

СОСТАВ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНОЙ ФРАКЦИИ МЕТАБОЛИТОВ ПРОБИОТИЧЕСКОГО ШТАММА *B. SUBTILIS* ЗН

С.А. Лазарев, Н.А. Михайлова

Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия

Введение. Бактерии *B. subtilis* известны широким спектром антагонистической активности в отношении патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. При изучении пробиотических свойств метаболитов штамма *B. subtilis* ЗН установлено, что противомикробная активность проявлялась во фракции с молекулярной массой <5 кДа [1]. Представляло интерес идентифицировать вещества, обуславливающие данную функцию.

Цель работы – исследовать состав низкомолекулярной фракции метаболитов *B. subtilis* ЗН.

Материалы и методы. В работе использовали штамм *B. subtilis* ЗН из коллекции ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова. Для получения метаболитов проводили глубинное периодическое культивирование. Полученную биомассу отделяли центрифугированием с последующей микрофльтрацией супернатантов [1]. Для проведения эксперимента готовили опытные пробы, содержащие метаболиты *B. subtilis*, полученные в разные периоды культивирования (8; 24; 30; 48 ч). В качестве контроля использовали стерильную питательную среду. ВЭЖХ-МС анализ проводился на квадрупольно-времяпролетном масс-спектрометре высокого разрешения Bruker Impact Пс ионизацией электрораспылением на обращённо-фазовой колонке Waters Acquity HSS T3 1,8 мкм 2,1 × 100 мм с автоматической регистрацией спектров фрагментации.

Результаты. При помощи ВЭЖХ-МС анализа в составе низкомолекулярной фракции метаболитов *B. subtilis* ЗН выявлено более 300 соединений. Наибольший интерес вызывали 23 вещества, которые отсутствовали в контроле и накапливались в культуральной жидкости в процессе выращивания штамма. Из них удалось идентифицировать 11, включая 2 антибиотика (*Mycinamicin VI* и *Laurenobiolide*). *Mycinamicin VI*, макролидный антибиотик с молекулярной массой 667,3932 Да, действующий в отношении грамположительных бактерий [2], отсутствовал на 8 ч. роста культуры, проявлялся на 24 ч. и накапливался до 30 ч. выращивания, о чем свидетельствовала интегральная интенсивность сигнала 15135 ед. и 39685 ед., соответственно. *Laurenobiolide*, антибиотик, с молекулярной массой 290,1518 Да, активный в отношении *S. aureus* [3], постепенно накапливался до завершения культивирования. Интегральная интенсивность сигнала соответствовала 238 ед. для 8 ч., 3428 ед. для 24 ч., 8722 ед. для 30 ч., 15131 ед. для 48 ч.

Заключение. Таким образом, в результате проведенного эксперимента установлено, что пробиотический штамм *B. subtilis* ЗН в процессе роста продуцирует 23 низкомолекулярных соединений, из которых удалось идентифицировать 2 антибиотика – *Mycinamicin VI* и *Laurenobiolide*. Полученные данные открывают перспективу дальнейшего изучения противомикробных метаболитов, способов их выделения и очистки.

Литература

1. Лазарев С. А, Михайлова Н.А. Противомикробные и ферментативные свойства метаболитов пробиотических штаммов *Bacillus subtilis* ЗН и *Bacillus subtilis* 1719. Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2023, 4:29–33. DOI: 10.14427/jipai.2023.4.29
2. Späth G, Fürstner A. Total Synthesis of Mycinamicin IV as Integral Part of a Collective Approach to Macrolide Antibiotics. Chemistry. 2022 Feb 19; 28(11):e202104400. DOI: 10.1002/chem.202104400.
3. Kirk RD, Rosario ME, Oblie N et al. Screening the PRISM Library against *Staphylococcus aureus* Reveals a Sesquiterpene Lactone from *Liriodendron tulipifera* with Inhibitory Activity. ACS Omega. 2022 Sep 30; 7(40):35677–35685. DOI: 10.1021/acsomega.2c03539.