

## SAROCLADIUM STRICTUM – ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ПРОДУЦЕНТ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ С ВЫРАЖЕННОЙ ФИБРИНОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Корниченко Е.И., Биланенко Е.Н., Мокеева В.Л., Кокаева Л.Ю.,  
Осмоловский А.А., Шаркова Т.С.  
Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

Фибринолиз как процесс растворения тромбов предотвращает закупорку кровеносных сосудов сгустками фибрина и является важной защитной реакцией организма. Тромболитические препараты-протеиназы, высокочувствительные к компонентам тромба и расщепляющие его структуру, по-прежнему остаются востребованными патогенетическими средствами лечения сердечно-сосудистых заболеваний и их тромботических осложнений.

В тромболитической терапии все большее внимание привлекают микробные фибринолитические ферменты как наиболее перспективные. Среди продуцентов широко используются бактерии рода *Bacillus*, хотя ферменты с фибринолитической активностью обнаружены у актиномицетов, водорослей и грибов (*Aspergillus ochraceus*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium chrysogenum*, *Rhizopus chinensis* и др. [6]). Способность протеолитических ферментов грибов к селективному протеолизу определила направление работ многих исследователей-микологов, занятых поисками препаратов для лечения и диагностики нарушений системы гемостаза [5].

Среди новых продуцентов у грибов указывают виды рода *Bionectria* [7]. Нами обнаружен штамм *Sarocladium strictum* (W. Gams) Summerb. с выраженной фибринолитической активностью, что обуславливает его возможное применение в составе терапевтических средств.

Род *Sarocladium* (*Hypocreales*) был выделен из большого полифилетичного рода *Acremonium* на основании мультилокусного филогенетического анализа ДНК [9]. В дальнейшем на основании фенотипических данных и филогенетических построений концепция видов рода *Sarocladium* была пересмотрена, был описан ряд новых видов [3]. В настоящее время признается 19 видов этого рода с типовым видом *S. oryzae* [10].

Морфологически роды *Acremonium* и *Sarocladium* очень близки, но филогенетически удалены друг от друга, *Acremonium* родственен *Bionectriaceae*, таксономическое положение *Sarocladium* до сих пор остается неясным [9, 11].

*Sarocladium* может быть морфологически дифференцирован от *Acremonium* как имеющий более длинные фиалиды, отходящие одиночно от вегетативных гиф или конидиеносцев, которые иногда могут обильно ветвиться, образованием аделофиалид, не отделенных базальной септой от гифы, с хорошо заметными воротничками, образованием более удлиненных конидий [2, 9].

В целом, род *Sarocladium* включает виды, реализующие разные экологические ниши. В большинстве это патогены растений, которые были выделены из мест поражений, с поверхности живых или мертвых частей растений или из почвы. Вид *S. musophilum* указывает как единственный микопаразит в этом роде. Для ряда видов известны и клинические изоляты, в том числе участники патогенеза различных заболеваний человека [4].

В лаборатории антибиотиков каф.микробиологии Биологического факультета МГУ в 2015 г. из хранящейся в коллекции культуры *Arthrobotrys longa* был выделен штамм гриба с фибринолитической активностью. Согласно проведенному секвенированию ITS-региона рДНК, а также по морфолого-культуральным признакам, он был идентифицирован как *Sarocladium strictum* (syn. *Acremonium strictum*).

Филогенетические исследования показывают близкое родство *S. strictum* с *S. pseudostrictum* и *S. bactrocephalum*, виды образуют хорошо поддерживаемую кладу (3). Морфологические параметры этих трех видов также очень близки. *S. strictum* по морфолого-культуральным признакам бывает трудно отличить от *S. kiliense* [2].

Экологическая амплитуда *S. strictum* очень широка [1]. Изоляты вида были выделены из почвы, с обработанной древесины, из ризосферы различных растений, со стен и других влажных поверхностей теплиц, с мертвых и живых растений, из пораженной волосистой части головы человека, гриб обнаружен у пациентов с хроническими легочными заболеваниями [2, 4]. По патогенным свойствам гриб относят к первому базовому уровню биобезопасности (BSL-1) и, по-видимому, он является участником инвазивной инфекции иммунодепрессивных пациентов [4]. Известны многочисленные случаи выделения *S. strictum* с грибов разных таксономических групп, как аско-, так и базидиомицетов – *Inonotus* (чага), *Hypoxylon*, *Fomitopsis*, *Microsphaera*, со склероциев *Botryotinia* и др. [2, 1]. Характер взаимоотношений *S. strictum* с другими грибами точно не установлен и, по-видимому, может быть различен – от сапротрофии до микопаразитизма.

В глубинной культуре на синтетической среде, с использованием источников азота в окисленной форме, при низком соотношении углерода и азота и значениях pH, близким к нейтральным, гриб растет в виде мелкодисперсной массы, состоящей из тяжелой слабо ветвящегося мицелия, с многочисленными фиалидами и овально-палочковидными одноклеточными конидиями, длиной 3–5 мкм.

При изучении физиолого-биохимических свойств данного микромицета было выявлено, что штамм *S. strictum* секретирует протеолитические ферменты с выраженной фибринолитической активностью, которая заключается в способности как гидролизовать фибриновые сгустки в условиях *in vitro*, так и проявлять активаторное действие по отношению к ключевому белку фибринолитической системы человека – плазминогену. Определение фибринолитической активности в культуральной жидкости (методом Аструпа на фибриновых пластинах по размеру зон лизиса, в мм<sup>2</sup>) показало, что ее значение (300–500 мм<sup>2</sup>) сопоставимо и даже превышает таковые у других микромицетов [5].

В культуральной жидкости, отобранной в стационарной фазе развития гриба, обнаруживается также и неспецифическая протеолитическая (казеинолитическая) активность, что может указывать как на комплекс протеолитических ферментов, образуемых *S. strictum*, так и на их специфичность по отношению к компонентам фибринолитической системы человека. Следует отметить, что проявление активаторной к плазминогену активности встречается среди протеиназ микромицетов не часто [8], и такие ферменты считаются наиболее предпочтительными для разработки фибринолитических средств «непрямого действия», чрезвычайно востребованных в современной медицине.

Указанные свойства делают *S. strictum* перспективным продуцентом фибринолитических ферментов направленного действия, которые могут найти свое применение в составе терапевтических средств лечения тромбозомболических осложнений. Способность к секреции таких ферментов при росте на простой, дешевой питательной среде может оказаться экономически выгодным для разработки биотехнологического процесса получения протеиназ *S. strictum*.

Работа поддержана грантом РФФИ № 15-29-02553

### Список литературы

1. Domsch K. H., Gams W., Anderson T-H. Compendium of soil fungi. Second edition revised by W.Gams. IHW-Verlag & Verlagsbuchhandlung. 2007: 700 pp.
2. Gams W. Cephalosporium-artige Schimmelpilze (Hyphomycetes). Gustav Fischer Verlag. Stuttgart. 1971: 261 p.
3. Giraldo A, Gené J, Sutton DA et al. Phylogeny of Sarcocladium (Hypocreales). Persoonia. Mol Phylogeny and Evolution of Fungi. 2015; 34(1): 10-24.
4. Hoog de GS, Guarro J, Gene J, Figueras MJ. Atlas of clinical fungi. 2-nd edn. Centraalbureau voor Schimmelfcultures. Univ Rovira i Virgili. 2000: 1126 pp.
5. Kotb E. Activity assessment of microbial fibrinolytic enzyme. Applied Microbiology and Biotechnology. Mini-Review. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 2013; 97(15): 6647-65.
6. Peng Y, Yang X, Zhang Y. Microbial fibrinolytic enzymes: an overview of source, production, properties, and thrombolytic activity in vivo. Applied Microbiology and Biotechnology. 2005; 69(2): 126.
7. Rovati JJ, Delgado O D, Figueroa LI, Fariña JJ. A novel source of fibrinolytic activity: Bionectria sp., an unconventional enzyme-producing fungus isolated from Las Yungas rainforest (Tucumán, Argentina). World J Microbiol Biotechnol. 2010; 26(1): 55.
8. Sharkova TS, Kurakov AV, Osmolovskiy AA. et al. Screening of producers of proteinases with fibrinolytic and collagenolytic activities among Micromycetes. Microbiology. 2015; 84(3): 359-64.
9. Summerbell RC, Gueidan C, Schroers HJ et al. Acremonium phylogenetic overview and revision of Gliomastix, Sarcocladium, and Trichothecium. Stud. Mycol. 2011; 68: 139-62. DOI: 10.3114/sim. 2011.68.06

## ПРАКТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ В СВР-ТЕХНОЛОГИЯХ ПОЛУЧЕНИЯ БИОЭТАНОЛА ИЗ ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗНОГО СЫРЬЯ

Кожевникова Е.Ю., Петрова Д.А., Шнырева А.В., Барков А.В., Винокуров В.А.  
РГУ нефти и газа (НИУ) имени И. М. Губкина, Москва

Биоэтанол является жидким высокоэнергетическим топливом, сырьем для получения которого является, преимущественно, лигноцеллюлоза. Использование лигноцеллюлозного сырья не только позволяет избежать конкуренции с пищевой промышленностью, но и способствует решению важной экологической проблемы - утилизации отходов деревообрабатывающей, сельскохозяйственной и других отраслей промышленности.

Выделяют четыре основные технологии получения биоэтанола из лигноцеллюлозного сырья:

SHF (separate hydrolysis and fermentation – разделенный гидролиз и ферментация), SSF (simultaneous saccharification and fermentation – одновременное осахаривание и ферментация), SSCF (simultaneous saccharification and cofermentation – одновременное осахаривание и соферментация), CBP (simultaneous saccharification and cofermentation – консолидированная биопереработка) [1–11]. CBP-технология является наиболее перспективной, так как предполагает использование живых организмов на всех технологических этапах, в отличие от остальных тех-