

ЛИТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ *LYSOBACTER CAPSICI*: НА ПУТИ К СОЗДАНИЮ АНТИМИКРОБНОГО ПРЕПАРАТА НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ

Афошин Алексей Сергеевич

Кудрякова Ирина Валерьевна, Леонтьевская Елена Алексеевна, Леонтьевская Наталья Валерьевна

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина Российской академии наук – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», Российская Федерация, 142290, Московская область, г. Пущино, пр-кт Науки, 5, alex080686@mail.ru

Введение

Настоящее время - время пандемий - характеризуется стремительным распространением антибиотико-резистентных патогенных микроорганизмов. Инфекции, вызванные такими патогенами, являются причиной примерно 1,27 млн. смертей в год во всем мире. Распространение в обществе антибиотико-резистентных микроорганизмов, ведет к интенсивному поиску и выделению из окружающей среды продуцентов антимикробных агентов. В ИБФМ РАН изучаются грамотрицательные бактерии рода *Lysobacter*, продуцирующие множество антимикробных агентов (антибиотиков, пептидов, бактериолитических ферментов).

Цель

Целью настоящей работы было изучить антимикробный потенциал штамма *Lysobacter capsici* ВКМ В–2533^T, выделить и охарактеризовать бактериолитические протеазы и разработать гомологичную систему экспрессии.

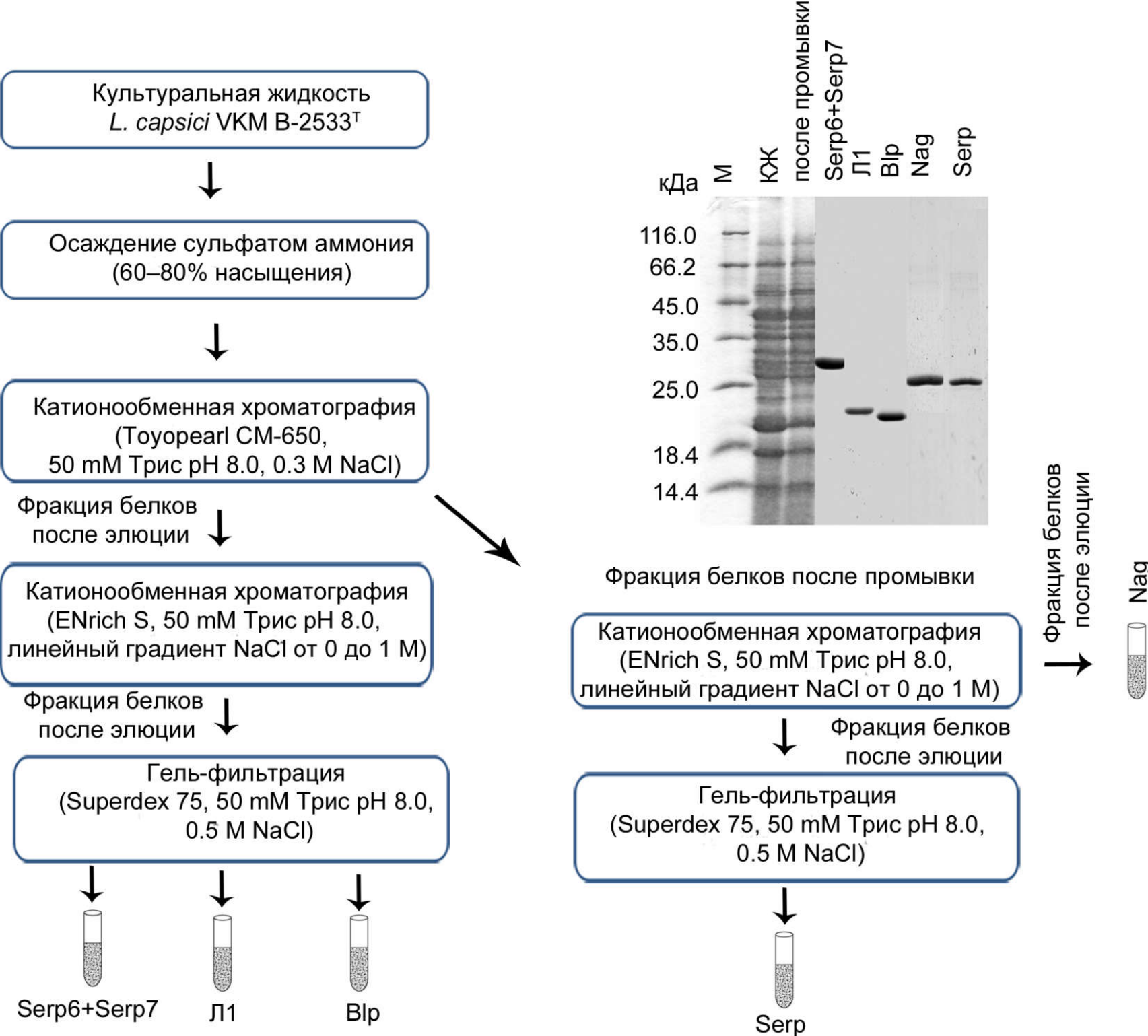
Результаты

1. Выбор оптимальной среды культивирования для проявления максимальной антимикробной активности *Lysobacter capsici* ВКМ В–2533^T

Среда культивирования	5/5	RM	SYM
Тест-объекты			
<i>Micrococcus luteus</i>	–	++	++
<i>Bacillus cereus</i>	–	++	++
<i>Kocuria roseus</i>	–	++	++
<i>Staphylococcus aureus</i>	–	++	++

Наиболее оптимальными средами для продукции литических агентов являются - RM и SYM

3. Выделение бактериолитических ферментов *L. capsici*



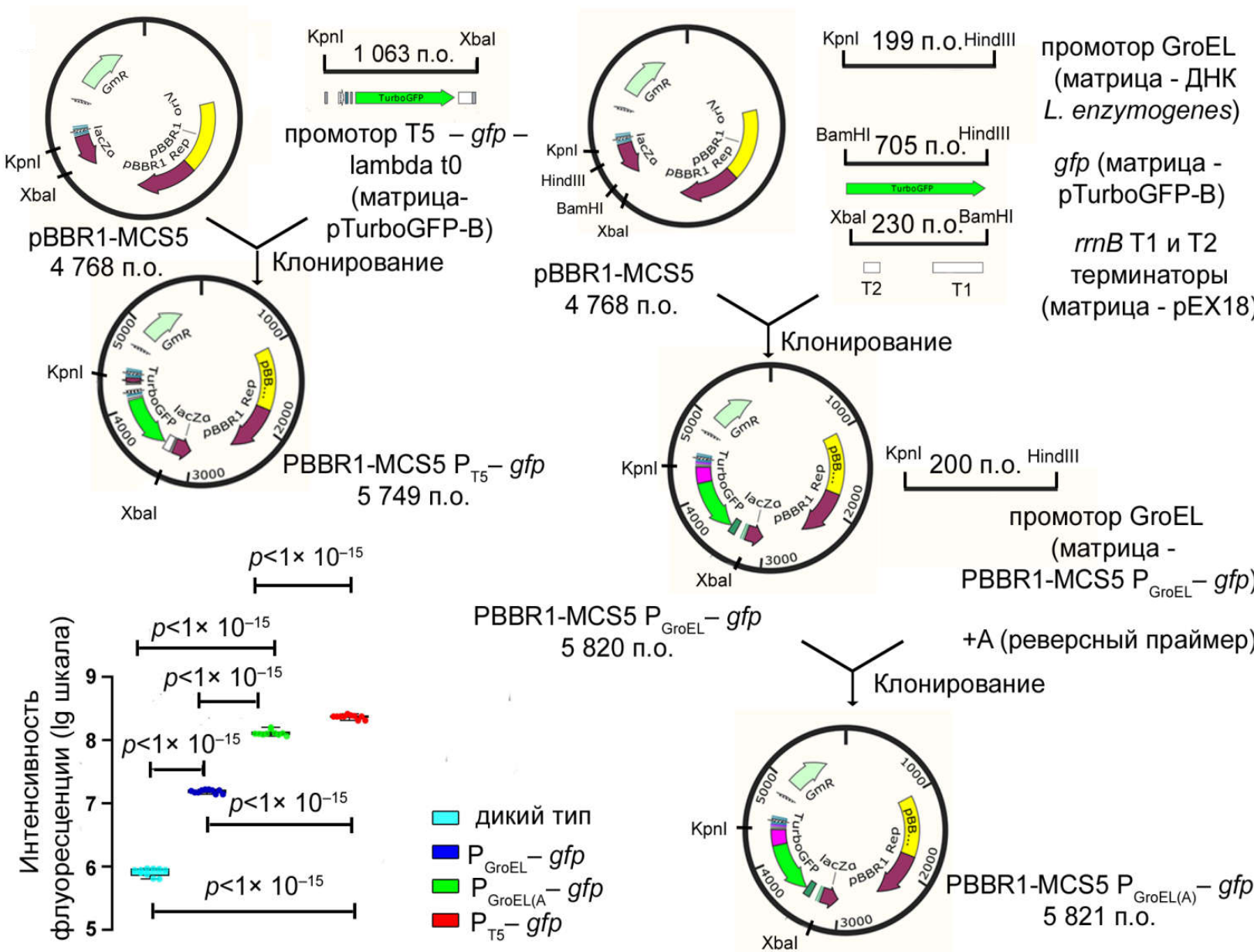
Из культуральной жидкости *L. capsici* выделены и идентифицированы новые бактериолитические ферменты: сериновые протеазы Serp и Serp6, и N-ацетилглюкозаминидаза, а также известные α- и β-литические протеазы (Л1 и Blp) и сериновая протеаза Serp7. В гомогенном виде получены Л1, Blp, Serp, N-ацетилглюкозаминидаза.

Все выделенные белки обладали бактериолитической активностью в отношении автоклавированных клеток стафилококка и только белок, идентифицированный как Blp (КФ 3.4.24.32), обладал литическим действием в отношении живых клеток *S. aureus* 55 MRSA. Минимальная ингибирующая концентрация (МИК) этого белка составила 2.85 мкг/мл

2. Поиск генов, кодирующих бактериолитические ферменты, с помощью транскриптомного анализа

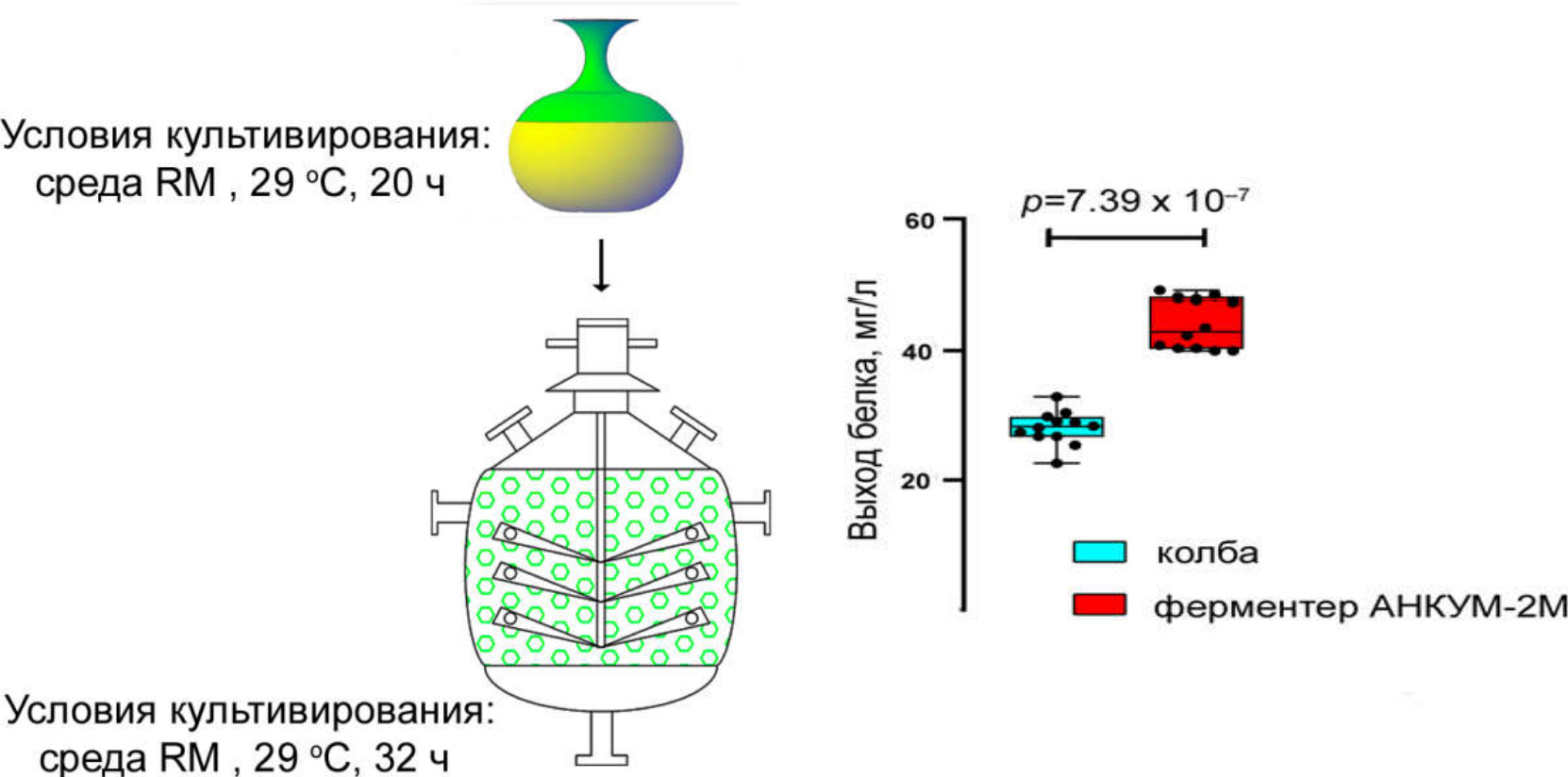
С помощью транскриптомного подхода на среде RM идентифицировано 77 генов, а на среде SYM – 52 гена, кодирующих ферменты с предполагаемой антимикробной активностью

4. Разработка гомологичной системы экспрессии для Blp



Выход Blp у *Lysobacter capsici* P_{GroEL(A)}-blp составил 13.7 мг/л, а у *Lysobacter capsici* P_{T5}-blp 17.5 мг/л, что больше в 6.7 и 8.5 раз соответственно по сравнению с *Lysobacter capsici* дикого типа

5. Процесс культивирования *L. capsici* P_{T5}-blp успешно масштабирован в ферментере объемом 10 л.



Выход Blp после ферментации увеличился в 1.6 раз, по сравнению с лабораторными условиями.

