

Национальная академия микологии
ОБЩЕРОССИЙСКАЯ ОБЩЕСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ

СОВРЕМЕННАЯ МИКОЛОГИЯ В РОССИИ
Current Mycology in Russia

Том 8

Выпуск 6.

Грибные биотехнологии

Глава 12.

Грибные биотехнологии

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.12

Глава 13.

**Культивируемые съедобные
и лекарственные грибы**

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.13

Volume 8

Issue 6.

Biotechnology from fungi

Chapter 12.

Fungal biotechnology

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.12

Глава 13.

Cultivable, edible and medicinal fungi

doi: 10.14427/cmr.2020.viii.13

ЭКСТРЕМОФИЛЬНЫЕ ГРИБЫ КАК ПРОДУЦЕНТЫ НОВЫХ ПЕПТИДНЫХ АНТИБИОТИКОВ, ПРЕОДОЛЕВАЮЩИХ АНТИМИКРОБНУЮ УСТОЙЧИВОСТЬ: ИННОВАЦИОННЫЕ ПОДХОДЫ К ПОИСКУ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В МЕДИЦИНЕ

Садыкова В.С., Куварина А.Е., Гаврюшина И.А., Георгиева М.Л., Кулько А.Б., Рогожин Е.А.
Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе, Москва

Антимикробные пептиды (АМП) были и остаются одним из важнейших источников новых эффективных соединений за счет широкого спектра действия в отношении условно-патогенных и патогенных бактерий и грибов, низкой токсичности и отсутствия формирования резистентности. На сегодняшний день все зарегистрированные природные и синтетические АМП собраны в различных базах данных, например, в хранилище данных антимикробных пептидов (DRAMP), которое содержит более 4500 последовательностей.

Новые противогрибковые синтетические пептиды активно внедряет Novabiotics: NP213 -циклический гептамер на основе аргинина с фунгицидной активностью. В качестве активного ингредиента Novexatin® он был составлен в виде кисти для лечения грибковых инфекций ногтей (онихомикоз). Фазы I и II а клинических исследований показали, что NP213 является безопасным, хорошо переносимым и эффективным. Также разрабатывается препарат Novamycin (NP339), новый противогрибковый пептид для лечения аспергиллеза, кандидоза и криптококкоза.

Во всем мире серьезную угрозу здоровью населения представляют также бактериальные инфекционные заболевания, микроорганизмы-возбудители которых способны к образованию биопленок, являющиеся одновременно фактором патогенности и резистентности бактерий. Инфекции, при которых образуются биопленки, с трудом поддаются лечению, поскольку обладают высокой устойчивостью ко многим антибиотикам и антимикробным препаратам, применяемым в клинической медицине, а также способностью преодолевать защитные механизмы макроорганизмов. В последнее время активно разрабатываются новые подходы к выявлению и изучению биопленок, меняется тактика антибиотикотерапии, а также ведется поиск новых антибиотиков, ингибиторов межклеточной сигнализации, ферментов и других методов разрушения уже сформировавшихся биопленок.

Одним из первых пептидов, обладающих антибиопленочной активностью, был кателицидин человека LL-37. Примечательно, что данный пептид практически не обладает ингибирующей активностью против планктонных бактерий, но проявляет специфическое антибиопленочное действие. Был проведен ряд исследований, показавших, что обработка стафилококков антимикробными тромбозитарными пептидами способствует изменению их физико-химических свойств (гидрофилизация поверхности и повышение электрокинетического потенциала) и снижению биопленкообразования.

АМП грибного происхождения являются одними из важнейших, активно изучаемых источников новых эффективных антибиотиков. Им свойственны широкий спектр действия в отношении условно-патогенных и патогенных бактерий, дрожжей и мицелиальных грибов, и, как правило, низкая токсичность, отсутствие формирования резистентности. При этом они облада-

ют способностью ингибировать рост микроорганизмов, во многих случаях посредством механизмов, отличных от большинства традиционных антибиотиков [1].

Среди этой группы наибольший интерес представляют пептаиболы (липopeптаиболы, липоаминопептаиболы, липоаминопептиды), как соединения с антибиотическими свойствами, — семейство мембранно-активных пептидных антибиотиков, содержащие ряд нестандартных аминокислотных остатков (в частности, альфа-аминоизомаслянную кислоту), без дисульфидных связей, имеющие преимущественно спиральную конформацию (при интеграции в мембрану) и содержащие диалкиламинокислоты и аминоспирты. Эти пептиды являются вторичными метаболитами, образуются в стадии идиофазы, когда прекращается активный рост гриба, или при создании специфических условий культивирования — добавлении предшественников. Интерес к ним резко возрос в последнее время в связи с перспективами использования для разработки лекарственных препаратов нового поколения. Они рассматриваются в качестве молекул-кандидатов, с помощью которых можно преодолеть устойчивость к антибиотикам у патогенных микроорганизмов, оболочечных вирусов и раковых клеток. К настоящему времени известны около 40 пептаиболов, выделенных из грибов различных систематических групп, обладающих противогрибковой активностью в отношении патогенных, условно патогенных и фитопатогенных мицелиальных и дрожжевых грибов.

Грибы рода *Emericellopsis* известны как продуценты антимикробных пептидов группы пептаиболов с антибактериальной активностью. Новый вид алкалофильного гриба *Emericellopsis alkalina* был впервые описан в 2013 г, изоляты которого были выделены из содовых солончаков Кулундинской степи и Забайкалья. Проведенный скрининг различных изолятов данного вида на способность к синтезу антибиотических веществ, позволил выявить перспективный с биотехнологической точки зрения штамм ВКПМ F-1428, характеризующийся уникальным комплексом пептидов с антимикробной активностью в отношении грибов и бактерий.

Штамм продуцирует комплекс пептаиболов, обладающий противогрибковой активностью *in vitro* в отношении клинических изолятов патогенных видов дрожжей и грибов — возбудителей аспергиллеза и кандидоза у больных туберкулезом и СПИД [2,3]. Основным компонентом комплекса антибиотиков является новый липopeптид — эмерициллипсин А, обладающий разнонаправленным спектром антимикробного действия. В соответствии с ЯМР-спектрами эмерициллипсин А представляет собой линейный полипептид, с 2-метилдекановой кислотой (2MDA) на N-конце и N-(2-гидроксиэтил)-1,2-пропандиамина на C-конце. Пептид образует альфа-спираль и содержит 8 карбонильных групп. Из 7 аминокислотных остатков два представлены аланином и изолейцином, а

остальные — 3-метилпролином (ЗМП), 2-амино-4-метил-6-гидрокси-8-оксодекановой кислотой (АНМОД), 2-аминоизобутиратом (АИБ), изовалином и β-аланином. ЯМР-спектры показывают молекулярную формулу $C_{54}H_{99}N_9O_{11}$ с изотопной молекулярной массой 1049,746. Эмерициллипин А является типичным представителем липоаминопептидов [3,4].

Фунгицидная активность выражается в неспецифическом действии на эукариотические патогенные дрожжевые и мицелиальные виды грибов, обладающие высоким уровнем резистентности к традиционным противогрибковым препаратам. Помимо этого, эмерициллипин А ингибирует формирование биопленок клинических изолятов *S. aureus* [4,5].

In vitro анализы эмерициллипина А показали селективную цитотоксическую активность против клеточных линий HepG2 и Hela, при этом эмерициллипин А менее токсичен для нормальных клеток, чем применяемый в клинике доксирубицин. Полученные данные по гемолитической активности позволяют заключить, что для исследуемого соединения — эмерициллипина А — свойственен низкий уровень гемолитической активности с отсутствием дозо-зависимого эффекта.

Также были начаты исследования антифунгальной активности двух его гомологов — эмерициллипинов В и С и особенностей их биосинтеза в разных биотехнологических системах [4,5].

Раздел исследования по культивированию штамма *E. alkalina* выполнен при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19–34–90088, раздел по выделению эмерициллипина А для оценки антимикробной активности выполнен при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 18–74–10073).

Список литературы

1. Fan L., Sun J., Zhou M., Zhou J., Lao X., Zheng H., Xu H. DRAMP: A comprehensive data repository of antimicrobial peptides // *Sci. Rep.* 2016. Vol. 6, № 24482.
2. Садыкова В.С., Гаврюшина И.А., Куварина А.Е., Маркелова Н.Н., Седых Н.Г., Георгиева М.Л., Барашкова А.С., Рогожин Е.А. Антимикробная активность липопетида — Эмерициллипина А, выделенного из *Emericellopsis alkalina*, в отношении биопленкообразующих бактерий // *Прикладная биохимия и микробиология.* 2020. Т. 56, № 3. С. 1–7.
3. Садыкова В.С., Рогожин Е.А., Баранова А.А., Георгиева М.Л., Биланенко Е.Н., Васильченко А.С. Штамм *Emericellopsis alkalina* Bilanenko & Georgieva — продуцент антибиотиков — пептаиболов с антигрибной и антибактериальной активностью. Патент РФ № 2704421 от 06.05.2019.
4. Рогожин Е.А., Садыкова В. С., Гаврюшина И.А., Габрия Р.А., Куварина А.Е., Барашкова А.С., Георгиева М.Л. Биотехнология получения нерибосомальных пептидных антибиотиков грибного происхождения // *Актуальная биотехнология.* 2019 Т. 30, № 3. С. 430–431.
5. Садыкова В. С., Гаврюшина И.А., Куварина А.Е., Георгиева М.Л., Н.Г. Седых, Н.Н. Маркелова, Барашкова А.С., Рогожин Е.А. Антимикробная активность липопептида — эмерициллипина А, выделенного из *Emericellopsis alkalina*, в отношении биопленкообразующих бактерий // *Прикладная биохимия и микробиология.* 2020. Т. 56, №3, С. 1–4.

СИНТЕЗ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ГЛИКОЗИЛ-ГИДРОЛАЗ ХИТОЗАН-ДЕГРАДИРУЮЩИМ ШТАММОМ *PENICILLIUM* SP. IB–37–2A И ЕГО ПОТЕНЦИАЛ В БИОКОНВЕРСИИ РАСТИТЕЛЬНОГО И ХИТИН-СОДЕРЖАЩЕГО СЫРЬЯ

Сафина В.Р., Галимзянова Н.Ф., Гильванова Е.А., Мелентьев А.И., Актуганов Г.Э.
Уфимский Институт биологии Уфимского федерального исследовательского центра РАН

Микробная конверсия растительного сырья различного происхождения является важным направлением комплексной переработки продуктов и отходов сельского хозяйства, а также лесоперерабатывающей промышленности, имеющей целью улучшение качества жизни, рациональное использование природных ресурсов, энергосбережение и защиту окружающей среды. Основные аспекты применения микроорганизмов и их ферментов для этих целей связаны с обогащением и улучшением качества кормов, получением микробного белка (протеинизация сырья и др.), пробиотиков для животноводства, средств биологической защиты растений, а также биогаза и других видов биотоплива [1, 2]. Мицелиальные грибы представляют собой перспективный объект для широкого использования в переработке и трансформации растительного сырья. Вместе с тем, в последнее время особое значение приобретает необходимость разработки на основе одного или нескольких штаммов микроорганизмов многофунк-

циональных микробных препаратов, имеющих расширенный спектр областей применения [3]. В контексте данного вопроса нами была изучена возможность одновременного применения мицелиального гриба *Penicillium* sp. IB–37–2A для биоконверсии растительного и хитин-содержащего сырья. Хитин, в отличие от целлюлозы, является в основном полимером животного и грибного происхождения, занимая второе место по объему ежегодной мировой продукции. Проблема переработки панцирь-содержащего сырья креветок и крабов и других хитин-содержащих отходов рыболовной промышленности в настоящее время стоит не менее остро, при этом хитин представляет собой ценное сырье для получения продуктов высокой добавленной стоимости [4]. Другими потенциальными источниками хитина являются отработанная мицелиальная биомасса грибов, используемых в биотехнологической промышленности, отработанные грибные блоки промышленно культивируемых съедобных грибов (*Pleurotus*