

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В рамках реализации проекта 15.БРК.21.0004 по теме: «Развитие биоресурсной коллекции «Коллекция морских микроорганизмов ТИБОХ ДВО РАН» для реализации Федеральной программы в области генетических технологий» за отчетный период с 01.01.2024 г. по 31.12.2024 г. были получены следующие результаты:

Осуществлена проверка на жизнеспособность 200 штаммов бактерий и 30 штаммов грибов из коллекции в соответствии с СОП-ми. Выделены штаммы из экспедиционных образцов, и проведена оценка их основных культурально-морфологических, физиолого-биохимических, молекулярно-генетических и фенотипических характеристик в соответствии с СОП-ми. В каталог коллекции добавлена информация о 100 штаммах (80 бактериальных и 20 грибных), на которые оформлены паспорта.

Выделена геномная ДНК из 140 штаммов морских микроорганизмов. Проведено генотипирование 100 штаммов бактерий на основе гена 16S рРНК и 40 штаммов грибов на основе участков 18S рРНК/ITS. Выполнено секвенирование геномов 10 штаммов-кандидатов на новые таксоны (*Vibrio* sp. KMM 8434 (CB2-8), *Vibrio* sp. KMM 8433 (CB2-1), *Marinobacter* sp. KMM 9885 (OS62), *Lacinutrix* sp. KMM 9891 (OS69), *Planktotalea* sp. KMM 6363 (6Alg 7), *Zobellia* sp. KMM 6737 (10Alg 164), *Salipiger* sp. KMM 6788 (11Alg 28), *Tateyamaria* sp. KMM 6482 (7Alg 36), *Shimia* sp. KMM 6464 (17SW21), *Formosa* sp. SE14). Проведена сборка, аннотирование и анализ геномов морских микроорганизмов. Применен полифазный подход для описания новых родов и видов. Проведен сравнительный биоинформатический анализ полученных геномов и оценка биомедицинского и биотехнологического потенциала штаммов. На основе полифазного подхода описан новый вид *Mariniflexile litorale* sp. nov. KMM 9835T. Показано, что геном нового штамма KMM 9835T кодирует множество пектин-деградирующих ферментов семейств GH43, GH28, PL1, PL10, CE8 и CE12. Это позволяет рассматривать новый штамм в качестве нового источника ферментов для гидролиза пектина в морской воде. Проведен сравнительный биоинформатический анализ 36 штаммов бактерий рода *Cobetia*, подтвержден таксономический статус трех из пяти видов бактерий рода *Cobetia* (*C. marina*, *C. amphilecti* и *C. crustatorum*) и проведена реклассификация двух видов (*C. litoralis* и *C. pacifica*). Установлено, что штамм KMM 296, продуцент высокоактивной щелочной фосфатазы CmAP с LPS-дефосфорилирующей активностью, принадлежит к *C. amphilecti*.

Проведен комплекс мероприятий по поддержанию материально-технической базы объекта инфраструктуры – биоресурсной коллекции «КММ ТИБОХ ДВО РАН»: осуществлен ремонт помещений лаборатории морской гликобиологии и лаборатории химии микробных метаболитов, непосредственно связанных с проведением работ по

изучению коллекционных материалов и изолятов биоресурсной коллекции, в т.ч. собранных в ходе морских и береговых экспедиций.

Выполнено сопровождение информационной системы «Биобанк КММ». Разработана и введена в эксплуатацию подсистема управления резервными копиями файлов информационной системы «Биобанк КММ». Разработана и передана Заказчику эксплуатационная документация подсистемы управления резервными копиями файлов информационной системы «Биобанк КММ» (соисполнитель ООО «Бюротика»).

Получены генетические конструкции и штаммы-продуценты четырех рекомбинантных ферментов Wf141\_1, Wf141\_2, Wf141\_3 и Wf141\_4 семейства GH141. Проведен биоинформатический анализ генов GH141 в геномах морских бактерий семейства *Flavobacteriaceae* из КММ ТИБОХ ДВО РАН. Впервые получены рекомбинантные формы эндо- 1→4- $\alpha$ -L-фуканазы (EC3.2.1.212) и исследованы их биохимические свойства. Впервые получена и охарактеризована новая протеаза семейства S14 из *Cobetia amphilecti* КММ 296 (SamClpP), являющаяся структурно новым представителем АТФ-зависимых казеинолитических протеаз ClpP. Протеаза SamClpP из *C. amphilecti* КММ296 термостабильна, солеустойчива, устойчива к растворителям и активируется Co<sup>2+</sup>. Показано, что SamClpP преимущественно расщепляет высокополимерные белки пшеницы и ржи.

Получены данные о филогенетическом разнообразии штаммов микроорганизмов, определены кандидаты на описание новых таксонов (*Marinobacter* sp. КММ 9885, *Lacinutrix* sp. КММ 9891). Получены и проанализированы микробиомы образцов морского грунта из 34 станций Охотского моря.

Подобраны условия культивирования и выделены полисахариды из морских бактерий родов *Cobetia* и *Vibrio*. Установлены структуры капсулярных полисахаридов и их биосинтетических генных кластеров. Изучены штаммы рода *Bacillus*, отобраны 2 кандидата для разработки моющих средств с пробиотическими компонентами.

Получен ВЭЖХ-МС метаболитный профиль экстракта монокультуры гриба *Aspergillus niger* КММ 5891 (63-084.2). В экстракте было аннотировано 32 метаболита. Показано, что основными метаболитами КММ 5891 являются димерные нафтопироны. Из экстракта гриба *Paraglyomastix luzulae* КММ 4401 выделено шесть изопимарановых дитерпеновых гликозидов, а также пептидные производные, исследованы их антимикробные активности. Показано, что производное пептида циклоспорина А (100 мкМ) ингибировало образование биопленок *Candida albicans* на 69,71% с ИК50 9.44 мкМ. Виресценозиды F, G и M (10 мкМ) ингибировали активность стафилококкового фермента сортазы А. Исследованы ВЭЖХ МС профили монокультуры гриба *Penicillium antarcticum*

КММ 4670 и его со-культур с грибами *Paragliomastix luzulae* КММ 4401, *Aspergillus fumigatus* КММ 4631, *Asteromyces cruciatus* КММ 4696, *Amphichorda guana* КММ 4639, *Penicillium* sp. КММ 4672 и *P. hispanicum* КММ 4689. Показано значительное увеличение продукции основного метаболита *P. antarcticum* КММ 4670 – кладоспорина.

Проведено хроматографическое разделение этилацетатного экстракта гриба *Penicillium antarcticum* КММ 4685 и выделено 6 индивидуальных соединений. На основе анализа данных спектроскопии ЯМР и масс-спектрометрии установлены структуры выделенных соединений, 2 из которых определены как новые (мероантарктин D и антарктин A).

Совместно с ДВФУ осуществлены мероприятия по популяризации науки и развитию кадрового потенциала. Проведена II Всероссийская школа-конференция молодых ученых и студентов «Генетические технологии в исследованиях природных соединений», 150 участников (104 – докладчика, 46 – слушателей), 22 университета, 18 научных организаций, 2 бизнес-организации, 7 спонсоров, доля молодых участников (до 39 лет) – 80,7%.

Проанализированы геномы морских бактерий родов *Pseudoalteromonas*, *Vibrio*, *Cobetia* и установлены генетические факторы, влияющие на биологический контроль и рост растений. Изучены механизмы ускорения роста модельного организма, *Nicotiana tabacum* L., трансформированного геном фермента фосфатного обмена морской бактерии рода *Cobetia*.

Выполнено тестирование опытной партии хитиноподобных ферментов на фунгицидную активность в отношении грибов рода *Fusarium* spp., распространенного патогена сельскохозяйственных растений.

Таким образом, задачи, поставленные на данном этапе работ по проекту 15.БРК.21.0004, согласно Плану-графику (Приложение 4 доп. соглашения № 075-15-2021-1052/9 от 02.05.2024 г.), выполнены в полном объеме. Полученные фундаментальные результаты характеризуются оригинальностью, научной новизной и имеют высокий инновационный потенциал в областях биотехнологии и биомедицины.