Наименьшее её содержание было у *Nostoc punctiforme* (штамм CAMU MZ–C343). 18:1n-9 отмечена только у 67 % штаммов, а 18:1n-7 – у 50 %. У большинства штаммов их содержание не превышало 9–10 % от общего количества жирных кислот. Среднее количество линолевой кислоты было 18,8 %, а α-линоленовой – 32,86 %. Наибольшее количество α-линоленовой кислоты было у штаммов *Nostoc pruniforme* CAMU MZ–C330 и *Nostoc punctiforme* CAMU MZ–C343 и достигало 51,08 % и 47,86 %. Следует отметить, что такие жирные кислоты как 16:1n-7, 18:1n-9, 18:1n-7, 18:2n-6 и 18:3n-3, по данным различных исследователей, считаются биомаркерами для цианобактерий. В целом профиль жирных кислот изученных штаммов *Nostoc* характеризуется большим содержанием соединений из группы омега-3.
E-mail: Maltseva-irina22@yandex.ru

ГЕНОМНЫЕ ПРЕДПОСЫЛКИ ДЛЯ ОБОСОБЛЕНИЯ ТАКСОНОМИЧЕСКОЙ ГРУППЫ СИНТРОФНЫХ СУЛЬФАТРЕДУКТОРОВ ВНУТРИ КЛАДЫ SEEP-SRB

Мельник[1] А.Д., Строева[1] А.Р., Полудеткина[1] Е.Н., Меркель[2] А.Ю.

[1]МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва
[2]ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

В составе микробного сообщества образца донных отложений Восточно-Сибирского моря был обнаружен консорциум анаэробного окисления метана, включающий архей ANME-2b (Halobacteriota), сульфатредуцирующих бактерий SEEP-SRB1 и LCP-80 (Desulfobacterota). Целью настоящей работы является изучение группы LCP-80: определение энергетического метаболизма, роли в микробном сообществе и ее филогенетических границ. Опытный образец донных отложений отобран из подтвержденной зоны флюидоразгрузки в акватории Восточно-Сибирского моря. Было проведено выделение ДНК, секвенирование по гену 16S рРНК (регион V3-V4), метагеномное секвенирование, биннинг, аннотация MAG'а GCA_048452825.1, определение его филогенетического положения, поиск и анализ родственных MAG'ов, анализ ключевых генов, определяющих способность образовывать синтрофные ассоциации с метанотрофными археми, определение характерных особенностей группы. В MAG'ах исследуемой группы содержатся гены каноничного сульфат-редукционного пути: sat, apr, dsrAB, а также связанных с ним переносчиков электронов и мембранных комплексов. Были обнаружены гены, связанные с прямым межвидовым переносом электронов (DIET), включая гены Oet- и Omc-подобных белков, экспрессирующиеся при межвидовом транспорте электронов. Кроме того, обнаружены компоненты систем межклеточного взаимодействия: Pel-оперон, консервативные адгезины, и системы секреции, вероятно, необходимые для образования биопленок и консорциумов. В составе изучаемых геномов обнаружены три генетические детерминанты: каноничный путь диссимиляционной сульфатредукции, комплекс межвидового переноса электронов (DIET), компоненты систем межклеточного взаимодействия, характерные для группы синтрофных сульфатредукторов LCP-80. Результаты говорят о наличии у изучаемой группы уникальных генетических адаптаций, необходимыми для синтрофии с археями группы ANME.

E-mail: 14amelnikd@gmail.com

ФИТОСИМБИОТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ ГАЛОТОЛЕРАНТНОГО ШТАММА *METHYLOBREVIS PAMUKKALENSIS* PK2

Мельников О.И., Розова О.Н., Бут С.Ю., Доронина Н.В., Хмеленина В.Н.

ФИЦ Пущинский научный центр биологических исследований РАН институт биохимии и физиологии микроорганизмов РАН, Пущино

Эмиссия метанола растениями формирует экологическую нишу для метилотрофных бактерий. Глобальные климатические изменения, включая засоление почв и засухи, угрожают устойчивости фитосистем, что подчеркивает актуальность изучения галотолерантных метилотрофов с фитосимбиотическим потенциалом. Штамм *Methylobrevis pamukkalensis* PK2 демонстрирует устойчивость к высокой солености и генетические детерминанты фитосимбиоза, что делает его перспективным объектом исследований. Ключевой характеристикой штамма является синтез индолилуксусной кислоты (ИУК) – фитогормона, стимулирующего рост и развитие растений. При метаболизме метанола PK2 продуцирует 14,6 мкг/мл ИУК, что способствует

пролиферации корневых клеток, увеличивает абсорбцию питательных веществ и усиливает экссудативную активность растений, оптимизируя бактериальную нишу. Штамм также экспрессирует АЦК-дезаминазу (активность 71,2 нмоль/мин/мг белка), катализирующую гидролиз 1-аминоциклопропан-1-карбоновой кислоты – прекурсора этилена. Снижение уровня этилена, индуцируемого стрессом, замедляет сенесценцию тканей, продлевая вегетативную фазу растений, в том числе в условиях засоления. Осмоадаптация штамма обусловлена синтезом N-ацетилглутаминилглутаминамида (NAGGN) и трегалозы, обеспечивающих рост культуры при 6% NaCl. NAGGN, вероятно, выполняет двойную функцию в клетке: не только осмопротектора, но и резерва азота, поддерживая азотный гомеостаз в ризосфере. Уникальное сочетание осмотолерантности и синтеза ростостимулирующих метаболитов позиционирует PK2 как основу для разработки биопрепаратов. Последующие исследования должны фокусироваться на лабораторной валидации эффективности штамма и оптимизации его применения.

E-mail: olegmelnikov96@yandex.ru

РЕКОНСТРУКЦИЯ ПОТОКОВОЙ МОДЕЛИ ПЕРХЛОРАТРЕДУЦИРУЮЩЕЙ БАКТЕРИИ *DECHLOROMONAS AGITATA*

Мелихова Е.В., Эсембаева М.А., Качнов В.А., Куляшов М.А.

Направление вычислительной биологии, Научный центр генетики и наук о жизни, Научно-технологический университет «Сириус», Сочи

Перхлораты (ClO_4^-) – стойкие и легкорастворимые анионы, активно используемые в производстве ракетных топлив и пиротехнических изделий. Однако благодаря устойчивости к химическому разложению они накапливаются в грунтовых водах и почвах, создавая угрозу для экосистем и здоровья человека. Одним из наиболее перспективных методов удаления этих загрязнителей считается биологическое восстановление с участием диссимиляторных перхлоратредуцирующих бактерий (DPRB), способных полностью преобразовывать перхлорат в безопасный хлорид используя ацетат в качестве донора электронов. В связи с этим, работа посвящена реконструкции потоковой модели перхлоратредуцирующей бактерии *Dechloromonas agitata*, которая позволит выявить метаболические особенности данных микроорганизмов. Реконструкция метаболической модели для *Dechloromonas agitata* is5 была выполнена с помощью разработанного в платформе BioUML конвейера, с использованием инструмента Reconstructor на основе геномной сборки ASM51904v1. Качество полученной модели оценивалось при помощи библиотеки MEMOTE, а ее последующее курирование осуществлялось с применением Cobrapy. Проведена автоматическая реконструкция и оценка качества потоковой модели для *Dechloromonas agitata* is5. В процессе ручного курирования были скорректированы реакции глиоксилатного шунта, который позволяет бактерии использовать ацетат как единственный источник углерода и превращать ацетил-КоА в сукцинат. Для учета потребления клеткой перхлората, в модель внесены реакции его утилизации, катализируемые ферментами комплекса перхлоратредуктазы (*pcrABCD*) и хлоритдисмутазой (*cld*), обеспечивающими восстановление перхлората до хлорита и его дальнейшее разложение до кислорода и хлорида. Также, в соответствии с литературными данными в первую реакцию был добавлен цитохром с в качестве переносчика электронов от ацетата. Нами была реконструирована первая потоковая модель для DPRB, что формирует основу для изучения метаболических путей на примере *Dechloromonas agitata* и выявления механизмов адаптации бактерии к биоремедиации перхлората. Кроме того, данная модель открывает новые возможности в совершенствовании биотехнологических процессов, используемых в очистке экосистем, загрязнённых перхлоратами.

Исследование поддержано грантом Грант РНФ-25-24-20098 «Изучение механизмов биоремедиации в различных микробиологических сообществах с помощью подходов потокового моделирования»

E-mail: k_melihovaaa@mail.ru

ПОЛУЧЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА ВАРИАНТОВ ТРАНСПОРТЕРА YHJE *ESCHERICHIA COLI* K-12 С ИЗМЕНЕННОЙ СУБСТРАТНОЙ СПЕЦИФИЧНОСТЬЮ

Молев[1,2] *С. В., Выборная*[1] *Т. В., Хозов*[1] *А. А., Степанова*[1,2] *А. А., Синеокий*[1] *С. П., Бубнов*[1] *Д. М.*

[1] НИЦ «Курчатовский институт», Москва
[2] Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва

Транспорт аминокислот с разветвленной цепью (BCAA, L-лейцин, L-изолейцин и L-валин) в клетках *Escherichia coli* контролируется системами LIV-I и BrnQ, специфичными в отношении всех трех субстратов. Ранее мы обнаружили дополнительный переносчик YhjE, который обладал специфичностью к L-изолейцину и L-валину, но не проявлял активности в отношении L-лейцина. Настоящая работа была выполнена с целью исследования структурных основ субстратной специфичности YhjE. Для этого при помощи химического мутагенеза *in vitro* плазмиды, несущей структурный ген *yhjE*, и последующего скрининга мы отобрали варианты, способные комплементировать дефект по транспорту L-лейцина у штамма, ауксотрофного по L-лейцину и лишенного активностей LIV-I и BrnQ. В результате секвенирования мы выявили следующие мутации в YhjE, которые стали причиной изменения свойств переносчика: одиночные замены P55S, T273I, T276I и M359I, а также двойная замена S271F/V290M. При помощи *in vivo* анализа фенотипа и измерения скорости транспорта *in vitro* мы показали, что все мутантные варианты обладают существенно большей активностью по отношению к L-лейцину в сравнении с исходным транспортером. К наибольшему увеличению скорости транспорта L-лейцина приводила замена M359I. Примечательно, что приобретение новой функции сопровождалось снижением исходной активности по отношению к L-изолейцину. Проанализировав предсказанную посредством AlphaFold 2 трехмерную структуру YhjE, мы установили, что все идентифицированные замены пространственно кластеризованы в близко расположенных альфа-спиралях, образующих один канал. Это позволяет предположить ключевую роль данного домена в определении субстратной специфичности переносчика. Полученные данные могут быть использованы для белковой инженерии при конструировании штаммов-продуцентов с оптимизированным поглощением субстратов.

Работа выполнена в рамках государственного задания НИЦ «Курчатовский институт» и при частичной поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № 075-15-2025-490.

E-mail: Ms1762@yandex.ru

ТРАНСКРИПТОМНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ У ОБЛИГАТНОГО МЕТАНОТРОФА *M. ALCALIPHILUM* С ИНАКТИВИРОВАННОЙ ГЛЮКОКИНАЗОЙ

Мустахимов И.И., Бут С.Ю., Шавкунов К.С., Мельников О.И., Хмеленина В.Н., Розова О.Н.

ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», ИБФМ РАН, Пущино

Облигатные метанотрофы используют метан в качестве единственного источника углерода и энергии и, соответственно, не способны к росту на полиуглеродных субстратах, включая глюкозу. Однако мутантный штамм *M. alcaliphilum* 20Z с выключенным геном *glk*, кодирующим глюкокиназу, обладал ярко выраженным фенотипом: сниженной скоростью роста и отсутствием гликогена. Анализ дифференциальной экспрессии выявил значимое изменение уровня экспрессии 446 генов (log2 ≥1 и ≤-1, padj ≤ 0,01) в *M. alcaliphilum glk*$^-$ по сравнению с диким типом. Обнаружено повышение уровня мРНК альтернативного, хотя и менее эффективного, пути утилизации свободной глюкозы: глюкозо-1-дегидрогеназы (Км для глюкозы 92 мМ), глюконаткиназы и глюконолактоназы. Данный путь ведёт к образованию 6-фосфоглюконата, что объясняет повышение уровня мРНК фосфоглюконатдегидрогеназы, катализирующей образование рибулозо-5-фосфата – акцептора формальдегида. Избыток Р5Ф, видимо, спровоцировал увеличение экспрессии гексулозофосфатизомеразы (ГФИ), транскетолазы и фосфокетолазы. Ген гексулозофосфатсинтазы не изменил уровня экспрессии, указывая на то, что ГФИ может являться узким местом ассимиляции ФА. Обнаружен повышенный уровень мРНК энергодающих реакций гликолиза – глицеральдегиддегидрогеназы и пирукаткиназы, а также ряда реакций цикла Кребса. Кроме того, увеличился уровень мРНК ферментов деградации гликогена, а именно: амилазы А и мальтоолигозилтрегалазы. Видимо, увеличение активности данных ферментов привело к резкому снижению уровня гликогена в мутантном штамме.
Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ № 25-24-00496.

E-mail*:* mii80@rambler.ru

ГЕНЫ УСВОЕНИЯ МОЧЕВИНЫ У *RHODOCOCCUS RHODOCHROUS* M8

Новиков А.Д., Калинина Т.И., Лавров К.В., Яненко А.С.

Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва

Бактерии *Rhodococcus* используются в промышленности для синтеза акриловых мономеров, витаминов, компонентов биодизеля и фармацевтических субстанций. Промышленные штаммы *Rhodococcus* удобно выращивать на мочевине, в качестве источника азота. Целью исследования было выявление генов-кандидатов, отвечающих за метаболизм мочевины в штамме M8. В ходе автоматической аннотации, в геноме штамма M8 были обнаружены предполагаемые гены амидолиазного пути усвоения мочевины (3 карбоксилазы мочевины, и 2 аллофанат-гидролазы), и не обнаружены гены уреаз. Транскриптомный анализ дифференциальной экспрессии всех генов штамма M8 в отсутствие и в присутствие мочевины показал, что мочевина индуцировала (в 50 раз) только транскрипцию генов карбоксилазы мочевины (*uca*) и аллофанат-гидролазы (*atzF*), расположенные рядом. Также, индуцировался соседний с ними оперон генов транспорта мочевины *urtABCDE*. Можно предположить, что штамм M8 усваивает мочевину путём превращения её в аллофанат, в результате действия карбоксилазы мочевины Uca, и дальнейшего превращения аллофаната в аммоний и углекислый газ, в результате действия аллофанат-гидролазы AtzF. Полученные

результаты позволяют предполагать, что единственным путём использования мочевины в качестве источника азота в *R. rhodochrous* M8 является амидолиазный путь, контролируемый генами карбоксилазы мочевины и аллофанат-гидролазы (uca и atzF). Представленные результаты создают основу для более детального изучения роли отдельных генов в переработке мочевины, а также в регуляции активности специфичных промоторов.
Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России, Моглашение № 075-15-2025-527.

E-mail:alexm19@mail.ru

ХАРАКТЕРИСТИКА НОВОЙ ПРИРОДНОЙ ПЛАЗМИДЫ ИЗ ДРЕВНЕГО ШТАММА *BREVUNDIMONAS* SP.

Петрова М.А., Яковлева П.М.

Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва

Штаммы рода *Brevundimonas* широко распространены в природе, однако в последнее время все чаще фиксируются случаи внутрибольничных инфекций, вызванных представителями данного рода. В связи с этим представляет интерес изучение плазмид (П.) *Brevundimonas*, поскольку именно П. обуславливают лекарственную устойчивость грамотрицательных возбудителей нозокомиальных инфекций. В штамме *Brevundimonas* sp. EK41, выделенном из многолетнемерзлых отложений Антарктиды, нами была обнаружена П. Было проведено полногеномное секвенирование штамма EK41, и осуществлены сборка и анализ последовательности его П. Размер П. составляет 76908 пн. В составе базового района П. были идентифицированы гены транспозиции, включая ген *mobF*, ответственный за образование релаксосомы, и гены, ответственные за образование пилей. Не удалось найти гена репликации П. *rep*, что говорит о том, что П. содержит какой-то ранее не описанный *rep*. В составе дополнительного района П. был выявлен транспозон Tn*5393*, содержащий гены устойчивости к стрептомицину *strA* и *strB*. С помощью скрещиваний EK41 с устойчивыми к рифампицину мутантами штаммов *Brevundimonas* AD10 и 4B6 из нашей лабораторной коллекции была охарактеризована функциональная активность выявленного конъюгативного модуля П. Было выявлено, что частота конъюгативного переноса П. составляет 3,4*10^(-5)-8,6*10^(-4) и 1,95*10^(-6)-2*10^(-5) для скрещиваний EK41x4B6rif и EK41xAD10rif, соответственно. Таким образом, мы охарактеризовали новую конъюгативную П. *Brevundimonas*. Наши данные подтверждают широкое распространение задолго до начала «антибиотической» эры транспозона Tn*5393* на П. самых различных грамотрицательных природных бактерий. Этим фактом объясняется нынешняя частая встречаемость Tn*5393* и производных от транспозонов у клинических бактерий.

E-mail: mpetrova-img@yandex.ru, polinayakovleva@yandex.ru

ПОЛУЧЕНИЕ ПОЛНОГО ГЕНОМА И ВЫЯВЛЕНИЕ АНАПЛЕРОТИЧЕСКИХ ПУТЕЙ ПУРПУРНОЙ НЕСЕРНОЙ БАКТЕРИИ *CEREIBACTER SPHAEROIDES* ВКМ B-3534D

Петушкова[1] Е.П., Старыгина[1] П.А., Майорова[1] Е.В., Тощаков[2] С.В., Намсараев[2] З.Б., Цыганков[1] А.А.

[1]Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук – обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино
[2]НИЦ «Курчатовский Институт», Москва

Пурпурные несерные бактерии (ПНСБ) являются биотехнологически продуцентами практически значимых соединений. Они способны расти с использованием органических кислот из ферментационных жидкостей, получаемых после переработки пищевых отходов. В то же время использование оргкислот в качестве ростовых субстратов является проблемой в биотехнологических процессах получения биомассы бактерий, требующих добавления концентрированных ростовых сред. Высокие концентрации кислот, таких как ацетат, ингибируют рост бактерий. Анаплеротические пути, функционирующие в клетках при ассимиляции ацетата в качестве единственного органического субстрата или в смеси с другими оргкислотами, повышают устойчивость к субстрату и жизнеспособность организмов. ПНСБ *C. sphaeroides* ВКМ B-3534D обладает высокой скоростью роста и устойчива к большим концентрациям компонентов ростовой среды. Целью данной работы является изучение особенностей метаболических возможностей *C. sphaeroides* ВКМ B-3534D, которые могут быть основой устойчивости данной бактерии к высоким концентрациям органических кислот при интенсивном культивировании. Для этого были проведены секвенирование геномной ДНК бактерии на платформе Oxford Nanopore, сборка и аннотация полного бактериального генома *de novo* в хромосому в гибридном формате (с использованием новых данных секвенирования и ранее полученных на платформе Illumina), биоинформационный анализ генома для обнаружения генов анаплеротических путей. Также обсуждаются сходства и отличия метаболических возможностей восполнения пула интермедиатов ЦТК у *C. sphaeroides* ВКМ B-3534D и других видов ПНСБ.
Работа поддержана грантом РНФ 25-24-00459, https://rscf.ru/project/25-24-00459/

E-mail: peteka2008@gmail.com

ИЗМЕНЕНИЕ МЕТАБОЛИТНОГО ПРОФИЛЯ ЦИКЛА ТРИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ И ПУТЕЙ СИНТЕЗА ГЛЮКОЗЫ У ПУРПУРНОЙ НЕСЕРНОЙ БАКТЕРИИ *RHODOBACTER CAPSULATUS* В РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ ВЫРАЩИВАНИЯ

Петушкова Е.П., Сердюк О.П., Романова А.И., Майорова Е.В., Цыганков А.А.

Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук – обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино

Пурпурная несерная бактерия *Rba. capsulatus* способна использовать кислоты, образующиеся после ферментации органических отходов, в качестве ростовых субстратов. Чтобы достигнуть устойчивых скоростей роста бактерии и более полного потребления субстрата из культуральной жидкости, необходимы знания особенностей метаболизма данных соединений. Целью исследований было изучение методом хромато-масс-спектрометрического анализа изменения состава метаболитов при функционировании цикла трикарбоновых кислот (ЦТК) и путей синтеза глюкозы у *Rba. capsulatus* в различных условиях выращивания. Основным отличием в профилях метаболитов ЦТК у *Rba. capsulatus*

в анаэробных фототрофных условиях по сравнению с аэробными (с малатом или ацетатом в качестве единственного источника углерода) было наличие D-цитрамалата. Его присутствие может указывать на функционирование в клетках альтернативного пути синтеза изолейцина, который обеспечивает клетку некоторыми аминокислотами без оттока интермедиатов из ЦТК. При этом, наличие в фототрофных анаэробных культурах таких метаболитов, как цитрат, изоцитрат, малат и глутаминовая кислота, указывает на активность анаболической части реакций ЦТК, восполняемой за счет анаплеротических путей. В аэробных условиях метаболитный профиль культур *Rba. capsulatus* характеризуется наличием сукцината, который, возможно, образуется в анаплеротическом глиоксилатном цикле или в этил-малонил-КоА пути, не ингибирующихся присутствием кислорода. В ходе работы были использованы различные способы пробоподготовки. Результаты показали, что только заморозки клеток в жидком азоте для фиксации метаболизма на определенном этапе выращивания культуры недостаточно: в таких образцах не были обнаружены малат и глюкоза-6-фосфат, которые метаболизировались клетками до проведения анализа. Поэтому для полной остановки метаболизма биомассу дополнительно обрабатывали 60%-ным водным раствором метанола (-48 °C).
Работа выполнена в рамках ГЗ №125051305944-7.

E-mail: sredyuko@rambler.ru

МЕХАНИЗМ АКТИВАЦИИ ТРАНСКРИПЦИИ БЕЛКАМИ LYSR-СЕМЕЙСТВА НА ПРИМЕРЕ РЕГУЛЯТОРА ГЕНОВ КАТАБОЛИЗМА САЛИЦИЛАТА SGPR

Позднякова-Филатова И.Ю., Захарова М.В.

ФИЦ Пущинский научный центр биологических исследований РАН, Пущино

Регуляторные белки LysR-семейства (LTTR) широко распространены среди бактерий, архей и водорослей и являются как специфическими, так и плеиотропными факторами транскрипции. Функционируют они как тетрамеры, взаимодействуя с двумя участками ДНК, которые называют RBS (repression binding site) и ABS (activation binding site). Участок RBS (1) расположен upstream -35 сайта промотора LTTR-зависимых генов, (2) содержит вырожденный палиндром T-N11-A, (3) необходим и достаточен для образования комплекса с LTTR *in vitro*. Участок ABS (1) перекрывается с -35 сайтом промотора, (2) не содержит характерного вырожденного палиндрома, (3) в отсутствии RBS не способен образовывать комплекс с LTTR. Двойственная функция LTTR проявляется в том, что в отсутствии эффектора они конкурируют с РНКП за место связывания, фактически являясь репрессором, однако в присутствии эффектора становятся активаторами II типа, поскольку способствуют формированию закрытого комплекса «РНКП-промотор». Мы исследовали топологию комплекса SgpR-DNA, используя и ДНКазный, и перманганатный футпринт, что позволило обнаружить одноцепочечные участки в районе RBS. Мы совместили данные футпринтов с трехмерной структурой ДНК и обнаружили, что -10 и -35 боксы промотора SgpR-зависимых генов расположены на одной стороне спирали, белок SgpR расположен по другую сторону спирали, а его взаимодействие с ДНК изгибает ее таким образом, что -10 и -35 боксы оказываются недоступны для РНКП, поскольку располагаются не на одной прямой. Добавление эффектора, салицилат-иона, к комплексу SgpR-RNAP-DNA сокращало протяженность расплавленного участка, что, по-видимому, связано с релаксацией изгиба ДНК. Это является ключевым этапом образования закрытого комплекса, поскольку в этот момент -10 и -35 боксы оказываются корректно позиционированы друг относительно друга.

E-mail: irafilatova24@gmail.com

ХАРАКТЕРИСТИКА ВИРОМА ИЗ ОЗЕРА ХУБСУГУЛ (МОНГОЛИЯ)

Потапов[1] С.А., Тихонова[1] И.В., Гладких[2] А.С., Белых[1] О.И.

[1]Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Лимнологический институт СО РАН, Иркутск
[2] Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

Озеро Хубсугул одно из древнейших озер на земле, не подвергнутое активной экспансии человеком, его экосистема может считаться эталоном чистоты. Вироm планктона озера до сих пор не изучали. Вода для исследования отобрана в октябре 2023 года в северной части озера, в 3 км от поселка Ханх, в слое воды 0-70 м и обработана как описано ранее (Potapov et al., 2024). Идентифицировано 10,9 тыс. контигов (длиной 1-87,5 тыс. нк.), анализ tblastx (БД RefSeq) выявил 12 классов и 81 семейство вирусов; 2,7 тыс. контигов (24,8 %) не классифицируются. Наибольшую долю контигов представляли бактериофаги, принадлежащие классу Caudoviricetes (75,6%), на втором месте были крупные цитоплазматические вирусы Megaviricetes (18,5%), на третьем – вирофаги Maveriviricetes (2,2%). Наиболее представленными были бактериофаги семейства *Kyanoviridae* и вирусы водорослей *Phycodnaviridae* (25,9% и 24% соответственно). Выявлено 5 семейств, представители которых инфицируют позвоночных: *Orthoherpesviridae* (2,1%), *Poxviridae* (0,7%), *Iridoviridae* (0,6%), *Alloherpesviridae* (0,1%) и *Circoviridae* (0,03%). Незначительная доля вирусов архей (1,3%) классифицируется как *Suolaviridae*, *Halomagnusviridae*, *Chaacviridae* и др.; вирусы беспозвоночных представлены *Baculoviridae*, *Ascoviridae*, *Malacoherpesviridae* и др. (0,5%). Большинство выявленных семейств относилось к дцДНК содержащим вирусам (99,3%), оцДНК были в миноре (0,7%). UPGMA анализ на основе 50 образцов из различных экосистем показал, что пул вирусных последовательностей из оз. Хубсугул группируется с образцами из оз. Байкал. Работа выполнена в рамках темы госзадания ЛИН СО РАН № 0279-2021-0015 «Исследования вирусных и бактериальных сообществ как основы стабильного функционирования пресноводных экосистем и эффективного ответа в условиях».

E-mail: poet1988@list.ru

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РОЛЬ МИНОРНЫХ ПРОТЕИНАЗ ДЕГРАДОМА *BACILLUS PUMILUS* 3-19

Рудакова Н.Л., Хасанов Д.И.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань

Понятие «деградом» включает в себя полный набор внеклеточных протеаз клетки. Секретируемые протеазы р. *Bacillus* широко применяются в промышленности, медицине и сельском хозяйстве. Однако, подробно описаны только мажорные секретируемые протеазы. Роль минорных протеаз не всегда четко определена. Биоинформатический анализ функции внеклеточных протеаз на основе полногеномной последовательности *B. pumilus* 3-19 с использованием ресурсов BLASTN, iTASSER, AlfaFold. Штамм *B. pumilus* 3-19 является производным почвенного изолята с повышенной экспрессией некоторых внеклеточных ферментов. В геноме штамма выявлено 13 генов секретируемых протеаз, среди которых детально описаны мажорные сериновые протеиназы (Apr и Gse) и уникальная минорная адамализиноподобная металлопротеиназа (Mpr). Среди оставшихся 10 генов 5 кодируют

белки с хорошо описанной функцией: белок матрикса биопленок TasA, «пищеварительные» протеазы субтилизин NAT и бациллопептидаза F, протеаза проспоры DacF, а также ингибитор металлопротеаз InhA, описанный как фактор патогенности для *B. turingiensis*. Оставшиеся 5 генов – это две пептидазы, вовлеченные в катаболизм глутатиона. Эстераза EstB с возможным участием в механизмах антибиотикоустойчивости. И минорные сериновые протеиназы Epr и Vpr, функциональная роль которых описана в литературе не конкретно: регуляторные функции, роение и подвижность, фибринолитическая активность, а также формирование энзиматически активных фибрилл. Наибольший интерес с функциональной точки зрения представляют минорные протеазы Vpr, Epr, Mpr, а также гидролазы катаболизма глутатиона. В дальнейшем планируются исследования экспрессии их генов методом ОТ-ПЦР.
Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда и Академии наук Республики Татарстан по проекту № 25-24-20121.

E-mail: natalialrudakova@mail.ru

СКРИНИНГ ГЕНОВ QUORUM QUENCHING ФЕРМЕНТОВ СРЕДИ МИКРООРГАНИЗМОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С *PHALENOPSIS* SP.

Соколов М.Н., Зайцева Ю.В.

Научно-образовательная лаборатория молекулярной генетики и биотехнологии, Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, Ярославль

Ферментативная деградация сигнальных молекул Quorum sensing (QS) является одним из ключевых механизмов его подавления, известного как Quorum quenching (QQ). Так как QS регулирует экспрессию факторов патогенности у бактерий, ингибирование этой системы является перспективным направлением исследований.
Целью работы являлось изучение распространения QQ ферментов у бактерий и создание коллекции культивируемых микроорганизмов, обладающих механизмом QQ, выделенных из растений рода *Phalenopsis*. Для этого был проведен филогенетический анализ аминокислотных последовательностей белков, гомологичных QQ ферментам, известным из литературы. Показано, что различные QQ ферменты распространены у бактерий и архей в различной степени. Наиболее распространенными являются металло-β-лактамазы. Фосфотриэстеразо-подобные лактоназы, напротив, среди бактерий встречаются лишь у Actinomycetota, зато обнаруживаются у некоторых архей. Наибольшее разнообразие QQ ферментов выявлено среди Pseudomonadota и Actinomycetota.
С использованием биосенсора *Chromobacterium violaceum* CV026 был проведен скрининг бактерий, обладающих QQ свойствами, среди ризосферных, эпи- и эндофитных микроорганизмов, ассоциированных с горшечными орхидеями. Отобранные штаммы были идентифицированы по маркерной последовательности гена 16s рРНК. Они принадлежат к родам *Acinetobacter, Bacillus, Microbacterium, Paenibacillus, Rhodococcus* и *Pantoea*.
Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 25-16-20136, https://rscf.ru/project/25-16-20136

E-mail: melsudbi@yandex.ru

ПОИСК НОВЫХ ПЕРЕНОСЧИКОВ АМИНОКИСЛОТ С РАЗВЕТВЛЕННЫМ РАДИКАЛОМ ЧЕРЕЗ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКУЮ МЕМБРАНУ *ESCHERICHIA COLI* К-12

Степанова[1,2] А.А., Выборная[1] Т.В., Хозов[1] А.А., Молев[1,2] С.В., Бубнов[1] Д.М., Синеокий[1] С.П.

[1] НИЦ «Курчатовский институт», Москва
[2] Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва

Изучение механизмов транспорта метаболитов через цитоплазматическую мембрану является ключом к пониманию взаимодействия бактериальной клетки с окружающей средой. Эти знания также востребованы в промышленной биотехнологии, в частности при создании штаммов-продуцентов аминокислот, где модификация транспортных систем позволяет повысить выход продукта и предотвратить его обратный захват. Одним из примеров этого является транспорт аминокислот с разветвленным радикалом (BCAA): L-валин, L-лейцин, L-изолейцин. У *Escherichia coli* идентифицированы три переносчика, специфичных к BCAA: LIV-I, BrnQ и YhjE. Вместе с тем, было показано, что мутантный штамм, дефектный по всем трем системам, всё еще способен потреблять эти соединения из питательной среды, что свидетельствует о существовании неидентифицированных транспортных систем. В ходе настоящей работы был проведён скрининг супрессоров дефекта по транспорту BCAA на штамме, неспособном к синтезу L-изолейцина и лишенном известных транспортеров. В результате были идентифицированы следующие гены: *aroP*, *pheP*, *gabP*, *cycA*, *proP*, а также *ydgI* и *yjeM*, функции которых ранее не были описаны. Анализ фенотипа мутантов по идентифицированным генам показал, что инактивация AroP в штамме, дефектном по LIV-I, BrnQ и YhjE, приводит к повышению минимальной ингибирующей концентрации L-валина, что свидетельствует о его способности к транспорту последнего. Аналогично, мутант *leuA livKHMGF brnQ yhjE aroP*, проявляет повышенную потребность в L-лейцине. Таким образом, из полученных результатов можно сделать вывод о том, что в отсутствие активностей систем LIV-I, BrnQ и YhjE, доминирующий вклад в поглощение L-лейцина и L-валина вносит AroP – переносчик ароматических аминокислот. Последовательная инактивации оставшихся супрессоров не привела к усугублению дефекта по транспорту ни одной из аминокислот с разветвленным радикалом, что говорит о том, что они вносят лишь минорный вклад в эти процессы. Несмотря на то, что PheP, GabP, CycA, ProP, YdgI и YjeM вносят лишь минорный вклад в поглощение BCAA, полученные результаты могут иметь практическую значимость. Так, активность YjeM и YdgI по отношению к L-лейцину и L-изолейцину свидетельствует о том, что субстраты этих белков структурно схожи с ними. Более того, эта активность, может быть, в дальнейшем использована для идентификации этих субстратов.

Работа выполнена в рамках государственного задания НИЦ «Курчатовский институт» и при частичной поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № 075-15-2025-490.

E-mail: Stepanova_AA@nrcki.ru

ВЫСОКАЯ АКТИВНОСТЬ ЩЕЛОЧНОЙ ФОСФАТАЗЫ В ЗАЛИВАХ ОЗ. БАЙКАЛ, ВКЛАД БАКТЕРИАЛЬНОГО СООБЩЕСТВА В ЕЁ ПРОДУКТИВНОСТЬ

Суслова М.Ю., Кан Г.В., Тихонова И.В., Рымарева Е.А., Чебунина Н.С., Белых О.И.

Лимнологический институт СО РАН, Иркутск

Круговорот фосфора значимо влияет на продуктивность водоемов. Главным источником органического фосфора в водной системе Байкала является фито- и зоопланктон. Микроорганизмы, обладающие щелочными фосфатазами, высвобождают фосфат из отмерших организмов, который вновь включается в биологический цикл. Активность щелочной фосфатазы (АЩФ) дает возможность судить о состоянии экосистемы, нагрузке фосфатами и качестве воды. Пробы воды отбирали в июле 2023, 2024 гг. в зал. оз. Байкал – Мухор и Чивыркуйский, АЩФ (нмоль/л·сут) определяли набором ВИТАЛ В09.02. Исследования показали, что АЩФ в заливах в среднем составила 2140. Определено, что в 2023 и 2024 гг. в зал. Мухор АЩФ составила 3206 и 2592, в Чивыркуйском – 667 и 2094, соответственно. Пробы последовательно фильтровали через мембраны $D_{пор}$ 5, 1 и 0.2 мкм, условно разделив фосфатаза-активное сообщество на фракции: более 5 мкм – фитопланктон (ФП), от 5 до 1 – пикопланктон ПП, от 1 до 0.2 – бактериопланктон (БП). В 2023 и 2024 гг. в зал. Мухор выявлено соотношение ФП – 72 и 37%, ПП – 6%, БП – 22 и 53%, соответственно. В Чивыркуйском соотношение групп по годам схожее ФП 28%, ПП – 22 и 27%, БП – 50 и 45%, хотя значение АЩФ в 2024 г. в 3 раза выше. В зал. Мухор и Чивыркуйский вклад БП в АЩФ в среднем составил 43%, и установлено, что значения АЩФ на порядок выше озерных (Suslova, 2024), что свидетельствует об активных биохимических процессах трансформации соединений фосфора, поступивших с активным ростом планктона.

Работа выполнена в рамках тем гос. заданий 0279-2021-0014 и 0279-2021-0015.

E-mail: suslova@lin.irk.ru

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ИНТРОДУКЦИИ МЕТАНОТРОФОВ ПОЧВЫ ЧЕРНЕВОЙ ТАЙГИ В АГРОПОЧВУ

Сухачева[1] М.В., Гогмачадзе[2] Л.Г., Кравченко[1] И.К.

[1]Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва
[2]Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, факультет почвоведения, Москва

Метан является важнейшим парниковым газом, и его вклад в современное глобальное потепление оценивается в 15%. Единственным известным биологическим механизмом регуляции его содержания в атмосфере Земли является окисление микробными сообществами аэробных почв, которое значительно снижается в условиях интенсивного сельскохозяйственного использования. В последние годы особое внимание уделяется применению микроорганизмов в экологических биотехнологиях. Одной из таких технологий может быть интродукция метанотрофов в сельскохозяйственную почву для интенсификации окисления метана, а также улучшения показателей здоровья почвы и роста растений за счет фиксации азота, увеличения доступности питательных веществ и улучшения структуры почвы. Для выделения новых перспективных для биотехнологии метанотрофных консорциумов мы использовали почву уникальной экосистемы - Черневой тайги Томской области. Выбранный консорциум, состоящий на 73% из *Methylocystis*, был использован в

инкубационном эксперименте по биоинокуляции с микрокосмами пахотной дерново-подзолистой почвы Московской области. Установлено, что однократное внесение экзогенных метанотрофов приводило к увеличению метанотрофной активности по сравнению с контролем в течение трех месяцев наблюдения. По данным 16S рРНК профилирования *Methylocystis* не был обнаружен в пахотной почве, а количество OTU метанотрофов было менее 0.1%. После инокуляции в течение трех месяцев количество OTU *Methylocystis* сохранялось на уровне 0.13-0.33%, а количество копий генов *pmo*A метанотрофов составляло 1.3 -1.8 $\times 10^6$ на г почвы. Полученные результаты демонстрируют перспективность применения выделенных из уникального природного объекта метанокисляющих консорциумов для восстановления важной биогеохимической функции нарушенных почв.
Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 25-24-20102, https://rscf.ru/project/25-24-20102/.

E-mail: msukhacheva@mail.ru

ПЛАЗМИДА ДЛЯ СЕЛЕКТИВНОГО ОТБОРА ВЫСОКОСПЕЦИФИЧНЫХ БАЦИЛЛЯРНЫХ ПРОМОТОРОВ

Токмакова И.П., Гнучих Е.Ю.

НИЦ «Курчатовский институт», Москва

Генная инженерия бацилл предполагает использование челночных плазмид, их конструирование и наработку в клетках *E. coli*. Однако, конструирование рекомбинантных плазмид иногда оказывается сложным или невозможным из-за проявления токсичного эффекта гетерологичных для *E. coli* продуктов. Данный эффект связан с тем, что промоторы бацилл как правило хорошо работают в клетках *E. coli,* а продукты гетерологичных генов могут проявлять токсичный эффект. Использование высокоспецифичных бациллярных промоторов позволяет нивелировать эффект токсичного влияния продуктов гетерологичных генов на клетки *E. coli* и проводить эффективное клонирование на челночных плазмидах. Нами сконструирована плазмида для селективного отбора высокоспецифичных бациллярных промоторов. Плазмида содержит область множественного клонирования и искусственный оперон *ccdB-luxABCDE-cat*. Оперон кодирует токсин, выступающий в качестве маркера отрицательной селекции в клетках *E. coli*, но не *Bacillus subtilis,* гены бактериальной люциферазы и маркер устойчивости к хлорамфениколу для *B. subtilis*. При получении библиотек, случайные фрагменты генома бацилл встраивают перед опероном, за счет токсина CcdB происходит селективный отбор клонов, содержащих не работающие в *E.coli* промоторы или не содержащие промоторы. При трансформации *B. subtilis* библиотекой выделенных плазмид происходит положительный селективный отбор клонов, содержащих промоторы на хлорамфениколе и определение силы промотора по люминесценции с использованием бактериальной люциферазы. С использованием данной плазмиды, отобран ряд высокоспецифичных промоторов, при этом уровень люминесценции в клетках *B. subtilis* на три-четыре порядка выше, чем в клетках *E. coli* при нормировании по OD_{600}.
Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России, Соглашение № 075-15-2025-527.

E-mail: *Gnuchih_evgeniy@mail.ru

РОЛЬ ТАФИ В ОБРАЗОВАНИИ БИОПЛЕНОК

Топилина[1] М.Ю., Любимов[2] М.Д., Бессонова[3,4] Т.А., Пятибратов[1] М.Г.

[1]Институт белка РАН, Пущино, Россия
[2]Саратовский государственный университет им Н. Г. Чернышевского, Саратов
[3]Институт биофизики клетки РАН, Пущино
[4]Институт общей генетики им Н. И. Вавилова РАН, Москва

У галоархеи *Haloarcula hispanica* были обнаружены нитевидные поверхностные структуры — тафи, основным структурным компонентом которых является белок TafA. Геномный анализ обнаружил в кластере генов тафи ген адгезина *tafC*, и соответствующий белок был детектирован в препаратах тафи. Это позволило предположить участие тафи в клеточной адгезии и образовании биопленок. Для проверки гипотезы сравнивали уровень образования биопленок у различных штаммов *H. hispanica*: дикого типа, лабораторного штамма DF60 с повышенной экспрессией тафи, мутанта *ΔtafA*, мутанта *ΔpibD*, лишенного архелл и пилей, и двойного мутанта *ΔtafAΔpibD*. Эксперименты проводили в богатой питательной среде с вариациями солёности (18%, 20%, 23%, 25% NaCl) и pH (6.0, 7.0, 8.0). используя стандартный метод окрашивания кристаллическим фиолетовым с количественной оценкой по оптической плотности. Результаты показали, что мутанты *ΔtafA* и *ΔtafAΔpibD* демонстрировали значительное снижение биопленкообразования во всех исследованных условиях, что подтверждает ключевую роль тафи в адгезии. Мутант *ΔpibD* также показал уменьшенное образование биопленок, что свидетельствует о вовлечённости архелл и пилей в этот процесс. Показано, что образование биопленок может варьироваться в зависимости от условий окружающей среды. Таким образом, мы подтвердили, что тафи вносят существенный вклад в адгезию и биопленкообразование у *H. hispanica*.

E-mail: topilina.lena@bk.ru

РЕГУЛЯЦИЯ АТФАЗНОЙ АКТИВНОСТИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ АТФ-СИНТАЗ ЗА СЧЕТ АДФ-ИНГИБИРОВАНИЯ В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ ДЕЭНЕРГИЗАЦИИ *IN VITRO*.

Третьяков Д., Лапашина А., Фенюк Б.А.

Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

АТФ-синтазы бактерий обладают двунаправленной активностью: они способны как синтезировать АТФ, так и катализировать его гидролиз, поддерживая протонный градиент на мембране. Критически важно, чтобы клетки могли регулировать гидролиз АТФ и предотвращать истощение его запасов. Один из универсальных, консервативных механизмов подавления АТФазной активности – АДФ-ингибирование, при котором фермент после гидролиза АТФ переходит в инактивированное состояние, если в его активном центре остается только АДФ (без фосфата). В литературе отмечается различная эффективность этого механизма у разных видов: например, АТФазная активность фермента *Escherichia coli* лишь слабо подавляется АДФ, тогда как у *Bacillus* sp. PS3 наблюдается выраженное ингибирование. Роль неорганического фосфата в регуляции гидролиза АТФ неоднозначна. С одной стороны, фосфат выступает ингибитором как продукт реакции, с другой – влияет на степень проявления АДФ-ингибирования. Однако ранее было затруднительно исследовать кинетику АТФ-гидролиза при одновременном присутствии АДФ и фосфата из-за

технических ограничений традиционных биохимических методов. В рамках нашей работы был разработан новый подход к измерению концентрации АТФ *in vitro* на основе использования селективных белковых АТФ-связывающих флуоресцентных зондов, которые изменяют спектральные характеристики при связывании с АТФ. Этот метод позволил впервые получить количественные данные о регуляции АТФазной активности АТФ-синтаз *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* и *Bacillus sp.* PS3 в условиях, моделирующих деэнергизацию клетки, то есть при высоких концентрациях АДФ и физиологическом уровне фосфата. Применение разработанного метода также позволило исследовать влияние сульфита – вещества, которое, согласно общепринятым представлениям, устраняет эффект АДФ-ингибирования. Полученные нами результаты подтверждают, что добавление сульфита действительно приводит к снижению степени АДФ-ингибирования АТФ-синтаз, что согласуется с литературными данными относительно направления воздействия. При этом выраженность эффекта варьировала между изучаемыми объектами, однако в целом наблюдавшиеся изменения находятся в пределах, сопоставимых с ранее опубликованными результатами. Интересно, что, вопреки ранее опубликованным данным о слабой чувствительности фермента *Escherichia coli* к АДФ-ингибированию, в условиях деэнергизации данный фермент утрачивает значительную часть своей активности. В то же время ферменты *Bacillus subtilis* и *Bacillus* sp. PS3, которые, как предполагалось, должны были инактивироваться при деэнергизации, напротив, сохраняли большую часть АТФазной активности. Также нами впервые показано, что уровень АДФ-ингибирования АТФ-синтазы *Bacillus subtilis* снижается с ростом температуры, тогда как ранее температурная зависимость данного механизма не отмечалась.

E-mail: tretyakov3927@gmail.com

К ВОПРОСУ О САПРОТРОФНОЙ ПРИРОДЕ ТЕРМОФИЛЬНЫХ АРХЕЙ THERMOPLASMATA A10

Туленков А.С., Ельченинов А.Г., Карасева А.И., Меркель А.Ю., Заюлина К.С., Клюкина А.А., Кочеткова Т.В.

Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, Федеральный исследовательский центр Фундаментальных основ биотехнологии РАН, Москва

Термофильные археи, относящиеся к группе A10 класса *Thermoplasmata*, на протяжении многих лет обнаруживают в кислых гидротермальных источниках по всему миру, включая полуостров Камчатка, где, вероятно, они являются одной из доминирующих в микробных сообществах групп архей. Однако до сих пор нет работ по детальному анализу метаболизма данных архей. Анализ геномов представителей группы A10, собранных из метагеномов, доступных в базе данных GenBank, а также генома, полученного нами из накопительной культуры, свидетельствует о гетеротрофном характере их метаболизма. В ходе геномного анализа были обнаружены гомологи генов, кодирующие гликозидазы, однако их семейства были распределены не равномерно среди разных филотипов внутри группы A10. В то время как гены внеклеточных пептидаз семейств A5 (термопсин) и S53 (седолизин) были предсказаны в большинстве геномных сборок. Отсутствие полных путей метаболизма сахаров (гликолиз, путь Энтнера-Дудорова), а также большое число пептидаз указывает на важную роль протеолиза в метаболизме этих архей. На это же указывают, гомологи генов ферментов, необходимых для расщепления аминокислот до кетокислот и других промежуточных соединений, которые могут быть включены в энергетический метаболизм клеток, например, в цикл Кребса. Найденные гены ферментов, участвующих в расщеплении белков и пептидов до аминокислот, а также закодированные энзимы, необходимые для

включения их в центральный метаболизм, указывают на то, что археи группы A10 могут занимать нишу сапротрофов и разрушать остатки полимеров (белков, некоторых полисахаридов, и, возможно, нуклеиновых кислот), остающихся от отмерших клеток других организмов.
Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 23-14-00312.

E–mail: tulenkov.as@phystech.edu

ИЗМЕНЕНИЕ СТРУКТУРЫ И БИОХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА БИОПЛЕНОК K. PNEUMONIAE ПОД ДЕЙСТВИЕМ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ ИЗ КУЛЬТУРАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ S. AUREUS

Фирсова М.Ю., Миронова А.В., Тризна Е.Ю., Каюмов А.Р.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань

Разработка препаратов, влияющих на медиаторы микробных взаимодействий, а также создание новых стратегий борьбы с биопленками, основанных на механизмах межвидовой конкуренции, могут стать альтернативой традиционным методам лечения инфекций. Материалы и методы: ТФЭ, высаливание (NH4)2SO4, CLSM, окрашивание компонентов матрикса, RT-PCR, MTT-тест. Внесение бесклеточной культуральной жидкости (БКЖ) *S.aureus* к моновидовой биопленке K. pneumoniae влияло на содержание белков и α-полисахаридов и их расположение в матриксе биопленки. Кроме того, в присутствии БКЖ S. aureus происходило изменение уровня экспрессии гена pgaA, ассоциированного с образованием компонентов матрикса биопленки *K. pneumoniae*. Различные фракции культуральной жидкости показывали схожие с БКЖ эффекты на биопленку *K. pneumoniae*. Так, фракции, полученные с помощью ТФЭ, работали так же, как и БКЖ, а фракция после высаливания метаболитов повышала экспрессию гена pgaA. При совместном использовании проявляли синергетическое действие с антибиотиками на уровне с БКЖ, аналогично повышая их эффективность. Таким образом, внеклеточные метаболиты из БКЖ *S. aureus* влияют на биохимический состав и структуру биопленки *K. pneumoniae*, что оказывает влияние на проницаемость матрикса для противомикробных средств и чувствительность *K.pneumoniae*.
Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (проект № 24-14-00194).

E-mail: f4m11imya@yandex.ru

СЕРОЗАВИСИМОЕ ФУМАРАТНОЕ ДЫХАНИЕ У *SULFUROSPIRILLUM TAMANENSE*

Фролова А.А., Слободкин А.И.

ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

Неорганические акцепторы электронов (кислород, нитрат, сульфат и т.п.) хорошо известны и микроорганизмы, участвующие в их восстановлении, подробно изучены. Процессам, связанным с использованием органических акцепторов электронов, уделялось значительно меньше внимания. Фумарат является естественным метаболитом, участвующим в цикле трикарбоновых кислот, и его внутриклеточное образование характерно для огромного числа микроорганизмов. Соединения серы, включающие элементную серу, сульфид и тиосульфат, являются наименее исследованной группой веществ, способных использоваться в качестве

доноров электронов при росте с фумаратом в качестве акцептора, несмотря на их широкое присутствие во многих естественных и антропогенных местообитанях. Для анаэробной алкалофильной бактерии *Sulfurospirillum tamanense*, выделенной из наземных грязевых вулканов, была экспериментально продемонстрирована способность к использованию сульфида (в концентрациях до 5 мМ) в качестве донора электронов для восстановления малата и фумарата (10 мМ каждый) без добавления дополнительных источников углерода. В ходе реакции происходило образование элементной серы, сукцината и ацетата (в соотношении 5:1 при росте с малатом и 6,7:1 при росте с фумаратом). По мере роста микроорганизма сульфид полностью потреблялся. Геном штамма *S. tamanense* не содержит генов диссимиляционной сульфитредуктазы Dsr типа и окисляющих серные соединения белков Sox. Возможно, окисление элементной серы и тиосульфата происходит с участием ферментов, включающих роданазу и Hdr-подобный комплекс. Окисление сульфида, вероятно, осуществляется сульфид:хинон оксидоредуктазой Sqr.
Работа была поддержана Министерством науки и высшего образования РФ.

E-mail: romana2804@gmail.com

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МАРКЕРА КОНТРСЕЛЕКЦИИ PHES* ДЛЯ «БЕСШОВНЫХ» МОДИФИКАЦИЙ ГЕНОМА *PANTOEA ANANATIS*

Харченко М.С., Озерова А.М., Скрипникова В.С., Юсупова Ю.Р., Самсонов В.В., Ростова Ю.Г., Закатаева Н.П.

АО «АГРИ», Москва

Pantoea ananatis – важная платформа для биотехнологических производств. Разработанный ранее метод генной инженерии *P. ananatis* основан на гомологичной рекомбинации λRed с последующим вырезанием селективного маркера по att-сайтам фага λ. Однако при многократном применении этого метода в хромосоме остаются множественные «шрамовые» последовательности, которые могут приводить к нестабильности штаммов. Для внесения «бесшовных» генетических модификаций мы предлагаем использовать гомологичную рекомбинацию λRed в комбинации с маркером контрселекции *Escherichia coli* PheS*. PheS* кодирует альфа субъединицу фенилаланин-тРНК лигазы с заменами T251S/A294G, которые приводят к ошибочному включению аналога фенилаланина 4-хлоро-L-фенилаланин (4CP) в состав белков в процессе трансляции, что вызывает гибель клетки. На первом этапе метода, с помощью ИПТГ-индуцируемой λRed рекомбинации в хромосому штамма *P. ananatis* встраивали двухцепочечную ДНК, содержащую целевую модификацию и область гомологии для последующего удаления маркеров, ген устойчивости к антибиотику (Km^R) и маркер PheS*. Клоны отбирали на среде с антибиотиком. Затем, для вырезания маркеров индуцировали λRed рекомбинацию и отбирали клоны, устойчивые к 4CP. Однако отбор целевых модификаций осложнялся появлением ложноположительных клонов (Km^R, $4CP^R$), возникающих из-за рекомбинации между *pheS** и *pheS* клетки-хозяина и потери мутаций чувствительности к 4CP. Для решения этой проблемы оптимизировали время индукции IPTG и применили укороченный PheS* (TrPheS*), в котором удалили N-концевой домен, что позволило в два раза повысить частоту отбора целевых клонов (Km^S). С помощью данного метода получен ряд генетических модификаций, в частности, делеция гена *cysJ* (PAJ_3565), приводящая к ауксотрофности по глутамату и утрате активности фермента глутаматсинтазы.
Предложен метод для множественных «бесшовных» модификаций генома *P. ananatis*, основанный на применении укороченного маркера контрселекции, TrPheS*. Впервые обнаружено, что продукт гена *cysJ* участвует в работе глутаматсинтазы у *P. ananatis*.
E-mail: Maria_Kharchenko@agri.ru

СВЕТ И ПРИСУТСТВИЕ H_2 ВЛИЯЕТ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ HYDSL-ГИДРОГЕНАЗНОГО КОМПЛЕКСА *THIOCAPSA BOGOROVII* BBS

Хасимов М.Х., Майорова Е.В., Руденко. Н.Н., Петушкова Е.П., Цыганков А.А.

Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук – обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино

Физиологическая роль HydSL-гидрогеназы из *T. bogorovii* BBS, восстанавливающей S^0 до H_2S, неясна: участвует ли она в метаболизме серы или обеспечивает клетку энергией в темноте. Для выявления этого был изучен уровень экспрессии генов *hydS-isp1-isp2-hydL*, отвечающих за синтез белков HydSL-гидрогеназного комплекса, в фотоавтотрофных и хемолитоавтотрофных культурах в присутствии H_2 и без него. Ввиду медленного роста культуры (время удвоения от 12 часов), транскрипционный анализ проводили в «острых» опытах до 24 часов инкубации. Контрольными были приняты фотолитоавтотрофные культуры без H_2. Опытные культуры инкубировали в пробирках Хангейта с ½ объема газовой фазы (аргон или 90% аргона и 10% водорода) при 28 °C на свету (40 Вт/м²) и в темноте. Пробы для анализа отбирали через 5, 10 и 24 часа, предварительно инактивируя РНКазы фенольно-спиртовым раствором. В фототрофных условиях добавление H_2 мало влияло на экспрессию генов в течение 5, 10 и 24 часов (отклонения чуть превышали двукратные значения). В темноте без H_2 восстановление серы до H_2S возможно за счёт запасённых органических веществ – источников водорода. В этих условиях увеличение уровня экспрессии генов *hydS-isp1-isp2-hydL* к 10 часам инкубации и ее снижение к 24 часам инкубации, по сравнению с контрольными, связано с исчерпанием эндогенных источников водорода. В темновых условиях инкубации в присутствии H_2 через 10 часов экспрессия всех исследуемых генов увеличивалась более чем в 20 раз, а к 24 часам - в 30-50 раз по сравнению с контролем. Кроме того, рост экспрессии коррелировал с повышенной активностью HydSL-гидрогеназного комплекса в реакции восстановления S^0 до H_2S. Через 24 часа инкубации в темновых условиях в присутствии и отсутствии H_2 в газовой фазе активность увеличивалась в 5 и в 3 раза, соответственно, по сравнению с контролем. Требуются исследования гетеротрофных культур.

Работа выполнена в рамках ГЗ №125051305944-7 и РНФ №19-14-00255П, https://rscf.ru/project/19-14-00255/

E-mail: hasimov94@mail.ru

СПЕЦИФИЧНОСТЬ УДАЛЕНИЯ Mn^{2+}, Fe^{3+} И P ИЗ РАСТВОРА БАКТЕРИЯМИ *SPHAEROTILUS MONTANUS* И *RHODOCOCCUS ELECTRODIPHILUS*

Хохлова[1] Г.В., Звонарев[1] А.Н., Теплоногова[2] М.А., Тихонов[3] К.Г., Остроумов[4] В.Е., Вайнштейн[1] М.Б., Кулаковская[1] Т.В.

[1]ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН» (Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН), Пущино
[2]ФГБУН Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН, Москва
[3]ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН» (Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино
[4]ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН» (Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН), Пущино

В работе изучалась способность *S. montanus* и *R. electrodiphilus,* как малоизученных видов в области сорбции ионов металлов, к поглощению Fe и Mn, и взаимосвязь этого с минеральными фосфорными соединениями. *S. montanus* HS^T (VKM B-2519^T) и *R. electrodiphilus,* выделенный из корродированного металла, культивировали в среде с различным содержанием Mg^{2+}, Mn^{2+}, Fe^{3+}. Анализ содержания металлов в культуральной жидкости и в биомассе проводили на пламенном атомно-абсорбционном спектрометре. Из образцов биомассы экстрагировали фосфорные соединения растворами $HClO_4$. Фосфат (Pi) определяли с малахитовым зеленым, в образцах полисахаридов и культуральной жидкости - методом с аскорбиновой кислотой. После окрашивания препаратов ДАПИ во всех случаях выявляли в клетках типичные гранулы полиР, а в случае среды с Mn^{2+} также наблюдали окрашивание внеклеточного материала. Увеличения содержания полиР при этом не было. ДАПИ не окрашивает ортофосфат, поэтому, возможно, внеклеточный материал представлял собой полисахарид. Белый осадок, образующийся в ходе культивирования *S. montanus,* анализировали с помощью энерго-дисперсионного анализа. Основными элементами осадка были Mn, O, P. Согласно количественному соотношению этих элементов в осадке предположено, что культура концентрировала их в виде фосфата марганца или гидратов. В ходе культивирования *R. electrodiphilus* не наблюдали образования неорганического осадка, но Fe^{3+} накапливался в биомассе. Показано, что бактерии *S. montanus* способны образовывать осадок фосфата марганца при культивировании в присутствии сульфата марганца. При культивировании в присутствии марганца бактерии также образовали внеклеточный органический продукт, по всей вероятности, нефосфорилированный полисахарид. Ионы магния не проявляли существенной конкуренции с марганцем даже при двухкратном превышении их концентрации. Соответственно, *S. montanus* перспективен для удаления фосфата и марганца из среды, а *R. electrodiphilus* – для удаления фосфата и Fe.

E-mail: galka889@gmail.com.

МЕХАНИЗМ БИОДЕСТРУКЦИИ ЭНДОКРИННЫХ РАЗРУШИТЕЛЕЙ ГРИБОМ БЕЛОЙ ГНИЛИ *TRAMETES HIRSUTA* LE-BIN 072

Шабаев А. В., Федорова Т. В.

ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва

В настоящее время крайне остро стоит проблема утилизации различных токсичных соединений. Одними из таких опасных соединений являются эфиры фталевой кислоты (ЭФК) – опасные ксенобиотики, оказывающие негативный эффект на здоровье людей и

выступающие в роли эндокринных разрушителей. Традиционно применяемые для очистки от ксенобиотиков физические и химические методы, несмотря на свою эффективность, имеют и недостатки, связанные с высокими затратами, образованием опасных побочных продуктов, и накоплением больших объемов отходов. По этой причине растет интерес к технологиям биоремедиации для рекультивации загрязнений, в том числе биоремедиации с использованием грибов, т.н. микоремедиация. Показано, что гриб *T. hirsuta* способен эффективно разрушать ЭФК при их добавлении в питательные среды. Экзопротеомный анализ показал, что при добавлении ЭФК в среду увеличивается содержание белков лигноцеллюлозного комплекса гриба (пероксидаз и лакказ), при этом в зависимости от соединения ЭФК изменяется их состав и соотношение. Также в настоящее время предполагается, что помимо белков экзопротеома в процессе деструкции ксенобиотиков участвуют и внутриклеточные белки. Наблюдаемые изменения в составе эндопротеомов *T. hirsuta*, а именно увеличение экспрессии декарбоксилаз, дегидрогеназ, оксидаз и оксигеназ на средах с фталатами показывает, что для внутриклеточной детоксификации ЭФК гриб использует данные ферменты. Наблюдаемое также увеличение экспрессии белков ответа на стресс (шаперонов, каталаз и глутатион-S-трансфераз), по всей видимости, связано с необходимостью борьбы с окислительным стрессом.

E-mail: a.shabaeff2011@yandex.ru

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЛИТИЯ НА ГАЛОФИЛЬНЫЕ АРХЕИ *HALOARCULA HISPANICA* B-1755 И *HALOFERAX GIBBONSII B-1756*

Шайкин А.А., Абашина Т.Н., Вайнштейн М.Б.

ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН» (Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН), Пущино

Литий является химическим элементом, приобретающим широкое использование и значение в современных технологиях. Вместе с этим его возможное влияние на живые организмы до сих пор мало исследовано. Целью нашей работы было изучение влияния ионов лития на галофильные культуры прокариот, которые способны жить в среде с высоким содержанием одновалентных катионов Na^+. Исследование перспективно для извлечения лития из использованных литийсодержащих гальванических элементов питания для дальнейшего повторения производства. Использованные в работе штаммы галофильных архей: *Haloarcula hispanica* ВКМ B-1755 и *Haloferax gibbonsii* ВКМ B-1756. Культуры выращивали в среде DSMZ 372 в трех вариантах: с добавлением NaCl или NaCl+LiCl, или LiCl с концентрацией этих солей 200 г/л. Оценку роста проводили в течении недели по изменению оптической плотности, измеряемой спектрофотометрическим методом при длине волны 600 нм. Морфологию клеток оценивали при световой микроскопии с использованием фазового контраста. Экспериментальная проверка показала, что штаммы *Har. hispanica* ВКМ B-1755 и *Hfx. gibbonsii* ВКМ B-1756 растут в жидкой среде с 200 г LiCl/л с увеличением биомассы и аккумуляции лития в биомассе. Таким образом *Haloarcula hispanica* ВКМ B-1755 и *Haloferax gibbonsii* ВКМ B-1756 могут быть использованы в переработке литийсодержащих элементов питания с извлечением лития для его повторного производственного использования.

E-mail: shaikin.artem@pbcras.ru

ИССЛЕДОВАНИЕ ТРАНСКРИПЦИОННОЙ РЕГУЛЯЦИИ ПЕКТИНОЛИЗА У *PECTOBACTERIUM VERSATILE* В ПОСТГЕНОМНУЮ ЭРУ

Шарангович М.А., Гаргун И.В., Николайчик Е.А.

Белорусский государственный университет, Минск, Белорусь

Интенсивные исследования регуляции генов, ответственных за деградацию пектина и утилизацию продуктов деградации пектолитическими энтеробактериями выполнялись в основном в догеномную эру, а основные результаты получены для бактерий *Dickeya dadantii*. Мы воспользовались возможностями полногеномного анализа с помощью разработанного ранее ПО SigmoID и BacRegDB для подтверждения вклада известных и идентификации новых регуляторов пектинолиза у *P. versatile*. В докладе представлены результаты анализа связывания с ДНК трёх белков-регуляторов транскрипции *P. versatile* 3-2 (*Pve*3-2): SlyA, Cbl, GalR. Их потенциальные регулоны представляют интерес, поскольку включают структурные гены, кодирующие пектиназы и их регуляторы. Для SlyA и Cbl вовлечённость в контроль пектинолиза показана экспериментально, а потенциальные операторные участки для GalR, среди прочего, обнаруживаются перед генами *pelA* (пектатлиаза), и, что представляет наибольший интерес, *rsmB* (глобальный посттранскрипционный регулятор). Открытые рамки считывания *cbl*/*slyA*/*galR Pve*3-2 были клонированы в экспрессионном векторе pET24b. Экспрессию осуществляли в клетках *Escherichia coli* BL21(DE3). Клетки разрушали ультразвуком, и очищали белки с помощью металл-хелатной аффинной хроматографии. Для анализа сдвига электрофоретической подвижости (EMSA) фрагменты ДНК, содержащие потенциальные сайты связывания, инкубировали с возрастающими концентрациями белка, разделяли в полиакриламидном геле, и визуализировали с помощью бромистого этидия. В ходе опытов 1) установлено, что GalR способен связываться с фрагментом ДНК, содержащим предсказанный оператор перед *citMJ;* 2) Cbl специфически связывается перед собственным геном; 3) Локализованы участки связывания SlyA в регуляторных областях генов *pelB* и *pelC*. Таким образом, в ходе работы получены препараты функциональных белков-регуляторов. Их взаимодействие с наиболее интересными мишенями в геноме *Pve*3-2 будет изучено в дальнейшем.

E-mail: msharangovichus@gmail.com

МИКРОБНАЯ ЭНЗИМОЛОГИЯ *IN SILICO* В ИЗУЧЕНИИ ОКСИДОРЕДУКТАЗНЫХ СИСТЕМ АЗОСПИРИЛЛ

Щеголев С.Ю., Муратова А.Ю., Турковская О.В., Матора Л.Ю.

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов ФИЦ «Саратовский научный центр Российской академии наук», Саратов

Азоспириллы, детально изученные и востребованные PGP-бактерии, реагируют на множество факторов, включая токсичные соединения, но сохраняют при этом полезные свойства. Их способность функционировать в неблагоприятных условиях окружающей среды является мощным драйвером для изучения ферментных систем этих микроорганизмов. Для идентификации ферментов использован поиск BLASTP против геномов азоспирилл с последовательностями запроса из хорошо охарактеризованных ферментных систем бактерий. Адекватность целевых последовательностей оценивалась на 3D-структурно-функциональном уровне по 3D-моделям белков с ионами и коферментами, полученным с использованием метода AlphaFold 3 (AF3). С помощью программы GeneGraphics определено геномное

окружение белков. Для выявления лигандов (субстратов) применяли программу AlphaFill, существенно расширяющую круг предсказываемых комплексов белок-лиганд по сравнению с ограниченным списком лигандов, предоставляемым программой AF3, и молекулярный докинг с использованием программы AutoDock Vina. У многих представителей видов рода *Azospirillum* обнаружены гены и генные кластеры с белками оксидоредуктазных систем четырех типов: монооксигеназной системы цитохрома P450 с большим разнообразием субстратной специфичности; катехольной диоксигеназы экстрадиолового типа класса III, катализирующей раскрытие кольца протокатехоата и подобных соединений; двух разновидностей гидроксилирующей ароматику диоксигеназной системы Риске, различающихся участием (класс IIB), или неучастием (класс IB) ферредоксина в цепи переноса электрона. Три из указанных типов оксидоредуктаз с широким спектром субстратной специфичности выявлены в геноме штамма *A. brasilense* SR80, ранее проявившем способность к деградации ксенобиотиков.

Email: shegolev_s@ibppm.ru.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ КЛАСТЕРОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С БИОСИНТЕЗОМ БИОСУРФАКТАНТОВ В *SERRATIA MARCESCENS* SM6

Ширшикова[1] Т.В., *Хиляс[1] И.В.*, *Шарипова[1] М.Р.*, *Богомольная[2] Л.М.*

[1]ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Казань
[2]Университет Маршалла, Хантингтон, Западная Вирджиния, США

В условиях роста устойчивости к антибиотикам, актуальной задачей является поиск новых биологически активных соединений, обладающих заданными свойствами. Особый интерес представляют вторичные метаболиты, синтезируемые бактериями, в частности, продукты нерибосомального синтеза. Представители рода *Serratia* способны синтезировать разнообразные биологически активные соединения, в том числе липопептидные биосурфактанты с антимикробной активностью, однако пути биосинтеза этих соединений остаются недостаточно изученными для некоторых видов. В работе проведен биоинформатический анализ генома *S. marcescens* SM6 с целью идентификации генетических кластеров, ответственных за синтез биосурфактантов. Анализ генома *S. marcescens* SM6 с использованием платформы antiSMASH 7.0 выявил единственный биосинтетический генный кластер, кодирующий синтез биосурфактанта. Кластер содержит биосинтетический ген, представленный модульной нерибосомальной пептидсинтазой (НРПС). Последовательность гена показала 100% идентичность с *swr*W (putative serrawettin W1 synthetase, *S. marcescens*) [Clements *et al.*, 2019]. Структурный анализ НРПС выявил канонические домены: конденсационный (C), аденилирующий (A), пептидный белок-переносчик (CP) и тиоэстеразный (TE). *In silico* предсказание специфичности A-домена (PARAS v1.0.0) подтвердило аффинность к серину (score 1.000), что соответствует субстрату серраветтина W1. Результаты биоинформатического анализа подтвердили наличие полнофункционального НРПС-кластера, кодирующего синтез, транспорт и регуляцию липопептидного биосурфактанта серраветтина W1. Доменная архитектура и специфичность A-домена к серину соответствуют каноническому пути биосинтеза данного соединения. Данные открывают перспективы для выделения новых липопептидов с антимикробной активностью и направленной модификации кластера.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 25-74-00130, https://rscf.ru/project/25-74-00130/.

E-mail: tatyana-shirshikova@yandex.ru

РАЗНООБРАЗИЕ ФОСФОНОАЦЕТАЛЬДЕГИДГИДРОЛАЗ У ПОЧВЕННЫХ БАКТЕРИЙ-ДЕСТРУКТОРОВ ОРГАНОФОСФОНАТОВ РОДА *ACHROMOBACTER*

Эпиктетов Д.О., Свиридов А.В., Леонтьевский А.А.

ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук» (Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН), Пущино

Род *Achromobacter* относится к условно-патогенным грам- бетапротеобактериям, вызывающим внутрибольничные инфекции. Однако многие штаммы ахромобактеров непатогенны, обнаруживаются также в водоемах и почвах, и представляют собой деструкторы различных органофосфонатов (ОФ). ОФ – это класс фосфорорганических соединений, содержащих сложногидролизуемую связь фосфор-углерод. ОФ подразделяются на биогенные (2-АЭФ) и синтетические (глифосат (ГФ). Применение синтетических ОФ связано с серьезными экологическими рисками (накапливаются в биосфере, угнетают рост растений, вызывают различные заболевания животных и человека). Современным способом борьбы с ними служат применение технологий биоремедиации на основе эффективных бактерий-деструкторов, обладающих специализированными ферментными системами (C-P лиаза, фосфонатаза). Из образцов почв загрязненных ГФ нами были выделены ахромобактеры – штаммы *A. insolitus* Kg 19, *A. aegrifaciens* Km 11, Km 11A, Km 11B. Таксономическое положение определяли с помощью метода мультилокусного (MLST) и полногеномного секвенирования, с помощью которого также были обнаружены фосфонатазные генные кластеры. Структура данных кластеров у исследуемых бактерий отличалась от известной: ген 2-АЭФ-трансаминазы *phnW* отсутствовал. Вместо него были обнаружены гены двух оксидоредуктаз HpnW и PhnHD, ген фосфонатазы *phnX*, транспортных белков *phnSTU*, ген регулятора транскрипции LysR. Мы предположили, что необычная структура генных кластеров может свидетельствовать и о необычных характеристиках фосфонатаз ахромобактеров, поэтому было проведено выделение, очистка и характеристика данных ферментов. Впервые показано наличие двух форм фосфонатазы *A. insolitus* Kg 19, *A. aegrifaciens* Km 11A и Km 11B. Фосфонатазы *A. aegrifaciens* Km 11, Km 11A, Km 11B не подчинялись кинетики Михаэлиса-Ментен и были подвержены аллостерической регуляции, чем отличались от ранее описанных аналогов из *Pseudomonas aeruginosa, Bacillus cereus, Salmonella typhimurium.*

Работа выполнена при поддержке Государственного задания по теме FMRM-2022-0025 (Регистрационный номер 122040100067-7)

E-mail: epiktetoff@gmail.com

РЕКОНСТРУКЦИЯ ПОТОКОВОЙ МОДЕЛИ ГЕТЕРОТРОФНОЙ БАКТЕРИИ *CUPRIAVIDUS GILARDII*

Эсембаева М.А., Мелихова Е.В., Качнов В.А., Куляшов М.А.

Научно-технологический университет Сириус, Сочи

Cupriavidus gilardii представляет интерес как участник микробных сообществ, способный утилизировать побочные продукты метаболизма других микроорганизмов, таких как метанотрофы, а также использовать CO_2 в качестве единственного источника углерода. Это делает его перспективной платформой для использования в смешанных культурах как в биотехнологии, так и в биоремедиации. Однако, для изучения метаболических взаимодействий и оценки биосинтетического потенциала *C. gilardii* необходима

реконструкция потоковой модели. Реконструкция модели была проведена с помощью разработанного в платформе BioUML конвейера, с использованием инструмента Reconstructor на основе референсного генома ASM1334732v1 из базы данных NCBI. Оценка качества проведена с использованием MEMOTE. Курирование и валидация модели проводились при помощи инструментов Cobrapy и MACAW. Уравнение биомассы было уточнено на основе модели *i*CN1361 для *C. necator* H16. Нами была проведена реконструкция и оценка качества потоковой модели для *C. gilardii*. На первом этапе из исходной версии были удалены дубликаты метаболитов и реакций. Затем, уравнение биомассы было скорректировано в соответствии с экспериментально верифицированным уравнением модели *i*CN1361 для близкородственного организма *C. necator* H16. Для повышения качества модели были скорректированы реакции центрального метаболизма и синтеза аминокислот, основываясь на базе данных KEGG. Важной особенностью *C. gilardii* является возможность роста на ацетате и CO_2, вследствие чего были добавлены соответствующие реакции, обеспечивающие рост на этих субстратах и проведена оптимизация модели. Нами была реконструирована потоковая модель *C. gilardii* и проведено ее ручное курирование. Модель показала способность роста на ацетате и CO_2 в качестве источников углерода. Модель может быть использована как для изучения особенностей метаболизма *C. gilardii* и для реконструкции микробных сообществ для задач биотехнологии и биоремедиации.
Исследование поддержано грантом Грант РНФ-25-24-20098 «Изучение механизмов биоремедиации в различных микробиологических сообществах с помощью подходов потокового моделирования»

E-mail: maryashaesembaeva@gmail.com

РЕКОНСТРУКЦИЯ ПОТОКОВОЙ МОДЕЛИ ЛАКТОБАКТЕРИИ *LENTILACTOBACILLUS KEFIRI* DH5

Эсембаева М.А., Куляшов М.А., Соколова Т.С., Сазонов А.Э., Акбердин И.Р.

Научно-технологический университет Сириус, Сочи

Lentilactobacillus kefiri DH5 (далее DH5) – штамм гетероферментативных лактобактерий, входящих в состав ферментированного молока и обладающих пробиотическими свойствами. Их объяснение требует понимания метаболизма, в этом контексте потоковые математические модели являются мощным инструментом для изучения его особенностей. В данной работе нами представлена первая потоковая модель для DH5 и выявлены особенности анаэробного метаболизма. Реконструкции модели проведена в платформе Kbase на основе сборки генома ASM973953v1. Для оценки качества и курирования модели использовались библиотеки MEMOTE и Cobrapy соответственно. Состав биомассы уточнен на основе модели *i*LM.c559 для *L. mesenteroides*. Проведена реконструкция и оценка качества потоковой модели для DH5. Исходная модель не демонстрировала продукцию лактата и этанола, что требовало ручного курирования. Были скорректированы баланс масс и зарядов в модели и направления реакций центрального метаболизма. Затем на основе *i*LM.c559 в модель DH5 добавлены реакции синтеза ДНК, РНК и белка с экспериментально измеренными коэффициентами и удалены не связанные с биомассой метаболиты. Также в модели был установлен состав среды культивирования CDM. Согласно базе данных KEGG, в модель добавлены реакции и устранены термодинамические циклы. После модификаций модель DH5 одновременно продуцировала лактат, этанол и ацетат, согласно литературным экспериментальным данным, при скорости роста 0.14 $ч^{-1}$. Итоговая модель DH5 позволила воспроизвести продукцию лактата, этанола и ацетата. Полученные результаты создают основу для изучения метаболизма DH5 и исследования пробиотических свойств.

Исследование поддержано грантом ФТ«Сириус» соглашение №18-03 от 10.09.2024

E-mail: maryashaesembaeva@gmail.com

СРАВНИТЕЛЬНО-ГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПЛАЗМИД НЕСУЩИХ КЛАСТЕРЫ ГЕНОВ *TFD*

Ясаков Т.Р.

Уфимский Институт биологии УФИЦ РАН (УИБ УФИЦ РАН), Уфа

Микробную деградацию 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д), представляющей опасность для окружающей среды и человека, контролируют различные типы кластеров генов *tfd*. Большинство из них располагаются на плазмидах, при этом, относящихся к типу IncP-1. На данный момент в научной литературе существует пробел в знаниях о сравнительной геномике этих плазмид. Все работы проводились *in silico*. Нуклеотидные последовательности плазмид были получены из базы данных NCBI. Плазмиды были идентифицированы с помощью базы данных Plasmid PubMLST. Для аннотации последовательностей использовался онлайн ресурс NCBI ORF finder и база данных UniProtKB/Swiss-Prot. Для сравнительно-геномного анализа использовался Easyfig v. 2.2.5. Филогенетический анализ был проведен с помощью программы MEGA7 v. 7.0.26. Было обнаружено тринадцать полностью секвенированных плазмид, содержащих кластеры типа tfd_{I}, tfd_{II} и tfd_{III}. Из них десять были идентифицированы как представители типа IncP-1 подгрупп ε, β-1, β-2 и δ. При этом кластеры типа tfd_{III} обнаружены у представителей ε, β-2 и δ, тогда как tfd_{I} и tfd_{II} только у β-1. Выявлены значительные структурные отличия в модульной организации плазмид каждой из подгрупп за исключением модулей репликации и конъюгации (гены *trb*). Таким образом, выявлены закономерности распространения разных типов кластеров *tfd* разными подтипами плазмид IncP-1. Сделан вывод о том, что эволюция *tfd* предшествовала разделению плазмид IncP-1 на разные подгруппы.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-24-00480, https://rscf.ru/project/23-24-00480/.

E-mail: iasakovtimur@gmail.com

МИКРОБНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

ПЛЕНАРНЫЕ ДОКЛАДЫ

СТРАТЕГИИ СОЗДАНИЯ ВАКЦИН ПРОТИВ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ И ПТИЦ: ПРОШЛОЕ, НАСТОЯЩЕЕ, БУДУЩЕЕ

Грановский[1,2] И.Э., Измалкова[1,2] Т.Ю.,

[1]Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина, ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН», Пущино
[2]Институт биохимии им. А.Н. Баха, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

Бактериальные инфекции наносят существенный урон животноводству и птицеводству. Наиболее важной стратегией борьбы с инфекционными заболеваниями является вакцинация – главная альтернатива применению антимикробных препаратов. Со времён создания Луи Пастером первых ветеринарных вакцин против пастереллеза птиц, сибирской язвы и рожи свиней в области вакцинологии был достигнут большой прогресс. В докладе будут рассмотрены поколения ветеринарных вакцин против бактериальных патогенов, начиная с природных аттенуированных и инактивированных цельноклеточных вакцин первого поколения и заканчивая последними разработками с использованием достижений обратной вакцинологии, биоинформатики и сравнительной протеомики, а также перспективы и проблемы современной вакцинологии. В докладе будет представлена разработанная нами первая российская эффективная живая комбинированная вакцина третьего поколения от сальмонеллеза и колибактериоза. В качестве вектора использован аттенуированный штамм *Salmonella enterica subsp. enterica serovar Enteritidis R-6*, который экспрессирует поверхностные антигены патогенной кишечной палочки *E. coli* 388. В настоящее время вакцина на основе штамма *S. eneritidis R-6 ecp-chromo*, получила коммерческое название «Авигард SE ПРО» и находится на стадии государственной регистрации. Результаты нашей работы открывают перспективы получения вакцин нового поколения. Грановский Игорь Эдуардович, ведущий научный сотрудник лаборатории энзимологии генетических процессов ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН», (Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН), Пущино, Россия; старший научный сотрудник лаборатории молекулярной биотехнологии института биохимии им. А.Н. Баха, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, Россия.

E-mail: granovsky@pbcras.ru

МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ ИНЖЕНЕРИЯ ВИННЫХ ДРОЖЖЕЙ

Марданов[1] А.В., Васягин[1] Е.А., Ураков[1] Н.В., Шаламитский[2] М.Ю., Червяк[2] С.Н., Иванова[2] Е.В., Загоруйко[2] В.И., Белецкий[1] А.В., Ракитин[1] А.Л., Марданова[1] Е.С., Кушниров[1] В.В., Равин[1] Н.В.

[1]Институт биоинженерии, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва
[2]Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия «Магарач» РАН, Ялта

Современное промышленное виноделие основано на использовании заквасок специализированных винных штаммов дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Коммерческие

винные штаммы имеют ряд преимуществ перед природными изолятами, их использование гарантирует стабильность и воспроизводимость технологий промышленного виноделия. Однако, в условиях высококонкурентного рынка вина, который предъявляет все более новые требования к качеству, а также расширению ассортимента получаемой продукции, более важной становится разработка новых винных штаммов и технологий виноделия. Классические методы улучшения штаммов основаны на многократном чередовании последовательных этапов мутагенеза и селекции. Новейшие технологии CRISPR/Cas9 геномного редактирования открывают уникальные возможности для создания улучшенных дрожжевых штаммов для различных биотехнологических процессов. Новые возможности для точной инженерии винных штаммов, основанной на детальном знании молекулярной природы конкретного признака или фенотипа, недавно появились благодаря быстрому прогрессу в геномных и «постгеномных» исследованиях и со штаммами винных дрожжей.

В докладе будут рассмотрены примеры работ в области направленной метаболической инженерии винных дрожжей, в том числе выполненные нашим коллективом. В качестве объекта исследования в нашей работе был использован винный штамм дрожжей *S. cerevisiae* I-328 из коллекции ВННИИ виноградарства и виноделия «Магарач» РАН, который используется в промышленном виноделии. В ходе наших работ были получены новые штаммы дрожжей с улучшенными характеристиками. В частности, использование новых штаммов приводит к снижению образования этилкарбомата в вине, снижает кислотность и улучшает его букет, позволяет получить осветленные виноматериалы с высоким содержанием пектина и другие штаммы. Созданные новые штаммы дрожжей были проверены в условиях микровиноделия, а также охарактеризованы на геномном и транскриптомном уровне. Полученные штаммы являются перспективными для совершенствования отечественных технологий виноделия.

Работа поддержана Минобрнауки России (тема 125052006274-4).

E-mail: mardanov@biengi.ac.ru

ИННОВАЦИОННЫЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ И УДОБРЕНИЯ ДЛЯ АДАПТИВНОГО ЗЕМЛЕДЕЛИЯ

Цыганов В.Е., Чеботарь В.К., Лактионов Ю.В., Сафронова В.И.

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Микробиологизация сельского хозяйства направлена на использование потенциала микрофлоры в повышении эффективности производства сельскохозяйственной продукции путем снижения экологического риска, энергоемкости, улучшения ее качества, оптимизации дозы применяемых минеральных удобрений и химических пестицидов. Инокулянты, созданные на основе клубеньковых бактерий, представляют собой один из ключевых типов биопрепаратов для бобовых растений. Во ВНИИСХМ селектированы штаммы ризобий, выживаемость которых многократно превышает выживаемость стандартных производственных штаммов. Это обеспечивает устойчивость ризобий к неблагоприятным факторам окружающей среды. Кроме того, были отобраны штаммы, выделенные из клубеньков реликтовых бобовых растений, которые могут быть использованы как доноры «новых» генов симбиотической эффективности. Использование таких штаммов в комбинации с уже известными хозяйственно-ценными штаммами позволяет значительно повысить эффективность симбиоза основных бобовых культур. В последние годы во ВНИИСХМ активно развивается пионерное направление по созданию микробных препаратов на основе эндофитных бактерий. В результате впервые в России разработано

микробиологическое удобрение Эндохит, которое увеличивает урожай растений на 25-40%, повышает устойчивость к стрессам (засухе, заморозкам, пересадкам). Более того, оно повышает иммунитет, подавляет вредоносные грибные и бактериальные заболевания и в 2-3 раза снижает норму применения химических средств защиты растений, улучшает азотное и фосфорное питание. Новейшим направлением в исследованиях в области сельскохозяйственной микробиологии является создание биомодифицированных минеральных удобрений, которые представляют собой гранулы минеральных удобрений с нанесенными на них полезными микроорганизмами, что демонстрируют возможность совместного использования минеральных удобрений и биологических средств.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках соглашения № 075-15-2025-472 от «29» мая 2025 г. о предоставлении гранта в форме субсидии из федерального бюджета на реализацию проекта: «Расширение фонда и развитие геномных исследований в коллекции микроорганизмов Сетевая биоресурсная коллекция в области генетических технологий для сельского хозяйства (ВКСМ)».

E-mail: vetsyganov@arriam.ru

МИКРОБНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

СЕКЦИОННЫЕ ДОКЛАДЫ

БАКТЕРИАЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИОННАЯ СИСТЕМА НА ОСНОВЕ LuxR/LuxI СИСТЕМЫ ЧУВСТВА КВОРУМА ПСИХРОФИЛЬНЫХ МОРСКИХ БАКТЕРИЙ

Баженов[1] С.В., Щеглова[1] Е.С., Уткина[1] А.А., Кудрявцева[1] А.А., Степанов[2,3] Н.Г., Ульянова[3] Ю.А., Манухов[1] И.В.

[1]Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный
[2]ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва
[3]Институт биологии гена РАН, Москва

Регуляторные системы чувства кворума позволяют бактериям путем обмена специфическими низкомолекулярными соединениями координировать экспрессию генов внутри популяции. Системы чувства кворума I типа включают два основных компонента: белок LuxI, продуцирующий аутоиндуктор (АИ) – ацильные производные гомосерина лактона, и белок LuxR, являющийся АИ-зависимым активатором транскрипции. Известны экспрессионные системы на основе клеток *Escherichia coli*, созданные с использованием генов *luxR-luxI Aliivibrio fischeri*, в которых индукция экспрессии целевого гена наступает при добавлении АИ или при его накоплении в среде за счет синтеза клетками. Нами был разработан экспрессионный вектор pIR-DPAl для клеток *E. coli* с использованием генов *luxR2-luxI* психрофильных бактерий *Aliivibrio logei*. Отличительной особенностью его работы является возможность включения и выключения синтеза АИ сменой температуры инкубации (активация возможна при температуре до 24 °C), что позволяет проводить кратковременную индукцию для получения фиксированного количества целевого белка и выбирать момент индукции. Вектор pIR-DPAl продемонстрировал эффективность не ниже векторов серии pET, а в некоторых случаях даже превосходил их. Так переход на использование pIR-DPAl привел к 100-кратному увеличению выхода фрагмента белка Kay *Drosophila melanogaster* длиной 88 аминокислот и позволило выделить белок ArdB в стабильном растворимом состоянии.

Сейчас ведутся разработки экспрессионной системы с применением lux-генов из психрофильных бактерий *A. logei* в клетках *Bacillus subtilis*. Ожидается, что применение такой экспрессионной системы в *B. subtilis* позволит проводить высокоплотностное культивирование с включением синтеза целевых продуктов в произвольный момент времени умеренным понижением температуры.
Работа выполнена при поддержке РНФ, проект 22-14-00124-П, https://rscf.ru/project/22-14-00124/.

E-mail: bazhenov1994@gmail.ru

КОРМОВЫЕ ДОБАВКИ ДЛЯ ПТИЦ НА ОСНОВЕ НОВЫХ ШТАММОВ ЛАКТОБАКТЕРИЙ

Гаврилова[1] Е.А., Ежкова[2] А.М., Ежков[2] В.О., Никитина [1,3] Е.В., Яруллина[1] Д.Р., Каюмов[1] А.Р.

[1]Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань
[2]Казанский государственный аграрный университет, Казань
[3]Казанский национальный исследовательский технологический университет, Казань

В рамках перехода к органическому сельскому хозяйству и функциональному питанию во всем мире интенсивно разрабатываются новые кормовые добавки на основе пробиотических микроорганизмов в качестве инструмента поддержания микробиоты и альтернативы антибиотикам. В работе использовались *Lactiplantibacillus plantarum* S10 (ВКПМ B-14328) и его консорциум с *Acetobacter pasteurianus* и перепела породы Техасский белый (работа одобрена ЛЭК КФУ – протокол №40 от 09.03.23). Проводился анализ микробиоты кишечника птиц, оценка морфофизиологических показателей птиц и потребительских показателей мяса и яйца. Исследуемые штаммы демонстрировали выраженные пробиотические свойства. Эксперименты на перепелах в качестве кормовой добавки показали снижение конверсии корма, в кишечнике соотношение снижалось *Firmicutes*/*Bacteroidetes* до 0,79 и повышалось филогенетическое разнообразие микробиоты в группе, получавшей чистый штамм; при добавлении чистого штамма и консорциума наблюдалось снижение количества клостридий на 50%. У перепелов опытных групп повышался среднесуточный прирост, увеличивалось количество и масса яиц. Применение кормовых добавок на основе пробиотических препаратов способствует стимуляции роста птиц, повышению усвояемости кормов, микробиологической безопасности готового продукта и повышению качество получаемой продукции.
Работа выполнена в рамках госсазадания FZSM-2025-0003.

E-mail: Alalila@yandex.ru

ФОРМИРОВАНИЕ СТАБИЛЬНОГО ДЕНИТРИФИЦИРУЮЩЕГО ФОСФАТ-АККУМУЛИРУЮЩЕГО МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА В АНАЭРОБНО-АНОКСИДНЫХ УСЛОВИЯХ

Груздев Е.В., Дорофеев А.Г., Пелевина А.В., Берестовская Ю.Ю., Литти Ю.В., Пименов Н.В., Марданов А.В.

ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

Для очистки сточных вод от азота и фосфора перспективным и экономически выгодным подходом является использование микробных консорциумов, содержащих денитрифицирующих фосфат-аккумулирующих организмов (ДФАО). В работе было получено стабильное денитрифицирующее микробное сообщество, эффективно удалявшее фосфаты и нитраты из среды. В качестве инокулята использовали активный ил с Московских очистных сооружений. Культивирование проводили в биореакторе последовательно-периодического действия с чередованием анаэробных/аноксидных условий, без подачи кислорода, что способствовало накоплению культур, способных использовать нитраты в качестве конечного акцептора электронов. Через 2 месяца после инокуляции были отмечены характерные циклические изменения концентрации фосфатов и потребления нитратов. С помощью профилирования по гену 16S рРНК была проанализирована динамика изменения состава микробного консорциума в ходе работы биореактора. В процессе культивирования наблюдалось обогащение сообщества микробными группами ДФАО и гликоген-аккумулирующих организмов (ГАО), конкурирующих за субстрат. На раннем этапе культивирования преобладали представители Ca. *Competibacter* (ГАО) - 14% в то время как представители *Dechloromonas* (ДФАО) составляли 4%. В течение длительного культивирования наблюдалась сукцессия микробного сообщества и существенное увеличение доли *Dechloromonas* – до 35%, при этом доля Ca. *Competibacter* увеличилась вдвое (до 23%). В ходе работы биореактора доля других потенциальных ФАО и ДФАО снижалась, что свидетельствует о лучшей адаптации *Dechloromonas* к чередованию анаэробных и аноксидных условий. В результате метагеномного анализа микробного консорциума был собран геном нового представителя рода *Dechloromonas*.
Работа выполнена при поддержке РНФ (проект №21-64-00019-П).

E-mail: gruevg@ya.ru

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ ЦЕЛЕВЫХ ПРОДУКТОВ: БЕЛКА ОДНОКЛЕТОЧНЫХ И БИОРАЗРУШАЕМЫХ ПОЛИМЕРОВ (ПОЛИГИДРОКСИАЛКАНОАТОВ)

Жила[1,2] Н.О., Сапожникова[1,2] К.Ю., Киселев[1,2] Е.Г., Волова[1,2] Т.Г.

[1]Институт биофизики Сибирского отделения Российской академии наук – обособленное подразделение ФИЦ «Красноярский научный центр СО РАН», Красноярск
[2] ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет», Красноярск

Существующие и растущие потребности в качественном белке животного происхождения не могут быть удовлетворены реализуемыми в настоящее время способами их производства. Все большее значение приобретают альтернативные способы его получения, среди которых особый интерес представляет микробиологический синтез белковых веществ (белок одноклеточных организмов). Еще одним целевым продуктом биотехнологии, рассматривающимся в качестве замены широко используемых синтетических пластиков,

являются биоразрушаемые полимеры, среди которых особое место принадлежит полимерам микробиологического происхождения – полигидроксиалканоатам (ПГА). Важнейшим вопросом для исследований при разработке технологий получения белка одноклеточных и ПГА является поиск доступных и дешевых углеродных субстратов. Одним из таких субстратов является новый и малоизученный источник углеродного сырья – жиросодержащие отходы рыбопереработки. Исследования процессов биосинтеза ПГА и белка одноклеточных природным штаммом *C. necator* B-10646 на жировых субстратах проведено с использованием ферментационного комплекса Bio-Flo 115. Реализация процесса в ферментере обеспечила устойчивый массовый процесс биосинтеза с высокими показателями. (общий урожай биомассы клеток и выход ПГА составили, соответственно, 87,4-109,7 г/л и 75,6-81,0% при высоких показателях продуктивности по общей биомассе клеток (2,65-3,47 г/л·ч) и полимеру (2,16-2,94 г/л·ч). Исследования синтеза белка *C. necator* B-10646 проводили в проточной культуре при скорости протока среды 0,15-0,25 $ч^{-1}$. Наиболее высокие значения «сырого» протеина (до 70%) характерны для клеток при скорости протока 0,25 $ч^{-1}$. Все образцы белка обладали полноценным аминокислотным составом, представленным полным набором аминокислот. Таким образом, жировые субстраты из отходов рыбопереработки могут рассматриваться в качестве перспективных источников углерода для получения ПГА и белка одноклеточных.
Исследование выполнено при поддержке Российского Научного Фонда, грант № 23-64-10007.

E-mail: nzhila@mail.ru

ВОССТАНОВЛЕНИЕ CR(VI) НОВЫМИ ГАЛОАЛКАЛОФИЛЬНЫМИ ШТАММАМИ. ОТ ПРОБИРКИ ДО ЛАБОРАТОРНОЙ УСТАНОВКИ

Игнатенко А.В., Хижняк Т.В.

ИНМИ им. Виноградского, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

Очистка загрязненных хромом промышленных отходов микробиологическими методами - одно из активно развивающихся перспективных направлений биотехнологии. В основе методов лежит реакция восстановления наиболее токсичной и подвижной шестивалентной формы до трехвалентной. Из смешанных образцов донных осадков щелочных соленых озер Кулундинской степи были выделены три штамма высокоэффективных анаэробных хроматредукторов: *Salipaludibacillus* CrAc4, *Salisediminibacterium* CrAc3 и *Salisediminibacterium* MB1000. Изоляты показали способность восстанавливать до 99% Cr(VI) при культивировании на минеральных средах с исходной концентрацией Cr(VI) до 25 мг/л. Установлены границы роста и восстановления хрома для этих штаммов, влияние органического вещества, определены основные субстраты. Показано, что необходимым условием протекания реакции восстановления Cr(VI) у этих штаммов является наличие достаточного количества карбонатов в среде (не менее четверти от общего количества солей). Для штамма *Salisediminibacterium* MB1000 проведено масштабирование процесса хроматредукции от 10 мл до 5 л. На этапе литровых колб отработан механизм поддержания непрерывной редукции хромата в отливно-доливном режиме. Общее время работы в таком режиме составило более 30 сут. Показано, что созданная система устойчива и может эффективно работать в микроаэрофильных условиях, не требует специальных технологических операций для снижения ОВП среды. Опираясь на полученные данные, собрана и запущена модельная лабораторная установка объемом 5 л по непрерывной очистке модельного щелочного хромсодержащего концентрата. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности работ по созданию биотехнологической системы

очистки жидких хромсодержащих отходов с использованием новых штаммов галоалкалофильных хроматредукторов.

E-mail: ignatenko5aiav@gmail.com

ИНЖЕНЕРИЯ РЕКОМБИНАНТНЫХ МИКОЛИЦИБАКТЕРИЙ ДЛЯ НАПРАВЛЕННОЙ ОКСИФУНКЦИОНАЛИЗАЦИИ СТЕРОИДОВ

Карпов М.В., Стрижов Н.И., Лобастова Т.Г., Пошехонцева В.Ю., Николаева В.М., Шутов А.А., Донова М.В.

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, ФИЦ Пущинский Научный центр биологических исследований РАН, Пущино

Способность бактерий рода *Mycolicibacterium* окислять стерины используется для получения стероидных субстанций. Исключительная роль в реакции оксифункционализации неактивных углеродных атомов в стероидной молекуле принадлежит монооксигеназам суперсемейства цитохромов P450. Реконструкция в клетках миколицибактерий гетерологичных про- и эукариотических P450-систем гидроксилирования стероидов открывает новые возможности для создания биокатализаторов нового поколения. Цель работы – генетическая инженерия и применение рекомбинантных штаммов миколицибактерий, несущих гетерологичные P450-системы оксифункционализации стероидов.

В качестве платформы были использованы штаммы актинобактерий *Mycolicibacterium smegmatis*. Шаттл-вектор pMyNT был использован для контролируемой экспрессии кДНК, кодирующие цитохромы P450 и их редокс-партнеры, в составе моно- и полицистронных оперонов. Биоконверсия природных и модифицированных стеринов с получением прогестерона и прегненолона осуществлена в клетках миколицибактерий, коэкспрессирующих кДНК бычьего цитохрома P450scc и его нативных редокс-партнеров. Комбинированным действием собственных ферментов миколицибактерий и гетерологически экспрессируемой мутантной бифункциональной гидроксилазы P450-BM3 LG-23 из *Priestia megaterium*, реализовано получение 7β-OH-андростендиона из стеринов за одну стадию. Миколицибактериальные редокс-партнеры осуществляли восстановление рекомбинантных гидроксилаз CYP106A1/A2 из *P. megaterium* в процессе цельноклеточного 15β-гидроксилирования андростендиона. При одиночной экспрессии гена мутантной гидроксилазы OleP-QAG из *Streptomyces antibioticus* рекомбинантные *M. smegmatis* осуществляли региоселективное 7-гидроксилирование желчных кислот. Результаты демонстрируют эффективность применения миколицибактерий в качестве платформы для экспрессии систем стероидогенеза и открывают перспективы их использования в качестве продуцентов терапевтических стероидов.

Работа выполнена в рамках Государственного задания (т. № 122040500054-3).

E-mail: mikhail.v.karpov@mail.ru

МЕХАНИЗМЫ СИМБИОТИЧЕСКОЙ СОВМЕСТИМОСТИ *RHIZOBIUM LAGUERREAE* И *PISUM SATIVUM*

Киричек Е.А., Кусакин П.Г., Цыганова А.В., Цыганов В.Е.

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург

Биологическая азотфиксация обеспечивает значительную долю доступного азота для растений в экосистемах. Особенно важна биологическая азотфиксация, протекающая в симбиотических клубеньках, образующихся на корнях бобовых растений в результате их взаимодействия с почвенными бактериями – ризобиями. Для успешного формирования симбиоза необходима генетическая совместимость обоих симбионтов на различных этапах онтогенеза. В данном исследовании с помощью методов флуоресцентной и электронной микроскопии, а также методов реконструкции метаболических путей и транскриптомного анализа изучались взаимодействия между растениями гороха (*Pisum sativum*) и штаммами *Rhizobium laguerreae*. Было установлено, что нарушение биохимических путей модификации О-специфичного антигена липополисахарида у ряда штаммов ризобий становилось причиной формирования неэффективного симбиоза. Как следствие, в клубеньках гороха активировались защитные реакции, что приводило к блокированию бактериальной инфекции и деградации симбиотических структур. Типы нарушений инфекционного процесса и дифференцировки бактерий в клубеньке зависели как от генотипа микросимбионта, так и от генотипа макросимбионта. Таким образом, подбор эффективных пар симбионтов для применения в сельском хозяйстве является необходимым условием развития адаптивного земледелия.

Работа поддержана грантом РНФ 23-16-00090.

E-mail: e.kirichek@arriam.ru

НОВЫЕ СТЕРОИДТРАНСФОРМИРУЮЩИЕ АКТИНОМИЦЕТЫ - ПРОДУЦЕНТЫ ЦЕННЫХ БИОРЕГУЛЯТОРОВ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ КОСТИСТЫХ РЫБ

Коллеров В.В., Григорьева В.В., Брагин Е.Ю., Пошехонцева В.Ю., Шутов А.А., Поливцева В.Н., Донова М.В.

ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН», Пущино

Среди микроорганизмов, способных к структурной модификации стероидных субстратов актиномицеты представляют особый интерес. Для различных представителей актиномицетов показана способность катализировать окисление боковой цепи стеринов, реакции гидроксилирования, дегидрирования, окисления гидроксильных групп, восстановления кетогрупп при С17β- и С20β. Особого внимания заслуживает реакция 20β-восстановления, которая является ключевой в синтезе 20β-восстановленных прогестинов – биорегуляторов репродуктивной функции костистых рыб, востребованных многими аквахозяйствами по всему миру. Химический синтез данных стероидных соединений сложен и многостадиен, при этом возможность их микробиологического синтеза остаётся практически не изученной. В ходе настоящей работы была изучена биокаталитическая активность новых актиномицетных изолятов, ранее выделенных с кожных слизистых покровов африканской шпорцевой лягушки, в отношении стероидов прегнанового ряда. На основании идентифицированных продуктов биоконверсии, доказана способность бактериальных культур катализировать реакцию 20β-восстановления с возможностью синтеза ценных 20β-восстановленных

производных: 20β-гидроксикортексолона и 17α,20β-дигидроксипрогестерона. С использованием анализа последовательности гена 16S рРНК, полногеномного секвенирования и ДНК-ДНК гибридизации *in silico* с геномом типового штамма установлена принадлежность исследуемых изолятов к виду *Streptomyces rochei*. Ингибиторный анализ на отмытых бактериальных клетках доказал индуцибельный характер фермента, катализирующего реакцию 20β-восстановления. В подобранных оптимальных условиях биоконверсии достигнут высокий выход целевого продукта 20β-ОН-кортексолона даже при высоких концентрациях субстрата (до 38 г/л). Полученные данные расширяют представление о биоразнообразии стероид-трансформирующих актиномицетов, населяющих пресноводных, и могут быть успешно использованы для эффективного микробиологического синтеза ценных 20β-восстановленных прогестинов.
Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № 125041005029-5 по теме FMRM-2025-0032.

E-mail: svkollerov@rambler.ru

ВЛИЯНИЕ ГРАФЕНА И ЕГО СОЕДИНЕНИЙ НА РОСТ И МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ УГЛЕВОДОРОДОКИСЛЯЮЩИХ И СУЛЬФАТРЕДУЦИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ ИЗ НЕФТЯНЫХ ПЛАСТОВ

Лойко Н.Г., Бабич Т.Л., Биджиева С.Х., Назина Т.Н.

Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва

Всестороннее использование обнаруженных в последнее время уникальных свойств графена и его соединений в нефтяных микробных биотехнологиях позволит создать более эффективные новые разработки. Поэтому целью данной работы было изучить влияние графена и его соединений на 1) рост, биопленкообразование, деградацию нефти и стрессоустойчивость углеводородокисляющих бактерий (УОБ), выделенных из нефтяных пластов; 2) рост и процесс восстановления сульфатов (с образованием сероводорода) сульфатредуцирующих бактерий (СРБ), являющихся типичными представителями микробных сообществ нефтяных пластов. Графен, соединения графена, нефть, углеводородокисляющие бактерии, сульфатредуцирующие бактерии, биопленкообразование, стрессоустойчивость. В работе использовались современные микробиологические и, биохимические методы, а также были проведены исследования с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). Было показано, что внесение графена и его соединений в культуральную среду УОБ и СРБ приводило к стимуляции или ингибированию их роста и метаболических характеристик, что зависело от вида добавки и её концентрации. Также присутствие в среде разных соединений графена изменяло стрессоустойчивость УОБ бактерий и способствовало их выживанию при длительном хранении. Методом СЭМ было продемонстрировано, как присутствие графена и его оксида в среде роста влияет на биопленкообразование УОБ. Полученные в работе результаты демонстрируют возможность использования графена и его соединений для регулирования роста и метаболической активности различных физиологических групп микроорганизмов нефтяных пластов, что открывает перспективы их практического применения для усовершенствования нефтяных биотехнологий.
Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (№ 122040800164-6).

E-mail: loikonat@mail.ru

УСИЛЕНИЕ АНТИБИОПЛЕНОЧНОГО И АНТИМИКРОБНОГО ДЕЙСТВИЯ НАНОУГЛЕРОДА ИНФРАКРАСНЫМ ЛАЗЕРОМ

Максимова Ю.Г., Пьянкова Е.В., Ременникова М.В., Максимов А.Ю.

Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН, Пермь

Воздействие углеродных наноматериалов (нанотрубок, производных графена) на образование микробных биопленок противоречиво и зависит от вида наноуглерода. Для образования «полезных» биопленок, значимых для биотехнологий, важно пробиопленочное действие этих наноматериалов, тогда как для борьбы с болезнетворными и коррозионными биопленками требуется усиление антибиопленочного действия. Формирование и разрушение биопленок оценивали по окраске кристаллическим фиолетовым (общая биомасса) и реактивом на основе соли тетразолия (уровень метаболизма), а также по содержанию внутриклеточного АТФ. Биопленки визуализировали атомно-силовой и флуоресцентной микроскопией. Окислительный стресс и общий стрессовый ответ изучали по уровню экспрессии генов *soxS* и *rpoS*. Установлено, что 200 мг/л оксида графена (ОГ) и восстановленного оксида графена (вОГ) уменьшают формирование биопленок как грамотрицательных, так и грамположительных бактерий, а также дрожжей рода *Candida*. Показано, что производные графена снижают содержание экзополисахаридов и белка в матриксе биопленок. Облучение ИК-лазером (1270 нм, 3 мин, 5А) в присутствии ОГ и вОГ подавляло интенсивность метаболизма и снижало содержание АТФ в клетках *E. coli* на 99,6%; метаболизм *S. epidermidis* на 97%. Производные графена, ИК облучение и сочетание этих факторов увеличивают уровень экспрессии *rpoS* у *E. coli*. Экспрессия *soxS* возрастает только после ИК-облучения, тогда как в присутствии производных графена снижается. В отличие от производных графена, УНТ, в том числе одностенные, проявляют в большей степени пробиопленочное действие, а их антибактериальное действие может быть усилено модификацией октадециламином. Производные графена в сочетании с облучением ИК-лазером могут являться эффективным средством борьбы с формирующимися и зрелыми биопленками как грамотрицательных, так и грамположительных бактерий.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-24-20008, https://rscf.ru/project/24-24-20008/, Пермский край.

E-mail: yul_max@mail.ru

LUX-БИОСЕНСОРЫ ДЛЯ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ НА ТЕРРИТОРИИ СЕВЕРНЫХ МОРЕЙ: БЕЛОЕ, БАРЕНЦЕВО, КАРСКОЕ И ЛАПТЕВЫХ И В ВОДОСБОРНОМ БАССЕЙНЕ ОЗ. БАЙКАЛ

Манухов[1] И.В., Волков[2] Г.В., Новоятлова[1] У.С., Баженов[1] С.В., Колобов[3,4] М.Ю.

[1]МФТИ, Долгопрудный
[2]БФУ им. И. Канта, Калининград
[3]МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва
[4]ИПЭЭ им. А.Н. Северцова РАН, Москва

Бактериальные цельноклеточные биосенсоры, сконструированные на основе *Escherichia coli* и *Bacillus subtilis*, представляют собой клетки с *lux*-генами под контролем стресс-индуцируемых промоторов P*alkA*, P*oxyR*, P*soxS*, P*dpS* (из генома *E. coli*) и P*dinC*, P*alkA* и P*mrgA* (из генома *B. subtilis*). В настоящей работе по активации стрессовых промоторов в

биосенсорных клетках оценивалось наличие токсикантов в образцах донных отложений и морских беспозвоночных, в первую очередь гаммарусов. Исследования образцов на территории водосборного бассейна реки Селенги и акватории озера Байкал показали результаты, свидетельствующие о загрязнении водосборного бассейна озера Байкал алкилирующими веществами. Их содержание было показано в некоторых образцах воды, а именно вода из р. Селенга и вода из скважины в поселке Степной дворец. В этих образцах воды имело место высокое содержание нитратов. Также наличие алкилирующих веществ было показано в моллюсках, гаммарусах, речной и байкальской губке. В образцах губки помимо алкилирующих соединений было показано содержание веществ, вызывающих окислительный стресс. Исследование в акваториях северных морей: Белое, Баренцево, Карское и Лаптевых, показало, что в основном собранные образцы не показывали токсикологических характеристик по способности к активации окислительного стресса и SOS ответа. Однако было зафиксировано несколько образцов, способных активировать транскрипцию промотора ДНК гликозилазы. Данный эффект показан для некоторых образцов донных отложений и тканей членистоногих из *Mesidothea sp.*, *Pantopoda sp.* и ряда амфипод.

При поддержке РНФ 22-14-00124-П.

E-mail: manukhovi@mail.ru

МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ ПРОКАРИОТНЫХ СООБЩЕСТВ ПОЧВ, ПОДВЕРЖЕННЫХ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКЕ

Манучарова Н.А., Власова А.П., Уваров Г.В., Коваленко М.А., Филатов И.Д., Гаев К.Г., Степанов А.Л.

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва

Актуальным направлением исследований является разработка агробиотехнологий на основе управления естественным почвенным микробиомом, создание микробных препаратов-стимуляторов роста и развития растений, микробиологических способов повышения доли биологического азота в питании растений, деструкторов ксенобиотиков. Рассмотренные направления исследований имеют важное значение для улучшения земельного хозяйства, охраны окружающей среды и разработки природоохранных технологий. С применением молекулярно-биологических методов и биоинформационного анализа исследовано филогенетическое и функциональное разнообразие прокариотного комплекса почвенных микрокосмов. Исследовали образцы чернозема, каштановой, серой лесной, торфяной, дерново-подзолистой почв, подзола, а также погребенные почвы и многолетнемерзлые грунты. Наряду с сокращением разнообразия и численности прокариот в почвах и супрагляциальных объектах, подверженных антропогенным или абиогенным нагрузкам, установлено возрастание количества генов, маркирующих способность сообщества к биодеградации ксенобиотиков (маркирующих начальный этап деградации углеводородов), генов, кодирующих превращения азота и уровень метаболизма кофакторов и витаминов. Внесение органического компонента - биочара или минеральных соединений (солей хлорида и нитрата калия) к нефтезагрязненным почвенным образцам приводило к значимому увеличению числа копий функциональных генов (*xylE, alkB, alkM),* участвующих в разложении нефти и сокращению остаточных нефтепродуктов. Таким образом, влияние антропогенной нагрузки изменяет «метаболический профиль» почвенных сообществ, что выражается как в увеличении количества микроорганизмов, обладающих биотехнологически ценными свойствами (кол-во функциональных генов), так и в изменении состава этих микроорганизмов, что и открывает возможность для поиска новых биотехнологически

ценных штаммов. Полученные результаты характеристики метаболически активного прокариотного комплекса почв могут быть полезны для разработки эффективных стратегий биоремедиации нефтезагрязненных территорий.

E-mail: manucharova@mail.ru

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ФИТОПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ: ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Мирошников[1] *К.А., Лукьянова*[1] *А.А., Токмакова*[1] *А.Д., Евсеев*[1,2] *П.В.*

[1]ФГБУН ГНЦ РФ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Москва
[2]ФГАО ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Министерства здравоохранения РФ, Москва

Для удовлетворения спроса на продовольствие растущего населения Земли, которое к концу столетия может увеличиться до 11 млрд человек, требуется удвоение сельскохозяйственного производства. Однако потери урожая из-за болезней различных культур на глобальном уровне весьма высоки (17-30% для разных культур), причём распространению патогенов способствует глобальная торговля. Для предотвращения распространения болезней требуется оперативный мониторинг бактериальных, грибных и вирусных патогенов, прежде всего карантинных. Возникновение и распространение болезней растений зависят от множества факторов. Выживаемость и урожайность улучшается, когда патоген обнаруживается на ранней стадии. Это позволяет вмешаться на ранней стадии, чтобы попытаться замедлить или предотвратить развитие болезни и летальность для растений. Наиболее быстрыми, специфичными и высокочувствительными являются подходы, основанные на амплификации специфических последовательностей ДНК патогенных бактерий, прежде всего на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР) и её производных. Чувствительность ПЦР-диагностикумов достигает 10^2 КОЕ/мл, т.е. единичных клеток в реакционной смеси. Также существуют возможности совершенствования методов за счёт мультиплексирования, изотермической амплификации и CRISPR/Cas технологий. Тем не менее, для широкого внедрения молекулярно-генетических методов существует множество ограничений как технического, так и фундаментального уровня. В представленном докладе освещаются проблемы избыточной таксономической детализации (на примере *Pectobacterium*/*Dickeya*), несоответствия фитопатологических и таксономических критериев (на примере *Curtobacterium*) и переноса детерминант патогенности мобильными генетическими элементами (на примере *Rhizobium*/*Agrobacterium*). Таким образом, выбор маркерных последовательностей в геномах патогенных микроорганизмов становится критическим этапом на пути разработки диагностических систем

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ, проект № 25-16-00072.

E-mail: kmi@ibch.ru

ОТ МИКРОБИОТЫ ДО ИСТОРИИ: МЕЖДИСЦИПЛИНАРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БУРЯТСКИХ НАЦИОНАЛЬНЫХ КИСЛОМОЛОЧНЫХ НАПИТКОВ ХУРЭНГЭ И ДАРАСУН

Намсараев[1,5] З.Б., Филимонова[1] А.В., Колосова[1] А.А., Власкина[1] А.В., Петренко[1] Д.Е., Камаев[1] А.В., Пожидаев[1] В.М., Лукашевич[1] С.В., Трашков[1] А.П., Наумова[1] Е.С., Туаева[1] А.Ю., Изотова[1] А.О., Ерофеева[1] Т.В., Бархутова[2] Д.Д., Цыренова[2] Д.Д., Дамбаев[2] В.Б., Нанзатов[3] Б.З., Марсова[4] М.В., Новикова[5] В.А., Шикер[5] А.С., Розанов[5] А.С., Сазонов[5] А.Э., Вострикова[5,6] А.С., Патрушев[1] М.В., Тощаков[1] С.В.

[1] НИЦ "Курчатовский институт", Москва
[2] Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, Улан-Удэ
[3] Институт монголоведения, буддологии и тибетологии СО РАН, Улан-Удэ
[4] Институт общей генетики им. Н.И.Вавилова РАН, Москва
[5] НТУ «Сириус», федеральная территория «Сириус», Сочи
[6] Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж

Комплекс традиционных технологий переработки молока у монголоязычных народов отличается высокой сложностью, в частности, только в нем существует практика изготовления крепких алкогольных напитков из молока с использованием дистилляции (Hirata, 2023). Нами было проведено междисциплинарное исследование бурятского национального кисломолочного напитка хурэнгэ (айраг) и продукта его алкогольной дистилляции дарасун (тарасун, тогооной архи, шимийн архи) с использованием метабаркодирования 16S и ITS, метагеномного анализа, химического анализа, изучения пробиотического потенциала хурэнгэ и выделенных из него штаммов на животных моделях, а также проведен историко-этимологический анализ названий напитков. Термин хурэнгэ имеет значение “закваска, напиток, созданный в результате брожения”. Термин дарасун происходит из монгольской среды, где был зафиксирован в 1253-1254 гг. Виллемом Рубруком в искаженной форме *terracina* и на сосуде, датированном 1269-1368 гг. в исходной форме *darasu(n)*. В результате исследования было показано, что хурэнгэ включает в себя комплексное сообщество микроорганизмов, в котором доминируют гетероферментативные молочнокислые бактерии *Lactobacillus helveticus, Lentilactobacillus kefiri*, а также присутствуют уксуснокислые бактерии рода *Acetobacter*, дрожжи *Kazachstania unispora, Trichosporon coremiiforme, Yarrowia lipolytica* и другие микроорганизмы. В ходе ферментации лактозы в хурэнгэ происходит образование этанола в концентрации до 3% и при дистилляции увеличивается до 11.2 % и выше. Добавление хурэнгэ в рацион крыс на фоне антибиотического стресса приводило к коррекции кишечного микробиома. Обнаружено, что выделенные представители рода *Acetobacter* обладают, предположительно, антиоксидантной активностью в присутствии параквата и увеличивают медианную продолжительность жизни нематод, не обладают факторами вирулентности и антибиотикорезистентности, что свидетельствует об их потенциале как пробиотиков.

E-mail: zorigto@gmail.com

ДЛИТЕЛЬНОЕ ВЫЖИВАНИЕ БАКТЕРИЙ В ГЕЛЯХ – ФЕНОМЕН И ПРИЧИНЫ

Николаев Ю.А., О.А. Галуза, Е.В. Дёмкина, Эль-Регистан Г.И., Перминова И.В., Лойко Н.Г., Лапатко А.П., Храмова А.В.

ФИЦ Биотехнологии РАН, РФ, Москва,
МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

Живые микроорганизмы широко используются пищевой, природоохранной, технической и сельскохозяйственной биотехнологиях, а также в биомедицине в качестве биокатализаторов, заквасок, пробиотиков. Основным недостатком биопрепаратов является высокая скорость гибели микроорганизмов и снижение в ходе хранения титра жизнеспособных клеток ниже технологически или терапевтически приемлемого уровня. Изучение способов повышения выживаемости микроорганизмов при их длительном хранении высоко актуальны.
Разработан универсальный способ длительного хранения живых микроорганизмов различных физиолого-биохимических групп путём их иммобилизации в гели различного состава. Способ был испытан и получены положительные результаты с использованием микроорганизмов: углеводородокисляющих бактерий, молочнокислых бактерий, спорообразующих бактерий, *Escherichia coli K-12*. Клетки стационарной фазы роста были иммобилизованы в: силанольно-гуматные гели (СГГ), гели на основе желатина, камедей (ксантановой, гуаровой, геллановой). Все исследованные культуры, иммобилизованные в гели, сохраняли более высокий титр жизнеспособных клеток (на 1-3 порядка) относительно контрольных культур при длительном хранении (до трёх лет) при комнатных условиях. Стабилизированные препараты молочнокислых и углеводородокисляющих бактерий обладали более высокими технологическими характеристиками (в соответствии с их применением в биотехнологии). Причины длительного выживания бактерий в гелях: - переход в гипометаболическое состояние (активность метаболизма снижена до 10 000 раз относительно растущих клеток); - наличие и потребление субстратов; - пространственное разобщение клеток (препятствующее накоплению факторов автолиза и массовому автолизу клеток); - переход части клеток в покоящееся состояние в виде цистоподобных клеток; - переход части клеток в биоплёночный фенотип. Иммобилизация клеток бактерий в биосовместимые является перспективным приёмом продления сроков хранения биопрепаратов различного назначения и одновременно – улучшения их технологических свойств.
Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 24-24-20062.

E-mail: info@fbras.ru

ПРИМЕНЕНИЕ МИЦЕЛИАЛЬНОГО ГРИБА *PENICILLIUM VERRUCULOSUM* В СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ – ВОЗМОЖНОСТИ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Рожкова[1] А.М., Семенова[1] М.В., Волков[1] П.В., Хохлов[1] Н.Е., Ерошенко[1] Н.С., Зоров[1,2] И.Н., Синицын[1,2] А.П.

[1]Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва
[2]Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова, Москва

Мицелиальный гриб *Penicillium verruculosum* (*Talaromyces verruculosus*) является платформой для получения рекомбинантных штаммов-продуцентов и ферментных препаратов на их основе, имеющих применение в различных сферах промышленности и

сельского хозяйства. Широкая панель ферментных препаратов ксиланаз, протеаз, β-глюканаз, фитаз, липаз, оксидаз и других ферментных комплексов уже существует в портфеле Лаборатории биотехнологии ферментов ФИЦ Биотехнологии РАН. В настоящий момент ряд ферментных препаратов уже производится и успешно применяется в отечественной пищевой промышленности и на кормопроизводствах.

Однако современные требования к продуктивности штаммов, требования к операционным характеристикам ферментов, а также требования к «генетической чистоте» производственных штаммов говорят о необходимости совершенствования экспрессионной системы штамма *P. verruculosum* с помощью современного инструментария геномного редактирования. Используя комплексный методологический подход, сочетающий метод геномного редактирования CRISPR/Cas9, количественный ПЦР, ряд микробиологических методов и подходов, был получен новый ауксотрофный штамм B6, на основе которого разработаны новые комплексы ферментов ксиланаз/β-глюканаз и ксиланаз/протеаз, применяющихся для расщепления некрахмальных полисахаридов зерна и белковой компоненты в кормах с/х животных. Кроме того, был разработан новый вектор для трансформации ауксотрофных штаммов, позволяющий доставлять экзогенную ДНК в хромосому гриба *P. verruculosum* без нерегламентированных бактериальных последовательностей, что существенно расширило возможности гриба *P. verruculosum* как продуцента ферментов для пищевой промышленности.

E-mail: amrojkova@mail.ru

КОНВЕРСИЯ МЕТАНА В ОРГАНИЧЕСКИЕ КИСЛОТЫ

Розова О.Н., Мельников О.И., Бут С.Ю., Шавкунов К.С., Хмеленина В.Н., Мустахимов И.И.

ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», ИБФМ РАН, Пущино

Метанотрофы окисляют в процессе жизнедеятельности метан и вовлекают его производные в образование С-С связи. Полученный нами штамм *M. alcaliphilum* 20Z-3E с делецией генов *fumI* и *fumII,* кодирующих фумаразы I и II, и гена *mae*, кодирующего малик-фермент (MaE), способен к синтезу фумарата. При двухэтапном культивировании на метане со сменой режимов аэрации штамм 20Z-3E накапливал 5,5 г/л фумарата при 14,8 г ВСБ/л. Проведенный транскриптомный анализ выявил изменения транскрипции 110 генов, однако, кодируемые ими ферменты не участвуют в центральном метаболизме метанотрофа. Нами показано, что делеция гена *mae* сильно влияет на концентрацию, выделяемого клеткой фумарата. Так штамм 20Z-2F с делецией только двух генов *fumI* и *fumII* накапливал фумарат в концентрации 2,3 раза ниже, чем штамм 20Z-3E. Кроме того, присутствие MaE на фоне неполного цикла Кребса вызывало сильное изменение динамики роста культуры на метане, а именно приводило к удлинению лаг-фазы и снижению скорости роста, что указывает на наличие сильного энергетического дисбаланса. При росте штамма 20Z-3E на метане в присутствии 6% NaCl концентрация фумарата падала в 2 раза, поскольку часть аспартата, являющегося источником фумарата в аденилосукцинатном шунте, уходит на синтез эктоина – основного осмопротектора *M. alcaliphilum*. При внесении в штамм 20Z-3E дополнительной делеции генов *sdhABCD*, кодирующих сукцинатдегидрогеназу, при культивировании на метане в колбе штамм 20Z-4ES накапливал 2,7 мМ/г ВСБ сукцината. Таким образом, цикл Кребса у *M. alcaliphilum* 20Z является биотехнологической площадкой для получения органических кислот.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ № 25-74-10072.

E-mail: rozovaolga1@rambler.ru

КОЛЛЕКЦИЯ МИКРОМИЦЕТОВ ФГБНУ НИИНА КАК ОСНОВА ДЛЯ ПОИСКА ПРОДУЦЕНТОВ НОВЫХ АНТИБИОТИКОВ

Садыкова[1] В.С., Георгиева[1,2] М.Л., Биланенко[2] Е.Н., Соколов[1] В.В., Малышева[1] К.В., Рошка[1] Ю.А., Кураков[2] А.В.

[1]Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе, Москва
[2]Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, кафедра микологии и альгологии, Москва

В ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе» создана и поддерживается коллекция грибов – продуцентов антибиотиков, выделенных из разных экотопов с разными механизмами адаптации. Коллекция включает представителей психрофильных микромицетов из морских биотопов Северных морей России (Восточно-Сибирское, Лаптевых, Белое, Баренцево) и субантарктических станций (Артцовски и Академик Вернадский); алкалофильных и алкалотолерантных микромицетов, выделенных из грунтов засоленых озер и окружающих их почв Росии (Кулундинская и Кункурская степь, Забайкалье, Якутия), Монголии, Кении, Венесуэлы, Армении. В коллекции более 500 штаммов мицелиальных грибов из разных таксономических групп и с различными типами экстремофилии, которые охарактеризованы по спектрам проявляемой ими антимикробной активности и паспортизированы. На базе коллекции проведен масштабный скрининг способности к образованию и накоплению соединений, активных в отношении условно-патогенных и фитопатогенных грибов и бактерий, в том числе с множественной резистентностью. В последнее время значительное внимание было уделено пополнению коллекции штаммами из сильнозасоленных почв различных регионов Российской Федерации. Коллекция галоалкалофилов включает около 34 видов, среди которых типовые изоляты 2 новых для науки родов грибов (*Sodiomyces, Chordomyces*) и 5 новых видов (*Sodiomyces alkalinus, S. magadiensis, S. tronae; Emericellopsis alkalina, Chordomyces antarcticus*). Коллекция ФГБНУ «НИИНА» на данный момент включает 38 алкалотолерантных штаммов *E. alkalina*, 33 из которых продуцируют эмерициллипсин А с противогрибковой и цитотоксической активностью, а также содержит 21 штамм других видов рода *Emericellopsis*. Для 8 наиболее активных штаммов рода *Emericellopsis* проведен полногеномный анализ и аннотация геномов, в том числе поиск кластеров генов, кодирующих антимикробные соединения. Большинство найденных кластеров синтеза содержат гены NRPS (Non-ribosomal peptide synthetase cluster) и T1PKS (Type I PKS Polyketide synthase). На основе полногеномного секвенирования проведено изучение кластера генов, кодирующих секалоновые кислоты с антимикробными свойствами у психротолерантного арктического штамма *Penicillium chryzogenum*. Проведена генетическая ревизия коллекции психротолернатных штаммов рода *Trichoderma,* выделенных из донных отложений озера Байкал, полученные результаты депонированы в ГенБанк.

E-mail: sadykova_09@mail.ru

РАЗНООБРАЗИЕ КОРРОЗИОННО-АКТИВНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ В СИСТЕМЕ ПОДГОТОВКИ ВОДЫ НА НЕФТЯНОМ МЕСТОРОЖДЕНИИ НА ШЕЛЬФЕ АРКТИКИ (РОССИЯ)

Соколова[1] Д.Ш., Круглова[2] А.А., Семенова[1] Е.М., Майорова[2] Т.А., Марданов[1] А.В., Назина[1] Т.Н.

[1]ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва
[2] Газпром Нефть, Санкт-Петербург

Использование морской воды с высоким содержанием сульфатов для нагнетания в нефтяные пласты с целью поддержания пластового давления приводит к активизации процесса сульфатредукции, обусловленной деятельностью сульфатвосстанавливающих бактерий (СВБ) и архей (СВА). Биогенное образование сульфида сопровождается коррозией стального оборудования, ухудшением качества нефти и экологическими проблемами при добыче и переработке нефти. СВБ растут в широком диапазоне температуры и солености пластовой воды. Известно, что помимо СВБ сульфид могут образовывать бактерии и археи с бродильным типом метаболизма, которые восстанавливают окисленные соединения серы, иные, чем сульфат, такие как сульфит, тиосульфат и элементарная сера. Целью настоящей работы было определение разнообразия сульфидогенных прокариот в пластовой и нагнетаемой воде Приразломного нефтяного месторождения (Ненецкий автономный округ, Россия), которое является единственным действующим в России месторождением по добыче углеводородов на арктическом шельфе. Пластовая вода содержит сульфат и сульфид, месторождение заводняется морской водой. Методом анализа V3–V4 региона гена 16S рРНК показано, что в пластовой воде преобладали термофильные СВБ родов *Thermacetogenium* и *Desulfonauticus*. Смешивание добываемой воды с морской водой в системе водоподготовки приводит к ее охлаждению и появлению мезофильных СВБ родов *Desulfobacter* и *Desulfogranum*. Остаточные нефтяные углеводороды и сульфиды, присутствующие в пластовой воде, могут окисляться в системе водоподготовки, а образующиеся метаболиты служат донорами и акцепторами электронов для бродильных сульфидогенных бактерий (родов *Caminicella, Kosmotoga, Petrotoga* и *Geotoga*). Термофильные гидрогенотрофные сульфатредуцирующие и метаногенные археи, выделенные из пластовой воды, росли автотрофно в среде с оксидом железа в отсутствие других источников водорода, образуя сульфид и метан соответственно, что может способствовать питтинговой коррозии. Полученные результаты позволяют улучшить способы мониторинга сульфидогенов и метаногенов на нефтяном месторождении, а полученные культуры могут быть использованы для отбора эффективных биоцидов.

Работа выполнена при поддержке РНФ (грант № 21-64-00019).

E-mail: sokolovadiyana@gmail.com

ПРИРОДОПОДОБНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ МИНЕРАЛЬНЫХ УДОБРЕНИЙ

Степанов А.Л., Поздняков Л.А., Якименко О.В., Манучарова Н.А.

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва

Монооксид азота (I) - N_2O относится к категории газовых микрокомпонентов атмосферы (парниковых газов) с ростом концентрации которых связывают глобальные изменения климата. Основным источником N_2O в биосфере являются процессы микробной трансформации азота при разложении органического вещества в почвенном покрове Земли за

счет деятельности денитрифицирующих прокариот, нитрифицирующих архей, автотрофных и гетеротрофных нитрификаторов и ряда других биологических процессов. Масштаб деятельности микроорганизмов цикла азота в почвах (прежде всего нитрификаторов и денитрификаторов) многократно возрастает при использовании минеральных азотных удобрений, необходимых для обеспечения продовольственной безопасности отдельно взятых стран. Поэтому проблема управления почвенным микробиомом с целью снижения выбросов парниковых газов и газообразных окислов азота, в частности, при интенсивном применении минеральных азотных удобрений в сельском хозяйстве, относится к одному из приоритетных направлений исследований в почвенной микробиологии. Цель данного исследования заключалась в изучении процессов микробной трансформации азота и углерода в почве под влиянием разработанной природоподобной технологии обработки гуматным покрытием самых распространенных и эффективных азотных удобрений в форме карбамида (мочевины). Исследование проводилось в модельном лабораторном эксперименте, имитирующем весеннее заболачивание дерново-подзолистой почвы, чтобы спровоцировать максимальное вымывания нитратов. Оценивалось влияние карбамидных удобрений с гуматным покрытием (в сравнительном аспекте с промышленным ингибитором нитрификации и чистой мочевиной) на активность нитрифицирующих архей и бактерий, процессы микробной трансформации азота и углерода в почвах: скорость фактической и потенциальной эмиссии N_2O, интенсивность выделения CO_2, базальное и субстрат-индуцированное дыхание, динамику микробной биомассы, продукцию фитогармонов микробного происхождения, в том числе интенсивность образования и эмиссии этилена. Содержание нитрата и аммония определяли в водных экстрактах (1:2,5) с помощью многоканального иономера Expert-001 с ионоселективными электродами (ИСЭ) ECOM-NH4 и ECOM-NO3. Полученные значения содержания аммония и нитратов пересчитывали на содержание азота. Значения pH определяли в тех же экстрактах с помощью стеклянного электрода. Для анализа использовались образцы с исходной влажностью, результаты рассчитывались на сухую почву. Влажность почвы определялась гравиметрически. В газовых пробах концентрация N_2O определялась на газовом хроматографе Кристалл 5000.2 (Хроматэк, Россия). К одной из колонок подключены детектор теплопроводности (ДТД) и пламенно-ионизационный детектор (ПИД) для измерения содержания CO_2, CH_4, C_2H_4 и других летучих углеводородов; газ-носитель - гелий. Вторая колонка подключена к детектору электронного захвата (ДЭЗ), на котором измеряется N_2O; газ-носитель - азот. Углерод микробной биомассы (Cmic) рассчитывали по методике Anderson, Domsch, (1978). Для оценки удельной активности почвенного микробного сообщества рассчитывали метаболический коэффициент (qCO_2) как отношение базального дыхания (BR) к Cmic и выражали в мг CO_2 $г^{-1}$/Cmic $ч^{-1}$. Все измерения проводились в пяти повторностях. Для статистического анализа использовался пакет программ Statistica 10. Все представленные данные приведены как среднее значения. Для каждой группы данных, чтобы определить значимость различий, проводили сравнение с помощью дисперсионного анализа (ANOVA). Анализ полученных данных по оценке активности почвенного микробного сообщества показал, что использование карбамида ожидаемо сопровождалось значительным ростом газообразных потерь азота в форме парникового газа - N_2O. При этом следует отметить, что величина эмиссии N_2O в присутствии гумата была на 22% меньше, по сравнению с внесением одной мочевины, Возможной причиной является подавление микробной активности гуминовым препаратом за счет присутствия в нем фенольных соединений. С другой стороны, применение гумата и карбамида сопровождается снижением газообразных потерь углерода из почвы в форме CO_2 на 15-20%. что также обусловлено снижением микробной активности под влиянием гумата. Проверка возможной потери CO_2 из самого препарата гумата и карбамида (вариант с внесением в песок) свидетельствует о незначимом (менее 4%) вкладе за счет производственной нестерильности реактивов. Отмечено подавление скорости образования этилена микробным сообществом почвы в присутствии гумата, что доказывает его ингибирующий эффект на биологическую активность почвы в применяемой дозе. Поскольку

некоторая часть микробного сообщества в почве находится в неактивном состоянии - в форме спор, то для их активации и прорастания в почву вносился раствор глюкозы. Так, активность субстрат-индуцированного дыхания подтвердила результаты, полученные ранее, а именно – подавление микробной активности при использовании гумата и промышленного ингибитора уреазы по сравнению с применением одного карбамида. Важно подчеркнуть, что субстрат-индуцируемая величина газообразных потерь азота в виде (N_2O) в присутствии гумата оказалась чуть ниже, чем в варианте с внесением ингибитора уреазной активности, что подтверждает вывод о снижении эмиссии N_2O в присутствии гумата. Применение гумата и карбамида в рекомендованой дозе на дерново-подзолистой почве позволяет снизить интенсивность нитрификации, что приводит к повышению периода доступности аммония для растений и способствует поступлению восстановленой формы азота в растительную биомассу. Одновременное внесение гуматов и карбамида сопровождается снижением скорости разложения органического вещества почвы и позволяет сократить эмиссию CO_2 из почв в атмосферу. Использование гуматов приводит к снижению газообразных потерь азота в форме азотсодержащего парникового газа – N_2O и сопоставимо с эффектом от использования промышленного ингибитора уреазной активности, но не превосходит его. Учитывая низкую стоимость гуматных препаратов, его применение (в описанных условиях на дерново-подзолистой почве) может быть экономически целесообразно. Необходимо продолжить исследование эффективности одновременного применения гуматов и карбамида в производственных условиях с разными сортами растений на разных почвах и разных биоклиматических зонах.

E-mail: stepanov_aleksey@mail.ru

БИОТРАНСФОРМАЦИЯ СТЕРОИДОВ РЕКОМБИНАНТНЫМИ БАКТЕРИЯМИ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИМИ ГЕН АКТИНОБАКТЕРИЛЬНОЙ 3-КЕТОСТЕРОИД-1-ДЕГИДРОГЕНАЗЫ

Фуфаева С.Р., Довбня Д.В., Шутов А.А., Донова М.В.

ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН», Пущино

Микробиологическое 1-дегидрирование 3-кетостероидов является важной стадией в производстве стероидных препаратов и их синтонов. При цельноклеточном катализе данной реакции штаммами дикого типа наблюдают ряд нежелательных побочных активностей, в частности обратную реакцию (1-гидрирование) и восстановление С20-карбонильной группы в молекулах прогестинов и кортикоидов. В данной работе охарактеризована активность 3-кетостероид-1-дегидрогеназы (3-КСД), кодируемой геном *kstD2* (*KR76_27125*) из *Nocardioides simplex* ВКМ Ac-2033Д в гетерологических миколицибактериях *in vivo*. В качестве модельных бактериальных платформ для экспрессии *kstD2* использовали стерин-окисляющие штаммы *Mycolicibacterium neoaurum* и *Mycolicibacterium smegmatis* с заблокированной эндогенной активностью 3-КСД. Растущие клетки сконструированных рекомбинантных миколицибактерий, в отличие от *N. simplex*, конвертировали гидрокортизон и 6α-метил-гидрокортизон в соответствующие 1-дегидроаналоги с существенно более высокой селективностью. В клетках *M. smegmatis* активность гетерологичной KstD2 была значительно выше, по сравнению с *M. neoaurum*, что обеспечивало высокий выход продукта биотрансформации преднизолона 95,4±1,7%. При экспрессии *kstD2* под контролем индуцибельного ацетамидазного (P*ami*) или конститутивного *hsp60* промоторов целевая 3-кетостероид-1-дегидрогеназная активность различалась несущественно. В клетках *M. neoaurum* продемонстрировано функционирование гибридного метаболического пути, включающего окисление боковой цепи фитостерина до андростендиона (АД) эндогенными

ферментами клетки-реципиента и дегидрирование АД в андростадиендион гетерологичной 3-КСД. Полученные результаты могут быть востребованы при разработке новых биотехнологий получения стероидных 1-дегидроаналогов для фармацевтической промышленности.
Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 122040500054-3).

E-mail: sfufaeva@list.ru

ЭНДОФИТНЫЙ МИКРОБИОМ ЗАСУХОУСТОЙЧИВЫХ РАСТЕНИЙ - ПЕРСПЕКТИВЫ ДЛЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР В БОРЬБЕ С ЗАСУХОЙ

Худяева[1] М.В., Чеботарь[1] В.К., Чижевская[1] Е.П., Баганова [1] М.Е., Келейникова [1] О.В., Ерофеева[1] О.В., Заплаткин[1] А.Н., Тихонович[1,2] И.А.

[1]ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург
[2] ФГБОУ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

Последние исследования микробиома растений показали, что он является критически важным для защиты и питания растений. Эндофитные бактерии способны активно колонизировать межклеточные пространства тканей растений, а также проводящие сосуды. Выживанию эндофитных микроорганизмов внутри растения помогает их способность синтезировать биологические активные соединения, улучшающие развитие и рост растения-хозяина. В неблагоприятных условиях может формироваться «стрессовый микробиом», обеспечивающий устойчивость растений к абиотическим и биотическим факторам окружающей среды. Целью исследований являлся поиск эндофитных бактерий засухоустойчивых растений, обладающих способностью повышать устойчивость сельскохозяйственных растений к засухе. Из корней, стеблей и листьев засухоустойчивых растений мари белой, верблюжьей колючки обыкновенной и житняка пустынного было выделено 69 изолятов эндофитных бактерий. Исследование их функциональных и ферментативных свойств показало, что большинство штаммов обладают комплексом полезных для растений свойств. В вегетационных опытах с имитацией засухи (30% ППВ) с яровым рапсом Оредеж 6 и яровой пшеницей Ленинградская 6 использовали эндофитные бактерии Can19L *Bacillus halotolerans* и Can02R *Bacillus amyloliquefaciens*. В условиях засухи, прибавка урожайности зерна ярового рапса от их применения составила 12,3- 12,9% по сравнению с контролем без инокуляции. Показано, что инокуляция штаммами Can19L и Can02R в условиях засухи привела к достоверному повышению общего азота в зерне яровой пшеницы на 18,4 и 17,6% к контролю, что было сопоставимо с применением двойной нормы минерального удобрения (NPK 100%). Таким образом, штаммы Can19L и Can02R представляют перспективу для производства микробиологических удобрений для сельскохозяйственных растений в борьбе с засухой.
Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 23-66-10013

E-mail: my.khudyaeva@arriam.ru

ПОЛВЕКА ИЗУЧЕНИЯ HYDSL ГИДРОГЕНАЗЫ *THIOCAPSA BOGOROVII*: ИТОГИ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Цыганков А.А.

ИФПБ РАН – обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино

Гидрогеназы – это ферменты, катализирующие обратимую активацию молекулярного водорода. К настоящему времени описано более 1500 структурных генов этих ферментов. По содержанию металлов их разделяют на NiFe, FeFe и Fe гидрогеназы. Наряду с их разнообразными (и не всегда известными) функциями в метаболизме микроорганизмов, несомненна и их практическая значимость в роли заменителя платины в топливных элементах. HydSL гидрогеназа *Thiocapsa bogorovii* была выделена первой из пурпурных серных бактерий в 1976 г. За почти полвека изучения этого фермента показано, что эта гидрогеназа относится к NiFe гидрогеназам, удивительно термостабильна. Иммобилизация HydSL гидрогеназы на углеродных электродах приводила к прямому переносу электрона на электрод. Обнаружено, что в клетках этот фермент участвует лишь светонезависимом выделении сероводорода в присутствии S^0 и H_2. Однако роль этой реакции в метаболизме до сих пор не ясна. Недавно разработан простой метод иммобилизации этой гидрогеназы на электроде, что позволило увеличить плотность тока на порядок. В докладе обсуждаются возможные пути дальнейшего увеличения плотности тока до практически значимых, а также возможная роль этой гидрогеназы в клектах.

E-mail: ttt-00@mail.ru

БИОЦИДНЫЙ КОМПОЗИТНЫЙ МАТЕРИАЛ НА ОСНОВЕ ЭПОКСИДНОЙ СМОЛЫ С НАНОЧАСТИЦАМИ ОКСИДА МЕДИ

Яковлева[1] Г.Ю., Кацюруба[1] Е.А., Данилаев[2] М.П., Ильинская[1] О.Н.

[1]Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань
[2]Казанский национальный исследовательский технический университет им. А.Н. Туполева, Казань

Использование изделий из полимерных композиционных материалов (ПКМ) в условиях повышенной температуры и влажности значительно снижает их эксплуатационные характеристики. К изменению структурных и функциональных характеристик материалов приводят и микроорганизмы-деструкторы, особенно микроскопические грибы, за счет разрастания по поверхности материала и продуцирования агрессивных метаболитов, в частности, органических кислот. Цель: оценить влияния содержание дисперсных частиц CuO, полученных *in situ* в полимерной сетке на изменение прочностных свойств ПКМ на основе эпоксидной смолы после воздействия микроорганизмов–деструкторов. В работе использовали образцы ПКМ с наночастицами CuO в эпоксидной сетке размером 100x20x3 мм. Образцы помещали в контейнер, содержащий жидкую среду Чапека-Докса, с которую заранее были внесены споры микромицетов *Aspergillus niger*, *Penicillus chrysogenum* и *Aspergillus puulaauensis*. Испытание проводили при температуре 29±2 ºС в течении 28 суток.
Рост микромицетов наблюдали уже на 7 сутки инкубирования. Еженедельное измерение pH среды, в которой выдерживали образцы ПКМ, показало резкое закисление среды до pH 1.8 уже на первой неделе с незначительным увеличением pH к концу эксперимента. В процессе визуального обследования образцов ПКВ на 28 сутки культивирования отмечали изменение цвета образцов, которое наиболее четко проявился при более низких концентрациях оксида

меди. Такое изменение цвета может быть вызвано действием органических кислот, которые образуются в процессе роста микроскопических грибов на среде Чапека-Докса, приводя к ее подкислению. Анализ состояния поверхности образцов ПКМ после проведения тестов на их стойкость к биодеструкции показал наличие каверн, количество которых на единицу площади уменьшалось с ростом содержания частиц CuO в образцах. Так, в ненаполненных образцах полимера отношение суммарной площади каверн к площади поверхности образца составляет порядка 0.27±0.07, для образцов ПКМ с низкой концентрацией CuO – порядка 0.05±0.01. При высокой концентрации CuO каверны отсутствовали. Можно предположить, что появление каверн связано с разрушением матрицы полимера под воздействием органических кислот. Отмечалось увеличение прочностных характеристик опытных образцов в 1.5 раза по сравнению с ненаполненными образцами. Следовательно, получение ПКМ с формированием в них дисперсных частиц CuO *in situ* позволило не только повысить стойкостью их к биодеструкции, но и повысить механические характеристики композитов. Это открывает новые перспективы использования таких композитов с биоцидными свойствами.

E-mail: yakovleva_galina@mail.ru

МИКРОБНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

ПОСТЕРНЫЕ ДОКЛАДЫ

МИКРОБНАЯ КОРРОЗИЯ ЧЕРНОЙ И НЕРЖАВЕЮЩЕЙ СТАЛИ В УСЛОВИЯХ ГЕОЛОГИЧЕСКИХ ХРАНИЛИЩ РАДИОАКТИВНЫХ ОТХОДОВ

Абрамова Е.С., Сафонов. А.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физический химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина Российской академии наук, Москва

Захоронение радиоактивных отходов (РАО) и отработанного ядерного топлива (ОЯТ) в геологических формациях требует создания надежных инженерных барьеров безопасности (ИББ). Углеродистые и легированные стали рассматриваются как одни из потенциальных материалов ИББ в рамках мультибарьерной системы защиты от ОЯТ и РАО в мире. Одним из факторов коррозии стальных контейнеров является микробная активность. При этом инициировать коррозию могут как микроорганизмы, присутствующие в глинистых материалах, являющихся гидроизолирующим барьером, так и обитающие в геологических формациях. В данной работе проведена оценка микробного разнообразия сообществ бентонитовых глин и проб скалистых пород, отобранных с глубины 450-500 метров, в районе участка «Енисейский» (Красноярский край), на котором планируется сооружение пункта глубинного захоронения РАО (ПГЗРО) и проведена оценка радиационной устойчивости микробных сообществ. В условиях, моделирующих ПГЗРО проведена оценка скорости коррозии черной (Ст3) и нержавеющей (03Х18Н16М3) сталей при активации микробного сообщества органическим веществом и компонентами барьеров безопасности (фосфаты, выщелаты цемента, компоненты глин и др.). Выявлены основные биогенные факторы, способствующие протеканию процесса коррозии, а также проанализирован состав продуктов коррозии и выявлена их роль в поведении актинидов (уран, нептуний, плутоний) и технеция. Установлено, что микробные процессы могут способствовать увеличению скорости коррозии сталей в 3-10 раз, в зависимости от условий. При этом, микробные процессы могут

способствовать формированию геохимических условий, благоприятных для иммобилизации актинидов на поверхности сталей и продуктах их коррозии в глинистых материалах.
Работа поддержана министерством науки и высшего образования.

E-mail: alexeysafonof@gmail.com

БАЗИДИАЛЬНЫЕ ГРИБЫ – ПРОДУЦЕНТЫ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Автономова А.В., Зиангирова М.Ю., Шуктуева М.И., Лысакова В.С., Ярина М.С., Краснопольская Л.М.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе», Москва

Базидиальные грибы способны продуцировать широкий спектр биологически активных соединений. Современный биотехнологический экспериментальный дизайн позволяет успешно реализовать биосинтетические возможности базидиомицетов. В лаборатории биосинтеза биологически активных соединений создана рабочая коллекция культур базидиомицетов – продуцентов метаболитов с доказанной противоопухолевой, иммуномодулирующей, антибактериальной, антифунгальной, антиоксидантной, гиполипидемической активностями. Разработаны способы погруженного культивирования видов рода *Ganoderma,* рода *Pleurotus,* штаммов *Lentinula edodes, Hericium erinaceus, Flammulina velutpes* и других, направленные на образование целевых биологически активных веществ. В частности, разработанные биотехнологические способы позволили получить полисахариды ксиломаннан и фукогалактан, обладающие высокой противоопухолевой активностью, антибиотик лентинамицин В, гиполипидемический агент эритаденин. Метаболиты из погруженного мицелия были успешно использованы для создания сенсорных пленок в акустических датчиках. В настоящее время работа лаборатории сосредоточена на поиске и изучении антимикробных метаболитов. Выявлены перспективные культуры, образующие метаболиты активные в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий и грибов. Среди наиболее активных продуцентов следует указать штаммы *Fomitopsis betulina, F.pinicola, H.coralloides, Stereum hirsutum.* Экстракты культуральной жидкости *L. edodes* проявляют выраженную антифунгальную активность в отношении *Candida albicans, C. auris, Fusarium spp., Mucor racemosus. Rhizopus spp., Syncephalastrum racemosum, Penicillium commune, Aspergillus brasiliensis, A. fumigatus, Trichophyton mentagrophytes var. gypseum, Microsporum gypseum.* Полученные метаболиты базидиомицетов могут быть использованы в фармацевтике (антбактериальные, антифунгальные, противоопухолевые препараты, иммуностимуляторы), в пищевой промышленности (функциональные продукты), в сельском хозяйстве (биопрепараты).

E-mail: nomova@yandex.ru

РИЗОСФЕРНЫЕ БАКТЕРИИ РОДА PSEUDOMONAS НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ КАК ОСНОВА БИОПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ФИТОРЕМЕДИАЦИИ

Анохина Т.О., Сизова О.И., Соколов С.Л., Кочетков В.В., Кошелева И.А., Сазонова О.И.

ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН», Пущино

Органические поллютанты, тяжелые металлы, высокий/низкий pH и засоленность почв вызывают стресс у ризосферных микроорганизмов, что может снизить их положительное влияние на растения. Устойчивые к экстремальным условиям бактерии, стимулирующие рост растений, считаются перспективными для разработки биопрепаратов для фиторемедиации.
Цель работы – выделение из нефтезагрязненных почв ризобактерий, ингибирующих рост фитопатогенов и исследование их фитостимулирующих свойств. Из ризосферы дикорастущих в нефтезагрязненных сайтах трав выделено 18 штаммов. Штаммы росли при температуре от +6°C до +37°C, в присутствии 3–5% NaCl и 2–3 мМ Ni, Cd, Cu, Zn и/или Co. Идентификацию штаммов проводили секвенированием 16S рДНК, продукцию вторичных метаболитов анализировали тонкослойной хроматографией, поиск целевых генов – нитрогеназы (*nifH*), 1-аминоциклопропан-1-карбоксилат деаминазы (*acdS*), генов биосинтеза антибиотиков (2,4-диацетилфлороглюцина (*phlD*), пиолютеорина (*plt*B), пирролнитрина (*prn*C) и феназин-1-карбоновой кислоты (ФКК) (*phzCD*)) и индолил-3-уксусной кислоты (*ipdC* и *iaaH*) – с помощью ПЦР. Показано, что выделенные штаммы относятся к разным видам бактерий рода *Pseudomonas*. Восемь штаммов растворяли фосфаты, пять из них активно подавляли как фитопатогенные грибы, так и бактерии. У девяти изолятов обнаружен профиль метаболитов, характерный для контрольного штамма *P. protegens* Pf-5, обладающего фенотипом Phl^+ Plt^+ Prn^+, но только у четырех из них присутствовал ген *phlD*. Один штамм продуцировал ФКК и имел в геноме гены *phzCD* и *acdS*. Других исследуемых генов обнаружено не было. В микровегетационных экспериментах шесть штаммов стимулировали рост проростков пшеницы.
Финансирование Минобрнауки РФ (Госзадание FMRM-2022-0014).

E-mail: to_anohina@rambler.ru

АНТИМИКРОБНЫЕ ПЕПТИДЫ РАСТЕНИЙ И ЭНДОФИТНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ: ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РОЛЬ В ИММУНИТЕТЕ РАСТЕНИЙ

Барашкова[1,2] *А.С., Рогожин*[1,2] *Е.А.*

[1]Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр РФ Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (ГНЦ ИБХ РАН), Москва

[2]Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений (ФГБНУ ВИЗР), Санкт-Петербург, Пушкин

Растения представляют собой основополагающий компонент наземных экосистем. Они выполняют функцию звена в пищевой цепи, обеспечивают фиксацию углерода и участвуют в глобальных циклах биогенных элементов. В течение онтогенеза растения сталкиваются с многочисленными стрессовыми факторами. Иммунитет растений сформировался при постоянном взаимодействии с микроорганизмами и в условиях динамичной среды. Он имеет сложное «двуслойное» строение: первой линией защиты служит иммунитет, индуцированный молекулярными структурами (pattern-triggered immunity, PTI); второй – иммунитет, индуцированный эффекторами (effector-triggered immunity, ETI). Первая линия защиты запускается при внедрении патогена в апопласт, вторая линия – при дальнейшем

распространении инфекции внутрь клетки. Несмотря на то, что защитные системы растений на молекулярном уровне изучены сравнительно подробно, долгое время из поля зрения исследователей ускользал аспект, связанный с участием в формировании иммунитета растений эндофитной микробиоты. В последнее время стало очевидно – иммунный статус растений обеспечивается не только совокупностью собственных защитных белков и пептидов, но и метаболитами сопутствующих микроорганизмов (бактерий, грибов), ассоциированных с ними. Это позволяет пересмотреть общепринятый взгляд на структурное разнообразие таких молекул, поскольку оно во многом определяется видовым разнообразием эндофитной микробиоты и её адаптационным (в том числе и антагонистическим) потенциалом. Настоящее исследование предполагает проведение сравнительной структурной характеристики спектра антимикробных полипептидов (АМП), синтезируемых растениями и ассоциированными с ними микроорганизмами, их количественный анализ и систематизацию функциональных свойств, что позволит понять наличие зависимости между видовым составом самих эндофитов и разнообразием АМП и комплексной устойчивостью растений к грибным и бактериальным патогенам.
Данное исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда (№19-76-30005-П).

E-mail: barashkova.an@gmail.com

ХАРАКТЕРИСТИКА ЭКЗОПОЛИСАХАРИДНОЙ КАПСУЛЫ НАФТАЛИН-ДЕГРАДИРУЮЩЕГО ШТАММА *PSEUDOMONAS* SP. VD9

Баукова[1] А.С., Ветрова[1] А.А., Церфас[2] М.О., Сузина[1] Н.Е., Делеган[1,3] Я.А.

[1]Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, ФИЦ Пущинский Научный центр биологических исследований РАН, Пущино
[2]ФГБУН ВО Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, Москва
[3]Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону

Среди микроорганизмов деструкторов высоким потенциалом разложения поллютантов обладают бактерии рода *Pseudomonas* за счет их способности к утилизации широкого спектра углеводородов. Для многих псевдомонад характерна способность к продукции экзополисахаридов (ЭПС), которые не только выполняют полезные функции для бактерий, но и могут рассматриваться как биосорбенты для детоксикации окружающей среды. Цель исследования – определение углеводного состава и пространственной организации внеклеточной капсулы, продуцируемой нафталин-деградирующим штаммом *Pseudomonas* sp. VD9. Штамм *Pseudomonas* sp. VD9, выделенный из образца нефтезагрязненного грунта, способен утелизировать нафталин, *н*-декан, салицилат, катехол, бензоат и ацетат калия с использованием данных соединений в качестве единственного источника углерода и энергии. При анализе популяции клеток штамма с помощью световой микроскопии было обнаружено, что клетки располагаются дискретно относительно друг друга независимо от выбора источника углерода для культивирования. С помощью трансмиссионной электронной микроскопии ультратонких срезов клеток *Pseudomonas* sp. VD9 было установлено, что клетки штамма формирует обширную капсулярную структуру фибриллярной природы. При росте штамма VD9 на ацетате калия и на нафталине толщина капсулы составляет порядка 500 нм и отличается плотно упакованными интенсивно контрастированными фибриллами. Капсула, формируемая штаммом при росте на декане, имеет гетерогенную структуру с хаотично расположенными глобулярными частицами размером 50-80 нм, связанными с фибриллами

капсулы. Методом тонкослойной хроматографии материала капсулы, подвергнутого гидролизу в кислой среде, в составе капсулы были определены рамноза и глюкоза.
Таким образом, штамм *Pseudomonas* sp. VD9 продуцирует фибриллярную экзополисахаридную капсулу с доминированием рамнозы и глюкозы, сохраняющую структурную организацию при росте на различных углеродных субстратах. Функции этих структур требует уточнения.

E-mail: baukova_26@mail.ru

«СЕРАЯ» БИОТЕХНОЛОГИЯ – УСПЕХИ ФИЦ «ИРКУТСКИЙ ИНСТИТУТ ХИМИИ ИМ. А.Е. ФАВОРСКОГО СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»

Беловежец Л.А., Белоусов Д. С., Приставка Е.О., Самульцев Д.О.

ФИЦ «Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского Сибирского отделения Российской академии наук», Иркутск

Проблемы биоремедиации и восстановления техногенно нарушенных земель являются актуальными не только в России, но и во всем мире. Наиболее перспективными методами решения этих проблем признаны микробиологические. Однако, разнообразие загрязнителей, сложность их утилизации требуют индивидуального подхода к каждому типу. В ИрИХ СО РАН проводятся работы по разработке методов утилизации лигноцеллюлозных отходов, таких как древесные опилки, гидролизный лигнин, коро-древесные отходы ЦБК. Нами были выделены из природных источников эффективные деструкторы лигнина и целлюлозы, собраны ассоциации микроорганизмов, способные в короткие сроки модифицировать исследуемые субстраты с получением ценного органического удобрения. Полученные микробные препараты опробованы на широком спектре субстратов в различных климатических условиях и разных регионах России в промышленных объемах. Все они показывают стабильно высокие результаты. Для высших базидиальных грибов нами был оптимизирован метод глубинного культивирования, позволяющий получать жизнеспособную биомассу грибов с высокими выходами. Разработан технологический регламент и ТУ производства. На данном этапе мы получаем 10 кг абсолютно сухих грибов в год. Кроме того, в ИрИХ СО РАН разрабатывается микробный препарат для очистки почв сельскохозяйственного назначения от остаточных количеств гербицидов на основе имазамокса. Из почв, систематически подвергавшихся обработке гербицидами выделен ряд перспективных микроорганизмов, способных в короткие сроки (7-10 дней) разлагать до 50% действующего вещества. Показано, что преимущественно имазамокс разрушают грибы, в том числе рода *Trichoderma*. Это дает возможность создания микробного препарата, способного одновременно разлагать гербицид и способствовать оздоровлению почвы. Таким образом, в ИрИХ СО РАН разрабатываются микробные препараты, нацеленные на переработку техногенных субстратов и нормализацию состояния почв сельскохозяйственного назначения.

E-mail: lyu-sya@yandex.ru

ГЕКСУРОНАТЫ МОДУЛИРУЮТ ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ОБРАЗОВАНИЕМ БИОПЛЕНОК У *ESCHERICHIA COLI*

Бессонова[1,2,3] Т.А., Магкаев[2,6] А.Т., Кузнецова[2,5] У.Д., Тутукина[1,2,3,4] М.Н.

[1]Институт проблем передачи информации им. А. А. Харкевича РАН, Москва
[2]Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва
[3]Институт биофизики клетки РАН - ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино
[4]Сколковский институт науки и технологий, Москва
[5]РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва
[6]НИУ ВШЭ, Москва

Рост в составе биопленок дает бактериальным сообществам устойчивость к антибиотикам и иммунному ответу организма, что осложняет лечение хронических инфекций, вызванных в том числе условно-патогенными штамми *E. coli*. Формирование биопленок у *E. coli* регулируется белками, некодирующими РНК и метаболитами пути Эшвелла, но точные механизмы остаются неясными. Целью работы было оценить влияние интермедиатов пути Эшвелла - D-галактуроновой и D-глюкуроновой кислот – на экспрессию генов ключевых регуляторов формирования биопленок у *E. coli* и эффективность адгезии бактериальных клеток к эпителию кишечника человека. С помощью физиологических тестов было показано, что гексуронаты снижают эффективность формирования биопленок *E. coli* K-12 MG1655, не снижая при этом их адгезии к клеткам кишечного эпителия CaCo-2 и не влияя на пробиотический штамм *E. coli* Nissle 1917. В это же время, при помощи ОТ-ПЦР в реальном времени показано, что гексуронаты неоднозначно влияют на экспрессию генов, ассоциированных с формированием биопленок и подвижностью *E. coli*. Так, D-галактуроновая кислота активирует экспрессию *csgD (*кодирует регулятор синтеза пилей-кудряшек), *ssrS* (малая РНК, суперэкспрессирована при переходе от планктонного образа жизни к биопленкам (Kaznadzey, 2024), *flgK* и *fimC* (структурные гены флагелл), что может приводить к усилению формирования биоплёнки и повышению адгезии бактерий к поверхности и согласуется с данными о необходимости галактуроновой кислоты для успешной колонизации организма хозяина клетками *E. coli* (Chang, 2004; Fabich, 2008). D-глюкуроновая кислота, напротив, снижает экспрессию основных регуляторов и, вероятно, ингибирует биоплёнкообразование. Интересным наблюдением оказалась значительная вариабельность экспрессии малых РНК SsrS и CsrC, что, возможно, отражает их роль в определении образа жизни клеток – планктонного или прикрепленного.

Работа поддержана РНФ 24-24-00435.

E-mail: tatianabessonova66@gmail.com

ДРОЖЖИ, ВЫДЕЛЕННЫЕ ИЗ МОЛОКА РАЗЛИЧНЫХ ЖИВОТНЫХ

Богданова[1,3] А.Б., Полякова[1,2] А.Н., Карпов[1] Д.С.

[1]Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва
[2]Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Почетного академика Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва
[3]Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики», Москва

Молочные дрожжи представляют интерес для биотехнологии, пищевой промышленности и микробиологии благодаря их способности ферментировать лактозу, синтезировать биологически активные соединения и формировать уникальные микробные сообщества. Изучение дрожжей из молока разных животных (коров, коз, лосей, альпак, овец) позволяет выявить видовое разнообразие, адаптационные механизмы и потенциал для практического применения. Цель работы: Характеристика дрожжевых сообществ, выделенных из молока пяти видов животных, с анализом их морфологических, биохимических и генетических особенностей.

Исследование включало посев проб на разные питательные среды (A и YPD), подсчет колоний, определение КОЕ/мл, идентификацию штаммов с помощью MALDI-TOF, а также тест на плавучесть в 20% глицерине. Также были использованы и другие методы: - отбор образцов: молоко коров, коз, лосей, альпак и овец собрано в стерильных условиях; - выделение дрожжей: посев на селективные среды (YPD с антибиотиками, жирная среда A), инкубация при 25 °C; - идентификация: MALDI-TOF MS. Подсчет колоний: Фиксировали количество выросших колоний и рассчитывали КОЕ/мл по формуле:

$$\text{КОЕ/мл} = \left(\frac{1000}{\text{Объем посева (мкл)}}\right) \times \text{Количество колоний} \times \text{Объем посева (мкл)}.$$

Всего было выделено 34 штамма дрожжей, также было выделено более 15 штаммов бактерий. Основные выделенные дрожжи: *Kluyveromyces marxianus*: Часто встречался в молоке коров и коз. Штаммы показали высокие значения КОЕ/мл и отрицательный тест на плавучесть. *Pichia fermentans*: Обнаружен в молоке коров и коз. Некоторые штаммы всплывали в глицерине. *Rhodotorula mucilaginosa*: Выделен из козьего молока, показал положительный тест на плавучесть. *Filobasidium magnum*: Встречался в козьем молоке, также всплывал в глицерине. *Candida zeylanoides*: Обнаружен в молоке коров из Коломны. Распределение по животным: Коровье молоко: Преобладали *Kluyveromyces marxianus, Pichia fermentans*, а также бактерии (например, *Klebsiella oxytoca*). Козье молоко: Чаще встречались *Rhodotorula mucilaginosa, Filobasidium magnum, Candida zeylanoides*. Другие животные: в молоке овец и альпака были выделены дрожжи, но их идентификация требует дополнительных исследований. Тест на плавучесть: Положительный результат наблюдался у *Rhodotorula mucilaginosa, Filobasidium magnum, Serratia liquefaciens* и некоторых других, что может свидетельствовать об их устойчивости к замораживанию. Сравнение сред: Среда A чаще способствовала росту дрожжей, таких как *Kluyveromyces marxianus*. Среда YPD чаще использовалась для выделения бактерий, но также поддерживала рост дрожжей, например, *Hanseniaspora uvarum*. Разнообразие дрожжей: в молоке разных животных преобладают различные виды дрожжей, что может быть связано с особенностями их микрофлоры, условиями содержания и кормления. Некоторые дрожжи (например, *Kluyveromyces marxianus*) имеют потенциал для использования в молочной промышленности благодаря их ферментативной активности. Проблемы идентификации: Часть штаммов была идентифицирована как «недостоверные», что указывает на необходимость дополнительных методов анализа (например, полногеномного секвенирования). Исследование выявило

значительное разнообразие дрожжевых культур в молоке разных животных. Наиболее распространенными оказались *Kluyveromyces marxianus* и *Rhodotorula mucilaginosa*. Тест на плавучесть позволил выделить штаммы, потенциально пригодные для длительного хранения. Дальнейшие исследования могут быть направлены на изучение функциональных свойств выделенных дрожжей и их применение в биотехнологии.

Почта: al9067388409@yandex.ru

ВЫДЕЛЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИАЛЬНЫХ ШТАММОВ-ДЕСТРУКТОРОВ ЛИГНИНА ИЗ РАЗЛАГАЮЩЕЙСЯ ДРЕВЕСИНЫ

Валидов Ш.З., Шульга Е.Ю., Исламов Б.Р., Суханов А.Ю.

Федеральный исследовательский центр Казанского научного центра Российской академии наук, Казань

Лигнин – второй по объему растительный полимер после целлюлозы. Лигнинсодержащие отходы могут стать возобновляемым источником ароматического углерода при наличии соответствующих технологий, особенно биотехнологий для утилизации этого биополимера. Из разлагающейся древесины были выделены бактериальные штаммы, способные деградировать лигнин, включая представителей энтеробактерий, в также бактерий родов *Pseudomonas* и *Bacillus*. Анализ продуктов деградации лигносульфоната методом ВЭЖХ позволил разделить штаммы на кластеры по метаболическим профилям. Наиболее эффективная деградация без накопления промежуточных продуктов наблюдалась у штаммов энтеробактерий *Ewingella americana* MGMM802, *Pantoea sp.* MGMM803 и *Raoutella terrigena* MGMM808. Другие штаммы накапливали интермедиаты, что указывает на неполное разложение лигносульфоната. Тестирование способности выделенных штаммов утилизировать монолигнолы и фенолы, такие как кумаровая кислота, гваякол, ванилин и катехол, показало, что только девять штаммов могли использовать все тестируемые соединения. Например, *Bacillus altitudinis* MGMM812 рос только на сиринголе, а *Pseudomonas lutea* MGMM814 – только на катехоле. Некоторые штаммы полностью разрушали лигносульфонат, но не могли использовать предложенные интермедиаты, что может свидетельствовать о наличии пока неизвестных путей деградации лигнина. Полученные результаты показали, что древесина на последних стадиях разложения может быть источником штаммов, деградирующих лигнин. При этом в консорциуме одни штаммы способны проводить все стадии деструкции лигнина, тогда как другие участвуют только в отдельных этапах его разложения. Все выделенные бактериальные деструкторы лигнина представляют собой ценные источники генетических систем деградации, а непатогенные штаммы-деструкторы лигнина могут быть использованы для обработки отходов деревообрабатывающей и бумажной промышленности.

E-mail: sh.validov@knc.ru

ТРАНСФОРМАЦИЯ МИКРОБИОМА И РЕЗИСТОМА ТУНДРОВЫХ ПОЧВ ПОД ВЛИЯНИЕМ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

Васильченко[1] А.С., Пошвина[1] Д.В., Степанов[1] А.А., Дилбарян[1] Д.С., Яшников[1] А.В., Шмидт[1] Э., Соромотин[2] А.В., Тесля[1] А.В.

[1]Лаборатория антимикробной резистентности, Институт экологической и сельскохозяйственной биологии (X-Bio), Тюменский государственный университет, Тюмень
[2]Институт экологии и природопользования, Тюменский государственный университет, Тюмень

Сельскохозяйственные технологии играют важную роль в формировании ландшафта планеты. Их влияние будет особенно заметно в субарктических и арктических регионах, где последствия, вероятно, будут наиболее значительными. В данном исследовании изучались функциональные свойства нетронутых и сельскохозяйственно-измененных тундровых почв, а также древних болотных отложений (возрастом 10–35 тыс лет). С помощью метабаркодирования полноразмерных генов 16S и ITS рРНК с использованием платформы PacBio мы обнаружили, что разнообразие бактерий и грибов варьируется в зависимости от типа почвы и землепользования. Образцы древних отложений показали бактериальное разнообразие, сопоставимое с современными почвами, но значительно более низкое разнообразие грибов. Сельскохозяйственная деятельность привела к появлению грибных фитопатогенов и сокращению метаболических путей бактерий. Среди бактериальных сообществ тундровых почв мы выявили необычайно высокую долю бактерий, принадлежащих к типам Patescibacteria (3,40 %) и Dependentiae (3,89 %), составляющих так называемую «микробную тёмную материю». Их геномы имеет признаки облигатного внутриклеточного образа жизни в свободноживущих простейших и других одноклеточных эукариотах. Активность гидролаз в тундровых почвах зависела от доступности питательных веществ и микробного разнообразия. По сравнению с современными почвами, древние отложения имели в 2 раза большее разнообразие генов устойчивости к антибиотикам (АРГ) и ассоциированных механизмов устойчивости, несмотря на меньшее микробное разнообразие. Факторы окружающей среды сильно влияли на микробное и резистомное разнообразие в современных лесотундровых почвах. Напротив, древнее разнообразие АРГ, предположительно, возникло благодаря видам, продуцирующим антибиотики, которые обогащали АРГ, одновременно снижая микробное разнообразие. Это исследование расширяет наше понимание субарктических тундровых почв благодаря трём ключевым выводам. Во-первых, полноразмерное секвенирование 16S рРНК и ITS выявило обширное микробное разнообразие, однако многие таксоны не были найдены в базах данных, а экологические функции грибов остаются в значительной степени неизвестными. Во-вторых, сельскохозяйственная активность радикально изменило тундровые почвы, создав плодородные плаггеноподобные системы с чётко выраженными микробными гильдиями. Микробные сообщества в заброшенных плагген-подзолах (за 29 лет) восстановились почти до естественного состояния тундровых Albic Podzols. В-третьих, исследование показало, что разнообразие генов устойчивости в почвах определяется не климатической зоной, а антропогенным влиянием и свойствами почвы, такими как pH, содержание органических веществ и структура микробиоты. Эти результаты позиционируют тундру как очаг микробного разнообразия и одновременно как хрупкую систему, находящуюся под угрозой из-за землепользования.
Финансирование: Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № 075-15-2024-563)

E-mail: avasilchenko@gmail.com.

МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ ИНЖЕНЕРИЯ ВИННЫХ ДРОЖЖЕЙ

Васягин[1] Е.А., Ураков[1] Н.В., Шаламитский[2] М.Ю., Червяк[2] С.Н., Иванова[2] Е.В., Загоруйко[2] В.И., Белецкий[1] А.В., Ракитин[1] А.Л., Марданова[1] Е.С., Кушниров[1] В.В., Равин[1] Н.В., Марданов[1] А.В.

[1] Институт биоинженерии, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва
[2] Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия «Магарач» РАН, Ялта

Современное промышленное виноделие основано на использовании заквасок специализированных винных штаммов дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Коммерческие винные штаммы имеют ряд преимуществ перед природными изолятами, их использование гарантирует стабильность и воспроизводимость технологий промышленного виноделия. Однако, в условиях высококонкурентного рынка вина, который предъявляет все более новые требования к качеству, а также расширению ассортимента получаемой продукции, более важной становится разработка новых винных штаммов и технологий виноделия. Классические методы улучшения штаммов основаны на многократном чередовании последовательных этапов мутагенеза и селекции. Новейшие технологии CRISPR/Cas9 геномного редактирования открывают уникальные возможности для создания улучшенных дрожжевых штаммов для различных биотехнологических процессов. Новые возможности для точной инженерии винных штаммов, основанной на детальном знании молекулярной природы конкретного признака или фенотипа, недавно появились благодаря быстрому прогрессу в геномных и «постгеномных» исследованиях и со штаммами винных дрожжей.
В докладе будут рассмотрены примеры работ в области направленной метаболической инженерии винных дрожжей, в том числе выполненные нашим коллективом. В качестве объекта исследования в нашей работе был использован винный штамм дрожжей *S. cerevisiae* I-328 из коллекции ВННИИ виноградарства и виноделия «Магарач» РАН, который используется в промышленном виноделии. В ходе наших работ были получены новые штаммы дрожжей с улучшенными характеристиками. В частности, использование новых штаммов приводит к снижению образования этилкарбомата в вине, снижает кислотность и улучшает его букет, позволяет получить осветленные виноматериалы с высоким содержанием пектина и другие штаммы. Созданные новые штаммы дрожжей были проверены в условиях микровиноделия, а также охарактеризованы на геномном и транскриптомном уровне. Полученные штаммы являются перспективными для совершенствования отечественных технологий виноделия.
Работа поддержана Минобрнауки России (тема 125052006274-4).

E-mail: mardanov@biengi.ac.ru

ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ МИКРОБНЫХ ТОПЛИВНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ БЕНТОСНОГО ТИПА В ПОЛЕВОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ В УСЛОВИЯХ ЯПОНСКОГО МОРЯ

Волченко[1] *Н.Н., Масленников*[2] *С.И., Лазукин*[3] *А.А., Лазукин*[1] *А.А., Кабилов*[4] *М.Р., Самков*[1] *А.А., Худокормов*[1] *А.А.*

[1]Кубанский государственный университет, Краснодар
[2]Национальный научный центр морской биологии им. А.В.Жирмунского ДВО РАН, Владивосток
[3]Национальный исследовательский университет ИТМО, Санк-Петербург
[4]Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

Одними из активно исследуемых в настоящее время устройств на основе микробных технологий являются микробные топливные элементы (МТЭ). Особый интерес представляют бентосные МТЭ (БМТЭ), функционирующие на основе сложных естественных микробных сообществ донных осадков. На базе биостанций «Запад» и «Восток» ННЦМБ ДВО РАН, расположенных в заливе Петра Великого Японского моря с 2019 г проводятся полевые исследования БМТЭ на основе образцов донного ила под воздействием различных физико-химических и биологических факторов. Ранее была показана (Океанология, 2023, Т. 63, № 6, стр. 1010-1020) возможность длительного биоэлектрогенеза в круглогодичных условиях. В рамках последующих экспериментов изучено функционирование МТЭ с обработкой бианода культурой *Shewanella oneidensis* MR-1, с только естественным микробным сообществом и в случае варианта с разрывом электрической цепи. В первом и втором вариантах электрическое напряжение составляло 558 и 303 мВ. Уровень окислительно-восстановительного потенциала – соответственно -289 мВ, -163 мВ и -34 мВ. Метагеномный анализ, выполненный в ИХБФМ СО РАН, показал присутствие *Shewanella oneidensis* в первом образце, на порядки меньшее – во втором. Что вероятно соответствует штамму-интродуценту и аборигенной шеванелле в условиях замкнутой цепи. Также были детектированы представители родов *Exiguobacterium, Tepidibacillus, Desulfosporosinus, Anoxybacter* и др.

E-mail: volchenko.n@mail.ru

НОВЫЙ СПОСОБ ДЛИТЕЛЬНОГО ХРАНЕНИЯ ПРОБИОТИЧЕСКИХ КУЛЬТУР И ПОВЫШЕНИЯ ИХ ВЫЖИВАЕМОСТИ

Галуза[1] *О.А., Храмова*[2] *А.В., Эль-Регистан*[1] *Г.И, Николаев*[1] *Ю.А.*

[1] Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва
[2]Московский политехнический университет, Москва

В настоящее время активно изучается роль микрофлоры ЖКТ в здоровье человека, особое внимание уделяется молочнокислым бактериям (МКБ). МКБ широко применяются в пищевой промышленности как заквасочные культуры, но существует проблема снижения качества продукции из-за быстрой гибели клеток, при этом также часть клеток не способна доходить до толстого кишечника. Существующие методы сохранения жизнеспособности бактериальных клеток (низкие температуры хранения, лиофилизация и др.) дороги. В связи с этим актуален поиск новых, эффективных и менее затратных способов хранения пробиотических продуктов. Перспективным является метод иммобилизации живых клеток бактерий в гели, в частности, новый биосовместимый силанольно-гуматный гель (СГГ) который показал высокую эффективность в сохранении жизнеспособности МКБ до 5 мес.

Исследование способности иммобилизованных и хранившихся в СГГ МКБ к синтезу антимикробных веществ и выживаемости в условиях, имитирующих факторы верхних отделов ЖКТ составило цель работы. Объект исследования — штамм МКБ *Enterococcus faecium* М3185. При иммобилизации и хранении клеток МКБ в СГГ в течение месяца увеличивается их антагонистическая активность в отношении грамотрицательной *E. coli* К12 в 2.3 раза относительно контрольного неиммобилизованного образца, в отношении грамположительного *S. aureus* АТСС 6538 – в 7 раз, в отношении дрожжевых грибов *Y. lipolytica* Y-4950 – в 3.5 раза. Также клетки энтерококка после длительного хранения в СГГ выживают лучше в условиях, *in vitro* имитирующих ЖКТ. При pH 1.5-2.5 выживает до 30%, что на 3 порядка выше, чем в контроле. При воздействии ферментов поджелудочной железы выживает до 100% клеток (в контроле – 100% летальность). Таким образом, иммобилизация пробиотических культур в СГГ является перспективным подходом для продления сроков хранения биопрепаратов и способствует сохранению их потенциальных пробиотических свойств.
Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 24-24-20062.

E-mail: olesya_galuza@mail.ru

ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММА *BACILLUS*, ВЫДЕЛЕННОГО С ПОВЕРХНОСТИ ПОЛИМЕРНОГО КОМПОЗИЦИОННОГО МАТЕРИАЛА

Герасимчук[1] А.Л., Ерофеевская[2] Л.А., Сысоева[1] А.Н., Франк[1] Ю.А., Марченко[1] Е.С.

[1]Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск
[2]Институт проблем нефти и газа ОП ФИЦ ЯНЦ СО РАН, Якутск

Полимерные композиционные материалы (ПКМ) относятся к новому классу материалов, обладающих рядом существенных преимуществ перед металлическими материалами, которые могут использоваться в различных отраслях промышленности, включая строительство. Однако ПКМ требуют повышенного внимания для их сохранения в условиях разрушающего действия окружающей среды. Изучение микроорганизмов, потенциально стимулирующих биоповреждения ПКМ, важно для разработки способов борьбы с биодеградацией конструкционных полимерных материалов. Целью исследования была физиологическая характеристика и оценка устойчивости микроорганизмов из сообщества, развивающегося на поверхности ПКМ, к биоцидным добавкам. Штамм B.a-ПКМ-14 выделен ранее из образца углепластика, экспонируемого на открытом полигоне климатических испытаний в г. Якутск, Республика Саха, в связи с чем выбран в качестве одного из тестовых микроорганизмов для изучения биоцидных свойств ПКМ, модифицированных добавлением антимикробных веществ. На основе анализа генов 16S рРНК и gyrB штамм отнесен к виду *Bacillus atrophaeus*, представители которого имеют чрезвычайно устойчивые споры, используемые даже для биоиндикации качества стерилизации различных материалов. На диагностических средах при оптимальной температуре культивирования +28 °C штамм *Bacillus* sp. B.a-ПКМ-14 демонстрирует липолитическую и протеазную активность. Показана антагонистическая активность в отношении фитопатогенного штамма *Fusarium equiseti*. По результатам биохимического теста микроорганизм утилизирует фруктозу, декстрозу, трегалозу, сахарозу, салицин, маннит, эскулин, цитрат и не использует лактозу, ксилозу, мальтозу, галактозу, раффинозу и ряд других углеводов. Тестирование чувствительности штамма к 17 различным антимикробным препаратам методом дисков выявило устойчивость к цефтазидиму (30 мкг), азтреонаму (30 мкг), цефиксиму (5 мкг) и левомицитину (30 мкг). Предварительные исследования устойчивости *Bacillus* sp. B.a-ПКМ-14к наночастицам оксида меди, которые могут быть использованы в качестве биоцидных агентов в модифицированных

ПКМ, показали жизнеспособность клеток на плотной питательной среде с добавлением наночастиц в концентрации до 0.1 масс%. Полученные данные будут использованы при разработке модифицированных ПКМ, устойчивых к биоповреждениям.
Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 25-69-00009, https://rscf.ru/project/25-69-00009/

E-mail: gerasimchuk_ann@mail.ru

ИЗУЧЕНИЕ РАЗНООБРАЗИЯ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ НА СЕЛЕКТИВНЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ ИЗ СТОЧНЫХ ВОД ПРОИЗВОДСТВА АКВАКУЛЬТУРЫ В ИНДОНЕЗИИ

Герасимчук А.Л., Воробьев Д.С., Трифонов А.А., Косов А.В., Ивасенко Д.А.

Томский государственный университет, Томск

Креветочное хозяйство является динамично развивающейся областью аквакультуры и, как следствие, вносит существенный вклад в образование загрязненных сточных вод. Целью данного исследования явилось изучение культивируемой части бактериального сообщества сточных вод, образуемых производством по выращиванию креветок на территории Индонезии, и выявление деструкторов органического вещества. Образцы сточных вод предприятия, расположенного на территории Регентства Суменеп в Индонезии, отобраны в ноябре 2024 года. Показатели БПК и ХПК сточной воды составляли 575 мгО/дм^3 и 2075 мгО/дм^3, соответственно, органического вещества – 390 мг/дм^3, ионов аммония – 41 мг/дм^3. Накопительные культуры получали на жидкой минеральной среде с добавлением в качестве единственного источника углерода таких субстратов (2 % v/v), как пальмовое масло, микрокристаллическая целлюлоза, хитин. На плотных питательных средах получено 49 чистых культур, для 37 из них проанализированы близкие к полной последовательности гена 16S рРНК. Изоляты относились к филумам *Bacillota* (класс *Bacilli*), *Bacteroidota* (класс *Flavobacteriia*), *Pseudomonadota* (классы *Gamma-*, *Alpha-* и *Betaproteobacteria*). Всего выявлено не менее 26 бактериальных видов, относящихся к 17 родам и 11 семействам. По видовому разнообразию доминировали представители *Bacillaceae* (*Lysinibacillus*, *Cytobacillus* и *Bacillus*) и *Pseudomonadaceae* (*Stutzerimonas*, *Pseudomonas*, *Metapseudomonas* и *Ectopseudomonas*). 17 изолятов отнесены к патогенным видам родов *Klebsiella*, *Stenotrophomonas*, *Pseudomonas*, *Metapseudomonas*, *Alcaligenes* и др., часто встречающимся в сточных водах разного происхождения. К перспективным деструкторам органического вещества относятся легко культивируемые изоляты с липолитическими свойствами, родственные непатогенным представителям *Cytobacillus*, *Stutzerimonas*, *Bacillus*, *Lysinibacillus*, *Metasolibacillus* и *Brevundimonas*.
Исследование выполнено в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (проект № FSWM-2024-0006).

E-mail: ivasenko.da@mail.ru

СОЗДАНИЕ СИНТЕТИЧЕСКОГО МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА ДЛЯ РАЗРАБОТКИ БИОУДОБРЕНИЙ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ

Данилова Ю. В., Васильева Ю. А., Гильмутдинова А. И., Мамчур А. А., Сулейманова А. Д., Рудакова Н. Л., Шарипова М. Р.

НИЛ «Агробиоинженерия» ИФМиБ, ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Казань

Технологии на основе микроорганизмов применяются для восстановления почвы, а также для стимуляции роста и защиты растений. Актуальным является разработка и применение микробных консорциумов, состоящих из совместимых штаммов с различными способами биоконтрольного действия. SynCom-технологии – это создание синтетических микробных сообществ. Целью проекта является разработка комбинации таксономически удаленных полезных микроорганизмов-кандидатов SynCom с разными способами действия, изучение взаимодействия между ними. В рамках предыдущего исследования мы изолировали и охарактеризовали штаммы микроорганизмов с биоконтрольными свойствами, был создан музей ризосферных изолятов, включая представителей родов *Bacillus*, *Pantoea*, *Pseudomonas*. Наличие антагонистических взаимоотношений у 14-ти штаммов-кандидатов определяли путем посева на твердые питательные среды перпендикулярными штрихами двух бактериальных культур. Среди всех представителей штаммы *Pantoea brenneri* 3.2, *Bacillus subtilis* IV3, *B. subtilis* 5, *B. amyloliquefaciens* 8, *B. pumilus* 7P и P*seudomonas* sp. BK1B2 проявили наименьшую антагонистическую активность по отношению друг к другу и к остальным штаммам. Это свидетельствует о том, что данные штаммы могут быть использованы в создании консорциумов (по 2 и более штаммов). Штаммами с наибольшей антагонистической активностью оказались *B. pumilus* 3-19, *B. subtilis* S6, *B. velezensis* IV1, *P. brenneri* 3.5.2., *P. peli* S3, *Pseudomonas* sp.BK2B9. Эти бактерии оказались неперспективны для создания сообществ. Далее будет проведена оценка уровня конкуренции штаммов-кандидатов, тестирование биоконтрольных свойств консорциумов (способность к синтезу сидерофоров, биосурфактантов, фитогормонов (ИУК), антимикробных метаболитов, фосфат мобилизующая активность). По результатам сравнения суммарных активностей консорциума с аналогичными активностями их монокультур будут выбраны оптимальные варианты SynCom.

Исследование выполнено за счет средств гранта РНФ №25-16-00143.

E-mail: Danilova146@mail.ru

ПРОБИОТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ БАКТЕРИЙ РОДА *RHODOCOCCUS*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ОКУНЯ РЕЧНОГО

Доколин Д.А., Паюта А.А., Сысуев А.С., Зайцева Ю.В.

Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, Ярославль

Интенсификация производства в аквакультуре обычно связана с увеличением плотности содержания товарной рыбы, что неизбежно влечет за собой угрозу возникновения вспышек инфекций. Профилактические мероприятия, направленные на снижение данного риска, заключаются в применении антибактериальных препаратов. Это, в свою очередь, может привести к появлению устойчивых штаммов патогенных микроорганизмов. Потенциальной альтернативой является использование пробиотиков, способных подавить патогенные свойства возбудителей инфекций. Целью данной работы являлась оценка антагонистического

потенциала бактерий рода *Rhodococcus* в отношении возбудителей инфекций рыб. Объект исследования – штаммы бактерий рода *Rhodococcus*, выделенные из биологического материала окуня речного. Изоляты *Aeromonas salmonicida* A1, *Aeromonas salmonicida* W70, *Aeromonas piscicola* GPR23 и *Aeromonas bestiarum* VR410 использовались в качестве модельных микроорганизмов-возбудителей инфекций рыб. Способность штаммов *Rhodococcus* sp. подавлять рост аэромонад в условиях *in vitro* проверяли методом агаровых блоков. Способность родококков подавлять гемолитические свойства аэромонад определяли с помощью воздействия культуральной жидкости после совместного культивирования бактерий на 5% эритроцитарную массу. Штаммы *Rhodococcus* sp. PFS1.20, *Rhodococcus* sp. PFS2.95 и *Rhodococcus* sp. PFS3.70 в ходе эксперимента успешно подавляли рост бактерий рода *Aeromonas*. Кроме того, исследуемые штаммы подавляли гемолитические свойства трех из четырех штаммов бактерий рода *Aeromonas*. Изоляты *Rhodococcus* sp. PFS1.20, *Rhodococcus* sp. PFS2.95 и *Rhodococcus* sp. PFS3.70 обладают пробиотическим потенциалом как средство профилактики аэромонозов в аквакультуре. Планируется испытание данных штаммов *in vivo* в лабораторных условиях и на базе объектов рыбоводства.
Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-76-00065, https://rscf.ru/project/24-76-00065/.

E-mail: dimondokolin@yandex.ru

ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ БИОЛОГИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ ПРИРОДНЫХ ШТАММОВ *BACILLUS* SPP.

Дудник Д.Е.

Алтайский государственный университет, ИЦ Промбиотех, Барнаул

Бактерии рода *Bacillus* благодаря выраженным антимикробным свойствам рассматриваются как перспективные агенты биологического контроля. Антимикробные эффекты, проявляемые штаммами бацилл, обусловлены разными механизмами (продукция соединений с антибактериальной и антифунгальной активностью, конкуренция с патогенными микроорганизмами за питательный субстрат). Понимание данных механизмов позволит разрабатывать препараты с высокой биологической активностью, а также повысить эффективность их применения. В качестве объектов исследования использовали штаммы из коллекции ИЦ «Промбиотех» *Bacillus subtilis* 1/8 и *Bacillus atrophaeus* 7. Антагонистическую активность культуральных жидкостей и супернатантов штаммов изучали методом лунок. В качестве тест-культур использовали штаммы *Escherichia coli* 6Т, *Staphylococcus aureus* 2Т и *Candida albicans* 1 из коллекции ИЦ. Белковую фракцию культуральной жидкости осаждали с помощью сульфата аммония. Определение антимикробного действия полученных смесей пептидов проводили диско-диффузионным методом. Молекулярную массу осажденных белков определяли с помощью денатурирующего электрофореза в 15 % полиакриламидном геле. По результатам исследования культуральные жидкости и супернатанты штаммов ингибировали рост всех тест-культур. Пептиды, осажденные из супернатантов исследуемых штаммов, обладали бактерицидной активностью в отношении культуры *S. aureus* 2Т. Пептиды штамма *B. atrophaeus* 7 также ингибировали тест-культуры *E. coli* 6Т и *C. albicans* 1. По результатам электрофоретического анализа супернатанты обоих штаммов включали множество пептидов разной молекулярной массы. При этом для *B. atrophaeus* 7 отмечено множество полос пептидов с молекулярной массой менее 25 кДа.

На электрофореграмме супернатанта *B. subtilis* 1/8 помимо пептидов с молекулярной массой менее 25 кДа также зафиксирована полоса пептида с массой 37 кДа.
Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта губернатора Алтайского края, соглашение № 30-2024- 004271.

E-mail: dudnik-dina@mail.ru

ВЫДЕЛЕНИЕ СУЛЬФАТРЕДУЦИРУЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ, УСТОЙЧИВЫХ К НИЗКИМ ЗНАЧЕНИЯМ pH И ВЫСОКИМ КОНЦЕНТРАЦИЯМ МЕТАЛЛОВ

Дюбарь А.М., Кадников В.В., Белецкий А.В., Литти Ю.В., Меламуд В.С., Марданов А.В., Булаев А.Г.

ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

Образование кислых сточных вод, загрязненных ионами металлов, является экологической проблемой как для действующих ГОКов, так и для заброшенных месторождений. Для обезвреживания таких вод используются биотехнологии, основанные на использовании сульфатредуцирующих бактерий (СРБ), активность которых приводит к образованию сульфид-иона и осаждению ионов металлов. В данной работе была выделена накопительная культура СРБ, устойчивая к низким значениям pH среды и тяжелым металлам, и исследованы адаптивные изменения в ее составе при изменении условий культивирования.
Для выделения СРБ использовали пробу вод подземного хранилища отходов горнодобывающего производства и среду Видделя с ацетатом и нейтральным pH. Культуру адаптировали к низким значениям pH среды (2.2–3.6) и присутствию ионов Cu и Zn. Состав культур, сформировавшихся в разных условиях, определяли путем анализа вариабельных фрагментов V3-V4 гена 16S рРНК.
Выделенная культура СРБ росла как при нейтральных, так и низких pH среды, где рост сопровождался повышением pH среды до 3.8–5.8, а также снижением концентраций ионов Cu и Zn. Основными выявленными СРБ были представители рр. *Solidesulfovibrio, Desulfotruncus, Desulfofarcimen, Desulfosporosinus*. Снижение pH среды приводило к изменению количественных соотношений между микроорганизмами.
В ходе выполненной работы была получена культуры СРБ, адаптированная к экстремальным значениям среды, которая может быть использована для биологической очистки вод от сульфатов и металлов.
Исследование было профинансировано Российским Научным Фондом – грант № 21-64-00019.

E-mail: annadbr1@yandex.ru

ВЫДЕЛЕНИЕ впРНК ИЗ БИОМАССЫ ПЕКАРСКИХ ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* В ПОЛУПРОМЫШЛЕННОМ МАСШТАБЕ

Евдокимов И.Ю., Иркитова А.Н., Ширманов М.В., Дудник Д.Е.

ФГБОУ ВО «Алтайский государственный университет», Барнаул

Saccharomyces cerevisiae – простейшие одноклеточные эукариотические организмы. Согласно современным представлениям, эукариотическая РНК представляет собой смесь

полирибонуклеотидов разных молекулярных масс, включает мРНК, тРНК, рРНК, также ряд минорных компонентов и природные олигорибонуклеотиды. Цель исследования – получить максимальный выход дрожжевой впРНК простыми биотехнологическими методами. В качестве материала использовали хлебопекарные дрожжи «Рекорд», красные. 90 кг биомассы разделили на 3 части по 30 кг. Каждую часть смешали в ферментере со 120 л 2% раствора олеиновой кислоты, в 1 и 2 внесли NaCl до 1,5М. 1 и 3 вариант (В1 и В3) выдержали 80 мин при 99±1 °С, 1,5 Bar; 2 вариант (В2) – 80 мин при 121±1 °С, 1,5 Bar. Остудили, центрифугировали. В В1 и В2 надосадочные жидкости смешали с изопропанолом, супернатант В3 довели до 2М NaCl, смешали с изопропанолом, осадили при +10 °С 48 ч. Центрифугировали, осадки (г: В1 – 2463, В2 – 4312, В3 – 1317) лиофилизировали. В сухих концентратах (г: В1 – 1250, В2 – 1660, В3 – 616) измерили содержание впРНК по методу Спирина. Содержание впРНК, %: В1 – 29,2, В2 – 13,1, В3 – 43,1. Таким образом, выдержка 80 мин при 99±1 °С, 1,5 Bar в 2% олеиновой кислоте, осаждение NaCl и изопропанолом в течении 48 ч позволила получить наибольшее содержание впРНК – 43,1%, но общая масса пептидной смеси – наименьшая. Исследование поддержано грантом Губернатора Алтайского края в форме субсидий для разработки качественно новых технологий, создания инновационных продуктов и услуг в сферах переработки и производства пищевых продуктов, фармацевтического производства и биотехнологий (соглашение № 30-2024-004271).

E-mail: ivan.evdokimov.92@mail.ru

КОНСТРУИРОВАНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ВЕКТОРА, НЕСУЩЕГО ГЕН БИЛИРУБИНОКСИДАЗЫ, ДЛЯ ТРАНСФОРМАЦИИ *ESCHERICHIA COLI* И *CORYNEBACTERIUM GLUTAMICUM*

Зубарь[1,2] В. А., Семашко[1] Т. В.

[1]Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь,
[2]Белорусский Государственный Университет, Минск, Беларусь

Билирубиноксидаза, относящаяся к голубым медьсодержащим оксидазам, применяется в промышленности, медицине, а также при создании биосенсоров и биотопливных элементов. Для промышленного производства необходимо создание высокоактивных штаммов-продуцентов. *Corynebacterium glutamicum* перспективен благодаря устойчивости к стрессам и способности экспрессировать гетерологичные белки, а *Escherichia coli* остаётся классической моделью для клонирования и экспрессии. Цель: создание генно-инженерных штаммов, синтезирующих билирубиноксидазы на базе *E. coli* и *C. glutamicum.* Проведено полногеномное секвенирование гриба *Albifimbria verrucaria* БИМ F-113, синтезирующего билирубиноксидазу. Идентифицирован ген длиной 2038 п.н. с пятью интронами и GC-составом 50%, кодирующий белок из 572 аминокислот (молекулярная масса 71,9 кДа, изоэлектрическая точка 5,02, медные центры Cu_3 (84–198) и Cu_2 (376–513)). Последовательность гена показала 99,96% сходства с известным геном *Alb. verrucaria* (NCBI Q12737) и 99,44–99,65% с другими вариантами. Анализ выявил оптимальные кодоны для экспрессии в *C. glutamicum*. Получена последовательность CDS гена для трансформации в бактериальные клетки. Для создания рекомбинантных векторов использованы плазмиды pSMT3-MN_PTc (для *C. glutamicum* БИМ B-78) и pET42a(+) (для *E. coli* BL21(DE3)). Созданы векторы pET42a-BOX и pSMT3-BOX, несущие ген билирубиноксидазы. Отработаны условия переноса гена методами: электропорации для *E. coli* и сепиолитной трансформации для *C. glutamicum*. Получены трансформанты с частотой $2{,}5\times10^{-6}$ и $6{,}68\times10^{-6}$ соответственно.

Таким образом, созданы векторы и рекомбинантные штаммы, которые составляют основу для дальнейших исследований билирубиноксидазы и разработки технологии получения данного фермента.

E-mail:lera.zubar@mail.ru

СТРАТЕГИИ СОЗДАНИЯ ВАКЦИН ПРОТИВ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ И ПТИЦ: ПРОШЛОЕ, НАСТОЯЩЕЕ, БУДУЩЕЕ

Измалкова[1,2] Т. Ю., Грановский[1,2] И.Э.

[1]Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина, ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН», Пущино
[2]Институт биохимии им. А.Н. Баха, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

Бактериальные инфекции наносят существенный урон животноводству и птицеводству. Наиболее важной стратегией борьбы с инфекционными заболеваниями является вакцинация – главная альтернатива применению антимикробных препаратов. Со времён создания Луи Пастером первых ветеринарных вакцин против пастереллеза птиц, сибирской язвы и рожи свиней в области вакцинологии был достигнут большой прогресс. В докладе будут рассмотрены поколения ветеринарных вакцин против бактериальных патогенов, начиная с природных аттенуированных и инактивированных цельноклеточных вакцин первого поколения и заканчивая последними разработками с использованием достижений обратной вакцинологии, биоинформатики и сравнительной протеомики, а также перспективы и проблемы современной вакцинологии. В докладе будет представлена разработанная нами первая российская эффективная живая комбинированная вакцина третьего поколения от сальмонеллеза и колибактериоза. В качестве вектора использован аттенуированный штамм *Salmonella enterica subsp. enterica serovar Enteritidis R-6*, который экспрессирует поверхностные антигены патогенной кишечной палочки *E. coli* 388. В настоящее время вакцина на основе штамма *S. eneritidis R-6 ecp-chromo*, получила коммерческое название «Авигард SE ПРО» и находится на стадии государственной регистрации. Результаты нашей работы открывают перспективы получения вакцин нового поколения.

E-mail: granovsky@pbcras.ru

АТТЕНУИРОВАННЫЕ ШТАММЫ *SALMONELLA ENTERICA* КАК ПЛАТФОРМА ДЛЯ СОЗДАНИЯ ВЕКТОРНЫХ ВАКЦИН

Измалкова[1,2] Т. Ю., Устинова[1] В.В., Грановский[1,2] И.Э.

[1]ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН», Пущино
[2]Институт биохимии им. А.Н. Баха, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

Использование микроорганизмов для переноса и доставки гетерологичных антигенов является одним из самых перспективных направлений в разработке вакцин третьего поколения. Большинство успешных работ по экспрессии бактериальных, вирусных и паразитарных детерминант сделано на платформе инвазивных штаммов *Salmonella enterica* (RASV). Сальмонелла является значимым патогеном человека и животных, поэтому для предотвращения развития инфекционного процесса векторные штаммы должны быть

надёжно аттенуированы с соблюдением баланса между ослаблением и иммуногенностью. Патогенные свойства сальмонеллы определяются сложным взаимодействием множества факторов вирулентности. Полногеномное секвенирование – основной инструмент характеристики изолятов *Salmonella*, включая вакцинные штаммы. Штамм *Salmonella enterica subsp. enterica serovar Enteritidis* R-6 был получен ФГБУ «ВГНКИ» из популяции аттенуированного штамма *Salmonella enteritidis* и обладает низкой стабильной остаточной вирулентностью. На основании данных полногеномного секвенирования проведён анализ факторов вирулентности *Salmonella Enteritidis* R-6 в сравнении с референтными патогенными и вакцинными штаммами *Salmonella enterica.* Множественные мутации, затрагивающие факторы адгезии, инвазии, уклонения от системы комплемента, подтверждают аттенуацию и возможность безопасного использования штамма *Salmonella enteritidis* R-6 как в качестве живой вакцины, так и платформы для создания векторных вакцин. Проведённые исследования позволяют выстроить рациональную стратегию направленного ослабления бактерий рода *Salmonella*.

E-mail: tatiz@pbcras.ru

ОСОБЕННОСТИ МАСШТАБИРОВАНИЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ РАЗРАБОТОК

Иркитова А.Н., Евдокимов И.Ю.

ФГБОУ ВО «Алтайский государственный университет», Барнаул

При разработке биопрепаратов для отраслей народного хозяйства используют микроорганизмы с высокой биологической активностью и/или продукты их жизнедеятельности. Несмотря на сотни ежегодных публикаций о получении новых эффективных штаммов, дефицит качественных биопрепаратов сохраняется. Главная причина такой ситуации – отсутствие этапа масштабирования. Микробные препараты, полученные в лабораторных условиях, оказываются не востребованы вследствие отсутствия технологий их производства, либо имеющиеся – экономически не выгодны, или не воспроизводимы с увеличением объема. В качестве объектов исследования использовали бактерии из коллекции Инжинирингового центра (ИЦ) «Промбиотех» АлтГУ: *Bacilus spp., Pseudomonas spp., Lactobacillus spp., Serratia spp.* и др. Технологии масштабирования отрабатывали на опытно-производственном участке, представляющем собой цепочку полного цикла, позволяющего доводить микробиологические разработки до выпуска опытного образца либо партии. В ходе работы проведен ряд ферментаций разных микроорганизмов при увеличении объема культуральной жидкости от колбы до ферментера объемом 1 $м^3$ на промышленных средах. Отработаны этапы технологического цикла: центрифугирование, концентрирование, лиофилизация и пр. На основе некоторых штаммов разработаны новые биопрепараты. Результаты, полученные в лабораторных условиях (численность клеток, активность целевого БАВ, скорость роста и пр.) не всегда воспроизводятся при масштабировании до опытного образца. Исследование поддержано грантом Губернатора Алтайского края разработки новых технологий, создания инновационных продуктов и услуг в сферах переработки и производства пищевых продуктов, фармацевтического производства и биотехнологий (соглашение № 30-2024-004271).

E-mail: elen171987@mail.ru

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИННОВАЦИОННОЙ СТАЦИОНАРНОЙ ЗАГРУЗКИ В БИОТЕХНОЛОГИИ АНАММОКС

Канапацкий[1] Т.А., Грачев[1] В.А., Пименов[1] Н.В., Марданов[2] А.В., Кожушко[3] А.Ю., Николаев[1] Ю.А.

[1] Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва
[2] Институт биоинженерии ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва
[3]ООО НПФ ЭТЕК, Калуга

Анаммокс-бактерии перспективны для использования в очистке сточных вод с высоким содержанием аммония. Широко распространённым технологическим приёмом повышения производительности и надёжности биотехнологий очистки сточных вод является иммобилизация микробных сообществ на различных носителях прикреплённого биоценоза (НПБ). В практике водоочистки используются несколько типов НПБ – стационарные и подвижные, из различного материала, разной формы. Ранее мы показали, что носители из нетканого материала обладают высокими удерживающими ил свойствами. Целью работы была оценка эффективности иммобилизации анаммокс-сообщества на инновационном стационарном полимерном НПБ из нетканого материала на основе полиэтилена и полипропилена, разработанном и изготовленном ООО «НПФ ЭТЕК». Культивирование анаммокс-сообщества проводили в биореакторе непрерывного действия SBR-типа (с чередованием кислородных и бескислородных стадий). Инновационный ламинарный носитель типа «Паутинка» отличался от прототипа, НПБ типа Поливом уменьшенной толщиной нитей и ламелл. После выхода реактора на стабильный режим работы (3 мес), характеризующийся удалением 70-90% азота от 200 мг/л в поступающей на очистку воде, были рассчитаны удельные показателя работы биореактора (объёмный и на массу активного ила). Для сравнения были использованы наши данные, полученные ранее для других типов НПБ в разных реакторах – ПОЛИВОМ в виде цилиндра, биочипсы двух типов. Экспериментальный НПБ продемонстрировал наивысшие показатели производительности по объёму реактора и на единицу массы активного ила, и перспективен для промышленного применения (очистки сточных вод).
Работа финансировалась из средств РНФ (проект № 21-64-00019-П).

E-mail: timkanap_inmi@mail.ru

СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ КОМЕНОВОЙ КИСЛОТЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИМ СИНТЕЗОМ

Качанова О.А., Сухинин А.А., Цымбалюк И.Ю., Миркин Я.Б., Бабичев С.А.

ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Краснодар

Коменовая кислота (КК) является перспективной субстанцией для создания лекарственных препаратов, поскольку обладает уникальным сочетанием биологических свойств: антиоксидантной, седативной, нейротропной, антиабстинентной, анксиолитической, регенеративной и антидепрессантной активностью. Применение КК ограничено высокой ценой препарата, так как существующие способы получения либо имеют низкий выход продукта, либо энергозатратны. Цель – разработать эффективный способ получения КК на основе микробиологического синтеза. Объект исследования – синтез КК бактерией *Gluconobacter oxydans*-03 в ходе периодического культивирования на питательной среде

следующего состава: глюкоза – 35 г/л; дрожжевой экстракт – 1,17 г/л; калий фосфорнокислый однозамещенный – $0{,}12 \times 10^{-3}$ г/л; аммоний фосфорнокислый двузамещенный – $0{,}619 \times 10^{-3}$ г/л. Сущность разработанного метода заключается в ферментации штамма-продуцента Gluconobacter oxydans-03 в течение 72-78 ч. при 28 ^{0}C на питательной среде с аэрацией до накопления целевого продукта. Биомассу отделяют центрифугированием в течение 40 минут при 3000-3500 об/мин. Супернатант нагревают до 80-85 ^{0}C 30 минут, после чего из него выделяют натриевую соль КК на анионите АВ-17 в течение 8 часов с добавлением гидрокарбоната натрия. Затем коменат натрия обрабатывают 17-19 % раствором соляной кислоты до выделения осадка КК. Для очистки от примесей глюконовых кислот осадок промывают водно-спиртовым раствором (вода/спирт – 3/1) из расчета 10 мл жидкости на 1 г осадка. Максимальный выход КК составил 18,83 г на 100 г глюкозы. Степень чистоты целевого продукта – 96-99,5%. Разработанный способ превосходит по выходу целевого продукта известные аналоги и позволяет получать субстанцию КК высокой степени чистоты.

E-mail: oakachanova@gmail.com

РОЛЬ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ В РАЗВИТИИ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА АРКТИКИ

Карлов Д.С., Кузнецова И.Г., Гуро П.В., Сазанова А.Л., Тихомирова Н.Ю., Белимов А.А., Сафронова В.И.

ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург

Бобово-ризобиальный симбиоз играет одну из ключевых ролей в сельском хозяйстве. Особую значимость эта роль приобретает при создании устойчивого земледелия на арктических территориях России в экстремальных почвенно-климатических условиях. В настоящее время, большое внимание уделяется решению задач по созданию и развитию производства сельскохозяйственной продукции на территории северных регионов России в условиях резкого изменения климата и ограниченного применения минеральных удобрений в Арктике. Микробные препараты, адаптированные к агроклиматическим условиям Севера, могут являться основой при создании экологически устойчивого земледелия на этих территориях. Изучение таксономического разнообразия арктических ризобий и их симбиотической активности в отношении различных видов бобовых растений позволяет определить спектр хозяйской специфичности штаммов и выявить наиболее эффективных азотфиксаторов, адаптированных к северным условиям. Одним из важнейших источников генетических ресурсов высокоэффективных ризобиальных штаммов могут служить эндемичные бобовые п-ова Камчатка, в том числе растения *Oxytropis ochotensis, O. exerta* и *O. evenorum*, участвующие в формировании естественных луговых пастбищ. Штаммы, адаптированные к экстремальным условиям Камчатки, могут обладать уникальными практически-ценными генетическими и физиологическими свойствами, которые обеспечивают их выживание и эффективный симбиоз с бобовыми в экстремальных условиях. Таким образом, селекция и долговременное хранение в условиях биоресурсной коллекции таких высокоэффективных штаммов может служить основой при создании биопрепаратов, применение которых будет способствовать расширению спектра возделываемых сельскохозяйственных бобовых культур на территории северных регионов России.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках соглашения № 075-15-2025-472 от «29» мая 2025 г. о предоставлении гранта в форме субсидии из федерального бюджета на реализацию проекта: «Расширение фонда и развитие геномных исследований в коллекции

микроорганизмов Сетевая биоресурсная коллекция в области генетических технологий для сельского хозяйства (ВКСМ)».

E-mail: ds.karlov@arriam.ru

ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ И ВЛИЯНИЯ НА КОЖНУЮ НОРМОФЛОРУ МЫШЕЙ ГЕЛЯ С ГЕННО-ИНЖЕНЕРНЫМ ЭНДОЛИЗИНОМ НА ОСНОВЕ БАКТЕРИАЛЬНОГО АЛЬГИНАТА

Климова[1] А.А., Гольдин[1] И.В., Фурсов[2] М.В., Васина[1] Д.В.

[1]Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва
[2]Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», Оболенск

Нерациональное применение антибактериальных препаратов способствует распространению резистентных штаммов бактерий. Альтернативой антибиотикам могут стать эндолизины – литические ферменты бактериофагов, обладающие способностью расщеплять как планктонные, так и биопленко-ассоциированные бактерии, в связи с чем наиболее перспективной областью их применения является лечение наружных инфекций. Ранее из ряда модифицированных антимикробными пептидами эндолизинов был отобран LysSi3-LK, активный в отношении ряда грамотрицательных бактерий группы ESKAPE и их биоплёнок. В качестве лекарственной формы выбран гель на основе высокомолекулярного альгината *Azotobacter vinelandii 12*, характеризующийся биосовместимостью и отсутствием токсичных продуктов деградации. Целью работы было изучение влияния гелей на выживаемость клеточной линии кератиноцитов HaCaT, а также оценка влияния эндолизина на представителей нормальной микрофлоры кожи *in vivo*. Для этого гель однократно наносили на кожу мышей, затем изучали микробиом посредством высева смывов на твёрдую питательную среду и метагеномного секвенирования выделенной ДНК из гомогенатов образцов кожи до и после нанесения препаратов. Было показано, что альгинатная основа проявляла умеренный цитотоксический эффект, который снижался при введении в основу эндолизина и не достигал уровня максимальной цитотоксичности альгината. Цитотоксичность геля без эндолизина может объясняться тем, что гелевая основа ограничивает доступ кислорода к клеткам, что является функцией вырабатываемого альгината у *A. vinelandii*. Исследование микрофлоры кожи показало отсутствие разницы в составе нормофлоры между основой и гелем с эндолизином. Эксперименты показали, что гель с эндолизином обладает низкой цитотоксичностью в отношении кератиноцитов, что говорит о его безопасности. Кроме того, исследование на животных показало избирательность эндолизина в отношении патогенных микроорганизмов без вреда для нормофлоры кожи.

E-mail: arina.klimova10012001@gmail.com

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ТАКСОНОМИЧЕСКУЮ СТРУКТУРУ СООБЩЕСТВ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ РАЗЛИЧНЫХ КЛИМАТИЧЕСКИХ ЗОН

Коваленко М.А.

ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

Температура – один из важнейших экологических факторов, влияющих на биодеградацию нефтепродуктов в почвах. Изучение таксономической структуры прокариотной составляющей загрязненных территорий является актуальной задачей. Объектами исследования стали сообщества арктотундровой слабооглеенной гумусной, бурой лесной почв и чернозема типичного, инкубируемые при постоянной влажности и температурах 4 °C, 28 °C и 46 °C, загрязненных нефтью Ванкорского месторождения в количестве 10% от массы почвы. Для анализа таксономического разнообразия сообществ данных почв на 30 сутки эксперимента использовался метод метагеномного секвенирования. По результатам биоинформатического анализа в контрольных и опытных образцах было выявлено изменение разнообразия и состава сообществ, обусловленное увеличением доли микроорганизмов нефтедеструкторов, таких как *Pseudomonas*, доминирующих при 4 °C в образцах арктотундровой почвы, *Nocardioides* и *Streptomyces* в черноземе и арктотундровой почве при умеренных и повышенных температурах, *Alicyclobacillus* в бурой лесной почве и *Rhodococcus* в черноземе при 46 °C. Внесение нефти вызывает изменение таксономической структуры сообщества и снижение микробного разнообразия, температурный фактор также оказывает существенное влияние на состав сообществ. При различных температурах инкубации в каждой почве образуется специфичный комплекс микроорганизмов нефтедеструкторов, приспособленный к оптимальной деградации углеводородов в сложившихся условиях. Результаты данного исследования позволяют выделить ключевых представителей сообщества в различных температурных диапазонах, что может оптимизировать разработку биопрепаратов для биоремедиации почв.

E-mail: masya.kma@mail.ru

ОЦЕНКА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ВИННЫХ ШТАММОВ ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* К ФУНГИЦИДАМ

Колосова А.А., Федосов Д.Ю., З.Б. Намсараев З.Б.

НИЦ «Курчатовский институт», Москва

Наиболее распространенные заболевания винограда вызываются микроорганизмами грибной природы, для защиты от которых используют фунгициды. Наличие остаточных количеств фунгицидов в винограде может оказывать токсическое воздействие на спиртовое брожение при производстве вин, которое сопровождается снижением скорости размножения дрожжей, изменением и подавлением их ценных технологических свойств.

В работе представлены результаты оценки чувствительности 36-ти штаммов дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* к фунгицидам, разрешенным к применению на виноградниках РФ при концентрациях, не превышающих максимально допустимый уровень в винограде. Исследованы фунгициды, относящиеся к следующим химическим классам: триазолы (флутриафол, пропиконазол, дифеноконазол, пенконазол), бензимидазолы (тиофанат-метил, беномил), стробилурины (крезоксим-метил), дитиокарбаматы (манкоцеб), комбинированные препараты Фалькон, концентрат эмульсии (КЭ). Оценка токсического воздействия

фунгицидов на винные дрожжи проводилась с использованием «Способа экспресс-анализа чувствительности дрожжей к ингибиторам» RU 2802231 C1.
Проведенные исследования показали избирательную чувствительность дрожжей. Большинство из исследуемых штаммов проявили наиболее высокую чувствительность к комбинированному препарату Фалькон (КЭ) средний показатель угнетения роста (СПУР) составил 58 %, у некоторых штаммов угнетение роста достигало до 86 %. Так же высокой степенью угнетения роста характеризовались фунгициды, перечисленные в порядке снижения их действия от 49 до 38 %: дифеноконазол; пропиконазол; крезоксим-метил. Наиболее безопасным действием относительно дрожжей характеризовались: флутриафол, тиофанат-метил, беномил и манкоцеб.
Работа проведена в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатовский институт».

E-mail: adelinaantnenk@rambler.ru

КУЛЬТУРЫ ГАЛОФИЛЬНЫХ БАЦИЛЛ КАК МУЛЬТИПРОДУЦЕНТЫ ЭКЗОПОЛИМЕРОВ, ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ БИОТЕХНОЛОГИИ

Коннова[1,2] С.А., Сигида[1] Е.Н., Федоненко[1,2] Ю.П.

[1]Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов
[2]Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ “Саратовский научный центр РАН”, Саратов

В реализации биотехнологических процессов, связанных с комплексной очисткой промышленных стоков со сложными химическими загрязнениями, востребованы микроорганизмы с высоким потенциалом адаптации к экстремальным условиям существования. Изоляция таких микроорганизмов из природных сред и выявление их биоремедиационного потенциала является актуальной задачей, решение которой важно как для фундаментальной науки, так и для практики. В исследовании использовали культуры галофильных бактерий р. *Bacillus*, изолированные авторами из различных озер с высоким уровнем минерализации, а также территорий, загрязненных ксенобиотиками. Экзополимеры изолировали из концентрата культуральной жидкости и фракционировали с использованием различных видов хроматографии. Структурные исследования полимеров проводили с применением ГЖХ, ВЭЖХ, ИК-, КД- и ЯМР-спектроскопии. Оценивали способность к деградации ксенобиотиков по деколоризации, исследовали токсичность продуктов деградации.
Для нескольких штаммов бацилл установлена способность к продукции экзополисахаридов, поли-гамма-глютаминовой кислоты (γ-ПГК) и экстраклеточных гидролаз, перспективных для биотехнологического использования. Проведена оптимизация условий культивирования бактерий для накопления биомассы и увеличения выхода экзополимеров, охарактеризованы мономерный состав и структура экзополисахаридов, оценены их эмульгирующие свойства. Проведено сравнение влагоудерживающих свойств препаратов γ-ПГК, характеризующих их способность к формированию гидрогелей. Выявлена способность бацилл к деградации некоторых ксенобиотиков на примере азокрасителей. Изолированы представители галофильных бацилл, которые могут быть как эффективными компонентами бактериальных консорциумов для биоремедиации, так и продуцентами биотехнологически значимых биополимеров различной природы.
Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (https://rscf.ru/project/24-24-00407/).
E-mail: Konnovasa@yandex.ru

АНАЛИЗ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ ТРАДИЦИОННЫХ КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Кремнёва М.К., Шестаков А.И., Щербакова П.А.

МГУ имени М.В.Ломоносова, биологический факультет, кафедра микробиологии

Традиционные кисломолочные продукты – это продукты, изготавливаемые либо путем спонтанной ферментации, либо с использованием заквасок домашнего приготовления, при этом микробный состав таких продуктов можно определить только специальными микробиологическими и молекулярными методами. Микробный состав таких продуктов отличается широким разнообразием, которое опосредовано не только различиями в способах приготовления, но и влиянием внешних факторов. Поэтому особый интерес представляет изучение микробиомов кисломолочных продуктов, которые изготавливаются в условиях домашних хозяйств в различных регионах Российской Федерации (РФ). Выделение из таких продуктов и детальное исследование чистых культур молочнокислых микроорганизмов позволит создать банк штаммов, потенциально применимых в пищевой промышленности для изготовления кисломолочных продуктов. Из различных регионов РФ было отобрано 250 кисломолочных продуктов, из которых с помощью микробиологических методов были выделены 642 штамма молочнокислых микроорганизмов. Выделенные культуры были идентифицированы с помощью метода MALDI-TOF MS. Для 241 штамма были исследованы различные технологические характеристики (кислотность, вязкость, устойчивость к антибиотикам). По результатам исследования данные характеристики могут варьировать не только внутри рода, но и внутри вида, то есть являются специфичными на уровне штамма.
Методом NGS-профилирования по V4-региону гена 16S рРНК был определен состав микробных сообществ 149 образцов традиционных кисломолочных продуктов. Во всех образцах преобладали типичные для молочных и кисломолочных продуктов представители филума *Bacillota* (*Firmicutes*). Традиционные кисломолочные продукты являются колоссальным пулом штаммов, потенциально применимых в пищевой промышленности, и для всестороннего анализа микробных сообществ кисломолочных продуктов целесообразно комплексное применение культуральных и молекулярных методов.

E-mail: kremnevabio@gmail.com

КОЛЛЕКЦИЯ МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ НИЦ «КУРЧАТОВСКИЙ ИНСТИТУТ» – ВИАМ КАК ОСНОВА В ИССЛЕДОВАНИЯХ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ СТОЙКОСТИ МАТЕРИАЛОВ И ИЗДЕЛИЙ

Кривушина А.А., Мосунова Д.Н., Горяшник Ю.С., Яковенко Т.В.

НИЦ «Курчатовский институт» - ВИАМ, Москва

В НИЦ «Курчатовский институт» – ВИАМ более 60 лет ведутся микробиологические исследования и испытания стойкости материалов и изделий к воздействию микроорганизмов. За это время в институте собрана большая коллекция микроорганизмов-деструкторов, в основном, мицелиальных грибов, выделенных в различных климатических зонах. Кроме того, в коллекции представлены культуры, выделенные непосредственно из очагов микробиологических повреждений техники во время эксплуатации. Подобные культуры представляют наибольший интерес для изучения их физиологических свойств, как микроорганизмов-деструкторов. За последние три года коллекция мицелиальных грибов ВИАМ была полностью идентифицирована с помощью молекулярных методов, основная

часть коллекции (200 штаммов) - при помощи методов полногеномной таксономии. В коллекции представлено более 132 видов микромицетов, относящихся в основном, к несовершенным стадиям аскомицетов, среди них преобладают виды родов *Alternaria, Aspergillus, Aureobasidium, Chaetomium, Cladosporium, Curvularia, Epicoccum, Fusarium, Paecilomyces, Penicillium, Talaromyces, Trichoderma*. При проведении полногеномного секвенирования культур было отмечено, что в коллекции присутствует ряд штаммов, представляющих собой новые таксоны высокого ранга, дальнейшее описание которых несёт несомненную фундаментальную значимость. Для эффективной и непрерывной работы очень важно правильное поддержание культур в коллекции. Рабочие культуры микромицетов используются для постоянных пересевов с целью получения споровых суспензий для проведения испытаний на грибостойкость материалов и изделий, для их поддержания применяются методы субкультивирования и метод хранения на образцах биоповреждаемых материалов. Музейные культуры служат для сохранения депозитария и восстановления рабочей культуры в случае её гибели, такие культуры хранятся с применением методов криогенного замораживания и лиофилизации, что позволяет сохранять физиологические свойства штаммов многие годы.

E-mail: kopengagen8@mail.ru

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИЙ *BACILLUS THURINGIENSIS*, ПОЛУЧЕННЫХ ПРИ ПАССАЖАХ ЧЕРЕЗ ЧУВСТВИТЕЛЬНУЮ И УСТОЙЧИВУЮ ПОПУЛЯЦИИ ВОЩИННОЙ ОГНЁВКИ *GALLERIA MELLONELLA*

Круговых А.А., Якимчук Е.А., Гризанова Е.В.

ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ, Новосибирск

Бактерии *Bacillus thuringiensis* – распространённый в природе вид энтомопатогенных бактерий, являющийся основой бактериальных препаратов для контроля численности насекомых-вредителей сельскохозяйственных культур. В работе были использованы классические методы микробиологии. В данном исследовании проведено изучение изолятов бактерий *Bacillus thuringiensis*, полученных при пассажах через чувствительную и резистентную популяции вощинной огнёвки *Galleria mellonella*. Изучаемые штаммы бактерий обладают повышенной вирулентностью по отношению к личинкам вощинной огневки по сравнению с исходным штаммом. При помощи микробиологических методов проведено сравнение биопленкообразования, динамики роста, подвижности бактерий, изучена антифунгальная и антибактериальная активность штаммов. Полученные данные будут представлены в постерном докладе.
Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 24-16-00113

E-mail: nutachka90@mail.ru

ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ВЕРТИКАЛЬНЫХ И ГОРИЗОНТАЛЬНЫХ ПУТЕЙ В ФОРМИРОВАНИИ ЭНДОСФЕРНЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ САЛАТА-ЛАТУКА: СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ГИДРОПОННЫХ И ПОЧВЕННЫХ СИСТЕМ

Курынцева П.А., Пронович Н.А., Галиева Г.Ш., Галицкая П.Ю., Селивановская С.Ю.

Институт экологии, биотехнологии и природопользования ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) Федеральный университет, Казань

Микробиомы, связанные с растениями, играют важную роль в здоровье растений, влияя на питание, рост и адаптацию к окружающей среде. Целью данного исследования было изучение путей формирования эндосферного микробиома салата (*Lactuca sativa*) посредством вертикальной (семена) и горизонтальной (субстрат) передачи как в гидропонной, так и в почвенной среде. Салат выращивался в течение 28 дней в вегетационном домике в контролируемых условиях в почвенном и гидропонном субстрате. Бактериальный микробиом из семян, корней, листьев, почвы ризосферы и гидропонного раствора был проанализирован с помощью секвенирования ампликона 16S рРНК на платформе Illumina MiSeq. Результаты показали, что микробиом семян содержал 236 операционных таксономических единиц (OTE), относящиеся к 18 бактериальным типам, среди которых доминировали Verrucomicrobia (31%) и Firmicutes (29%). Ризосферная почва продемонстрировала самое высокое бактериальное разнообразие (1594 OTE), в то время как гидропонный раствор содержал 448 OTU. Эндофитный микробиом корней был представлен 295 OTE и 177 OTE, корней, выращенных в почве и гидропонном растворе, соответственно. Эндофитный микробиом листьев показал меньшее разнообразие - 43 OTU в почве и 115 OTU в гидропонике. Анализ показал, что 30-51% эндофитных микробиомов листьев и корней сходны с микробиотой семени, в то время как 53-65% эндосферного микробиома корней были аналогичны с микробиомом субстрата. Кроме того, было отмечено значительное перекрытие между микробиомом ризосферной почвы и микробиомом корней, что указывает на ключевую роль корней в привлечении эндофитных бактерий из окружающей среды. Кроме того, показано, что в состав эндофитного микробного сообщества семени входят бактерии стимулирующие рост растений, осуществляющие синтез фитогормонов, сидерофоров, азотфиксаци и фосфатмобилизацию, подавляющие фитопатогены за счет 3-х основных механизмов (синтез антимикробных соединений, конкурентное исключение и индукции системной устойчивости), усиливающие устойчивость к абиотическому стрессу (холод, засуха, засоление и окислительный стресс), бактерии усиливающие прорастание семян и детоксикацию загразнителей (пестицидов, ПАУ, алканов, ТМ, фенолов и хлорорганических соединений). Полученные результаты закладывают основу для будущих исследований, направленных на лучшее понимание динамики эндофитных микробиомов салата латук и других листовых культур.

E-mail: polinazwerewa@yandex.ru

БИОВЫЩЕЛАЧИВАНИЕ РЕДКОЗЕМЕЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ МИКРООРГАНИЗМАМИ ИЗ ГОРНЫХ ПОРОД ПРИМОРСКОГО КРАЯ

Лебедева Е.Г.

ФГБУН «Дальневосточный геологический институт ДВО РАН, Владивосток

Редкоземельные элементы (РЗЭ) представляют собой группу критически значимых минеральных ресурсов, необходимых в энергетической промышленности, металлургии, производстве электроники и оптики. Поэтому в связи с растущей потребностью в этих металлах актуальна разработка альтернативных методов их добычи. В связи с этим целью работы являлось изучить способность различных гетеротрофных микроорганизмов извлекать РЗЭ из горных пород. Эксперимент проводили в колбах Эрленмейера, с 300 мл среды NBRIA, куда вносили горные породы и микроорганизмы. В процессе эксперимента контролировали следующие показатели: состав макро- и микроэлементов, минералогический состав, изменение численности микроорганизмов, кислотность растворов, состав органических кислот. Анализ микроэлементов проводили методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (ИСП-МС) на спектрометре Agilent 7500 с (Agilent Techn., США). Минералы определяли на рентгеновском дифрактометре MiniFlex-2. Результаты исследования показали, что во всех опытных образцах степень извлечения РЗЭ зависела от кислотности среды и повышалась при pH<5.0. Наиболее высоких концентраций в процессе биовыщелачивания достигали элементы Ce>La>Y>Nd. Культуры рода *Acinetobacter, Pseudomonas, Rhodotorula* отличались наибольшим извлечением РЗЭ. Использование двухстадийного процесса приводило к более быстрому высвобождению РЗЭ при контакте с горной породой. Наибольшее извлечение РЗЭ отмечено на 50 день культивирования.
Исследование выполнено при поддержке гранта РНФ № 25-27-00265

E-mail: microbiol@mail.ru

ВЛИЯНИЕ ТЕРМИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ НА АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ЛИЗИНОВ

Лендел А.М., Климова А.А., Антонова Н.П., Васина Д.В.

Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного акад. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва

Лизины, бактериолитические белки бактериофагов и бактерий, обладают высоким потенциалом применения в красной биотехнологии, демонстрируя разнообразие биохимических свойств, включая термостабильность антибактериального действия. Целью работы стало изучение термической стабильности действия рекомбинантных лизинов разных структурных групп, специфичных к грамположительным (Г+) и грамотрицательным (Г-) бактериям. Антибактериальную активность (АБА) девяти лизинов против штаммов *Acinetobacter baumannii* и *Staphylococcus aureus* из коллекции АТСС оценивали методом подсчета колониеобразующих единиц (КОЕ). Перед обработкой бактериальных клеток растворы лизинов в концентрации 100 мкг/мл в буфере Трис HCl (pH=7,5) либо контрольный буфер инкубировали в течение часа в температурном диапазоне 4-99 °C. В рамках исследования выявили высокую термостабильность двух антистафилококковых ферментов: эндопептидазы семейства M23 GRC-BC01 и амидазы GRC-EL11, а также мурамидаз семейства GH24 – GRC-EL06 и GRC-EL14. SleB-подобная гидролаза с неясным механизмом GRC-EL08 и спанин GRC-EL10 показали нелинейную зависимость АБА от температуры, с

минимальным значением после экспозиции при 50°C. Лизин GRC-EL07 (хитиназо-подобная гликозидаза GH19) демонстрировал низкую АБА после инкубации при 4-24 °C, напротив, GRC-EL03 (GH19) и GRC-EL12 (амидаза/эндопептидаза CHAP) – после инкубации при повышенных температурах (t ≥ 50°C). Инкубация *S. aureus* с термически обработанным GRC-EL08, в стандартных условиях специфичным в отношении только Г- бактерий, приводила к выраженному снижению КОЕ на 2 порядка по сравнению с контролем. Таким образом, мы продемонстрировали различные профили термочувствительности антибактериальной активности лизинов, выявив высокую стабильность GRC-BC01, GRC-EL11, GRC-EL06 и GRC-EL14. Кроме того, обнаружен дополнительный эффект, связанный с термической обработкой ферментов, при котором происходило изменение специфичности SleB-подобного белка GRC-EL08, требующий дальнейшего изучения.

E-mail: kazejosei@gmail.com

МИКОПЛАЗМЕННАЯ КОНТАМИНАЦИЯ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР И ВИРУСНЫХ ШТАММОВ. ОПЫТ ОБНАРУЖЕНИЯ И ЛЕЧЕНИЯ

Леонович О.А.

Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН (Институт полиомиелита)

Контаминация микоплазмой вирусов и клеточных культур – серьезная проблема для биофармакологической промышленности и научных лабораторий. Ряд трудностей связан с высокой резистентностью микоплазмы и латентным характером протекания инфекции. Разработка эффективных способов своевременного выявления микоплазм и деконтаминации вирусных штаммов, пассируемых в клеточных культурах, является актуальной задачей. В работе использовали контаминированные микоплазмой посевные материалы хантавирусов (из коллекции Института полиомиелита) в клеточной культуре Vero E6. Для индикации микоплазмы применяли микробиологический, цитохимический и ПЦР методы. Размножение вируса контролировали непрямым методом флюоресцирующих антител. Представлены данные по микоплазменной деконтаминации штаммов хантавирусов с использованием ципрофлоксацина, BMCyclin (Roche) и бактериального суфрактина (*B. subtilis*). Показано, что ципрофлоксацин обладает явным цитотоксическим эффектом. BMCyclin вызывает выраженное снижению репликации хантавируса Хантаан в клетке, что возможно связано с индуцированным снижением инфекционности вируса. Предложен способ применения BMCyclin для хантавирусов с сохранением жизнеспособности клеточной культуры и высокой степени репродукции вируса. Обработка 20 μM суфрактином вируса Хантаан обеспечивает полную элюминацию микоплазмы без потери снижения титра вируса и гибели клеток. Проведено сравнение результатов детекции микоплазмы в культурах клеток и хантавирусных штаммах, полученных с помощью косвенных (ПЦР) и прямых (культуральных) методов. Статистическая обработка результатов показала значимые различия между ПЦР и цитохимическим методами ($p \leq 0{,}006$). Антибиотик BMCyclin и суфрактин показали высокую эффективность в элюминации микоплазмы. Их использование является простым и малозатратным. Метод ПЦР - перспективная своевременная детекция микоплазмы для рутинной и экспресс-диагностики. Культуральные методы рекомендованы для выделения и идентификации отдельных колоний микоплазм.

E-mail: loa-73@mail.ru

ПОИСК ПОДХОДОВ К УВЕЛИЧЕНИЮ БИОСИНТЕЗА ЛИПОПЕПТИДНОГО ПАВ СУРФАКТИНА КЛЕТКАМИ *BACILLUS SUBTILIS*

Линдин[1] Е.Ю., Трефилов[1,2] В.С., Вирясов[2] М.Б., Кубарева[2] Е.А.

[1]Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва
[2]НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

Сурфактин – циклический гептапептид, этерифицированный жирной кислотой. Он является хорошо исследованным и востребованным биологическим поверхностно-активным веществом (биоПАВ). Преимущества сурфактина по сравнению с синтетическими ПАВ – биологическая совместимость, экологическая безопасность, низкая токсичность. Сурфактин, полученный микробиологическим синтезом, является смесью нескольких изоформ, отличающихся между собой длиной углеводородной цепи в остатке жирной кислоты (C_{13}, C_{14}, C_{15}) и аминокислотным составом. На сегодняшний день используют два основных инструмента повышения продукции биоПАВ – оптимизация условий культивирования (добавление ионов металлов, рост на углерод-богатой среде, варьирование источников азота и углерода, изменение температуры, pH, степени аэрации и др.) и аппарат генной инженерии – постановка генов, отвечающих за биосинтез SF, под сильный промотор, нокаут генов, конкурирующих за клеточные ресурсы, суперэкспрессия генов эффлюкса сурфактина и многое другое. В одной из наиболее полных работ, посвященных получению генно-модифицированного суперпродуцента сурфактина, количество продуцируемого вещества составило 12,8 г/л культуральной среды, что является одним из максимальных показателей.
Относительное количество мРНК генов оперона *srfA* в клетках измеряли с помощью количественной ПЦР с обратной транскрипцией, количество продуцируемого сурфактина исследовали с помощью колориметрического метода, основанного на образовании комплекса бромтимоловый синий-сурфактин, данные валидировали ВЭЖХ. Интактный ген *sfp* вносили с помощью плазмиды, нарабатываемой в *E. coli*, контроль внесения плазмиды с геном – метод ПЦР с бактериальных колоний. Высокоэффективная жидкостная хроматография, масс-спектрометрия, аминокислотный анализ. Объекты исследования: клетки *B. subtilis* природного штамма NCIB 3610 и лабораторного штамма PY79. Лабораторный штамм PY79 не способен к биосинтезу сурфактина из-за мутации в гене *sfp*, хотя содержит ряд мутаций, с большой долей вероятности способствующих биосинтезу сурфактина. Перспективным является восстановление сурфактин-синтезирующей активности данного штамма. Нокаут гена 6S-1 РНК в клетках Bacillus subtilis приводит к повышению эффективности транскрипции всех генов оперона *srfA*, кодирующего фермент сурфактинсинтетазу, в поздней стационарной фазе клеточного роста. Однако количество синтезируемого клетка В результате проверки влияния малой некодирующей 6S-2 РНК на процесс биосинтеза сурфактина в клетках *B. subtilis* мы показали, что делеция гена 6S-2 РНК в бактериях *B. subtilis* штаммов PY79 и NCIB 3610 в отличие от гена 6S-1 РНК не приводит к повышению эффективности транскрипции генов *srfAA, srfAB* и *srfAC* и *srfAD* входящих в состав кодирующего субъединицы сурфактинсинтетазы оперона *srfA*. Количество продуцируемого сурфактина клетками *B. subtilis* NCIB 3610 при этом не изменяется. Двойная делеция генов обеих малых некодирующих 6S РНК не приводит к изменению эффективности транскрипции оперона *srfA* в клетках *B. subtilis* NCIB 3610, однако количество продуцируемого SF уменьшается вдвое. Для штамма PY79 показано увеличение эффективности транскрипции оперона *srfA* при двойной делеции, что может быть эффектом от делеции гена 6S-1 РНК, показанным ранее. С помощью экспрессионной плазмиды с интактным геном *sfp* нами была восстановлена сурфактин-продуцирующая активность клеток штамма PY79, количество продуцируемого SF оказалось вдвое больше, чем продуцировали клетки штамма NCIB 3610. Причем количество сурфактина было одинаковым для всех клеточных линий. Данная гипотеза может быть

объяснена влиянием делеции генов 6S РНК на эффективность транскрипции генов, конкурирующих с процессом биосинтеза сурфактина за клеточные ресурсы. Более того, показано отсутствие влияния индуктора ИПТГ на количество продуцируемого вещества. Для подробного анализа отсутствия эффекта от делеции 6S-1 РНК на количество продуцируемого вещества, несмотря на увеличение эффективности транскрипции оперона *srfA*, была исследована транскрипция генов, кодирующих ферменты, субстратом которых является Glu – аминокислота, с которой начинается биосинтез сурфактина в клетках *B. subtilis*. Оказалось, что количество мРНК глутаматдегидрогеназы – фермента, катализирующего реакцию превращения Glu в 2-оксоглутарат, в клеточной линии с нокаутом 6S-1 РНК увеличено примерно в 20 раз по сравнению с клетками дикого типа. Данный эффект приводит к понижению количества доступного Glu в клетке для биосинтеза SF, что, в свою очередь, нивелирует эффект делеции 6S-1 РНК на увеличение транскрипции оперона *srfA*. При клеточном росте на среде, богатой глутаматом, оказалось, что количество синтезируемого сурфактина понижается, что может быть связано с активацией регуляторного пути CodY, поскольку данная система ингибирует активность оперона *srfA* при большом количестве аминокислот в среде. Однако данный эффект требует дальнейшего изучения, поскольку регуляторная система биосинтеза сурфактина в клетках *B. subtilis* достаточно сложна и включает в себя сразу несколько различных путей. Таким образом, недостаток Glu в клетке и ингибирование биосинтеза SF в глутамат-богатой среде может быть не единственной причиной отсутствия увеличения количества продуцируемого вещества. Также в данной работе изучен качественный состав сурфактина, продуцируемого клетками штаммов NCIB 3610 и PY79 дикого типа. Показано, что основной изоформой для клеток обоих штаммов является C15-Glu-Leu-Leu-Val-Asp-Leu-Leu. В дальнейшем планируется сравнение состава сурфактина, продуцируемого нокаутными клеточными линиями для поиска взаимосвязи состава и делеции генов 6S-РНК как по одному, так и двойной.
Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ, проект 24-24-00193

E-mail: evgenii.lindin@chemistry.msu.ru

ПРОДУКЦИЯ МОЛОЧНОЙ И УКСУСНОЙ КИСЛОТ МОЛОЧНОКИСЛЫМИ БАКТЕРИЯМИ

Лисов А.В., Шушкова Т.В., Кошелев А.В., Лисова З.А., Леонтьевский А.А.

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, Пущино

Молочнокислые бактерии (МКБ) активно используются в пищевой промышленности. МКБ способны сбраживать сахара до молочной (МК) и уксусной кислот (УК), а также CO_2. Поэтому МБК так же используют для получения органических кислот, в первую очередь молочной. По типу метаболизма МКБ делят на гомоферментативных и гетероферментативных. Гомоферментативные сбраживают сахара до МК и CO_2, а гетероферменативные – до МК, УК, CO_2 и этанола. Условия, которые обеспечивают формирование и соотношение конечных продуктов, в первую очередь органических кислот, изучены недостаточно. Поэтому целью работы являлось изучение продукции МКБ МК и УК при различных условиях аэрации. В работе использованы штаммы микроорганизмов, депонированные во Всероссийской коллекции микроорганизмов: *Lactococus lactis* B-1662, *Limosilactobacillus fermentum* B-1566, *Lactiplantibacillus plantarum* B-1937, *Lentilactobacillus buchneri* B-1599, *Leuconostoc mesenteroides* B-1420, *Levilactobacillus brevis* B-572, *Lentilactobacillus casei* B-537. Ферментацию проводили в ферментерах АНКУМ-2 объёмом 10 л, рабочий объём 5 л. Измерение концентрации МК и УК проводили методом ВЭЖХ. Обнаружено, что в ходе роста на глюкозе, как главного источника углерода, в анаэробных

условиях гетероферментативные МКБ *L. buchneri, L. fermentum* продуцировали только МК в концентрации 4 и 3% соответственно. В случае роста с аэрацией воздухом в количестве 0,5 л/мин/л среды эти бактерии продуцировали смесь УК и МК. Гетероферментативные МКБ *L. mesenteroides* и *L. buchneri* при росте без аэрации продуцировала только МК и следы УК. При аэрации бактерии так же продуцировали смесь УК и МК. Гомоферментативные МКБ *L. plantarum, L. casei, L. lactis* синтезировали в анаэробных условиях только МК. В микроаэробных – *L. plantarum* и *L. casei* синтезировали УК в следовых количествах.

E-mail: ssl208@rambler.ru

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ФЕКАЛЬНОГО ИЛА, ДЛЯ ДЕТОКСИКАЦИИ СТОЧНЫХ ВОД, ЗАГРЯЗНЕННЫХ ЧЕТВЕРТИЧНЫМИ АММОНИЕВЫМИ СОЕДИНЕНИЯМИ И ПРОИЗВОДНЫМИ ГУАНИДИНА

Лойко Н.Г., Литти Ю.В.

Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва

Сброс сточных вод и фекальных отходов (ФО), загрязненных четвертичными аммониевыми соединениями (ЧАС) и производными гуанидина (ПГ), может стать серьезной проблемой для активного ила очистных сооружений. Необходимо разработать новые экологические способы для снижения токсичности таких отходов. Целью данного исследования стала разработка безопасного подхода к снижению токсичности отходов, загрязненных ЧАС и ПГ, основанного на использовании устойчивых к данным биоцидам бактериальных штаммов, выделенных из загрязненных ФО. В работе использовались современные микробиологические, биохимические и молекулярные методы. Было выделено и идентифицировано семь штаммов бактерий, устойчивых к биоцидам. Значения минимальных ингибирующих и бактерицидных концентраций биоцидов для выделенных штаммов были в 4,5-10 раз выше, чем для коллекционных микроорганизмов. Биопрепараты на основе изолированных штаммов бактерий оказались эффективными для биодеградации ФО как в аэробных, так и в анаэробных условиях. Бактерия *Alcaligenes faecalis* DOS7 оказалась особенно устойчивой к ЧАС и ПГ. Гиперрезистентность, непатогенность и потенциальная способность стимулировать рост растений делают *A. faecalis* DOS7 перспективным для использования в различных биопрепаратах для очистки сточных вод и биоремедиации почв, загрязненных ЧАС и ПГ, а также в сельском хозяйстве для повышения продуктивности растений. В работе получены приоритетные и практически значимые результаты. Апробированный в работе подход будет в дальнейшем использован для выделения микроорганизмов, устойчивых к другим типам биоцидов.
Работа выполнена за счет средств гранта РНФ 25-64-00027.

E-mail: loikonat@mail.ru

ДРЕВЕСНЫЕ ОЛИГОСАХАРИДЫ: СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ И ПРЕБИОТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Майорова[1] К.А., Аксёнов[1] А.С., Латипова[2] И.А., Каюмов[2] А.Р.

[1]Северный (Арктический) федеральный университет им. М.В. Ломоносова, Архангельск
[2]Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань

Архитектура симбиотической бактериальной экосистемы кишечника участвует в формировании гомеостаза желудочно-кишечного тракта и регулировании иммунных реакций. Стабильность видового разнообразия симбионтных сообществ обеспечивает колонизация дистальных отделов ЖКТ пробиотическими микроорганизмами: бактериями родов *Lactobacillus, Bifidobacterium, Lactococcus* и *Streptococcus* sp. Ввиду перорального введения пробиотиков их активность ограничивается пагубным воздействием пищеварительных ферментов, высокой кислотности желудка и др. Модуляция микробиоты кишечника с применением пребиотиков – субстратов для симбионтов, обеспечивает углеродное питание и протекцию при доставке. Наиболее распространенными являются олигосахариды (ОС) – цепи из 2-6 моносахаридных остатков – фруктозы (ФОС), галактозы (ГалОС), глюкозы (ЦОС), маннозы (МОС), ксилозы (КОС), последние выступают объектом современных передовых исследований. ОС можно получить из растительной биомассы с помощью химических и/или ферментативных технологий, часто используются побочные продукты агропромышленного производства, однако для северных широт с более выраженной сезонностью преимуществами обладают материалы древесного происхождения, из которых наиболее выгодными для ферментативных подходов являются технические полуфабрикаты целлюлозно-бумажной промышленности (ЦБП). Ферментативный гидролиз лиственной сульфатной и хвойной сульфитной целлюлозы промышленной выработки производили с помощью комплексных ферментных препаратов ксиланаз, целлюлаз и других гликозил-гидролаз *P. verruculosum* по методологии, представленной в статье Shevchenko et al, 2023. Для оценки пребиотических свойств производили культивирование *L.plantarum* на среде MRS при замещении глюкозы на древесные ОС. Получили гидролизаты технических целлюлоз с выходом олигосахаридов ксилана и маннана от сухой массы субстрата до 3,8% и 6,2% в случае хвойной сульфитной и 4,8/1,8% соответственно для лиственной сульфатной целлюлозы. По первичным данным культивирования при замене глюкозы на древесные ОС рост пробиотических культур замедляется в 2-3 раза. Адаптация процессов ферментативного гидролиза с регулированием активности гликозил-гидролаз эндо- и экзо-типа позволит увеличить эффективность конверсии древесных гемицеллюлоз в ОС, что сделает экономически целесообразным проведение мероприятий по их выделению и очистке с применением мембранной фильтрации и/или микробной ферментации штаммами-продуцентами органических кислот с целью утилизации моносахаридов и одновременным получением продуктов с высокой добавленной стоимостью. Результаты исследования представляют собой перспективное направление модернизации отрасли ЦБП за счет внедрения в существующие циклы производства микробных технологий для комплексной биопереработки полуфабрикатов как доступного полисахаридного сырья для получения ОС, и тем самым создают фундаментальные основы разработки новых препаратов и материалов с пребиотико-пробиотическим действием.

Исследование выполнено при финансовой поддержку РНФ (проект № 25-24-20063)

E-mail: ksu100103@yandex.ru

ПОЛУЧЕНИЕ БИОАКТИВНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ (–)-ИЗОПУЛЕГОЛА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КЛЕТОК *RHODOCOCCUS RHODOCHROUS* ИЭГМ 1362

Мальцева[1,2] П.Ю., Плотницкая[1,2] Н.А., Чудинова[2] А.А., Ильина[3] И.В., Салахутдинов[3] Н.Ф., Ившина[1,2] И.Б.

[1]Пермский федеральный исследовательский центр УрО РАН, Пермь
[2]Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь
[3]Новосибирский институт органической химии имени академика Н.Н. Ворожцова СО РАН; Новосибирск

(–)-Изопулегол – монотерпеновый спирт, широко применяемый в качестве скаффолда для синтеза биологически активных веществ благодаря своей низкой стоимости и высокой степени доступности. На основе иммобилизованных в матрицу поливинилового спирта клеток штамма-активного биотрансформатора Rhodococcus rhodochrous ИЭГМ 1362 разработан устойчивый биокатализатор, обеспечивающий увеличение общего выхода целевых продуктов (–)-изопулегола с 54% до 87% по сравнению со свободными клетками. В качестве основных производных детектированы (1R,2S,5R)-5-(гидроксиметил)-2-(проп-1-ен-2-ил)циклогексанол и (1R,3R,4S)-3-гидрокси-4-(проп-1-ен-2-ил)циклогексанкарбоновая кислота с прогнозируемой фармакологической активностью. Биокатализатор сохраняет высокую функциональную активность в течение 13 циклов эксплуатации, что отвечает требованиям промышленной биотехнологии. С использованием методов электронной микроскопии и элементного картирования установлено, что иммобилизованные клетки характеризуются отсутствием эндогенных резервных включений, а также высоким содержанием внутриклеточного железа. Полученный биокатализатор перспективен для масштабирования процесса биокаталитического получения биоактивных производных (-)-изопулегола.

Исследования выполнены за счет гранта РНФ № 24-14-20015.

E-mail: inbox.98@bk.ru

ОМИКС-ТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ ФУНКЦИОНАЛЬНОСТИ ПРОБИОТИКОВ: ПОЛНОГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ ШТАММОВ *LACTIPLANTIBACILLUS PLANTARUM* 8P-A3 И DMC-S1

Маркелова[1,2] М.И., Каюмов[1] А.Р., Чернова[2] О.А., Чернов[2] В.М.

[1]Казанский федеральный университет, Казань
[2]ФИЦ «КазНЦ РАН», Казань

Большой интерес к бактериям группы GRAS, в том числе пробиотическим штаммам *L. plantarum*, связан с их полезными свойствами, возможностями модуляции кишечного микробиома и иммунной системы хозяина. Эти свойства могут существенно различаться у представителей одного и того же вида. Нами это было показано на примере эффектов штаммов *L. plantarum* 8p-a3 и DMC-S1 (выделенных из пробиотика «Лактобактерин» и кишечника дрозофилы соответственно) в отношении модельного организма – *D. melanogaster.* В этой связи сравнительный анализ геномов штаммов представляется актуальным для оценки функциональности и безопасности соответствующих бактерий. Геномы *L. plantarum* 8p-a3 и DMC-S1 секвенированы на платформах Illumina MiSeq и MinIon; был проведен биоинформатический анализ геномов, поиск генов**,** критичных для персистенции пробиотиков**.** Было установлено, что *L. plantarum* 8p-a3 и DMC-S1 обладают

высокой степенью сходства по большинству генов, необходимых для выживания в ЖКТ высших эукариот. При этом геномы обоих штаммов содержат факторы риска, ассоциированные с мобильными элементами, гемолизинами и токсическими метаболитами. Мажорные различия штаммов связаны с генами, ответственными за адгезию, синтез бактериоцинов, метаболизм сиаловой кислоты, устойчивость к таннинам и иммуномодуляцию. Пробиогеномный подход позволил выявить сходства и различия *L.plantarum* 8p-a3 и DMC-S1 в отношении функционального потенциала и безопасности, определяющих пробиотические перспективы штаммов.
Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной КФУ на выполнение государственного задания в сфере научной деятельности (№ FZSM-2023-0013).

E-mail: mimarkelova@gmail.com

МИКРОБИОМ ОРГАНИЧЕСКИХ ОТХОДОВ И УДОБРЕНИЙ АГРОПРОМЫШЛЕННЫХ КОМПЛЕКСОВ

Масленникова И.Л., Кузнецова М.В.

Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук – филиал Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук, Пермь

Органические удобрения без надлежащего контроля могут оказывать негативное воздействие на окружающую среду и стать фактором риска распространения патогенных бактерий. В процессе хранения и компостирования отходов бактериальное сообщество может изменяться. Рекомендации по компостированию, как средству снижения риска заражения сельскохозяйственных культур патогенными микроорганизмами, должны основываться на данных состава микробиома, формирующегося в органических удобрениях в ходе данного процесса. Цель исследования – метагеномный анализ структуры бактериального сообщества органических отходов агропромышленных комплексов в зависимости от условий и сроков хранения. Образцы подстилок с органическими отходами отбирали на животноводческих предприятиях Пермского края. Сроки компостирования отходов варьировали от 1-3 дней до 1 года. Выделение ДНК из образцов проводили с использованием коммерческого набора FastDNA™ Spin Kit for soil (MP Biomedicals, США. Подготовку библиотек для Illumina MiSeq проводили согласно протоколу «Preparing 16S Ribosomal RNA Gene Amplicons for the Illumina MiSeq System». Анализ нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК осуществляли на платформе Illumina MiSeq. Исследована структура микробных сообществ органических удобрений птиц (n=15) и крупного рогатого скота (n=12), различающихся по срокам и условиям хранения. Выявлено, что микробиота органических удобрений содержит таксоны, относящиеся к 13 типам. Во всех образцах доминировали представители 4 филумов: *Firmicutes, Bacteroidota, Actinobacteriota* и *Proteobacteria*, остальные типы представлены менее, чем 2,2% всех микроорганизмов. Таксономический состав микробиоты органических удобрений коров было значительно разнообразнее органических удобрений птиц во все сроки хранения. Патогенные и/или потенциально патогенные для человека и животных микроорганизмы составляли малую часть микробного сообщества органических удобрений, их доля не превышала 0,3. Обилие микроорганизмов в удобрениях менялось, чаще увеличивалось, тогда как число представителей уникальных родов, напротив, существенно уменьшалось по мере прохождения этапов компостирования. Микробное сообщество органических удобрений существенно отличалось от такового в некомпостированных отходах. Следует отметить, что показатели, характеризующие видовое богатство сообщества удобрений были выше в образцах, полученных в хозяйствах на юге Пермского края, по

сравнению с хозяйствами северной и центральной части региона. Кроме того, компостирование в холодные периоды приводило к снижению разнообразия и равномерности распределения таксонов. Достижение равновесия и синергичная работа микробного сообщества в процессе компостирования является основой безопасного использования органических отходов животноводческих комплексов.
Данная работа финансировалась за счет средств РНФ, грант No 24-24-20048 Пермский край, https://rscf.ru/en/project/24-24-20048

E-mail: I.Maslennikova1974@gmail.com

ШТАММ ЦИАНОБАКТЕРИИ *SYNECHOCYSTIS* SP. GS-SPHU С ИНАКТИВИРОВАННЫМ ГЕНОМ SLR0741, СПОСОБНЫЙ К ПОВЫШЕННОМУ ПОГЛОЩЕНИЮ И НАКОПЛЕНИЮ ФОСФОРА

Мельникова[1,2] А.А., Бауэр[3] Т.В., Намсараев[1,2] З.Б.

[1] НИЦ «Курчатовский институт», Москва
[2] Московский физико-технический институт, Долгопрудный
[3] Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону

Фосфор – один из важнейших элементов для сельского хозяйства. Значительная часть фосфора из удобрений смывается с полей и попадает в водоемы, нарушая тем самым баланс водных и прибрежных экосистем вследствие массового развития фототрофных организмов. Микробиологическая очистка сточных вод с последующим производством биоудобрения из отработанной позволяет рециркулировать фосфор. Ключевые слова: фосфор, цианобактерии, очистка сточных вод, биоудобрение, биоуголь. Разработан штамм цианобактерии *Synechocystis* sp. GS-SphU, способный к повышенному поглощению фосфора и его последующему накоплению. Цианобактерии обладают рядом адаптивных стратегий в ответ на фосфатное голодание. Например, они способны поглощать фосфор из запасенных внутри собственных клеток полифосфатных гранул, а также могут временно усиливать свою способность к поглощению фосфата. Эти и другие механизмы регуляции метаболизма фосфора обусловлены работой Pho-регулона – особого набора связанных друг с другом генов. Инактивация гена slr0741, входящего в состав Pho-регулона и кодирующего белок SphU, привела к повышенному поглощению фосфора из среды трансформированной бактерией. В конце стационарной фазы роста массовое содержание фосфора в сухой биомассе нетрансформированного штамма составляло 1.75%, тогда как *Synechocystis* sp. GS-SphU накопил в 3 раза больше фосфора – 5.5%. Электронная микроскопия обоих штаммов показала различия в размерах и количестве полифосфатных гранул в клетке. Для нетрансформированного штамма их средний размер не превышал 250 нм, а количество – 5 штук на клетку. В *Synechocystis* sp. GS-SphU средний размер полифосфатных гранул составил более 250 нм. Отработанную биомассу утилизировали в качестве добавки к сырью для изготовления биоугля. При добавлении 1.5 г сухой биомассы нетрансформированных цианобактерий к 13.5 г лузги подсолнечника в процессе пиролиза концентрация фосфора увеличилась с 3.33% до 6.53%, а *Synechocystis* sp. GS-SphU – до 11.87%. При добавлении того же количества биомассы цианобактерий к 13.5 г осадков сточных вод содержание фосфора увеличилось с 10.5% до 13.68% и 22.51% соответственно для нетрансформированного и трансформированного штаммов. Увеличенное содержание фосфора в конечном продукте делает биоуголь перспективным биоудобрением для растений.

E-mail: melnikova.a.bio@gmail.com

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ФУНГИЦИДОВ ПРОТИВ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ *P. ALTERNARIA, FUSARIUM, CLADOSPORIUM*.

Мирко П.А., Горовцов А.В.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Южный федеральный университет», Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, Ростов-на-Дону

Фитопатогенные грибы представляют угрозу для мирового сельского хозяйства. Фунгициды исторически являлись основным методом борьбы с грибковыми заболеваниями сельскохозяйственных культур. Однако возникновение резистентности среди фитопатогенов снижает их эффективность и требуют внимания, так как устойчивые штаммы закрепляются и распространяются в окружающей среде. В связи с этим, мониторинг устойчивости фитопатогенов к фунгицидам остаётся актуальным. Была выделена чистая культура р. *Cladosporium* с пораженного плода яблони, *Alternaria* sp. и *Fusarium oxysporum* получены из музея культур ЮФУ. Было использовано 19 фунгицидов в рекомендованных производителями концентрациях. В агаровых пластинках вырезалось по 3 лунки, в которые вносилось по 150 мкл одного фунгицида. Зоны подавления учитывались после 7 дней инкубации. Наибольшей эффективностью обладали каптан, флудиоксонил и ципродинил, средний уровень подавления соответственно: 6,4; 6,6; 7,2 мм. Часть фунгицидов (ципродинил, пропиконазол+дифеноконазол, тебуконазол, флудиоксонил, боскалид+дифеноконазол эпоксиконазол+ципроконазол) проявляли фунгистатическое действие. Два фунгицида класса QoI препятствовали образованию спор у *Cladosporium* sp. Была выдвинута гипотеза о повышенной эффективности фунгицидов с многосайтовой активностью в сравнении с фунгицидами с односайтовой активностью. При помощи теста Уилкоксона, была выявлена достоверная разница эффективности для штаммов грибов *Cladosporium* sp. и *Fusarium oxysporum*, подтверждающая данную гипотезу. На основе полученных результатов можно сделать вывод о повышающейся резистентности фитопатогенных грибов к фунгицидам, а также предложить рекомендации по использованию фунгицидов.

E-mail: mirko@sfedu.ru

РАЗРАБОТКА НОВОЙ СИСТЕМЫ ЭФФЕКТИВНОЙ ЭКСПРЕССИИ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ В БАКТЕРИАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ

Михайлина А.О., Зюркалова Д., Балобанов В.А., Костарева О.С.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт белка Российской академии наук, Пущино

Бактериальная система *Escherichia coli* была первой системой, разработанной для наработки рекомбинантных белков и до сих пор, остается распространенным методом как в научных исследованиях, так и в биотехнологической и фармакологической сферах. Преимуществами *E. coli* как системы для синтеза целевых белков являются простота и низкая стоимость культивирования, быстрый рост клеток, относительная легкость создания генетических конструкций, большой выбор штаммов и векторов. Однако, высокий уровень экспрессии часто приводит к агрегации целевых белков, а суперпродукция токсичных белков значительно угнетает рост и развитие бактериальной клетки. Мы получили модифицированную экспрессионную систему, в которой рекомбинантный белок будет

экспонирован на поверхности клеток *E. coli*, что упростит процесс получения целевых белков и позволит проводить очистку белка в одну стадию. Конструкция на основе автотранспортера семейства AIDA-I содержит гибридную последовательность кодирующую: сигнальный пептид; участок для вставки гена рекомбинантного белка; последовательность для химического отщепления целевого белка SNAC-tag; транслокационный домен, образующий канал в мембране клетки, в качестве белка-переносчика целевой последовательности. Участок SNAC-tag позволит контролировать процесс отщепления целевой последовательности, путем химического протеолиза Ni2+. Применение этого метода избавит от дополнительного этапа очистки готового препарата от расщепляющего агента в отличие от методик с применением протеаз. Рекомбинантный белок в системе автотранспортера AIDA-I будет находиться на N-конце гибридной последовательности. Для оценки применимости и эффективности предлагаемых систем для получения разных типов рекомбинантных белков, на основе полученных конструкций-платформ в дальнейшем будут созданы генетические конструкции, несущие гены модельных рекомбинантных белков.
Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 25-24-00331, https://rscf.ru/project/25-24-00331/

E-mail: alisamikhaylina15@gmail.com

БИФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ РИЗОБИИ КАК АГЕНТЫ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ

Муратова А.Ю., Голубев С.Н., Сунгурцева И.Ю.

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов
ФИЦ «Саратовский научный центр Российской академии наук», Саратов

Комплексное загрязнение почв органическими и неорганическими соединениями, представляющее собой более серьезную опасность для окружающей среды, чем присутствие поллютантов по-отдельности, делает поиск перспективных агентов биоремедиации важным направлением для совершенствования экологических биотехнологий. С целью подбора таких микроорганизмов была получена фенотипическая и генотипическая характеристика ризобий из Коллекции ризосферных микроорганизмов ИБФРМ РАН (http://collection.ibppm.ru) в отношении их устойчивости к ряду тяжелых металлов (Ni, Cd, Cu и Zn), а также способности подвергать деградации полициклические ароматические углеводороды (ПАУ). Исследованы биохимические механизмы устойчивости бактерий к металлам, получено представление об основных путях подготовительного метаболизма трехкольцевых ПАУ, выявлены доминирующие метаболиты, образующиеся при их деградации, определена активность вовлеченных в этот процесс ферментов. Охарактеризован стимулирующий рост растений потенциал исследуемых ризобий и проанализировано влияние ПАУ и металлов на бактериальный синтез ИУК. Получены свидетельства влияния ионов цинка на экспрессию катаболических генов *nah*E и *pca*G одного из штаммов *Ensifer meliloti*, а также фенантрена на экспрессию генов резистентности к этому тяжелому металлу *znt*A и *znt*B. Более того, подтверждена высокая активность всех целевых генов при одновременном присутствии двух типов загрязнителей. Биоремедиационный потенциал бифункциональной бактерии *E. meliloti* апробирован в условиях лабораторного опыта по фиторемедиации почвы с комплексным загрязнением нефтяными углеводородами и тяжелыми металлами.

E-mail: muratova_a@ibppm.ru

ПРИМЕНЕНИЕ БИОСУРФАКТАНТОВ РОДОКОККОВ В СИНТЕЗЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА

Нечаева И.А., Филиппова А.С.

Тульский государственный университет, Тула

Бактерии рода *Rhodococcus* являются продуцентами большого количества ценных соединений, которые используются в различных областях науки и сферах деятельности человека: противоопухолевые вещества, антимикробные агенты, каротиноиды, сидерофоры, гетеробактины, осмопротекторы (триацилглицериды, нейтральные липиды, полигидроксиалканоаты, бетаин, пролин, эктоин, аскорбиновая и салициловая кислоты, трегалоза), биосурфактанты (глюколипиды, полисахариды, липопептиды). Одним из перспективных направлений применения биосурфактантов родококков является их использование в методах «зеленого» синтеза наночастиц серебра (НЧС). В основу «зеленых» технологий синтеза положен принцип химического процесса последовательного восстановления ионов Ag+ до наночастиц и их стабилизация в растворе для предотвращения агломерации. В настоящей работе объектом исследования выступили гликолипидные биосурфактанты бактерий *Rhodococcus qingshengii* X5. Синтез наночастиц серебра проводили с использованием условий, ранее подобранных для системы с борогидридом натрия (Ag/B/биоПАВ): pH($AgNO_3$)=8, C($AgNO_3$)=1 ммоль/л, содержание биосурфактантов – 50 мг/л. В электронном спектре коллоидного раствора формируется один максимум поглощения при длине волны 430 нм. В ИК-спектре коллоидного раствора наночастиц Ag/биоПАВ наблюдается появление растянутой полосы деформационных колебаний связи O-H (3470-3415 $см^{-1}$), полосы колебаний NO_3^- - иона (1381 $см^{-1}$) и гипсохромный сдвиг полос колебаний связи сложноэфирной группы C=O (с 1709 к 1635 $см^{-1}$) и пиранозного цикла (с 1157 к 1111 $см^{-1}$), а также исчезновение полосы колебаний сложноэфирной группы C-O. Таким образом, можно полагать, что стабилизация наночастиц в растворе происходит за счет сложноэфирной связи молекулы трегалолипида. С применение методов динамического рассеяния света и сканирующей электронной микроскопии с энергодисперсионной спектроскопией были определены распределение наночастиц по размерам, их форма и элементный состав. 90% распределения составили частицы с размером менее 313 нм, а средних размер – 174 нм. Больший размер наночастиц, полученных в отсутствии борогидрида натрия, обусловлен меньшей восстанавливающей способностью компонентов гликолипидного экстракта. На СЭМ-изображениях наночастицы формируют светящиеся структуры, что обусловлено зарядкой элементов микроструктуры электропроводящим серебром. По СЭМ-фотографиям установлена сферическая форма наночастиц. Качественно наличие серебра в коллоидных системах подтверждается по пику при 3 кэВ на ЭДС-спектре, характеризующему Lα-излучение серебра. На картированных ЭДС-изображениях определяется положение элемента серебра (Ag) в области светящихся участков. Таким образом, в работе показана принципиальная возможность применения биосурфактантов штамма *R. qingshengii* X5 в качестве стабилизирующего агента в синтезе наночастиц серебра. Широкое применение наночастиц обусловлено наличием у них антимикробной активности и неспособностью патогенных организмов формировать к ним резистентность. Их использование может послужить решением актуальной в настоящее время проблемы множественной антибиотикорезистентности микроорганизмов.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда, грант № 21-21-20033, https://rscf.ru/project/24-24-20033/.

E-mail: nechaeva1902@gmail.com

ВЫДЕЛЕНИЕ ЭНДОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ ЛЮЦЕРНЫ ПОСЕВНОЙ (*MEDICAGO SATIVA*), СТИМУЛИРУЮЩИХ РОСТ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ СТРЕСС-ФАКТОРОВ

Наумович Н.И., Федоренчик А.А., Алещенкова З.М., Сафронова Г.В.

Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск

Эндофитные микроорганизмы играют важную роль в развитии растений, повышая их устойчивость к стрессам разной природы. Большинство эндофитов вступают в тесные взаимоотношения со своими растениями-хозяевами и предоставляют им элементы минерального питания, ферменты, гормоны, стимулируя рост и развитие растений в условиях воздействия абиотических стресс-факторов. Целью работы было выделить и изучить эндофитные бактерии люцерны, обладающие комплексом свойств, стимулирующих рост растений и повышающих устойчивость растений к действию стресс-факторов. Из корней, стеблей и листьев люцерны было выделено и отобрано 33 изолята, обладающих комплексом агрономически ценных свойств: азотфиксация, фосфатсолюбилизация, синтез индолил-3-уксусной кислоты, фермента АЦК-дезаминазы. Большинство изолятов были устойчивы к концентрациям ионов свинца и кадмия (10 и 1 ммоль/л соответственно) и углеводородов нефти (1%), 5 изолятов оказывали максимальный положительный эффект на рост и развитие люцерны в условиях искусственно созданной засухи и обеспечивали увеличение сырой фитомассы в два раза. Идентификация доминирующих эндофитов системой MALDI позволила отнести азотфиксирующие изоляты EnPh 10, EnPh 12, EnPh 13, EnPh 20 к роду *Rhizobium radiobacter*; фосфатсолюбилизирующие изоляты EnPh 32 - к *Pseudomonas mandelii*, EnPh 35 - *Pseudomonas koreensis*, EnPh 44 - *Pseudomonas jessenii*, EnPh 48 - *Pseudomonas brassicacearum*, EnPh S5 - *Agrobacterium tumefaciens*. Таким образом, отобранные эндофитные бактериальные изоляты, обладающие комплексом агрономически ценных свойств, перспективны для использования в качестве основы микробных препаратов, повышающих устойчивость растений в условиях засухи и загрязнения почв.
Исследование выполнено при финансовой поддержке БРФФИ (№ Б23УЗБ-097).

E-mail: naumovichnadezda@yandex.ru

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ШТАММА-ПРОДУЦЕНТА РЕКОМБИНАНТНОГО ЛИСТЕРИОЛИЗИНА О

Оглодина Д.Г., Кичемазова Н.В., Федорова В.А.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова», Саратов

Листериолизин О (LLO) – это экзотоксин, который является ключевым фактором патогенности *Listeria monocytogenes*, возбудителя пищевой токсикоинфекций у животных и человека. LLO отвечает за выход патогена из фагосомной мембраны, способствуя активному размножению листерий в организме. Заражение человека листериозом чаще происходит при употреблении продуктов животного происхождения. Поэтому своевременная диагностика и вакцинопрофилактика листериоза у сельскохозяйственных животных имеет важное значение. LLO является потенциальной мишенью для профилактических стратегий борьбы с листериозом, для разработки препаратов на его основе необходимо его выделение в препаративном количестве. Настоящее исследование было направлено на поиск оптимальных

условий для выращивания штамма-продуцента рекомбинантного LLO (rLLO). Штамм *Escherichia coli* ClearColi выращивали при температуре 37 °C на среде LB с 0,1% глюкозы и 25 мкг/мл канамицина. Изучено 3 режима: № 1 – в объеме 5 мл без аэрации; № 2 – в объеме 200 мл при шуттелировании 170 об/мин; № 3 – в аналогичных условиях, при 210 об/мин. Индукцию биосинтеза целевого белка проводили 1 мМ ИПТГ при 37 °C, 18 ч. Концентрацию КОЕ продуцента контролировали на спектрофотометре ($ОП_{600}$). Экспрессию rLLO изучали иммуноблоттингом с антителами к rLLO. В режиме № 1 у продуцента наблюдался замедленный рост без типичных тинкториальных свойств; № 2 – рост бактерий сопровождался филаментацией, стационарную фазу наблюдали через 66 ч; № 3 – стационарную фазу зафиксировали через 39 ч. Результаты иммуноблоттинга подтвердили, что для роста штамма-продуцента и экспрессии целевого белка наиболее оптимальным являлся режим культивирования № 3. В данной работе подобран оптимальный режим культивирования рекомбинатного штамма-продуцента, сокращающий время достижения log-фазы почти в 2 раза.
Работа выполнена при поддержке проекта РНФ №-22-16-00165-П.

E-mail: oglodinadaria@gmail.com

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ *BACILLUS ATROPHAEUS* AG8

Онасенко К.А., Амирджанов Ф.Ф., Празднова Е.В.

Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону

Микроорганизмы, относящиеся к роду *Bacillus,* способны продуцировать ряд вторичных метаболитов с разнообразной биологической активностью.
С целью разработки нового потенциального препарата, обладающего антибактериальной активностью, были выделены вторичные метаболиты из почвенного штамма *Bacillus atrophaeus* AG8. Бациллярный штамм культивировали в модифицированной минеральной среде с глюкозой в качестве единственного источника углерода. Было приготовлено два варианта среды: с добавлением ионов двухвалентного железа Fe^{2+} (концентрация $1{,}4\times10^{-5}$ М) и без железа. Выделенные экстракты фракционировали методом колоночной хроматографии низкого давления (LPLC, Biorad) на сорбенте Q буфером Tris/HCl в качестве элюента. Антимикробную активность полученных фракций (n=18) оценивали в отношении биосенсорного штамма *E. coli* MG1655 pFabA путем измерения уровня люминесценции, нормализованной по OD^{600} в микропланшетном формате (Fluostar Omega). Хроматографический анализ экстракта культуральной жидкости, полученного в условиях дефицита железа, выявил интенсивный пик при длине волны 283 нм, что свидетельствует о наличии бациллибактина – сидерофора, биосинтез которого индуцируется в данных условиях. В экстракте среды с добавлением железа ($1{,}4\times10^{-5}$ М Fe^{2+}) данный пик отсутствовал, что согласуется с железозависимой регуляцией синтеза бациллибактина. Тестирование антимикробной активности показало, что фракции №12–15 и №17–18 из экстракта, полученного в условиях дефицита железа, индуцировали высокий уровень биолюминесценции биосенсора по сравнению с отрицательным контролем (буфер Tris/HCl, 0.025 М, NaCl, 2 М). В экстракте, культивированном с добавлением железа ($1{,}4\times10^{-5}$ М Fe^{2+}), наибольшую активность проявили фракции №11–12. В заключение, были выделены фракции экстракта *Bacillus atrophaeus* AG8, содержащие метаболиты, обладающие антимикробной и мембранотропной активностью.
Исследование выполнено при поддержке Минобрнауки РФ (госзадание № FENW-2023-0008).
E-mail: ksenya.onasenko@mail.ru

ПРОДУЦЕНТЫ БИОВОДОРОДА ИЗ ПРИРОДНЫХ И АНТРОПОГЕННЫХ МЕСТООБИТАНИЙ

Паршина С.Н., Потокина В.В., Исупова Я.В., Литти Ю.В.

Институт Микробиологии им. С.Н. Виноградского ФИЦ Фундаментальные основы биотехнологии РАН, Москва

Возросший глобальный спрос на надежные и возобновляемые источники энергии стимулирует поиск и разработку альтернативных видов топлива. Биологические методы получения водорода основаны на использовании различных групп микроорганизмов. Наиболее перспективным и изученным методом получения биоводорода является темновое сбраживание – процесс анаэробного превращения органических веществ в водород, летучие жирные кислоты и углекислый газ. Выход водорода в процессе темнового сбраживания зависит от типа используемого субстрата, pH и температуры, однако наибольшее влияние на эффективность протекания процесса оказывает состав микробного сообщества. Цель данного исследования заключалась в поиске и выделении анаэробных продуцентов биоводорода из различных антропогенных и природных местообитаний, идентификации и описании полученных штаммов чистых культур бактерий известных и новых таксонов. В работе использовали классические методы: метод предельных разведений, получения отдельных колоний и т.д. Культуры выделяли из природных и антропогенных местообитаний (пруд-накопитель Байкальского ЦБК, измельченная солома, древесная труха сгнившего дерева, сброженный осадок термофильного метантенка, свежий конский навоз, пруд-накопитель навоза КРС, вода из подземного горизонта ОАО ЧМЗ). Были получены мезофильные и термофильные, потенциально полезные для применения в биотехнологии и дальнейшего исследования активные накопительные и чистые культуры, способные к гидролизу полисахаридов (крахмала, гуаровой камеди, МКЦ, пшеничной соломы) и моносахаров с выделением водорода. Из ила кремнистых термальных вод Горячинского источника (регион Байкала) выделена термофильная культура нового таксона штамм PP1, ближайшим видом по степени сходства 88,96% по гену 16S рРНК является *Caldicellulosiruptor morganii*. Бактерия принадлежит к новому роду и не имеет пока таксономического названия. Штамм растет при высоких температурах 55-65°C на моно-, ди- и полисахаридах, и способен продуцировать водород (21.2%). Из восьми антропогенных мест обитания были выделены 7 мезофильных и 5 термофильных продуцентов водорода. Это мезофильные *Clostridium butyricum* (штаммы 1-3) со степенью сходства гена 16S рРНК с типовым штаммом этого вида: 98.9, 99.33 и 99.86% соответственно, *Citrobacter freundii* (99.52%); *Escherichia fergusonii* (штаммы 1,2) (99,59% и 99,53%), *Lacrimispora celerescens* (99.3%) и *Clostridium beijerinckii* (99,89%). Термофильные культуры: *Thermohydrogenium kirishiense* (99.8%) *Clostridium thermopalmarium* (99.6, 99.5 и 99.2%) и *Acetivibrio clariflavus* (98.5%). Использование наиболее активных культур внесет вклад в развитие битотехнологии темновой ферментации с получением биоводорода.

E-mail: sonjaparshina@mail.ru

ВЛИЯНИЕ СООТНОШЕНИЯ АЦЕТАТА И ПРОПИОНАТА НА СТРУКТУРУ МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА ДЕНИТРИФИЦИРУЮЩИХ ФОСФАТ-АККУМУЛИРУЮЩИХ ОРГАНИЗМОВ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ОДНОВРЕМЕННОГО УДАЛЕНИЯ ФОСФОРА И АЗОТА

Пелевина А.В., Дорофеев А.Г., Груздев Е.В., Пименов Н.В., Марданов А.В.

Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, ФИЦ Биотехнологии РАН

Денитрифицирующие фосфат-аккумулирующие организмы (ДФАО) играют ключевую роль в процессах удаления азота и фосфора из сточных вод. Ацетат является универсальным субстратом для этих микроорганизмов, однако пропионат, часто присутствующий в стоках, оказывает значительное влияние на состав и функциональную активность микробных сообществ. В работе изучено воздействие различных соотношений ацетата и пропионата на удаление фосфата и нитрата из среды, а также на структуру микробного сообщества ДФАО в SBR-биореакторе, работающего в циклическом анаэробно/аноксидном режиме. Эксперименты проводились при шести различных вариантах соотношения субстратов – от 100% ацетата до преобладания 80% пропионата. Динамика фосфатов соответствовала метаболической модели ДФАО, однако увеличение доли пропионата втрое снижало выброс фосфата в анаэробной фазе, эффективность удаления и скорость потребления фосфата нитрата в аноксидной. Профилирование по гену 16S рРНК показало, что увеличение доли пропионата сопровождалось уменьшением таксономического разнообразия и изменением соотношения представителей ДФАО *Dechloromonas* и *Ca. Accumulibacter.* Доля представителей *Dechloromonas* снижалась с 41.2% при содержании 80% ацетата в среде до 8.99% при 20%. Относительная численность *Ca. Accumulibacter* напротив, увеличивалась с 0.3% до 27.5%. Таким образом, состав субстратов оказывает значительное влияние на структуру и активность ДФАО. Для повышения эффективности очистки сточных вод от фосфора и азота важно учитывать не только количество, но и тип источника углерода и энергии.

Работа выполнена при поддержке РНФ (проект № 21-64-00019-П)

E-mail: annie.pelevina@yandex.ru

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ШТАММОВ ПРОДУЦЕНТОВ ФЕРМЕНТОВ НА ОСНОВЕ ГЕНОМА ДРОЖЖЕЙ И КОЛЛЕКЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ

Пельтек С.Е., Задорожный А.В., Уварова Ю.Е., Шипова А.А., Богачева Н.В., Шляхтун В.Н., Чесноков Д.О., Хлебодарова Т.М., Банникова С.В., Букатич Е.Ю., Бочков Д.В., Слынько Н.М., Павлова Е.Ю., Коржук А.В., Васильева А.Р.

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

Создан конвейер разработки штаммов – продуцентов ферментов, что позволило осуществить разработку технологии получения препаратов ферментов для нужд промышленности. В основе конвейера лежит разработка методов поиска и идентификации природных генов, кодирующих целевые ферменты; модификации генома дрожжей *Komagataella phaffii*, разработка методов повышения экспрессии и секреции соответствующих белков, методов культивирования и получения препаратов целевых ферментов, качественного и количественного анализа процесса микробиологического синтеза современными методами геномики, транскриптомики, протеомики и биоинформатики. На базе коллекции

микроорганизмов биотехнологического назначения ФИЦ ИЦиГ СО РАН, получены и аннотированы полные последовательности более 3000 геномов природных штаммов, что позволило выявить штаммы микроорганизмов, являющиеся источником ценных генов и создать систему отбора генов, контролирующих биосинтез целевых биокатализаторов: целлюлаз, альфа-амилаз, липаз, ксиланаз, манназ и т.д. пригодных для биореформинга. Для разработки масштабируемой технологии получения препаратов ферментов была использована способность дрожжей вида *Komagataella phaffii* к секреции целевых гетерологических белков в культуральную среду. Методами генной инженерии выполнен их перенос в геном дрожжей *K. phaffii*, показана эффективная экспрессия целевых белков в культуральную среду под контролем промотора и терминатора гена AOX1 и лидерного пептида, разработана технология получения препаратов целевых ферментов, включающая методы мембранной фильтрации с поперечным течением и хроматографии высокого давления с последующей идентификацией продуктов масс-спектрометрическим анализом Методами современных геномики, количествой протеомики и метаболомики получены новые данные о системе секреции клеток дрожжей *K. phaffii*. Эффективность полученного конвейера проверена при культивировании штаммов продуцентов в условиях 5-литровых биоректоров и при проведении полупромышленного синтеза ферментов альфа амилазы, клиланазы и протеазы в условиях 100-литрового биореактора.
Работа выполнена при финансовой поддержке компании АО «ЭФКО», «Курчатовского геномного центра ИЦиГ СО РАН» и Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (№ FWNR-2022-0022).

E-mail: peltek@bionet.nsc.ru

РИЗОСФЕРНЫЕ БАКТЕРИИ, ПОВЫШАЮЩИЕ СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА ПАСЛЕНОВЫЕ

Пригодская В.И., Клишевич Н.Г., Сафронова Г.В., Ананьева И.Н.

Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск

Продуктивность сельскохозяйственных культур зависит от взаимодействия растений и среды обитания, которая очень изменчива и не всегда для них благоприятна из-за дефицита или избытка воды, экстремальных температур, засоления и других стресс-факторов. Цель работы – выделить ризосферные бактерии и изучить их агрономически ценные свойства, оценить перспективу их использования в условиях действия стресс-факторов. Из ризосферы томатов, картофеля и табака выделены 114 бактериальных изолята. Показано, что 35 изолятов продуцируют фитогормоны (4–95 мкг ИУК/мл культуральной жидкости), 9 изолятов содержат *nifH*-ген, являющегося маркером азотфиксации, 17 – активно солюбилизируют фосфаты кальция (диаметр зон «гало» 5,4-17,2 мм), 11 – хорошо выживают в условиях искусственно созданной засухи (-0,83 МПа), 1 – в присутствии 15% NaCl, 9 – при температуре 55 ^{o}C. На основании анализа нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК установлена принадлежность 4 отобранных штаммов к родам *Rhodococcus, Agrobacterium, Pseudarthrobacter* и *Stutzerimonas*. Созданный бинарный консорциум совместимых друг с другом бактерий рр. *Rhodococcus* + *Stutzerimonas* в опытах in vitro оказывал стимулирующее влияние на томаты сорта Зорка, растущие условиях засоления (100мМ NaCl) и засухи (-0,15 МПа): всхожесть составила 100% от контроля, длина проростков возрастала в 1,5 раза и на 28% соответственно, величина сырой/ сухой фитомассы томатов – выше по сравнению с контролем в среднем на 74%.

Таким образом, отобранные штаммы перспективны для повышения устойчивости пасленовых растений, произрастающих в условиях воздействия неблагоприятных абиотических факторов.
Исследование выполнено при финансовой поддержке БРФФИ (грант № Б23КУБ-011).

E-mail: prigodskaaveronika68@gmail.com

БИОДЕГРАДИРУЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ ПОЧВЕННЫХ ГРИБОВ В ОТНОШЕНИИ ИМАЗАМОКСА

Приставка Е.О., Шадрина Е.С., Беловежец Л.А.

ФГБУН Федеральный исследовательский центр Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН, Иркутск

В настоящее время одной из наиболее перспективных в научном и практическом плане технологий деструкции токсичных веществ является биологический метод их детоксикации с использованием различных микроорганизмов. Цель работы – изучение деградации имазамокса почвенными грибами и их предварительная идентификация. Ранее из образцов почвы были выделены 20 штаммов чистых культур грибов. Выделение штаммов проводилось на твердые питательные среды с последующей идентификацией и изучением культуральных, морфологических и тинкториальных свойств. В результате для дальнейшей работы были отобраны 15 штаммов. Для выбора наиболее перспективных из них была проведена оценка их деструктивного потенциала. Для этого грибы инокулировали в жидкую минеральную среду Кирка с добавлением пестицида в концентрации 0,1 мг/л. Культивировали при 26ºС в течение трех недель с еженедельным отбором проб для определения остаточных количеств пестицида. Далее анализировали методом ВЭЖХ с помощью хроматографической системы Хроматрон-1411. Контролем служила стерильная питательная среда без микроорганизма. В результате было выявлено, что штаммы Тб-2, Тз-9, Тс-19 и П-25 за три недели эксперимента способны утилизировать имазамокс в концентрации равной ПДК пестицида в почве на 30,4%, 26,2%, 31,9% и 35,3% соответственно. Предварительная идентификация культур показала, что штаммы Тб-2, Тз-9 и Тс-19 могут быть отнесены к роду *Trichoderma*, а штамм П-25 к роду *Penicillium*. Таким образом, представленные результаты свидетельствуют, что исследуемые штаммы грибов могут быть перспективны в качестве деструкторов гербицида имазамокс.

E-mail: katya-i-95@mail.ru

СИСТЕМЫ ТРАНСПОРТА АМИНОКИСЛОТ С РАЗВЕТВЛЁННОЙ БОКОВОЙ ЦЕПЬЮ У *CORYNEBACTERIUM GLUTAMICUM*: НЕ ТОЛЬКО BrnFE и BrnQ

Розанцева В. В., Шереметьева М. Е., Дербиков Д. Д., Орлов А. С., Яненко А. С.

НИЦ «Курчатовский институт», Курчатовский геномный центр, Москва

Corynebacterium glutamicum – ключевой объект биотехнологии, основа для продуцентов аминокислот, включая валин и изолейцин (аминокислоты с разветвленной боковой цепью – BCAA). Актуальность создания таких штаммов обусловлена отсутствием российского производства BCAA при растущем спросе на них, особенно в животноводстве. Современные

методы создания штаммов включают редактирование генома для повышения выхода продукта, с особым вниманием к модификации транспортеров, важной для эффективного экспорта аминокислот и предотвращения их обратного захвата. Транспорт BCAA в клетки *C.glutamicum* осуществляется пермеазами BrnFE (экспорт) и BrnQ (импорт). Считается, что других систем транспорта BCAA у *C. glutamicum* нет. Однако полученные нами данные этому предположению противоречат. При разработке продуцента валина мы получили ауксотрофные по изолейцину штаммы *C. glutamicum*, в которых также был инактивирован ген импортера BCAA *brnQ*. Ожидаемого нарушения роста не произошло: при 0,03-0,15 мМ изолейцина в среде такие штаммы росли так же, как штаммы с интактным *brnQ*. Это свидетельствует о наличии у *C. glutamicum* альтернативных механизмов импорта BCAA. Гипотезу подтвердили экспериментом с BCAA-биосенсором, введенным в клетки *C. glutamicum* с инактивированным и интактным *brnQ*: при одинаковой концентрации изолейцина уровни флуоресценции у всех штаммов были одинаковыми. Далее мы получили штаммы *C. glutamicum* с инактивированной системой экспорта BCAA BrnFE. Обнаружилось, что Δ*brnFE* не влияет на продукцию валина. Эксперименты с BCAA-биосенсором показали, что Δ*brnFE* влияет на внутриклеточную концентрацию валина в штаммах с высоким уровнем его продукции, но не тогда, когда продукция низкая. Это позволяет предположить наличие у *C. glutamicum* альтернативной системы экспорта BCAA. Представленные данные дали начало поиску новых транспортеров BCAA у *C. glutamicum*, модификация которых будет использована при разработке на новых продуцентов BCAA.
Финансирование: Минобрнауки РФ (Соглашение № 075-15-2025-527).

E-mail: v.rozantseva@bk.ru

РАЗРАБОТКА МЕТОДА УКРЕПЛЕНИЯ ИЗВЕСТНЯКА НА ОСНОВЕ КОМБИНИРОВАНИЯ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ

Руденко А.П., Комова А.В., Намсараев З.Б.

Национальный исследовательский центр «Курчатовский Институт», Москва

Строительство зданий, сооружений и памятников с использованием материалов из карбоната кальция широко распространено во всем мире. К таким материалам можно отнести природный камень (известняк, мрамор). Под влиянием неблагоприятных факторов окружающей среды и неподходящих условий эксплуатации данный материал подвержен разрушению, образованию трещин и выцветанию. В настоящий момент существует множество классических реставрационных методов, к которым можно отнести использование бетонных и цементных смесей, применение лаков, красок, штукатурок. Применение таких материалов зачастую приводит к ускорению разрушения оригинального камня, так как физико-химические свойства данных материалов существенно отличаются. Например, применение бетонных смесей может приводить к ускорению разрушения менее прочного оригинального известняка под влиянием естественных нагрузок, в то время как доделочный материал остается целым. Целью данной работы является разработка метода укрепления известняка, основанного на комбинировании химического и биологического реставрационных подходов. В данной работе были протестированы различные способы нанесения химических покрытий, улучшающих свойства природного камня, а также разработаны методы стимулирования естественного микробного сообщества для формирования карбонатного слоя на поверхности известняка. Разработанный комплексный метод значительно улучшал прочностные характеристики известняка, повышал устойчивость к воздействию солей и морозостойкость, способствовал снижению водопоглощения. Полученные данные свидетельствуют о большом потенциале применения разработанного метода для укрепления сооружений и памятников из природного камня.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Соглашение № 075-15-2025-527 от 30.05.2025 г.).

E-mail: inasty5@mail.ru

СУШКА СМЕШЕНИЕМ БИОМАССЫ SACCHAROMYCES CEREVISIAE ДЛЯ СОЗДАНИЯ ТВЕРДОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ

Рыбак В.А., Терентьева Д.В., Редкозубов С.В.

Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград

Пробиотические дрожжи высушивают лиофилизацией или в потоке горячего воздуха. Такие способы сушки требуют применения специального оборудования и ведут к гибели или мутациям значительной части клеток. Предлагается метод сушки смешением, позволяющий высушивать дрожжи в щадящих условиях и без применения дополнительного оборудования. Возможность контроля консистенции в зависимости от состава смеси позволяет гранулировать и таблетировать ее сразу по окончании смешивания. Материалы и методы. Трегалозу, сахарозу и лактулозу обезвоживали в течение 60 мин при температуре от 100 до 110 °C. Прессованные пекарские дрожжи с влажностью 30% смешивали, постепенно добавляя обезвоженные сахара. Получали смесь с конечной расчетной влажностью 8%, 6%, 4% и 2%. Выживаемость и число петит-мутантов определяли высевом на YPD-агар после 10-кратных разведений. Консистенция смеси в зависимости от сахара различается: с трегалозой – сыпучая, с лактулозой – пластичная, с сахарозой – текучая, что связано с разной влагопоглощающей способностью сахаров: трегалоза – 100%, лактулоза – 15%, сахароза – 1%. При влажности смеси 6% трегалоза обладает наибольшим протективным эффектом. 4% влажности – критический уровень, поэтому в определённых моментах смеси дрожжей с сахарозой показывали большую жизнеспособность т.к консервирующий эффект сильнее протективного. Предложенный метод сушки позволяет изготовить стабильную сухую биомассу пробиотических дрожжей требуемой консистенции, пригодную для прямого гранулирования и таблетирования.

E-mail. rybak.Vladislav.2045@gmail.com

МИКРОБНОЕ СООБЩЕСТВО ПЛАСТОВОЙ ВОДЫ БИКЛЯНСКОГО НЕФТЯНОГО МЕСТОРОЖДЕНИЯ ДО И ПОСЛЕ ЗАКАЧКИ УГЛЕКИСЛОТЫ

Семенова[1] Е.М., Соколова[1] Д.Ш., Курбанова[2] Г.Г., Садыков[2] Н.Н., Фаттахов[2] И.Г., Марданов[1] А.В., Назина[1] Т.Н.

[1]ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва
[2]Институт «ТатНИПИнефть», ПАО «Татнефть» им. В.Д. Шашина, Альметьевск

Снижение эмиссии парниковых газов в атмосферу – один из главных вызовов для современной индустрии и общества. Закачка CO2 в выработанные нефтяные пласты может производиться для захоронения, биоконверсии в метан и повышения нефтеизвлечения. При выборе участка для удаления CO_2 необходимы предварительные физико-химические и микробиологические исследования. Целью работы было определение состава микроорганизмов в пластовой воде Биклянского нефтяного месторождения, выбранного для закачки углекислоты, и выявление потенциальных продуцентов метана. Пробы пластовых

флюидов отбирали в 2022 и 2024 гг. В работе использовали аналитические, микробиологические и молекулярно-экологические методы. Выбранный участок нефтяного месторождения характеризуется экстремально высокой минерализацией пластовой воды (179–292 г/л). До нагнетания CO_2 в пластовой воде присутствовали культивируемые галофильные/галотолерантные аэробные органотрофные и анаэробные бродильные, сульфатредуцирующие и метаногенные микроорганизмы. Методом анализа гена 16S рРНК в пластовой воде были выявлены метаногены родов *Methanospirillum, Methanosarcina, Methanoregula, Methanolinea, Methanobrevibacter, Methanothermobacter, Methanohalophilus* и *Methanomethylovorans*, известные способностью расти на H_2/CO_2, ацетате, формиате и метаноле. Выявленные бактерии принадлежали к филумам *Pseudomonadota, Candidatus Patescibacteria, Bacillota* и *Bacteroidota*. Выделены чистые культуры бродильных бактерий рода Halanaerobium и накопительная культура, содержащая галофильных метаногенов рода Methanohalophilus. При совместном культивировании *Halanaerobium* и метаногенов на среде с сахарозой была показана биоконверсия CO_2 в метан. В 2024 г на опытном участке было закачано 948.5 тонн жидкой углекислоты, что привело к снижению pH и росту содержания растворенных карбонатов в пластовой воде. Проводится мониторинг экосистемы нефтяного пласта и оценка воздействия CO_2 на микробиоту. Выводы: полученные результаты свидетельствуют о разнообразии микроорганизмов опытного участка Биклянского месторождения и возможности активации галофильных метаногенов пласта при наличии источника молекулярного водорода, продуцентами которого могут быть бактерии рода *Halanaerobium*, сбраживающие внесенные углеводные субстраты.
Работа выполнена при частичной поддержке гранта РНФ № 21-64-00019.

E-mail: semenova_inmi@mail.ru

ВЛИЯНИЕ ПОЛИМЕРНЫХ РЕМЕДИАНТОВ НА ПОЧВЕННЫЙ МИКРОБИОМ

Сергеева Ю.Д., Федосеева Е.В., Деревенец Е.Н., Кулачкова С.А., Якименко О.С., Терехова В.А.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

Для восстановление загрязненных почв в качестве успешных почвоулучшителей рекомендованы полимерные препараты синтетического происхождения (такие как ГИПАН, в частности). Их положительный эффект связан с улучшением физических свойств и с предотвращением ветровой эрозии. Однако, сведений об их влиянии на почвенную биоту недостаточно. Цель работы – изучение воздействия полимерных ремедиантов (ПР) - ГИПАНа и его бинарной композиции с гуматом калия (ГК), на функциональные и структурные характеристики микробиома агродерново-подзолистой почвы при разных уровнях полиметаллического загрязнения. Почву загрязняли комплексом солей тяжелых металлов (ТМ) в дозах, равных 2, 4, 6 ОДК катионов Cd, Zn, Cu, Pb. По истечение 7 суток вносили ПР в виде растворов: ГИПАН и ГК совместно и в отдельности (0,2 % с.в). Методы исследования эффектов ПР включали оценку микробного метаболического коэффициента по данным хроматографического анализа эмиссии CO_2 («почвенного дыхания») и метагеномный анализ структуры грибных сообществ (альфа- и бетта-разнообразия при 6 ОДК). Установлено, что ПР оказывают положительный эффект на почвенный микробиом загрязненной ТМ почвы, снижая микробный метаболический коэффициент до допустимого уровня. При 2 и 4 ОДК ТМ эффективнее был ГИПАН, при 6 ОДК композитный препарат. Метагеномный анализ показал, что ПР повышают альфа-разнообразие и формируют новое сообщество микромицетов, отличное от загрязненной почвы. По способности поддерживать метаболическую устойчивость микробного сообщества и восстановлению уровня

биоразнообразия микромицетов при высоком уровне загрязнения ТМ установлены преимущества бинарной композиции полимерных ремедиантов.
Исследование выполнено в рамках Программы развития МГУ (проект № 23-Ш07-13 - Мелиорация и охрана почв. Новые подходы с использованием полимерных композиционных материалов.

E-mail: letap@gmail.com

ЭКСТРЕМОТОЛЕРАНТНЫЕ АКТИНОМИЦЕТЫ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ИСТОЧНИК БИОАКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Синёва О.Н., Маркелова Н.Н., Семёнов И.А., Прохоренко И.А., Кудрякова Г. Х., Левшин И.Б., Садыкова В.С.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе», Москва

Одной из главных проблем современной медицины является антибиотикорезистентность патогенных микроорганизмов к используемым противомикробным препаратам. Актиномицеты - грамположительные мицелиальные бактерии, которые в настоящее время являются непревзойденными продуцентами антимикробных соединений и, как показывают последние исследования геномов, биосинтетический потенциал этой группы далеко еще не исчерпан. В связи с особенностями метаболизма микроорганизмов, обитающих в экстремальных условиях, интерес для поиска новых антимикробных агентов, представляют актиномицеты, выделенные из таких мест обитания, как засоленные почвы и озера, вечномерзлые почвы, пустыни, горячие источники и т.п. В данном исследовании изучен антимикробных потенциал экстремотолерантных (гало-, алкалотолерантных) актиномицетов коллекции ФГБНУ «НИИНА», в отношении широкого спектра тест-организмов (грамположительных, грамотрицательных бактерий и грибов, в том числе патогенов растений). Актиномицеты были выделены из озер Тамбукан и Соленое (Ставропольский край), озер Зун-Торей и Хангей (Забайкальский край), Тронхеймс фьорда (Норвегия). Исследуемые биотопы различались по уровню солености, показателям pH и температурным диапазонам. Всего было изучено 380 штаммов актиномицетов, проведенная идентификация на основании нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК показала, что доминантными компонентами изученных экосистем являлись актиномицеты родов Streptomyces, Micromonospora и Nocardiopsis. Определение антимикробной активности стандартным методом диффузии в агар при глубинном культивировании актиномицетов на 8 питательных средах различного состава показало, что 368 штаммов обладало антимикробной активностью в отношении широкого спектра тест-организмов. С целью структурной аннотации геномов актиномицетов редких видов – *Micromonospora palomenae* и *Micromonospora veneta*, выделенных из озера Тамбукан, а также поиска биосинтетических кластеров генов у штамма *Streptomyces albidoflavus* (Тронхеймс фьорд) было проведено полногеномное секвенирование на секвенаторе MinION (Oxford Nanopore Technologes). Анализ биологически активных метаболитов с использованием ВЭЖХ, ЯМР и масс-спектрометрии выявил наличие соединений класса семейства Lactoquinomycin у *Streptomyces bacillaris*, у *Streptomyces pratensis* – *Cycloheximide*, у *Streptomyces albidoflavus* – *Daidzein*.

В исследовании показано большое разнообразие экстремотолерантных актиномицетов, обладающих антимикробной активностью, в том числе при культивировании в питательных средах, содержащих повышенные концентрации NaCl и высокими показателями pH, которые могут быть потенциальными продуцентами новых антибиотиков.

E-mail: olga.sineva81@yandex.ru

РАЗРАБОТКА ПОЛУТВЕРДОГО СЫРА С ПРОПИОНОВОКИСЛЫМИ БАКТЕРИЯМИ: ОТ ШТАММОВ К ТЕХНОЛОГИИ

Смирнова Т.С., Рогов Г.Н.

ВНИИМС, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия - филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова, Углич

Пропионовокислые бактерии играют ключевую роль в формировании вкуса, аромата и глазков в сырах швейцарской группы и, в первую очередь, сыра Маасдам. Технология производства таких сыров является одной из наиболее трудновоспроизводимых и требует строгого контроля параметров (температура, pH, состав микробиоты и др.), так как пропионовокислые бактерии чувствительны к условиям производства. Целью исследования было создание полутвердого сыра с использованием отечественных штаммов из коллекции ВНИИМС. В результате исследований были отобраны 12 штаммов пропионовокислых бактерий рода *Propionibacterium,* из которых в результате исследований отобрано 6 с наибольшей способностью к газообразованию и формированию рисунка сыра. Также было изучено влияние на отобранные штаммы защитных систем, препятствующих развитию маслянокислых бактерий, осуществляющих порчу сыра. Было установлено, что лизоцим не оказывает влияния на пропионовокислые бактерии, нитраты тормозят развитие 30 % исследуемых штаммов, а защитная культура *Lactiplantibacillus plantarum* подавляет все изученные штаммы. Выявленный антагонизм защитной культуры выдвинул необходимость проверить ингибирующее действие основной лактококковой заквасочной микрофлоры. Из 27 штаммов *Lactococcus spp.* все штаммы тормозили развитие пропионовокислых бактерий в течение первых 48 часов, а затем был установлен переход от антагонизма к симбиозу между лактококками и пропионовокислыми бактериями. Учитывая полученные экспериментальные данные, была проведена адаптация созревания сыра к оптимальным условиям для культур бактерий, также были внесены изменения в процесс посолки сыра, что позволило перевести созревание на бескорковый режим, снизить стоимость производства и увеличить выход готового продукта. Все результаты исследований были проверены в практических выработках сыров, что позволило создать отечественную технологию производства полутвердого сыра – аналога сыра Маасдам.

E-mail: t.smirnova@fncps.ru

МЕТАГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ МИКРОБИОТЫ РЕПРОДУКТИВНЫХ ОРГАНОВ КОРОВ С НАРУШЕНИЕМ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ

Соколов[1,3,4] С.Л., Сорокин[2] А.С., Джелядин[2] Т.Р., Фурсова[3] К.К., Никанова[4] Д.А., Колодина[4] Е.Н., Артемьева[4] О.А., Зиновьева[4] Н.А., Бровко[3,4] Ф.А.

[1] ФИЦ ПНЦБИ РАН, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К.Скрябина РАН, Пущино
[2] ФИЦ ПНЦБИ РАН, Институт биофизики клетки РАН, Москва
[3] ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста, Дубровицы
[4] Филиал Института биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, Пущино

Материалом исследований служили биологические образцы как здоровых коров, так и коров с различными формами мастита, метрита и нарушениями репродуктивной функции. Для метагеномных исследований были отобраны 56 образцов, по 28 мазков из цервикального канала и влагалища. Тотальная ДНК выделялась из образцов биоматериала коров с помощью набора ZymoBIOMICS™ DNA Miniprep Kit. После оценки качества препаратов ДНК подготавливалась библиотека метагеномного сиквенса на приборе MinION (Oxford Nanopore). Качество сиквенса проверяли с помощью FastQC toolkit. Операционные таксономические единицы (OTE) получали сравнением с базой данных SILVA. Сборку, биннинг, аннотирование и таксономическую обработку метагеномных чтений проводили в Центре ресурсов бактериальной и вирусной биоинформатики (BV-BRC) (https://www.bv-brc.org). Показано, что у коров с маститом во влагалище значительно возрастало количество *Streptococcus equinus* (39% от всех стрептококков), *Streptococcus pluranimalium* (21%) и *Streptococcus galiolyticus* (14%). Наибольшее содержание *Staphylococcus aureus* тоже было характерно для влагалища коров с маститом. У коров с маститом и метритом в цервикальном канале возрастало содержание *Escherichia marmotae* (27% от *Escherichia*) и уменьшалось содержание обычно доминирующей *Escherichia coli* до 53%. Наличие таких патогенов, ассоциированных с метритом, как *Trueperella pyogenes, Fusobacterium necrophorum, Pseudomonas aeruginosa* не коррелировало с диагнозом коров. Обнаружена значительная корреляция (p=0.005529) между наличием в образцах вируса Macavirus bovinegamma6 и диагностированным метритом.

E-mail: ss_22@rambler.ru

ПРОБИОТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СВОБОДНЫХ ОТ УСТОЙЧИВОСТИ К АНТИБИОТИКАМ *LACTICASEIBACILLUS PARACASEI*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ФЕРМЕНТИРОВАННОГО ВЕРБЛЮЖЬЕГО МОЛОКА

Соколянская[1] Л.О., Лукина[1] А.П., Никитина[1] Е.А., Хандышанова[1] М.М., Авакян[1] М.Р, Ганина[2] В. И., Чурин[1] А.А., Карначук[1] О.В.

[1]Томский государственный университет, Томск
[2]МГУТУ им. К.Г. Разумовского, Москва

Молочнокислые бактерии *Lacticaseibacillus paracasei* широко используют в промышленности в качестве закваски для молочных продуктов, прежде всего сыров, и как пробиотики - живые бактерии, оказывающей положительное влияние на здоровье человека. В последнее время возникли серьезные опасения относительно возможности передачи устойчивости к антибиотикам микробиоте человека и животных через стартовые культуры и пробиотики,

используемые в промышленности и содержащие гены антибиотикорезистентности (ARG). Проведенный нами ранее широкомасштабный скрининг микробиоты сельскохозяйственных животных и продуктов животного происхождения выявил высокое содержание ARG у животных, выращиваемых стойловым методом и получающих кормовые добавки. Микробиота животных, разводимых отгонно-пастбищным методом и не получающих кормовых добавок, не содержит трансмиссивных ARG. Ряд промышленно значимых представителей семейства *Lactobacillaceae* был выделен нами из ферментированного молока верблюдов (шубата) метагеномный анализ микробиоты которых, показал отсутствие трансмиссивных ARG. Целью настоящего исследования являлось изучение пробиотических свойств шести штаммов *L. paracasei*, свободных от генов устойчивости к антибиотикам и выделенных из ферментированного верблюжьего молока. Анализ последовательности гена 16S рРНК близкой к полной показал, что штаммы, обозначенные 1311, 1339, 1362 (1547), 1374, 1570-2, 1571-2, относились к виду *L. paracasei subs. paracasei*, а анализ последовательности геномов показал отсутствие ARG. Пробиотические свойства изученных штаммов включали устойчивость к низким pH (pH 2.0-2.5) и солям желчных кислот (до 1.5 %), а также способность к агрегации клеток. Также полученные штаммы *L. paracasei* устойчивы к воздействию лизоцима и ферментов желудочно-кишечного тракта, включая пепсин, трипсин и панкреатин. Штаммы используют для роста лактозу, сахарозу, мальтозу, маннит и фруктозу. Все исследованные штаммы, выдерживают воздействие высоких и низких температур (4 °C и 45 °C). В дальнейшем планируется изучить влияние штаммов *L. paracasei subs. paracasei* 1311, 1339, 1362 (1547), 1374, 1570-2, 1571-2 на рост и плодовитость модельного объекта на *Drosophila melanogaster*. Изучение пробиотических свойств новых штаммов *Lactobacillaceae* свободных от генов ARG является перспективным для создания пробиотиков нового поколения.

Изучение пробиотических свойств новых штаммов *L. Paracasei subs. paracasei* поддержано грантом РНФ 25-24-00493.

E-mail: Lusi5055@yandex.ru

ВЛИЯНИЕ 2,4-ДИАЦЕТИЛФЛОРОГЛЮЦИНА НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ПОЧВЕННОГО ГРИБНОГО СООБЩЕСТВА В УСЛОВИЯХ ЛАБОРАТОРНОГО ЭКСПЕРИМЕНТА

Степанов А.А., Дилбарян Д.С., Яшников А.В., Васильченко А.С.

Институт экологической и сельскохозяйственной биологии (X-BIO), Тюмень

Способность ризосферных бактерий рода *Pseudomonas* защищать растения от грибных фитопатогенов в значительной степени определяется арсеналом вторичных метаболитов. Среди них ключевую роль играет 2,4-диацетилфлороглюцин (2,4-ДАФГ), который обладает широким спектром биологической активности, в том числе – антифунгальной. Несмотря на то, что механизм антифунгального действия 2,4-ДАФГ расшифрован, особенности его действия, в частности – в условиях почвенного микобиома, практически не изучено. В данной работе было изучено влияние 2,4-ДАФГ на структурно-функциональные свойства почвенного грибного сообщества. В качестве штамма-продуцента 2,4-ДАФГ выступил *Pseudomonas protegens* CV3. В лабораторном эксперименте 2,4-ДАФГ в концентрациях 1 и 10 мг/кг почвы (лесные серые почвы) вносили в микрокосмы весом 500 гр, после чего с определенным временным интервалом (7, 14, 28, 56 суток) оценивали микробиологические показатели почвенных образцов. Микробиологическую активность оценивали по базальному (БД) и субстрат-индуцированному дыханию (СИД). Структуру почвенного микобиома изучали с помощью высокопроизводительного секвенирования ампликонов ITS фрагмента.

Ферментативную активность, в частности, β-D-1,4-целлобиозы (ЦЛ), β-1,4-глюкозидазы (ГЛ), β-1,4-ксилозидазы (КС), кислой фосфатазы (КФ), β-1,4-N-ацетил-глюкозаминидазы (N-АГ) и лейцинаминопептидазы (ЛАП), в почвенных образцах определяли с помощью флуоресцентно-меченных субстратов. В ходе исследования было продемонстрировано, что при внесении в микрокосмы 2,4-ДАФГ в концентрациях 1 и 10 мг/кг на 7, 14 и 28 сутки соинкубирования зафиксировано увеличение показателей БД и СИД в среднем на 26,8-60,3 и 35,2-70,4%, соответственно, по сравнению с контролем. На 56 сутки эксперимента статистически значимых изменений выявлено не было. Показано, что на 28 сутки эксперимента 2,4-ДАФГ в концентрациях 1 и 10 мг/кг почвы вызывает незначительное увеличение индекса Шеннона, характеризующего альфа-разнообразие грибов в почвенном сообществе, с 4,04±0,11 до 4,15±0,08 и 4,18±0,09, соответственно. Отмечено, что при внесении в почвенные микрокосмы 2,4-ДАФГ в концентрациях 1 и 10 мг/кг через 28 дней соинкубирования уменьшалась представленность отдела *Mucoromycota* с 35,61±4,50 до 22,84-28,90% и одновременно увеличивалась представленность отделов *Ascomycota* (с 50,34±3,39 до 55,89-60,95%) и *Basidiomycota* (с 12,34±0,83 до 12,80-14,85%). Выяснено, что внесение 2,4-ДАФГ в концентрациях 1 и 10 мг/кг почвы увеличивало активность на ЦЛ, ГЛ, КС и КФ на 7-28 сутки эксперимента в 2,2-2,7, 1,1-2,1, 2,2-6,8 и 1,3- 2,9 раз, соответственно. И напротив, активность ЛАП в почвенных образцах, содержащих 2,4-ДАФГ, на 7 и 28 сутки эксперимента была в 1,2-1,9 и 4,2-4,5 раз меньше, чем в контрольных. Полученные результаты расширяют представление об экологической роли 2,4-ДАФГ в почвенном грибном сообществе.

Работа поддержана Министерством науки и высшего образования Российской Федерации (FEVZ-2024-0005).

E-mail: stepanov590@mail.ru

ФИТОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ ШТАММОВ *PANTOEA BRENNERI*

Сулейманова А.Д., Васильева Е.С.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань

В последнее десятилетие загрязнение почвы тяжелыми металлами сильно возросло. Фитат-гидролизующие PGP-штаммы *Pantoea brenneri*, обладающие способностью к мобилизации широкого спектра труднорастворимых фосфатов, фунгицидной активностью против фитопатогенных микромицетов и стимулирующие рост растений, имеют потенциал для применения в качестве биоудобрения и биоремедиации. На твердой питательной среде минимальная ингибирующая концентрация $K_2Cr_2O_7$ и $ZnSO_4$ для штаммов *P. brenneri* составила 400 мг/л и 800 мг/л, соответственно. Для $CuCl_2$ и $CdCl_2$ ингибирование роста штаммов не наблюдалось даже при достижении максимальных концентраций (1600 мг/л и 200 мг/л, соответственно). В жидкой питательной среде МИК тяжелых металлов снизилась и составила для $K_2Cr_2O_7$ – 100 мг/л, для $CuCl_2$ и $ZnSO_4$ – 800 мг/л, а для $CdCl_2$ сохранилась на экстремально высоком уровне равном 320 мг/л. Инокуляция штаммами *P. brenneri* 3.2 и 3.5.2 семян пшеницы в присутствии тяжелых металлов оказывала фитопротекторное действие и способствовала увеличению длины и количества корней. Флуоресцентные штаммы *P. brenneri,* несущие красный и зеленый флюоресцентный белки, эффективно колонизируют корни растений (количество флуоресцентных бактерий на корнях составило $8.5 \pm 0.35 \times 10^{10}$ и $2.6 \pm 0.03 \times 10^{10}$ для штаммов *P. brenneri* 3.2 и 3.5.2, соответственно), менее эффективно листья проростков ($3.0 \pm 0.97 \times 10^{7}$ и $1.2 \pm 0.07 \times 10^{7}$, для штаммов *P. brenneri* 3.2 и 3.5.2, соответственно). Плазмиды с геном флюоресцентных белков сохраняют стабильность в клетках бактерий через 6 пассажей в течение 144 часов. Штаммы *P. brenneri* обладают

множеством механизмов снижения токсичность тяжелых металлов и могут повышать способность пшеницы к восстановлению после загрязнения тяжелыми металлами.
Настоящее исследование поддержано грантом РНФ № 24-26-00289.

E-mail: aliya.kzn@gmail.com

КЛОНИРОВАНИЕ, ЭКСПРЕССИЯ И ХАРАКТЕРИСТИКА ГИПЕРТЕРМОСТАБИЛЬНОЙ АМИЛАЗЫ ИЗ ШТАММА *BACILLUS LICHENIFORMIS*

Сулейманова Э. Р., Клочкова Е.А., Трахтман Н.В.

Федеральный исследовательский центр Казанского научного центра Российской академии наук, Казань

Одним из наиболее востребованных термофильных ферментов в промышленности является альфа-амилаза. Этот фермент способен гидролизовать α-1,4-гликозидные связи в молекулах полисахаридов, образуя глюкозу, мальтозу и декстрины. Амилазы широко применяются в пищевой промышленности (при производстве алкоголя, в хлебопечении, пивоварении), а также в бумажной, текстильной промышленности и при производстве моющих средств. Штамм *Bacillus licheniformis* был выделен из осадков сточных вод, разогретых, в процессе компостирования, до 70 °C. Из этого штамма была выделена суммарная ДНК и проведено секвенирование генома. В ходе анализа последовательности ДНК был выявлен структурный ген амилазы (*amy*BL). Фрагмент ДНК, содержащий ген амилазы, был амплифицирован с использованием геноспецифичных праймеров и клонирован в экспрессионный вектор pET22 под контролем T_7 промотора с родным сигнальным пептидом для экспрессии гена амилазы в клетках *E. coli*. Кроме того, ген амилазы был также клонирован в вектор pHT01 под контролем промотора P_{grac} для экспрессии данного гена в клетках *Bacillus subtilis* 168. Первичную селекцию клеток на амилолитическую активность проводили на чашках с селективной средой, содержащих крахмал с добавлением ИПТГ. После подтверждения активности альфа-амилазы определяли выход протеина во внутри- и внеклеточных фракциях и сравнивали с помощью методов ферментативного анализа белка, синтезированного в клетках *E. coli* и *B. subtilis*. В обоих случаях наблюдалась амилолитическая активность как внутри клеток, так и в культуральной жидкости (внеклеточная фракция). Были проведены эксперименты по определению оптимальных условий работы амилазы AmyBL, в ходе которых было показано, что оптимум температуры для активности данного фермента находится в районе 95 °C.
Исследование выполнено в рамках проекта «Генетические технологии для промышленной микробиологии и зеленой химии: экспрессионные платформы, продуценты ферментов и промышленно важных соединений» Соглашение № 075-15-2025-471 от «29» мая 2025 г.

E-mail: n.trahtman@knc.ru

МЕТОКСИМЕТИЛЗАМЕЩЕННЫЕ СТЕРИНЫ НА ПУТИ СОЗДАНИЯ БИОТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ПРЕГНЕНОЛОНА

Текучева Д.Н., Лобастова Т.Г., Хомутов С.М., Донова М.В.

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН» (ФИЦ ПНЦБИ РАН), Пущино

Прегненолон – стероидный гормон, нейростероид, 3-гидроксианалог прогестерона, применяется в терапии ряда психосоматических растройств, как нейромодулятор, а также является предшественником спектра других ценных гормонов. Рекомбинантный штамм актинобактерии *Mycolicibacterium smegmatis*, экспрессирующий гетерологичные цитохром CYP11A1, а также переносчики электронов - адренодоксин (Adx) и адренодоксин-НАДФ$^{+-}$ редуктазу (AdR) коры надпочечников быка, использовали для биоконверсии природных и метоксиметилированных (МОМ)-стеринов с получением МОМ-прегненолона. Химическое замещение ОН-группы по третьему положению гонанового ядра позволяет предотвратить образование из холе- и фитостеринов соответствующих 3-кето-4-ен-стенонов (холестенона, фитостенонов), не являющихся субстратами эукариотического CYP11A1. Оценивали эффективность этерификации исходных стеринов, полноту биоконверсии их МОМ-эфиров, выход и титр целевого продукта биотрансформации, содержание побочных стероидных соединений, эффективность гидролиза МОМ-производных с выделением неэтерифицированного прегненолона. Созданный рекомбинантный цельноклеточный катализатор трансформировал МОМ-холестерин и с меньшей эффективностью МОМ-фитостерин до МОМ-прегненолона с примесями МОМ-дегидроэпиандростерона, являющегося конечным продуктом окисления боковой цепи МОМ-холестерина. Путем оптимизации регламента внесения субстрата, мольного отношения субстрата к метил-β-циклодекстрину удалось получить МОМ-прегненолон с выходом 70-80% (мольн.), максимальный полученный титр составлял 2,9 г/л. Реакция этерификации с получением МОМ-производных шла с мольным выходом 92-96%, выделение из культуральной жидкости – 65-80%, а гидролиз МОМ-группы – 80-97%. Таким образом, показана перспективность использования МОМ-замещенных стеринов для получения прегненолона с использованием рекомбинантного штамма.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ № 125041005029-5 по теме FMRM-2025-0032.

E-mail: tekuchevadn@gmail.ru

ШТАММ ХИТИНОЛИТИЧЕСКОГО АКТИНОМИЦЕТА *STREPTOMYCES BAARNENSIS* ДЛЯ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ ОТ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ И СТИМУЛЯЦИИ РОСТА РАСТЕНИЙ

Терегулова Г.А.

МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

Стрептомицеты известны как богатый источник вторичных метаболитов, имеющих фармацевтическую, сельскохозяйственную и биотехнологическую ценность. В настоящее время увеличивается количество патогенных микроорганизмов, устойчивых к существующим антибиотикам. За последние несколько десятилетий Streptomyces тщательно исследовались на предмет их способности продуцировать разнообразные биоактивные

вторичные метаболиты. Секвенирование генома выявляет способность кодирования вторичных метаболитов, значительно превышающую возможности обнаружения активности антибиотиков в стандартных лабораторных условиях [van Wezel GP, McDowall KJ. The regulation of the secondary metabolism of Streptomyces: new links and experimental advances. Natural Product Reports. 2011 Jul; 28(7):1311-1333]. Выращивание сельскохозяйственных культур имеет решающее значение для существования человека, поскольку оно удовлетворяет его потребности в питательных веществах. Сельскохозяйственные культуры и другие растения всегда подвергаются высокому риску заражения фитопатогенами, особенно патогенными грибами. Хотя растения обладают хорошо развитой защитной системой, она может быть нарушена при атаке патогенов. Хитиназы могут усиливать защитную систему растений, поскольку они воздействуют на хитин, основной компонент клеточной стенки патогенных грибов, и делают грибы неактивными без какого-либо негативного воздействия на растения. Наряду с укреплением защитных механизмов растений, хитиназы также улучшают рост растений и урожайность. Хитиназы бактерий в сочетании с продуцируемыми бактериями вторичными метаболитами с антимикробной активностью могут стать многообещающим инструментом для повышения устойчивости растений к грибковым заболеваниям [Kumar, M., Brar, A. et al. Chitinases - Potential Candidates for Enhanced Plant Resistance towards Fungal Pathogens. Agriculture 2018, 8, 88]. Исследования проводили с чистыми культурами стрептомицетов, выделенных из образцов горно-лесных серых почв. Получение накопительных и чистых культур микроорганизмов, непрерывное культивирование микроорганизмов, определение антибиотической активности на твердых (агаризованных) питательных средах методом блоков и перпендикулярных штрихов, лабораторные опыты с растениями, метод ПЦР в реальном времени, определение эмиссии диоксида углерода культурами актиномицетов на газовом хроматографе в жидких средах и почве, полногеномное секвенирование, масс-спектрометрия культуральных жидкостей штаммов, метод in situ-гибридизации с рРНК-специфичными флуоресцентно-мечеными олигонуклеотидными зондами (FISH - fluorescent in situ hybridization), метод высокопроизводительного секвенирования гена 16S рРНК, биоинформатические методы. Статистическую обработку данных проводили с использованием программного пакета Statistica 10.0 (StatSoft Inc.). Выделен и изучен штамм почвенного хитинолитического актиномицета *S. baarnensis* assi-23TB Ac-2228 с полифункциональными свойствами, обладающий одновременно хитинолитической и антибиотической активностью. Штамм депонирован в БРЦ ВКПМ. Геном штамма *S. baarnensis* assi-23TB депонирован в базу NCBI и может быть использован для проведения молекулярно-биологических исследований с целью получения новых биологически активных соединений. Версия проекта имеет номер доступа (accession number) JBAJJN010000000. Штамм *S. baarnensis* assi-23TB Ac-2228 запатентован в Федеральном институте промышленной собственности. Показано, что выделенный штамм оказывает ингибирующее действие на различные патогенные бактерии и грибы. В условиях *in vitro* установлена ростостимулирующая активность штамма *S. baarnensis* assi 23TB при предпосевной обработке семян пшеницы. Секвенирование генома штамма *Streptomyces baarnensis* assi-23TB выявило факторы, связанные с адаптацией к низким и высоким температурам окружающей среды (cold shock protein of CSP family, heat shock protein GrpE, heat-inducible transcription repressor HrcA, heat shock protein 60 kDa family chaperone GroEL). В геноме *Streptomyces baarnensis* assi-23TB ВКПМ Ac-2228, культивированного на среде с хитином, было предсказано 36 кластеров генов биосинтеза вторичных метаболитов. Восемь кластеров генов биосинтеза специализированных метаболитов имеют полное сходство с имеющимися в базе данных antiSMASH 7.0 кластерами генов биосинтеза антибактериальных и антифунгальных антибиотиков, сидерофоров и меланина: keywimysin, alkylresorcinol, naringenin, desferrioxamin B, 10-epi-HSAF/10-epi-3-deOH-HSAF/10-epi-maltophilin/10-epi-xanthobaccin C/10-epi-hydroxymaltophilin /10-epi-FI-2, ectoine, geosmin, melanin. Некоторые кластеры генов в геноме *Streptomyces baarnensis* assi-23TB кодируют вторичные метаболиты, которые имеют низкое сходство с

известными соединениями (менее 40%) и являются потенциально новыми биологически активными соединениями. Наши исследования показали, что в результате предпосевной обработки семян пшеницы энергия прорастания и всхожесть растений увеличились на 0,3%. При этом масса ста растений на седьмые сутки роста была выше на 15% по сравнению с контрольным вариантом. Зараженность проростков инфекцией *Fusarium graminearum* была ниже на 13%, чем в контроле. Увеличение массы семян в опытном варианте может быть вызвано влиянием фитогормона зеатина. Ген кодирования фермента tRNA dimethylallyltransferase, участвующего в образования активного транс-зеатина, (EC Number 2.5.1.75, номер идентификации Pathway ID 908) аннотирован в геноме *Streptomyces baarnensis* assi-23TB на платформе PATRIC. Снижение зараженности семян в опытном варианте может быть вызвано комбинированным антифунгальным действием хитиназ семейств G18 и G19, литических полисахаридмонооксигеназ, гены кодирования которых обнаружены в геноме *Streptomyces baarnensis* assi-23TB и вторичного антифунгального метаболита 10-epi-HSAF/10-epi-3-deOH-HSAF/10-epi-maltophilin/10-epi-xanthobaccin C/10-epi-hydroxymaltophilin /10-epi-FI-2, генный кластер биосинтеза которого предсказан в геноме *Streptomyces baarnensis* assi-23TB на платформе antiSMASH 7.0 [Пат. RU 2839282, МПК C12N 1/20 (2006.01). Штамм хитинолитического актиномицета *Streptomyces baarnensis* для защиты растений от фитопатогенных грибов и стимуляции роста растений / Терегулова Г.А.]. Полученные данные демонстрируют высокий биотехнологический потенциал заявляемого штамма *Streptomyces baarnensis* assi-23TB ВКПМ Ac-2228 как продуцента вторичных метаболитов с антибактериальной, антифунгальной и противоопухолевой активностью. Штамм S. *baarnensis* assi 23TB в условиях *in vitro* стимулирует рост растений пшеницы при предпосевной обработке семян.

E-mail: tereguli_@mail.ru

ПОЛУЧЕНИЕ 17β-ВОССТАНОВЛЕННЫХ АНДРОСТАНОВ НА ОСНОВЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ ФИТОСТЕРИНОВ

Тимакова Т.А., Карпов М.В., Фокина В.В., Николаева В.М., Текучева Д.Н., Шутов А.А., Донова М.В.

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К.Скрябина РАН, обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино

Тестостерон (андрост-4-ен-3-он-17β-ол) – стероидный гормон, играющий ключевую роль в нормальном функционировании систем и органов в организме мужчин. В настоящее время промышленное производство тестостерона основано на его химическом синтезе из продуктов неполной биодеградации фитостеринов. Альтернативные биотехнологические способы получения тестостерона из фитостеринов при нагрузке субстрата выше 10 г/л обладают низкой эффективностью. Целью данной работы являлась разработка конкурентоспособного способа получения тестостерона из фитостеринов (20 г/л) с использованием трансгенных штаммов миколицибактерий, гетерологично экспрессирующих 17β-гидроксистероиддегидрогеназу из *Cochliobolus lunatus* (17β-ГСДCl) и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназу из Mycobacterium tuberculosis (Г6ФДГМt). В качестве реципиентных использованы штаммы Mycolicibacterium neoaurum ВКМ Ac-1815Д и 1816Д, способные к окислению боковой цепи фитостеринов до андростендиона (АД) и андростадиендиона (АДД), соответственно. Созданные на их основе трансгенные штаммы-продуценты различались по эффективности накопления тестостерона из фитостеринов. Катализирующий восстановление АД до тестостерона 6×His-меченый фермент 17β-ГСДCl, экспрессированный в клетках M. neoaurum ВКМ Ac-1816Д, был выделен и охарактеризован. Фермент проявлял

максимальную активность по отношению к АД при pH 7,0, t 28-30 °C, и зависел от НАДФ(Н). При оптимизации и масштабировании процесса микробиологического получения тестостерона были определены условия получения плотной жидкой культуры, а также состав трансформационной среды и режим ведения процесса в ферментёрах с рабочим объёмом 1 и 5 л. Достигнутый титр тестостерона составил от 7,2 до 8,9 г/л, что характеризует биопроцесс как высокоэффективный и имеющий перспективы практического использования.
Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 122040500054-3).

E-mail: tatianka.rz@yandex.ru

ПОЧВЕННЫЕ МИКРОМИЦЕТЫ – АНТАГОНИСТЫ PGPR

Турковская О.В., Позднякова Н.Н., Бондаренкова А.Д., Муратова А.Ю.

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов ФИЦ «Саратовский научный центр Российской академии наук», Саратов

Микромицеты составляют существенную часть почвенного микробиома, оказывая влияния на окружающие организмы. В ризосфере растений они способны воздействовать как на растение хозяина, так и на его ризосферные сообщества, в том числе PGPR. Эти воздействия носят как положительный, так и отрицательный характер, что необходимо учитывать при использовании бактериальных препаратов в растениеводстве и экологических биотехнологиях. В работе использовали 4 штамма почвенных микромицетов и 4 штамма ризобактерий из Коллекции ризосферных микроорганизмов ИБФРМ РАН. Антагонистическую активность исследовали на чашках Петри с LB-агаром с помощью техники двойных культур при различных температурных режимах (24, 30 и 37°C) в присутствии и в отсутствии нефти в течение 7 сут. Исследованные микроорганизмы имели различный температурный оптимум роста, что сказывалось на характере их взаимодействия. Нефть оказывала стимулирующий эффект на рост большинства микроорганизмов. Грибы *Talaromyces sayulitensis* IBPPM664 и *Trichoderma viride* IBPPM668 обладали выраженной антибактериальной активностью в отношении PGPR-штаммов. Причем, присутствие нефти и различные температуры культивирования вносили коррективы, проявляющиеся в разнообразных вариантах ответов. Так, штамм *T. sayulitensis* при 30 и 37°C подавлял рост *Azospirillum brasilense* SR80, *Ensifer meliloti* P221 и *Mycolicibacterium gilvum* PAM1 на чистой среде, а SR80 и PAM1 – и в присутствии нефти. *Tr. viride* проявлял ингибирующую активность в отношении SR80, P221 и *Mycobacterium* sp. SL-5. Причем, в случае P221 антагонизм проявлялся лишь на чистой среде, тогда как для SR80 и SL-5 – и в присутствии нефти. *Trichoderma harzianum* IBPPM667 и *Fusarium oxysporum* IBPPM543 антибактериальную активность не проявляли во всех вариантах опыта.

E-mail: turkovskaya_o@ibppm.ru

GORDONIA ALKANIVORANS ИЭГМ 1277 – ЭФФЕКТИВНЫЙ АГЕНТ БИОДЕГРАДАЦИИ МЕЛОКСИКАМА

Тян С.М.

Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермский федеральный исследовательский центр УрО РАН, Пермь

Широкое распространение и высокая устойчивость лекарственных препаратов и их метаболитов, в том числе НПВС мелоксикама, обусловливают их негативное воздействие на экосистемы, тогда как традиционные методы очистки сточных вод по-прежнему малоэффективны. Ранее нами показана способность штамма актиномицета *Gordonia alkanivorans* ИЭГМ 1277 к полной биодеградации мелоксикама. Ключевыми направлениями исследования явились идентификация продуктов биодеградации, оценка их (эко)токсичности и анализ клеточных адаптаций. Методом ЖХ/МС выявлены основные метаболиты процесса биодеградации – гидроксиметил- и карбоксимелоксикам. *In silico* моделирование показало снижение показателей $ЭД_{50}$ и $ЛД_{50}$ метаболитов для водных организмов в 1,48–10,28 раз по сравнению с исходным НПВС. Микроскопические АСМ- и ПЭМ-исследования выявили снижение отношения S/V бактериальных клеток, вероятно, для уменьшения контакта гордоний с токсичным субстратом; накопление в клетках ИЭГМ 1277 эндогенных резервных веществ, в т.ч. высокомолекулярных полифосфатов и нейтральных липидов, служащих резервуаром метаболической энергии. Биоинформатический анализ хромосомы ИЭГМ 1277 выявил 8 геномных регионов, кодирующих P450-зависимые оксигеназы, вероятно, ответственные за окисление мелоксикама. Штамм *Gordonia alkanivorans* ИЭГМ 1277 демонстрирует способность к полной биодеградации мелоксикама с образованием менее токсичных метаболитов. Выявлены клеточные фенотипические и ультраструктурные изменениями в бактериальных клетках. Идентифицированы гены-кандидаты, кодирующие ферменты окисления мелоксикама.
Работа выполнена в рамках ГЗ Минобрнауки РФ (тема № 124020500028-4).

E-mail: vviolent00@mail.ru

ОЦЕНКА ПЕРСПЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ШТАММОВ МИКОРИЗООБРАЗУЮЩИХ ГРИБОВ В КАЧЕСТВЕ МИКРОБНОГО ПРЕПАРАТА ДЛЯ СЕЯНЦЕВ *PINUS SILVESTRIS*

Филинова Н. В., Беловежец Л. А.

ФГБУН Федеральный исследовательский центр «Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского Сибирского отделения Российской академии наук», Иркутск

Для успешного роста и развития хвойных растений критически необходимо их симбиотическое взаимодействие с микоризообразующими грибами. Микоризные грибы обеспечивают дополнительные преимущества для растения-хозяина в виде увеличения площади всасывания корней, улучшения усвоения питательных веществ, облегчения поглощения воды, повышения устойчивости к неблагоприятным почвенным условиям. Лесопитомники либо не проводят микоризацию сеянцев, либо используют поверхностный слой лесной почвы в качестве источника симбионтов. На рынке представлено несколько биоудобрений, в состав которых входят грибы рода *Glomus*, не имеющие специфичности в отношении растений-хозяев, либо рода *Suilus,* характеризующиеся низкой скоростью роста. Цель данной работы заключалась в исследовании перспективности альтернативных культур

микоризных грибов для инокуляции контейнерного субстрата сеянцев сосны обыкновенной с закрытой корневой системой. В работе использовали семена сосны обыкновенной (*Pinus silvestris* L.), мицелий базидиальных грибов *Cortinarius coperatus* ВКМ F-3121 (Cc3121), *Laccaria bicolor* ВКМ F-3537 (Lb3537), полученный методом глубинного культивирования, и контейнерные субстраты разного состава. Сеянцы сосны выращивали в кассетах в условиях закрытого грунта в течение 4х месяцев. По окончанию эксперимента оценивались морфометрические параметры: длина растения, корней и стволика, диаметр кроны.
Инокуляция субстрата для роста растений мицелием данных грибов привела к образованию симбиотических взаимодействий «растение-гриб», что, в свою очередь, увеличило морфометические показатели сеянцев. Обнаружена зависимость эффективности микоризации от типа использованного субстрата: внесение культуры Lb3537 показало высокий результат независимо от типа субстрата, в то время как Cc3121 оказался эффективен только при использовании торфа в виде моносубстрата. Полученные данные позволяют рекомендовать *Laccaria bicolor* для принудительной микоризации сеянцев сосны с закрытой корневой системой.

E-mail: Filinova_nv@mail.ru

НАПРАВЛЕННОЕ ИНКАПСУЛИРОВАНИЕ ДРОЖЖЕВЫХ И БАКТЕРИАЛЬНЫХ КЛЕТОК В ОРМОСИЛ ОБОЛОЧКИ

Филиппова[1] Е.С., Звонарев[2] А.Н., Лаврова[1] Д.Г.

[1]Лаборатория экологической и медицинской биотехнологии НИЦ БиоХимТех ФГБОУ ВО «Тульский государственный университет», Тула
[2]Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН – обособленное подразделение ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований» РАН, Пущино

Архитектура защитного экзоскелета диатомовых водорослей и условия его биосинтеза послужили примером для разработки искусственных систем на основе инкапсулированных живых клеток в оболочки из SiO_2. Для их получения обычно используются методы золь-гель синтеза, которые реализуются в мягких условиях и отвечают требования «зеленой» химии. Однако традиционный путь синтеза из алкоксидов кремния сопровождается выделением спирта, который вызывает лизис целых клеток. Альтернативными соединениями в золь-гель синтезе могут стать органосиликатные (ОРМОСИЛ) полиолатные производные кремния. Для инкапсулирования в условиях одностадийного золь-гель синтеза использовали полиэтиленгликоляты (Si-ПЭГ) и глицеролаты кремния (Si-Глиц). Объекты инкапсулирования: метилотрофные дрожжи *Ogataea polymorpha* ВКМ Y-2559 и бактерии *Rhodococcus qingshengii* ВКМ Ac-2532D и *Escherichia coli* MG1655. Впервые показано, что в условиях золь-гель синтеза вокруг клеток микроорганизмов образуется ОРМОСИЛ оболочка на основе Si-ПЭГ и Si-Глиц. Клетки сохраняют жизнеспособность и каталитическую активность после их инкапсулирования, в то время как при использовании традиционных соединений кремния (тетраэтоксисилана и метилтриэтоксисилана) процесс инкапсулирования выдерживали исключительно клетки дрожжей, поскольку имеют эффективную ферментативную систему окисления низкомолекулярных спиртов. Полученные биогибридные материалы могут быть использованы в различных областях экологии, биотехнологии и медицины.
Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-24-20032, https://rscf.ru/project/24-24-20032/ и правительства Тульской области
E-mail: daria.g.lavrova@gmail.com

СЕКРЕТИРУЕМЫЕ РЕКОМБИНАНТНЫЕ ХОЛЕСТРИНОКСИДАЗЫ, СИНТЕЗИРОВАННЫЕ В МИКОЛИЦИБАКТЕРИЯХ

Фокина В.В., Карпов М.В., Донова М.В.

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, ФИЦ Пущинский Научный центр биологических исследований РАН, Пущино

Холестериноксидаза (ХО) – фермент, востребованный в медицине, фармацевтике, сельском хозяйстве, химии и биотехнологии. ХО катализирует окисление холестерина до холестенона с образованием перекиси водорода. Наличие ХО описано для аэробных бактерий различного таксономического положения. Зрелые формы ферментов транслоцируются через ЦПМ TAT-зависимой системой транспорта с отщеплением сигнального пептида. Целью настоящей работы являлось конструирование рекомбинантных штаммов *Mycolicibacterium smegmatis*, продуцирующих секретируемые формы холестериноксидаз из актинобактерий *Nocardioides simplex* и *Rhodococcus equi*. Генная последовательность, кодирующая полноразмерную форму ХО I типа семейства глюкоза/метанол/холин-оксидоредуктаз была амплифицирована ПЦР с хромосомной матрицы штамма *N. simplex* ВКМ Ac-2033Д. кДНК полноразмерной ХО II типа семейства ванилил/алкоголь/оксидаз из *R. equi* была синтезирована химически. Последовательности клонированы в плазмидных экспрессионных шаттл-векторах для экспрессии в миколицибактериях, полученные конструкции были перенесены в клетки штамма *M. smegmatis* mc^2155. В результате экспрессии гетерологичных генов в культуральной жидкости каждого рекомбинантного штамма были обнаружены белковые продукты, по своей массе соответствующие зрелым вариантам ХО I и II типов без соответствующих сигнальных пептидов. Пробы бесклеточной культуральной жидкости были экспонированы *in vitro* в присутствии холестерина в течение 3 часов. Детекция холестенона с помощью ТСХ и ВЭЖХ подтвердила функциональную активность секретируемых форм рекомбинантных ХО в отношении стеринов. Полученные данные также свидетельствуют, что системы секреции миколицибактерий способны узнавать сигнальные последовательности белков актинобактерий, принадлежащих к другим родам. Результаты расширяют знания о бактериальном транспорте белков и открывают перспективы оптимизации продукции рекомбинантных ХО для практического применения.

Работа выполнена в рамках Государственного задания (тема № 122040500054-3).

E-mail: fokina@pbcras.ru

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ ШТАММА *GORDONIA* SP. 34D, ПРЕДПОЛОЖИТЕЛЬНО НОВОГО ВИДА, ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ ТЕХНОГЕННО ТРАНСФОРМИРОВАННОГО ГРУНТА

Французова[1] Е.Э., Кочаровская[1,2] Ю.Н., Автух[1] А.Н., Звонарев[1] А.Н., Делеган[1,2] Я.А.

[1] Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН – обособленное подразделение ФИЦ Пущинский научный центр биологических исследований РАН, Пущино
[2] Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, Ростов-на-Дону

Техногенное воздействие существенно влияет на структуру и функции микробных сообществ, способствуя отбору микроорганизмов с высокой метаболической пластичностью. В данном исследовании охарактеризован штамм 34D, выделенный из загрязнённого грунта (г. Байкальск, Иркутская область) и идентифицированный как представитель рода *Gordonia*.

Морфология клеток изучена методом фазово-контрастной микроскопии, жирно-кислотный состав определён с помощью ГХ-МС. Липидный профиль характеризуется преобладанием насыщенных и мононенасыщенных кислот (C16:0, C16:1ω9, C18:1ω9, C18:0, C17:1ω10, C14:0); разветвлённые и гидроксикислоты не обнаружены, что соответствует типичному профилю известных представителей рода *Gordonia*. Оптимальный рост достигается на среде TSB, на M9 отмечается ускоренный рост и склонность к флокуляции, на SMM – высокая однородность суспензии при замедленном росте. Штамм 34D способен расти на линейных алканах (C_{10}–C_{22}, C_{11}–C_{15}) и ароматических соединениях (катехол, бензол, толуол, фенол), проявляя широкую метаболическую пластичность. В сравнении с литературными данными, штамм 34D отличается присутствием нехарактерных для рода жирных кислот (C17:1ω10, C14:0) и расширенным спектром субстратной специфичности, что позволяет рассматривать его как перспективный объект для биоремедиации и как предварительно новый вид рода *Gordonia*.

Работа выполнена при поддержке РНФ № 22-74-10082.

E-mail: frantsuzova.ee@gmail.com

ВЫДЕЛЕНИЕ НОВЫХ *LACTOBACILLACEAE*, СВОБОДНЫХ ОТ ГЕНОВ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ

Хандышанова[1] М.М., Ганина[2] В.И., Никитина[1] Е.А., Клоков[1] Н.В., Соколянская[1] Л.О., Авакян[1] М.Р., Глухова[1] Л.Б., Лукина[1] А.П., Карначук[1] О.В.

[1]Томский государственный университет, Томск
[2]МГУТУ им. К.Г. Разумовского, Москва

Молочнокислые бактерии (МКБ) являются движущей силой молочной промышленности, что позволяет им оставаться в центре значительного интереса на протяжении многих лет. Несмотря на длительную историю использования *Lactobacillaceae*, только в последние два-три года стали появляться исследования, подтверждающие факт присутствия генов антибиотикорезистентности (АР) в промышленных продуктах на основе МКБ. Несмотря на растущую угрозу АР, контрольные точки по 30 антимикробным молекулам, для отличия резистентных штаммов МКБ от восприимчивых установлены лишь в 2018 году. Поиск новых представителей *Lactobacillaceae*, свободных от генов устойчивости к антибиотикам (ARG) является ключевой задачей для пищевой промышленности и медицины. По рекомендациям EFSA-FEEDAP (2018), для штаммов, используемых в пищевых и кормовых продуктах, требуется обязательный анализ полногеномных последовательностей (WGS) методом *in silico* для выявления ARG. Это обусловлено потенциальным риском горизонтального переноса ARG от МКБ участвующих в производстве молочных продуктов и агрозоотехнической среде к другим микроорганизмам. В связи с необходимостью создания отечественного Биобанка МКБ для использования при производстве заквасок и стартовых культур целью данного исследования было выделение новых представителей *Lactobacillaceae* из продуктов животного происхождения, для которых ранее методами метагеномного анализа было показано отсутствие ARG. Скрининг животных продуктов, проведенный нами ранее в рамках проекта по развитию генетических технологий, показал, что серьезной проблемой животноводства в РФ является широкое распространение ARG в микробиоте животных, выращиваемых в условиях крупных хозяйств. Выделение чистых культур МКБ в этом исследовании проводили из проб молочных продуктов и фекалий сельскохозяйственных животных, выращиваемых отгонно-пастбищным животноводством, для которых ранее было показано отсутствие ARG. Чистые культуры получены методом выделения отдельных колоний на твердых питательных средах (1) MRS, (2) DSMZ 58 и (3) DSMZ 638. Чашки

Петри инкубировали в анаэростатах, заполненных азотом, при температуре 15˚С, 30 ºС, 37 ºС и 45 ºС. В результате исследования были получены 88 чистых изолята представителей *Lctobacillaceae* и определено их таксономическое положение путем секвенирования последовательности гена 16S рРНК близкой к полной. Анализ последовательности гена 16S рРНК показал, что выделены 28 штаммов *Lacticaseibacillus paracasei* subsp. *paracasei,* 12 штаммов *Lacticaseibacillus rhamnosus,* 10 штаммов *Lactiplantibacillus plantarum*, 9 штаммов *Leuconostoc mesenteroides*, 6 штаммов *Lactiplantibacillus pentosus* и *Lactiplantibacillus argentoratensi*, 3 штамма *Lactococcus garvieae* и *Limosilactobacillus reuteri*, 2 штамма *Ligilactobacillus salivarius, Leuconostoc lactis* и *Levilactobacillus brevis*, а также по 1 штамму *Lactoccoccus lactis, Leuconostoc citreum, Ligilactobacillus animalis, Limosilactobacillus mucosae* и *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris.* Дальнейшее определение полногеномных последовательностей выделенных штаммов *Lactobacillaceae* позволит подтвердить отсутствие ARG, после чего изоляты будут использованы при создании заквасок и стартовых культур в производстве.
Авторы признательны ООО «Угличская биофабрика» за финансирование исследования.

E-mail: mariya.magomedovna03@gmail.com

УТИЛИЗАЦИЯ ПИРИДИНОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕМ РОДА *PAENARTHROBACTER*

Хасаева Ф.М.

Кабардино-Балкарский государственный аграрный университет им. В.М.Кокова, Нальчик

Из почв, длительно подвергавшихся воздействию пиридинов, выделен микроорганизм, способный к полной минерализации 4-х производных пиридина и с высокой скоростью утилизирует высокие их концентрации, что позволяет использовать ее для очистки сточные воды соответствующих производств. Штамм идентифицирован, как представитель рода *Paenarthrobacter pyridinovorans*» VKM-AC-1098D. Использование микроорганизмов в очистных сооружениях при периодическом и (или) непрерывном культивировании приводит к накоплению больших объемов биомассы, что требует их утилизации. Избавить от необходимости регулярной утилизации биомассы может использование иммобилизованных клеток. Иммобилизованные в альгинате кальция клетки *P. pyridinovorans*» применяли для утилизации пиридина суспензионными и иммобилизованными клетками. Показано, что концентрация пиридина 2,5 г/л, которая для растущих клеток штамма является оптимальной и утилизируется за 24 часа, суспензионными клетками потребляется за 12 часов, а иммобилизованными в альгинате кальция клетками – за 18 часов. В целом полученные данные свидетельствуют о принципиальной возможности применения иммобилизованных в альгинате кальция клеток *P.pyridinovorans* для очистки сточных вод от пиридина. Выделен и идентифицирован высокоэффективный штамм бактерий, утилизирующий пиридин и его производные в качестве единственных источников углерода, азота и энергии, обладающие более высокой деградирующей активностью, чем их мировые аналоги. Иммобилизованные в альгнате кальция или клетки *P. pyridinovorans*» эффективно окисляют пиридин. Рекомендованих для очистки сточных вод и биоремедиации почв.

E-mail: khasaeva@yandex.ru

СИДЕРОФОРЫ ЭНДОЛИТНОЙ *NOCARDIA MANGYAENSIS* NH1: ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ И БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ

Хиляс И.В., Маркелова М.И., Елистратова А.А., Ширшикова Т.В., Шарипова М.Р.

ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»

Эндолитные актинобактерии рода *Nocardia* представляют собой уникальный объект для изучения метаболических адаптаций к экстремальным условиям и поиска новых биологически активных соединений. Особый интерес вызывают сидерофоры – низкомолекулярные хелаторы железа, играющие ключевую роль в обеспечении микроэлементов, детоксикации тяжелых металлов и защите от окислительного стресса. Штамм *Nocardia mangyaensis* NH1, выделенный из гидромагнезита, был выбран для комплексного геномного и метаболомного анализа с целью выявления потенциала для биотехнологического применения. Геномный анализ NH1 выявил 11 кластеров нерибосомных пептидсинтаз (NRPS), из которых пять ассоциированы с биосинтезом сидерофоров, а также четыре кластера поликетидсинтаз (PKS) и кластеры RiPPs. Впервые показано, что NH1 способен одновременно синтезировать катехоловые и гидроксаматные сидерофоры в условиях дефицита железа. Метаболомный анализ выявил более 1500 уникальных метаболитов, включая сидерофоры, липопептиды, циклические пептиды и индол-3-уксусную кислоту. Среди сидерофоров идентифицированы соединения, структурно сходные с микобактинами, карбоксимисобактинами, нособактинами, лоихихелинами и десферрибактинами, что свидетельствует о высокой структурной и функциональной вариабельности. Четыре фракции, положительные в тесте с хромазуролом S, проявили высокую аффинность к Fe^{3+} и другим металлам, а также антиоксидантную активность. Метаболиты NH1 проявили выраженную антагонистическую активность против фитопатогенных грибов и не оказали токсического воздействия на проростки модельного растения *Arabidopsis thaliana*. *Nocardia mangyaensis* NH1 демонстрирует уникальное сочетание геномных и метаболических свойств, обеспечивающих адаптацию к экстремальным условиям и синтез комплекса биологически активных соединений. Разнообразие и высокая металлсвязывающая способность сидерофоров NH1 способствуют удержанию микроэлементов в биодоступной форме, повышению плодородия почв и устойчивости растений к патогенам и окислительному стрессу. Полученные данные открывают перспективы использования NH1 для разработки новых биотехнологических решений в сельском хозяйстве, особенно для восстановления деградированных и загрязнённых почв, повышения урожайности и устойчивости агроэкосистем.
Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 24-24-00473.

E-mail: irina.khilyas@gmail.com

ГЕНОМНАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ РИЗОБИЙ: ЭВОЛЮЦИОННЫЙ И АГРОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ

Хосид С.Л., Кимеклис А.К., Карасев Е.С., Аксенова Т.С., Онищук О.П., Курчак О.Н., Андронов Е.Е., Проворов Н.А.

Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург

Проблема мобилизации генетических ресурсов микроорганизмов весьма актуальна (Указ Президента РФ от 25.10.2024 N 913). В настоящем сообщении на примере симбиотических

ризобий мы покажем, что важным ресурсом является не только разнообразие их генотипов, но и потенциал спонтанной и управляемой изменчивости. Этот потенциал реализуется как в ходе глобальных процессов видообразования (Kimeklis et al., 2019) так и при адаптации ризобий к локальным эколого-климатическим факторам (Karasev et al., 2023). Скорость изменчивости у ризобий весьма высока и может быть экспериментально изучена в реальном времени. Типы изменчивости включают: 1) нуклеотидные замены, ответственные за настройку и согласование разнообразия симбиотических систем ризобий и их партеров (Igolkina et al., 2018, 2019); 2) структурную изменчивость генома (Chirak et al., 2019); 3) горизонтальный перенос генов (Provorov et al., 2022). Исследования структуры ризобиальных пангеномов показали, что их акцессорный компонент не только изменчив, но и является важнейшим ресурсом, обеспечивающим симбиотическую и эдафическую адаптацию ризобий. Весьма необычной особенностью ризобиальных сообществ является наличие симбиотически неактивного почвенного пула, являющегося, вероятно, важным эволюционным резервуаром, из которого могут быть рекрутированы при необходимости редкие, но агротехнологически значимые аллели симбиотических генов. Последние исследования геномной изменчивости производственных штаммов ризобий с использованием массового полногеномного секвенирования показали, что темпы геномной изменчивости у ризобий чрезвычайно высоки и должны быть в полной мере использованы при селекции и использовании производственных штаммов. Таким образом, главной идеей настоящего сообщения является то, что практическое освоение потенциала геномной изменчивости ризобий – это одно из магистральных направлений мобилизации генетических ресурсов микроорганизмов.
Работа поддержана грантом РНФ 25-16-00068.

E-mail: sergey.hosid@gmail.com

БИОСОРБЦИЯ КАДМИЯ ШТАММАМИ *STREPTOMYCES*, ИЗОЛИРОВАННЫМИ ИЗ АНТРОПОГЕННО-НАРУШЕННЫХ ПОЧВ

Чайкина А.П.

ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет», Ростов-на-Дону

Загрязнение тяжёлыми металлами (ТМ) почв и сточных вод является одной из важнейших проблем на сегодняшний день. Актиномицеты, особенно стрептомицеты, благодаря своим морфологическим и биохимическим особенностям могут использоваться в качестве биосорбентов для борьбы с загрязнением ТМ.
Актиномицетов выделяли на минеральном агаре Гаузе из антропогенно-нарушенных почв г. Ростова-на-Дону и Ростовской области, подвергнутых загрязнению тяжёлыми металлами. Скрининг штаммов на устойчивость к тяжёлым металлам проводили вместе с определением минимальных ингибирующих концентраций (МИК) ТМ (Zn(II), Cu(II), Pb(II), Cd(II), Co(II), Hg(II), Ni(II), Cr(VI)) с помощью модификации метода серийных разведений в агаре. Для определения уровня биосорбции Cd(II) выбрали 6 штаммов, показавших наибольшую устойчивость к разным ТМ. Биомассу штаммов инкубировали в растворе металла при следующих параметрах: концентрация биомассы 1 г/л, концентрация ацетата кадмия 4,6 ммоль/л, инкубация в течение 24 ч на шейкере при 120 об/мин. Остаточную концентрацию кадмия определяли методом атомно-абсорбционной спектрометрии. Эффективность биосорбции оценивали, как процентное содержание металла, удалённого из раствора.
По оценке МИК ТМ наибольшую устойчивость к ТМ показали штаммы Т66, М73, Э8, М74, Э9 и ВК91; все из них были определены как *Streptomyces* и были протестированы на

способность удалять кадмий из раствора. Биомасса штамма Э9 была способна удалять 35,6% ионов кадмия из раствора, биомасса штамма ВК91 – 37,1%.
Два из выделенных штаммов *Streptomyces* могут быть перспективными кандидатами для биосорбции Cd. В оптимизированных условиях можно увеличить эффективность удаления металла из раствора биомассой данных штаммов.

E-mail: alisachaikina@gmail.com

СТРУКТУРА И ДИНАМИКА МИКРОБИОТЫ ЛОСОСЕВЫХ РЫБ В АКВАКУЛЬТУРЕ СЕВЕРНЫХ ШИРОТ

Червочкина А.С.

ФГАОУ ВО Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова, Архангельск

Микробиота лососевых рыб – адаптивная экосистема, играющая ключевую роль в регуляции метаболизма, иммунитета и устойчивости к стрессу. В специфических условиях Севера, с низкими температурами и экстремальной сезонной динамикой, исследование бактериального сообщества желудочно-кишечного тракта рыб имеет важное значение для устойчивого развития региональной аквакультуры. Объектами исследований выступают радужная форель (*Oncorhynchus mykiss*), атлантический лосось (*Salmo Salar*) и кумжа (*Salmo trutta*) – приоритетные виды для пресноводной и морской аквакультуры Севера. Основу кишечной микробиоты составляют *Bacillota, Pseudomonadota, Actinomycetota* и *Fusobacteriota*; у культивируемых особей также выявлены *Mycoplasmataceae* и *Bacteroidetes*. Методами 16S рРНК-профилирования по гипервариабельной области V4 и количественной ПЦР установлено, что состав микробиоты зависит от возраста, стадии онтогенеза, среды (пресная/морская вода), температуры и составов кормов. У молоди преобладают *Pseudomonadota*, у взрослых в пресной воде – *Bacillota* (*Weissella, Anaerofilum*), в морской среде – вновь *Pseudomonadota*. Отмечены различия в доминирующих таксонах у рыб из озёрных садков и РАС. Стрессовые факторы (перевод в морскую воду, температурные колебания, смена рациона) изменяют структуру микробиоты, особенно *Lactobacillales* и *Enterobacteriaceae*. Установлено стимулирующее влияние растительных белковых добавок на рост LAB, включая *Streptococcus* и *Weissella*. Кроме кишечника, устойчивые бактериальные сообщества выявлены в мозге и крови рыб, преимущественно Actinomycetota, совпадающие более чем на 50 % с кишечной микробиотой. Это подтверждает существование оси «кишечник–кровь–мозг» и участие микроорганизмов в адаптациях. Расширение применения молекулярных методов анализа микробиологических сообществ позволит повысить точность оценки физиологического статуса рыб и улучшить устойчивость аквакультурных систем.
Работа выполнена в рамках реализации государственного задания № FSRU-2023-004.

E-mail: chervochkinaa@gmail.com

БИОДЕСТРУКЦИЯ АЦЕТОХЛОРА ГРИБОМ БЕЛОЙ ГНИЛИ *TRAMETES HIRSUTA* LE-BIN 072

Шабаев А.В., Лукин А.С., Савинова О.С., Федорова Т.В.

Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва

Ацетохлор (2-хлор-2'-метил-6-этил-n-этоксиметилацетанилид, АЦТ) – гербицид из группы хлорацетамидов, предназначенный для уничтожения однолетних злаковых и некоторых двудольных сорняков на посевах риса, кукурузы, сои и подсолнечника. Показано, что ацетохлор может изменять состав почвенной микрофлоры и тем самым негативно влиять на экосистему почвы. Перспективным способом обезвреживания различных ксенобиотиков в окружающей среде считается их биодеструкция с использованием микроорганизмов, в том числе базидиальных грибов. Разработка стратегий, основанных на использовании грибной биомассы (мицелия) и синтезируемых ферментов, требует четкого понимания механизмов биодеградации каждого конкретного соединения, а также обязательной оценки токсичности образующихся метаболитов. В данной работе в модельных системах изучали процесс деградации АЦТ дереворазрушающим грибом белой гнили *Trametes hirsuta* LE-BIN 072, в том числе идентифицировали участвующие в данном процессе грибные ферменты и образующиеся при этом метаболиты, с оценкой их токсичности. Анализ методом ГХ-МС количества АЦТ в модельной ростовой среде показал, что к 10 суткам инкубации с грибными пеллетами остаточное содержание гербицида составляло менее 5% от исходного количества. Анализ профиля белков внутриклеточных протеомов и секретомов гриба *T. hirsuta* в присутствии АЦТ показал значительную индукция секреции, по сравнению с контрольной модельной ростовой средой (без гербицида), лигнолитических пероксидаз, цитохром Р450 монооксигеназ, альдокеторедуктаз семейства AKR, НАД(Р)Н: алкоголь- и альдегиддегидрогеназ, ФАД-зависимых оксидоредуктаз, нитратредуктаз, глутатион-S-трансфераз (КФ 2.5.1.18) и др. Оценка токсичности с применением биолюминесцентных штаммов *Escherichia coli* K12 TG1 (pXen7) показала отсутствие токсичности продуктов биодеструкции АЦТ с помощью грибных пеллет *T. hirsuta*.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Научного Фонда, грант 23-46-00018.

E-mail: a.shabaeff2011@yandex.ru

МОДЕЛЬНЫЕ БИНАРНЫЕ АССОЦИАЦИИ ШТАММОВ УГЛЕВОДОРОДОКИСЛЯЮЩИХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РЕАКТИВНОГО ТОПЛИВА

Шапиро Т.Н., Дольникова Г.А., Лобакова Е.С.

МГУ имени М. В. Ломоносова, Москва

Деградация углеводородов (УВ) сообществами углеводородокисляющих бактерий (УОБ) осуществляется более эффективно за счет глубины разложения компонентов нефти (Н) и нефтепродуктов (НП) (Dhar et al., 2014). В каждом виде Н и НП развивается специфическая ассоциация микроорганизмов, состав и сукцессия которой определяется составом углеводородов. Ранее из сообщества УОБ реактивного топлива ТС-1 были выделены и идентифицированы штаммы бактерий *Sphingobacterium multivorum* Bi2, *Alcaligenes faecalis* Bi3, *Rhodococcus* sp. Bi10, *Sphingobacterium* sp. Bi5, *R. erythropolis* Bi6, *Deinococcus* sp. Bi7,

Sphingobacterium sp. Bi8, *S. mizutaii* Bi9, *Rhodococcus* sp. Bi4, изучены их физико-химические свойства и способность к деградации компонентов модельной смеси УВ (Шапиро и др., 2018). Данная работа была просвещена составлению бинарных смешанных культур из выделенных штаммов УОБ, скринингу их совместного роста, потенциала к биодеградации УВ разных классов и оценке физико-химических показателей. Было составлено 24 бинарных смешенных культур. Для 6 из них (Bi2 + Bi6, Bi2 + Bi9, Bi5 + Bi6, Bi5 + Bi4, Bi3 + Bi5 и Bi3 + Bi9) показана стимуляция роста компонентов при совместном культивировании по сравнению с монокультурами. Были проанализированы эмульгирующая активность (ЭА) (Cooper, Goldenberg, 1987), диаметр чистой зоны (ДЧЗ), свободной от нефти (Morikawa et al., 1993), а также проверена способность использовать УВ разных классов по методу лунок (Егоров, 1976) для 6 полученных бинарных смешанных культур. Совместный рост пар Bi5 + Bi6 и Bi2 + Bi9 приводил к увеличению показателей ЭА на 4-5%, смешанная культура Bi5 + Bi6, кроме того, лучше использовала нефть и фенантрен в качестве единственного источника углерода и энергии, а ДЧЗ оказался на 0,8 см больше, чем для монокультур. Как было изучено ранее, наиболее эффективными деструкторами УВ из выделенных штаммов являются Bi6 и Bi2 и при этом они не подавляют друг друга, будучи и в составе смешанной культуры. На основании полученных данных можно предположить, что увеличение изученных показателей может свидетельствовать об ассоциативном характере взаимодействия смешанных культур Bi5 + Bi6 и Bi2 + Bi9. Таким образом, в образце топлива ТС-1 формируется уникальное сообщество УОБ, выполняющих разные функции, при этом, будучи объединенными в бинарные ассоциации более активные штаммы, по-видимому, способны стимулировать рост менее активных, что отражается в показателях оптической плотности, также меняются и физико-химические показатели. Полученные бинарные ассоциации могут быть использованы при разработке препаратов для биодеградации аварийный разливов Н и НП.

E-mail: floyd52@rambler.ru

ИЗУЧЕНИЕ РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ОПЕРОНА *ilvBNC* У *CORYNEBACTERIUM GLUTAMICUM* С ПОМОЩЬЮ БЕЛКА-РЕПОРТЁРА TurboGFP

Шереметьева М.Е., Рябченко Л.Е., Розанцева В.В., Леонова Т.Е., Яненко А.С.

НИЦ «Курчатовский институт», Курчатовский геномный центр, Москва

Создание штаммов-продуцентов предполагает направленную модификацию генов, участвующих в продукции целевого вещества, что требует глубоких знаний о метаболизме базового микроорганизма. *Corynebacterium glutamicum* – популярная основа для продуцентов аминокислот, включая аминокислоты с развлетвлённой боковой цепью (ВСАА). Ключевые фермент биосинтеза ВСАА у *C. glutamicum* – ацетолактатсинтаза, продукт генов *ilvBN*, объединённых в оперон с геном *ilvC*, кодирующим следующий фермент пути. Исследование посвящено регуляции экспрессии данного оперона. Известно, что в этом процессе задействован механизм аттенуации транскрипции. Регуляторная область оперона *ilvBNC* содержит участок, способный к образованию «шпилек» РНК, и участок, кодирующий лидерный пептид (*ilvL*). Ранее мы показали, что в регуляторной области оперона *ilvBNC* могут формироваться терминаторная, антитерминаторная и анти-антитерминаторная «шпильки», переключение между которыми приводит к изменению уровня его экспрессии. Однако роль лидерного пептида оставалась неясной. Для изучения этой роли использовали автономную плазмиду pNS-GFP, сконструированную на основе плазмиды pNS2 с репортёрным геном TurboGFP-B. Фрагмент ДНК (дикого типа и с модификациями),

соответствующий 433 п. н. перед структурным геном *ilvB*, встраивали перед геном TurboGFP. Целью было проверить влияние мутаций в *ilvL* и в последовательностях «шпилек» на экспрессию оперона. Последнюю оценивали через экспрессию белка TurboGFP, которую определяли по удельной флуоресценции. Плазмиды с TurboGFP вводили как в штаммы *C. glutamicum* дикого типа, так и в штаммы с различными мутациями в структурной части генов оперона, для проверки идеи о том, что некоторые из этих мутаций также могут влиять на экспрессию. Полученные нами новые данные расширили понимание того, каким образом осуществляется регуляция биосинтеза ВСАА у *C. glutamicum*, и найдут применение при создании продуцентов ВСАА.
Финансирование: грант РНФ № 25-64-00031, https://rscf.ru/project/25-64-00031.

E-mail: marshe@yandex.ru

КОНСТРУИРОВАНИЕ ЗАКВАСОК ПРЯМОГО ВНЕСЕНИЯ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА КУМЫСА И КУМЫСНОГО ПРОДУКТА

Шестаков А.И., Кремнева М.К., Щербакова П.А.

МГУ имени М.В.Ломоносова, Москва

В настоящее время большинство кисломолочных продуктов выпускаются с использованием заквасок прямого внесения (DVS). В России более 90% заквасок прямого внесения – зарубежного производства, в связи с чем в настоящее время создается критическая ситуация с обеспечением закваскаами переработчиков молока. В рамках данной работы продемонстрирован цикл разработки закваски прямого внесения на примере производства кумыса и кумысного продукта (напиток на основе коровьего молока). На первом этапе работы проведена экспедиционная работа в Баймакском районе Республики Башкортостан, в рамках которой отобраны образцы кумыса, изготовленного традиционным методом. Проведен анализ таксономического разнообразия микробных сообществ кумыса, в результате которого показано, что доминирующей группой являются представители рода *Lactobacillus*. Также из полученных образцов кумыса выделено более 100 штаммов молочнокислых бактерий и дрожжей, из которых на следующем этапе работ было собрано более 20 микробных ассоциаций, испытанных в качестве заквасок для изготовления кумыса и кумысного продукта. Для полученных продуктов проведена оценка следующих технологических свойств, таких как органолептические свойства, интенсивность кислотообразования, интенсивность газации готового продукта. Лучшими технологическими показателями обладала закваска, содержащая штаммы микроорганизмов *Lactobacillus helveticus* и *Kluyveromyces marxianus*. Разработанная закваска испытана на молочном производстве: проведены работы по масштабированию технологии производства кумыса и кумысного продукта. Разработанная закваска позволит не только стандартизировать процесс производства кумыса и кумысного продукта, но и сделать его более безопасным с точки зрения содержания посторонних микроорганизмов в готовых продуктах. Данная работа демонстрирует возможность разработки и применения заквасок прямого внесения российского производства.

E-mail: 6.ok.off@mail.ru

ИММОБИЛИЗАЦИЯ ХИЩНЫХ БАКТЕРИЙ РОДА *BDELLOVIBRIO*, КАК ПОДХОД ДЛЯ РАЗРАБОТКИ НОВЫХ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ УСТРАНЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПРИРОДНЫХ БИОТОПОВ ОТ ПАТОГЕННЫХ ФОРМ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ

Шорохова[1] А.П., Перов[1,2] Я.А., Носков[1] А.Е., Поливцева[1] В.Н., Абашина[1] Т.Н., Осепчук[3] Д.В., Зимин[1] А.А., Сузина[1] Н.Е.

[1] Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН - обособленное подразделение ФИЦ Пущинский научный центр биологических исследований РАН, Пущино
[2] Пущинский филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)», Пущино
[3.]Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии» (ФГБНУ КНЦЗВ), Краснодар

Хищные бактерии рода *Bdellovibrio,* обладают широким спектром литического действия в отношении грамотрицательных бактерий, в том числе патогенных штаммов *E.coli*, и совершенно безопасны для человека, животных и растений. Использование иммобилизованных на различных носителях бделловибрионов на стадии внутриклеточного развития может стать эффективной и экологически безопасной технологией не только для очистки сточных вод, но также в медицинской практике и ветеринарии. Бделловибрионы во внутриклеточной стадии развития более устойчивы к неблагоприятным факторам внешней среды и обладают повышенной адгезивной способностью по сравнению с внеклеточными хищниками. С целью получения максимального количества сорбированных на углеродно-волокнистом носителе бделлопластов, изучена зависимость их адгезии от температуры и pH среды, времени взаимодействия с АУВМ-III. Определена удельная ёмкость АУВМ–III для бделлопластов. Методами сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) продемонстрированы процессы колонизации волокна при разной экспозиции. Помимо адгезии на поверхности АУВМ–III происходит когезия бделлопластов, что подтверждается ступенчатым графиком изотермы сорбции, а также данными СЭМ. Выявлены физико-химические факторы, влияющие на процессы десорбции клеток двухкомпонентной системы.
Биохимическими методами и методами СЭМ показано, что вещество полисахаридной природы участвует в адгезии и когезии хищника на поверхности носителя. Модельные эксперименты проводили как в изолированных объёмах сточной воды, так и в модельной системе сточных вод очистных сооружений г. Пущино со скоростью протока 0,025 ч. Интродукция иммобилизованных клеток хищника на волокнистом носителе в обоих вариантах показала увеличение количества свободных бделловибрионов в равных объёмах сточной воды, ускорение обеззараживания (снижение титра *E. coli*) бытовых сточных вод. Введение в объём ферментёра свободных бделловибрионов приводило к постепенному вымыванию их из среды культивирования, а иммобилизованная система была способна к пролонгированному взаимодействию с клетками жертвы.
Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-64-00017, https://rscf.ru/project/24-64-00017/.

E-mail: shorann@rambler.ru

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ ГАЛОФИЛЬНЫХ ШТАММОВ *VREELANDELLA NEPTUNIA* ИЗ ГИПЕРГАЛИННОГО МАЛОГО МЕДВЕЖЬЕГО ОЗЕРА КУРГАНСКОЙ ОБЛАСТИ

Шустова М.Н., Агафонова Н.В., Капаруллина Е.Н., Доронина Н.В.

ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»
Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г. К. Скрябина РАН, Пущино

Озеро Малое Медвежье (Курганская область) является гипергалинным водоемом (минерализация 112-350 г/л). Микробное разнообразие этого озера не изучено. Галофильные микроорганизмы представляют большой интерес в биотехнологии как продуценты ценных метаболитов, а также для снижения негативного воздействия соли на растения агрономического значения. Цель работы – выделение новых галофильных штаммов из озера Малое Медвежье и исследование их биотехнологического потенциала. Из пробы воды, отобранной из оз. Малое Медвежье на агаризованной среде LB с 3% NaCl выделены штаммы SBL311 и SBL313. На основании секвенирования генов 16S рРНК они имели 99.3% и 99.7% сходства с *Vreelandella neptunia* Eplume1^T и отнесены к данному виду. Новые изоляты являются аэробами, оксидазо- и каталазоположительны. Растут при температуре 5-35 ºС (оптимально 29 ºС) и pH 5.5-11.0 (оптимально 7.0-7.5). Штамм SBL311 растет при 2-24% NaCl (оптимально 4-10% NaCl), а штамм SBL313 - при 1-26% NaCl (оптимально 2-10% NaCl). Гетеротрофы, использующие различные полиуглеродные соединения. На минеральной среде (5% NaCl) с различными источниками углерода и L-триптофаном оба штамма синтезируют индолпроизводные (8.0–26.0 мкг/мл). Штаммы растворяют и используют неорганические фосфаты $Ca_3(PO_4)_2$ в качестве источника фосфора. Синтезируют сидерофоры и подавляют рост фитопатогенных грибов. На среде с глюкозой или глицерином в качестве источников углерода и энергии штаммы накапливают поли-3-гидроксибутират. В качестве основного осмопротектора изоляты синтезируют эктоин.
Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, проект № 075-15-2025-485

E-mail: shustova.mn0709@gmail.com

ЭКЗОПОЛИСАХАРИД *XANTHOMONAS CAMPESTRIS*: ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В РАСТЕНИЕВОДСТВЕ

Шьюрова[1] А. А., Ломакина[1] А. М., Мельникова[1] А. В., Лящева[2] С. В., Карпунина[1] Л. В.

[1] ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова», Саратов
[2] ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Юго-Востока», Саратов

В настоящее время для повышения урожайности агрокультур обычно проводят массовую химизацию сельскохозяйственных растений в разные периоды вегетации, что негативно сказывается на окружающей среде. В связи с этим представляет значительный практический интерес изучение различных микроорганизмов и их метаболитов для создания новых высокоэффективных и экологически безопасных биопрепаратов для стимуляции роста сельскохозяйственных культур. Изучали влияние экзополисахарида (ЭПС) *X. campestris* B-610/1 в виде пленочного покрытия на ранние этапы развития яровой мягкой пшеницы (сорта Саратовская 68, Саратовская 70), пшеницы альтернативного типа развития (линии 1286, 1291) и озимой мягкой пшеницы (сорта Анастасия, Жемчужина Поволжья, Калач 60,

Подруга, Соседка). Для приготовления пленки использовали ЭПС *X. campestris* B-610/1, в качестве структурообразователя – карбоксиметилцеллюлозу, пластификатора – глицерин. Получали однородный, прозрачный, студнеобразный раствор (гель), который, застывая, образовывал пленку. Были исследованы структурно-механические свойства полученного пленочного покрытия. Для обработки семян пшеницы данным пленочным покрытием опытные образцы выдерживали 15 минут в студнеобразном растворе (геле), высушивали при комнатной температуре (+24°C), затем семена помещали в стерильные чашки Петри с дисками из фильтровальной бумаги, смоченными 4 мл дистиллированной воды и выращивали при температуре +24°C. Через семь суток учитывали такие морфометрические показатели как длина проростка, максимальная длина корня, количество корней. Было установлено положительное влияние ЭПС *X. campestris* B-610/1 в разной степени на длину проростка, максимальную длину корня, количество корней у пшениц разных типов развития. Наибольший эффект был обнаружен в отношении показателя длины проростка. Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования бактериальных экзополисахаридов в виде предварительной обработки семян на ранних этапах онтогенеза злаковых культур.

E-mail: arina.shyurova.98@mail.ru

МОЛОЧНОКИСЛЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ В СООБЩЕСТВАХ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ БЕЛОГО МОРЯ

Щербакова П.А., Кремнева М.К., Шестаков А.И.

МГУ имени М.В.Ломоносова, Москва

Молочнокислые микроорганизмы являются активными компонентами микробных сообществ ферментированных продуктов на стадии созревания и хранения. Кроме использования в качестве заквасок, молочнокислые бактерии можно также применять в качестве биоконсервантов и нестартовых культур, улучшающих вкусовые качества продукта. Микроорганизмы, адаптированные к условиям высокой солености и низкой температуры, обладают потенциалом применения в производстве соленых продуктов, требующих хранения при низких температурах, таких как сыровяленые колбасы и рассольные сыры. Природным резервуаром для поиска таких микроорганизмов могут быть Арктические моря. Для выделения молочнокислых бактерий после предварительного анализа таксономических профилей микробных сообществ были выбраны беспозвоночные животные, обитающие в Кандалакшском заливе Белого моря, относящиеся к типам *Mollusca, Echinodermata, Hemichordata, Nemertea, Phoronida, Annelida, Nematoda* и классам *Malacostraca и Ascidiacea*. Выделение микроорганизмов проводили с использованием питательных сред для лактобактерий, отбор культур производили по морфологическим, физиологическим и биохимическим признакам; после чего штаммы идентифицировали с помощью метода MALDI-TOF масс-спектрометрии. В результате работы выделено 63 культуры молочнокислых микроорганизмов, относящихся к родам *Lacticaseibacillus, Lactiplantibacillus, Lactobacillus, Fructilactobacillus, Lactococcus, Leuconostoc, Pediococcus, Enterococcus.* Для полученных штаммов проведена оценка биотехнологического потенциала. В качестве наиболее перспективных выбраны 2 штамма молочнокислых бактерий, выделенные из беспозвоночных животных – *Lactococcus lactis* 18 и *Lactococcus cremoris* 56, которые способны к росту и ферментации молока в условиях пониженной температуры и повышенной солености среды.

Устойчивость выделенных микроорганизмов к повышенной солености среды может быть использована как характеристика, позволяющая использовать штаммы в производстве рассольных сыров.

E-mail: shcherbakovapa@gmail.com

МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

ПЛЕНАРНЫЕ ДОКЛАДЫ

ТРУДНОКУЛЬТИВИРУЕМЫЕ И НОВЫЕ «НЕКУЛЬТИВИРУЕМЫЕ» ТАКСОНЫ: ПРЕОДОЛЕНИЕ ГРАНИЦ В ИЗУЧЕНИИ БАКТЕРИАЛЬНОГО РАЗНООБРАЗИЯ МИКРОБИОТЫ ЧЕЛОВЕКА

Ефимов Б.А., Подопригора И.В., Чаплин А.В., Кашатникова Д.А., Захаржевская Н.Б.

Институт профилактической медицины им. З.П. Соловьева, ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва
ФНКЦ физико-химической медицины им. акад. Ю.М. Лопухина ФМБА России, Москва

Микробиота человека играет ключевую роль в поддержании здоровья. Значительная часть микробного сообщества, включая «темную материю» (некультивируемые и неохарактеризованные микроорганизмы), остается неисследованной. Цель работы - выделение и изучение труднокультивируемых бактерий из различных биотопов человека. Исследованы 260 образцов биоматериала: фекалии здоровых доноров и пациентов с РАС, вагинальный секрет, материал периодонтальных карманов, сперма, образцы фекалий от *Macaca mulatta*. Применяли 5 методов пробоподготовки, 30 условий культивирования (разные питательные среды, pH, газовая атмосфера). Идентификацию проводили методами MALDI-TOF MS и секвенирования гена 16S рРНК. Для хранения использовали лиофилизацию и криоконсервацию в 20% глицероле при -80 °C. Из образцов выделено 10 736 чистых культур. Идентифицированы штаммы 251 вида бактерий (7 типов, 14 классов, 20 порядков, 35 семейств, 105 родов). Сформирована коллекция из ~2100 штаммов, включая 20 новых видов (5 новых родов). 11 новых таксонов валидированы в соответствии с требованиями Международного кодекса номенклатуры прокариот (ICNP), 23 штамма депонированы в российских (ВКМ, ВКПМ) и 12 в международных коллекциях (JCM, DSMZ). Секвенировано 58 геномов (48 доступны в GenBank). Штаммы используются для изучения широкого спектра биологических свойств, включая генетические, метаболические, иммуномодулирующие свойства, и исследования бактериальных везикул. Созданная коллекция представляет таксономическое разнообразие микробиоты человека и приматов, включает уникальные штаммы. Полученные данные расширяют знания о «темной материи» микробиома и открывают новые возможности для исследований в области микробной экологии и персонализированной медицины.

E-mail: efimov_ba@mail.ru

ХОЛОБИОМ ЧЕЛОВЕКА: ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ И ХОЗЯИНА – КАК ОСНОВА ДИАГНОСТИКИ И КОРРЕКЦИИ ДИСБИОЗА

Григорьева Т.В.
ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань

Доклад посвящен методическим и прикладным аспектам анализа кишечного микробиома человека, проблемам его аннотации и поиска диагностических маркеров. Особый акцент будет сделан на характеристике нормальной микробиоты и стабильной его части (холомикробиома), тесно ассоциированной с фенотипом человека.

E-mail: tatabio@inbox.ru

МЕЖМИКРОБНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В ПОЛИВИДОВЫХ КОНСОРЦИУМАХ: НОВЫЙ ВЗГЛЯД НА СТРАТЕГИИ ПРОФИЛАКТИКИ И ТЕРАПИИ ПОЛИМИКРОБНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Лисовская[1.2,3] *С.А., Каюмов*[1] *А.Р.*

[1] Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань
[2] ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора РФ, Казань
[3] ФГБОУ ВО «Казанский ГМУ» Министерства здравоохранения РФ, Казань

Микромицеты у человека часто выделяются в составе микробных ассоциаций. Внутри микробного консорциума могут изменяться степени вирулентности видов за счет образования новых факторов, тем самым воздействуя на макроорганизм. Цель работы - изучить способность формировать моно- и полимикробные биопленки грибами *Candida albicans* и *Fusarium solani* и проанализировать антимикотикорезистентность штаммов в составе биопленок *in vitro*. Объектами исследования служили референс и клинические культуры микроскопических грибов: *C. albicans* и *F. solani*. Формирование биопленок проводили на 96 - луночных плоскодонных полистироловых планшетах с плоским дном. Оптическую плотность элюатов определяли при длине волны 620 и 490 нм. Для окрашивания структурных компонентов биопленок использовали красители: SYPRO O, конканавалин А-тетраметилродамин, калькофлуор белый. Анализ противогрибковой активности антимикотиков проводили стандартизированным методом по протоколам CLSI. Проведенное исследование показало способность грибов *Fusarium* и *Candida* формировать полимикробные биопленки со сложной структурной организацией. Основную роль на этапе прикрепления и формировании монослоя играют адгезины клеточной стенки грибов, состоящие из упорядочено расположенных протеиновых, гликопротеиновых субъединиц, α и β-полисахаридов. Максимальные значения количества белка, α и β–полисахаридов отмечены у клинических штаммов, особенно в составе полимикробной биопленки. Анализ противогрибковой активности антимикотиков в отношении *Fusarium* и *Candida* в составе биопленок показало высокую устойчивость микроскопических грибов к исследуемым препаратам: вориконазол, флуконазол, тербинафин, нистатин. Полученные результаты *in vitro*, подтверждают необходимость учета возможности формирования полимикробных биопленок микромицетами, что может способствовать выживанию клеток грибов под действием антимикробной терапии и сохранению инфекции.

E-mail: S_Lisovskaya@mail.ru

ПОЛИБАКТЕРИАЛЬНОЕ СООБЩЕСТВО ТУБЕРКУЛЕЗНОГО НЕКРОЗА: «СТАФИЛОКОККОВАЯ» КАЗЕОМА КАК НАИБОЛЕЕ РАСПРОСТРАНЕННЫЙ И НЕБЛАГОПРИЯТНЫЙ ИСХОД

Огарков[1] О.Б., Кондратов[1] И.Г., Суздальницкий[2,3] А.Е., Синьков[1] В.В., Орлова[1] Е.А., Белькова[1] Н.Л., Немченко[1] У.М., Жданова[1] С.Н.

[1]Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека, Иркутск
[2]ОГБУЗ Иркутская областная клиническая туберкулёзная больница, Иркутск
[3]Иркутский государственный медицинский университет, Иркутск

Метагеномика сообществ бактерий в содержимом казеозного некроза при туберкулёзе легких свидетельствует о преобладании факультативных анаэробов. Полногеномным секвенированием и бактериологическими методами было исследовано 73 туберкулезных очага на стадии туберкулемы и один образец на стадии ФКТ. Из туберкулёзного (ТБ) некроза изолированы, определены до вида и подвергнуты полногеномному секвенированию 9 штаммов: *S. hominis* – 3; *S. epidermidis* – 3; *C. ureicelerivorans* – 2; *C. kefirresidentii* – 1. Показано, что *Corynebacterium* и *Staphylococcus* обладают наборами генов, не представленных у *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ): липазами и протеазами, которые могут участвовать в деградации содержимого казеозного некроза; капсулами на основе глутамата и полисахаридов; уреазами, способными повышать pH казеума; системами поглощения трёхвалентного железа. Предположено, что выделенные виды способны образовывать бактериальные консорциумы с МБТ: коринебактерии — на ранних, а стафилококки – на более поздних этапах некротизации и разжижения туберкулёзного некроза. На модели вакцинного штамма *M. bovis* var. BCG наблюдалось слабое подавление роста лизатом *S. epidermidis*, но не *C. kefirresidentii*. Совместное культивирование BCG и живой *C. kefirresidentii* в течение 2 месяцев приводило к значимому, 7-кратному, увеличению поверхностной биопленки *M. bovis*. До 50% исследованных туберкулезных очагов находились на разных стадиях формирования полибактериального сообщества. Представители рода *Staphylococcus* занимают среди сателлитных бактерий казеума отдельное место, в значительном числе случаев развитие стафилококковой микробиоты приводит к преобладаю ее над микобактериальной. Такого рода «стафилококковые» туберкуломы по всей видимости являются одним из наиболее распространенных неблагоприятных исходов развития туберкулезного очага. Более того из туберкулезной каверны нами выделен метициллин-резистентный *S. epidermidis* (MRSE).

Кооперативное поведение патобиоты казеума и МБТ направлено на выживание и совместное разложение липидного субстрата ТБ некроза.

Работа выполнена в рамках гранта РНФ 23-15-00280

E-mail: obogarkov@mail.ru

МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

СЕКЦИОННЫЕ ДОКЛАДЫ

ДОСТИЖЕНИЯ ОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ И НАНОТЕХНОЛОГИИ В ПРЕОДОЛЕНИИ МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ БАКТЕРИЙ

Бурыгин Г.Л., Астанкова А.С., Кусмарцева Ю.А., Крючкова Е.В.

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов

Интенсивное использование антибиотиков в медицине и ветеринарии привело к широкому распространению бактерий с множественной лекарственной устойчивостью, молекулярные механизмы которой идентичны с системами устойчивости к тяжёлым металлам. В данной работе исследовано влияние металлоорганических комплексов и нанокластеров серебра и меди на устойчивость бактерий различных таксономических групп к антибиотикам и тяжёлым металлам. 30 штаммов исследовали на устойчивость к антибиотикам и солям меди, кадмия, свинца, хрома, кобальта, цинка и серебра. Для каждого токсиканта все штаммы были разделены на 3 категории: устойчивые, умеренно-устойчивые и чувствительные. Для штаммов из разных категорий для каждого из токсикантов была проведена оценка влияния новых медь-, железо- и кобальт-органических соединений и нанокластеров серебра и меди на токсикологические показатели. Металлоорганические комплексы снижали устойчивость ко всем исследованным токсикантам и грамотрицательных, и грамположительных бактерий. Нанокластеры металлов существенно снижали эффективные дозы токсикантов только для бактерий, устойчивых к антибиотикам, солям меди и цинка. Сделан вывод о том, что металлорганические соединения усиливают и/или дополняют токсическое действие антибиотиков и тяжёлых металлов, в то время как нанокластеры блокируют систему эффлюкса - один из механизмов устойчивости

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-24-00520, https://rscf.ru/project/24-24-00520/.

E-mail: burygingl@gmail.com

РЕДКИЕ ИНФЕКЦИИ У ПАЦИЕНТОВ В ТРАВМАТОЛОГИИ И ОРТОПЕДИИ

Вабищевич Н.К.

ФГБУ «НМИЦ ТО им Н.Н. Приорова», Москва

Гематогенные (остеогенные) инфекции, вызванные некоторыми редко встречающимися микроорганизмами, могут выступать причиной осложнений в структуре заболеваний в травматологии и ортопедии. Несмотря на специфику возбудителей, такие инфекционные осложнения не имеют особенностей клинического течения и инструментальной диагностики. Могут относиться как к патогенным бактериям, так и к условно-патогенным, обитающим преимущественно во внешней среде. Одной из причин редкого инфекционного осложнения может быть сальмонеллезная инфекция. Так временной интервал между первоначальной типичной сальмонеллезной инфекцией и возникновением гематогенного остеомиелита характеризуется вариабельностью. Данная этиологическая форма остеомиелита не имеет характерных симптомов, диагностика возможна бактериологическим методом. Бактерии рода *Brevibacterium* являются преимущественно биотой водоемов, обеспечивают процесс

деструкции различных органических соединений. Некоторые виды присутствуют на коже и на поверхности слизистых оболочек человека. Инфекции, вызванные *Brevibacterium*, встречаются довольно редко. Исследование операционного материала проводилось классическими бактериологическими методами с использованием твердых и жидких питательных сред. Идентификация и чувствительность к антимикробным препаратам выделенных культур *Salmonella* и *Brevibacterium* проводилась с использованием анализатора VITEC 2 Compact. У пациента с первичным эндопротезированием тазобедренного сустава15 лет назад, возник резкий отек, боль и образовался свищевой ход в области тазобедренного сустава. Диагноз при поступлении: перипротезная инфекция тазобедренного сустава, хронический остеомиелит, свищевая форма. Было выполнено ревизионное эндопротезирование с взятием операционного материала – тканевой биоптат на микробиологическое исследование. Результат исследования *Salmonella* spp, чувствительна к антимикробным препаратам, рекомендованным для определения чувствительности EUCAST 2023 год. Назначена этиотропная антибиотикотерапия с положительным эффектом элиминации возбудителя. Для исключения гастроинтестинальной и генерализованной форм сальмонеллеза проведено микробиологическое исследование крови и кала пациента, Salmonella не была обнаружена. Пациент18 лет поступил для проведения декомпрессионно-стабилизируещего оперативного вмешательства позвоночника. В раннем послеоперационном периоде диагностировано осложнение ИСМП с признаками воспаления области раны. Микробиологически диагностирована Brevibacterium ravenspurgense. Из анамнеза пациента известно, что он профессионально занимался плаванием, вследствие чего возможно допустить колонизацию кожи пациента данным видом бактерии. Основной препарат для лечения у таких пациентов ванкомицин. После проведенной антибиотикотерапии удалось предотвратить развитие имплантат-ассоциированной инфекции. Особенностью обследования пациентов травматолого-ортопедического профиля с инфекцией, вызванной типичным представителем заболеваний ЖКТ, является необходимость исключения гастроинтестинальной и генерализованной форм сальмонеллеза, а также проведение комплекса противоэпидемических мероприятий, направленных на изоляцию пациента, обследование контактировавших с ним лиц и дальнейшее наблюдение врачом инфекционистом. Мультидисциплинарный подход - путь к успеху в лечении таких пациентов. Инфекции *Brevibacterium* возникают достаточно редко. Количество выделенных микроорганизмов таких редких инфекций возрастает за последние годы. Известно, что флора кожи выступает как причина имплантат-ассоциированной или перипротезной инфекции. Основная стратегия – это предотвращение интраоперационного бактериального осложнения путем предоперационной и интраоперационной профилактики. Требуется изучение стратегии антисептики кожи перед операцией для полного уничтожения любых жизнеспособных микроорганизмов на коже во время операции.

E-mail: cito-vnk@mail.ru

НАПРАВЛЕННЫЙ ПОИСК АНТИМИКРОБНЫХ СОЕДИНЕНИЙ С ПРИМЕНЕНИЕМ МУЛЬТИТАРГЕТНОЙ МОДУЛЬНОЙ ПОЛНОСВЯЗНОЙ СВЕРТОЧНОЙ КОРРЕЛЯЦИОННОЙ НЕЙРОННОЙ СЕТИ НА ОСНОВЕ МНОЖЕСТВЕННОГО ДОКИНГА

Васильев[1] *П.М., Озеров*[1] *А.А., Голубева*[1] *А.В., Степаненко*[1] *И.С., Цибизова*[2] *А.А., Кузьминов*[1] *О.В., Козлов*[1] *С.Ю., Косов*[1] *В.А., Киценко*[1] *М.Р., Генатуллина*[2] *Г.Н., Перфильев*[1] *М.А., Кочетков*[1] *А.Н.*

[1] ФГБОУ ВО Волгоградский государственный медицинский университет Минздрава России, Волгоград
[2] ФГБОУ ВО Астраханский государственный медицинский университет Минздрава России, Астрахань

Поиск методами искусственного интеллекта высокоэффективных многоцелевых антимикробных соединений является весьма актуальной задачей. Выполнен множественный докинг 254 известных антимикробных производных хиназолинона по всему объему 10 релевантных *S. aureus* биомишеней. Проведена двухуровневая корреляционная свертка полученных спектров энергий множественного докинга, построена модульная полносвязная нейросеть, для активных соединений определена пороговая величина полной энергии этой нейросети W>266.5, оценена точность полученной модели. С помощью разработанной методологии выполнен прогноз антимикробной *S. aureus* активности 71 нового производного хиназолинона, отобраны и экспериментально изучены перспективные по прогнозу вещества. Точность прогноза на обучающей выборке антимикробной *S. aureus* активности производных хиназолинона равна 81,5%; коэффициент обогащения при прогнозе активности новых соединений составил 1,4 раза. Показана эффективность использования нового метода искусственного интеллекта: мультитаргетной модульной полносвязной сверточной корреляционной нейронной сети на основе множественного докинга, в направленном поиске антимикробных соединений.
Работа выполнена в рамках государственного задания Минздрава России № 23022400009-9.

E-mail: pvassiliev@mail.ru

ОЦЕНКА РЕЛЕВАНТНОСТИ БИОМИШЕНЕЙ *S. AUREUS:* НОВЫЙ НЕЙРОСЕТЕВОЙ МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ СОЕДИНЕНИЙ НА ОСНОВЕ МНОЖЕСТВЕННОГО ДОКИНГА

Голубева А.В., Васильев П.М., Кочетков А.Н., Перфильев М.А.

ФГБОУ ВО Волгоградский государственный медицинский университет Минздрава России, Волгоград

Современные методы машинного обучения повышают эффективность поиска новых антимикробных веществ, активных в отношении антибиотикорезистентных штаммов. Ранее были найдены валидные 3D-модели 10 наиболее аффинных белков-мишеней с активностью против *S. aureus.* В эти модели выполнен множественный докинг 3699 оптимизированных 3D-структур из банка данных по антимикробной активности известных веществ относительно *S. aureus*. На основе спектра энергий множественного докинга построена полносвязная мультитаргетная сверточная корреляционная нейронная сеть прямого распространения. Отобраны 24 референсных препаратов для валидации полученной модели и оценки релевантности 10 отобранных для *S. aureus* биомишеней. Общая точность прогноза

антимикробной *S. aureus* активности на обучающей выборке составила *Acc*=88,8%, чувствительность *Sens*=93,9%, специфичность *Spec*=80,1%; AUC_{ROC}=91,7%. Прогностическая точность полученной модели при тестировании на выборке референсных препаратов составила 70,8%. Доказана валидность разработанной нейросетевой методологии на различных классах веществ. Полученные результаты свидетельствуют о высокой релевантности отобранных биомишеней с активностью против *S. aureus.*

Работа выполнена в рамках государственного задания Минздрава России № 23022400009-9.

E-mail: arina_arina_golubeva@mail.ru

ВЛИЯНИЕ ЦИКЛИЧЕСКИХ ЛИПОПЕПТИДОВ *BACILLUS VELEZENSIS* НА ВИРУЛЕНТНЫЕ СВОЙСТВА *CANDIDA ALBICANS*

Дилбарян Д.С., Степанов А.А., Васильченко А.С.

Институт экологической и сельскохозяйственной биологии (Х-BIO), Тюмень, Россия

Дрожжеподобный гриб *Candida albicans* является распространенным условно-патогенным микроорганизмом человека и животных. Патогенность *C. albicans* обусловлена в том числе способностью формировать биопленки, а также обратимо переключаться между различными морфологическими формами. В данной работе исследовалось влияние бактериальных циклических липопептидов (цЛП) на биопленкообразование и мицелиально-дрожжевой диморфизм *C. albicans.* цЛП – смесь различных гомологов бацилломицина L, фенгицина А и Б получали из культуральной жидкости *Bacillus velezensis* Х-BIO-1. Оценку антифунгальной активности смеси цЛП на *C. albicans* проводили методом серийных разведений. Оценивали влияние цЛП на формирующиеся и зрелые биопленки *C. albicans* с использованием 0,1% кристаллического фиолетового и трифенилтетразолий хлорида. Влияние липопептидов на формирование зародышевой трубки *C. albicans* определяли путем подсчета дрожжеподобных клеток в жидкой среде, а также с использованием агаризованной среды («spider agar»). Показано, что цЛП в концентрации 125 мкг/мл (1МИК) приводили к снижению общей биомассы формирующихся биопленок на 54,2±4,4% относительно контроля, метаболическая активность при 1МИК была ниже контрольного варианта на 49,3±7,5%. Общая биомасса зрелых биопленок при 1МИК была на 5,3±3,5% ниже, чем в контроле, метаболическая активность при 1МИК отличалась от контроля на 9,06±5,2%. Оценка воздействия цЛП на мицелиально-дрожжевой диморфизм *C. albicans* на жидкой среде показала, что при 1МИК количество клеток *C. albicans* в дрожжевой форме было на 29,3±8,4% больше, чем в контроле, при более низких концентрациях цЛП - 0,125МИК разница с контролем составила 7,3±1,2%. Ингибирующий эффект цЛП на морфогенез клеток *C. albicans* на твердой среде («spider agar») наблюдался при концентрации 0,5МИК. Таким образом, способность цЛП, выделенных из *Bacillus velezensis* Х-BIO-1, подавлять исследуемые факторы вирулентности *C. albicans* позволяет рассматривать смесь цЛП в качестве потенциального антифунгального средства.

E-mail: d.d.s98@mail.ru.

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ БРОМ- И ЙОДЗАМЕЩЕННЫХ BODIPY ЛЮМИНОФОРОВ В ОТНОШЕНИИ ГРИБКОВО-БАКТЕРИАЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ

Исхакова[1] З.И., Сафина[1] Р.Р., Гильфанов[2] И.Р., Гусева[3] Г.Б., Антина[3] Е.В., Никитина[2] Л.Е., Каюмов[1] А.Р.

[1]Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань
[2]Казанский государственный медицинский университет, Казань
[3]Институт химии растворов им. Г.А. Крестова Российской академии наук, Иваново

В последнее время все более актуальна проблема лечения инфекций, вызванных устойчивыми к антибиотикам микроорганизмами, в том числе смешанными сообществами бактерий и микроскопических грибов. Антимикробная фотодинамическая терапия (АФДТ) с использованием фотосенсибилизаторов (ФС), приводящих к образованию синглетного кислорода, считается перспективным методом благодаря высокой эффективности и нечувствительности к лекарственной резистентности. В ходе исследования выявлена антимикробная активность дийод- и дибромзамешенных BODIPY-люминофоров против грамположительных бактерий и микроскопических грибов. При воздействии монохроматического света с длиной волны 530 нм в течение 2ч происходит снижение численности жизнеспособных клеток на 3 и более порядка. В отсутствии облучения соединения не проявляли подобного эффекта. Бромсодержащие BODIPY люминофоры также продемонстрировали высокую ингибирующую активность в отношении биопленок микроорганизмов. Полученные данные свидетельствует о перспективности галоген-BODIPY люминофоров в качестве инновационных антимикробных препаратов.
Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 24-14-00194).

E-mail: zalinunya@mail.ru

МОДЕЛИРОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА КИШЕЧНИКА С БИФИДОБАКТЕРИЯМИ И BACILLUS CEREUS В ОДНОСТАДИЙНОЙ И ТРЕХСТАДИЙНОЙ МОДЕЛИ IN VITRO

Кареткин Б.А., Евдокимова С.А., Панфилов В.И., Градова Н.Б.

РХТУ им. Д.И. Менделеева

Взаимодействие микробного сообщества кишечника с организмом хозяина и с поступающими извне организмами и химическими веществами представляется как фундаментальный, так и прикладной интерес. Исследования in vivo в данной области связаны с рядом ограничений, поэтому широкое распространение получили in vitro модели. Цель работы исследовать взаимодействия микробного сообщества кишечника с бифидобактериями и *Bacillus cereus* в одностадийной и трехстадийной непрерывной модели in vitro. Эксперименты проводили в лабораторных ферментерах общим объемом 3 и 5 л с системой автоматического поддержания pH в соответствии с протоколами, предложенными Gibson и Macfarlane для модели толстого кишечника. В питательную среду вносили пребиотик (олигофруктозу). В одностадийной модели проводили исследования с искусственным сообществом *Bifidobacterium adolescentis* и *Bacillus cereus*. Установлено, что с увеличением концентрация олигофруктозы с 2 до 15 г/л возрастает продуцирование бифидобактериями молочной и уксусной кислот, что, в свою очередь, увеличивает длительность лаг-фазы бацилл с 0 до 8 часов. На основании полученных данных разработана

математическая модель, которая описывает антагонизм бифидобактерий против бацилл в результате образования органических кислот. В трехстадийной модели фекальное сообщество кишечника заражали *Bacillus cereus* с предварительным внесением бифидобактерий или без такового. Изучена динамика общей численности бактерий, а также основных групп микроорганизмов и изменения профиля органических кислот. Внесение бифидобактерий в дозе 10^9 КОЕ ежедневно в течение 5 дней приводило к стабильному увеличению их численности до окончания эксперимента, а также существенно повлияло на количество *Clostridium, Faecalibacterium, Bacteroidetes* и *Lactobacillus.* Наибольшее влияние на время элиминирования бацилл оказывал pH. В условиях восходящей кишки (pH = 5,5) бациллы не обнаруживали уже после первых суток от момента внесения, а в нисходящей кишке (pH=6,8) – после 3-4 суток.

E-mail: karetkin.b.a@muctr.ru

НЕИНВАЗИВНАЯ ДИАГНОСТИКА СОСТАВА МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА БИОПЛЕНОК МЕТОДОМ ГИПЕРСПЕКТРАЛЬНОГО АНАЛИЗА

Каюмов[1] А.Р., Тризна[1] Е.Ю., Миронова[1] А.В., Лисовская[1] С.А., Баранов[2] П.С., Синица[2] А.М., Басманов[2] А.А., Шаривзянов[2] Д.Р., Богачев[2] М.И.

[1] Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань
[2] СПб государственный электротехнический университет «ЛЭТИ», Санкт-Петербург

Большое количество инфекционных заболеваний человека и животных ассоциировано с образованием биопленок. В составе биопленки изменяется метаболический статус клеток, что в свою очередь изменяет восприимчивость микроорганизмов к антимикробным препаратам. Биопленка каждого микроорганизма обладает уникальным профилем отраженного света, что позволяет различать видовую принадлежность бактерии по ее спектрограмме. При этом гиперспектры изолятов показали незначительный разброс интенсивности пиков. Спектрограммы двувидовых биопленок не являются простым усреднением спектрограмм монокультур, их образующих, что соотносится с различиями в структуре и биохимическом составе моно- и двувидовых биопленок, а также имеют зоны неперекрывания. Данные количественной оценки чувствительности, специфичности и диагностической точности метода путем построения ROC-кривых в сочетании с методами машинного обучения на основе сверточных сетей показали эффективность определения до 0.98 для *S.aureus* и *E.faecalis*, и минимально до 0.78 для P.aeruginosa.
Полученные данные открывают возможности экспресс-диагностики микробного состава биопленки путем гиперспектрального анализа для подбора оптимальных антимикробных препаратов с учетом состава микробных консорциумов.
Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 24-14-00194)

E-mail: kairatr@yandex.ru

РЕКОНСТРУКЦИЯ ГЕНОМОВ БАКТЕРИЙ КИШЕЧНОГО БИОТОПА У ПОДРОСТКОВ С ОЖИРЕНИЕМ

Клименко Е.С., Белькова Н.Л.

Институт эпидемиологии и микробиологии ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ, Иркутск

В данном исследовании мы получили геномы представителей коровой кишечной микробиоты у подростков с ожирением (n=12) и нормальной массой тела (n=2) в возрасте от 11 до 16 лет, проживающих в городе Иркутске. Метагеномное секвенирование фекального материала проводилось с использованием платформы Illumina NextSeq 550. Результаты секвенирования депонированы в базу данных NCBI как PRJNA604466 и PRJNA1130704. Всего из метагенома кишечного сообщества было получено 168 неизбыточных MAG. При 95% ANI 168 MAG были сгруппированы в 99 SGB. 98 SGB удалось сопоставить с известными видами микроорганизмов, а один SGB был обозначен только на уровне семейства и был отнесен к клостридиям UBA1381. Наиболее распространенным в выборке пациентов был *Gemmiger qucibialis*, он был детектирован в 11 образцах. Также часто встречались *Ruminiclostridium siraeum, Cryptobacteroides* sp. 000433355, *Escherichia coli, Parabacteroides distasonis, Bifidobacterium adolescentis, Agathobacter rectalis*, не определенные до валидного бактериального таксона представители *Christensenellales*, и *Phascolarctobacterium succinatutens* клады А. Единожды встречаются геномы клостридий групп CAG-488, UBA737 и UMGS1484. Также единожды встречаются представители рода *Vescimonas* и *Bulleidia*. На основании метагеномного секвенирования в кишечном микробиоме подростков определены бактерии и археи. В качестве представителей корового микробиома получены MAGs 99 видов бактерий.

E-mail: klimenko.elizabet@gmail.com

АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ESKAPE-ПАТОГЕНОВ В НЕАНТОЛОГИЧЕСКИХ ОТДЕЛЕНИЯХ

Косов В.А., Степаненко И.С., Киценко М.Р., Кузнецов Р.А, Михайлова Л.В.

ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, Волгоград

ESKAPE-патогены представляют серьезную угрозу в медицине, демонстрируя высокую устойчивость к современным антибиотикам. Проблема особенно актуальна в неантологических отделениях, где младенцы часто имеют ослабленный иммунитет и обширные повреждения тканей. Понимание механизмов развития антибиотикорезистентности у этих микроорганизмов является ключевым фактором для разработки эффективных стратегий лечения и профилактики инфекций. Цель исследования оценка антибиотикорезистентности микроорганизмов в отделениях неонтологии медицинских учреждениях г. Волгограда. Для исследования использовались мазки из зева, кал, кровь и моча новорожденных в возрасте от 4 дней до 4 месяцев. Выделение и идентификацию микроорганизмов проводили традиционными методами. Антибиотикочувствительность определяли с помощью автоматического бактериологического анализатора «MicroScan WalkAway 40 Plus». Анализ устойчивости к антибиотикам осуществлялся на платформе AMRcloud (https://amrcloud.net/). Гены резистентности выявляли методом ПЦР. Было выделено 62 штамма различных микроорганизмов, наиболее распространенными оказались стафилококки (*Staphylococcus spp.*) – 46,77%. Все изолированные штаммы *S.aureus* продемонстрировали полную устойчивость к таким классам

антибиотиков, как линкозамиды, аминогликозиды, фторхинолоны, рифампицин и тетрациклины. Обнаружены генетические факторы устойчивости (гены mecA, ctx-M-1, tem), подтверждающие широкое распространение антибиотикоустойчивых штаммов. Исследование показало высокую частоту выявления антибиотикорезистентных патогенов, преимущественно *S.aureus*, среди младенцев в неонатальных отделениях Волгограда. Это подчеркивает необходимость разработки инновационных подходов к лечению и профилактике инфекций. Кроме того, было отмечено преобладание экспрессии генов устойчивости типов tem, ctx-M-1 и mecA.

E-mail: slava.kosov.1999@bk.ru

ВОЗБУДИТЕЛИ КОЛИБАКТЕРИОЗА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ – УГРОЗА ЗДОРОВЬЮ НАСЕЛЕНИЯ

Кузнецова М.В., Кочергина Д.А., Михайловская В.С.

Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук – филиал Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук, Пермь

Агропромышленные комплексы являются «горячими точками» загрязнения окружающей среды и включены в число опасных угроз здоровью населения. Сельскохозяйственные животные и птица могут быть источником многих патогенных для человека микроорганизмов. Эшерихиозы занимают ведущее место в нозологическом профиле неонатальной патологии крупного рогатого скота и падежа цыплят-бройлеров, а представители различных патотипов *Escherichia coli* могут стать причиной острых кишечных инфекций и гнойно-септических заболеваний человека. Многолетние исследования возбудителей колибактериоза (культур, выделенных от здоровых, больных и падших животных, а также из побочных продуктов животноводства) позволили охарактеризовать патогенный и трансмиссивный потенциал эшерихий, циркулирующих на промышленных предприятиях Пермского края, и оценить риски здоровью населения. Выявлена широкая распространенность представителей диареегенной *E. coli* (DEC), в том числе – продуцирующих шига-подобные токсины (STEC), и энтероинвазивной *E. coli* (EIEC), а также внекишечной патогенной *E. coli* (ExPEC). Обнаружены клоны высокого риска патогенной для птиц *E. coli* (APEC), гибридные и гетеропатогенные эковары *E. coli*, сочетающие гены, ассоциированные с разными патотипами. Индекс множественной антибиотикорезистентности (MARI) штаммов из разных источников животноводческих хозяйств оказался ниже (0,114-0,135), чем у бактерий птицефабрик (0,397-0,454), что указывает на высокий риск распространенности антибиотикоустойчивости в последних. *E. coli* часто несли комбинации генов бета-лактамаз, а также гены, обусловливающие устойчивость к тетрациклину, фторхинолонам и хлорамфениколу. Культуры с фенотипом множественной лекарственной устойчивости чаще содержали интегроны, бактериофаги и конъюгативные плазмиды. Эффективность внутривидового конъюгативного переноса была высокой. При этом способность передавать (донорная функция) и получать (реципиентная функция) плазмиды у штаммов, изолированных из разных источников, различалась. Данные исследования показали, что сельскохозяйственные животные, птица и побочные продукты являются резервуаром мультирезистентных патогенных *E. coli* с высоким трансмиссивным потенциалом, представляющих угрозу для здоровья людей.

Работа финансировалась за счет средств РНФ, грант №24-24-20048 Пермский край, https://rscf.ru/en/project/24-24-20048.

E-mail: mar@iegm.ru

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ СИСТЕМЫ СВЕТЛЯКА *LUCIOLA MINGRELICA* В БИОМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Ломакина Г.Ю., Угарова Н.Н.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет, Москва

Разработаны научные подходы и предложена методология для создания универсальных биолюминесцентных тест-систем на основе рекомбинантной люциферазы светляка *Luciola mingrelica* с использованием библиотеки мутантов с измененными физико-химическими характеристиками. Биолюминесцентные тест-системы на основе живых прокариотических и эукариотических клеток, продуцирующих термостабильную люциферазу светляков приобретают все большую популярность благодаря их высокой чувствительности и быстроте проведения анализа. Метод незаменим для быстрой оценки цитотоксичности и скрининга лекарственных препаратов. Два биолюминесцентных внутриклеточных индикатора – низкомолекулярный АТР, мгновенно реагирующий на внешние воздействия, и высокомолекулярная термостабильная люцифераза светляка использованы для изучения клеточного ответа во времени уже на начальной стадии действия эффектора. Анализ кинетики изменения внутриклеточного и внеклеточного АТР и люциферазы уже через 2-4 ч позволяет выявлять изменения проницаемости клеточной мембраны, системы синтеза АТР и функционирования рибосом. Это удобный инструмент для изучения механизмов адаптации, выживания и гибели клеток и органелл в присутствии внешних эффекторов физико-химической природы (температура, лекарственные препараты, мембраноактивные соединения и др.), для изучения эффективности и механизма действия лекарственных средств, композиций и лекарственных форм, а также определения МИК. Приведены примеры количественного определения живых клеток, в том числе некультивируемых и медленнорастущих, по содержанию внутриклеточного АТР; специфического выявления патогенов методом биолюминесцентного иммуноанализа; определения эффективности м механизма действия антибиотиков разных классов и их композиций с матрицами неорганической природы на живые системы.

Работа выполнена в рамках государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова (тема № 121041500039-8).

E-mail: lomakinagalina@yahoo.com,

ОСОБЕННОСТИ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ *K. PNEUMONIAE* К АНТИБИОТИКАМ В СМЕШАННЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ И ГРИБКОВО-БАКТЕРИАЛЬНЫХ КОНСОРЦИУМАХ

Миронова А.В., Фирсова М.Ю., Мадумарова Э.Р., Тризна Е.Ю., Каюмов А.Р.

ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань

Последние исследования свидетельствует, что инфекционные заболевания вызываются несколькими патогенными микроорганизмами, которые формируют смешанные сообщества между собой и резидентной микрофлорой человека. Для *K. pneumoniae* часто диагностируется ассоциация с *S. aureus* и *C. albicans*, которая коррелирует с более тяжелым течением заболевания. В смешанных биопленках наблюдалось изменение биохимического состава матрикса по сравнению с монокультурами. При сочетании K. pneumoniae с S. aureus, образовывалась плотная биопленка, тогда как в моновидовой, структура была более рыхлая.

В биопленке *K. pneumoniae – C. albicans* превалирует *C. albicans*, бактерия располагается в промежутках между клетками гриба. Проницаемость биопленки смешанных сообществ *S. aureus – K. pneumoniae* и *C. albicans – K. pneumoniae* снижалась для гентамицина по сравнению с биопленкой K. pneumoniae. При этом чувствительность к гентамицину повышалась. Для сообществ *S. aureus – K. pneumoniae* и *C. albicans – K. pneumoniae* проницаемость ципрофлоксацина и цефтазидима не изменялась по сравнению с *K. pneumoniae*, что коррелировало с отсутствием изменения чувствительности этих сообществ к данным антибиотикам. Таким образом, в составе смешанного сообщества, метаболизм *K. pneumoniae* может меняться и наблюдается перемена биохимического состава и структуры матрикса. Кроме того, смена метаболизма может быть связана с эффектами взаимодействия микроорганизмов в сообществе.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (проект № 24-14-00194)

E-mail: amironova2019@mail.ru

ПЕРВИЧНАЯ АДАПТАЦИЯ *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS IN VITRO* К ДЕЙСТВИЮ АРОИЛГИДРАЗОНОВ

Мокроусов[1] И.В., Ангелова[2] В.Т., Полев[1] Д.Е., Вылчева[3] В.

[1] НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия
[2] Фармацевтический факультет, Медицинский университет, София, Болгария
[3] Институт микробиологии им. Стефана Ангелова - БАН, София, Болгария

Для лечения пациентов, инфицированных штаммами Mycobacterium tuberculosis с множественной/широкой лекарственной устойчивостью, требуются новые препараты. При этом уже на начальном этапе разработки желательно понимать возможный механизм формирования устойчивости, и анализ искусственно полученных устойчивых мутантов – наиболее быстрый способ. Нашей целью было изучить первичный ответ *M. tuberculosis in vitro* на действие новых на потенциальные противотуберкулезные соединения, которые находятся в процессе лабораторной разработки. Референс-штамм M. tuberculosis H37Rv культивировали на плотной среде с соединениями в повышенных (4-10 раз) концентрациях относительно МИК. Устойчивые клоны были исследованы с помощью полногеномного секвенирования, с последующим биоинформатическим анализом для оценки роли и возможного воздействия мутаций. Результаты. Были получены спонтанные мутантные клоны, устойчивые к повышенным концентрациям новых производных ароилгидразонов. Выявленные мутации представляли собой однонуклеотидные полиморфизмы, длинные или короткие вставки/делеции в кодирующих последовательностях или в межгенных областях. Ряд мутаций, оцененных in silico как значимые, находились в существенных генах и представляют особый интерес. Полученные клоны, устойчивые к десятикратным относительно МИК концентрациям ароилгидразонов, содержали как значимые несинонимичные замены, так и инактивирующие мутации сдвига рамки в различных существенных генах. При этом выявленные мутантные гены (*ppgK, mmpS2, glpK, Rv3755c, spoU)* не связаны сетью взаимодействий, то есть относятся к разным метаболическим путям. В частности, сдвиг рамки считывания произошел в *Rv2702/ppgK* (связан с толерантностью к лекарственным препаратам в мышиной модели экспериментального туберкулеза) и *Rv3696c*/*glpK* (дополнительная инсерция C в участке CCCCCCCC, ранее описанная как мутация включения/выключения гена, и связанная с лекарственной толерантностью). Например, инактивирующая мутация (инсерция C в участке CCCCCC) в гене *glpK* была ранее описана как приводящая к образованию небольших колоний с медленным ростом, а также увеличению МИК к разным антибиотикам. Известно, что наряду с активацией

эффлюксных насосов снижение скорости роста как раз и является одним из ключевых ответов *M. tuberculosis* на лекарственное давление. В другом устойчивом клоне была обнаружена мутация сдвига рамки в гене *ppgK,* который кодирует полифосфат-глюкокиназу. PpgK вероятно, связан с лекарственной толерантностью, вызванной голоданием, и с персистенцией *M. tuberculosis* у мышей. Интересно, что протеин PpgK расположен в сети белковых взаимодействий, включающей и крайне важный фактор инициации транскрипции SigA, с которым PpgK связан не только соседством на хромосоме, но и коэкспрессией. Инактивация *ppgK*, вероятно, полезна для выживания микобактерий, поскольку она может гипотетически активировать более общую реакцию на стресс, косвенно приводя к толерантности. Первичный ответ *M. tuberculosis* на селективное давление изучаемых соединений – сложный и многогранный. Он включает в себя множество неродственных генов и путей, связанных с неспецифическими механизмами толерантности (системы активного выброса, снижение скорости роста). Кратковременное (в течение одного месяца) действие *in vitro* на медленно растущие *M. tuberculosis* в основном ведет к появлению мутаций, которые противодействуют внешнему стрессу.
Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РНФ 24-44-00004.

E-mail: imokrousov@mail.ru

АНТИМИКРОБНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ НОВОГО ИЗОЛЯТА *BDELLOVIBRIO BACTERIOVORUS* SP. LR3 И ВОЗМОЖНОСТИ ЕГО ПРИМЕНЕНИЯ В КАЧЕСТВЕ БИОЛОГИЧЕСКОГО АГЕНТА ДЛЯ БОРЬБЫ С БАКТЕРИАЛЬНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ

Поливцева[1] В.Н., Шорохова[1] А.П., Абашина[1] Т.Н., Сорокин[2] В.В., Решетников[1] А.С., Делеган[1] Я.А., Зимин[1] А.А., Сузина[1] Н.Е.

[1]ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН» (Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, Пущино
[2]ФИЦ «Биотехнология» РАН, Москва

Распространение антибиотико-резистентных возбудителей инфекций является опасной и все возрастающей тенденцией. В качестве одного из методов борьбы с болезнетворными бактериями можно рассмотреть применение хищных бактерий *Bdellovibrio*. Эти бактерии способны уничтожать патогенные микробы, не причиняя вреда клеткам эукариот.
Из воды реки Любожиха был выделен новый изолят – штамм LR3, отнесённый к грамотрицательным бактериям *Bdellovibrio bacteriovorus*. Клетки штамма LR3 представляют собой вибрионы 0,5–1,5 × 0,2–0,3 мкм, обладают одним полярно расположенным длинным жгутиком. Исследования бинарной культуры клеток шт. LR3 и *Escherichia coli* C600 показали способность шт. LR3 продуцировать множество крупных везикул с гетерогенным содержимым. Везикулы располагались как на поверхности клетки шт. LR3 (чаще всего на полюсах), так и вдоль жгутика. Размер везикул достигал до 0,16 мкм в диаметре. Элементный состав содержимого везикул характеризовался высоким содержанием фосфора и кальция.
Для штамма LR3 был определён круг бактерий-жертв. В качестве потенциальных жертв могут выступать представители родов *Escherichia*, *Pseudomonas* и *Alcaligenes*. Исследованы жизненные циклы *Bdellovibrio* sp. LR3 в условиях роста в смешанной культуре с *P. tolaasii* (грибным патогеном) и с *E. coli* C600. Определены оптимальные условия инициации их антагонистического взаимодействия: температура 30°C и нейтральный уровень pH.
Проведен анализ полного генома штамма LR3, размер генома составляет 3,8 Мб, в геноме обнаружено множество генов гидролаз (в том числе муреин гидролаз), пептидаз, деацетилаз.

Способность уничтожать или подавлять рост бактерий, вызывающих заболевания у грибов, растений и животных, делает новый изолят *Bdellovibrio* sp. LR3 перспективным для использования в качестве «живого антибиотика» для борьбы с широким спектром бактериальных патогенов.
Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-64-00017, https://rscf.ru/project/24-64-00017/.

E-mail: v.polivtseva@pbcras.ru

ИНТЕРФЕРОН-А2В И ЭНДОЛИЗИН GRC-ML07 ПРОТИВ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*: НОВАЯ СТРАТЕГИЯ ТЕРАПИИ ИНФИЦИРОВАННЫХ РАН ПРИ ИММУНОДЕФИЦИТЕ

Слонова[1] Д.А., Абдулкадиева[1,2] М.М., Антонова[1] Н.П., Собянин[1,3] К.А., Литвиненко[4] В.В., Паршина[1] О.В., Гусева[1] Т.С., Домнин[1] П.А., Васина[1] Д.В., Сысолятина[1] Е.В.

[1] Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного акад. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва
[2] Объединенный институт высоких температур РАН, Москва
[3] Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва
[4] Московский физико-технический институт, Москва

Эффективное заживление инфицированных ран при иммунной супрессии представляет собой важную клиническую и микробиологическую задачу. Нарушение иммунного ответа приводит к удлинению фазы воспаления и ухудшает прогнозы по элиминации микроорганизмов, способствуя персистенции инфекции и хронизации ран. Особую угрозу представляют раневые инфекции, вызванные мультирезистентными штаммами *Pseudomonas aeruginosa*. Целью работы является оценка антибактериального и ранозаживляющего потенциала комбинированной терапии рекомбинантным интерфероном-α2b и антимикробным препаратом эндолизином GRC-ML07 в условиях иммунной супрессии. В работе использовали самцов мышей линии BALB/c (≥22 г). За 72 ч до нанесения ран животным вводили внутрибрюшинно циклофосфамид (1200 мкг/мышь). Полнослойные кожные раны инфицировали мультирезистентным штаммом *P. aeruginosa* 21 (10^7 КОЕ/рана) и фиксировали кольца, предотвращающие контрактуру. Животные были распределены на пять групп: 1) контроль с иммунной супрессией без терапии; 2) интерферон-α2b (100 мкл, 4×10^7 МЕ/мл, 2 р/сут, 4 дня); 3) эндолизин GRC-ML07 (100 мкл, 1 мг/мл, 2 р/сут, 4 дня); 4) комбинация с нанесением интерферона-α2b и эндолизин GRC-ML07 (1 р/сут, утром интерферон, через 8 ч эндолизин, 4 дня); 5) контроль без иммунной супрессии. Проводили микробиологическую, гистологическую, цитологическую оценку состояния ран на 4, 7, 14 и 21 день терапии. При использовании интерферона в качестве иммуномодулирующего препарата было установлено усиление местной воспалительной реакции в стадии воспаления, что выражалось в усиленной лейкоцитарной инфильтрации раневого ложа. Применение комбинированной терапии интерферона с эндолизином обладало выраженным клиническим и антибактериальным эффектом: к 4 дню бактериальная обсемененность ран снижалась на 2 порядка по сравнению с контролем с иммунной супрессией, к 7 дню поверхность ран полностью покрывалась сухим струпом, уровни ИЛ-6, ИЛ-17А, ИЛ-1β, ФНО-α и ГМ-КСФ в струпах достоверно снижались и соответствовали таковым в группах без иммунной супрессии. Применение комбинации интерферона и эндолизина GRC-ML07 к 14 дню наблюдения приводило к активной эпителизации ран. Таким образом, результаты демонстрируют синергетический эффект иммуномодулирующего и антибактериального

компонентов, обеспечивающий противомикробный эффект, модуляцию воспаления и ускорение репарации на фоне иммунной супрессии.

E-mail: darya.a.slonova@gmail.com

МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

ПОСТЕРНЫЕ ДОКЛАДЫ

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ НАНОКЛАСТЕРОВ СЕРЕБРА НА РЕЗИСТЕНТНОСТЬ БАКТЕРИЙ К АНТИБИОТИКАМ И ТЯЖЕЛЫМ МЕТАЛЛАМ

Астанкова[1,2] А.С., Филипьечева[1] Ю.А., Чумаков[1] Д.С., Бурыгин[1,2] Г.Л.

[1]Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ «Саратовский научный центр РАН», Саратов
[2]Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов

Бактерии, обладающие множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ), представляют собой серьёзную проблему в современном мире. Анализ устойчивости бактерий к тяжелым металлам и антибиотикам показал, что 10 штаммов родов *Ochrobactrum, Acinetobacter, Pseudomonas, Kocuria* и *Staphylococcus* устойчивы к меди (II) при концентрации 1 мМ. Наибольшую чувствительность к меди проявили бактерии рода *Azospirillum* и некоторые штаммы Enterobacter. Катионы кадмия были более токсичны, чем медь, и только 4 штамма имели значение EC50 > 1 мМ. Бактерии рода *Acinetobacter* и *Azospirillum* были наиболее чувствительны к кадмию. Все 20 исследованных штаммов оказались устойчивыми к цинку (II), кроме 5 штаммов *Azospirillum.* Катионы серебра оказались наиболее токсичными, и ни один штамм не был устойчив к нитрату серебра, кроме 5 умеренно-устойчивых штаммов.
В отношении антибиотиков, все штаммы *Enterobacter, Pseudomonas, Kocuria* и *Acinetobacter* были устойчивы к эритромицину, в то время как штаммы рода Azospirillum были чувствительны. Штаммы *Ochrobactrum, Bacillus, Paenibacillus* и *Staphylococcus* имели умеренную устойчивость. На основе этих данных были выбраны контрастные штаммы для дальнейших исследований. В среду культивирования штаммов, различающихся по устойчивости к каждому из токсикантов, добавляли раствор нанокластеров серебра ($d \approx 2{,}2$ нм), стабилизированных L-глутатионом, (5 нг Ag/мл). В процессе роста бактериальных культур оценивали уровень снижения устойчивости к токсикантам. Добавление нанокластеров серебра в среду культивирования снижало резистентность устойчивых к меди и эритромицину штаммов и не влияло на бактериальную устойчивость к кадмию и серебру. Таким образом, можно сделать вывод, что в формировании резистентности исследованных нами бактерий к меди и эритромицину участвуют белковые системы эффлюкса, содержащие белки TolC семейства, которые инактивируются нанокластерами серебра, в отличие от систем резистентности к кадмию и серебру.
Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-24-00520, https://rscf.ru/project/24-24-00520/.

E-mail: asastankova@gmail.com

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЛИСАХАРИДА *PLEUROTUS OSTREATUS*

Бабичева О.О., Карпунина Л.В.

ФГБОУ ВО Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова, Саратов

Большинство микроорганизмов со временем приобретают устойчивость к действию антибиотиков, что ведет к поиску новых биологически активных веществ против устойчивых форм бактерий. Базидиомицеты имеют в своём составе целый ряд биологически активных веществ, среди которых особое место отводится полисахаридам, обладающим механизмами противомикробного действия. Синтезированный *Pleurotus ostreatus* Р-88 полисахарид, по результатам газовой хроматографии, состоит из глюкозы, маннозы, галактозы, обладает антиоксидантными, эмульгирующими свойствами. Изучение антимикробной активности методом агаровых блоков в нашей модификации показало, что полисахарид *P. ostreatus* Р-88 проявлял бактериостатическое действие в отношении *Pseudomonas aeruginosa* ХАВС 02, *Staphylococcus aureus* АТСС-6538 (209-Р), *Listeria monocytogenes* 56 М-120. В отношении *Bacillus megaterium* и *B. coagulans* активность ПС не была обнаружена. Полученные результаты позволяют рассматривать использование полисахарида *P. ostreatus* Р-88 в перспективе для разработки противомикробных препаратов.

E-mail: olesya.sultanova.98@mail.ru

ПРОБИОТИКИ НА МИНЕРАЛЬНОМ НАНОНОСИТЕЛЕ ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ПОСЛЕ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ

Вагин[1,2] К.С., Курди[1] У., Яковлева[1] Г.Ю., Колпаков[1] А.И., Ильинская[1] О.Н.

[1]Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Казань
[2]Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань

Радиотерапия (РТ) является одним из основных методов лечения рака. Около 30–50 % больных раком получают облучение в виде монотерапии, либо в сочетании с химиотерапией и хирургическим вмешательством. Истощение бактериального микробиома, вызванное антибиотиками, приводит к снижению гибели опухолевых клеток после РТ. Пробиотики показали многообещающий потенциал в предотвращении прогрессирования рака. Для восстановления микробиоты кишечника используются лиофилизаты *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* в капсулах, которые частично предотвращают биодеградацию пробиотиков в ЖКТ. Однако высвобождение лиофилизатов из капсул происходит практически сразу после попадания в желудок. Целью работы стало подтверждение возможности восстановления микробиома лабораторных мышей, подвергнутых облучению, с помощью препарата лактобацилл на минеральном носителе, клиноптилолит-содержащей породе с детоксикационной, антиоксидантной и противовоспалительной активностями. Для моделирования острой лучевой болезни животных подвергали однократному облучению на гамма-установке ГУБ-20 с радионуклидным источником цезий-137. Образцы носителя с бактериями анализировали на сканирующем микроскопе Hitachi HT7700 Exalens. Двумерные изображения получали на микрофокусной рентгеновской установке для компьютерной томографии General Electric V|tome|XS240 и обрабатывали в программе Avizo. Метагеномный анализ бактериального сообщества проводили в фекалиях мышей до облучения, после него, и после восстановления препаратом. Обработка и анализ выполнены с использованием

конвейера Mothur на платформе Galaxy. Высокотемпературная и спиртовая обработка приводят к деалюминизации клиноптилолита, освобождению его от органических веществ и уменьшению количества микропор, что способствует сорбции и пролонгированному выходу бактерий с последующей адсорбциии в ЖКТ. На уровне филума *Firmicutes* по сравнению с контролем препарат увеличивает количество *Ruminococcaceae* и *Peptostreptococcaceae.* Облучение приводит к снижению этих таксонов, вплоть до полной элиминации *Peptostreptococcaceae*, а также *Lactobacillaceae*; возрастает содержание *Clostridiaceae* и *Butyricicoccaceae.* Препарат снижает их количество и восстанавливает содержание *Lactobacillaceae*. Разработан органоминеральный комплекс, сочетающий пробиотическую и детоксикационную активность для последующего использования в клинике. Препарат восстанавливает кишечный микробиом после РТ, что подтверждают перспективность его использования.

Исследование поддержано грантом РНФ 24-14-00059

E-mail: Ilinskaya_kfu@mail.ru

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ И ГЕНОТИПИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА МИКС-КУЛЬТУР *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* СРЕДИ БОЛЬНЫХ ВИЧ-АССОЦИИРОВАННЫМ ТУБЕРКУЛЕЗОМ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ

Герасимова[1] А.А., Вязовая[1] А.А., Майская[2] М.Ю., Пантелеев[3,4] А.М., Мокроусов[1] И.В.

[1] НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург
[2] Городское патологоанатомическое бюро, Санкт-Петербург
[3] Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова, Санкт-Петербург
[4] Городской противотуберкулезный диспансер, Санкт-Петербург

Цель исследования изучить распространенность инфицирования несколькими штаммами («микс-культурами») *Mycobacterium tuberculosis* среди больных с ВИЧ-ассоциированным генерализованным туберкулезом в Санкт-Петербурге и сравнить соотношение генотипов в составе микс-культур и «чистых» культур *M. tuberculosis*. Были исследованы 173 изолята *M. tuberculosis* из аутопсийного материала 70 больных, умерших от ВИЧ-ассоциированного генерализованного туберкулеза в 2012-2018 гг. в Санкт-Петербурге. Принадлежность к генотипу Beijing определяли при помощи ПЦР; изоляты Beijing типировали методом IS*6110*-RFLP. Изоляты non-Beijing сполиготипировали и сравнивали с базой данных SITVIT2. За инфицирование микс-культурой принимали случаи, когда изолят, выделенный хотя бы из одного пораженного органа, мог быть отнесен к двум разным генотипам, либо из тканей разных органов выделялись изоляты *M. tuberculosis*, относящиеся к разным генотипам или субтипам. От 15 больных с микс-инфицированием (21,4%) было выделено 42 изолята *M. tuberculosis*. От 55 больных без микс-инфицирования был выделен 131 изолят. В обеих группах преобладали изоляты генотипа Beijing (55% и 70,2%; p=0.0413). В обеих группах присутствовали изоляты генотипов LAM, Ural, Haarlem, T и X; в первой группе значимо преобладал генотип LAM (31,7% против 6,9%; p <0.0001). Распространенность микс-культур *M. tuberculosis* среди больных с ВИЧ-ассоциированным генерализованным туберкулезом в Санкт-Петербурге составила 21,4%, что соответствует данным для стран с высоким бременем туберкулеза. Различия в соотношении генотипов в составе микс-культур и «чистых» культур могут быть связаны с высокой вирулентностью изолятов Beijing, а также с более высокой вирулентностью микс-культуры LAM+Beijing в сравнении с «чистой» культурой LAM.

Необходимы более масштабные исследования, в том числе патогенеза заболевания, вызываемого «чистыми» и микс-культурами.
Исследование выполнено при поддержке гранта РНФ 24-44-00004.

E-mail: kantarelle@mail.ru

КОМПЛЕКС ТОМАТА И КЛЮКВЕННОГО СОКА В ОТНОШЕНИИ БИОПЛЕНОК И ЗУБНОГО КАМНЯ

Задорина И.И., Каюмов А.Р.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань

Колонизация ротовой полости патогенной микрофлорой инициирует формирование зубного налета. Доминирование анаэробных бактерий, ферментативная деградация углеводов с образованием адгезивных полисахаридов и последующее уплотнение налета создают условия для минерализации (осаждения кристаллов $Ca_3(PO_4)_2$) и образования зубного камня. Неудаленный камень провоцирует гингивит, пародонтит, деструкцию костной ткани и одонтогенные инфекции, что подчеркивает актуальность своевременной профилактики и терапии. Для получения томатной пасты, плоды томатов промывали, гомогенизировали и центрифугировали. Жидкую фракцию концентрировали выпариванием, смешивали с густой фракцией, получая томатную пасту. Клюквенный сок получали аналогично, используя только жидкую фракцию после центрифугирования. Смесь томатной пасты и клюквенного сока (1:1) доводили до однородности. Исследование антибактериальной активности проводили в отношении клинических изолятов *Streptococcus mutans, Streptococcus sobrinus* и штамма *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 в биопленках. Бактерии культивировали 2 сут при 37°C в среде BM (пептон, глюкоза, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, $CaCl_2$) с 5% й фетальной бычьей сывороткой (FBS) в адгезивных пластиковых чашках (35 мм) с 3 мл культуры начальной плотностью 3×107 КОЕ/мл. После удаления культуральной жидкости добавляли 10%-й раствор томатной пасты и смеси томатной пасты с клюквенным соком. Контрольные образцы содержали 0,9%-й NaCl Живые и мёртвые клетки дифференцировали флуоресцентным окрашиванием и анализировали методом конфокальной микроскопии. Для оценки разрушения зубного камня, образцы камня обрабатывали томатной пастой, её смесью с клюквенным соком и 0,9% NaCl (контроль), инкубируя при 37°C 5, 10, 20, 25 сут. Оценку проводили фотодокументацией и измерением площади зубного камня с помощью программы «ImageJ». Исследование противомикробной активности фитоэкстрактов томата и комплекса томатной пасты с клюквенным соком показало, что 10% раствор комплекса томатной пасты с клюквенным соком продемонстрировал высокую противомикробную активность (гибель бактериальных клеток, о чем свидетельствует красная флуоресценция). Наиболее чувствительными оказались *S. mutans* и *S. sobrinus*, а также деминерализующий эффект на зубной камень (до 86% через 20 сут). Эффективность комплекса значимо превосходила изолированную томатную пасту и контроль (NaCl 0.9%). Томатно-клюквенный комплекс проявляет высокую антибактериальную активность и деминерализующий эффект.
Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности. Проект № FZSM-2025-0003.

E-mail: iva.zadorina@yandex.ru

ПЛАЗМИДА ГРУППЫ НЕСОВМЕСТИМОСТИ P-7 КОНТРОЛИРУЕТ НЕСПЕЦИФИЧЕСКУЮ УСТОЙЧИВОСТЬ К ТЕТРАЦИКЛИНУ ШТАММА-ХОЗЯИНА

Измалкова Т. Ю., Грановский И.Э., Сазонова О.И., Соколов С.Л., Кошелева И.А.

ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН», Пущино

Плазмида pD4A-46 размером 150 т.п.н. была обнаружена в мультирезистентном штамме *Pseudomonas fluorescens*, изолированном с песчано-грунтового покрытия детской площадки г. Пущино, и отнесена к α-подгруппе IncP-7 на основании анализа её нуклеотидной последовательности. Несмотря на то, что данная плазмида не содержит известных генов антибиотикорезистентности, коньюгационный перенос pD4A-46 в бесплазмидный штамм *P. putida* KT2442 обеспечил устойчивость трансконьюгантов к тетрациклину в концентрации в среде 30 мкг/мл. Проанализирован уровень экспрессии генов-кандидатов, предположительно ответственных за резистентность штамма-хозяина pD4A-46 к тетрациклину, в клетках штамма реципиента *P. putida* KT2442 (pD4A-46) при выращивании в присутствии тетрациклина и без него. Уровень экспрессии оценивали по количественному содержанию специфических мРНК в клетках методом ПЦР-РВ. В качестве референсных маркеров в геноме были выбраны гены домашнего хозяйства: *rpoD* и *kdpA*. В результате анализа был составлен профиль экспрессии исследуемых генов в зависимости от наличия тетрациклина в среде и отмечены возможные кандидаты на роль детерминант устойчивости к тетрациклину. Анализ изменения относительного содержания мРНК в клетках, выращенных в присутствии различных концентраций тетрациклина позволил сделать вывод о влиянии на устойчивость *P. putida* KT2442 (pD4A-46) к тетрациклину следующих систем: токсин-антитоксин II типа ChpB/ChpS, OPC X/GNAT и ассоциированной с мембраной фосфолипид фосфатазы. Возможно, что данная устойчивость является неспецифической и обеспечивается совместной работой всех трёх систем, локализованных на плазмиде pD4A-46.

E-mail: tatiz@pbcras.ru

ПЕРСПЕКТИВНЫЙ МЕТОД ЭКСПРЕССНОГО ТУРБИДИМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ БАКТЕРИОЛИТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ МОЛОКА

Левашов П.А.

ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет, Москва

В молоке присутствуют антибактериальные факторы лизоцим и лактоферрин. Уровни этих факторов могут быть диагностически значимыми параметрами при определении патологических состояний молочной железы, а также коррелировать с иммунно-защитным и питательным качеством молока. В настоящее время данные факторы измеряют относительно сложными и дорогостоящими методами, такими как иммуноферментный анализ и высокоэффективная хроматография. Измерение данных антибактериальных факторов не является широко применяемым. Активный лизоцим можно также измерять турбидиметрически по скорости лизиса бактерий *Micrococcus luteus*, однако данный метод в случае молока требует разработки пробоподготовки. Относительно недавно было обнаружено, что активный трансферрин, в том числе лактоферрин также можно измерять турбидиметрически по скорости лизиса бактерий, используя клетки *Escherichia coli* и *Priestia megaterium*. В работе использовали рекомбинантный человеческий лизоцим (Sigma Aldrich,

США); Tris (Amresco, США); HCl, NaCl, NaOH (Panreac, Испания); глюкоза (Rokett Frer, Франция); дрожжевой экстракт (Biospringer, Франция); бактотриптон, бактоагар (BD Difco, США). Культуры *E. coli* KS-507 (линии K-12) (B-3254) и *P. megaterium* штамм ATCC 14581 (B-9869) получены из Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (НИЦ "Курчатовский институт", Россия). *M. luteus* ATCC 4698 получен пересевом лиофилизированного препарата (Sigma Aldrich, США). Растворы готовили на бидистиллированной воде. Образцы молока коров и коз получены из фермерских хозяйств Московской и Нижегородской областей. Образцы молока центрифугировали 10 мин при температуре 20°C при 12100 g на центрифуге Minispin (Eppendorf, Германия), отбирали среднюю часть раствора пробирки, не затрагивая осадок и верхний слой жира, затем препарат фильтровали через нейлоновые фильтры с диаметром пор 0,45 и 0,22 мкм. Измерение скорости падения поглощения суспензии бактерий при длине волны 650 нм при добавлении препаратов проводили на спектрофотометре UV-1800 (Shimadzu, Япония) при температуре 37°C в среде 10 мМ Трис-HCl pH 8,0 с добавлением NaCl 30 мМ. Количество лизоцима и лактоферрина выражали в условных единицах в расчёте на стандарт человеческого лизоцима. На основании расчётов по измерению бактериолитической активности на двух субстратах *M. luteus* (муромидазная активность) и *E. coli* и *P. megaterium* (суммарная активность) определили для различных образцов условное количество лизоцима и лактоферрина. Метод апробирован для разных образцов молока и может применяться как для медицинской/ветеринарной диагностики.
Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ проект № 25-26-00144.

E-mail: levashov@yahoo.com

ФЕНОМЕН ГРАМИЦИДИНА С

Маланичева И.А.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе», Москва

История открытия природного антибиотика грамицидина С (ГС) в 1942 г. Г.Ф. Гаузе (1910-1986) и М.Г.Бражниковой (1913-1998) хорошо известна и стала хрестоматийной. Его химическая структура (циклический декапептид) была установлена сначала с участием советских ученых А.Н.Белозерского (1905-1972) и Т.С Пасхиной (1917-1996), а затем англичан – двух лауреатов Нобелевской премии, Р.Синджа (1914-1994) и Д.Ходжкин (1910-1994), и премьер-министра Великобритании М.Тэтчер (1925-2013). Поскольку ГС стал первым антимикробным циклическим пептидом, то он хорошо изучен: установлен кластер генов его биосинтеза, определён мембранолитический механизм действия, который, несмотря на высокую эффективность, ограничивает применение ГС из-за гемолитической токсичности. Химическая структура ГС – двойной повтор («голова к хвосту») из пяти аминокислот валина, орнитина, лейцина, d-фенилаланина, пролина - была определена в 1940-50 гг, позже разработан полный химический синтез ГС. Несмотря на исчерпывающую информацию о ГС, собранную за 83 года его применения, сегодня он привлекает острое внимание учёных, причина которого заключается в феномене сохранения им своей антимикробной активности, что является редким исключением в ряду большинства антибиотиков, утративших активность по причине выработки патогенами устойчивость к ним. Поэтому сейчас ГС рассматривается как основа для синтеза антимикробных пептидов нового поколения с низким риском развития к ним устойчивости, с улучшенными терапевтическими свойствами и эффективностью в борьбе с устойчивыми патогенами. Изучается взаимосвязь между структурой и активностью ГС, делаются попытки на основе d-

аминокислот (в молекуле ГС наряду с общей стереохимией именно d-фенилаланин считается основным фрагментом, обеспечивающим антимикробное действие антибиотика) моделировать новые активные и менее гемолитичные структуры.

E-mail: malanicheva.irina@yandex.ru

ВЫЯВЛЕНИЕ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА МЕТОДОМ ПОЛЯРИЗАЦИИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ (FPA)

Мухаметова[1] Л.И., Жердев[1] Д.О., Еремин[1] С.А., Скляров[2] О.Д.

[1]Химический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва
[2]ФГБУ «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов», Москва

Бруцеллёз – это инфекционное зоонозное заболевание наносит существенный экономический ущерб сельскому хозяйству. Лечение инфицированных животных не эффективно, а профилактические меры имеют ограниченную действенность. Раннее выявление заболевания позволяет предотвратить дальнейшее распространение инфекции и снизить потери. Целью работы было продемонстрировать возможность применения FPA для диагностики бруцеллеза у крупного рогатого скота (КРС). Образцы сывороток здоровых и больных КРС (№100). Сыворотки протестированы РА, РСК, РБП и ELISA (БиоК, Россия). Получен OPS-FITC (О-антиген из *B.Abortus).* Образцы сывороток анализировали FPA, FP измеряли с помощью портативного прибора Sentry-200 (Ellie, США). Получен, очищен и охарактеризован конъюгат OPS-FITC. Проверено связывание OPS-FITC с коммерческими положительными и отрицательными сыворотками КРС. Показано, что положительные сыворотки при добавлении OPS-FITC дают высокие значения FP сигнала, что говорит о наличии высокоспецифичных антител, в то время как отрицательные значительного увеличения сигнала не показывают. Время анализа составляет 2 мин. Контрольная лейкозная сыворотка не давала увеличения FP сигнала. Были протестированы образцы испытуемых сывороток (№100) методами РА, РСК, РБП и показано, что 50 сывороток от больных животных и 50 – от здоровых. Затем тестировали сыворотки методами ELISA и FPA. В качестве распознающих реагентов в двух методах использован OPS, сорбированный на плашке или меченный FITC, соответственно. Для определения диагностических характеристик методов был проведен ROC-анализ с нахождением оптимального значения cut-off. Построение кривых и расчет характеристик (чувствительности, специфичности и точности) проводили с использованием программы OriginPro. Для FPA (AUC>0.9; точность=95%). Разработан высокочувствительный и быстрый FPA метод выявления бруцеллеза, который по своим характеристикам не уступает классическим методам.
Работа выполнена при поддержке государственного задания Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова 123032300028-0.

E-mail: liliya106@mail.ru

РАЗЛИЧИЯ В ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ СТАНДАРТИЗОВАННЫХ ТЕСТ-КУЛЬТУР МИКРООРГАНИЗМОВ К ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИМ АНТИБИОТИКАМ

Сериков К.П., Сергеева Ю.Д., Батаков А.Д., Шулаков А.Ю., Рахлеева А.А., Терехова В.А.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

В современных технологиях экоконтроля природных сред широко используются методы лабораторного биотестирования. Ряд стандартных методик измерения (МИ) токсичности основаны на реакциях микроорганизмов (микроводоросли, простейшие, бактерии). В данной работе приводятся данные по определению действующей концентрации ветеринарного антибиотика тилозина. Тилозин является одним из широко используемых фарм-препаратов в сельском хозяйстве. Из-за бесконтрольного применения в животноводстве, масштабы накопления антибиотиков в природных средах вызывают серьезную тревогу. Направление исследований, связанное с оценкой чувствительности стандартных тест-систем, представляется весьма актуальным и необходимым для совершенствования методов экоконтроля. Микроорганизмы – удобные компоненты биотест-систем благодаря, прежде всего, оперативности отклика на воздействия. Для исследования, были выбраны стандартизованные методики биотестирования по реакции организмов инфузорий *Paramecium caudatum,* штамма биолюминесцентных бактерий *E.coli* и микроводоросли *Scenedesmus quadricauda* из федерального реестра РФ. Эксперименты по анализу зависимости доза-эффект показали, что рассчитанные с помощью пробит-анализа полуэффективные концентрации антибиотиков $ЭК_{50}$, угнетающие на 50% тест-функции у разных микроорганизмов, существенно различаются. Так, для модельного штамма биолюминесцентных бактерий *E.coli* $ЭК_{50}$ тилозина составляет 351.17 мг/дм^3, для инфузорий *Paramecium caudatum* - >150 мг/дм^3, для микроводорослей *Scenedesmus quadricauda* - <10 мг/дм^3. Эти данные подтверждают необходимость оптимизация наборов биотест-систем для экологической экспертизы действия конкретных видов загрязняющих веществ на нецелевые организмы. В настоящее время МИ токсичности, включая проанализированные нами, необоснованно рекомендованы к применению для анализа очень широкого спектра объектов исследования, тогда как следует опираться на их специфичность.
Исследование выполнено в рамках РНФ (проект 25-24-00486).

E-mail: kpserikov2016@gmail.com

ТРАНСФОРМАЦИЯ ХОЛЕВОЙ КИСЛОТЫ КЛИНИЧЕСКИМИ ИЗОЛЯТАМИ *ESCHERICHIA COLI*

Синягина М.Н., Ахтариева А.В., Куприянова О.В., Лайков А.В., Григорьева Т.В.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань

Болезнь Крона (БК) – хроническое воспалительное заболевание, поражающее различные отделы желудочно-кишечного тракта, связанное с дисбалансом микробиоты и увеличением желчных кислот в толстой кишке. Показано, что повышенный уровень желчных кислот (ЖК) у пациентов с БК способствует увеличению численности семейства *Enterobacteriaceae*, в том числе *Escherichia coli*. Изоляты *E. coli* из кала пациента с БК (n=5), здорового добровольца (ЗД, n=1) и лабораторный штамм *E. coli* MG1655 культивировали на среде LB с 0%, 1,5% и 7,5% желчи в течение 24 ч при 37°C. Экстракцию ЖК проводили трет-метил бутиловым эфиром и анализировали на газовом хроматографе «Хроматэк-Кристалл 5000.2», совмещенном с масс-селективным детектором. Наибольшие различия в динамике росте

изолятов выявлены на среде с 7,5% желчи. Наблюдалось снижение прироста микробной массы и удлинение лаг-фазы, причем наиболее длинная фаза медленного роста у изолята от ЗД и штамма MG1655. Согласно графикам кривых роста изоляты от пациента более устойчивы к воздействию желчи. В суспензии всех изолятов идентифицированы холевая кислота (ХК) и ее производное – 7-кето-3α,12-α-дигидроксихолановая кислота, по концентрации которых проведена оценка способности изолятов к трансформации ЖК. Выявленные количественные показатели соотносятся с динамикой роста изолятов. Так, изолят пациента, окисливший наименьшее количество ХК, раньше перешел к стационарной фазе роста. А наиболее устойчивый к желчи изолят пациента трансформировал больше ХК. В гене *hdhA* изолятов не выявлено мутаций, снижающих каталитическую активность 7α-гидроксистероиддегидрогеназs, участвующей в трансформации ЖК у *E. coli*. Желчь в концентрации 7,5% угнетает рост *E. coli.* Динамика роста изолятов от пациента с БК и ЗД при культивировании на среде с желчью различается, что может быть связано с различиями в их способности к трансформации ЖК.
Работа выполнена в рамках проекта №FZSM-2023-0013 госзадания КФУ.

E-mail: marias25@mail.ru

МИКРОБНЫЕ МАРКЕРЫ ОТВЕТА НА ИММУНОТЕРАПИЮ МЕЛАНОМЫ

Строкач А.А., Захаревич Н.В., Климина К.М.

ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА России, Москва

Известно, что состав кишечной микробиоты (КМ) влияет на исход иммунотерапии меланомы. Изучение бактерий, ассоциированных с терапевтическим ответом, может заложить основу для разработки стратегий направленной модуляции КМ с целью повышения эффективности лечения. Нами были проанализированы 62 образца кала у пациентов с меланомой из России и 428 метагеномных образцов из шести общедоступных наборов данных. Все образцы были классифицированы на ответчики (О) и неответчики (НО) в соответствии с критериями RECIST. Обработка данных и таксономическая идентификация бактериальных видов выполнялись с использованием опубликованного алгоритма (Zakharevich et al., 2024). Во всех проанализированных датасетах выявлены виды, присутствующие как у О, так и у НО, но относящиеся к различным операционным таксономическим единицам (ОТЕ), что указывает на штамм-специфическое влияние микробиоты на эффективность терапии. Мы провели кросс-когортный анализ ОТЕ, встречающихся как минимум в двух независимых наборах данных и показывающих однонаправленную ассоциацию с клиническим ответом. Выявлено 527 ОТЕ, ассоциированных с исходом иммунотерапии. Из них 288 ОТЕ были связаны с отсутствием ответа, а 239 – с ответом. Примечательно, что бактерии, ассоциированные с положительным ответом на терапию, пересекались в пяти, шести или даже всех семи датасетах. В отличие от них, виды, характерные для НО, воспроизводились лишь в двух-трёх наборах данных. ОТЕ, соответствующий виду *Faecalibacterium sp900539945*, был обнаружен во всех семи когортах и ассоциировался с положительным терапевтическим ответом, как и пять других ОТЕ, пересекающихся в шести исследованиях: *Phocaeicola vulgatus, Bifidobacterium adolescentis, F. taiwanense, F. sp900539945* и *Gemmiger qucibialis*. В пяти наборах данных пересекались 32 ОТЕ, из которых только *Enterobacter ludwigii* связан с отсутствием ответа.

Полученные результаты приближают нас к идентификации клинически значимых предикторов эффективности иммунотерапии у пациентов с меланомой.
Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 23-75-10125

E-mail: alexandra.vlasova.2017@yandex.ru

АНАЛИЗ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ВЕЗИКУЛ МАКРОФАГОВ ПРИ ИНФЕКЦИИ *MYCOBACTERIUM ABSCESSUS*: ВЫЯВЛЕНИЕ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИХ СВОЙСТВ

Фомичева[1] Ю.С., Григоров[1] А.С., Скворцова[1] Ю.В., Мартини[2] Б.А., Салина[2] Е.Г., Ажикина[1] Т.Л., Быченко[1] О.С.

[1]Институт биоорганической химии им. Академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, Москва
[2]Институт биохимии им. А. Н. Баха, Москва

Mycobacterium abscessus – второй по распространенности возбудитель пневмонии среди нетуберкулезных микобактерий. Лечение инфекций осложняет его естественная устойчивость ко многим видам антибиотиков. Иммуномодулирующая терапия – один из перспективных подходов к лечению, при этом иммунные механизмы используются для усиления действия антимикробных препаратов. Инфицирование макрофагов внутриклеточными бактериями индуцирует секрецию внеклеточных везикул (160 нм), содержащих компоненты фагоцитов и бактерий, и играющих роль в иммунорегуляции. Изучение состава и иммуномодулирующих свойств везикул, секретируемых макрофагами при заражении *M. abscessus*, а также механизмов взаимодействия бактерий и иммунной системы хозяина представляют собой важную научно-прикладную проблему. Макрофаги RAW 264.7 инфицировали *Mycobacterim abscessus* ATCC19977 (MOI 1 : 10). Через 48 часов из стерильных супернатантов выделили везикулы (набор ExoEasy, Qiagen). Полученными везикулами обработаны макрофаги RAW264.7, выделенная из образцов тотальная РНК использована для высокопроизводительного секвенирования (Illumina). В ходе настоящей работы получены и охарактеризованы везикулы, секретируемые макрофагами клеточной линии RAW264.7, инфицированными *M. abscessus*, и без инфекции. Протеомный анализ выявил 159 уникальных для инфицированных клеток белков, участвующих в процессах антиген-презентации, клеточного транспорта и апоптоза. В результате сравнительного анализа транскриптомов макрофагов, обработанных двумя типами везикул, обнаружено 752 дифференциально экспрессирующихся гена. Функциональный анализ выявил активацию TLR-опосредованного MyD88-зависимого пути, пути, опосредованного NOD-подобными рецепторами, подавление митохондриальных функций (синтез пуриновых нуклеозидов, синтез АТФ, окислительное фосфорилирование). Полученные данные свидетельствуют о наличии иммуномодулирующих свойств у везикул, секретируемых инфицированными *Mycobacterium abscessus* макрофагами.

E-mail: oksana.belonovich@gmail.com

СКРИНИНГ НОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ 5 – АРИЛ (ГЕТАРИЛ) МЕТИЛИДЕНДИГИДРОПИРИМИДИН – 2,4,6 – ТРИОНОВ В ОТНОШЕНИИ МУЗЕЙНЫХ ШТАММОВ *E.COLI* 25922 АТСС И *S.AUREUS* 6538-Р АТСС

Юртаева[1] Е.А., Степаненко[2] И.С., Тырков[3] А.Г., Утяганова[1] Е.В., Фомичева[2] Е.Д.

[1]Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, Пятигорск
[2]ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, Волгоград
[3]ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет им. В.Н. Татищева», Министерства науки и высшего образования РФ, Астрахань

Поиск новых соединений, обладающих выраженной противомикробной активностью, является одной из приоритетных задач современной фармакологии и медицинской микробиологии. В условиях нарастающей резистентности микроорганизмов к существующим антибиотикам, разработка эффективных антибактериальных препаратов становится критически важной для сохранения здоровья человека. В работе использован метод серийных двукратных разведений в пробирках для определения минимальной ингибирующей концентрации (МИК). Культивирование музейных штаммов *E. coli* 25922 АТСС и *S. aureus* 6538-Р АТСС проводили в бульоне Мюллера-Хинтона. Первичный скрининг соединений проводился в следующих концентрациях: 1024 мкг/мл, 512 мкг/мл, 256 мкг/мл. В качестве контроля использовали пробирки с бульоном и культурой микроорганизма без добавления соединений. В ходе исследования был проведен скрининг 41 соединения в ряду производных барбитуровой кислоты, содержащих арильные и гетарильные заместители различной природы в положении 5 пиримидинтрионового цикла. Выявлены соединения-лидеры, характеризующиеся полным отсутствием видимого роста культуры микроорганизма во всех исследованных концентрациях (1024, 512, 256 мкг/мл) относительно контроля. Из общего числа изученных соединений было отобрано 12 потенциальных лидеров, демонстрирующих выраженную противомикробную активность. Отобранные соединения планируется исследовать более детально на клинических штаммах микроорганизмов для подтверждения их терапевтического потенциала. Полученные результаты подтверждают перспективность дальнейшего изучения новых производных 5-арил(гетарил)метилидендигидропиримидин-2,4,6-трионов как потенциальных антимикробных агентов. Выявление 12 соединений-лидеров является значимым шагом в разработке препаратов для борьбы с резистентными штаммами, что открывает новые возможности для создания эффективных лекарственных средств.

E-mail: tykova.katerina@yandex.ru

ОЦЕНКА АНТИМИКРОБНОГО ДЕЙСТВИЯ ЭКСТРАКТОВ SALVIA OFFICINALIS В ОТНОШЕНИИ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ МИКРООРГАНИЗМОВ

Ядыкова Л.Л., Халиуллина А.С., Каюмов А.Р.

Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Казань

Масштабная проблема распространения антибиотикорезистентности среди микроорганизмов требует разработки новых технологий получения активных фармацевтических субстанций для создания эффективных лекарственных препаратов. Материалы и методы. Ранее были получены экстракты на основе листьев шалфея лекарственного (*Salvia officinalis L.*) методами

дистилляции в приборе Гинзберга, циркуляционной экстракции в аппарате Сокслета, рефлюкс-экстракции с применением подходов к фракционированию полученных продуктов. В зависимости от используемой технологии были выделены фракции, насыщенные моно- и сесквитерпеноидами эфирного масла листьев (легколетучие), фракции, стандартизированные по абиетановым дитерпеноидам, в пересчёте на карнозоловую кислоту, сумма гидроксикоричных кислот с доминирующим компонентом фракции – розмариновой кислотой. Антимикробную активность проверяли в отношении *Staphylococcus aureus, Streptococcus spp.* и *Candida albicans* методом серийных разведений. Была продемонстрирована разная антимикробная активность экстрактов из листьев *Salvia officinalis* как в монотерапии, так и в синергии с антисептиками, антибиотиками и антимикотиками. Было отмечено повышение эффективности антибактериальных и антимикотических препаратов, антисептиков в присутствии экстрактов *Salvia officinalis*. Получение природных экстрактов, обладающих антимикробными свойствами, является перспективным направлением в условиях глобальной проблемы устойчивости микроорганизмов к противомикробным препаратам.
Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 25-25-00340.

E-mail: milayesyad@gmail.com

БИОРЕСУРСНЫЕ КОЛЛЕКЦИИ

ПЛЕНАРНЫЕ ДОКЛАДЫ

ВСЕРОССИЙСКАЯ КОЛЛЕКЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ И СОВРЕМЕННЫЕ ОСОБЕННОСТИ СОХРАНЕНИЯ И РАЗВИТИЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ДЕПОЗИТАРИЕВ

Куликовский М.С., Евтушенко Л.И.

ФИЦ ПНЦБИ РАН, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, Пущино

Создание, сохранение и развитие генетических коллекций является основополагающей деятельностью для успешного существования любого государства. Микробиологические депозитарии являются основой для успешного функционирования биотехнологий, медицины, сельского хозяйства и других сфер. В настоящее время в России начаты работы по правовым инициативам и подписан закон «О биоресурсных центрах», который призван регулировать коллекционную деятельность. В тоже время, многие важные моменты еще предстоит решить в подзаконных актах с привлечением специалистов. Важным является взаимодействие между разными типами коллекций, а также взаимодействие с зарубежными коллекциями, как того требует «кодекс прокариот». Другим интересным, к обсуждению, вопросом является работа самих коллекций с точки зрения их внутреннего устройства и амбиций. Что представляют из себя коллекции? Это просто хранилища, где поддерживаются образы или научные центры с развитыми научными изысканиями, а не только сохранение? Какие научные направления наиболее важны и каким образом коллекциям существовать в настоящее время? Откуда получать финансирование на свою деятельность? В докладе представлена попытка обсудить эти и другие вопросы, на примере Всероссийской коллекции микроорганизмов (ВКМ, Пущино). ВКМ является одной из крупнейших коллекций в России, которая начала создаваться во второй половине прошлого века. В настоящее время ВКМ – это коллекция, которая обладает правом международного депонирования организмов и активно

развивает включение различных групп прокариот и эукариот (микроводоросли). Коллекции микроводорослей значительно слабее представлены, чем таковые бактерий. В России существует несколько сотен различных коллекций, взаимодействие между которыми необходимо актуализировать. Накопленный опыт успешного функционирования ВКМ на протяжении десятилетий может позволить обсудить многие важные вопросы и решить существующие проблемы.

E-mail: max-kulikovsky@yandex.ru

РОССИЙСКИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ КОЛЛЕКЦИИ: СТРАТЕГИЯ ВЫЖИВАНИЯ, СОВРЕМЕННЫЙ СТАТУС И ЭВОЛЮЦИЯ

Ившина И.Б., Куюкина М.С.

Пермский федеральный исследовательский центр УрО РАН, Пермь
Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь

Российские специализированные коллекции микробных культур немедицинского профиля содержат уникальные биоресурсы, востребованные биотехнологическим сектором экономики. Однако плодотворное сотрудничество между коллекциями и биотехнологическими компаниями, предполагающее справедливое распределение прибыли от использования коллекционных культур, осложнено несовершенством инфраструктуры и законодательства. Специализированные коллекции предоставляют исчерпывающую информацию о биотехнологически значимых свойствах штаммов и их потенциальном применении, чего часто не хватает крупным сервисным коллекциям из-за огромных фондов и сосредоточенности на таксономии и хранении культур. Недавний ФЗ «О биоресурсных центрах и биологических (биоресурсных) коллекциях» предусматривает создание инфраструктуры, охватывающей крупные национальные и специализированные биоресурсные центры, которые могут быть созданы на базе биологических коллекций. Чтобы обеспечить устойчивость существующих коллекций и формируемых биоцентров, необходимы долгосрочное финансирование, налоговые льготы и усовершенствованные законодательные нормы для передачи/обмена биоматериалом, а также условия для развития кадрового потенциала и привлечения к коллекционному делу талантливой молодежи. На примере Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (акроним ИЭГМ, WFCC 285, УНУ/ЦКП 73559/480868, www.iegmcol.ru) показано, как традиционные услуги по хранению и передаче штаммов, идентификации и биоинформатике, поисковым исследованиям, обучению и консультациям модифицируются и расширяются в соответствии с требованиями промышленных пользователей. Созданные на основе коллекционных штаммов биопрепараты и природоохранные технологии применяются в рамках договоров с экологическими компаниями. Приводятся примеры сотрудничества со стратегическими партнерами по биодеградации нефте- и золошламов, обработке углеводород- и металлосодержащих сточных вод.
Исследования выполнены в рамках госзаданий 124020500028-4, FSNF-2025-0013 и Соглашения № 075-15-2025-485.

E-mail: kuyukina@iegm.ru

АКТУАЛЬНЫЕ ЗАДАЧИ ФОРМИРОВАНИЯ ИНФРАСТРУКТУРЫ В ОБЛАСТИ МИКРОБНЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ

Синеокий С.П.

НИЦ «Курчатовский институт», Москва

Основной задачей инфраструктуры в области микробных биоресурсов является стандартизация, сохранение и обеспечения регулируемой доступности изученных микроорганизмов, требующихся для воспроизведения результатов исследований, обеспечения широкого спектра исследовательских и прикладных работ, основанных на использовании стандартных микробных биоресурсов. Инфраструктура необходима, в частности, для создания эффективной системы защиты прав интеллектуальной собственности и обеспечения биобезопасности при использовании микроорганизмов в различных биотехнологиях. В последние годы внимание к развитию инфраструктуры в области микробных генетических ресурсов в РФ со стороны государства значительно возросло. Это выразилось, прежде всего, в принятии ФЗ о биоресурсных центрах и биоресурсных коллекциях, в Указах Президента РФ о создании национального центра микробных генетических ресурсов и межведомственной комиссии по вопросам формирования и использования коллекций микробных генетических ресурсов, активной поддержки Минобрауки РФ коллекционной деятельности. В значительной степени, задача развития инфраструктуры связана с задачами развития в РФ биоэкономики, в т.ч. создания конкурентоспособной промышленной биотехнологии. Для создания в РФ современной эффективной инфраструктуры в области микробных генетических ресурсов на основе принятых нормативных документов важно максимально использовать как имеющийся в РФ, так и большой мировой опыт в области создания крупных, стабильно работающих биоресурсных центров, выполняющих большие объемы разнообразных сервисных и исследовательских работ на высоком научном и методическом уровне.

E-mail: sineoky@genetika.ru

ПРАВОВОЕ РЕГУЛИРОВАНИЕ БИОРЕСУРСНЫХ ЦЕНТРОВ И БИОЛОГИЧЕСКИХ КОЛЛЕКЦИЙ: ПРОВЕДЕНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В СОВРЕМЕННЫХ УСЛОВИЯХ

Щербакова В.А., Кочкина Г.А., Иванов С.В.

ФИЦ ПНЦБИ РАН, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, Пущино

Микробиологические ресурсные центры и коллекции, объединенные в информационные сети и включающие депозитарии культур, научные и инжиниринговые подразделения, рассматриваются в качестве ключевых элементов инфраструктуры современной биологической науки и экономики, ориентированной на «зеленые» технологии. Многочисленные прогнозы экспертов свидетельствуют о том, что в ближайшие годы поток новых микроорганизмов, требующих сохранения в коллекциях с целью их дальнейшего изучения и использования, будет лавинообразно нарастать.

Развитие общественных отношений в сфере науки и техники, успешная реализация государственной научно-технической, технологической и инновационной политики неразрывно связаны с совершенствованием законодательства в сфере биотехнологии и

биоэкономики, развитием таких интенсивно формирующихся междисциплинарных областей и отраслей права, как инновационная юриспруденция, техноправо и биоправо.
В век технологизации права успехи ученых в биологии и смежных областях во многом определяются доступностью для научного сообщества качественно отобранных, охарактеризованных биологических объектов и генетических ресурсов, сохраняемых и поддерживаемых в современных биоресурсных центрах (БРЦ) и биологических (биоресурсных) коллекциях (БРК), а также правовым регулированием данной области.
В России принят Федеральный закон от 30.11.2024 № 428-ФЗ «О биоресурсных центрах и биологических (биоресурсных) коллекциях и о внесении изменений в статью 29 Федерального закона «О животном мире», призванный регламентировать вопросы создания и деятельности БРЦ и БРК. Закон должен создать комплексную систему управления и контроля над биологическими ресурсами страны, обеспечивая их сохранение и эффективное использование в научных, образовательных и иных национальных целях.
В представленном докладе будут отражены основные законоположения, которые будут определять деятельность коллекций микроорганизмов: условия создания на базе научных организаций БРЦ и БРК и правовые основы их функционирования, а также будет представлен анализ новелл законодательства, которые оказывают непосредственное влияние на проведение микробиологических исследований в современных условиях.

E-mail: vshakola@pbcras.ru

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ, БИОХИМИЯ И ЭКОЛОГИЯ ДРОЖЖЕЙ

СЕКЦИОННЫЕ ДОКЛАДЫ

РАННЕЕ РЕПЛИКАТИВНОЕ СТАРЕНИЕ ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Азбарова А.В., Галкина К.В., Кнорре Д.А.

НИИ Физико-химической биологии имени А. Н. Белозерского, МГУ имени М. В. Ломоносова, Москва

Пекарские дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* – простейшая одноклеточная эукариотическая модель для изучения старения. Они делятся асимметрично, что позволяет различать материнскую и дочернюю клетку. С каждым отделением почки на поверхности материнской клетки остается почечный рубец. Число таких рубцов равно числу отделившихся почек, то есть репликативному «возрасту» материнской клетки. Таким образом, в случае *S. cerevisiae* говорят о репликативном, а не хронологическом старении. Мы разработали систему для исследования скорости репликативного старения *S. cerevisiae* в стрессовых условиях, основанную на проточной цитометрии. С помощью этой системы мы обнаружили, что во всех исследованных стрессорных условиях (тепловой шок, окислительный и осмотический стрессы, уксусная кислота, этанол, избыток глюкозы, стресс от поверхностно-активных веществ) устойчивость клеток дрожжей к стрессу уменьшается уже после образования первой почки. Делеции генов *SIR2* и *FOB1*, оказывающих влияние на продолжительность жизни дрожжей в оптимальных условиях, не влияли на скорость старения в условиях стресса.

Удаление митохондриальной ДНК увеличивало скорость старения в условиях большинства стрессов, кроме окислительного стресса, вызванного перекисью водорода.
Работа выполнена при поддержке РНФ, проект № 22-14-00108

E-mail: vesnusha@gmail.com

МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ, ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС И ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В ДРОЖЖАХ С ДЕЛЕЦИЯМИ ГЕНОВ, СВЯЗАННЫХ С МИТОФАГИЕЙ

Епремян[1,2] Х.Х., Голева[1,2] Т.Н., Шапошникова[1] Д.А., Рогов[1] А.Г., Звягильская[2] Р.А.

[1]Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва
[2] Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва

Митохондриальная дисфункция связана со старением и различными заболеваниями человека, такими как нейродегенерация, метаболические нарушения, диабет и рак. Поэтому митохондрии должны быть под жестким контролем количества и качества, адекватным потребностям клетки. Этой задаче, параллельно с биогенезом митохондрий и другими процессами, служит митофагия – избирательное удаление митохондрий посредством аутофагии. Целью данной работы было изучение митофагии у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Для этого была собрана коллекция мутантов *S. Cerevisiae*: ΔFis1, ответственный за деление митохондрий и ΔAup1, митохондриальная протеинфосфатаза типа 2C, участвующая в митофагии, а также мутанты комплекса ERMES - ΔMmm1, ΔMdm10, ΔMdm34 и ΔMdm38. На первом этапе была осуществлена трехмерная реконструкция митохондриальной сети в условиях нормоксии и *t*-BHP-опосредованного окислительного стресса. На втором этапе измеряли уровни окислительного стресса методом проточной цитометрии с красителем dihydroethidium (DHE). На финальном этапе работы было произведено измерение уровня экспрессии генов, связанных с антиоксидантной защитой *YAP1, SOD1* и *CTA1* методом qPCR.
Работа проведена в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатовский институт».

E-mail: k.epremyan19@gmail.com

МЕХАНИЗМЫ ПРИОН-ЗАВИСИМОЙ ЛЕТАЛЬНОСТИ МИССЕНС-МУТАНТОВ ПО ГЕНУ SUP35 ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Журавлева Г.А.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

Процесс терминации трансляции в клетках эукариот регулируется совместной работой факторов терминации трансляции eRF1 и eRF3 при участии ряда других белков. Гены SUP45 и SUP35, кодирующие белки eRF1 и eRF3 в клетках дрожжей-сахаромицетов являются жизненно-важными. В результате агрегации белка Sup35 (eRF3) происходит образование приона [PSI+], для чего необходимо присутствие N-терминального домена этого белка. Присутствие приона в клетках дрожжей обычно не влияет на жизнеспособность штаммов дикого типа, но может снижать выживаемость мутантных клеток, содержащих нонсенс-

мутации в генах SUP45 и SUP35, как это было показано нами ранее. В данной работе мы охарактеризовали ранее отобранных в нашей лаборатории спонтанных мутантов, содержащих миссенс-мутации D363N, R372K, T378I (sup35-m) в консервативных участках С-терминального домена eRF3. Такие мутантные клетки теряли свою жизнеспособность при совмещении с прионом [PSI+]. Мутантные варианты белка Sup35 сохраняли способность включаться в предсуществующие агрегаты приона [PSI+], а также образовывать амилоидные агрегаты в системе in vitro; кроме того, изученные мутации sup35-m не влияли на индукцию [PSI+] и его стабильность. В то же время, мутации D363N, R372K, T378I нарушали ГТФазную активность белка Sup35 (eRF3). Таким образом, летальность мутаций sup35-m в сочетании с прионом [PSI+] объясняется недостаточной активностью ГТФазы у мутантных белков. Такая низкая активность мутантного Sup35 в сочетании с агрегацией Sup35 из-за присутствия приона [PSI+] недостаточна для сохранения жизнеспособности дрожжевых клеток.
Работа поддержана грантом РНФ 23-14-00063.

E-mail: zhouravleva@rambler.ru; g.zhuravleva@spbu.ru

СТРУКТУРНО – ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ФАКТОРА РИБОСОМНОГО РЕЦИКЛИНГА TMA22P И ЕГО АКТИВНОСТИ В РЕИНИЦИАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ В ПЕКАРСКИХ ДРОЖЖАХ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Замятнина[1,2] К.А., Ураков[3] В.Н., Волынкина[1] И.А., Столбоушкина[4] Е.А., Кац[1] Л.М., Каменский[2] П.А., Дмитриев[1] С.Е.

[1]НИИ ФХБ имени А.Н.Белозерского МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва
[2]Биологический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва
[3]ФИЦ биотехнологии РАН, Москва
[4] Институт белка РАН, Пущино

Рибосомный рециклинг является последним этапом трансляционного цикла и включает в себя отсоединение большой рибосомной субчастицы, диссоциацию тРНК и уход малой субчастицы из комплекса с мРНК. В случае моноцистронных мРНК, преобладающих у эукариот, 40S субчастица обычно диссоциирует после прочтения длинных рамок считывания. Однако после коротких рамок, встречающихся в 5’-нетранслируемых областях (uORF), она может оставаться на мРНК и реинициировать трансляцию. У дрожжей эти процессы регулируют белок Tma64p и гетеродимер Tma20p·Tma22p. Они имеют в своём составе SUI1-домен, гомологичный таковому у фактора инициации трансляции eIF1. Однако механизм работы данных белков и распределение их ролей остаётся мало изученным. В данной работе с помощью репортерных конструкций мы измеряли частоту реинициации трансляции после короткой uORF или после длинной рамки, кодирующей полноценный белок, в клетках пекарских дрожжей Saccharomyces cerevisiae. Мы сравнили штамм дикого типа с нокаутными клетками tma64Δtma22Δ, содержащими введённый ген, кодирующий Tma22p с делециями или аминокислотными заменами в SUI1-домене. Также была оценена активность химерного белка, состоящего из N-концевого домена Tma22p и SUI1-домена фактора eIF1. Кроме того, было проанализировано влияние нокаутов генов TMA20, TMA22 и TMA64 (индивидуальные, двойные, тройные) на реинициацию.

Полученные результаты показали важность консервативной положительно заряженной β-петли в SUI1-домене Tma22p, участвующей в распознавании кодон-антикодонового дуплекса и больший вклад гетеродимера Tma20p·Tma22p, чем фактора Tma64p, в контроль реинициации трансляции после прочтения uORF.
Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ, грант 23-14-00218.

E-mail: zamksju@rambler.ru

ПАРАДОКСЫ ПОЛИСАХАРИД-РЕМОДЕЛИРУЮЩИХ ФЕРМЕНТОВ КЛЕТОЧНОЙ ПОВЕРХНОСТИ ДРОЖЖЕЙ

Калебина Т.С., Рекстина В.В., Ахтямов А.Ф., Дроздов Н.А.

Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова, Москва

Наружной частью клеточной поверхности дрожжей является клеточная стенка (КС), состоящая из белков и полисахаридов. КС выполняет защитную функцию и серьёзные ошибки в её формировании могут привести к гибели клетки. При росте клетки и растяжении КС первостепенную важность приобретает обширная группа полисахарид-ремоделирующих ферментов (ПРФ). Возникает парадоксальная ситуация: ПРФ, которые находятся в тесном контакте со своим субстратом на протяжении всей жизни клетки и по всей поверхности КС, в то же время ограничены в возможности латерального перемещения по ней. Тем не менее, они проявляют свою активность только там и тогда, где и когда это необходимо. Неконтролируемая активность ПРФ может привести к лизису клетки. Используя разработанные нами подходы к фракционированию ПРФ КС в процессе изучения их локализации в клетке и условий экспорта во внешнюю среду, с помощью идентификации изучаемых белков с применением иммуноблотинга с антителами в сочетании с масс-спектрометрическим анализом и изучением гидролазной и трансферазной ферментативной активности, нами продемонстрировано, что большинство ПРФ представлено в клеточной стенке белками, не связанными ковалентными связями с ее полисахаридным каркасом. Некоторые из них, несмотря на очень прочное закрепление в КС, могут покидать данный компартмент и обнаруживаться как внутри, так и вне клетки. Такие изменения, на наш взгляд, объясняются конформационной лабильностью их молекул, посттрансляционными модификациями и взаимодействием ПРФ с другими белками. Мы предполагаем, что полученные результаты характеризуют свойства ПРФ, позволяющие объяснить механизмы, лежащие в основе указанных парадоксов.
Исследование выполнено в рамках государственного задания МГУ имени М.В.Ломоносова.

E-mail: kalebina@gmail.com

СИНЕРГИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ КОМБИНАЦИИ ИНГИБИТОРОВ ПРОТЕАСОМЫ И РИБОНУКЛЕОТИДРЕДУКТАЗЫ В БИОХИМИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* И КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ ГЛИОБЛАСТОМЫ

Кулагин К.А., Сосновцева А.О., Карпов Д. С.

Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва

Ингибиторы протеасомы используются в терапии нескольких видов рака, и в настоящее время проводятся клинические испытания по их применению для лечения глиобластомы

(GBM). Однако ГБМ довольно быстро становится устойчивой к химиотерапии. Недавно было обнаружено, что сверхэкспрессия генов рибонуклеотидредуктазы (RNR) опосредует резистентность к терапии при GBM. Перспективным направлением в терапии рака считается использование комбинаций химиотерапевтических агентов. RNR дрожжей, как и RNR млекопитающих регулируются на уровне транскрипции, субклеточной локализации, деградации убиквитин-протеасомной системой и деградации путем аутофагии. RNR дрожжей чувствительны к известным ингибиторам RNR млекопитающих, а также дрожжи быстро растут и их легко культивировать и проводить генную инженерию, поэтому в перспективе их можно использовать как модель в скрининге для поиска новых ингибиторов RNR. Цель настоящей работы - оценить эффективность комбинации ингибиторов протеасомы и RNR на дрожжах *Saccharomyces cerevisiae* и клеточных моделях GBM. В ходе выполнения работы использовались следующие стандартные методики и подходы: культивирование штаммов дрожжей *S. cerevisiae*, клеток млекопитающих (стандартные перевиваемые клетки глиом DBTRG-05MG и HEK293), фотометрическое определение жизнеспособности клеток, с помощью окраски резазурином, циклогексимидный анализ для оценки кинетики деградации белка Rnr-3HA, ПЦР в реальном времени со использованием специальной матрицы для оценки активности RNR, вестерн-блоттинг для оценки количества субъединиц RNR, посев серии разведения дрожжей на чашки с лекарственными препаратами для оценки их влияния на жизнеспособность мутантных штаммов. В результате показано, что нарушение функции протеасомы приводит к увеличению уровня субъединиц RNR и повышению активности фермента в дрожжах. Обнаружено, что совместное применение ингибитора протеасомы бортезомиба и ингибитора RNR гидроксимочевины значительно снижает скорость роста дрожжей *S. cerevisiae*. Соответственно, комбинация бортезомиба и другого ингибитора RNR гемцитабина снижала выживаемость DBTRG-05MG по сравнению с клеточной линией HEK293. Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, дрожжи можно использовать в качестве простой модели для оценки эффективности комбинаций ингибиторов протеасомы и RNR.

E-mail: kirill007kulagin@gmail.com

БЕЛКИ PHO-ПУТИ КАК УЧАСТНИКИ АДАПТАЦИОННЫХ ПРОЦЕССОВ У *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Кулаковская Е.В., Рязанова Л.П., Ледова Л.А., Трилисенко Л.В.

ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, Пущино

Адаптация к стрессовым воздействиям у *S. cerevisiae* – процесс, в который вовлечены продукты множества различных генов. Целью работы была оценка участия белков PHO-пути, к которым относятся переносчики фосфата, ферменты метаболизма неорганических полифосфатов и белки Phm6 и Phm7, ответственные за сверхнакопление полифосфатов, в адаптации клеток к стрессам, не связанным с изменениями концентрации фосфата в среде. Используя коммерческие штаммы *S. cerevisiae* с нокаут-мутациями в генах PHO-пути, мы сравнили способность клеток этих штаммов и родительского штамма к росту и образованию полифосфатов при воздействии токсических концентраций ионов марганца и кадмия, а также щелочи и перекиси водорода. Выявлено различие как в способности к росту в указанных условиях, так и в содержании полифосфатов. Штамм Δ*pho91* с нокаутом гена, кодирующего вакуолярный переносчик фосфата, обладал большей устойчивостью к ионам марганца и перекиси, но меньшей устойчивостью к ионам кадмия. Клетки штаммов, мутантных по переносчикам фосфата цитоплазматической мембраны Δ*pho84* и Δ*pho87,* были более

устойчивы к ионам марганца, а клетки штамма Δ*pho90* - менее устойчивы к ионам марганца. Одиночные нокауты генов, кодирующих полифосфатазы Ppn1 и Ppn2, а также белки Phm6 и Phm7, также приводили к повышению устойчивости к ионам марганца и окислительному стрессу. Штаммы с нокаутами генов *PHM6* и *PHM7* проявляли повышенную устойчивость к ионам кадмия, однако оказались более чувствительны к щелочному стрессу по сравнению с родительским штаммом. Штамм Δ*vtc4*, с нокаутом гена, кодирующего полифосфатсинтазу, обладал повышенной устойчивостью к перекиси и ионам марганца. Поскольку влияние стрессовых факторов на содержание полифосфатов у исследованных штаммов было неодинаковым, механизм вовлечения белков PHO-пути в адаптацию клеток дрожжей к данным стрессовым условиям связан как с полифосфатами, как антистрессовыми компонентами, так и с возможным воздействием этих белков на другие компоненты адаптационных систем.

E-mail: e.kulakovskya@ibpm.ru

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ УСТОЙЧИВОСТИ РИЗОСФЕРНОЙ БАКТЕРИИ *ACHROMOBACTER INSOLITUS* LCU2 К ТОКСИКАНТАМ

Кусмарцева[1,2] *Ю.А., Бурыгин*[1,2] *Г.Л.*

[1] Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ «Саратовский научный центр РАН», Саратов
[2] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова», Саратов

Быстрое распространение бактерий с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) к действию антибиотиков обуславливает необходимость разработки новых моделей и подходов для изучения соответствующих механизмов для борьбы с такими микроорганизмами. Одним из основных путей формирования резистентности является выброс антибиотиков из клетки с помощью систем эффлюкса. Для разных групп бактерий описано несколько типов RND-систем эффлюкса, обеспечивающих устойчивость к широкому спектру токсикантов, например, к антибиотикам и тяжёлым металлам. Ранее нами из корней *Medicago sativa* L. был выделен ризосферный штамм *Achromobacter insolitus* LCu2, демонстрирующий устойчивость к широкому спектру токсичных веществ. Геном этого штамма был секвенирован и депонирован в GenBank (CP038034.1). Целью данной работы было исследование генетических основ устойчивости штамма LCu2 к тяжелым металлам и анализ активности генов RND-эффлюксных систем. Анализ генома позволил идентифицировать 9 генных кластеров, кодирующих белки разных типов RND-систем эффлюкса (AxyXY-OprZ, MexIW-TolC, MexKJ-OprM и другие). К генам *tolC, oprM* и *oprZ* были подобраны специфичные праймеры для оценки их экспрессии методом ПЦР в реальном времени. Полученные данные свидетельствуют, что устойчивость LCu2 связана с активностью RND-эффлюксных систем, обеспечивающих активное выведение вредных соединений из клетки. Выявленные особенности делают штамм перспективным объектом для дальнейших исследований, направленных на разработку решений в области биоремедиации и контроля бактерий с МЛУ.
Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-24-00520, https://rscf.ru/project/24-24-00520/.

E-mail: burygingl@gmail.com

РОЛЬ ИНГИБИРОВАНИЯ АТФАЗНОЙ АКТИВНОСТИ АТФ-СИНТАЗЫ В ФИЗИОЛОГИИ ДРОЖЖЕЙ

Лапашина А.С., Галкина К.В., Маркова О.В., Зубарева В.М., Кнорре Д.А., Фенюк Б.А.

НИИ ФХБ имени А.Н. Белозерского, МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

F_OF_1-АТФ-синтаза синтезирует АТФ за счет протонного градиента на внутренней мембране митохондрий, а при деэнергизации мембраны функционирует как АТФаза. В отсутствие митохондриальной ДНК (мтДНК) в матриксе митохондрий сохраняется F_1-субкомплекс АТФ-синтазы, способный только к гидролизу АТФ. У *Saccharomyces cerevisiae* АТФазная активность F_1 и F_OF_1 подавляется за счет ингибиторных белков Inh1p и Stf1p и неконкурентного АДФ-ингибирования. Целью работы было изучить роль этих ингибиторных механизмов *in vivo*. Увеличение чувствительности F_OF_1 к АДФ-ингибированию за счет точечной замены в одной из субъединиц не оказало влияния на фенотип *S. cerevisiae*. Однако ослабление АДФ-ингибирования за счет другой замены снизило скорость роста дрожжей с нормальной мтДНК (ρ^+) и ускорило рост дрожжей без мтДНК (ρ^0). Также мы обнаружили, что ингибиторный белок Inh1p может накапливаться в субпопуляции клеток в постдиауксической фазе, и при переносе в свежую среду эти клетки начинают делиться быстрее, чем остальные. Однако делеция генов Inh1p и Stf1p не увеличила продолжительность лаг-фазы при переносе из стационарной культуры в свежую среду. Вместе с тем, сочетание ослабленного АДФ-ингибирования и делеции генов Inh1p и Stf1p повысило устойчивость ρ^0-штамма к разобщению дыхания и окислительного фосфорилирования. Положительное действие этих мутаций на рост ρ^0-штаммов связано с необходимостью поддержания протонного градиента на внутренней мембране митохондрий в отсутствие функциональной дыхательной цепи силами АТФазной активности F_1 и электрогенной активности АТФ/АДФ антипортера.

E-mail: a.lapashina@gmail.com

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МОРСКИХ ВИДОВ ДРОЖЖЕЙ РОДА *KLUYVEROMYCES*

Лютова Л.В., Наумова Е.С.

Федеральное государственное бюджетное учреждение Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва

Род *Kluyveromyces* включает восемь видов, которые экологически дифференцированы на две группы: наземные (*K. lactis, K. marxianus, K. wickerhamii, K. dobzhanskii, K. starmeri*) и морские (*K. aestuarii, K. siamensis* и *K. nonfermentans*). Ареал обитания *K. aestuarii* и *K. siamensis* ограничен преимущественно биотопами мангровых зарослей, а также прибрежными водами. Тогда как дрожжи *K. nonfermentans* являются глубоководными.

С помощью молекулярного кариотипирования, RAPD-ПЦР, филогенетического и гибридологического анализов изучено генетическое родство 22 штаммов *K. aestuarii, K. nonfermentans* и *K. siamensis*, выделенных из морской среды обитания в Северной и Южной Америке (США, Бразилия), Восточной Азии (Китай, Тайвань, Япония, Тайланд), а также в Австралии.

Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей 5.8S-ITS-участка рДНК и двух ядерных генов (*ACT1, EF-1α*) разделил 22 штамма на три кластера в соответствии с их видовой принадлежностью. Наиболее дивергентным является вид *K. nonfermentans*: 153–159

нуклеотидных замен. Глубоководные дрожжи имеют уникальный кариотипический профиль и образуют с *K. aestuarii* и *K. siamensis* стерильные гибриды. Более близкое генетическое родство имеют дрожжи *K. siamensis* и *K. aestuarii,* не отличающиеся по молекулярным кариотипам и только частично генетически изолированные: 9–19% выживаемости аскоспор. Указанные виды существенно отличаются по последовательностям ядерных генов и 5.8S-ITS-участка рДНК: 38-41 замена. По-видимому, виды *K. aestuarii* и *K. siamensis* находятся на стадии расхождения.

Показана гетерогенность вида *K. aestuarii.* Американская и восточная популяции различаются 5-7 заменами по последовательностям генов *ACT1, EF-1α* и 5.8S-ITS-участка рДНК, имеют отличающиеся $(GTG)_5$-профили, а также образуют полустерильные гибриды (11-26% выживаемости аскоспор). Согласно полученным результатам, вид *K. aestuarii* включает две географические популяции, которые обладают дивергенцией геномов на уровне таксономических разновидностей.

Исследование проведено в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатовский институт».

E-mail: lyudmilalyutova93@yandex.ru / Lyutova_LV@nrcki.ru

АНАЛИЗ ВКЛАДА РАЗЛИЧНЫХ ЧАСТЕЙ АМИЛОИДНОЙ СТРУКТУРЫ БЕЛКА SUP35 В ПОДДЕРЖАНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ ФИБРИЛЛ И ФЕНОТИПИЧЕСКОЕ ПРОЯВЛЕНИЕ «СИЛЬНОГО» И «СЛАБОГО» ВАРИАНТОВ ПРИОНА [PSI]

Митькевич О.В., Дергалев А.А., Кушниров В.В.

Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва

Создание модели трехмерной структуры амилоидных полимеров, объясняющей их фенотипические проявления в клетках и организмах, является одной из неразрешённых задач амилоидной биологии. Одноклеточные организмы являются удобным объектом для этой цели, так как на их примере проще определить связь между физико-химическими свойствами и наблюдаемыми фенотипическими проявлениями. Дрожжевой прион [PSI+] (наследуемые амилоиды белка Sup35), представлен набором «сильных» и «слабых» структурных вариантов. Ранее мы показали, что основная часть амилоидной структуры, детерминирующая фенотип, находится в пределах со 2 по 72 а.к. как для сильных, так и для слабых вариантов прионов белка Sup35, и разделяется на область 1А и 1Б. В данной работе мы показали, что аминокислотные замены S17R и Q24R, нарушающие стабильность структуры в области 1А, приводят к потере клетками как сильного, так и слабого вариантов приона, тогда как замена G58D в области 1Б изменяет нонсенс-супрессорный фенотип и уменьшает стабильность наследования только у сильного варианта [PSI^+]. Методом криоэлектронной микроскопии была установлена полноатомная структура фибрилл сильного варианта приона с 4 по 64 а.к. с разрешением 2,72 Å. Обнаружено, что область 1Б образует элементы «стерической молнии» с частью области 1А. Полученная структура позволяет предположить, что замена G58D дестабилизирует структуру фибрилл сильного варианта, нарушая образование «стерической молнии». Замены S17R и Q24R также находятся в области короткой «стерической молнии», образуемой внутри области 1А, что, вероятно, объясняет их несовместимость с поддержанием прионной структуры.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 23-74-00062

E-mail: mitkevich@inbi.ras.ru

ПОРОГ ПАТОГЕННОСТИ МТДНК С ОБШИРНЫМИ ДЕЛЕЦИЯМИ У ДРОЖЖЕЙ

Муравьёв[1,2] Г.С., Кашко [2] Н.Д., Кнорре[2] Д.А.

[1]Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва
[2]НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

Гетероплазмия – это состояние, когда в одной эукариотической клетке присутствует несколько вариантов мтДНК, которые могут отличаться как отдельным нуклеотидами, так и иметь обширные делеции. Имеются сведения о существовании порога патогенности мутантной мтДНК, то есть патогенные варианты мтДНК могут сохраняться в клетке, не оказывая какого-либо влияния на её фенотип. Обычно за счёт случайного дрейфа генов через несколько поколений отдельные клетки переходят в состояние гомоплазмии, сохранив только один вариант мтДНК. Однако для некоторых организмов описаны случаи стабильной гетероплазмии, сохраняющейся в течение многих поколений. Ранее мы показали возможность поддерживать мтДНК с обширной делецией *HS* rho^- в состоянии митохондриальной гетероплазмии по крайней мере на протяжении 20 поколений. В данной работе мы производили количественную оценку уровня гетероплазмии. Для этого был использован метод на основе ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ). Так как участок, соответствующий стыку делеции rho^- варианта мтДНК, представлен АТ-богатой областью с низкой сложностью, то непосредственное определение количества мтДНК с делецией в образце затруднено. Поэтому нами были использованы две пары праймеров. Первая пара специфична к участку мтДНК, сохранившемуся в rho^- штамме, что позволяет проводить оценку суммарного количества обоих вариантов мтДНК в образце. Вторая пара праймеров специфична к участку rho^+ варианта мтДНК, который отсутствует в rho^- штамме, что позволяет проводить оценку количества мтДНК дикого типа в образце. Далее мы применили эти пары праймеров для косвенной оценки количества rho^- мтДНК в клетке для определения порога патогенности мтДНК. Для этого мы провели скрещивание $rho^+ \times rho^-$, отобрали среди диплоидов первого поколения клоны способные расти на среде с глицерином, как единственным источником углерода. Используя ПЦР-РВ, мы оценили количество копий двух вариантов мтДНК на клетку. Мы показали, что уровень митохондриальной гетероплазмии может доходить до 80% без потери клетками способности расти на несбраживаемом источнике углерода.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 22-14-00108-П.

E-mail: murgeo13@fbb.msu.ru

КАРОТИНСИНТЕЗИРУЮЩИЕ ДРОЖЖИ *R. MUCILAGINOSA:* ХАРАКТЕРИСТИКА И ИДЕНТИФИКАЦИЯ

Никанова Д.А., Артемьева О.А., Колодина Е.Н., Довыденкова М.В.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста», Дубровицы

Среди микробных продуцентов дрожжи *Rhodotorula* выделяются благодаря высокому выходу каротиноидов и способности адаптироваться к разнообразным субстратам. Целью исследования было изучение каротинсинтезирующих дрожжей *Rhodotorula mucilaginosa* из желудочно-кишечного тракта с/х животных. Выделение дрожжей и видовую идентификацию

проводили по культурально-морфологическим и физиолого-биохимическим признакам на питательных средах и панелях тест-систем (ГНЦ ПМ, г. Оболенск, «Himedia», Индия). Выделение ДНК осуществляли после инкубации в жидкой среде YPD при 30°C наборами D-Plants (Биолабмикс, Россия). ПЦР проводили с праймерами ITS1 и ITS4; секвенирование по методу Сенгера; последовательности сравнивали в GenBank; множественные выравнивания с помощью редактора BioEdit v.7.7; анализ сходства нуклеотидов и филогенетические деревья в MEGA v.11. Были выделены 36 изолятов, сходство с *R. mucilaginosa* (GenBank NCBI) – 99,84%. Определены: длина клеток дрожжей от 1,501±0,034 (Chc 7) мкм до 3,069±0,100 (Pf 22) мкм, ширина от 1,231±0,049 (Chc 6) до 2,148±0,053 (Sr 16) мкм. Клетки субшаровидные или яйцевидные (коэффициент удлинения от 0,864 до 1,821). Изоляты не ассимилировали лактозу, нитрат и d-глюкуронат, ассимилировали глюкозу, декстрозу, маннозу, раффинозу, сахарозу, фруктозу. Содержание незаменимых аминокислот в биомассе варьировалось от 38,5% (Chc 65) до 45,1% (Sr 40 и Chc 60). В 0,5% желчи выживали все штаммы, при 20% только 13, а при 40% - 7 штаммов (Chli 32, Chc 12, Pf 10, Pf 13, Pf 22, Chc 65, Chli 49). Изоляты Chc 65 и Chli 49 показали толерантность к разным концентрациям NaCl и при всех pH имели лучший коэффициент выживаемости. У всех изолятов преобладает ß-каротиноидная природа соединений в целевой фракции экстракта, в биомассе шести отмечено максимальное содержание каротиноидов. В опытах *in vitro,* на мышах, удалось установить, что изоляты Chc 65 и Chli 49 при пероральном введении 20 г/кг в максимально возможных объемах и дозах не вызывают гибели животных.

E-mail: dap2189@gmail.com

ДРОЖЖИ В ВУЛКАНИЧЕСКИХ ПОЧВАХ ОСТРОВОВ АТЛАСОВА, ПАРАМУШИР, ОНЕКОТАН И ШУМШУ

Полякова[1,2,3] А.Н., Скоморохова[1] В.В., Шамис[2] А.В., Карпов[3] Д.С., Качалкин[1] А.В.

[1]Кафедра биологии почв, факультет почвоведения, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва
[2]Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Почетного академика Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва
[3]Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва

Вулканические почвы островов Северных Курил остаются малоизученными с точки зрения дрожжевого разнообразия. Цель работы – охарактеризовать дрожжевые группировки верхних горизонтов почв островов Атласова, Парамушир, Онекотан и Шумшу. В работе использовали классические методы микробиологического посева на различные питательные среды: глюкозо-пептонно-дрожжевой агар, среда Эшби, осмофильный агар, олиготрофная среда и минеральная среда, обедненная азотом. Видовую идентификацию выделенных культур выполняли с использованием методов MALDI-TOF MS и секвенирования по Сэнгеру участков ITS1−5.8S−ITS2 и D1/D2 доменов 26S (LSU) рДНК. Всего выделено 173 штамма дрожжей, из них более 40% со среды без азота. На основании сравнения белковых спектров и секвенирования, идентифицировано 26 видов дрожжей, в том числе 1 новый вид рода *Colacogloea* и 1 новый для России вид – *Mrakia hoshinonis*. На островах Атласова и Шумшу в основном встречались представители отдела *Basidiomycota*, в то время как на о. Онекотан – четверть, а на о. Парамушир – треть – составляли аскомицеты. Всего было выделено 19 родов. Общая численность дрожжей в вулканических почвах составила 10^3 – 10^4 КОЕ/г. Наиболее разнообразные группировки обнаружены в вулканических охристых, включая оподзоленные, почвах на о. Парамушир с доминированием родов *Solicoccozyma* и *Candida*. На островах Атласова и Шумшу, в вулканических сухоторфянистых почвах, преобладали дрожжи родов *Leucosporidium* и *Vishniacozyma*. На о. Онекотан, в вулканических слоисто-

пепловых почвах, выявлена наименьшая численность дрожжей с доминированием рода *Solicoccozyma*. Многокомпонентный анализ (PCA) почв по данным обнаруженных родов дрожжей выявил, что первая главная компонента (43% дисперсии) коррелирует с типом почвы и численностью КОЕ/г. Группировки дрожжей островов Парамушир и Шумшу схожи, что связано с общими экологическими факторами среды, тогда как дрожжевые группировки островов Атласова и Онекотан обособлены и разнородны. Только на о. Парамушир обнаружены дрожжи родов *Colacogloea, Yarrowia, Krasilnikovozyma, Debaryomyces, Apiotrichum*. Количество эндемичных видов на о. Парамушир – 14, о. Атласова – 4, о. Шумшу – 2, о. Онекотан – 1. Также острова Парамушир и Шумшу имеют максимальное число общих видов – 4. В результате проведенной работы белковые профили для 173 штаммов внесены в собственную базу MALDI-TOF MS 'Biotyper'. Коллекция дрожжей кафедры биологии почв пополнена 49 культурами.

E-mail: polyakovaan@my.msu.ru

РОЛЬ ТРАНСПОРТЕРОВ СТЕРИНОВ LAM В ПОДДЕРЖАНИИ ПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ И СПОРУЛЯЦИИ ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Соколов С.С., Сурикова Е.Д., Голышев С.А., Смирнова Е.А. и Северин Ф.Ф.

НИИ ФХБ имени А.Н.Белозерского МГУ имени М.В.Ломоносова, Москва

Стерины играют важную роль в барьерных свойствах мембраны, что объясняет их максимальную концентрацию в плазматической мембране (ПМ). В сочетании со сфинголипидами они образуют рафты – участки мембраны с особыми физико-химическими свойствами. Это позволяет мембранным белкам выбирать оптимальное липидное окружение для своей работы, учитывая такие параметры, как толщина и жесткость бислоя. Стерины синтезируются в эндоплазматическом ретикулуме (ЭР) и транспортируются в ПМ с помощью белков семейства Osh, которые обеспечивают активный перенос против градиента концентрации. Белки Lam отвечают за пассивный возврат стеринов из ПМ в ЭР. Мы обсуждаем гипотезу, согласно которой белки Lam переносят избыточные стерины из нерафтовой области ПМ в ЭР, а белки Osh возвращают их обратно на ПМ. Таким образом, совместная работа этих белков может поддерживать поток стеринов из нерафтовой части мембраны в рафты. При снижении концентрации стерина в нерафтовой области активность Lam-белков может уменьшаться из-за увеличения упорядоченности фосфолипидов, что помогает поддерживать гомеостаз концентрации и распределения стерина в ПМ. Также мы обсуждаем данные о влиянии белков Lam в споруляции дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Мы показали, что совместное нарушение четырёх генов *LAM1* - *LAM4*, кодирующих белки, находящиеся в местах контактов ПМ и ЭР, так и нарушение генов *LAM5* и *LAM6*, кодирующих белки, находящиеся в местах контактов ЭР с митохондрией и вакуолью, снижает как долю спорулирующих клеток, так и количество спор в аске. Качество самих спор при нарушении генов *LAM* также снижено, они становятся менее устойчивы к внешним воздействиям. Клеточная стенка спор с нарушенными генами *LAM1* - *LAM4* становится толще и содержит дефекты строения. Возможные механизмы участия белков Lam в формировании спор *S. cerevisiae* обсуждаются.

E-mail: sviatoslav.sokolov@gmail.com

ИЗУЧЕНИЕ ОЛЕОГЕННЫХ ДРОЖЖЕЙ ИЗ ПРИРОДНЫХ СУБСТРАТОВ: ОТ ВЫДЕЛЕНИЯ ДО МОЛЕКУЛЯРНОГО АНАЛИЗА И ОЦЕНКИ ЛИПИДНОГО ПРОФИЛЯ

Черданцев[1,2,3] И.А., Полякова[1,2] А.Н., Белкина[1] П.Д., Карпов[2] Д.С.

[1]Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва
[2]Институт молекулярной биологии имени В. А. Энгельгардта РАН, Москва
[3]Технопарк АНОО «Физтех-лицея имени П. Л. Капицы», Долгопрудный

Олеогенные микроорганизмы, способные накапливать более 20% липидов от сухой массы, представляют собой перспективный источник сырья для производства биотоплива, олеохимии и заменителей растительных масел. В отличие от микроводорослей, которые требуют значительных затрат на освещение, дрожжи являются более экономичной альтернативой. Несмотря на успехи в генной инженерии, ключевым этапом остаётся отбор природных штаммов с высоким естественным потенциалом для накопления липидов. В рамках настоящего исследования было проведено выделение дрожжей из различных природных субстратов, таких как почва, силос, фрукты и молочные продукты. Для выделения использовалась среда YPD с левофлоксацином и ципрофлоксацином, а идентификация штаммов осуществлялась методом MALDI-TOF MS и секвенированием по Сэнгеру участков ITS1−5.8S−ITS2 и D1/D2 доменов 26S (LSU) рРНК. На основе белковых спектров были построены кладограммы, что позволило провести точную классификацию изолятов. Все штаммы прошли физиологические тесты, включавшие в себя проверку на ассимиляцию различных источников углерода и азота, оптимум температуры роста, а также на плавучесть в среде с глицерином в качестве проверки критерия на олеогенность. Изучена скорость роста дрожжей на разных источниках углерода и азота. Культуры, прошедшие отбор по критерию, культивировались в жидкой среде А, и было определено содержание липидов (% от сухой биомассы), биомассы (г/л) и выход липидов (г/л). Состав жирных кислот и триглицеридов анализировался методом FAME с использованием газовой хроматографии. Для выделения перспективных мишеней для генной инженерии и оптимизации условий ферментации были проведены сравнительные транскриптомные и протеомные исследования. В экспериментах использовались различные источники углерода и азота, а также различные фазы роста клеток. Из 140 изолятов, прошедших скрининг, 35 штаммов продемонстрировали значимые биотехнологические характеристики, такие как высокая биомасса (9,78–14 г/л) и содержание липидов (24–62%; 3,38–6,78 г/л). Дополнительно исследованы возможности роста штаммов на ксилозе и глицерине, а также проведены эксперименты по ферментации на отходах производства, таких как свекличная меласса. Для четырёх наиболее продуктивных штаммов было выполнено полногеномное секвенирование, что открыло новые возможности для манипуляций с геномом и оптимизации метаболизма штаммов-продуцентов. Полученные результаты создают основу для дальнейшей разработки генетических инструментов и оптимизации процессов ферментации с целью повышения продуктивности олеогенных дрожжей.

E-mail: igor.cherdancev.2012@gmail.com

ПОСТЕРНЫЕ ДОКЛАДЫ

РОЛЬ ПЕРЕНОСЧИКОВ МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ В ФОРМИРОВАНИИ И ПРОРАСТАНИИ СПОР *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Адамович[1,2] А.М., Кнорре[2] Д.А., Галкина[2] К.В.

[1]Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва
[2]НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

Диплоидные клетки дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* могут формировать споры и в такой покоящейся стадии успешно переживать неблагоприятные условия. Тем не менее, на стадии прорастания, сопровождающейся восстановлением метаболической активности, они могут подвергаться воздействию токсичных соединений из окружающей среды. Вегетативные клетки дрожжей в условиях химического стресса обычно активируют систему множественной лекарственной устойчивости (МЛУ). Система МЛУ включает в себя работу мембранных переносчиков с низкой субстратной специфичностью, которые способны откачивать из клетки широкий спектр химических соединений. Экспрессия этих переносчиков регулируется транскрипционными факторами (ТФ) Pdr1p и Pdr3p, которые, в свою очередь, активируются при попадании в клетку ксенобиотиков. В данной работе мы исследовали роль белков системы МЛУ в формировании и прорастании спор *S. cerevisiae*. Мы показали, что прорастающие споры обладают повышенной устойчивостью к ряду химически различных соединений — менадиону, кофеину и додецилтрифенилфосфонию. Исследование локализации мембранных переносчиков в спорах показало, что MFS-переносчик Flr1 преимущественно ассоциирован с проспоровой мембраной, в то время как другие представители MFS- и ABC-семейств либо не детектируются, либо в основном локализуются в вакуолях. Делеция *FLR1* или *PDR1* и *PDR3* снижает эффективность прорастания спор в условиях воздействия кофеина и флуконазола, а сверхэкспрессия *FLR1* ускоряет его. Эти данные позволяют предположить, что MFS-переносчик Flr1 и контролирующие его ТФ могут играть функционально значимую роль в обеспечении устойчивости спор к химическим стрессам на ранних стадиях прорастания. ТФ Pdr1 и Pdr3 также влияют на количество спор в асках: делеция одновременно *PDR1* и *PDR3*, как и удаление *SPO24* – возможной мишени Pdr1/Pdr3, увеличивает долю аномальных асков, с тремя спорами вместо четырех. Комбинированные делеции *PDR1, PDR3* и *SPO24* не усиливают фенотип, что предполагает участие Spo24 в опосредованном влиянии Pdr1/Pdr3 на споруляцию. В совокупности наши данные показывают, что гены МЛУ влияют как на созревание, так и на прорастание спор пекарских дрожжей.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ, проект № 24-74-00050.

E-mail: adamovich.arina@gmail.com

БИОИНФОРМАТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ АЛЬФА-ХАРПИНИНОВ РАСТЕНИЙ КАК ОСНОВА ПРЕДСКАЗАНИЯ ИХ ФУНКЦИОНАЛА

Ахмедзянов[1] М.А., Рогожин[2,3] Е.А.

[1]Московский физико-технический институт, Москва
[2]Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
[3]Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин

Ввиду того, что существует необходимость в постоянном поиске новых антимикробных соединений, идёт непрерывный анализ новых кандидатных молекул, которые могут обладать такими свойствами. Одной из таких групп природных веществ может являться семейство защитных пептидов растений - альфа-харпинины, или харпино-подобные пептиды. Они характеризуются небольшим размером (30-50 а.к.о.), как правило, обладают суммарным небольшим положительным зарядом и амфифильностью структуры. Так же им свойственен цистеиновый мотив $C_1XXXC_2XnC_3XXXC_4$, где X – любой аминокислотный остаток, n – число а.к.о. от 6 до 20. Пространственная структура представлена следующими элементами: N- и C- концы не структурированы, две антипараллельные α-спирали, стабилизированные цистеиновыми мостами, соединённые через β-поворот. Таким образом, сохраняет свою актуальность задача по определению всех возможных активностей и биотехнологического потенциала пептидов данного структурного семейства. В данной работе были использованы следующие методы: MSA с помощью MEGA12, наложение пространственных структур с изучение распределения поверхностей с одинаковым зарядом (PyMol), а также предсказание сайтов связывания с лигандамина основе терминов GO с помощью инструментов сервиса I-TASSER. Первые два метода использовались для определения консервативной последовательности альфа-харпининов, ответственной за реализацию биологической активности. Представление о терминах GO может указать на определенные процессы, в которых могут быть задействованы альфа-харпинины, а их лиганды – на возможные молекулярные мишени. В результате для природных альфа-харпининов была получена консенсусная последовательность…CXXXCXR(H)R(H)…E(D)..R(H)…XCXXXC…, а также определены термины GO, возможные лиганды. Отдельно стоит отметить следующие лиганды: нуклеиновые кислоты (EcAMP1 и EcAMP3 из семян ежовника *Echonochloa crusgalli*). Также определён ряд терминов GO, которые могут быть связаны с ингибированием биосинтеза белка.

E-mail: sssaa33@mail.ru

ПОЛУЧЕНИЕ ОЛЕОГЕННЫХ ШТАММОВ ДРОЖЖЕЙ АУКСОТРОФНЫХ ПО ОЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЕ В КАЧЕСТВЕ ПРОДУЦЕНТОВ НАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ

Баринова И.О., Кулагин К.А., Карпов Д.С.

Институт молекулярной биологии имени В. А. Энгельгардта РАН, Москва

Широко известно, что дрожжи используются для получения микробиологического масла, т.к. дрожжи синтезируют триацилглицерины, которые по составу схожи с растительными маслами, и являются простой и дешевой моделью для получения продуктов биотехнологического производства. Особую значимость имеют олеогенные дрожжи, т.к. они способны накапливать в себе более 20% липидов, а некоторые штаммы способны

накапливать до 60% липидов сухого веса в условиях, ограничивающих содержание азота. Примерно 90-95% накапливаемых липидов составляют триглицериды. В промышленном производстве гидролизом триглицеридов получают жирные кислоты. Источником жирных кислот в России служат в основном растительные масла, которые обеднены насыщенными жирными кислотами. Эволюционированные штаммы дрожжей потенциально могут служить источниками насыщенных жирных кислот. Олеогенные штаммы дрожжей накапливают в триглицеридах преимущественно олеиновую (C18:1) кислоту (около 60%), тогда как доля насыщенных жирных кислот составляет несколько процентов, поэтому природные штаммы олеогенных дрожжей не могут служить хорошими продуцентами насыщенных жирных кислот. Δ9-десатураза является ключевым ферментом, превращающим стеариновую (C18:0) кислоту в олеиновую и тем самым препятствуя накоплению насыщенных жирных кислот. Следовательно, снижение активности этого фермента должно повысить содержание насыщенных жирных кислот в триглицеридах олеогенных штаммов. В экспериментах использовали штаммы *Vanrija albida* и *Rhodotorula babjevae*, выделенные из природных источников и накапливающие жир не менее 50% от сухого веса. Выбранные штаммы подвергали случайному мутагенезу с использованием 4-нитрохинолин-1-оксида и метилметансульфоната, в концентрациях, вызывающих гибель не менее 90% клеток от исходного количества в культуре. Жидкие культуры штаммов, обработанные мутагенами, высевали на чашки с питательной средой с добавлением олеиновой кислоты 0,3% по объему. Выросшие колонии переносили также на чашку Петри с питательной средой, не содержащей олеиновую кислоту. Колонии, не способные расти или растущие медленно на питательной среде без олеиновой кислоты, проявляли фенотип ауксотрофности по олеиновой кислоте. В результате получены штаммы, проявляющие фенотип частичной ауксотрофии по олеиновой кислоте. Обнаружено, что повышение содержания олеиновой кислоты до 0,5% по объёму стимулирует рост полученных ауксотрофных штаммов. Мы ожидаем, что нарушение синтеза олеиновой кислоты в полученных мутантных штаммах должно быть сопряжено с накоплением насыщенных жирных кислот.

E-mail: irina.barinova.98@mail.ru

КАЛЬЦИНЕВРИН ОПОСРЕДУЕТ ТОКСИЧНОСТЬ SDS ДЛЯ ДРОЖЖЕЙ *OGATAEA PARAPOLYMORPHA*, УЧАСТВУЯ В РЕГУЛЯЦИИ КАЛЬЦИЕВОГО ГОМЕОСТАЗА И АКТИВАЦИИ СИГНАЛЬНОГО ПУТИ HOG

Бидюк В.А., Пахомова М.Д., Кулакова М.В., Каргинов А.В., Агафонов М.О.

Институт биохимии имени А.Н. Баха ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

Дрожжи широко применяются для получения рекомбинантных белков благодаря способности к эукариотическому посттрансляционному процессингу. Однако введение мутаций для предотвращения нежелательного N- и O-гликозилирования часто сопровождается побочными эффектами, включая повышенную чувствительность к детергентам, в том числе к додецилсульфату натрия (SDS). Ранее этот фенотип объяснялся ослаблением клеточной стенки и мембраны, приводящим к клеточному лизису. Тем не менее, на модели дрожжей *Ogataea parapolymorpha* было показано, что SDS вызывает поступление кальция из внешней среды в цитозоль. Повышенная чувствительность к этому детергенту в ряде случаев обусловлена неспособностью клеток эффективно снижать концентрацию кальция в цитозоле. Кроме того, установлено, что воздействие SDS приводит к активации MAP-киназы Hog1, а инактивация кодирующего ее гена снижает чувствительность клеток к SDS. Поскольку в регуляции клеточного ответа на повышение уровня кальция в цитозоле участвует кальций/кальмодулин-зависимая фосфатаза кальциневрин, мы предположили, что

чувствительность дрожжей к SDS может быть связана с активацией этого белка. Чтобы проверить это, в настоящем исследовании было изучено влияние ингибитора кальциневрина циклоспорина А на чувствительность мутантов с нарушенным гликозилированием белков к SDS, а также на активацию протеинкиназы Hog1. Добавление циклоспорина А значительно снижало токсичность SDS как для клеток дикого типа, так и для мутантов по гликозилированию. При этом у мутантов *abv2Δ*, *pmt4Δ* и *ocr1Δ* защитный эффект циклоспорина менее выражен. Кроме того, циклоспорин А ослаблял активацию Hog1 в ответ на воздействие SDS, что свидетельствует об участии кальциневрина в модуляции активности этого сигнального пути. Таким образом, ингибирование кальциневрина повышает устойчивость дрожжевых клеток к SDS и ослабляет клеточный стресс-ответ, подтверждая ключевую роль кальциевого гомеостаза в механизме действия SDS.
Работа выполнена при поддержке гранта РНФ №24-14-00090.

E-mail: victoria.bidiuk@gmail.com

СИСТЕМНЫЙ ПОИСК ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ И УСТОЙЧИВОСТИ К ПРОТОНОФОРАМ МЕТОДОМ BARSEQ

Бурлака[1,2] *А.А., Галкина*[2] *К.В., Азбарова*[2] *А.В., Кнорре*[2] *Д.А.*

[1]Факультет Биоинженерии и Биоинформатики, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва
[2]НИИ физико-химической биологии, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

Протонофоры разобщают дыхание и фосфорилирование, что перспективно для терапии, например, ожирения. Однако большинство этих соединений обладают выраженной токсичностью. Для системного поиска генов, ответственных за чувствительность или устойчивость к протонофорам, использовали метод хемогенетического скрининга. Делеционная коллекция дрожжей (YKOC) включает порядка 5000 штаммов с инактивированными генами, каждый из которых отмечен уникальным нуклеотидным баркодом. Обработка пула штаммов YKOC химическими агентами позволяет выявить штаммы, проявляющие повышенную чувствительность или устойчивость к изучаемому веществу. Для анализа ДНК выделяют из состава штаммов до и после роста с веществом, затем амплифицируют участки, содержащие баркоды, и секвенируют их с помощью технологий NGS. Анализ частоты баркодов позволил определить скорость роста каждого штамма в смешанной культуре. Мы провели хемогенетический скрининг трёх протонофоров – FCCP, пентахлорофенола (PCP) и никлозамида – и с помощью разработанного алгоритма рассчитали скорости роста и статистическую значимость изменений по сравнению с контролем. По данным скрининга выявили снижение скорости роста делеционных штаммов, не способных к дыханию, что подтверждает их чувствительность к протонофорам. В связи с изученностью и большой силой этого эффекта они были исключены из исследования. Измерение скорости роста отобранных индивидуальных штаммов YKOC на планшетном спектрофотометре показало, что делеции генов *ARO2*, *ARO7* (ароматические а.к.), *IPK1* (фосфоинозитол киназа), *DAL81* (катаболизм азота), *SNG1* (устойчивость к 6-азоурацилу) снижают скорость роста с PCP, но не с FCCP. Делеция *RPS0B* (рибосомальный ген) вызывает устойчивость к обоим протонофорам, а *YPT6* (везикулярный транспорт) – приводит к снижению скорости роста, в том числе в независимом делеционном штамме.
Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 22-14-00108-П

E-mail: zok.miodov.27@gmail.com

ИЗУЧЕНИЕ ЭНДОЛИЗИНА LYSSTE134 И ПОЛУЧЕНИЕ ХИМЕРНЫХ FC-СЛИТЫХ ВАРИАНТОВ

Голосова Н.Н., Морозова В.В., Козлова Ю.Н., Хлусевич Я.А., Тикунова Н.В., Матвеев А.Л.

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

Фаговые белки, эндолизины, рассматривают в качестве потенциальных антибактериальных средств на фоне нарастающей проблемы множественной антибиотикорезистентности бактерий. Эндолизины гидролизуют различные связи в пептидогликане бактериальной клеточной стенки, что приводит к лизису бактерии. Ранее был получен рекомбинантный эндолизин LysSte134 бактериофага *Staphylococcus epidermidis.* Активность эндолизина была обнаружена как *in vitro*, обработка планктонных культур *S. epidermidis* и *S. aureus* эндолизином (25 мкг/мл) привела к 50-кратному снижению количества клеток, причем добавление 1 мкМ ионов Zn^{2+} повышало активность почти в 1000 раз, так и *in vivo* на мышиной модели раневой инфекции. Трехкратная обработка ран LysSte134 (50 мкг/мышь при инфекции, вызванной *S. aureus* и 25 мкг/мышь при *S. epidermidis)* снижала количество бактериальных клеток в смывах ран в более чем 100 раз. Из-за низкого молекулярного веса LysSte134 обладает быстрым периодом полувыведения. В связи с этим для увеличения периода полувыведения были получены плазмиды pSB-Fc_LysSte134 и pSB-Fc_LysSte134_CBD, которые кодируют химерные белки, содержащие полноразмерный эндолизин или CBD (домен связывания клеточной стенки) слитые с Fc-фрагментом IgG1. Далее были получены клоны-продуценты CHO-S/ Fc_LysSte134 и CHO-S/Fc_LysSte134_ CBD. Белки Fc_LysSte134 и pSB-Fc_LysSte134_CBD были наработаны и очищены с помощью аффинной хроматографии. Химерный белок Fc_LysSte134 также проявлял активность *in vitro* относительно клеточной стенки и планктонной культуры *S. aureus.* Продемонстрирована активность эндолизина LysSte134 *in vitro* и *in vivo*, а также получены химерные белки Fc_LysSte134 и Fc_LysSte134_ CBD.
Исследование выполнено при поддержке РНФ №23-74-10105.

E-mail: n.golosova@g.nsu.ru

УЛУЧШЕННЫЕ ГЕНОМНЫЕ РЕДАКТОРЫ НА ОСНОВЕ *S. PYOGENES* CAS9 С МУТАЦИЯМИ В PAM-СВЯЗЫВАЮЩЕМ ДОМЕНЕ

Давлетшин А. И., Тютяева В. В., Андреева А. А., Гарбуз Д. Г., Карпов Д. С.

Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта, Москва

Прокариотические системы CRISPR/Cas используются для редактирования генома как в фундаментальной науке, так и в биотехнологии. Наиболее изученной, простой и эффективной системой является CRISPR/Cas9 типа IIA из *Streptococcus pyogenes*. Однако CRISPR/Cas-редакторы имеют ряд ограничений, включая недостаточную специфичность, приводящую к появлению внецелевых мутаций в геноме, и зависимость активности от структуры хроматина. В настоящее время получен ряд высокоспецифичных вариантов Cas9, однако большинство из них характеризуется пониженной активностью на эукариотическом хроматине. Ранее нами обнаружена мутация в PAM-связывающем домене Cas9 *S. pyogenes*, которая повышает активность как Cas9 дикого типа, так и его высокоточных вариантов. Представляет интерес выяснить возможет ли мутагенез других участков PAM-связывающего домена, чтобы увеличить активность высокоточных вариантов Cas9 *S. pyogenes.* Цель работы – повышение активности у высокоточных вариантов Cas9 *S. pyogenes* путем рационального

мутагенеза в PAM-связывающем домена. Потенциальные участки PAM-связывающем домена для дальнейшего мутагенеза выявляли с использованием подходов структурной биоинформатики. Оценку активности и специфичности новых вариантов Cas9 проводили в разработанной нами тест-система на основе дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и гена-мишени *ADE2*, кодирующего один из ферментов биосинтеза аденина. В результате выполнения работы выявлен пространственный кластер аминокислотных остатков в PAM-распознающем домене Cas9 *S. pyogenes*, мутации которого восстанавливают активность одной из высокоспецифичных форм SpyCas9, не снижая ее активности в дрожжах *S. cerevisiae*. Кроме того, одна из этих новых мутаций также повышает эффективность SpyCas9-опосредованного редактирования сайта, локализованного на стабильной нуклеосоме. Полученные нами улучшенные варианты Cas9, способные редактировать труднодоступные участки генома дрожжей, могут помочь как в фундаментальных исследованиях, так и в биотехнологических применениях дрожжей.

E-mail: aleom@yandex.ru

ВУЛКАНИЧЕСКИЕ ПОЧВЫ СЕВЕРНЫХ КУРИЛ: БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ ДРОЖЖЕВОГО БИОРАЗНООБРАЗИЯ

Долматова[1,2] А.И., Полякова[1,2] А.Н., Катунина[2] И.В., Качалкин[1] А.В., Карпов[2] Д.С.

[1]МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва
[2]Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва

Малоизученные вулканические почвы Северных Курил могут являться средой обитания биотехнологически ценных олеогенных дрожжей. Цель работы – охарактеризовать дрожжевые группировки верхних горизонтов почв островов Парамушир и Шумшу и оценить их способность накапливать липиды. В работе использовали классические методы микробиологического посева на различные питательные среды: глюкозо-пептонно-дрожжевой агар, среда Эшби, картофельный агар, олиготрофная среда, осмофильный агар, «голодный агар», приготовленный в результате разведения образцов исследованных почв, и среда, обедненная азотом, для селективного выделения олеогенных дрожжей. Видовую идентификацию выделенных культур выполняли с использованием метода MALDI-TOF MS, а способность к накоплению липидов проверяли с помощью теста на «плавучесть» в 20% глицерине. Всего выделено 60 штаммов дрожжей, из них 37% с голодного агара, а 25% с олиготрофной среды. По результатам MALDI-TOF MS идентифицировано 9 видов. На островах Парамушир и Шумшу в основном встречались представители отдела *Basidiomycota*. Всего было выделено 8 родов. Общая численность дрожжей в вулканических почвах составила 10^3–10^4 КОЕ/г. В вулканических торфянисто-перегнойных почвах на о. Парамушир обнаружены дрожжевые группировки с доминированием родов *Debaryomyces* и *Rhodotorula*. Также встречались дрожжи рода *Papiliotrema*. На острове Шумшу, в вулканических сухоторфянистых почвах, преобладали дрожжи родов *Leucosporidium* и *Rhodotorula*. Из исследованных дрожжевых штаммов 25 (42%) показали положительный результат в тесте на плавучесть в 20% глицерине. Эти штаммы отобраны для дальнейшего анализа состава жирных кислот методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией (ГХ-МС). Данный этап направлен на выявление штаммов с повышенным содержанием липидов, перспективных для биотехнологических применений. В результате проведенной работы белковые профили для 60 штаммов внесены в собственную базу MALDI-TOF MS ‘Biotyper’.

E-mail: alicedol@yandex.ru

ВЛИЯНИЕ МУТАЦИЙ В ГЕНЕ *UPF1* НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ НОНСЕНС-МУТАНТОВ ПО ГЕНАМ *SUP45* И *SUP35* У ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIA*Е

Землянко О.М., Кадысева А.А., Матвеенко А.Г., Журавлева Г.А.

Санкт-Петербургский Государственный Университет. г. Санкт-Петербург

У эукариот терминация трансляции осуществляется факторами eRF1 и eRF3, у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* их кодируют жизненно важные гены *SUP45* и *SUP35* соответственно. Помимо снижения точности терминации трансляции, мутации в генах *SUP45* и *SUP35* имеют ряд плейотропных эффектов, в том числе снижение жизнеспособности клеток. В нашей лаборатории были получены коллекции жизнеспособных нонсенс-мутантов как по гену *SUP45,* так и *SUP35.* Ранее в нашей лаборатории было показано, что делеции генов *UPF1* и *UPF2* влияют на эффективность замещения плазмид с геном *SUP45* на плазмиды с мутантными аллелями *sup45-n* на фоне хромосомной дизрупции этого гена, то есть улучшают жизнеспособность мутантов по гену *SUP45.* Кроме того было показано, что мутации *sup45* и *sup35* приводят к стабилизации мРНК с преждевременными стоп-кодонами, также как и делеция *UPF1*. Это может свидетельствовать о том, что мутации в генах, кодирующих факторы терминации трансляции, влияют не только на точность синтеза белка, но и на стабильность мРНК. Известно, что факторы терминации работают в комплексе eRF1 : eRF3 : GTP : Mg^{2+}, при этом eRF1 взаимодействует с Upf1, тогда как eRF3 может взаимодействовать с Upf1, UpF2 и Upf3, а также с Pab1 (poly(A)_binding protein). В нашей работе методом проточной цитофлуорометрии было показано, что жизнеспособность клеток дрожжей с мутантными аллелями *sup45-105* и *sup35-218* в 3-4 раза ниже, чем у клеток с аллелями дикого типа. Мы показали, что на фоне делеции гена *UPF1* жизнеспособность мутантов *sup45-105* и *sup35-218* не отличается от клеток дикого типа. В данной работе мы проверили влияние точковых мутаций *upf1*, затрагивающих как цистеин- и гистидин-содержащую область, так и АТФазный-геликазный участок Upf1. Мы показали, что мутации, затрагивающие различные функциональные домены белка Upf1 оказывают разное влияние на жизнеспособность клеток с мутантными факторами терминации трансляции. Это может быть обусловлено нарушением взаимодействия белков NMD и факторов терминации.
Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 23-14-00063, с использованием оборудования РЦ РМиК СПбГУ.

E-mail: o.zemlyanko@spbu.ru

ЭФФЕКТИВНАЯ ОПТИМИЗАЦИЯ CRISPR/MAD7-ОПОСРЕДОВАННОГО ОДНОВРЕМЕННОГО РЕДАКТИРОВАНИЯ НЕСКОЛЬКИХ ГЕНОМНЫХ ЛОКУСОВ ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Карпухин А.Д., Сливинская Е.А., Гронский С.В.

Акционерное общество «Ajinomoto- Genetika Research Institute», Москва

Применение технологий на основе CRISPR/CAS для редактирования генома дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* позволяет с высокой эффективностью модифицировать несколько геномных локусов одновременно. Одним из CAS-ферментов, способных обеспечить эффективное множественное редактирование, является нуклеаза MAD7, которая благодаря ряду уникальных свойств представляет собой перспективную альтернативу традиционно используемой нуклеазе Cas9. В частности, MAD7 распознаёт PAM-последовательность вида

5'-TTTV, в то время как Cas9 распознаёт 5'-NGG. Кроме того, MAD7 обладает способностью самостоятельно процессировать направляющие РНК. Эти особенности обеспечивают расширение спектра потенциальных участков для редактирования и упрощают реализацию мультиплексного редактирования генома. Вместе с тем, реализация множественных модификаций при помощи систем CRISPR/CAS обычно сопряжена с необходимостью выполнения следующих трудоёмких подготовительных этапов: - создание промежуточного штамма, продуцирующего нуклеазу, до проведения редактирования; - сборка плазмиды, содержащей генетическую конструкцию для экспрессии нескольких направляющих РНК; - окружение интегрируемых ДНК-фрагментов протяжёнными последовательностями, служащими для рекомбинации с целевым локусом. Целью настоящей работы была оптимизация процедуры CRISPR/MAD7-опосредованного одновременного редактирования нескольких геномных локусов. В результате была разработана стратегия, исключающая ранее необходимые подготовительные этапы и тем самым существенно ускоряющая процесс мультиплексного редактирования генома. В рамках разработанной стратегии времязатратные шаги могут быть исключены как по отдельности, так и в различных сочетаниях. Совместное применение предложенной стратегии и нуклеазы MAD7 позволяет расширить спектр доступных для редактирования геномных локусов, а также существенно сократить временные затраты на выполнение трудоёмких задач, связанных с редактированием генома *S. cerevisiae*.

E-mail: Alexey_Karpukhin@agri.ru

РОЛЬ *PDR5* В КОЛЛЕКТИВНОЙ ЗАЩИТЕ КЛЕТОК ДРОЖЖЕЙ ОТ ЛИПОФИЛЬНЫХ КСЕНОБИОТИКОВ

Киреева Н.А., Галкина К.В., Соколов С.С., Кнорре Д.А.

Институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

Основной механизм защиты клеток от ксенобиотиков заключается в работе мембранных переносчиков, обеспечивающих множественную лекарственную устойчивость (МЛУ). Ранее мы показали, что в плотных суспензиях дрожжей сверхчувствительные клетки способны поглощать полиеновые макролиды, защищая остальные клетки. Это происходит за счёт того, что большая часть токсичного вещества адсорбируется на мембранах погибающих сверхчувствительных клеток, из-за чего его концентрация в среде снижается. Здесь мы расширили наши наблюдения, изучая воздействие додецилтрифенилфосфониума (C_{12}TPP) на суспензии дрожжей. C_{12}TPP – высокогидрофобный липофильный катион, субстрат транспортеров МЛУ и индуктор генов *PDR*. Липофильные катионы используются в составе химерных молекул для доставки активных соединений в митохондрии и проявляют широкую антимикробную активность. Их токсичность сильно зависит от плотности клеток, поэтому добавление любых клеток к суспензии контрольных клеток значительно увеличивает их устойчивость к C_{12}TPP. При этом, добавление живых клеток, у которых работают мембранные помпы, слабо защищает контрольные клетки от C_{12}TPP, в отличие от мертвых клеток, убитых тепловым шоком. Клетки с делетированными генами *PDR1* и *PDR3*, то есть, с пониженной активностью *PDR*, были более эффективны в обеспечении устойчивости соседних клеток. Это говорит о том, что повышенная активность *PDR* увеличивает приспособленность отдельной клетки за счёт остальных клеток в суспензии. Учитывая, что дрожжевые клетки в природе в основном размножаются клональными популяциями, образуя колонии, неблагоприятное воздействие генов *PDR* на сообщество могло существенно повлиять на эволюцию механизмов их регуляции. Мы предполагаем, что межклеточная

гетерогенность Pdr5p может быть одним из последствий разнонаправленного воздействия активности этого белка на саму клетку и ее клоны.
Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 23-14-00172.

E-mail: kireeva.natale@gmail.com

ДЕФЕКТЫ *N*-ГЛИКОЗИЛИРОВАНИЯ БЕЛКОВ В СЕКРЕТОРНОМ ПУТИ СНИЖАЮТ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ОРТОВАНАДАТУ У МУТАНТОВ *OGATAEA POLYMORPHA* С НАРУШЕННЫМ ФОСФОМАННОЗИЛИРОВАНИЕМ

Пахомова М.Д., Каргинов А.В., Кулакова М.В., Агафонов М.О.

Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», Москва

Высокая устойчивость к ортованадату дрожжей *Ogataea polymorpha* обеспечивается регуляцией экспрессии транспортеров фосфата, связанной с фосфоманнозилированием белков в секреторном пути, которое катализируется трансферазой маннозилфосфата Abv1, гомологом Mnn4 *Saccharomyces cerevisiae*. В геноме *O. polymorpha* содержится еще один гомолог гена *MNN4 S. cerevisiae*, роль которого оставалась не изученной. Целью исследования было определить, связано ли снижение устойчивости к ортованадату у мутантов с нарушением гена *ABV1* непосредственно с фосфоманнозилированием или другие модификации гликозидных цепей белков также могут влиять на транспорт фосфата. Показано, что нарушение гена *MNN4 O. polymorpha* не приводит к заметным физиологическим проявлением. Был проведен УФ-мутагенез штаммов *abv1-Δ* и *abv1-Δ mnn4-Δ*. В результате получены мутанты, устойчивые к ванадату. В ходе изучения электрофоретической подвижности модельного гликопротеида показано, что у некоторых мутантов изменяется размер N-гликозидных цепей. В отличие от мутантов, полученных на основе штамма *abv1-Δ*, у мутантов, полученных на основе штамма *abv1-Δ mnn4-Δ*, также было выявлено изменение электрофоретической подвижности секретируемой хитиназы, содержащей только O-гликозиды. Направленная инактивация гена *OCH1*, кодирующего α-1,6-маннозилтрансферазу, в штамме *abv1-Δ* увеличила устойчивость к ортованадату, в то время как инактивация *MNN4* в штамме *abv1*-Δ *och1*-Δ ее снизила. Дефекты N-гликозилирования белков в секреторном пути мутантов *O. polymorpha* с нарушенным фосфоманнозилированием могут приводить к повышению устойчивости к ортованадату. Проявления мутаций, нарушающих гликозилирование, могут сильно различаться в штамме с нарушением гена *ABV1* и в штамме с нарушением обоих генов, *ABV1* и *MNN4*, ответственных за фосфоманнозилирование.
Работа выполнена при поддержке РНФ (проект № 24-14-00090).

E-mail: mari.pakhomova.99@mail.ru

СРАВНЕНИЕ СВОЙСТВ РЕПОРТЕРНЫХ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ БЕЛКОВ FUGFPB И YEGFP В ДРОЖЖАХ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Поряднева Е.О., Хованкина А.В., Сабирзянов Ф.А.

АО «Научно-исследовательский институт Аджиномото-Генетика» (АО «АГРИ»), Москва

Флуоресцентные репортерные белки широко используются в биологических исследованиях. fuGFPb является синтетическим флуоресцентным репортерным белком, представленным на международном конкурсе iGEM в качестве альтернативы sfGFP в 2022 году. Несмотря на высокий уровень экспрессии в бактериях, в *S. cerevisiae* fuGFPb уступает по уровню флуоресценции широко используемому в дрожжах белку yEGFP. Разный уровень флуоресценции может быть связан с удельной яркостью белков, количеством белка и/или мРНК, скоростями созревания и деградации белков. Для сравнения удельной яркости мы провели гиперэкспрессию и аффинную очистку fuGFPb и yEGFP с His-меткой из дрожжевой культуры. Очищенные флуоресцентные белки сходны по удельной яркости (33,4 для fuGFPb; 33,5 для yEGFP), хотя и имеют небольшие различия в спектрах поглощения и возбуждения. На основе измерения кинетики накопления флуоресценции нами было замечено, что времена появления флуоресцентного сигнала близки по значению, поэтому мы предполагаем, что время созревания белков fuGFPb и yEGFP будет сходным. Скорость накопления флуоресценции свидетельствует о различии в количестве производимого флуоресцентного белка за единицу времени. Это может быть связано с уровнем мРНК или эффективностью трансляции. При измерении относительной экспрессии генов флуоресцентных белков (нормализованной по экспрессии гена актина) с помощью ОТ-кПЦР мы обнаружили, что уровень мРНК у fuGFPb в 5 раз ниже, чем у yEGFP. Использование идентичной конструкции экспрессионной кассеты (одинаковые промотор и терминатор) позволяет полагать, что разница в уровнях мРНК отображает, в первую очередь, различие в стабильности мРНК. Сниженная флуоресценция белка fuGFPb в дрожжевых клетках по сравнению с yEGFP объясняется меньшим уровнем синтеза нового белка из-за разницы в экспрессии соответствующей мРНК. Оптимизация кодонов fuGFPb с целью увеличения стабильности мРНК может потенциально увеличить уровень флуоресценции в *S. cerevisiae*.

E-mail: fanis_sabirzyanov@agri.ru

ПРОТОЧНАЯ ЦИТОМЕТРИЯ ПОЗВОЛЯЕТ ДЕТЕКТИРОВАТЬ НАКОПЛЕНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК В КЛЕТКАХ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* ПРИ АРЕСТЕ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА

Потапенко Е.Ю., Кашко Н.Д., Кнорре Д.А.

НИИ ФХБ им. А. Н. Белозерского МГУ, Москва

Митохондрии являются полуавтономными органеллами, содержащими собственную митохондриальную ДНК (мтДНК), которая реплицируется независимо от ядерной ДНК (яДНК). Так, в условиях остановки клеточного цикла клетки не могут могут делиться и яДНК не реплицируется, но клетка продолжает расти и реплицировать мтДНК, что может привести к изменению соотношения количества копий ядерного и митохондриального геномов. Проточная цитофлуориметрия позволяет полуколичественно оценивать количество мтДНК в клетках дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Для этого фиксированные клетки окрашивают ДНК-интеркалирующим красителем, после чего количество мтДНК оценивают по разнице сигнала от клеток, лишенных мтДНК, и клеток, содержащих мтДНК. В этом исследовании с помощью

проточной цитофлуориметрии мы оценили накопление мтДНК в дрожжевых клетках в условиях остановки клеточного цикла в фазах G1 и G2, используя термочувствительные мутанты *cdc4-3* и *cdc15-2*. В соответствии с предыдущими исследованиями, остановка клеточного цикла привела к многократному накоплению мтДНК у обоих мутантов. Количество тотальной ДНК в арестованных клетках коррелировало с прямым светорассеянием клеток. Это указывает на связь между количеством мтДНК в отдельных клетках и их размером. В клетках с остановленным клеточным циклом мы не наблюдали корреляции между размером клеток и вариабельностью числа копий мтДНК в отдельных клетках. Это означает, что во время остановки клеточного цикла по мере увеличения размера клеток содержание мтДНК остаётся в определённом ограниченном диапазоне для каждого размерного класса. Это наблюдение предполагает, что механизмы контроля количества мтДНК могут функционировать в клетках с остановленным клеточным циклом.
Работа выполнена при поддержке гранта РНФ №22-14-00108-П

E-mail: s16b2_potapenko@179.ru

КОМПЛЕМЕНТАЦИЯ РОСТА ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* С НАРУШЕНИЕМ СИНТЕЗА УБИХИНОНА Q6 ЭКЗОГЕННЫМИ ХИНОНАМИ

Сурикова[1,2] Е.Д., Кнорре[2] Д.А., Галкина[2] К.В.

[1]Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва
[2]НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

Убихиноны – группа парабензохинонов, содержащих хиноидную группу и несколько изопреновых групп, и характеризующаяся способностью принимать и отдавать электроны, что определяет их функции в клетках эукариот как переносчиков электронов в дыхательной цепи митохондрий. Нарушение синтеза убихинона человека Q10 вызывает различные патологические состояния. Оральная саплементация препаратами убихинона показывает противоречивые результаты, что может быть вызвано низкой биодоступностью крупной и чрезвычайно гидрофобной молекулы Q10. Число остатков изопрена в боковой цепи убихинона видоспецифично и отражено в названии хинона, дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* производят Q6. Штаммы *S.cerevisiae* с делециями генов COQ, чьи продукты ответственны за синтез Q6, не способны расти на средах с несбраживаемыми источниками углерода без добавления экзогенного хинона. Было показано, что комплементация изолированных митохондрий *S.cerevisiae* с нарушенным синтезом убихинона децилубихиноном, используемым в терапии аналогом Q10, восстанавливает митохондриальное дыхание, но вещество не восстанавливает рост дрожжей. Мы предположили, что децилубихинон может быть субстратом переносчиков множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) дрожжей и потому не достигает внутренней мембраны митохондрий в необходимой концентрации. Трансмембранные переносчики МЛУ обладают широкой субстратной специфичностью и активируются транскрипционными факторами Pdr1/Pdr3. Для того чтобы проверить является ли децилубихинон субстратом переносчиков МЛУ, мы разработали протокол комплементации штаммов с нарушенным синтезом Q6 экзогенными хинонами и проверили способность децилубхинона и Q1, а также Q2, Q4 и Q6 для сравнения, восстанавливать рост штаммов Δcoq1 и Δcoq1Δpdr1Δpdr3.

Согласно нашим результатам децилубихинон не восстанавливает рост обоих штаммов, тогда как Q1 комплементирует рост и того и другого штамма, что предполагает отсутствие роли МЛУ в усвоении экзогенного убихинона дрожжами *S.cerevisiae*.
Исследование выполнено в рамках государственного задания МГУ имени М.В.Ломоносова (АААА-А19-119031390114-5).

E-mail: SurikovaED@gmail.ru

ВЛИЯНИЕ МЕХАНИЗМОВ РЕГУЛЯЦИИ АТФАЗНОЙ АКТИВНОСТИ АТФ-СИНТАЗЫ НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ И РОСТ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Тимошкова[1] А.М., Третьяков[1,2] Д.О., Фенюк[1,2] Б.А.

[1] Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Факультет Биоинженерии и Биоинформатики, Москва
[2] Институт физико-химической биологии имени А. Н. Белозерского, МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

Митохондриальная F_0F_1-АТФ-синтаза синтезирует АТФ за счет трансмембранного потенциала, создаваемого дыхательной цепью. При его снижении фермент гидролизует АТФ, действуя как АТФаза. Использовались дрожжевые штаммы с делецией генов ингибиторов (Stf1p, Inh1p) и мутацией atp2-Q263L, ослабляющей АДФ-зависимое ингибирование АТФазы. Эти механизмы, вероятно, предотвращают гидролиз АТФ. Изучалось влияние их нарушения на рост и выживание дрожжей в условиях энергетического стресса. Использовались штаммы дикого типа и мутанты в двух вариациях: Rho^+ (с мтДНК) и Rho^0 (без мтДНК). Были проведены эксперименты по оценке скорости роста клеток в присутствии различных митохондриальных разобщителей. Также изучалось влияние энергетической депривации на выживаемость клеток исследуемых штаммов в присутствии азида натрия (NaN_3) или 2,4-динитрофенола (DNP) в комбинации с 2-дезокси-D-глюкозой (DOG) - ингибитора гликолиза. Штаммы Rho^+ растут быстрее, чем Rho^0. Нарушение регуляции АТФазной активности повышает рост Rho^0 и снижает рост Rho^+. Деэнергизация мембраны сильнее подавляет рост Rho^0, чем Rho^+. Ни ослабление АДФ-зависимого ингибирования, ни потеря белков-ингибиторов по отдельности не влияет на рост при деэнергизации. Устойчивость Rho^0 повышается только при одновременной инактивации обоих механизмов. Различия в скорости роста при энергетическом стрессе, вызванном разобщением, были более выражены, чем различия в выживаемости.

E-mail: timoshkova.aleksandra@gmail.com

ЭФФЕКТЫ ЗАМЕН В КАТАЛИТИЧЕСКОМ G-ДОМЕНЕ ФАКТОРА ТЕРМИНАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ eRF3 *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Трубицина Н.П., Москаленко С.Е., Журавлева Г.А.

Кафедра генетики и биотехнологии, Санкт-Петербургский государственный университет, Санк-Петербург

Терминация трансляции у эукариот осуществляется факторами eRF1 и eRF3: eRF1 узнает стоп-кодон и высвобождает полипептид из рибосомы, а ГТФаза eRF3 стимулирует его активность. У дрожжей *S. cerevisiae* фактор eRF3 (Sup35) кодирует жизненно важный ген

SUP35. В настоящей работе мы показали, что полученные ранее в нашей лаборатории спонтанные замены в консервативных ГТФазных мотивах G-домена eRF3 приводят к летальности в сочетании с прионом [*PSI*$^+$], состоящего из агрегатов Sup35. Данные замены, как и [*PSI*$^+$] характеризуются супрессорным фенотипом и не влияют на свойства приона. Мы предположили, что изучаемые мутации ослабляют каталитическую активность eRF3 и не способны поддерживать жизнеспособность клеток в присутствии дополнительного супрессора. Эту гипотезу мы проверили в эксперименте *in vitro*, где измерили выход ГТФазной реакции у мутантных eRF3. Поскольку полноразмерные дрожжевые белки агрегируют во время очистки в нативных условиях, мы использовали полноразмерные человеческие белки eRF3. У человека eRF3 представлен паралогами eRF3a и eRF3b. При этом eRF3a продуцируется во всех тканях и считается основным фактором, а eRF3b обнаруживается в основном в тканях головного мозга и семенниках. Известно также, что в первую очередь eRF3a часто перепредставлен в опухолях и рассматривается как перспективная мишень таргетной дерградации. Изучаемые замены D315N, R324K, T330I действительно снижали функциональную активность eRF3a, что подтвердило нашу гипотезу. Учитывая, что исходные мутации были получены спонтанно, то потенциально они могут встречаться у человека. Таким образом изучение спонтанных замен в дрожжевом белковом факторе eRF3 могут служить ориентиром для интерпретации редких клинических вариантов в eRF3a, а также для разработки комбинированных противоопухолевых стратегий, основанных на частичном подавлении терминации трансляции.
Работа поддержана грантом РНФ 23-14-00063.

E-mail: n.trubitsina@spbu.ru

БЕЛОК B28150g ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНО РЕГУЛИРУЕТ ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ ФОРМИАТДЕГИДРОГЕНАЗ ДРОЖЖЕЙ *YARROWIA LIPOLYTICA*

Черенкова А.А., Мелькина О.Е.

Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва

Формиатдегидрогеназы задействованы в метаболизме как метилотрофных, так и не метилотрофных организмов. Дрожжи *Yarrowia lipolytica* не являются метилотрофами, но способны утилизировать формиат в качестве единственного источника углерода. В данных дрожжах идентифицировано 10 генов формиатдегидрогеназ (FDH), особенности экспрессии которых практически не изучены. Нами сконструировано 10 штаммов *Y. lipolytica*, в геном которых интегрированы промоторы генов FDH, транскрипционно-слитые с геном-репортером *hrGFP*. По интенсивности зеленой флуоресценции биомассы штаммов при их выращивании с формиатом натрия показано, что FDH-промоторы отличаются по своей активности. Для исследования механизмов регуляции было выбрано два промотора, наибольшая активность которых наблюдалась на разных этапах роста дрожжей. В настоящей работе в результате биоинформатического поиска найден потенциальный белок-регулятор транскрипции генов FDH *Y. lipolytica*. В штаммах с выбранными промоторами получены делеции гена найденного белка *B28150g*. Проведена оценка промоторной активности и утилизации формиата при культивировании полученных мутантов в среде, содержащей 100 мМ формиата натрия и глюкозу в качестве источника углерода. Показано, что делеция гена *B28150g* разнонаправленно влияет на активность исследуемых FDH-промоторов. При этом, по способности утилизировать формиат мутантные штаммы не отличаются от дикого типа при данных условиях культивирования.

Таким образом, мы полагаем, что белок B28150g участвует в регуляции промоторов генов FDH в присутствии формиата, но не является ключевым регулятором.
Работа выполнена в рамках Государственного задания НИЦ «Курчатовский институт».

E-mail: anncheren@gmail.com

БАКТЕРИОФАГИ И ДРУГИЕ ВИРУСЫ МИКРООРГАНИЗМОВ

СЕКЦИОННЫЕ ДОКЛАДЫ

СЛОЖНЫЕ СИМБИОТИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ С УЧАСТИЕМ МОРСКИХ КОЛОНИАЛЬНЫХ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ, БАКТЕРИЙ И БАКТЕРИОФАГОВ

Богданов[1] Е.А., Вишняков[1] А.Э., Котенко[1] О.Н., Летаров[2,3,4] А.В., Островский[1] А.Н.

[1] Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург
[2] Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва
[3] МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва
[4] Институт системной биологии и медицины Роспотребнадзора, Москва

Исследования последних лет показывают, что симбиозы с микроорганизмами у представителей типа Bryozoa – водных эпибионтов-колониальных фильтраторов, распространены значительно шире, чем считалось ранее. Прямые или косвенные данные о присутствии бактерий известны для примерно 50 видов из 13 семейств мшанок. В некоторых случаях ассоциации мшанок с прокариотами дополняются третьим элементом в виде вирусоподобных частиц (ВПЧ). Так у *Bugula neritina* (Bugulidae) ВПЧ, морфологически сходные с вирусами из семейств Podoviridae и Tectiviridae, были обнаружены нами в бактериях, населяющих эпителий щупалец и специальные симбионт-содержащие органы – фуникулярные тела. В бактериях фуникулярных тяжей *Paralicornia sinuosa* (Candidae) развиваются «сферические структуры», морфологически сходные с MAC-комплексами бактерий *Pseudoalteromonas luteoviolacea,* обусловливающих метаморфоз полихет. Аналогичные структуры были также обнаружены нами в бактериальных симбионтах мшанок *Paracribricellina cribraria* (Catenicellidae). У беломорского вида *Dendrobeania fruticosa* (Bugulidae) в конце летнего вегетационного периода бактериальные симбионты в фуникулярных телах постепенно деградируют, а в их цитоплазме и в полости фуникулярных тел обнаруживаются многочисленные фибриллярные частицы, собирающиеся в крупные сферические комплексы. Морфология данных структур не соотносится ни с одним из известных таксонов вирусов. Структурное разнообразие, характер взаимодействий и потенциальная новизна предполагаемых ВПЧ в симбиотических ассоциациях мшанок с прокариотами могут представлять новое поле исследований многообразия бактериофагов.
Работа выполнена при поддежке гранта РНФ No 23-14-00351.

E-mail: odfael@gmail.com

ИЗУЧЕНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ДЕПОЛИМЕРАЗ БАКТЕРИОФАГОВ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

Долгова А.С., Шабалина А.В., Оснач В.А.

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им Пастера, Санкт-Петербург

Деполимеразы бактериофагов *Klebsiella pneumoniae* – ферменты, способные деградировать капсулу бактерий, делая их уязвимыми к воздействию различных внешних факторов, например, антибиотикам или иммунитету хозяина. В ряде случаев использование отдельных рекомбинантных деполимераз, а не природных бактериофагов, показывает большую эффективность и специфичность в качестве противомикробных препаратов. Данные белки преимущественно нацелены на один капсульный тип бактерий, что сужает потенциальный спектр целей для направленного воздействия. Тем не менее, в природе встречаются деполимеразы специфичные к нескольким капсульным типам.

В нашей работе мы изучали свойства деполимераз различных видов бактериофагов *Klebsiella pneumoniae,* имеющих специфичность как к одному капсульному типу, так и к трем одновременно. Нами были получены рекомбинантные деполимеразы данных бактериофагов и проверена их ферментативная активность. Гены деполимераз получали или непосредственно с геномной ДНК фага или методом сборки *de novo*. Экспрессию проводили в штамме *E.Coli* BL21(DE3), 18 часов при 18 ºС с добавлением 1мМ IPTG. Очистку белков – набором His-Spin Protein Miniprep (Zymo Research). Специфичность и ферментативные свойства оценивали, как с использованием спот-теста на разных штаммах *Klebsiella pneumoniae*, так и по ингибированию образования биопленок.

В результате проведенного исследования, был получен ряд деполимераз бактериофагов *Klebsiella pneumoniae* (в том числе vB_KpnP_Dlv622, Klebsiella phage PEA128 и Klebsiella phage Henu1), со специфичностью к разным капсульным типам. Высокий уровень активности подтвержден на коллекции штаммов с соответствующим капсульным типом.

E-mail: dolgova@pasteurorg.ru

РАЗРАБОТКА КОКТЕЙЛЯ БАКТЕРИОФАГОВ, СПЕЦИФИЧНЫХ В ОТНОШЕНИИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИОННЫХ ПОРАЖЕНИЙ КОЖИ И МЯГКИХ ТКАНЕЙ, С ПЕРСПЕКТИВОЙ ПРИМЕНЕНИЯ В ИЗДЕЛИЯХ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ

Запевалов А.Т., Пасивкина М.А., Анурова М.Н.

ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва

Устойчивость к противомикробным препаратам (УПП) признана всемирной организацией здравоохранения одной из ключевых угроз глобальному здоровью. В рамках стремительно растущей антибиотикорезистентности, особую значимость приобретают инфекции кожи и мягких тканей, занимающие 6 место по летальным исходам среди бактериальных поражений, ассоциированных с резистентностью к антибактериальным препаратам, которую всё чаще проявляют бактерии родов *Staphylococcus* и *Corynebacterium* – основные возбудители пиодермий. В ходе исследования использовали материал от пациентов с диагностированным гнойным гидраденитом, язвенно-некротическим ангиитом и гангренозной пиодермией. Выделение бактериофагов проводилось методом обогащения “без подсева” из клинического материала пациентов и сточных вод. Детекцию вирусных частиц осуществляли методом spot-теста. Для определения титра бактериофагов использовали фармакопейный метод Грациа. Также вирусные частицы характеризовали по следующим параметрам: спектр литической

активности, устойчивость при различных уровнях pH и температурных режимах. Выделены 4 литических бактериофага: SA-BM01 и SA-E1801 гомологичных золотистому стафилококку и CS-K3.1 и CS-K3.2 – *Corynebacterium striatum*. Изучена морфология негативных колоний, спектр литической активности вирусных частиц находилась в диапазоне 74–82%. Изучение устойчивости бактериофагов проводили при уровнях pH от 5 до 8, а также температурных режимах от -80 до +25 °C; титр бактериофагов в нулевой точке составлял 10^7 БОЕ/мл и оставался стабильным на протяжении 1 месяца. Выделены 4 перспективных вирулентных бактериофага с широким спектром литической активности. В процессе исследования методом твердофазного культивирования удалось получить высокий титр вирусных частиц (не ниже 10^9 БОЕ/мл) что говорит о потенциальной производственной перспективности, а в связи с актуальностью освещённой в начале проблемы антибиотикорезистентности, бактериофаги обладают высоким потенциалом применения. В рамках дальнейших исследований бактериофагов будут проведены: электронная микроскопия (изучение морфологии вирусных частиц), молекулярно-генетический анализ (характеристика генома, оценка безопасности вирусных частиц), изучение механизмов инфекционного процесса в системе фаг-клетка для бактериофагов (латентный период, адсорбция, урожайность)

E-mail: zapevalov2003@yandex.ru

КИШЕЧНЫЙ ВИРОМ КАК ПРОГНОСТИЧЕСКИЙ ИНСТРУМЕНТ: МОГУТ ЛИ БАКТЕРИОФАГИ СТАТЬ БИОМАРКЕРАМИ ИСХОДА ИММУНОТЕРАПИИ?

Захаревич Н.В., Климина К.М.

ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА России, Москва

Меланома кожи – одно из самых летальных первичных кожных новообразований. В течение последних десятилетий заболеваемость меланомой в мире продолжает расти. Ингибиторы иммунных контрольных точек (ИИКТ) продемонстрировали значительные улучшения в клинических исходах у пациентов с меланомой. Применение ИИКТ способствует реактивации Т-лимфоцитов, что позволяет им избирательно уничтожать опухолевые клетки и, в ряде случаев, достигается выраженная ремиссия и долговременный контроль над заболеванием. Достижения оптимальных терапевтических результатов терапии, в частности ИИКТ, существенно зависят от состояния и разнообразия кишечной микробиоты (КМ). Нарушение баланса в составе и функциях КМ может негативно сказываться на эффективности терапии. Несмотря на это, исследования компонентов КМ в контексте иммунотерапии все еще находятся в зачаточном состоянии – в частности, роль бактериофагов во влиянии на структуру и функции КМ недооценена. Многие заболевания, в том числе и злокачественные опухоли, возникают и/или сопровождаются изменениями в КМ. Специфическое нацеливание фагов на определенные бактерии способно успешно снизить патогенную нагрузку и улучшить течение заболевания. Помимо этого, фаги, наравне с бактериями, способны усиливать ответ на иммунотерапию, например, индуцируя Т-клетки, перекрестно-реагирующие с раковыми антигенами. В своей работе мы изучаем возможность применения бактериофагов КМ в качестве новых неинвазивных прогностических биомаркеров исхода иммунотерапии. Нами был проведен масштабный анализ метагеномов КМ от пациентов с меланомой с различным ответом на терапию из 7-ми наборов данных – 490 образов, включая 62 кишечных метагенома из российской когорты. На сегодняшний день нет работ в которых бы анализировался вироом ответивших и не ответивших на иммунотерапию онкологических больных.

Исследования кишечного вирома пациентов с меланомой, способны обогатить терапевтический потенциал модулирования КМ и стимуляции системных противоопухолевых иммунных реакций.
Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 23-75-10125.

E-mail: zakharevich@yandex.ru

ШАПЕРОНИН БАКТЕРИОФАГА OBP – НЕОБХОДИМЫЙ КОМПОНЕНТ ДЛЯ РАЗВИТИЯ ФАГА

Зюркалова[1] Д., Джус[1] У.Ф., Габдулхаков[1] А.Г., Глухов[1] А.С.

[1]Институт белка РАН, Пущино

Бактериофаг OBP, относящийся к группе гигантских фагов, содержит в своем геноме ген собственного шаперонина (gp246), что нетипично для большинства бактериофагов, использующих в цикле своего развития хозяйские шапероны. На данный момент лишь некоторые подобные представители фаговых шаперонинов были исследованы, и определены их пространственные структуры. К ним относятся шапероны бактериофагов OBP, EL и AR9. Тем не менее, вопрос необходимости этих белков в процессе развития данных фагов до сих пор оставался открытым. В данной работе на примере бактериофага OBP впервые показано, что кодируемый им шаперонин необходим для успешного протекания литического цикла фага. Гигантские бактериофаги, такие как OBP, в процессе инфекции формируют ядерноподобную структуру, защищающую вирусную ДНК от внешних воздействий, что значительно усложняет процесс целенаправленного получения мутантных фагов с изменениями в генах исследуемых белков. В данной работе нами был использован подход случайного мутагенеза с применением химического агента — гидроксиламина. Для обеспечения возможности отбора и размножения фагов, содержащих мутации в гене шаперонина, была получена плазмида, кодирующая gp246 дикого типа. В результате таких экспериментов был получен ряд мутантов фага OBP, не способных к размножению в клетках-хозяевах, не содержащих плазмиду с геном *gp246*. Мутации в гене *gp246* у отобранных мутантных фагов были идентифицированы методом секвенирования. Помимо этого, мы также обнаружили, что шаперонин родственного фага EL не способен эффективно замещать шаперонин фага OBP в процессе его литического цикла. Таким образом, нами впервые показано, что шаперонин бактериофага OBP (и, вероятно, других подобных фагов) действительно играет важную роль в процессе развития фага. Также выдвинуто предположение о видовой специфичности шаперонинов, кодируемых бактериофагами.

E-mail: dzyurkalova@yandex.ru

КОМПЛЕКСНОЕ ИЗУЧЕНИЕ НОВОГО БАКТЕРИОФАГА *BQUATQUINNUVIRUS ESKIMOPIIS* (ШТАММЫ B450T И B450C) ИНДУЦИРОВАННОГО ИЗ *B. THURINGIENSIS* VKM B-450

Казанцева О.А., Шадрин А.М.

ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино

Умеренные бактериофаги остаются малоизученной группой вирусов, несмотря на их распространённость и участие в горизонтальном переносе генов. Индукция профагов из лизогенных штаммов регулярно выявляет новые таксономические единицы, что указывает на пробелы в их систематике. В данном исследовании представлен новый индуцированный фаг *Bquatquinnuvirus eskimopiis* с полной таксономической и функциональной характеристикой.
Методы фагового анализа: индукция митомицином С, определение спектра литической активности, оценка pH- и термостабильности, полногеномное секвенирование, рестрикционный анализ, электронная микроскопия, сравнительная геномика и филогенетический анализ.
Два новых охарактеризованных фаговых штамма B450T и B450C обладают литической активностью в отношении бактерий рода *Bacillus*. Штамм B450T формирует мутные бляшки на газоне чувствительных штаммов, в то время как B450C – прозрачные. Геномы штаммов – линейные двухцепочечные ДНК длиной 41205 п.н. (34,9% GC-состав), отличающиеся нуклеотидными заменами в гене белка репрессора, ответственного за переключение циклов лизис-лизогения. Функционально аннотировано 32 (53,3%) из 60 открытых рамок считывания. TEM показала, что штаммы обладают морфотипом «siphovirus». Филогенетически новые фаги значительно удалены от ближайших родственных вирусов и образует отдельную кладу на филогенетическом древе. Штаммы B450T и B450C демонстрируют 37% полногеномной идентичности и 42,5% общих белков с ближайшим родственным фагом *Bacillus* phage B13 (род *Bunatrivirus*).
В соответствии с критериями Международного комитета по таксономии вирусов (ICTV), штаммы B450T и B450C были классифицированы как представители нового вида, образующего отдельный род, для которого нами предложено таксономическое название *Bquatquinnuvirus eskimopiis*.
Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ в рамках научного проекта № 25-15-00509.

E-mail: olesyakazantseva@bk.ru

ХАРАКТЕРИСТИКА ПЯТИ PEPTIDASE_M15_3-ДОМЕН СОДЕРЖАЩИХ ЭНДОЛИЗИНОВ БАЦИЛЛЯРНЫХ БАКТЕРИОФАГОВ

Копосова О.Н., Казанцева О.А., Кулябин В.А., Шадрин А.М.

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина Российской академии наук, Пущино

Эндолизины – ферменты бактериофагов, разрушающие пептидогликан бактерий, что приводит к гибели клетки и выходу фаговых частиц. В последние десятилетия их исследуют как потенциальные антибактериальные средства. На 2025 год экспериментально охарактеризовано не более 30 эндолизинов бациллярных фагов, это в основном амидазы фагов *Bacillus cereus sensu lato*. Цель работы: охарактеризовать пять Peptidase_M15_3-домен содержащих эндолизинов бациллярных бактериофагов. Поиск эндолизинов осуществлялся

биоинформатическими методами. Выбрано 5 ферментов со сходством полных аминокислотных последовательностей менее 65%: PlyBB фага BigBertha *B. thuringiensis*; PlyPony - Pony *Priestia megatherium*; Ply82G - SP82G *B. subtilis*; PlyEld - Eldridge *P. megatherium*; Ply27 - KLEB27-3 *B.australimaris*. Все они содержат Peptidase_M15_3 домен. Кодирующие их гены синтезированы в плазмидах pColdII компанией Synbio Technologies. Созданы штаммы-продуценты на основе *E.coli* BL21(DE3). Очищенные ферменты получены путем аффинной хроматографии. Спектр литической активности определен спот-тестом на 45 штаммах бацилл. Термостабильность, влияние pH и концентрации NaCl на активность определяли турбидиметрическим методом. Наибольший спектр литической активности у Ply27 – лизировал 43 штамма, как *B.cereus* s.l., так и *B.subtilis, B.licheniformis, B.pumilus, P.megaterium*. Широкий спектр действия (35 штаммов), но только на *B.cereus* s.l., показал PlyBB. PlyEld, PlyPony и Ply82G лизировали 7, 4 и 3 штамма, соответственно. Только PlyPony сохранил около 10% от начальной активности при нагревании до 50ºC, остальные в этих условиях теряли активность полностью. Оптимальные уровни pH для этих пяти эндолизинов лежат в диапазоне от 9 до 10. Полученные результаты расширяют знания о Peptidase_M15_3-домен содержащих эндолизинах бациллярных бактериофагов, в том числе об эндолизинах бактериофагов, заражающих *P.megatherium, B. subtilis* и *B.australimaris.*

E-mail: olga.n.koposova@mail.ru

ИНТЕГРАЗЫ ПРОФАГОВ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*: ГЛОБАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РАЗНООБРАЗИЯ И УСТАНОВЛЕНИЕ САЙТОВ ИНТЕГРАЦИИ

Корниенко М.А., Беспятых Д.А., Медведев К.Е., Киселев С.И., Абдраймова Н.К., Городничев Р.Б., Шитиков Е.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина Федерального медико-биологического агентства», Москва

Staphylococcus aureus – важный бактериальный патоген человека, вызывающий как кожные инфекции, так и тяжёлые системные заболевания, включая сепсис и эндокардит. Генетическая пластичность этого вида обеспечивается мобильными элементами, среди которых профаги играют ключевую роль. Цель работы – анализ на глобальной выборке регионов профагов в геномах *S. aureus*, изучение разнообразия интеграз и сайтов интеграции. В анализ включены полные геномы *S. aureus* (n=744) и умеренных бактериофагов (n=263) из базы NCBI. Регионы профагов предсказаны с помощью PHASTEST и аннотированы Pharokka. Сходство нуклеотидных последовательностей определялось алгоритмом BLAST. Сайты интеграции уточнялись с использованием Vector NTI. В геномах *S. aureus* выявлено 2567 регионов профагов длиной от 5 до 134,2 т.п.н.; в 4 геномах профаги отсутствовали (среднее число профагов на геном - 3,33). Суммарно в бактериальных и фаговых геномах идентифицировано 2727 и 262 гена интеграз соответственно, из которых 1320 и 262 относились к классическим. Среди интеграз профагов наиболее часто встречались интегразы типа Sa3 (n=540), Sa2 (n=330) и Sa1 (n=172); интегразы типов Sa10 и Sa11 выявлены не были. Среди интеграз умеренных фагов - наиболее представлен тип Sa2 (n=73). Для всех интеграз классических типов установлены как известные, так и новые варианты сайтов интеграции; наибольшее разнообразие сайтов выявлено для интегразы Sa2 (12 вариантов attL/attR). Анализ оставшихся генов интеграз показал, что значительная их часть (n=541) относится к интегразам островов патогенности, а также к двум новым типа интеграз, близким к Sa2 и Sa9.

Данные показывают высокое разнообразие профагов и интеграз в геномах *S. aureus*, что подчёркивает их ключевую роль в эволюционной пластичности вида.
Исследование выполнено за счёт гранта РНФ 22-15-00443-П, https://rscf.ru/project/22-15-00443/.

E-mail: kornienkomariya@gmail.com

АНТИРЕСТРИКЦИОННЫЕ БЕЛКИ ARDA И ARDB: СТРУКТУРЫ, ФУНКЦИИ, ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ

Кудрявцева А.А., Уткина А.А., Манухов И.В.

Московский физико-технический институт, Долгопрудный

Системы рестрикции-модификации (RM) обеспечивают защиту бактерий от вторжения экзогенной ДНК (бактериофаги, конъюгативные плазмиды, транспозоны). В ходе эволюции мобильные генетические элементы разработали целый ряд «орудий» против RM систем. К таким орудиям можно отнести антирестрикционные белки, такие как ArdA и ArdB. Гены антирестрикционных белков обычно одними проникают внутрь клетки при инфицировании. В наших работах мы продемонстрировали, что ДНК-мимикрирующие антирестрикционные белки ArdA способны специфично связываться с определенными RM благодаря способности имитировать уникальные участки ДНК (Kudryavtseva *et al*, 2024). Особенно интересными небольшие белки sArdA, представляющие из себя «почти пептиды» порядка 80 аминокислот демонстрирующие высокую степень специфичности по отношению к ингибируемым RM системам (Utkina *et al*, 2025). Возможность точечного специфического взаимодействия маленьких ДНК-миметиков с ДНК-связывающими белками открывает широкие перспективы использования подобных миниатюрных молекул для точного контроля над активностью внутриклеточных процессов, взаимодействующих с ДНК. Наши доводы усиливаются нашей недавней работой, где мы показали возможность регулирования экспрессии генов в клетках *Escherichia coli* с помощью ArdA белков (Gladysheva-Azgari *et al*, 2023). Антирестрикционный белок ArdB отличается универсальностью своего воздействия на RM системы I типа (Kudryavtseva *et al*, 2023), кроме того недавно было показано, что ArdB ингибирует работу CRISPR-Cas3 (Wimmer *et al*, 2023). Благодаря этому свойству белок ArdB может оказаться полезным при трансформации «труднотрансформируемых» бактериальных штаммов, в том числе грамположительных.
Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 24-74-00024

E-mail: kudryavtseva@phystech.edu

СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ БАКТЕРИОФАГА Ф24В И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЕГО БОКОВЫХ ФИБРИЛЛ

Кузнецов[1] А.С., Моисеенко[2] А.В., Матюшкина[3] Д.С., Барбашин[2,4] Д.Д., Бубенчиков[2] М.А., Голомидова[1] А.К., Куликов[1] Е.Е., Летаров[1,2,3] А.В.

[1] Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва
[2] МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва
[3] Институт системной биологии и медицины Роспотребнадзора, Москва
[4] Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского, Москва

Stx-конвертирующий фаг ϕ24B, относящийся к лямбдоидным колифагам, использует высококонсервативный белок BamA в качестве рецептора адсорбции, что обеспечивает широкий спектр лизогенизации. Однако механизм преодоления О-антигена и белки, ответственные за адсорбцию, остаются не идентифицированными. Показано, что ϕ24B эффективно инфицирует только rough-мутанты E. coli, при этом эффективность лизогенизации rough-штаммов была значительно выше ($2{,}4\times10^{-3}$ КОЕ/БОЕ), чем штаммов, экспрессирующих О-антиген ($1{,}5\times10^{-5}$ КОЕ/БОЕ). Полногеномное секвенирование лизогенов по ϕ24B и комплементация синтеза О-антигена плазмидой pWclH для этих штаммов подтвердили, что лизогены образуются из спонтанных rough-мутантов. Биоинформатический анализ выявил гомологию структурных белков ϕ24B и фага GP4 (24–33% идентичности), что указывает на эволюционное родство структурных модулей этих подовирусов. Оптимизированная методика очистки позволила получить препараты с титром $6{,}5\times10^{12}$ БОЕ/мл. Протеомный анализ выявил процессированную форму эстеразы gp84, образующуюся за счет автопротеолиза. В соответствии с крио-ЭМ реконструкцией частицы фага ϕ24B включают изометрическим капсид с T=9 и обладают уникальной организацией хвоста. Инактивация генов gp47 и gp61 приводила к потере инфекционности, тогда как делеция gp84 не влияла на значения биологического титра фага. Для изучения взаимодействия RBPs с рецепторами создан рекомбинантный фаг λ_2B8Jλ, содержащий осевую фибриллу фага λ и боковые фибриллы, гомологичные gp61ϕ24B. Кривые адсорбции этого фага на штаммах с разными вариантами BamA не выявили значимых различий, что свидетельствует о ведущей роли в распознавании рецептора осевой фибриллы, образованной, вероятно, тримером белка gp56.
Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 25-24-00110.

E-mail: alexbluesking@gmail.com

ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННАЯ ФАГОВАЯ ТЕРАПИЯ MDR-УРОПАТОГЕННОГО ШТАММА *E. COLI* С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФАГА MIMIR124

Куликов[1] Е.Е., Голомидова[1] А.К., Габдрахманов[1] Р.М., Зурабов[2] Ф.М., Летаров[1] А.В.

[1]Федеральный Исследовательский Центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, лаборатория вирусов микроорганизмов Института микробиологии им. С. Н. Виноградского, Москва
[2]НПЦ «Микромир», Москва

Полирезистентные уропатогенные *Escherichia coli* (MDR-UPEC) – основная причина инфекций мочевыводящих путей. Фаговая терапия (ФТ) – перспективная альтернатива антибиотикам, однако многие коммерческие фаговые препараты недостаточно разнообразны

по составу. Представлен клинический случай 91-летнего пациента с рецидивирующим уросепсисом, вызванным MDR *E. coli* UPEC124, устойчивым к большинству антибиотиков разных групп и доступным фагам. Цель – выделение и характеристика фага для персонализированной ФТ. Фаг Mimir124, активный против UPEC124, выделен из природного источника. По данным электронной микроскопии это подовирус (~70 нм), род *Gamaleyavirus* (сем. *Schitoviridae*). Длина генома – 72.8 т.п.н. (дцДНК). Фаг характеризуется быстрой адсорбцией (K = 2.1×10^{-9} мл/мин). Установлено, что первичным рецептором служит O101 O-антиген, что объясняет селективность фага к UPEC124. Гены фага gp88/gp89 кодируют предполагаемые адгезины с полисахаридазной активностью. Резистентные к Mimir124 мутанты UPEC124 теряли O-антиген ("rough-фенотип"), но приобретали чувствительность к фагам, использующим консервативные белковые рецепторы (LamB, BtuB). Геномный анализ UPEC124 выявил присутствие 9 антивирусных систем, но основным барьером для фагов была неспецифическая защита O101-антигена. Препарат фага Mimir124, произведенный по стандартам GMP (НПО «Микромир»), применяли комбинированно: перорально (3×10^{7} БОЕ/день) и внутрипузырно (3×10^{8} БОЕ, через день). После 7 дней терапии достигнута полная эрадикация UPEC124 из мочи и нормализация лейкоцитов без рецидивов в течение 6 месяцев. Фаг Mimir124 эффективен против MDR-UPEC124. Ключевой фактор устойчивости штамма – O101 O-антиген, маскирующий поверхностные рецепторы. Его потеря повышает чувствительность патогена к другим фагам. Данный случай подтверждает потенциал персонализированной ФТ с использованием редких, отсутствующих в коммерческих коктейлях фагов для лечения инфекций, вызванных MDR-патогенами, в условиях кризиса антибиотикорезистентности.

E-mail: kulikov.ee@mipt.ru

МЕТАСТАБИЛЬНЫЕ АССОЦИАЦИИ ВИРУЛЕНТНЫХ БАКТЕРИОФАГОВ И ИХ ХОЗЯЕВ

Летарова[1,2] *М.А., Зворыгин*[1] *Е.Д., Барышева*[1] *Д.С., Летаров*[1,2] *А.В.*

[1]ФИЦ Биотехнологии РАН, ИНМИ РАН им. С.Н. Виноградского, Москва
[2] СБМ Роспотребнадзора, Москва

Вирулентные бактериофаги – вирусы с литическим циклом развития, где происходит полный лизис бактерии-хозяина, и при культивировании в жидкой среде мы это часто и наблюдаем. Существуют механизмы, при которых клетки бактерий-хозяев уменьшают эффективность адсорбции бактериофагов или полностью исключают ее, становясь полностью устойчивыми к соответствующим бактериофагам, но эта стратегия взаимодействия популяции фагов и бактерий, скорее, приведет к эволюционному тупику. Мы описали такие взаимоотношения в парах фаг-бактерия, при которых образуются системы перевиваемых ассоциаций и в которых в большой концентрации сохраняется популяция чувствительных клеток штамма-хозяина и исходного фага. Вместе с этим по мере пассирования в таких системах происходит коэволюция штамма-хозяина и соответствующего ему бактериофага и наряду с сохранением участников с исходными свойствами возникают субклоны фагов и хозяев с иными свойствами по отношению к исходным штаммам. Нами проанализированы пары фаг-хозяин для нескольких лабораторных штаммов *E.coli*: G7C-4s, St11Ph5-UP11, Lc4-53, 9g-C600, а также для штамма *S.aureus A 515* и двух его фагов St.ph.515A1 и St.ph.405, и для *Klebsiella pneumonia ABK* и бактериофага Kp ABK. Все бактериофаги в этих парах вирулентные. Для всех систем были получены перевиваемые метастабильные ассоциации, которые свободно перевивались от 15 до 23 поколений. Для каждой пары фаг-бактерия создавали шестнадцать ассоциаций, все из них так или иначе демонстрировали коэволюцию фагов и бактерий-

хозяев. Мы получали полностью устойчивые к бактериофагу популяции клеток, но при проверке этот эффект наблюдался при весьма специфических условиях и такой результат может быть интерпретирован, скорее, как исключение из правил. При анализе изменений бактерий и фагов мы наблюдали изменения свойств бактерий-хозяев по отношению к исходному бактериофагу, выражающихся в изменении чувствительности к оному, а также мы наблюдали изменение хозяйской специфичности фага к своему хозяину, и все вместе выглядит как появление субконов штамма-хозяина с уменьшенной чувствительностью к исходному фагу, но с сохранением чувствительности к деревату того же фага, полученного из ассоциаций какого-то пассажа, и все это с сохранением пула исходного фага в ассоциациях и чувствительных к нему субклонов штамма-хозяина. Для каждой пары фаг-хозяин наблюдалось собственное соотношение описанных элементов системы и различная динамика изменений, частично объясняемая биологическими особенностями участников взаимоотношений. Бактерии в процессе перевивания ассоциаций демонстрировали изменения некоторых свойств, на первый взгляд не вязанных с давлением фага. Клетки *S.aureus A 515* демонстрировали изменения синтеза стафилоксантина, а *K. pneumonia ABK и E.coli C600* изменение подвижности. Метастабильные перевиваемые ассоциации – это такая форма взаимного существования пары фаг-бактерия, при которой возможно построение длительных эволюционных отношений вирулентных бактериофагов и их хозяев.

E-mail: sullfatreduction@gmail.com

БАКТЕРИОФАГИ ПРИРОДНЫХ АЭРОМОНАД: ОСОБЕННОСТИ ГЕНОМОВ И БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ

Морозова В.В., Гатауллин Н.К., Козлова Ю.Н., Бабкин И.В., Бардашева А.В., Жираковская Е.В., Тикунов А.Ю., Федорец В.А., Ушакова Т.А., Тикунова Н.В.

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

Род *Aeromonas* относится к семейству *Aeromonadaceae* и его представители широко распространены в водной среде. Они являются патогенами рыб и способны нанести серьезный ущерб рыбным хозяйствам, а также вызывают пищевые и раневые инфекции у людей. Аэромонады сосуществуют в водных экосистемах с бактериофагами, которые разрушают бактериальные клетки, и по-видимому, влияют на количество этих бактерий в водоеме. Сответственно, исследование разнообразия аэромонадных фагов имеет как фундаментальный, так и практический интерес, поскольку вирулентные аэромонадные фаги могут быть использованы как альтернативное антимикробное средство. Из образцов воды, собранных в водоемах различных регионов РФ, было изолировано более 100 штаммов *Aeromonas* spp и 9 аэромонадных фагов. Размеры фаговых геномов варьировали от 30 до 300 тыс. н.п. и все фаги принадлежали к классу Caudoviricetes. К порядку *Autographivirales* относились 2 фага, к сем-ву *Peduoviridae* – 1, к неклассифицированным Mu-подобным фагам – 1, к сем-ву *Chimallinviridae* – 2, еще четыре фага с геномами размером 35340, 43584, 43910 и 237907 н.п. были отнесены к неклассифицированным фагам и обладают низкой степенью сходства с фаговыми геномами, депонированными в базе данных NCBI GenBank. Все исследованные аэромонадные фаги обладали узким спектром бактерий-хозяев (1-5 чувствительных штамма из 100 штаммов *Aeromonas* spp), а также различались по скорости адсорбции, количеству продуцируемых фаговых частиц и эффективности лизиса бактериальной культуры. При тестировании различных условий хранения фаговых препаратов (6 месяцев) наиболее стабильным был титр фагов в водных растворах при 4 °C. Таким образом, аэромонадные фаги обладают большим разнообразием геномов и для хранения этих бактериофагов предпочтительны водные растворы. По-видимому, и то и

другое связано с местообитанием этих фагов в водных экосистемах, которые позволяют легко перемещаться большим фаговым вирионам и поддерживают стабильное состояние структур фаговых частиц.

E-mail: morozova@niboch.nsc.ru

ФАГИ И ПРОФАГИ *SINORHIZOBIUM MELILOTI*: СТРУКТУРНОЕ РАЗНООБРАЗИЕ, ГЕНОМИКА, ФИЛОГЕНИЯ, ГОРЯЧИЕ САЙТЫ ИНТЕГРАЦИИ

Румянцева М.Л.

ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, Пушкин

В последние годы интерес к бактериофагам, широко распространенным в различных экологических нишах, возрос в связи с тем, что они оказывают значимое влияние на экологию и эволюцию бактерий. Фаги способствуют регуляции численности бактериальных популяций, участвуют в микробных взаимодействиях, в результате которых они быстро эволюционируют, но также способствуют диверсификации бактериального генома. Фаги обладают литической и лизогенной активностью. В последнем случае фаговая ДНК встраивается в геном бактерии-хозяина (профаг), может длительное время реплицироваться в составе генома, передаваясь далее по вертикальным путям эволюции. В связи с чем, в геномах бактерий встречаются последовательности фагового происхождения (ПФП) разной целостности (интактные и дефектные профаги), при этом, все они могут влиять на метаболическую активность бактерии-хозяина. Наиболее изученными являются фаги и ПФП патогенных бактерий, тогда как для непатогенных бактерий, включая симбионтов хозяйственно-ценных видов растений, они практически не изучены. Нами создана коллекция почвенных синоризобиофагов, различающихся по морфологическим и биологическим характеристикам, а также штаммов *S. meliloti*, являющихся азотфиксирующими симбионтами растений трибы Клеверные. Установлено, что число ПФП, родственных разным фагам, встречающихся в одном геноме, может достигать 30-ти. Нами впервые выделен и изучен геном гигантского (джамбо) литического синоризобиофага (470 тпн). Показано, что геномы почвенных ризобиофагов имеют высокий уровень мозаичности: выявлены блоки генов ризобиофагов; последовательности фагов, инфицирующих в т.ч. патогенные бактерии; последовательности бактерий филогенетически удаленных групп. Полученные данные свидетельствуют о высоком уровне специфичности фагово-микробных взаимодействий на уровне рода *Sinorhizobium*, что позволяет обсуждать эволюционно «запрограммированный» механизм встраивания фаговой ДНК в определенные гены тРНК.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках соглашения № 075-15-2025-472 от 29.05.2025.

E-mail: mroumiantseva@arriam.ru

СТРУКТУРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ РАННИХ СТАДИЙ ИНФЕКЦИИ БАКТЕРИОФАГА PHIKZ

Соколова О.С.

Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова, Москва

Гигантские бактериофаги выделяются среди бактериальных вирусов благодаря своему огромному геному (более 200 тпн) и большому размеру капсидов (~145 нм в диаметре). Кроме того, эти бактериофаги демонстрируют уникальную структуру. Вирионы гигантских бактериофагов, особенно phiKZ-подобных фагов, имеют внутри цилиндрическое внутреннее тело. Эта структура, по-видимому, играет важную роль в упаковке ДНК внутри вирионов и может модулировать инфекционный процесс. В процессе инфекции гигантский фаг PhiKZ формирует в центре клетки-хозяина специализированную структуру, называемую фаговым ядром. Эта структура имеет решающее значение для защиты вирусной ДНК от бактериальных нуклеаз и для сегрегации транскрипционной активности поздних генов. До сих пор было не ясно, какая структура отвечает за более раннюю сегрегацию генов в начале инфекционного процесса. Исследование проводилось методом криоэлектронной томографии. Сетки Lacey EM 300 mesh (Ted Pella, США) обрабатывались в течение 30 с током 20 мА с помощью прибора PELCO easiGLOW (Ted Pella, Northport, NY). Процедуру витрификации проводили с помощью Vitrobot Mark IV (Thermo Fisher Scientific, Scientific, США) при 37°C и 100% влажности. Клетки *P. aeruginosa* инфицировали phiKZ непосредственно перед приготовлением сетки. 20 мкл суспензии клеток P. aeruginosa смешивали с 2 мкл суспензии phiKZ и 1,5 мкл раствора наночастиц золота (коллоидное золото 10 нм с протеином A, UMC Utrecht, Нидерланды) при 37°C. 3 мкл суспензии наносились на сетки и немедленно витрифицировали в жидком этане. Криоэлектронную томографию проводили на просвечивающем электронном микроскопе Titan Krios 60-300 cryo-TEM (Thermo Fisher Scientific, США), оснащенном прямым детектором электронов K3 (Gatan, Pleasanton, США), Cs-корректором (CEOS, Heidelberg, Германия) и фильтром BioContinuum (Gatan, Pleasanton, США). В результате исследований была обнаружена новая структура, ассоциированная с местом инфекции бактериофага. Эта структура представляет собой везикулу, диаметром около 200 нм, ограниченную липидным бислоем, происходящим из внутренней мембраны бактериальной клетки. Везикула, образованная фагом phiKZ содержит не только фаговую ДНК, но и фаговые белки, в том числе, РНК-полимеразу. Через 30 минут после инфекции везикула мигрирует от полюса клетки к центру бактериальной клетки вместе с ChmA, основным белком фагового ядра, но не сливается с ядром. Таким образом, везикула, сформированая бактериофагом, действует как мембранный транспортный агент, эффективно доставляя фаговую ДНК к фаговому ядру и защищая ее от бактериальных нуклеаз.

Исследование выполнено за счёт гранта РНФ 24-44-02003, https://rscf.ru/prjcard_int?24-44-02003

E-mail: sokolova@mail.bio.msu.ru

РАСПРОСТРАНЕНИЕ И БИОРАЗНООБРАЗИЕ БАТЕРИОФАГОВ ЛАКТОКОККОВ, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НА СЫРОДЕЛЬНЫХ ПРЕДПРЯТИЯХ

Сорокина[1] Н.П., Кураева[1] Е.В., Чуксина[2] Т.А.

[1]ВНИИМС, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия - филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, Углич
[2]Факультет биологии и биотехнологии, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики», Москва

Сыроделие является специфичной экологической нишей для бактериофагов молочнокислых бактерий, так как лактобактерии присутствуют в сыром молоке и вносятся в пастеризованное молоко в виде заквасок. Вирулентные фаги представляют серьёзную проблему для заквасочной микробиоты и в сыроделии применяются меры для их контроля, в т.ч. используются фагоустойчивые закваски. Целью исследования было изучение биоразнообразия фагов лактококков сыродельных заводов. Культуры рода *Lactococcus* являются основными компонентами заквасок для многих видов сыров. Эффективность отбора фагоустойчивых культур зависит от состава набора используемых фагов и их литического спектра. Это свидетельствует о необходимости систематического изучения фагового фона сыродельных заводов. При работе с бактериофагами применяли метод двухслойного агара с использованием фагочувствительных и производственных культур из коллекции ВНИИМС. В результате мониторинга 3 заводов установлено широкое распространение фагов лактококков и их высокий титр в сыворотке (10^7-10^8 БОЕ/см^3) независимо от их мощности, уровня молочнокислого брожения и способа применения заквасок. Фаги обнаружены в 90,9 % проб сырого молока и в воздухе производственных помещений. Выделено 15 бактериофагов, проведено секвенирование их ДНК, осуществлена сборка *de novo* нуклеотидных последовательностей геномов с внесением информации в GenBank (PRJNA1184111). Молекулярно-генетическая идентификация показала, что 14 фагов относятся к группе c2-подобных фагов (род *Ceduovirus*), один идентифицирован как фаг, инфицирующий бактерии рода *Leuconostoc*. Диапазон культур-хозяев у фагов разный от 2 до 11 штаммов из 51 исследованного штамма в разных сочетаниях, т.е. выделенные фаги способны лизировать от 9,1 % до 36,4 % культур. При этом 72,7 % фагов являются поливалентными – способными атаковать штаммы 3 видов лактококков. Обилие на предприятиях бактериофагов, инфицирующих закваски, подчёркивает важность разработки стратегий борьбы с фагами в молочной промышленности.

E-mail: n.sorokina@fncps.ru

НОВЫЙ ТИП DGR-КАССЕТ, ПРИСУЩИЙ НЕИЗВЕСТНОЙ ГРУППЕ БАКТЕРИОФАГОВ

Тикунова Н.В., Байков И. К., Бабкин И.В., Морозова В.В., Тикунов А.Ю., Федорец В.А.

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

В последние годы в фагобиоте кишечника человека были открыты новые агенты, включая фаги с нестандартным генетическим кодом. При исследовании виромов кишечника человека нами обнаружены геномы неизвестных, не имеющих аналогов фагов, содержащих DGR с двумя таргетными генами. DGR (Diversity-Generating Retroelements) – это прокариотические

системы, обеспечивающие быструю модификацию белков-мишеней в ходе ретрохоуминга. У фагов основными мишенями для обратной транскриптазы, кодируемой DGR, являются рецептор-связывающие белки, находящиеся в составе хвостовых структур фагов. Гипервариабельность таких структур, распознающих бактерию-хозяина, позволяет фагу адаптироваться к изменениям поверхности этой бактерии. В случае двух генов-мишеней в составе одной DGR-кассеты, роль гипермутагенеза двух функционально различных генов не ясна. Анализ парных генов-мишеней в составе обнаруженных геномов неизвестных фагов показал, что они кодируют таргетные белки с различной топологией, хотя оба белка внутри каждой пары содержат домен лектина С-типа с гипермутированной бета-шпилькой на его поверхности. Один из белков-мишеней принадлежит к новому семейству белков со специфической топологией: N-концевой С-лектиновый домен с экспонированной бета-шпилькой, за которым следует один или несколько Ig-подобных доменов. Белки были названы тентаклинами от TENTACLe+proteIN. С-концевой Ig-подобный домен имеет консенсус, характерный для тентаклинов. Гены, кодирующие тентаклины и тентаклин-подобные белки, найдены у фагов и бактерий, а также в MAG'ах. Анализ показал, что фаги, содержащие тентаклины, образуют новую многочисленную группу бактериофагов, обитающих в кишечнике человека, что свидетельствует об их важной роли в поддержании нормального функционирования кишечной микробиоты.

E.mail: tikunova@niboch.nsc.ru

ДНК-МИМИКРИРУЮЩИЕ АНТИРЕСТРИКЦИОННЫЕ БЕЛКИ ИМИТИРУЮТ САЙТЫ УЗНАВАНИЯ ФЕРМЕНТОВ РЕСТРИКЦИИ-МОДИФИКАЦИИ.

Уткина А.А., Кудрявцева А.А., Манухов И. В.

Московский физико-технический институт, Москва

Описано много примеров мимикрии, направленной на защиту организма-хозяина, как на организменном, так и на молекулярном уровне. Один из ярких примеров мимикрии на молекулярном уровне - ДНК-мимикрия антирестрикционных белков бактериофагов, которая используется для защиты их геномов от бактериальных ферментов рестрикции-модификации (RM). Впервые ДНК-мимикрия антирестрикционных белков была описана в 2002 году, однако, именно наша научная группа смогла впервые показать высокую избирательность этой имитации. Так при помощи метода фагового посева нашей научной группой впервые была показана высокая специфичность двух различных ДНК-мимикрирующих белков из конъюгативной плазмиды R64 (ArdA) и из генома фага T7 (Ocr) к трём ферментам RMI (EcoKI, EcoAI, EcoR124II). В последующих этапах работы была выявлена высокая специфичность вновь обнаруженных антирестрикционных белков ArdA из хромосом *Agrobacterium tumefaciens, Pseudomonas monteilii* и *Xanthomonas* sp., в отношении тех же трех RMI-систем. Также активность ArdA *Xanthomonas* sp. была проверена против двух близкородственных систем EcoR124I и EcoR124II, различающихся лишь одним нуклеотидом в сайте узнавания. Даже при такой незначительной разнице сайтов узнавания RM систем была показана выраженная избирательность ингибирования. Таким образом, полученные результаты наводят на мысль, что антирестрикционные белки, несмотря на высокую степень схожести формфактора, показанную нами при помощи моделирования структур в Alpha fold, несут ряд минорных структурных различий, позволяющих имитировать конкретные сайты узнавания ДНК.

Эти данные открывают новые перспективы для направленного дизайна антирестрикционных белков с заданной специфичностью, что может найти применение в биотехнологии и персонализированной медицине.
Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ в рамках проекта № 24-74-00024.

E-mail: utkina.anna.a@phystech.edu

БАКТЕРИОФАГИ *PSEUDOMONAS* ДЛЯ ТЕРАПИИ ИНФЕКЦИЙ, ВЫЗЫВАЕМЫХ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

Федорова М.С., Задорина И.И., Анисимова А.А., Тризна Е.Ю., Каюмов А.Р.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань

На сегодняшний день снижение эффективности антибактериальной терапии вызвано быстрым развитием бактериальной резистентности к антибиотикам, особенно у бактерий группы ESKAPE, к которым относится *P. aeruginosa*. В качестве возможных подходов терапии синегнойных инфекций могут стать бактериофаги как самостоятельный препарат, так и в комбинации с противомикробными препаратами.
Подсчет бляшкообразующих и колониеобразующих единиц; трансмиссионная электронная микроскопия; оценка минимальной подавляющей концентрации; секвенирование и аннотация генома.
Выделены новые бактериофаги из водоемов Поволжья, проведена оценка вирулентных свойств бактериофагов в отношении клинических изолятов *P. aeruginosa*; показано повышение эффективности терапии синегнойных инфекций при сочетанном действии антибиотиков с бактериофагами. Проведены: анализ генома бактериофагов; оценка эффективности антибиотиков в комбинации с бактериофагами на моделях синегнойной инфекции глаза у кроликов (работа выполнена с одобрения локального этического комитета КФУ – протокол №50 от 26.09.2024г): после заражения глазной поверхности животных, проводилось лечение по различным сценариям (антибиотик; антибиотик + бактериофаг) до полной элиминации возбудителя у одной из групп; дополнительно проводился анализ гистологических срезов роговицы глаза.
Комбинированный препарат (бактериофаг в сочетании с антибиотиком) показал высокую эффективность данного подхода для лечения синегнойного кератита на моделях *in vivo*.
Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения задания в сфере научной деятельности. Проект № *FZSM-2025-0003*

E-mail: masfedorova97@mail.ru.

ПОЛУЧЕНИЕ БАКТЕРИОФАГОВ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE IN VITRO*

Шабалина А.В., Долгова А.С.

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

Рост числа бактерий с множественной лекарственной устойчивостью является одной из глобальных проблем здравоохранения. Использование бактериофагов рассматривают как один из вариантов решения данной проблемы. Развитие новых технологий в области синтетической биологии позволяет получать бактериофаги *in vitro* и расширять их

терапевтический потенциал. Геномы бактериофагов *Klebsiella pneumoniae* KP32 isolate 196 и RR109 размером 40 т.п.н. были собраны из отдельных амплифицированных фрагментов с помощью таких методов сборки нуклеотидных последовательностей, как метод Гибсона и Nebuilder. Получение фаговых частиц проводили методом межродовой сборки фагов, при котором сначала вирионы собирались в клетках *Escherichia coli* с последующим разрушением клеток и смешиванием полученных частиц с соответствующей культурой *K. pneumoniae*. Геном бактериофага Kp32 isolate 196 был успешно собран из 4 фрагментов набором Nebuilder; из 6 фрагментов удалось собрать геном только методом Гибсона. В обоих случаях наблюдали появление более сотни бляшек, что свидетельствует об успешной сборке фаговых частиц *in vitro* с синтетической геномной ДНК. Геном бактериофага RR109 был собран из 6 фрагментов методом Гибсона, и также успешно были получены фаговые частицы. Сборка бактериофагов *in vitro* позволяет значительно увеличить возможность их дальнейшей модификации с помощью методов генной инженерии. Например, можно редактировать геномы природных бактериофагов с целью расширения круга хозяев и повышения эффективности детекции и лизиса бактерий. Таким образом, отработка методов получения модифицированных бактериофагов *in vitro* может привести к получению новых антимикробных агентов для борьбы с мультирезистентными бактериями.

E-mail: shabalina@pasteurorg.ru

YASNAYAPOLYANA – НОВЫЙ ФАГ КЛАСТЕРА K, АКТИВНЫЙ ПРОТИВ *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*

Шитиков[1] Е.А., Зайчикова[1] М.В., Беспятых[1] Д.А., Киселев[1] С.И., Корниенко[1] М.А., Климина[1] К.М, Городничев[1] Р.Б., Шлеева[2] М.О., Герман[2] А.М., Внукова[3] А.А., Малахова[1] М.В.

[1] Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина Федерального медико-биологического агентства», Москва;
[2] Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», Москва;
[3] Биологический факультет Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова, Москва.

Бактериофаги представляют ключевой компонент микробных сообществ и перспективный инструмент для терапии антибиотикорезистентных инфекций. Среди микобактериофагов особый интерес вызывают представители кластера K, способные инфицировать *M. tuberculosis*. В работе охарактеризован новый фаг YasnayaPolyana, демонстрирующий выраженную противотуберкулезную активность. Фаг выделен на *M. smegmatis* mc²155 с методом накопительных культур. Морфологию вирионов изучена в ходе электронной микроскопии. Полногеномное секвенирование выполнено на платформе Illumina. Для фага определены кривые роста и единичного цикла роста, стабильность при разных pH и температурах. Спектр хозяев оценен на штаммах *M. tuberculosis* H37Rv, *M. abscessus*, *M. avium* и *M. fortuitum*. Методом BRED получен литический мутант YPΔ45 с делецией гена репрессора. YasnayaPolyana относится к субкластеру K4 (геном 57,978 п.н., GC-состав 67%, 94 ORF; PQ495710). Электронная микроскопия подтвердила его сифовирусную морфологию с головкой диаметром ~66 нм и хвостом длиной ~260 нм. Фаг демонстрирует высокую литическую активность против *M. tuberculosis* H37Rv (EOP 5×10^{-2}) при значительно более слабом лизисе *M. abscessus* (5×10^{-7}), *M. avium* (5×10^{-6}) и *M. fortuitum* (5×10^{-8}), сохраняя стабильность в диапазоне pH 6-12 и температурах от -20°C до 55°C. Литический мутант YPΔ45 показал более выраженную эффективность на *M. tuberculosis* H37Rv (EOP ~ 1).

Анализ параметров инфекции фага YasnayaPolyana показал, что большинство фагов связываются с клетками штамма-хозяина в течение первых 40 минут после заражения латентный период составляет около 60 минут, период выхода - 150 минут. В работе охарактеризован новый фаг YasnayaPolyana и его литический вариант YPΔ45, обладающие высокой активностью против *M. tuberculosis*, что позволяет их рассматривать в качестве приоритетных кандидатов для терапии.
Исследование выполнено при поддержке РНФ (проект № 24-15-00514).

E-mail: eshitikov@mail.ru

БАКТЕРИОФАГИ И ДРУГИЕ ВИРУСЫ МИКРООРГАНИЗМОВ

ПОСТЕРНЫЕ ДОКЛАДЫ

ЭФФЕКТИВНОСТЬ БАКТЕРИОФАГА VB_SAUM-515A1 В СОЧЕТАНИИ С ЛИНЕЗОЛИДОМ ПРОТИВ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Абдраймова Н.К., Шитиков Е.А., Беспятых Д.А., Корниенко М.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина Федерального медико-биологического агентства», Москва

Комбинирование литических бактериофагов (фагов) с антибиотиками рассматривается как способ повышения эффективности терапии инфекций. Цель работы – изучить совместное действие фага vB_SauM-515A1 (сем. *Herelleviridae*) и линезолида против чувствительного штамма *S. aureus* SA0413Rev (ST8). Эффективность комбинации фага (0,1; 0,01; 0,001 MOI) и линезолида (⅛; ¼; ½; МИК) против планктонных клеток оценивали методом «шахматной доски». Действие агентов против биопленок *S. aureus* оценивали при помощи подсчета жизнеспособных клеток, ассоциированных с биопленкой, после обработки фагом (1 MOI) и антибиотиком (2; 10 МИК) при одновременном и последовательном введении (сначала фаг, затем антибиотик). Для планктонных клеток, обработанных фагом и линезолидом совместно или по отдельности, проводили анализ транскрипционного ответа (на платформе Illumina).
Комбинация фага и линезолида демонстрировала синергический эффект как в случае планктонных клеток, так и в случае клеток, ассоциированных с биопленкой при одновременном введении агентов. При последовательном введении был выявлен антагонистический эффект. Анализ транскрипционного ответа бактерии показал наличие 839 дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ) при действии двух агентов по сравнению с неинфицированным контролем (FDR $\leq$ 0,05; FC $\geq$ 2). Количество ДЭГ для культур, обработанных только антибиотиком или только бактериофагом, было ниже - 651 и 681 соответственно. Совместное действие фага и линезолида вызывало более выраженный метаболический дисбаланс у клеток, затрагивающий процессы ассимиляции нитрата, гликолитические пути и системы углеродного метаболизма, что, вероятно, снижает выживаемость клеток. Полученные результаты демонстрируют перспективность комбинированного применения бактериофага vB_SauM-515A1 и линезолида для подавления роста *S. aureus.*
Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда 22-15-00443-П, https://rscf.ru/project/22-15-00443.

E-mail: abdraimovanarina@gmail.com

БАКТЕРИОФАГИ, ПОДАВЛЯЮЩИЕ РОСТ ЭНТЕРОКОККОВ

Бузиков[1] Р.М., *Петухова[2] М.И., Аленко[2] А.М., Рябова[1,3] Н.А., Шадрин[1] А.М.*

[1]ИБФМ им. Г.К. Скрябина РАН обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино
[2]ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет», Краснодар
[3]ФГБУН Института белка РАН, Пущино

Нарастающий кризис антибиотикорезистентности патогенных бактерий стал одним из важнейших вызовов современной науке. Особенно остро ситуация обстоит в случае нозокомиальными инфекциями. Ранее ВОЗ уже включила *E. faecium* в отдельную группу ESKAPE, а теперь устойчивые к ванкомицину штаммы включены в список BPPL в качестве патогена с высоким уровнем приоритетности. Разработка новых антибиотиков нивелируется быстрой эволюцией этих микроорганизмов, что возвращает нас к идее использования бактериофагов как альтернативного антибактериального средства. Успешная коэволюция фагов и бактерий доказывает, что адаптационный потенциал бактериофагов как минимум не уступает бактериальному. Это делает фаги и их литические ферменты важным дополнением антибактериальной терапии инфекций. В рамках проделанной нами работы из природных источников были выделены и всесторонне охарактеризованы бактериофаги, заражающие энтерококков. Методом электронной микроскопии изучена морфология вирионов. Методом турбидиметрии оценены кинетические характеристики инфекции. Кроме того, определены спектры литической активности, pH- и термостабильность вирионов, а также их устойчивость при криоконсервации. Полногеномное секвенирование позволило не только оценить генетические особенности бактериофагов, но и уточнить их филогенетическое положение. Бактериофаги могут различаться не только по способности эффективно подавлять рост энтерококков, но и по степени устойчивости к неблагоприятным факторам внешней среды, что критически важно учитывать при подборе кандидатных фагов для разработки антибактериальных средств. Важно дополнить практику поиска и отбора новых фагов полногеномным секвенированием, что позволит проводить анализ наличия генов, бактериальных токсинов, устойчивости к антибиотикам или повышающих вероятность горизонтального переноса генов.
Работа поддержана грантом РНФ 25-15-00509.

E-mail: a87h5n1@gmail.com

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗАЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА БАКТЕРИОФАГА vB_ElaP_1E1, ЗАРАЖАЮЩЕГО БАКТЕРИЙ РОДА ENTEROCOCCUS

Бузиков Р.М., Кулябин В.А., Петухова М.И., Аленко А.М, Рогачевский В.В., Рябова Н.А., Шадрин А.М.

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина Российской академии наук – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», Пущино

Enterococcus faecium и *Enterococcus faecalis* часто являются возбудителями смертельно опасных антибиотико-устойчивых инфекционных заболеваний. Всемирная Организация Здравоохранения (ВОЗ) выделяет антибиотико-резистентных энтерококков как приоритетные микроорганизмы для разработки новых антибактериальных препаратов. Бактериофаги

являются естественными природными антагонистами бактерий и, по данным ВОЗ, препараты на их основе занимают всё более обширную нишу в пайплайнах многих фармкомпаний. Бактериофаг vB_ElaP_1E1 был выделен из образца сточных вод города Пятигорск. Вирионы этого бактериофага имеют морфотип подовирусов. На микрофотографиях чётко видны крупные хвостовые фибриллы. Размер генома этого бактериофага составляет 18 085 пар нуклеотидов и содержит 22 ОРС. Филогенетический анализ показал, что этот бактериофаг относится к семейству *Salasmaviridae*, наиболее известным представителем, которого является бактериофаг phi29. Вирионы бактериофага были стабильны в широком диапазоне pH, динамично лидировали культуру штамма-хозяина, не разрушались при температуре 50 ^{o}C. Устойчивость вирионов фага vB_ElaP_1E1 в широком диапазоне условий в совокупности с наличием структурных данных о родственных бактериофагах и небольшим размером генома делают его привлекательной платформой для конструирования на его основе модифицированных бактериофагов с заранее заданными свойствами.
Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ в рамках научного проекта № 25-15-00509.

E-mail: olesyakazantseva@bk.ru

дУТФаза БАКТЕРИОФАГА T5: НЕОБХОДИМЫЙ КОМПОНЕНТ В ПРОЦЕССЕ СБОРКИ ГОЛОВОК ФАГА

Глухов А.С., Марченков В.В., Джус У.Ф., Селиванова О.М., Габдулхаков А.Г.

Институт белка РАН, Пущино

Бактериофаг T5, относящийся к семейству *Siphoviridae*, имеет крупный (диаметром ≈90 nm) икосаэдральный капсид с геометрией T=13. Зрелый капсид состоит из структурных белков 4 типов: 775 копий основного белка головки (Mhp), 12 копий портального белка (Prt), 120 копий декорирующего белка (Dec) и нескольких молекул протеазы (Php). Процесс сборки и созревания головок фага T5 включает три основных этапа: формирование проголовки I, проголовки II и зрелой головки. Ранее считалось, что, несмотря на крупный размер и сложную организацию головок фага T5, на первой стадии необходимо и достаточно наличие предшественников только трех структурных белков: Mhp, Prt и Php. Переход во вторую стадию, проголовка II, сопровождается процессингом всех этих структурных белков за счет активности протеазы. Упаковка фаговой ДНК и встраивание Dec в оболочку головки завершает процесс формирования зрелого капсида. В данной работе мы демонстрируем, что в состав проголовки I фага также входит дополнительный белковый компонент – кодируемая самим фагом дУТФаза (Dut). Ее отсутствие в ходе развития фага приводит к накоплению в клетке не содержащих протеазу проголовок I, т.е. к остановке процесса их дальнейшего созревания. По всей видимости, включение протеазы в состав проголовок I происходит только в комплексе с дУТФазой фага. Более того, эта новая роль белка не зависит от его ферментативной активности, а дУТФаза клетки-хозяина не способна замещать Dut фага в ходе его литического цикла. Нами также показано, что дУТФаза другого T5-подобного фага (*Vibrio* phage phi3) способна эффективно замещать Dut фага T5 в ходе его литического цикла, несмотря на низкий уровень гомологии их аминокислотных последовательностей. По-видимому, эта новая роль присуща всем дУТФазам T5-подобных фагов.

E-mail: gluktol@gmail.con

ВЫДЕЛЕНИЕ КОЛИФАГОВ ШИРОКОГО СПЕКТРА ИЗ ПОЧВ И ТВЕРДЫХ АТМОСФЕРНЫХ ВЫПАДЕНИЙ Г. МОСКВЫ

Гришковец[1] Д.С., Кузнецов[1] А.С., Барбашин[3] Д.Д., Голова[2] Д.М., Летаров[1,3] А.В.

[1]Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва
[2]Направление «БиоХимТех» Технопарка Физтех-лицея им. П.Л. Капицы, Долгопрудный
[3]Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

Активная урбанизация и антропогенная нагрузка в мегаполисах, таких как Москва, изменяют состав почв и способствуют накоплению твёрдых атмосферных выпадений (ТАВ), содержащих органические и неорганические загрязнители. Эти субстраты влияют на микробные сообщества, распространяя аллергены, патогены и вирусоподобные частицы, включая бактериофаги. Последние регулируют численность бактерий и служат индикаторами состояния экосистем. Учитывая высокую представленность энтеробактерий в урбанизированных почвах и ТАВ, особый интерес вызывают колифаги – фаги, специфичные к *Escherichia coli*. Их выделение важно для оценки экологических рисков и разработки фаготерапевтических подходов. Выделение бактериофагов из образцов почв и ТАВ проводили по модифицированной методике Williamson с добавлением глюкозы (0,5%). Навески 10–15 г инкубировали в среде LB при 37 °C в течение 72 часов. Для обогащения фагов вносили чувствительные штаммы *Escherichia coli*, в отдельных опытах добавляли митомицин С (0,2 мкг/мл) для индукции профагов. После инкубации суспензию центрифугировали (7830 g, 20 мин), фильтровали (0,22 мкм), и наносили на бактериальные газоны методом спот-теста. Отдельные бляшки репассировали для получения чистых линий фагов. Лизаты готовили из зон лизиса или в жидких культурах и хранили при +4 °C. Во всех образцах почв и ТАВ обнаружены колифаги, активные к различным штаммам *E. coli*, включая rough-варианты. Выделены вирулентные и умеренные формы. Наибольшие титры (до 10^{11} БОЕ/мл) зарегистрированы у ТТС-В-М-1 и НАМ-В-2. Многие фаги лизировали штаммы с разными О-антигенами. Летом 2025 дополнительно охарактеризованы шесть почв Москвы, где также выявлены фаги широкого спектра, включая Kggb321, активный к rough-, f5- и f17-штаммам. Городские почвы и ТАВ являются перспективным источником колифагов с широкой хозяинной специфичностью. Полученные данные подчёркивают значение бактериофагов как индикаторов микробиологического состояния среды и возможных агентов для биоремедиации.

E-mail: grishkoveczd@mail.ru

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ АТФ-ЗАВИСИМЫХ ДНК-ЛИГАЗ НОВЫХ БАКТЕРИОФАГОВ РОДА *KRISCHVIRUS* СЕМЕЙСТВА *STRABOVIRIDAE*

Зимин[1] А.А., Скобликов[2] Н.Э., Кудрявцева[3] А.В., Назипова[4] Н.Н., Осепчук[2,5] Д.В., Сузина[1] Н.Е., Летарова[6] М.А., Летаров[6] А.В.

[1]Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН – обособленное подразделение ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН», Пущино
[2]ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии», Краснодар
[3]Институт Молекулярной Биологии им. М.А.Энгельгардта РАН, Москва
[4]Институт математических проблем биологии РАН – филиал Института прикладной математики им. Келдыша РАН, Москва
[5]ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина», Краснодар
[6]Институт микробиологии им. Виноградского Н.И. РАН – обособленное подразделение Федерального исследовательского Центра «Биотехнология» РАН, Москва

Продукт гена 30, АТФ-зависимая ДНК-лигаза бактериофага Т4 – основной инструмент генетической инженерии in vitro. Этот фермент является ключевым участником репликации, рекомбинации и репарации ДНК у бактериофага. С этой позиции изучение новых лигирующих ДНК ферментов, в том числе гомологов ДНК-лигазы фага Т4 видится весьма и весьма актуальным. Фаги рода *Krischvirus* кодируют ДНК-лигазу немного большего размера, чем бактериофаг Т4 и его ближайшие родственники. Парный элаймент ДНК - лигаз фагов Т4 и представителя рода *Krischvirus* MIZ6 показал наличие лишь 41% идентичных аминокислот. Можно констатировать, что ДНК-лигазы бактериофагов этого рода с одной стороны явно осуществляют аналогичную функцию, с другой стороны весьма отличны от типовой ДНК-лигазы фага Т4. В данной работе мы провели сбор последовательностей ДНК-лигаз фагов рода *Krischvirus* с помощью алгоритма PSI-BLST NCBI, используя WMT11490.1 ATP-dependent DNA ligase [*Escherichia* phage MIZ6] в качестве репера. Этим путем было отобрано 34 аминокислотные последовательности. Филогенетический анализ с помощью алгоритмов Neighbor-Joining и Minimum Evolution позволил получить филогенетические деревья с очень сходной, почти идентичной, топологией. ДНК-лигазы фагов рода *Krischvirus* образуют на этих деревьях три основные ветви, которые нами были обозначены с помощью ярких названий фагов. Первая ветвь – это ветвь *Escherichia* phage RB49 (типовой фаг рода) - Enterobacteria phage Whisky, вторая ветвь Enterobacteria phage Cognac – *Escherichia* phage GoldenSnicker, и третья ветвь маркируется бактериофагом *Escherichia* phage vB_EcoM_Skers ДНК-лигазы всех новых бактериофагов MIZ 2 – 6, выделенных от поросят опытного хозяйства «Рассвет» Краснодарского центра по зоотехнии и ветеринарии (ранее СКНИИЖ) располагались на ветви RB49 - Whisky. При этом были кластеризованы в две группы MIZ 2, 3, 6 и MIZ 4 и 5. Статистическое исследование данных двух анализов методом бутстрепа показало большую близость всех исследованных ферментов.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-64-00017, https://rscf.ru/project/24-64-00017/.

Email: dr.zimin8@yandex.ru

КОЭВОЛЮЦИЯ ФАГА И БАКТЕРИИ-ХОЗЯИНА В ПЕРЕВИВАЕМЫХ АССОЦИАЦИЯХ ФАГА *PH515A1* И *STAPHYLOCOCCUS AUREUS A515*

Зворыгин[1] Е.Д., Летарова[1,2] М.А.

[1]ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва
[2]НИИ СБМ Роспотребнадзора, Москва

Перевиваемые ассоциации (ПА) – система ассоциированных вместе фаговых частиц и клеток штамма-хозяина. Исходный фаг *ph515A1* – вирулентный и за небольшое число пассажей все клетки штамма-хозяина станут устойчивыми к нему, но наши эксперименты показали, что эти объекты долгое время сосуществуют как двухкомпонентная, неразделяемая система, приобретающая новые свойства в череде поколений, например, изменение отношений фаг-хозяин. При пассировании ПА некоторые колонии сначала теряют способность демонстрировать лизис, а при дальнейшем пассировании вновь демонстрируют его. В череде поколений у некоторых ПА меняется пигментация – образуются иные промежуточные формы стафилоксантина. В стандартных моделях фаг-хозяин говорят о направленном отборе под давлением фага, а здесь, скорее, радиация признака на уровне на уровне всей системы и ее частей. Также под давлением фага меняются отношения «фаг-хозяин»: появляются формы бактериофаг, лучше растущие на исходном штамме стафилококка, и демонстрирующие лучший рост на своем субклоне, например, *ph8/26*, поэтому сравнили его с *ph515A1*. Сравнивали кривые адсорбции, единичный выход фагов и нашли максимально возможный биологический титр. Далее определяли возможное влияние «сигнала» на морфологию колоний. Сигнал получали из накопительных культур фагов и штаммов-хозяев разных субклонов, отделили клеток и фагов. Оставшейся супернатант, предположительно содержит искомый сигнал. После культивировали клетки и фагов в различных комбинациях с сигнал.
Штаммы-хозяева имеют в жидкой культуре равное максимальное КОЕ/мл, увеличивающееся в присутствие фага. Сигнал или фаг влияет на морфологию колоний, но только клеток, уже сталкивающихся с ним ранее, иначе все колонии имеют иную морфологию. В ходе микроэволюции *ph515A1* и *S. aureus A515* изменяется хозяйский спектр. *ph8/26* имеет большие темпы роста и константу адсорбции, единичный выход фага превышает выход *ph515A1* почти в 3 раза, а также дорастает до большего биологического титра в накопительной культуре.

E-mail: zvorygin_e_d028@mail.ru, sulfatreduction@gmail.com

КОНСТРУИРОВАНИЕ И БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СЛИТЫХ АНТИМИКРОБНЫХ БЕЛКОВ С ДВОЙНОЙ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Кулябин[1] В. А., Зиновьева[2] К. Ю., Скорынина[1] А. В., Шадрин[1] А. М.

[1]ИБФМ РАН им. Г.К. Скрябина, ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино
[2]Тульский государственный университет, Тула

Бактерии рода *Bacillus cereus* sensu lato, включая патогенный *Bacillus anthracis*, представляют большой интерес в микробиологии и биотехнологии благодаря своей экологии и медицинской значимости. Наличие капсулы из поли-γ-глутаминовой кислоты (PGA) делает *B. anthracis* устойчивым к иммунной системе. Одним из перспективных современных подходов для борьбы с антибиотикоустойчивыми патогенами является использование эндолизинов — ферментов бактериофагов, разрушающих пептидогликан. В данной работе описаны свойства химерных белков, состоящих из молекулы эндолизина Ply57 и PGA-

деполимераз, разрушающие капсулу и клеточную стенку. Сконструированы три химерных белка: Ply57_EnvD, Ply57_PghP и Ply57_Kir_te_domain. Плазмиды получены с помощью TEDA-метода. Белки экспрессировались в штамме *E. coli* BL21 Star (DE3) и очищались с использованием Ni-хелатной хроматографии. Для анализа активности и термостабильности применялись турбидиметрический метод и SDS-PAGE. Ply57_EnvD показал наибольшую активность против PGA *B. anthracis*. Ply57_PghP эффективно действовал на PGA *B. subtilis*, но был менее активен против PGA *B. anthracis*. Ply57_Kir_te_domain проявил низкую активность ко всем субстратам. У всех химерных белков активность против пептидогликана была ниже, чем у Ply57. Все конструкции, кроме Ply57_Kir_te_domain, сохраняли активность до 60 °C. Химерные белки с двойной ферментативной активностью обладают потенциалом в борьбе с патогенами. Требуется дальнейшая оптимизация растворимости, стабильности и каталитической эффективности.

E-mail: kuliabin.vlad@pbcras.ru

ОТБОР Т4-РОДСТВЕННЫХ БАКТЕРИОФАГОВ С НИЗКОЙ ЧАСТОТОЙ ТРАНСДУКЦИИ ДЛЯ ТЕРАПИИ ИНФЕКЦИЙ, ВЫЗЫВАЕМЫХ *E.COLI*

Никулина А.Н., Никулин Н.А., Сузина Н.Е., Зимин А.А.

ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, Пущино

Фаготерапия вновь стала популярной в связи с проблемой распространения антибиотикорезистентности среди бактерий. Отбор фагов для лечения бактериальных инфекций является сложной задачей. Потенциальные кандидаты должны соответствовать ряду критериев: например, выбранный фаг не должен содержать потенциально опасных генов (например, генов устойчивости к антибиотикам, генов токсинов и факторов вирулентности и т. д.) или быть способным передавать их от своих хозяев. В данной работе представлен подход к отбору Т4-родственных колифагов, позволяющих выбрать фаги, которые могут быть более безопасны с точки зрения их сниженного участия в горизонтальном переносе генов. Из сточных вод было отобрано и очищено более 100 изолятов колифагов на штаммах *E.coli* 5K, 5KRI, B. При помощи ПЦР-тестов были отобраны Т4-родственные колифаги в отдельную коллекцию. При помощи ранее проведенных нашей группой сравнительно-геномных и филогенетических методов, нами были отмечены группы колифагов семейства *Straboviridae* с предполагаемой низкой частотой трансдукции на основе критерия наличия наборов следующих генов: *denB* и *denA*, *Hmc* и *dCTPase-dUTPase*, *alc* и *ndd*,. К таким фагам относятся фаги родов *Tequatrovirus*, *Mosigvirus*, *Dhakavirus*, *Karamvirus*, *Kagamiyamavirus*, *Gapriviervirus*. Для всех этих фагов характерно наличие неканонических оснований в составе ДНК, в частности 5-гидроксиметилцитозина с различными модификациями. Были сделаны праймеры к главному белку капсида вышеперечисленных родов фагов и затем произведена идентификация и отбор фагов, имеющих низкую частоту трансдукции. Более 10 изолятов колифагов принадлежали к фагам, со сниженной частотой трансдукции. Результаты подтвердились постановкой трансдукции плазмид данными фагами, частота переноса плазмиды pTurbo-GFP-B составила $<10^{-8}$.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-26-00205, https://rscf.ru/project/24-26-00205/

Email: firetiger2011@yandex.ru

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ *BDELLOVIBRIO BACTERIOVORUS HD100,* БАКТЕРИОФАГА T4 И *E.COLI* ПРИ КОНЦЕНТРАЦИЯХ NACL, МОДЕЛИРУЮЩИЕ ПРИРОДНЫЕ

Никулина А.Н., Шорохова А.П., Зимин А.А., Сузина Н.Е., Никулин Н.А.

ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, Пущино

Одно из средств против бактериальных инфекций предполагает использование их естественных «врагов» – бактериофагов и бактерий-хищников. Совместное использование бактериофагов и бактерий-хищников против одного штамма бактерий перспективно, но необходим подбор условий, которые бы приводили к коинфекции бактерии-хозяина и фагом и бактерией-хищником. Одним из таких условий является концентрация NaCl. В нашей работе мы рассмотрели эффект различных концентраций NaCl на литическую способность *Bdellovibrio bacteriovorus* hd100 и фага T4 против *E.coli*. В разбавленную среду LB с разными концентрациями NaCl (0 mM, 80 mM и 155 mM) добавляли и выращивали *E.coli B* до 10^8 КОЕ/мл. Затем были добавлены одновременно фаг T4 до 10^8 БОЕ и *Bd. bacteriovorus* hd100 до 10^8 КОЕ. В качестве контроля T4 и *Bd. bacteriovorus* были добавлены и по отдельности. Титр T4, *Bd. bacteriovorus* и *E.coli* учитывался спустя 0, 24 и 48 часов после начала эксперимента. При культивировании на среде, содержащей 0 mM NaCl, наибольший литический эффект оказала *Bd. bacteriovorus:* за 48 часов наблюдалось снижение титра *E.coli* с $1,94±0,98×10^8$ до $2,42±1,56×10^5$ КОЕ/мл. При коинфекции T4 и *Bd. bacteriovorus* при 0 мМ, наибольшая литическая активность наблюдалась спустя 24 часа титр *E.coli* был $<10^3$ КОЕ/мл. При культивировании на 155 mM наибольший литический эффект был оказан бактериофагом T4: за 24 часа титр *E.coli* упал с $3,18±1,73×10^8$ до $1,20±0,87×10^4$ КОЕ/мл. При коинфекции наблюдалось схожее падение титра – до $1,67±0,35×10^4$ КОЕ/мл. При культивировании на 80 мМ NaCl – не наблюдалась литическая активность в отношении *E.coli.* Оптимальные концентрации для литической активности *Bd. bacteriovorus и* T4 не совпадают: для *Bd. bacteriovorus* оптимумом является отсутствие NaCl, для фага T4 – оптимум – от 155 mM и выше. Тем не менее, совместное литическое взаимодействие фага и бделловибрио при 0 мМ дало лучший результат на первые сутки. Возможно, что лизис бактерий-жертв за счет *Bd. bacteriovorus* привел к возможности фага производить инфекцию. Это показывает возможность совместной конфекции фага T4 и *Bdellovibrio bacteriovorus* бактерии *E.coli.*

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-64-00017, https://rscf.ru/project/24-64-00017/.

Email: nikitakulin@gmail.com

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РЕЦЕПТОР-СВЯЗЫВАЮЩИХ БЕЛКОВ ЧЕТЫРЕХ T7-ПОДОБНЫХ ФАГОВ *PSEUDOMONAS SYRINGAE*

Скорынина[1] А. В., Рябова[1,2] Н. А., Шадрин[1] А. М.

[1]Лаборатория биологии вирусов бактерий, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г. К. Скрябина, ФИЦ Пущинский научный центр биологических исследований РАН, Пущино
[2]ФГБУН Институт белка РАН, Пущино

Исследования в области биологической защиты растений с помощью бактериофагов показывают высокую эффективность их применения. Специфичность действия фагов на

бактериальные штаммы во многом определяются рецептор-связывающими белками (RBP). Определение особенностей организации RBP могут послужить ключевым критерием при составлении препаратов фаговых коктейлей для биологического контроля фитопатогенов. Цель исследования – выделить бактериофаги, заражающие *P. syringae,* из водоёмов Московской области, определить последовательности их геномов, провести структурно-функциональный анализ RBP белков с использованием современных вычислительных подходов. Особое внимание уделено С-терминальным рецептор-связывающим модулям, которые образуют тримерную "головку" хвостовой фибриллы и содержат ключевые детерминанты специфичности связывания с поверхностными рецепторами бактерий. Секвенирование проведено по технологии illumina. RBP белки идентифицированы на основании аннотации InterProScan (домен PF03906, E-value 4.7E-47–1.1E-49). С помощью структурного анализа определены рецептор-связывающие модули С-концевые участки RBP (92 а.о.). Были выделены четыре фага *P. syringae* III_1, V.1_2442, VII.2_39982 и VII.2_40020. Установлены последовательности их геномов диной 40212, 40512, 39982 и 40020 п.н. соответственно. По результатам филогеномного анализа все выделенные фаги были отнесены к семейству *Autographiviridae*. Вирионы выделенных фагов имели морфотип подовирусов и напоминали фаг Т7. В геноме каждого фага были идентифицированы гены RBP белков, длиной 1650–1911 п.н. Все RBP содержали высококонсервативные N-терминальные домены (72–99% идентичность). Биоинформатический анализ С-терминальных модулей выявил, что RBP фагов III_1, V.1_2442 и VII.2_39982 относится к одному структурному кластеру, а фага VII.2_40020 имеет другую структурную организацию. Выделены четыре Т7-подобных фага. Определены последовательности их полных геномов, выявлена структурная дивергенция С-терминальных среди их доменов RBP, что указывает на различные механизмы связывания с *P. syringae*. Полученные результаты создают основу для направленной инженерии фаговой специфичности для разработки препаратов нового поколения против фитопатогенных псевдомонад.
Исследование выполнено при поддержке гранта РНФ № 25–15–00509.

E-mail: s_an.net@mail.ru

ВЫДЕЛЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА НОВОГО БАКТЕРИОФАГА РОДА *DHILLONVIRUS*, ИНФИЦИРУЮЩЕГО *E. COLI*

Тимошина[1,2] *О.Ю., Иванов*[1] *П.А., Кривонос*[1] *Д.В., Корнеенко*[1] *Е.В., Моисеенко*[3] *А.В., Летаров*[1] *А.В.*

[1] ФБУН НИИ СБМ Роспотребнадзора, Москва
[2] ФГБУН ГНЦ ИБХ РАН, Москва
[3] МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

Изучение биоразнообразия бактериофагов *E. coli*, актуально не только благодаря потенциалу их использования в медицине, но и необходимо для понимания фундаментальных принципов формирования микробных сообществ. Бактериофаг DH23 изолировали из образца воды реки Яузы на штамме *E. coli* Dh5α. Биологические характеристики фага DH23, а именно морфологию зон лизиса и способность фага размножаться в стационарной культуре, оценивали на лабораторных штаммах *E. coli* Dh5α и C600. Секвенирование геномной ДНК фага и штаммов-хозяев проводили на платформе MGI методом парных прочтений. Полногеномную сборку проводили в программе Spades. Первичную аннотацию генома фага проводили с помощью алгоритма Pharokka, таксономическое положение определяли с использованием taxMyPHAGE. Для визуализации фаговых частиц проводили трансмиссионную электронную микроскопию с негативным окрашиванием. Выделен новый

бактериофаг DH23, образующий два типа зон лизиса: на газоне штамма *E. coli* Dh5α – крупные прозрачные бляшки без ореола, на *E. coli* C600 – крупные бляшки с ореолом, увеличивающиеся в размере благодаря размножению фага, не смотря на переход бактерий в стационарную фазу роста. В серии экспериментов показано, что при добавлении фага DH23 к жидкой культуре *E. coli* C600 с высокой плотностью (OD600=0,6 множественность заражения 0,1) увеличение оптической плотности культуры происходит так же или даже чуть быстрее, чем в контроле, несмотря на то, что фаг является литическим. При инфицировании более молодой культуры происходит ее полный лизис. Фаг DH23 морфологически является сифовирусом, геном представлен линейной дцДНК размером 44682 нт. Оценка средней идентичности нуклеотидов и геномной организации бактериофага DH23, вкупе с результатами электронной микроскопии, позволяют отнести его к генетически обособленному роду *Dhillonvirus* класса *Caudoviricetes.*
Работа выполнена при частичной поддержке гранта РНФ № 24-44-02003

E-mail: timoshina_oyu@sysbiomed.ru

ХАРАКТЕРИСТИКА ЭНДОЛИЗИНА PLYC19 БАКТЕРИОФАГА B450, ЗАРАЖАЮЩЕГО БАКТЕРИЙ ГРУППЫ *BACILLUS CEREUS*

Шорохова И.А., Копосова О.Н., Казанцева, О.А., Кулябин В.А., Шадрин А.М.

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г. К. Скрябина, ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино

Исследования, направленные на открытие новых бактериофагов и их ферментов эндолизинов, актуальны в связи с ростом антибиотикорезистентности. Эндолизины более специфичны, чем антибиотики. Важно отметить что, по некоторым данным, устойчивость бактерий к ним формируется медленнее, чем к другим антимикробным агентам. Исследование было выполнено с использованием методов, применяемых при анализе эндолизинов и оценки их биохимических характеристик: суперпродукция белка в системе *E.coli*, спот-тест для определения спектра специфичности, pH-оптимум, термостабильность, влияние различных концентраций NaCl – турбидиметрическим методом, филогенетический анализ и анализ доменной структуры. Каталитический домен (КД) PlyC19 относится к N-ацетилмурамоил-L-аланин амидазам 2 типа. Филогенетический анализ и анализ аминокислотной последовательности показали, что КД эндолизина бактериофага B450 обладает высоким сходством с КД бактериофага B13 (98% идентичности); из охарактеризованных КД эндолизинов – КД эндолизина фага Gamma (83% идентичности).
Эндолизин PlyC19 по полной аминокислотной последовательности на 94% идентичен эндолизинам фагов Waukesha92 и vB-BthS_TP21T, и на 87% – эндолизину фага B13, которые на настоящий момент не охарактеризованы экспериментально. PlyC19 лизировал 25 из 45 штаммов бактерий рода *Bacillus*. Все лизированные штаммы относились к группе *Bacillus cereus*, за исключением одного штамма *B. flexus*. Эндолизин термостабилен при нагревании до 40 ºС в течение часа. Оптимальные условия для работы фермента pH 9.0 и 100 мМ NaCl, при этом бактериолитическая активность детектировалась в диапазоне pH от 6.0 до 10.0. PlyC19 можно рассматривать как перспективную альтернативу и дополнение к антибиотикам в борьбе против бактерий группы *B. cereus.*

E-mail: impia2807@gmail.com

РАЗДЕЛ 2

МЕТАБОЛИЗМ И ГЕНОМИКА МИКРООРГАНИЗМОВ

СЕКЦИОННЫЕ ДОКЛАДЫ

РОЛЬ МЕМБРАННЫХ ЛИПИДОВ И ОСМОЛИТОВ В АДАПТАЦИИ К СТРЕССУ КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ У *ASPERGILLUS NIGER*

Терёшина В.М., Януцевич Е.А., Данилова О.А., Сахарова С.А.

Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва

Стресс клеточной стенки (СКС) возникает под действием соединений (например азокрасителей, антибиотиков и др), нарушающих синтез или сборку основных полисахаридов клеточной стенки (КС) – глюканов и хитина. Ответ на СКС запускает сигнальный путь сохранения целостности КС (cell wall integrity pathway), действие которого приводит к усиленному синтезу микрофибриллярных компонентов КС – хитина и глюкана. До настоящего времени ответ на СКС подробно изучался с позиций молекулярной генетики изменений в составе КС. Мы предполагаем, что ответ на СКС может быть связан с осмолитной и мембранной системами клетки. Конкретной задачей является изучение роли осмолитной и мембранной систем клеток микромицета *Aspergillus niger* в адаптации к стрессу клеточной стенки, вызванному азокрасителями калькофлуором белым (КФБ) и конго красным (КК). Липиды экстрагировали методом Николса и анализировали методом двумерной ТСХ и денситометрии с программным обеспечением DENS. Углеводы экстрагировали кипящей водой, после удаления белков и заряженных соединений получали триметилсилильные производные, анализировали методом ГЖХ. Действие КК и КФБ на клетки *A. niger* в начальной стадии формирования мицелия (12 ч) в глубинной культуре приводит к существенному изменению морфологии – торможению апикального роста и вакуолизации гиф. Осмолиты гриба на этой стадии представлены, в основном, двумя полиолами – глицерином (50% от суммы) и маннитом (40%) с минорным содержанием глюкозы, трегалозы, эритрита, арабита и инозита. Под действием КК и КФБ наблюдается одинаковый эффект – вдвое снижается доля глицерина и возрастает доля маннита до 60%, а также вдвое увеличивается доля минорного компонента – трегалозы. В составе мембранных липидов доминируют фосфатидные кислоты (55% от суммы), доли фосфатидилэтаноламинов, кардиолипинов и фосфатидилхолинов не превышают 10%, а стеринов - 5%. Под действием КК и КФБ достоверных изменений в составе мембранных липидов не выявлено, тогда как в составе клеточной стенки повышаются количество хитина и β-1-4-глюкана.

Работа поддержана грантом РНФ №25-24-00069.

E-mail: v.m.tereshina@inbox.ru

ПОСТЕРНЫЕ ДОКЛАДЫ

ИЗМЕНЕНИЯ ВОСПРИИМЧИВОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ К АНТИМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ В ГРИБКОВО - БАКТЕРИАЛЬНЫХ СООБЩЕСТВАХ

Айзатуллина Л.М., Миронова А.В., Тризна Е.Ю., Каюмов А.Р.

ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Казань

Грибково-бактериальные биопленки ассоциированы с развитием тяжелых форм заболеваний из-за повышения устойчивости микроорганизмов к противомикробным препаратам. Целью работы являлось охарактеризовать восприимчивость микроорганизмов к антимикробным препаратам в грибково-бактериальных сообществах. В работе использовали модифицированный диско-диффузионный метод для оценки проницаемости матрикса биопленок и подсчет КОЕ для оценки чувствительности микроорганизмов. Матрикс смешанных биопленок *C. albicans* с *S. aureus* и *E. faecalis* характеризовался более низкой проницаемостью для ципрофлоксацина, однако чувствительность бактерий к антибиотику была выше в смешанной биопленке по сравнению с моновидовой. Наоборот, в биопленке *C. albicans* с *K. pneumoniae, E. coli* или *P. aeruginosa* проницаемость матрикса для ципрофлоксацина повышалась, хотя восприимчивость бактерий к антибиотику падала. В смешанных биопленках *C. albicans* с грамотрицательными бактериями снижалась проницаемость для гентамицина и цефтазидима, восприимчивость не изменялась, что свидетельствуют о влиянии метаболитов кандиды на чувствительность бактерий. Таким образом, чувствительность бактерий к антимикробным препаратам меняется в условиях смешанного грибково – бактериального сообщества, что обусловлено как протекторными свойствами матрикса биопленки, так и метаболическими взаимодействиями внутри смешанного сообщества, что необходимо учитывать при поиске эффективных стратегий лечения.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 24-14-00194)

E-mail: aizatullina14@mail.ru

ПОИСК НОВЫХ ТРАНСПОРТНЫХ СИСТЕМ L-МЕТИОНИНА ЧЕРЕЗ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКУЮ МЕМБРАНУ *ESCHERICHIA COLI* К-12

Выборная [1]Т.В., Степанова[1,2] А.А., Хозов[1] А.А., Молев[1,2] С.В., Бубнов[1] Д.М.

[1]НИЦ «Курчатовский институт», Москва
[2]Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва

Изучение механизмов транспорта метаболитов в микроорганизмах началось во второй половине XX века параллельно с развитием промышленной биотехнологии. В 1970-х группа исследователей предположила существование двух транспортных систем для метионина в *E. coli*. Позднее одна из них была идентифицирована как ABC-транспортёр (ATP-binding cassette) метионина MetD (MetNIQ). Гены, кодирующие вторую транспортную систему, предположительно низкоспецифичную к метионину и его близким аналогам, не были идентифицированы, что послужило основанием для настоящего исследования. В качестве модельного объекта был сконструирован штамм, неспособный к синтезу метионина и лишённый транспортёров метиониа MetNIQ и широкоспецифичного LIV-I. В результате инсерционного мутагенеза и последующего анализа нескольких тысяч мутантов были отобраны штаммы, которым для комплементации роста на минимальной среде требуется более высокая концентрация метионина по сравнению с родительским штаммом. В ходе секвенирования генома мутантов были идентифицированы две мутации, локализованные в ORF *yhjV*, который кодирует предполагаемый мембранный транспортёр из суперсемейства Amino Acid-Polyamine-Organocation (APC). Учитывая предсказанную локализацию в цитоплазматической мембране и принадлежность к семейству переносчиков аминокислот, была выдвинута гипотеза о том, что ухудшение способности мутанта поглощать экзогенный метионин связано с инактивацией YhjV. В ходе прямого измерения с использованием живых клеток и меченного L-[U-^{3}H]метионина мы потдтвердили, что YhjV активен по отношению к метионину. Таким образом, в нашей работе была установлена функция ранее неохарактеризованной транспортной системы YhjV, что вносит значительный вклад в понимание механизмов транспорта незаменимых аминокислот.

Работа выполнена в рамках государственного задания НИЦ «Курчатовский институт» и при частичной поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № 075-15-2025-490.

E-mail: Vybornaya_TV@nrcki.ru

РАЗНООБРАЗИЕ И ЭКОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

ПОСТЕРНЫЕ ДОКЛАДЫ

МЕТАБОЛИЗАЦИЯ ФИТОГОРМОНА АБСЦИЗОВОЙ КИСЛОТЫ РИЗОБАКТЕРИЯМИ ОКАЗЫВАЕТ БИОКОНТРОЛЬНЫЙ ЭФФЕКТ И МОДУЛИРУЕТ РЕАКЦИЮ РАСТЕНИЙ НА ИНФИЦИРОВАНИЕ ФИТОПАТОГЕННЫМИ ГРИБАМИ

Белимов [1] А.А., Шапошников [1] А.И., Азарова [1] Т.С., Юзихин [1] О.С., Вишневская [1] Н.А., Шахназарова [1] В.Ю., Лебединский [1] М.И., Бородина[1] Е.В., Гоголев [2] Ю.В.

[1] ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», Санкт-Петербург
[2] ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики – обособленное структурное подразделение Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань

Фитогормон абсцизовая кислота (АБК) модулирует устойчивость растений к абиотическим стрессам и повышает их восприимчивость к фитопатогенным грибам, которые продуцируют АБК и этим нарушают индукцию защитных реакций растений. Ризобактерия *Rhodococcus* sp. P1Y метаболизирует АБК и использует это вещество в качестве источника углерода (Belimov et al., 2014). Фитопатогенный гриб *Botrytis* sp. BA3 продуцирует АБК и поражает различные виды растений, включая подсолнечник и томаты. При совместном культивировании с *Botrytis* sp. BA3 *Rhodococcus* sp. P1Y ~~и~~ потреблял грибную АБК, но не влиял на рост гриба. Как обработка проростков подсолнечника экзогенной АБК, так и инокуляция грибом BA3 ингибировали рост корней и побегов. Штамм P1Y не влиял на рост подсолнечника, но устранял отрицательное влияние Botrytis sp. BA3 и экзогенной АБК на растения. Бактерии снижали концентрацию экзогенной и грибной АБК в питательном растворе и корнях до уровня неинокулированных грибом растений. Изучен биоконтроль гриба BA3 бактерией P1Y в условиях дефицита водного питания томатов Ailsa-Craig и мутанта *flacca* с пониженным биосинтезом АБК. Инокуляция BA3 снижала биомассу корней и побегов у Ailsa-Craig, но повышала эти показатели у *flacca*. Инокуляция P1Y нивелировала ингибирующее и стимулирующее действие гриба. BA3 снижал устьичную проводимость, но повышал содержание АБК в корнях и эффективность использования воды у *flacca* в условиях засухи, а добавление P1Y ослабляло эти эффекты гриба. Будут представлены данные о концентрации других фитогормонов в растениях. Впервые установлено, что (1) АБК-продуцирующие фитопатогены могут ингибировать и/или стимулировать рост растений за счет модуляции концентрации АБК; (2) направленность эффекта определяется генотипом растения. Результаты дают новую информацию об эффектах биоконтроля и о реакции растений на комбинацию биотического и абиотического стрессов с акцентом на роли микробной продукции и деструкции АБК.
Работа поддержана проектом РНФ № 24-16-00166.

E-mail: belimov@rambler.ru

ВЫДЕЛЕНИЕ ПЕКТОЛИТИЧЕСКИХ ШТАММОВ ИЗ ФИЛЛОСФЕРЫ *PHALAENOPSIS BLUME*

Бычкова[1] А.А., Бурыгин[2] Г.Л., Зайцева[1] Ю.А.

[1]Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова», Ярославль
[2]Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии им. Н.И. Вавилова», Саратов

Растения семейства Орхидные являются одной из наиболее экономически прибыльных декоративных культур. Объемы производства орхидей для продажи в России достигают порядка 2,5 миллионов особей ежегодно. Орхидные подвержены развитию инфекций бактериальной и грибной природы. Распространение патогенов приводит к гибели растений и снижению объемов их производства. На настоящий момент не существует эффективных методов диагностики и лечения бактериозов орхидных. Целью данного исследования являлось выделение пектолитических бактерий из филлосферы фаленопсиса с признаками бактериального поражения и оценка их фитотоксичности. Штаммы бактерий были выделены из растений фаленопсиса, производимых в тепличном комбинате Ярославской области. Оценку культуральных и биохимических свойств осуществляли по стандартным методикам, пектолитические свойства изучали по способности штаммов мацерировать растительные ткани клубней картофеля. Оценку фитотоксичности изучали на микрорастениях картофеля сорта Невский в культуре *in vitro*. Молекулярно-генетическую идентификация проводили по анализу последовательности гена 16S рРНК. В результате нами было выделено 15 эпифитных штаммов, из которых 5 проявляли способность к мацерации растительной ткани. Установлено, что они принадлежат к родам *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Paenibacillus* и *Citrobacter*. Оценка фитотоксичности на растениях *in vitro* показала, что штамм *Klebsiella* sp. PM5 оказывает значительное негативное влияние на растения. При инокуляции картофеля суспензией данного штамма наблюдалось снижение длины корней, длины побега и количества узлов в 2 раза по сравнению с контрольным вариантом. Количество корней уменьшалось на 75%. Масса побегов была снижена на 60% по сравнению с контрольными растениями, масса корней снижалась в среднем на 95%. Эти данные показывают, что эпифитный штамм PM5 обладает выраженными фитопатогенными свойствами и с высокой вероятностью, является причиной бактериозов растительных культур. Дальнейшее изучение механизмов вирулентности данного патогена позволит разработать эффективные методы диагностики и лечения заболеваний растений.

Работа поддержана грантом РНФ № 25-16-20136

E-mail: anasanby98@mail.ru

ИНФЕКЦИОННАЯ НИТЬ – УНИКАЛЬНЫЙ ПУТЬ РИЗОБИЙ В КЛУБЕНЕК

Цыганова А.В., Цыганов В.Е.

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург

У 75% бобовых растений заражение ризобиями происходит через корневые волоски. Распространение инфекции от эпидермы к коре корня и далее к примордию развивающегося клубенька осуществляется с помощью трубчатых структур, называемых инфекционными нитями. Инфекционные нити представляют собой уникальные симбиотические структуры растительного происхождения, которые формируются при постоянном воздействии бактериальных Nod факторов и способны пересекать клеточные границы. Инфекционная нить состоит из различных компонентов, как растительного (полисахариды клеточной стенки, гликопротеины межклеточного матрикса, различные ферменты, рецепторы и структурные белки плазматической мембраны), так и бактериального происхождения (полисахариды бактериальной поверхности и секретируемые белки). При этом прямое взаимодействие между растительной и бактериальной клеточными поверхностями играет важнейшую роль в ее формировании. В настоящем исследовании с использованием различных видов бобовых растений как дикого типа, так и неэффективных симбиотических мутантов с помощью электронно-микроскопического, цито- и иммунохимического анализа изучено развитие инфекционной нити в зрелом азотфиксирующем клубеньке. Показана модификация состава стенок инфекционной нити в онтогенезе симбиотического клубенька, а также видовые отличия, присущие различным типам клубеньков (детерминированным и недетерминированным). Продемонстрирована роль перекиси водорода в созревании стенок инфекционных нитей. Анализ матрикса инфекционных нитей позволил выявить сложность генетического контроля над развитием эффективного взаимодействия. Выявлена палитра разнообразных защитных реакций при формировании неэффективных симбиотических взаимоотношений. В результате проведенных исследований была создана модель функционирования инфекционной нити в клубеньках бобовых — универсального апопластического компартмента, служащего для доставки ризобий внутрь корня и симбиотического клубенька.

Работа финансово поддержана РНФ 23-16-00090.

E-mail: avtsyganova@arriam.ru

МИКРОБНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

ПОСТЕРНЫЕ ДОКЛАДЫ

ПРОБЛЕМА МОБИЛИЗАЦИИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО РЕСУРСА ПРИРОДНЫХ МИКРОБИОМОВ В РАЗРАБОТКЕ ТЕХНОЛОГИЙ ЭФФЕКТИВНОГО РАЗЛОЖЕНИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ ОСТАТКОВ

Гладков[1,2] Г.В., Кимеклис[1,3] А.К., Орлова[1] О.В., Лисина[1] Т.О., Андронов[1] Е.Е.

[1]Лаборатория микробиологического мониторинга и биоремедиации почв, ФГБНУ ВНИИСХМ, Пушкин
[2]Зоологический Институт РАН, Санкт-Петербург
[3]Кафедра прикладной экологии, СПбГУ, Санкт-Петербург

Одно из направлений работы лаборатории микробиологического мониторинга и биоремедиации почв ФГБНУ ВНИИСХМ является проблема мобилизации почвенного микробиома для использования его функционального потенциала. Такого рода исследования требуют современных подходов, таких как метагеномные исследования. Работа в этом направлении основана на фундаментальных исследованиях классиков почвенной микробиологии нашего института, таких как С.П. Костычев и Н.М.Лазарев, указывающих на важность изучения совместного существования групп микроорганизмов в сложных естественных условиях. На модельных опытах разложения соломы и листовых остатков с использованием почвенных затравок методами секвенирования длинных прочтений было показано, что значительную часть целлюлозолитического сообщества представляют микроорганизмы, не обладающих развитым аппаратом гликозидгидролаз. При этом незначительная часть сообщества состоит из микроорганизмов с перепредставленным набором кластеров разложения карбогидратов. Как мы считаем, именно эти микроорганизмы представляют собой мобилизованный для разложения растительных остатков компонент почвенного прокариотического сообщества. Другим направлением наших исследований является разработка и исследование микробных препаратов на основе микробных ассоциаций. В качестве модельного комплексного микробного препарата был использован БАГС (биологически активный грунт на соломе). БАГС как сложный комплексный биопрепарат обладает широким набором функциональных свойств, обладает специфическим и богатым микробиомом. При его анализе методами амликонного секвенирования с использованием сетевых подходов анализа были выделены кластеры микроорганизмов, ассоциированные с его целлюлозолитической активностью. В дальнейшем на основе исследования полного метагенома была идентифицирована потенциальная ассоциация *Crysolinea* и эктопаразитической *Gracillibacteria*, присутствующая в эффективных формах БАГСа.

Работа поддержана грантом РНФ 23-16-00147

E-mail: grgladkov@arriam.ru

ОЦЕНКА ПРОБИОТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА ШТАММОВ БАЦИЛЛ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ ДЕРМАТОЛОГИЧЕСКИХ БИОПРЕПАРАТОВ

Камальдинова Д.Р., Максимова К.А., Синягина М.Н., Григорьева Т.В.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань

В настоящее время активно ведутся исследования микробиома человека и его взаимосвязи с организмом хозяина. Необходимость сохранения гомеостаза микробного сообщества способствует отказу от агрессивных мер, таких как использование антибиотиков и антисептиков, при профилактических действиях. Применение пробиотических штаммов микроорганизмов теперь распространено не только в пищевой промышленности, но и в косметической. В этой связи, цель исследования - оценить пробиотический потенциал штаммов бацилл *B. velezensis* RV7, *B. subtilis* DK3 и *B. megaterium* SM14 в производстве косметических средств с точки зрения продуцирования бактериоцинов. Проводился посев смывов с кожи руки здоровых добровольцев на плотные питательные среды, после чего проводился «гало»-тест. Для оценки конкурентных свойств отбирались колонии с зоной задержки роста более 2 мм. С помощью масс-спектрометрии microflex MALDI (Bruker Daltonik GmbH, Германия) определялась видовая принадлежность изолятов. Для дальнейшего полногеномного анализа были отобраны три штамма от трех разных людей: *B. velezensis* RV7, *B. subtilis* DK3, *B. megaterium* SM14. Секвенирование проводилось на платформе Genemind FASTASeq 300. Собранные геномы были загружены и проанализированы с помощью онлайн-программы antiSMASH bacteria, версии 7.1.0. По результатам анализа геномов идентифицированы гены, продукции бактериоцинов. У штаммов *B. velezensis* RV7 и *B. subtilis* DK3 были обнаружены гены продукции бациллибактина, бациллизина, фенгицина, бациллаена, сурфактина. При этом ген продукции пульхерриминовой кислоты встречается только у штамма *B. subtilis* DK3, а гены бацинапептина, плантазолицина, макролактина H выявлены только у *B. velezensis* RV7. У штамма *B. megaterium* SM14 гены продукции бактериоцинов не обнаружены. Таким образом, можно сделать вывод, что штаммы *B. velezensis* RV7 и *B. subtilis* DK3 имеют потенциал для включения их в дальнейшую разработку дерматологических пробиотических препаратов.
Работа выполнена в рамках проекта № FZSM-2023-0013 государственного задания КФУ.

E-mail: kamaldila_rav@mail.ru

СЕКЦИОННЫЕ ДОКЛАДЫ

СИНЕРГИЯ БАКТЕРИОФАГОВ И ПРОБИОТИКОВ В ПРОФИЛАКТИКЕ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Пасивкина[1] М.А., Киселева[1] И.А., Анурова[1,2] М.Н., Лаишевцев[1,3] А.И.

[1]Московский научно-исследовательский институт им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва
[2]Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва
[3]«Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук», Москва

Актуальность разработки лечебно-профилактических продуктов альтернативных антибиотикам растет пропорционально резистентности к существующим препаратам. Бактериофаги и пробиотики в свою очередь занимают значимое место среди подобных нетрадиционных подходов. Целью исследования является конструирование БАД на основе комбинации лактобацилл и фагов для профилактики дисбактериозов и кишечных инфекций, ассоциированных с *E.coli* и *Salmonella enterica.* Выделение, качественный и количественный анализ бактериофагов проводили биологическими (spot-тест, метод Грациа), физическими (электронная микроскопия) и молекулярно-генетическими методами (полногеномное секвенирование). Фено- и генотипические характеристики лактобацилл, а также безопасность (токсигенность, токсичность, безвредность, вирулентность и наличие дерматонекротических свойств) изучали согласно МУК 4.2.2602-10. В ходе работы было выделено и охарактеризовано два бактериофага активных в отношении диареегенных *E.coli* и *Shigella spp.,* два фага к *Salmonella enterica.* Из биологического материала, полученного от здоровых людей, было выделено три безопасных пробиотических штамма *Lactobacillus* spp.*,* обладающих антагонистической активностью по отношению к перечисленным патогенам. Биосовместимость лактобацилл и бактериофагов была подтверждена при их сочетании в лиофилизированном виде: оба компонента сохраняли стабильность и активность в течение 6 месяцев. Полученная комбинация демонстрировала *in vitro* выраженную антагонистическую активность в отношении *E.coli* и *S.enterica* при совместном культивировании с последующим посевом на селективные среды. Полученные данные обосновывают возможность применения данной комбинации в составе профилактического БАД и служат основой для дальнейших *in vivo* исследований на модели кишечной инфекции.

E-mail: pasivkina@gabrich.ru

МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

СЕКЦИОННЫЕ ДОКЛАДЫ

НОВАЯ БАКТЕРИОЛИТИЧЕСКАЯ АМИДАЗА AMI *LYSOBACTER CAPSICI* XL1

Кудрякова[1] И.В., Афошин[1] А.С., Шишкова[2] Н.А., Иванков[3] Д.Н., Булавко[3] Е.С., Леонтьевская[1] Е.А., Леонтьевская[1] Н.В.

[1] Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина – обособленное подразделение Федерального исследовательского центра «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», Пущино
[2] Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», Оболенск
[3] Центр молекулярной и клеточной биологии, Сколковский институт науки и технологий, Москва

Поиск, выделение и характеристика новых антимикробных соединений – вызов современной биомедицины для борьбы с антибиотико-резистентными микроорганизмами. Одними из таких перспективных литических агентов являются внеклеточные бактериолитические ферменты бактерий. В ИБФМ РАН изучаются бактериолитические ферменты *Lysobacter* spp. Целью данной работы было изучить бактериолитические свойства нового внеклеточного фермента Ami *L. capsici* XL1. Было установлено, что Ami обладает литической активностью в отношении живых патогенных бактерий *Staphylococcus aureus, Micrococcus luteus, Enterococcus faecium, Bacillus anthracis,* содержащих плазмиды вирулентности и иммуногенности pXO1 и pXO2, а также *B. cereus*. Была изучена специфичность действия Ami в отношении пептидогликанов разных хемотипов – A1γ у *B. cereus* 217, A2 у *M. luteus* Ac-2230^{T}, A3α у *S. aureus* 209P, A4α у *E. faecium* FS86. Было установлено, что фермент гидролизует все исследуемые пептидогликаны. Для идентификации конкретных связей использовали метод Акабори (определение свободных С-концевых а.о.) и динитрофенилирования (определение N-концевых а.о.) с последующим анализом методом ТСХ. Было установлено, что амидаза Ami гидролизует во всех исследуемых пептидогликанах характерную для такого типа ферментов амидную связь между N-ацетилмурамовой кислотой и L-Ala пептидного ствола. С помощью программы AlphaFold III была предсказана двухдоменная структура Ami. При структурном выравнивании с ближайшими гомологами методом TM align в каталитическом домене детектированы а.о., которые могут принимать участие в связывании с углеводной частью пептидогликана. В дальнейшем с использованием молекулярно-генетических подходов планируется изучить механизм связывания Ami с пептидогликаном. Таким образом, новая бактериолитическая амидаза является перспективным антимикробным агентом с более широким спектром антимикробного действия по сравнению с известными амидазами бактерий и бактериофагов.

Работа выполнена при поддержке РНФ №24-75-10078

E-mail: kudryakovairina@yandex.ru

ПОСТЕРНЫЕ ДОКЛАДЫ

ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ПРИ БАКТЕРИАЛЬНОМ ЦИСТИТЕ У КОШЕК

Седашев А.П., Гасюк О.А., Зеркалёва Д.Д.

Центр Биотехнологий ФГБОУ ВО Кубанский государственный аграрный университет им. Трубилина, Краснодар

По данным ветеринарной статистики заболевания урогенитального тракта у кошек диагностируется достаточно часто и имеет тенденцию к увеличению количества заболевших животных. Для разработки этиологического подхода в терапии бактериальных циститов целью работы являлось изучение таксономической структуры и частоты встречаемости возбудителей. Выделение бактерий проводили из мочи, отобранной цистоцентезом у домашних кошек, имеющих клинические признаки цистита. Идентификация микроорганизмов осуществлялась методом масс-спектромерии. При бактериологическом исследовании из всех исследуемых проб мочи было выделено 273 бактериальных изолята. Установлено количественное преобладание представителей рода *Staphylococcus* (28,93%), из них идентифицированы: *S. haemoliticus* (17,58%); *S. epidermidis* (7,69%); *S. aureus* (6,22%); *S. intermedius* (3,66%); далее в порядке убывания по частоте встречаемости зарегистрированы штаммы *E. coli* (27,47%); *E. faecalis* (14,28%); *E. faecium* (6,95%); *E. cancerogenus* (5,49%); *K. oxytoca* (4,39%); *K. pneumoniae* (2,93%); *P. vulgaris* (1,46%); *P. aeruginosa* (1,09%); *C. urealyticum* (0,73%). В монокультуре возбудители регистрировались в 86,32% случаев, в ассоциации из 2-х видов – 8,42%, а в ассоциации из 3-х видов – 5,26%. Наиболее частые ассоциации представлены представителями рода: *Staphylococcus* и *Esherichia* (53,28%); *Esherichia* и *Enterococcus* (27,35%); *Enterococcus* и *Klebsiella* (19,37%). Таким образом, нами была подсчитана встречаемость возбудителей при бактериальном цистите у кошек и определён их биологический вид. Данные исследования можно применять при назначении этиотропной терапии в рутинной ветеринарной практике до получения результатов микробиологического исследования.

E-mail: sedashevartem@mail.ru

СЕКЦИОННЫЕ ДОКЛАДЫ

РОЛЬ ТРАНСПОРТЕРОВ СТЕРИНОВ LAM В ПОДДЕРЖАНИИ ПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ И СПОРУЛЯЦИИ ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Соколов С.С., Сурикова Е.Д., Голышев С.А., Смирнова Е.А., Северин Ф.Ф.

НИИ ФХБ имени А.Н.Белозерского МГУ имени М.В.Ломоносова, Москва

Стерины играют важную роль в барьерных свойствах мембраны, что объясняет их максимальную концентрацию в плазматической мембране (ПМ). В сочетании со сфинголипидами они образуют рафты – участки мембраны с особыми физико-химическими свойствами. Это позволяет мембранным белкам выбирать оптимальное липидное окружение для своей работы, учитывая такие параметры, как толщина и жесткость бислоя. Стерины синтезируются в эндоплазматическом ретикулуме (ЭР) и транспортируются в ПМ с помощью белков семейства Osh, которые обеспечивают активный перенос против градиента концентрации. Белки Lam отвечают за пассивный возврат стеринов из ПМ в ЭР. Мы обсуждаем гипотезу, согласно которой белки Lam переносят избыточные стерины из нерафтовой области ПМ в ЭР, а белки Osh возвращают их обратно на ПМ. Таким образом, совместная работа этих белков может поддерживать поток стеринов из нерафтовой части мембраны в рафты. При снижении концентрации стерина в нерафтовой области активность Lam-белков может уменьшаться из-за увеличения упорядоченности фосфолипидов, что помогает поддерживать гомеостаз концентрации и распределения стерина в ПМ. Также мы обсуждаем данные о влиянии белков Lam в споруляции дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Мы показали, что совместное нарушение четырёх генов *LAM1* - *LAM4*, кодирующих белки, находящиеся в местах контактов ПМ и ЭР, так и нарушение генов *LAM5* и *LAM6*, кодирующих белки, находящиеся в местах контактов ЭР с митохондрией и вакуолью, снижает как долю спорулирующих клеток, так и количество спор в аске. Качество самих спор при нарушении генов *LAM* также снижено, они становятся менее устойчивы к внешним воздействиям. Клеточная стенка спор с нарушенными генами *LAM1* - *LAM4* становится толще и содержит дефекты строения. Возможные механизмы участия белков Lam в формировании спор *S. cerevisiae* обсуждаются.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 23-14-00172

E-mail: sviatoslav.sokolov@gmail.com