

УДК 579.6,606

АНТИМИКРОБНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ МИКРОМИЦЕТА *Emericellopsis* sp. E102 И ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА БИОСИНТЕЗ АНТИБИОТИКОВ

© 2025 г. В. В. Соколов¹, И. В. Миронов¹, А. Ю. Симонов¹, И. Б. Левшин¹,
М. Л. Георгиева^{1,2}, В. С. Садыкова^{1,*}

¹Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе, Москва, 119021 Россия

²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, 119234 Россия

*e-mail: sadykova_09@mail.ru

Поступила в редакцию 07.04.2025 г.

После доработки 28.04.2025 г.

Принята к публикации 28.04.2025 г.

В последние десятилетия интерес к грибам из рода *Emericellopsis* как к продуцентам биологически активных молекул значительно возрос в связи с выделением новых соединений с потенциальным фармацевтическим применением. Проведена оценка спектра антибиотической активности, которая позволила выбрать перспективный продуцент нового антибактериального соединения – штамм *Emericellopsis* sp. E102, выделенный из засоленных почв. Штамм E102, на основании молекулярных данных и филогенетических построений, образует отдельную кладу в составе крупной морской клуды среди грибов рода *Emericellopsis* и предположительно является новым видом. Этилацетатный экстракт культуральной жидкости *Emericellopsis* sp. E102 в концентрации 1000 мкг/мл образовывал зоны ингибирования размером 20.3–30.0 мм в тестах по отношению к *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 и *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Анализ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии выявил соединение с моновалентной массой вещества 724.5 г/моль. С помощью сервиса Chemcalc.org были определены наиболее вероятные брутто-формулы искомого компонента. На основании представленных расчетов сделано предположение, что вещество имеет стерановый каркас.

Ключевые слова: антимикробные соединения, грибы, *Emericellopsis*, антибиотики

DOI: 10.7868/S3034574X25050063

Род *Emericellopsis* van Beuma (*Ascomycota*) введен van Beuma в 1939 г. в семействе *Eurotiaceae* (порядок *Eurotiales*) для размещения нового вида *E. terricola* и *E. terricola* var. *glabra* [1]. В 2023 г. после масштабного исследования микромицетов с *Acremonium*-подобной морфологией положение рода *Emericellopsis* прочно закрепилось в семействе *Bionectriaceae* порядка *Hypocreales* [2]. В настоящее время род насчитывает 29 видов, последний из которых – *E. ovoidea* F. Liu, S. Song & L. Cai – описан в 2024 г. [3]. Виды рода *Emericellopsis* на основании данных филогенетики и схожести биотопов условно делятся на две крупные группы: морскую и наземную. В некоторых исследованиях выделяют содовую кладу (с *E. alkalina* Bilanenکو & Georgieva) внутри морской [4, 5]. Грибы из рода *Emericellopsis* активно изучают как продуценты антибиотиков с

1957 г., когда была описана совершенная стадия продуцирующего цефалоспорин *Cephalosporium salmosynnematum* Roberts – *Emericellopsis salmosynnemata* (Roberts) Grosklags & Swift [6]. К настоящему времени известно большое количество вторичных метаболитов у микромицетов этого рода с антибактериальной, противогрибковой, антипротозойной и цитотоксической активностью, представленных в основном нерибосомальными пептидами из группы пептаиболов и производными изопрена (моно-, сескви-, дитерпенами и их производными).

Особый интерес для поиска новых антибиотиков представляют новые и недавно описанные виды или штаммы известных видов, выделенные из нетипичных местообитаний. Для поиска природных биологически активных соединений в раз-

ные периоды применялись различные стратегии: от традиционного фенотипического скрининга до внедрения достижений в геномике, транскриптомике, протеомике, метаболомике и других технологиях. Подход “one strain – many compound (один штамм – много соединений)” (OSMAC) [7] успешно применяется для увеличения химического разнообразия и синтеза разных природных соединений из одного микробного штамма. Согласно такому подходу, каждый микробный штамм культивируют в различных средах и/или при разных условиях культивирования, чтобы индуцировать продукцию метаболитов. Для изучения химического потенциала соединений с антимикробной активностью в этой работе исследовалась активность штамма *Emericellopsis* sp. E102 с использованием различных жидких питательных сред в соответствии со стратегией OSMAC.

Цель работы – уточнение таксономического положения штамма *Emericellopsis* sp. E102, выделенного из засоленных почв, оценка его антибиотического потенциала, изучение влияния условий культивирования на биосинтез антимикробных соединений и выделение активного вещества.

МЕТОДИКА

Для изучения антимикробной активности был взят штамм *Emericellopsis* sp. E102 из коллекции грибов экстремальных местообитаний кафедры микологии и альгологии биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова. Штамм был в 2003 г. выделен из засоленной почвы (Михайловский р-н, Алтайский край, Россия) с рН 9.1, сумма растворенных солей 47 г/кг. Для определения видовой принадлежности штамма были проведены предварительные морфолого-культуральные и молекулярно-генетические исследования. Данные для регионов ITS1-5.8s-ITS2 (ITS) и β -тубулина были загружены в Генбанк с номерами KC987172 и KC987134 соответственно [5] (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Для реконструкции филогении и позиционирования *Emericellopsis* sp. E102 в пределах рода использованы последовательности регионов ITS и β -тубулина типовых штаммов видов рода *Emericellopsis*, в качестве внешней группы выбран *Stanjemonium grisellum* CBS 655.79 (табл. 1). Последовательности были выровнены алгоритмом MAFFT v7.526 от 26.04.2024 (метод L-INS-i) [8] с последующей ручной корректировкой выравнивания в MEGA 11 [9]. Филогенетический анализ методом максимального правдоподобия (maximum likelihood) проведен в IQ-Tree multicore version 2.3.6 for Linux x86 64-bit [10] с автоматическим подбором оптимальной модели нуклеотидных замен 1000 генераций алгоритма “ultrafast bootstrap”. Инсерции/делеции закодированы по Simons & Ochoterena 2000 [11] в SeqState [12]. Байесовский вывод о филогении смоделирован

в MrBayes 3.2.7a multicore version for Linux x86 [13–15]. Филогенетические деревья отображали и аннотировали при помощи актуальных версий пакетов *ape* [16], *treeio* [17] и *ggtree* [18] для R [19]. Топология консенсусного дерева и апостериорные вероятности узлов были рассчитаны методом байесовского вывода о филогении, на консенсусное дерево добавлены значения поддержки бутстрепа для узлов, рассчитанные методом максимального правдоподобия.

Emericellopsis sp. E102 культивировали на питательных средах на основе сусла (СПС, сусло неохмеленное – 30.0 г/л, дрожжевой экстракт – 1.0 г/л) и мальтозы (МПС, мальтоза – 30.0 г/л, дрожжевой экстракт – 1.0 г/л) в колбах Эрленмейера в стационарном и глубинном (120 об./мин.) режимах в течение 14 сут при 25°C. Во всех случаях использовались колбы Эрленмейера объемом 750 мл с 250 мл питательной среды. Также культуру гриба выращивали в ферментере для глубинного культивирования “Labfors 5” (Infors HT, Швейцария) в объеме 5 л на среде СПС при 120 об./мин и 25°C в течение 14 сут. В процессе культивирования непрерывно регистрировали значения рН и рО₂.

Антимикробную активность определяли с помощью стерильных бумажных дисков (“НИИ Пастера”, Россия), на которые наносили 50 мкл этилацетатного экстракта культуральной жидкости (КЖ) и высушивали в стерильных условиях. Для оценки антибактериальной активности использовали тест-штаммы грамотрицательных бактерий: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 и грамположительных бактерий: *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 и *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Тест-культуры *S. aureus* ATCC 29213 и *E. faecalis* ATCC 29212 выращивали на среде МПА (мясопептонный агар, “ЗАО НИЦФ”, Россия), а грамотрицательные бактерии – на среде LB (триптон-соевый агар, “HiMedia”, Индия). Предварительно культуру выращивали в пробирках со скошенным питательным агаром в течение 24 ч при 37°C, после чего клетки суспендировали в физиологическом растворе до мутности 0.5 по стандарту McFarland (1.5×10^8 КОЕ/мл) и использовали в течение 15 мин. Все тест-культуры получены из коллекции культур ФГБНУ “НИИНА” (Россия).

Выделение и очистку активного компонента проводили по разработанной ранее схеме [20–22]. Для выделения активного компонента методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ ВЭЖХ) культуральную жидкость (КЖ) отделяли от мицелия на бумажном фильтре на воронке Бюхнера и колбе Бунзена. Далее очищенную КЖ трижды экстрагировали этилацетатом (ЕА) ЕА : КЖ в соотношении 1 : 5, оставляя смесь в стеклянной делительной воронке

Таблица 1. Номера последовательностей в Генбанке для ITS и β -тубулина у видов рода *Emericellopsis*, использованных в филогенетическом построении

Вид	Номер изолята	Номер последовательности в Генбанке	
		ITS	β -тубулин
<i>Emericellopsis alkalina</i> Bilanenko & Georgieva	CBS 127350 T	KC987171	KC987133
<i>E. atlantica</i> L.W. Hou, Crous, Rämä & Hagestad	CBS 147198 T	OL539742.1	OL634966
<i>E. cladophorae</i> M. Gonçalves, T. Vicente & A. Alves	CMG25 T	MK986711	MK984311
<i>E. donezkii</i> Beliakova	CBS 489.71 T	NR156195.1	AY632674.1
<i>E. enteromorphae</i> M. Gonçalves, T. Vicente & A. Alves	CMG26 T	MK986712	MK984312
<i>E. glabra</i> (J.F.H. Beyma) Backus & Orpurt	CBS 119.40 T	NR145024.1	AY632673.1
<i>E. humicola</i> (Cain) Cain ex Grosklags & Swift	CBS 180.56 T	NR145025.1	AY632675.1
<i>E. koreana</i> Hyang B. Lee, S.J. Jeon & T.T.T. Nguyen	CNUFC-MOG1-1 T	MH173304	MH243035
<i>E. maritima</i> Beliakova	CBS 491.71 T	KC987175	KC987137
<i>E. microspora</i> Backus & Orpurt	CBS 380.62 T	NR156196.1	AY632679.1
<i>E. minima</i> Stolk	CBS 190.55 T	KC987173	KC987135
<i>E. mirabilis</i> (Malan) Stolk	CBS 177.53 T	AY632656	—
<i>E. ovoidea</i> F. Liu, S. Song & L. Cai	LC 19461	PP357003.1	—
<i>E. pallida</i> Beliakova	CBS 490.71 T	KC987176	KC987138
<i>E. persica</i> Papizadeh, Wijayaw., Soudi & K.D. Hyde	IBRC-M 30046 T	KX668543	—
<i>E. phycophila</i> M. Gonçalves, T. Vicente & A. Alves	CMG15 T	MK986701	MK984301
<i>E. pusilla</i> P.N. Mathur, Sukapure & Thirum.	CBS 226.62 T	MH858143	—
<i>E. robusta</i> Emden & W. Gams	CBS 489.73	AY632664	AY632680
<i>E. salmonea</i> (W. Gams & Lodha) L.W. Hou, L. Cai & Crous	CBS 721.71 T	MH860309	—
<i>E. salmosynnemata</i> Grosklags & Swift	CBS 182.56 T	MH857571.1	—
<i>E. stolckiae</i> D.E. Davidson & M. Chr.	CBS 159.71 T	NR156197.1	AY632684.1
<i>E. terricola</i> J.F.H. Beyma	CBS 120.40 T	U57676	—
<i>E. brunneiguttula</i> L.W. Hou, L. Cai & Crous	CBS 111360 T	OQ429545	AY632689
<i>E. exuviara</i> (Sigler, Zuccaro, Summerbell & Paré) L.W. Hou, L. Cai & Crous	CBS 113360 T	AY882946	AY882947
<i>E. fimetaria</i> (Pers.) L.W. Hou, L. Cai & Crous	CBS 382.62	AY632666	AY632682
<i>E. fuci</i> (Summerbell, Zuccaro & W. Gams) L.W. Hou, L. Cai & Crous	CBS 112868 T	AY632653	AY632690.1
<i>E. moniliformis</i> (A. Giraldo, Deanna A. Sutton & Guarro) L.W. Hou, L. Cai & Crous	CBS 139051 T	LN810516	LN810523
<i>E. tubakii</i> (Gams) L.W. Hou, L. Cai & Crous	CBS 790.69 T	MH859429	—
<i>Emericellopsis</i> sp.	E102	KC987172	KC987134
<i>Stanjemonium grisellum</i> W. Gams, Schroers & M. Christensen	CBS 655.79 T	AY632671	AY632687.1

* T – типовой изолят.

на 24 ч при комнатной температуре. Полученный экстракт упаривали в вакууме на роторном испарителе “Heidolph” (Германия) при 45°C и скорости 90 об./мин. Сухой остаток промывали 70%-ным р-ром этилового спирта, переносили в пластиковые флаконы и высушивали в центробежном вакуумном концентрате “Labconco” (США) при 40°C, получая концентрат КЖ. Для обнаружения активной фракции использовали метод тонкослойной хроматографии и биоавтографии. Концентрат КЖ в концентрации 0.25 и 0.50 мкг/мл наносили на пластину с силикагелем длиной 50 мм (Sorbifil, Россия). Хроматографию проводили в камере с системой элюентов этилацетат : метанол в соотношении 4 : 1. Высушенную на воздухе пластину помещали в чашку Петри с тест-культурой таким образом, чтобы слой силикагеля полностью соприкасался с агаром, прижимали и оставляли на 15 минут для диффузии компонентов концентрата КЖ с пластины в агар, затем пластину убирали. Чашки помещали в термостат и инкубировали в течение 24 ч при температуре 37°C. Активные компоненты концентрата КЖ, диффундировавшие в агар, подавляют рост тест-культуры, по расстоянию от стартовой точки ТСХ до зоны подавления роста тест-культуры рассчитывали значение Rf.

Высушенную на воздухе пластину помещали в чашки с тест-культурами бактерий на агаризованную среду на 15 мин для диффузии разделенных на пластине соединений в питательную среду. Для приготовления инокулята использовали суспензии клеток плотностью 0.5×10^8 КОЕ/мл. Чашки инкубировали в течение 24 ч при температуре 37°C и определяли Rf (фактор замедления) активной фракции.

Концентраты КЖ растворяли в ацетонитриле (ACN) и методом ОФ-ВЭЖХ получали очищенный активный компонент. Очистку проводили на жидкостном хроматографе “Shine CLC-3200 HPLC” (Китай) на колонке “Shinesil-C18” (Китай) (L = 250.0 мм; D = 2.0 мм; d = 4.6 мкм). Детектирование проводили при длине волн 214 нм и 260 нм, скорость потока 1 мл/мин. Инжекционный объем – 20 мкл. Состав подвижной фазы: компонент А – H₂O (MQ), компонент В – ACN (HPLC). Градиент подвижной фазы от 5 до 95% фазы В за 10 мин и далее в изократическом режиме 5 мин при 95%-ном содержании фазы В. Таким образом, в заданной системе осуществляли сбор вещества, начиная с 3 мин и заканчивая 6 мин анализа. При повторном разделении в аналогичных условиях осуществляли сбор индивидуального пика, который соответствовал чистому активному компоненту.

Для определения моноизотопной массы выделенный компонент проанализировали методом масс-спектрометрии высокого разрешения (HRMS, модель “Bruker micrOTOF”, Германия),

в режиме положительных (+MS) и отрицательных (–MS) ионов, 50–3000 *m/z* при 0.4 бар, 180°C, 4.0 л/мин. Детектирование сигнала осуществляли по полному ионному току при распылении электроспреем (ESI+), 150–2000 au. Перед проведением этого анализа образцы растворяли в смеси вода/метанол/уксусная кислота (88 : 10 : 2) до конечной концентрации примерно 1 мг/мл.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Штамм *Emericellopsis* sp. E102 выделен из засоленной почвы на побережье внутриконтинентального озера в Западной Сибири. Ранее проведенные морфолого-культуральные исследования показали, что он образует при культивировании на разных средах только *Acremonium*-подобную анаморфную стадию, что не позволило точно идентифицировать штамм [5]. В результате проведенных нами филогенетических построений выявлено, что *Emericellopsis* sp. E102 образует отдельную кладу в рамках крупной морской клады видов этого рода (рис. 1). Предположительно, *Emericellopsis* sp. E102 является новым видом, поскольку не формирует субклад с известными видами рода. По своему положению *Emericellopsis* sp. E102 близок к недавно описанным видам *E. ovoidea* (2024 г.), *E. atlantica* (2021 г.), а также к видам, входящим в морскую кладу *E. alkalina* и *E. cladophorae*.

Морские микроорганизмы рассматриваются как потенциальный источник новых антимикробных и цитотоксических препаратов [23], что особенно важно в условиях роста устойчивости бактериальных и грибковых патогенов к антимикробным препаратам. Так, экстракт культуральной жидкости выделенного из морского субстрата *Emericellopsis atlantica* обладал активностью в отношении *Streptococcus agalactiae*, *Enterococcus faecium*, подавлял рост биопленки *Staphylococcus epidermidis*, а проведенный анализ генома выявил кластеры генов вторичного метаболизма (BSG), гомологичные кластерам BSG лейциностатинов (соединения с цитотоксической активностью), аскохлорина (соединения с цитотоксической активностью), цефалоспорина С и гельвеловой кислоты (соединения с антибактериальной активностью) [24]. Гомологичные кластеры были обнаружены у *Emericellopsis cladophorae*, который также имеет морское происхождение [25]. Еще один представитель рода *Emericellopsis* морского происхождения, *Emericellopsis minima*, известен как продуцент эмеримицина [26], пептаибола с антимикробной активностью и эмерицелопсинов А и В [27]. В экстрактах культуральной жидкости нескольких изолятов *Emericellopsis maritima* из морских субстратов обнаружены соединения, активные в отношении клеток колоректальной карциномы [28], *Candida albicans* и MRSA [29], а также клеток рака молочной железы [30]. Несколько штаммов *Emeri-*

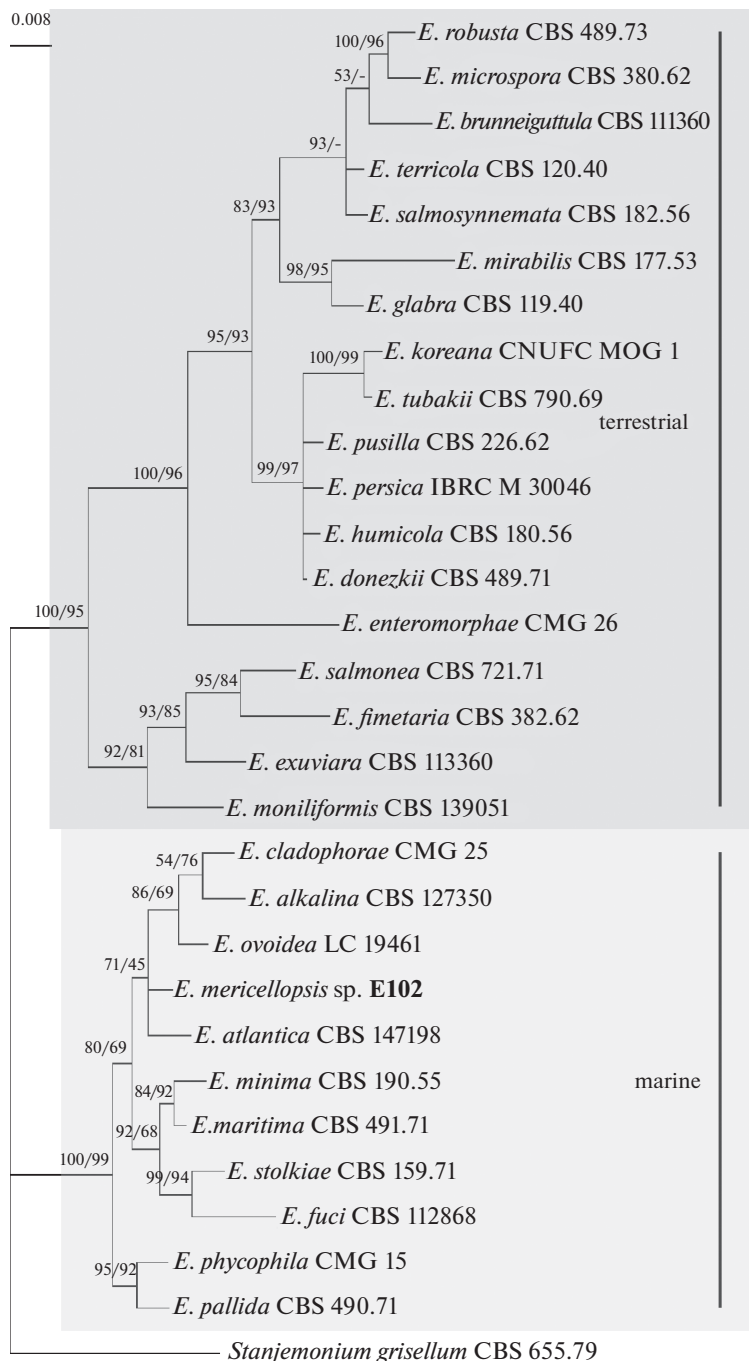


Рис. 1. Положение *Emericellopsis* sp. E102 на филогенетическом дереве, построенном методом байесовского вывода о филогении на основании анализа последовательностей ITS и β -тубулина для штаммов видов рода *Emericellopsis*. В узлах указаны апостериорные вероятности/поддержка бутстрапа.

cellopsis alkalina, вида, обнаруживаемого как в содовых солончаках и гиперсоленых внутриконтинентальных водоемах, так и в морских биотопах, синтезируют эмерициллипсины А – Е, пептаиболы с противогрибковой, цитотоксической и антибиопленочной активностью [20–22]. Несколько штаммов разных видов *Emericellopsis*, выделенные из донных отложений соленого озера Большой

Тамбукан (Россия), показали выраженную противогрибковую активность в отношении *Aspergillus niger* и *S. albicans* [31].

Подход OSMAC успешно применяется для увеличения разнообразия биосинтеза биологических соединений и получения новых природных продуктов на продуцентах разных систематических групп, в том числе его используют для стимулирования

выхода новых природных соединений у микроскопических грибов рода *Emericellopsis*. Так, недавно с помощью варьирования состава питательных сред и условий культивирования из морского штамма *E. maritima* ВС17, изолированного из отложений в заливе Кадис (Испания), было выделено и идентифицировано четыре новых сесквитерпена с цитотоксической и противогрибковой активностью в отношении *Aspergillus fumigatus* ATCC 46645 и *S. albicans* ATCC 64124 [32, 33].

С целью исследования наибольшего выхода антибиотиков по методу OSMAC нами было проведено сравнительное изучение трех способов выращивания штамма-продуцента E102 – поверхностного, глубинного на шейкере и в биореакторе в течение 14 сут на двух средах: СПС и МПС, где мальтоза была в качестве единственного источника углерода (табл. 2). Этилацетатные экстракты, полученные из КЖ на 14 сут культивирования в стационарных условиях на СПС показали антибактериальную активность в отношении всех тест-бактерий, тогда как при выращивании на МПС активности не наблюдалось. Максимальная активность была отмечена в глубинных условиях

культивирования на СПС. В варианте культивирования штамма в условиях биореактора и стационарно на СПС активность детектировали на всех тест-бактериях, однако она была существенно ниже. При культивировании на МПС в стационарном варианте экстракты штамма оказались неактивны, а у экстракта, полученного при культивировании на шейкере, активность не превышала 8 мм и штамм не синтезировал антибиотик. В дальнейшем была разработана схема разделения антибиотического комплекса этилацетатного экстракта КЖ и мицелия штамма *Emericellopsis* sp. E102. Была подобрана оптимальная смесь растворителей для выделения активного компонента методом тонкослойной хроматографии. При длине волны 360 нм в системе компонентов (этилацетат : метанол 4 : 1) активный компонент локализовался с Rf 0.65. Результаты, выявленные при биоавтографии, показали наличие явной зоны задержки роста у обеих грамотрицательных бактерий со значением Rf 0.65 в системе этилацетат : метанол в соотношении 4 : 1. Методом аналитической ОФ-ВЭЖХ в результате последующего разделения удалось получить активную фракцию, которая содержит три индивидуальных пика с максимальной величиной поглощения

Таблица 2. Антибактериальная активность этилацетатных экстрактов штамма *Emericellopsis* sp. E102

Способ культивирования, питательная среда СПС	Зоны подавления роста тест-культур, мм				
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603
Глубинное в колбах	25 ± 3	22 ± 2	25 ± 1	20 ± 1	15 ± 2
Биореактор	16 ± 0.5	11 ± 0.5	11 ± 0.5	9 ± 0.5	9 ± 0.5
Стационарное	11 ± 1	10 ± 1	12 ± 2	14 ± 2	11 ± 1

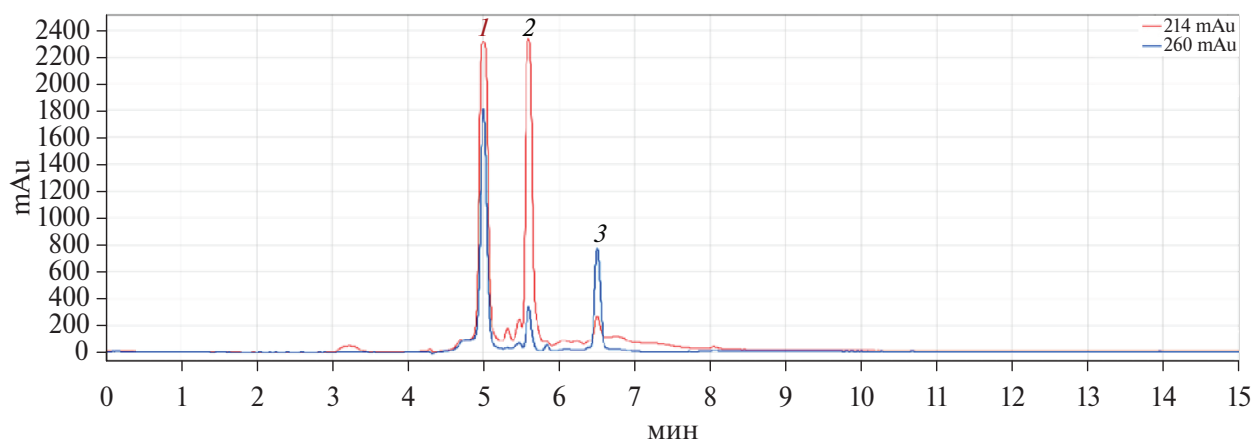


Рис. 2. ОФ ВЭЖХ очищенной фракции этилацетатного экстракта штамма *Emericellopsis* sp. E102: 1 – пик, показавший активность против грамотрицательных бактерий; 2, 3 – пики.

при 214 и 260 нм (рис. 2). Каждый пик был выделен и протестирован на грамотрицательных бактериях *E. coli* и *P. aeruginosa*. Пик 1 ингибировал рост обеих бактерий, величина зон подавления варьировала в пределах 30 ± 0.1 и 29 ± 0.2 мм соответственно.

Для дальнейшей характеристики первый компонент был выделен и проанализирован методами хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения (HRMS) электронного удара (EI) (рис. 3а) и ионизации электроспреем (ESI) (рис. 3б).

Интерпретация данных HRMS-EI с помощью программы ACD/Labs позволила установить, что в спектре соединения отсутствуют фрагменты с массами 52 и 78, которые являются характерными маркерами ароматических соединений. Присутствие фрагмента с массой 44 говорит о наличии углекислого газа в качестве продукта декарбонирования.

Данные метода ионизации электроспреем (HRMS-ESI) в режиме положительных ионов свидетельствуют о моноизотопной массе вещества 724.5 г/моль, при ионизации в режимах $[M - H]^+$, $[M + NH_4]^+$, $[M + Na]^+$ были получены следующие значения масс молекулярных ионов соответственно: 723.4756, 742.5035 и 747.4585.

С помощью сервиса Chemcalc.org (<https://chemcalc.org/>) были определены наиболее вероятные брутто-формулы искомого компонента (табл. 3). Исходя из представленных расчетов, высока вероятность того, что вещество имеет стерановый каркас.

Таким образом, было уточнено филогенетическое положение штамма *Emericellopsis* sp. E102 и подтверждено, что этот штамм принадлежит к “морской” кладе внутри рода *Emericellopsis*. Для комплекса вторичных метаболитов штамма *Emericellopsis* sp. E102, показана антибактериальная активность в отношении грамположительных

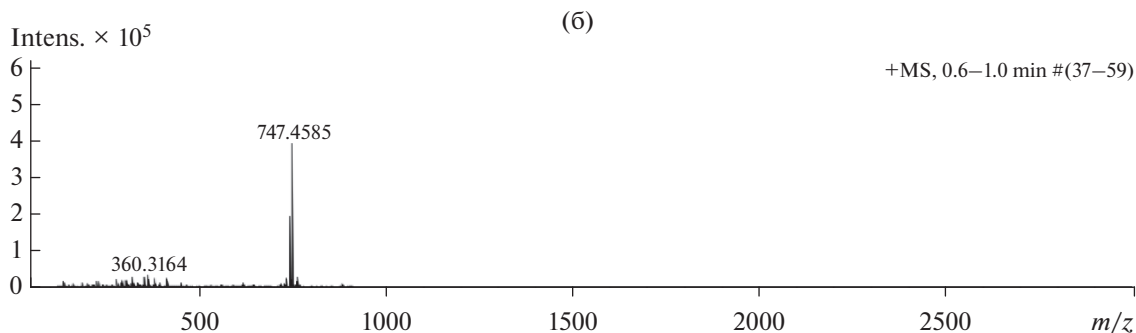
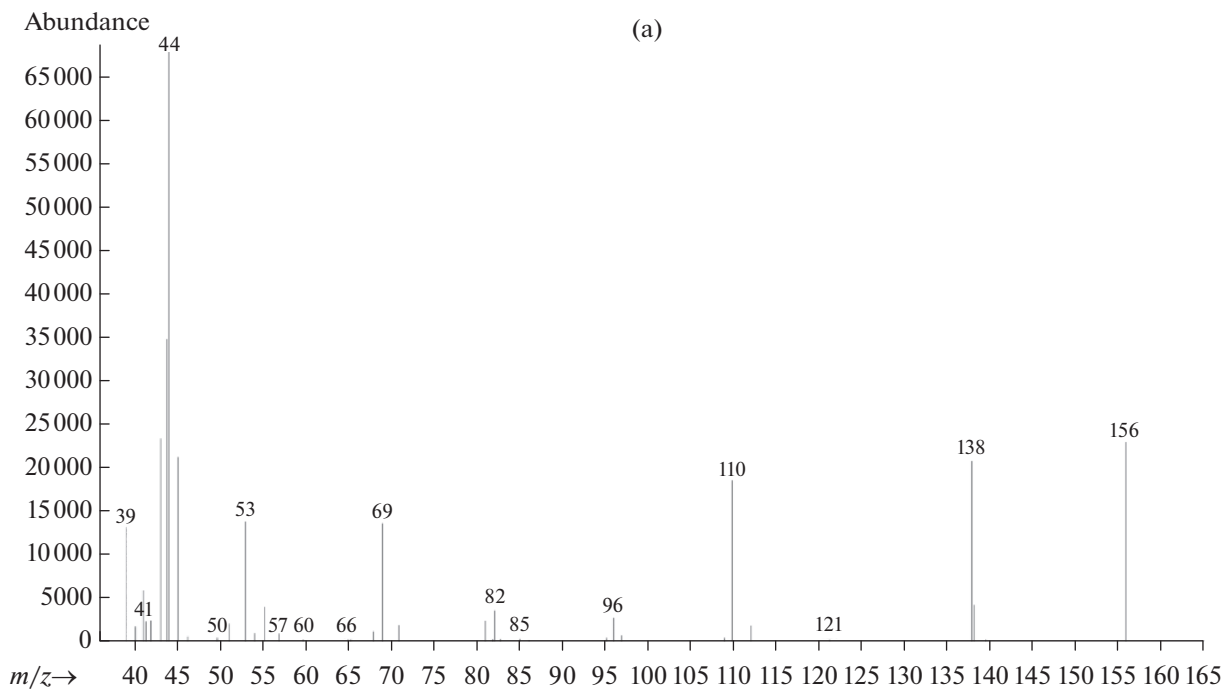


Рис. 3. HRMS-ESI анализ активного компонента экстракта штамма *Emericellopsis* sp. E102 (а) и $[M + Na]^+$ (б).

Таблица 3. Предикция формулы ppm, mDa, unsaturation

№	Формула	Молекулярная масса	ppm	mDa	unsaturation
1	C ₃₀ H ₅₈ N ₁₅ O ₆	724.4694	-0.07	-0.05	9.5
2	C ₃₁ H ₆₄ N ₈ O ₁₁	724.4695	-0.08	-0.05	4
3	C ₄₅ H ₆₂ N ₃ O ₅	724.4689	0.63	0.45	16.5
4	C ₄₄ H ₅₆ N ₁₀	724.4689	0.63	0.46	22
5	C ₄₆ H ₅₈ N ₇ O	724.4703	-1.22	-0.88	21.5
6	C ₄₇ H ₆₄ O ₆	724.4703	-1.23	-0.89	16
7	C ₂₉ H ₆₂ N ₁₁ O ₁₀	724.4681	1.78	1.29	4.5
8	C ₂₈ H ₅₆ N ₁₈ O	724.4681	1.78	1.29	10

и грамтрицательных бактерий, в том числе из группы ESKAPE. Был выделен новый антибиотик, обладающий антимикробным действием в отношении грамположительных и грамтрицательных бактерий, в том числе резистентных, с применением подхода OSMAC, определены условия культивирования, обеспечивающие максимальный выход этого антибиотика. Методом масс-спектрометрии была определена моноизотопная масса активного компонента и сделаны предположения относительно его структуры.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследования И.В. Миронова, А.Ю. Симонова, И.Б. Левшина, В.С. Садыковой выполнены в рамках Госзадания ФГБНУ "НИИНА". Работа В.В. Соколова и М.Л. Георгиевой (по исследованию способности штамма к антибиотикообразованию при различных условиях культивирования, молекулярно-генетические и филогенетические исследования) выполнена в рамках гранта РФФ № 25-24-00291.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Van Beyma Thoe Kingma F.H. // *Antonie van Leeuwenhoek*. 1939. V. 6. P. 263–290. <https://doi.org/10.1007/BF02146191>
2. Hou L.W., Giraldo A., Groenewald J.Z., Rämä T., Summerbell R.C., Huang G.Z. et al. // *Stud. Mycol.* 2023.

V. 105. P. 23–203.

<https://doi.org/10.3114/sim.2023.105.02>

3. Phurbu D., Huang J.-E., Song S., Ni Z., Zhou X., Li S. et al. // *Mycology*. 2024. p. 1–20. <https://doi.org/10.1080/21501203.2024.2333300>
4. Zuccaro A., Summerbell R.C., Gams W., Schroers H.-J., Mitchell J.I. // *Stud. Mycol.* 2004. V. 50. P. 283–297.
5. Grum-Grzhimaylo A.A., Georgieva M.L., Debets A.J.M., Bilanenko E.N. // *IMA Fungus*. 2013. V. 4 P. 213–228. <https://doi.org/10.5598/imafungus.2013.04.02.07>
6. Grosklags J.H., Swift M.E. // *Mycologia*. 1957. V. 49. P. 305–317. <https://doi.org/10.1080/00275514.1957.12024646>
7. Bode H.B., Bethe B., Höfs R., Zeeck A. // *ChemBioChem*. 2002. V. 3. P. 619–627. [https://doi.org/10.1002/1439-7633\(20020703\)3:7<619::AID-CBIC619>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/1439-7633(20020703)3:7<619::AID-CBIC619>3.0.CO;2-9)
8. Katoh K., Standley D.M. // *Mol. Biol. Evol.* 2013. V. 30. P. 772–780. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst010>
9. Tamura K., Stecher G., Kumar S. // *Mol. Biol. Evol.* 2021. V. 38. P. 3022–3027. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
10. Minh B.Q., Schmidt H.A., Chernomor O., Schrempf D., Woodhams M.D., Von Haeseler A. et al. // *Mol. Biol. Evol.* 2020. V. 37. P. 1530–1534. <https://doi.org/10.1093/molbev/msaa015>
11. Simmons M.P., Ochoterena H. // *Syst. Biol.* 2000. V. 49. P. 369–381. <https://doi.org/10.1093/sysbio/49.2.369>
12. Müller K. // *Appl. Bioinformatics*. 2005. V. 4. P. 65–69. <https://doi.org/10.2165/00822942-200504010-00008>
13. Altekar G., Dwarkadas S., Huelsenbeck J.P., Ronquist F. // *Bioinformatics*. 2004. V. 20. P. 407–415. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg427>
14. Ronquist F., Teslenko M., van der Mark P., Ayres D.L., Darling A., Höhna S. et al. // *Syst. Biol.* 2012. V. 61.

- P. 539–542.
<https://doi.org/10.1093/sysbio/sys029>
15. Ayres D.L., Darling A., Zwickl D.J., Beerli P., Holder M.T., Lewis P.O. et al. // *Syst. Biol.* 2012. V. 61. P. 170–173.
<https://doi.org/10.1093/sysbio/syr100>
16. Paradis E., Schliep K. // *Bioinformatics.* 2019. V. 35. P. 526–528.
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty633>
17. Wang L.-G., Lam T.T.-Y., Xu S., Dai Z., Zhou L., Feng T. et al. // *Mol. Biol. Evol.* 2020. V. 37. P. 599–603.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msz240>
18. Yu G. *Data Integration, Manipulation and Visualization of Phylogenetic Trees.* N.Y.: Chapman and Hall CRC, 2022. 276 p.
<https://doi.org/10.1201/9781003279242>
19. R Core Team (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
URL <https://www.R-project.org/>.
20. Rogozhin E., Sadykova V., Baranova A., Vasilchenko A., Lushpa V., Mineev K. et al // *Molecules.* 2018. V. 23. № 11. P. 2785–2797.
<https://doi.org/10.3390/molecules23112785>
21. Kuvarina A.E., Gavryushina I.A., Kulko A.B., Ivanov I.A., Rogozhin E.A., Georgieva M.L. et al. // *J. Fungi.* 2021. V. 7. № 2. P. 153–170.
<https://doi.org/10.3390/jof7020153>
22. Kuvarina A.E., Gavryushina I.A., Sykonnikov M.A., Efimenko T.A., Markelova N.N., Bilanenko E.N. et al // *Molecules.* 2022. V. 27. № 5. P. 1736–1752.
<https://doi.org/10.3390/molecules27051736>
23. Blunt J.W., Carroll A.R., Copp B.R., Davis R.A., Keyzers R.A., Prinsep M.R. // *Nat. Prod. Rep.* 2018. V. 35. P. 8–53.
<https://doi.org/10.1039/C7NP00052A>
24. Hagestad O.C., Hou L., Andersen J.H., Hansen E.H., Altermark B., Li C. et al. // *IMA Fungus.* 2021. V. 12. № 21. P. 1–23.
<https://doi.org/10.1186/s43008-021-00072-0>
25. Gonçalves M.F.M., Hilário S., Van De Peer Y., Esteves A.C., Alves A. // *J. Fungi.* 2021. V. 8. № 31. P. 1–20.
<https://doi.org/10.3390/jof8010031>
26. Inostroza A., Lara L., Paz C., Perez A., Galleguillos F., Hernandez V. et al. // *Nat. Prod. Res.* 2018. V. 32. P. 1361–1364.
<https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1344655>
27. Cole M., Rolinson G.N. // *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 1961. V. 154. P. 490–497.
<https://doi.org/10.1098/rspb.1961.0046>
28. Perazzoli G., De Los Reyes C., Pinedo-Rivilla C., Durán-Patrón R., Aleu J., Cabeza L. et al. // *J. Mar. Sci. Eng.* 2023. V. 11. № 10 P. 2–12.
<https://doi.org/10.3390/jmse11102024>
29. Magot F., Van Soen G., Buedenbender L., Li F., Soltwedel T., Grauso L. et al. // *Mar. Drugs.* 2023. V. 21. № 95. P. 2–23.
<https://doi.org/10.3390/md21020095>
30. Utermann C., Echelmeyer V.A., Blümel M., Tasdemir D. // *Microorganisms.* 2020. V. 8 № 11. P. 1732–1755.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms8111732>
31. Georgieva M.L., Bilanenko E.N., Ponizovskaya V.B., Kokaeva L.Y., Georgiev A.A., Efimenko T.A. et al. // *Microorganisms.* 2023. V. 11. № 10. P. 2587–2618.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms11102587>
32. Virués-Segovia J.R., Millán C., Pinedo C., González-Rodríguez V.E., Papaspyrou S., Zorrilla D. et al. // *Mar. Drugs.* 2023. V. 21. № 12. P. 634–649.
<https://doi.org/10.3390/md21120634>
33. Virués-Segovia J.R., Pinedo C., Zorrilla D., Sánchez-Márquez J., Sánchez P., Ramos M.C. et al. // *Front. Mar. Sci.* 2024. V. 11. P. 1–13.
<https://doi.org/10.3389/fmars.2024.1386175>

Antimicrobial Potential Micromycete *Emericellopsis* sp. E102 and the Influence of Cultivation Conditions on the Biosynthesis of Antibiotics

V. V. Sokolov^a, I. V. Mironov^a, A. Yu. Simonov^a, I. B. Levshin^a,
M. L. Georgieva^{a, b}, and V. S. Sadykova^{a, *}

^aGause Institute of New Antibiotics, Moscow, 119021 Russia

^bMoscow State University, Moscow, 119234 Russia

*e-mail: sadykova_09@mail.ru

In recent decades, the interest in *Emericellopsis* genus as producers of bioactive molecules has increased significantly due to the isolation of new compounds with potential pharmaceutical applications. Evaluation of the spectrum of antibiotic activity has allowed us to choose a promising producer of new antibacterial compound, *Emericellopsis* sp. E102 strain derived from saline soils. Strain E102, based on molecular and phylogenetic constructions, is allocated to a separate clade within the marine clade of *Emericellopsis* and is presumably a new species. The ethyl acetate extract of E102 strain demonstrated significant efficacy in a concentration of 1.000 µg/mL, resulting in inhibition zones measuring 20.3– 30.0 mm against *Escherichia coli* ATCC 25922; *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 and *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. The high-performance liquid chromatography analysis identified compound with monoisotopic mass of the substance 724.5 g/mol. Using the Chemcalc.org service, the most probable gross formulas of the required component were determined. Based on the presented calculations, there is a high probability that the substance has a sterane framework.

Keywords: antimicrobial compounds, fungi, *Emericellopsis*, antibiotics