

---



---

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ  
СТАТЬИ**


---



---

## АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ НОВОГО ПРЕСНОВОДНОГО ПЛАНКТОМИЦЕТА *LACIPIRELLULA PARVULA* PX69<sup>T</sup>

© 2020 г. С. Э. Белова<sup>a</sup>, В. А. Салтыкова<sup>a, b</sup>, С. Н. Дедыш<sup>a, \*</sup>

<sup>a</sup>Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, Федеральный исследовательский центр  
“Фундаментальные основы биотехнологии” РАН, Москва, 119071 Россия

<sup>b</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, 119991 Россия

\*e-mail: dedysh@mail.ru

Поступила в редакцию 28.03.2020 г.

После доработки 29.03.2020 г.

Принята к публикации 07.04.2020 г.

Планктомицеты – это филогенетическая группа бактерий, отличающихся сложной организацией клеток, большими геномами и широким спектром кодируемых в них вторичных метаболитов. Анализ доступных геномов планктомицетов позволил предположить перспективность этих бактерий как источника потенциально новых биологически активных соединений, однако число полученных в культурах планктомицетов остается ограниченным. Настоящая работа была предпринята для оценки наличия и спектра антимикробной активности недавно описанного пресноводного планктомицета *Lacipirellula parvula* PX69<sup>T</sup>, представляющего новое семейство *Lacipirellulaceae*. В геноме штамма PX69<sup>T</sup> было выявлено 6 генных кластеров, кодирующих поликетидсинтазы III типа, синтетазы нерибосомных пептидов и другие вторичные метаболиты, обнаруживающие низкое сходство с таковыми у других бактерий. Экспериментальные исследования подтвердили наличие антимикробной активности штамма PX69<sup>T</sup> в отношении ряда тест-культур микроорганизмов. Наибольшая антимикробная активность, до 83–87% подавления роста, была зарегистрирована в отношении *Staphylococcus aureus* и *Candida albicans*. В работе проведена оптимизация среды и длительности культивирования штамма PX69<sup>T</sup> для достижения максимальной антимикробной активности.

**Ключевые слова:** *Planctomycetes*, пресноводные планктомицеты, *Lacipirellula parvula*, семейство *Lacipirellulaceae*, анализ геномов, вторичные метаболиты, поликетидсинтазы III типа, синтетазы нерибосомных пептидов, антимикробная активность

DOI: 10.31857/S0026365620050043

*Planctomycetes* (планктомицеты) – это филогенетическая группа домена *Bacteria*, представители которой имеют необычную морфологию и организацию клеток, сложный жизненный цикл и отличаются уникальностью состава мембран, механизмов транспорта высокомолекулярных субстратов в клетку и других характеристик (Staley et al., 1992; Fuerst, 1995; Boedeker et al., 2017; Reintjes et al., 2017; Wiegand et al., 2018). Изначально планктомицеты были описаны как группа водных бактерий, однако с введением в практику методов молекулярной экологии они были обнаружены в широком спектре водных и наземных мест обитания с различными физико-химическими параметрами (Fuerst, 1995; Buckley et al., 2006; Lage, Bondoso, 2014; Dedysh, Ivanova, 2019; Wiegand et al., 2019). Из-за сложности культивирования, перечень доступных для исследования изолятов планктомицетов остается ограниченным, причем подавляющее большинство ныне охарактеризованных представителей *Planctomycetes* принадлежат к классу *Planctomycetia*, ко-

торый включает порядки *Planctomycetales*, *Gemmatales*, *Isosphaerales* и *Pirellulales* (Dedysh et al., 2020).

Представители *Planctomycetia* имеют большие геномы (Glöckner et al., 2003; Guo et al., 2012; Ivanova et al., 2017; Ravin et al., 2018; Wiegand et al., 2019), причем более половины закодированного в геномах потенциала пока остается нерасшифрованным. Средний размер генома у этих бактерий составляет 7.2 Mb (Wiegand et al., 2019), тогда как обладатель самого большого генома среди планктомицетов – *Fimbriglobus ruber* SP5<sup>T</sup> – имеет геном размером 12.4 Mb (Ravin et al., 2018). Как известно, размер генома бактерий коррелирует со способностью кодировать синтез разнообразных вторичных метаболитов, многие из которых представлены биологически активными соединениями, имеющими медицинское значение (Donadio et al., 2007). Анализ первой геномной последовательности планктомицета, полученной для *Rhodopirellula baltica* (Glöckner et al., 2003), выявил наличие генов, кодирующих две синтетазы нерибосомных пептидов (NRPS),

две поликетидсинтазы (PKS) и двухмодульный гибрид NRPS-PKS, расположенные на различных участках хромосомы (Donadio et al., 2007). Дальнейшее расширение спектра доступных геномов планктомицетов позволило установить, что генные кластеры, кодирующие синтез поликетидов, нерибосомных пептидов, а также терпенов, бактериоцинов, эктоина и других вторичных метаболитов присутствуют во всех из них в числе от 2 до 15 (Jeske et al., 2013; Graça et al., 2016; Wiegand et al., 2019). Наибольший интерес представляют PKS и NRPS, поскольку именно эти ферментные комплексы отвечают за синтез многих известных антибиотиков (Schwarzer et al., 2003; Fischbach, Walsh, 2006; Tracanna et al., 2017). Однако и синтез белков-бактериоцинов, ингибирующих развитие родственных видов бактерий, включая антибиотикорезистентные штаммы (Cotter et al., 2013), также представляет интерес. Таким образом, анализ геномов планктомицетов позволил предположить перспективность этих бактерий как источника новых биологически активных веществ и антибиотиков (Jeske et al., 2013; Graça et al., 2016; Tracanna et al., 2017; Wiegand et al., 2019). Дальнейшие экспериментальные исследования подтвердили наличие антимикробной активности у ряда планктомицетов, таких как *Planctopirus linnophila* DSM 377, *Rhodopirellula baltica* DSM 10527 (Jeske et al., 2016), *Rhodopirellula lusitana* (Graça et al., 2016) и *Planctopirus hydrillae* (Yadav et al., 2018), однако спектр исследованных культур планктомицетов пока остается узким.

В контексте проблемы возникновения множественной устойчивости патогенов к имеющимся антибиотикам, поиск продуцентов новых антимикробных веществ имеет высокую актуальность. Очевидно, что одним из объектов таких поисков должны быть новые культуры планктомицетов.

Настоящая работа была предпринята с целью оценки наличия и спектра антимикробной активности недавно описанного пресноводного планктомицета *Lacipirellula parvula* PX69<sup>T</sup>, представляющего новое семейство *Lacipirellulaceae* (Dedysch et al., 2020).

## ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

**Выявление генов, кодирующих синтез вторичных метаболитов.** Анализ генома *Lacipirellula parvula* PX69<sup>T</sup> (номер депонирования в ГенБанке AP021861) на наличие генных кластеров, кодирующих вторичные метаболиты, был проведен с использованием онлайн сервера antiSMASH (<https://antismash.secondarymetabolites.org>) (Weber et al., 2015). Аналогичный анализ был также проведен для геномов других известных представителей семейства *Lacipirellulaceae* – “*Bythopirellula goksoyri*” Pr1d (GCF\_008065115) и таксономически неоха-

рактеризованного планктомицета штамма I41 (GCA\_007746075), а также для ряда планктомицетов филогенетически родственного семейства *Pirellulaceae* – *Blastopirellula marina* (GCF\_000153105), *Mariniblastus fucicola* (GCF\_001642875), *Rhodopirellula baltica* (GCF\_000196115), *Roseimartina ulvae* (GCF\_001642915), *Rubripirellula retcaptiva* (GCF\_007860175) и *Pirellula staleyi* (GCF\_000025185).

**Среды и условия культивирования.** Штамм PX69<sup>T</sup> выращивали в периодической культуре на среде GPM1 с глюкозой и пептоном в качестве субстратов роста при температуре 28°C и скорости перемешивания 150 об./мин. Состав среды GPM1 (г/л): глюкоза – 1.0; пептон – 0.5; дрожжевой экстракт – 0.25; NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> – 0.1; раствор Хатнера (Staley et al., 1992) – 20 мл/л. При оптимизации роста штамма PX69<sup>T</sup> использовали модифицированные версии среды GPM1 с увеличенным содержанием субстратов роста – среду GPM2 с концентрацией глюкозы и пептона, соответственно, 1.5 и 0.75 г/л, а также среду GPM3, содержащую 1.75 и 1.0 г/л глюкозы и пептона соответственно. Культивирование проводили во флаконах объемом 120 мл, содержащих 30 мл среды. Рост прослеживали путем измерения оптической плотности культуры (OD<sub>600</sub>) на спектрофотометре. Эксперименты проводили в четырехкратной повторности.

**Получение экстрактов вторичных метаболитов.** Для анализа антимикробной активности культуру штамма PX69<sup>T</sup> наращивали во флаконах объемом 500 мл, содержащих 150 мл соответствующей среды. Экстракцию вторичных метаболитов из культуральной жидкости (КЖ) планктомицета проводили с использованием адсорбента “Amberlite®XAD®-2” (“Supelco”, “Sigma-Aldrich”, США) в соответствии с ранее описанным протоколом (Jeske et al., 2016). Для этого 600 мл культуры штамма PX69<sup>T</sup> инкубировали с 2% (об./об.) адсорбента при 28°C и перемешивании со скоростью 80 об./мин в течение 3 сут. Затем адсорбент с комплексом связанных метаболитов собирали центрифугированием, переносили в колбу для экстракции, приливали 200 мл этилацетата и инкубировали 1 ч в темноте при комнатной температуре, после чего фильтровали. Этилацетат удаляли с помощью роторного вакуумного испарителя (Kika® WERKE HB4 basic) (36°C; 130 об./мин; 1 мбар). Полученные соединения растворяли в 1 мл метанола и хранили при –20°C.

**Определение спектра и величины антимикробной активности.** Проверку наличия и активности полученных экстрактов КЖ *Lacipirellula parvula* PX69<sup>T</sup> осуществляли в отношении ряда тест-культур микроорганизмов: бактерий *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *E. coli* ATCC 25922 и K12 F+, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *B. cereus* var. *mycoides* HB и дрожжей *Candida albicans* 24433 и 10231. Тест-культуры бак-

терий выращивали на среде Nutrient Agar (“Difco”), дрожжи поддерживали на среде Сабуро следующего состава (г/л): глюкоза – 20; пептон – 5; дрожжевой экстракт – 5; агар – 15.

Наличие антимикробной активности выявляли по зоне подавления роста тест-культур микроорганизмов вокруг бумажных дисков (“Ahlstrom-Unksjö Germany GmbH”, Grade BF 3, диаметр 9 мм), пропитанных экстрактами КЖ в количестве 60 мкл КЖ на диск и наложенных на газоны тест-культур. Последние получали рассевом тест-культур на соответствующие среды с “мягким” агаром (7 г/л).

Количественную оценку воздействия исследуемых экстрактов на рост тест-культур осуществляли с использованием микропланшетов и сканера MR-96A (“Mindray”, КНР). В качестве положительного контроля роста использовали суспензии тест-культур на соответствующей питательной среде. В опытных вариантах к суспензии тест-культур на питательной среде добавляли экстракт КЖ штамма PX69<sup>T</sup> в концентрации 8% (об./об.). В качестве дополнительного контроля влияния растворителя (метанола) на рост тест-культур к их суспензиям в питательной среде добавляли такое же количество метанола. Эксперименты проводили в четырехкратной повторности. Микропланшеты с культурами инкубировали в течение 2 сут при 28°C, после чего проводили измерения оптической плотности культуры при 450 нм и перемешивании средней интенсивности в течение 10 с. Результаты оценивали по разнице оптической плотности тест-культур в вариантах опыта с добавлением экстрактов КЖ штамма PX69<sup>T</sup> по сравнению с контролем.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

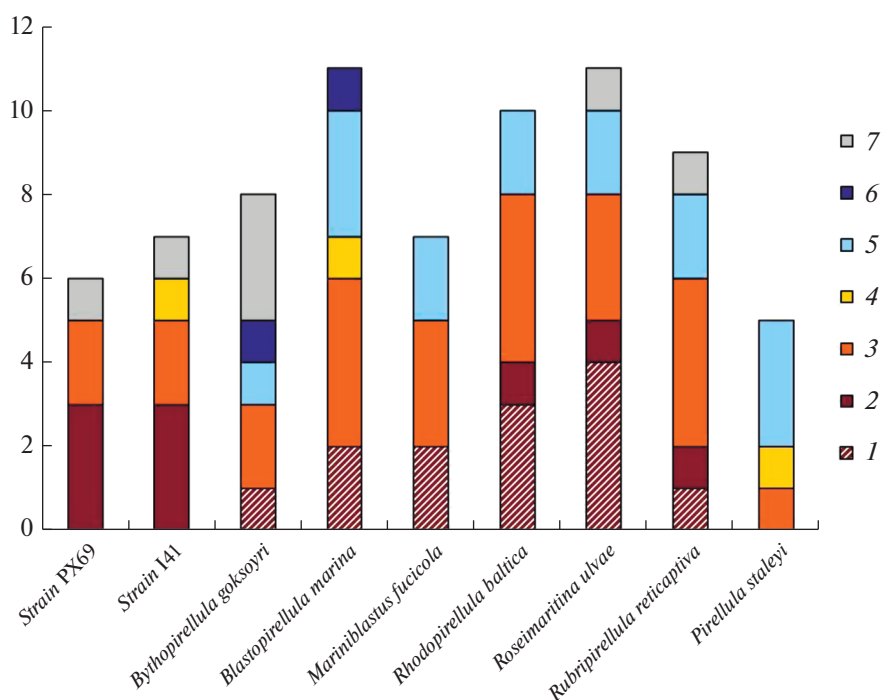
**Анализ генома *Lacipirellula parvula* PX69<sup>T</sup> на наличие генов синтеза вторичных метаболитов.** Использование программного пакета antiSMASH позволило выявить в геноме штамма PX69<sup>T</sup> шесть генных кластеров, предположительно отвечающих за продукцию вторичных метаболитов (рис. 1). Три из них были классифицированы как кодирующие поликетидсинтазы III типа и два – как кодирующие синтетазы нерибосомных пептидов. Шестой из выявленных оперонов имел ряд признаков, позволяющих классифицировать его как связанный с синтезом вторичных метаболитов, но их оказалось недостаточно для предсказания природы этих метаболитов. Сходство выявленных в геноме штамма PX69<sup>T</sup> генов синтеза вторичных метаболитов по сравнению с таковыми у других микроорганизмов оказалось крайне низким. Ближайшие гомологи поликетидсинтаз штамма PX69<sup>T</sup> закодированы в геноме планктомицета семейства *Gemmataceae*, *Gemmata obscuri-*

*globus* UQM 2246, причем лишь 17% кодирующих их генов обнаруживают сходство. Гены гомологов синтетаз нерибосомных пептидов штамма PX69<sup>T</sup> имеются в геноме планктомицета семейства *Pirellulaceae*, *Rubripirellula obstinata* СЕСТ 8602 (14% генов обнаруживают сходство), а также миксобактерий *Corallococcus coralloides* DSM 2259 и *Mycococcus xanthus* DK 1622 (7–10% генов обнаруживают сходство).

Спектр вторичных метаболитов, кодируемых в геноме другого, пока неохарактеризованного представителя рода *Lacipirellula*, штамма I41 (Wiegand et al., 2019), был высоко сходен с обнаруженным у штамма PX69<sup>T</sup>, но включал также и гены синтеза бактериоцина (рис. 1). В отличие от пресноводных планктомицетов рода *Lacipirellula*, геном морского представителя семейства *Lacipirellulaceae*, “*Bythopirellula goksoyri*” Pr1d, кодировал несколько иной, включающий эктоин и терпены, спектр вторичных метаболитов, что, возможно, объясняется спецификой местообитания этого планктомицета. Перечень метаболитов, кодируемых в геномах планктомицетов семейства *Pirellulaceae*, значительно варьировал у различных организмов, однако, в целом, он был шире у морских представителей этого семейства (рис. 1).

**Влияние состава среды на динамику роста штамма PX69<sup>T</sup>.** Ранее выполненные исследования антимикробной активности морских планктомицетов показали, что степень проявления их антимикробной активности зависит от состава среды культивирования (Гаца et al., 2016). Наибольшая активность экстрактов КЖ планктомицетов была зарегистрирована при использовании среды с повышенным содержанием дрожжевого экстракта, пептона и глюкозы. В связи с этим была проведена оптимизация состава среды культивирования штамма PX69<sup>T</sup> путем прослеживания зависимости ростовых характеристик этого планктомицета от концентраций глюкозы и пептона в среде (рис. 2). Повышение содержания субстратов роста в среде приводило к увеличению скорости роста культуры и урожая клеток планктомицета. Ростовые характеристики штамма PX69<sup>T</sup> на средах GPM2 и GPM3 оказались близки, но максимальная оптическая плотность культуры достигалась при культивировании на среде GPM3. Дальнейшее увеличение концентраций глюкозы и пептона в среде не вызывало существенного увеличения оптической плотности культуры (данные не показаны).

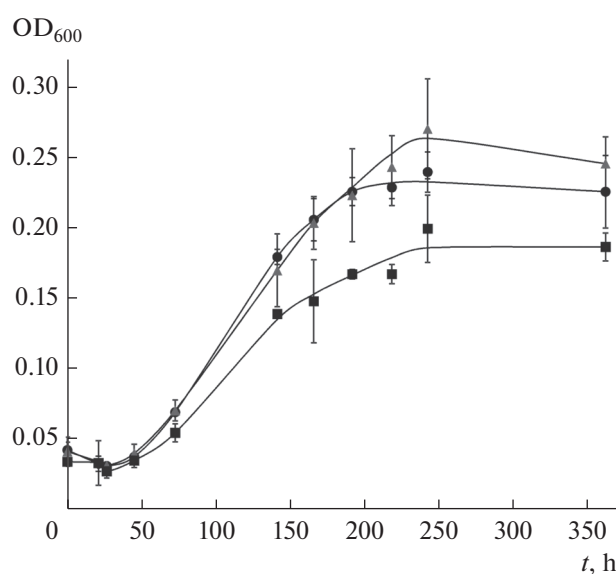
**Спектр антимикробной активности нового планктомицета.** Первоначальную проверку наличия и спектра антимикробной активности штамма PX69<sup>T</sup> проводили с помощью стандартного диско-диффузионного метода (рис. 3). Зоны подавления роста были зарегистрированы для всех использованных в работе тест-культур, но наиболее сильное ингибирование было отмечено в отношении



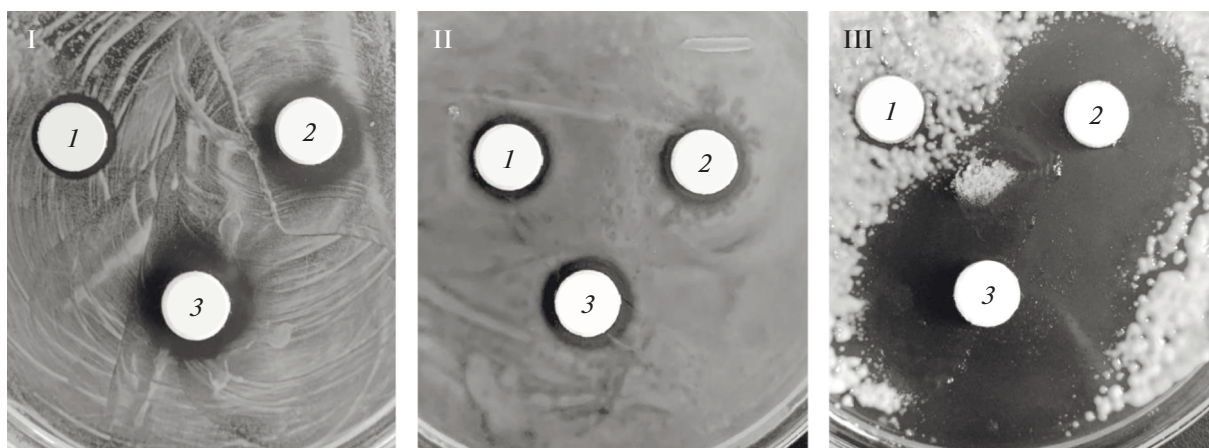
**Рис. 1.** Число генных кластеров, кодирующих вторичные метаболиты в геноме *Lacipirellula parvula* PX69<sup>T</sup> и двух других представителей семейств *Lacipirellulaceae* – “*Bythopirellula goksoyri*” Pr1d и таксономически неохарактеризованного штамма I41, а также некоторых представителей семейства *Pirellulaceae*. 1 – поликетидсинтазы I типа; 2 – поликетидсинтазы III типа; 3 – синтетазы нерибосомных пептидов; 4 – бактериоцины; 5 – терпены; 6 – эктоин; 7 – другие.

грамположительных бактерий *S. aureus* (рис. 3, I) и дрожжей *C. albicans* (рис. 3, III). Экстракты КЖ, полученные на средах GPM2 и GPM3, обладали более сильным ингибирующим действием, что особенно ярко проявилось в отношении тест-культур дрожжей (рис. 3).

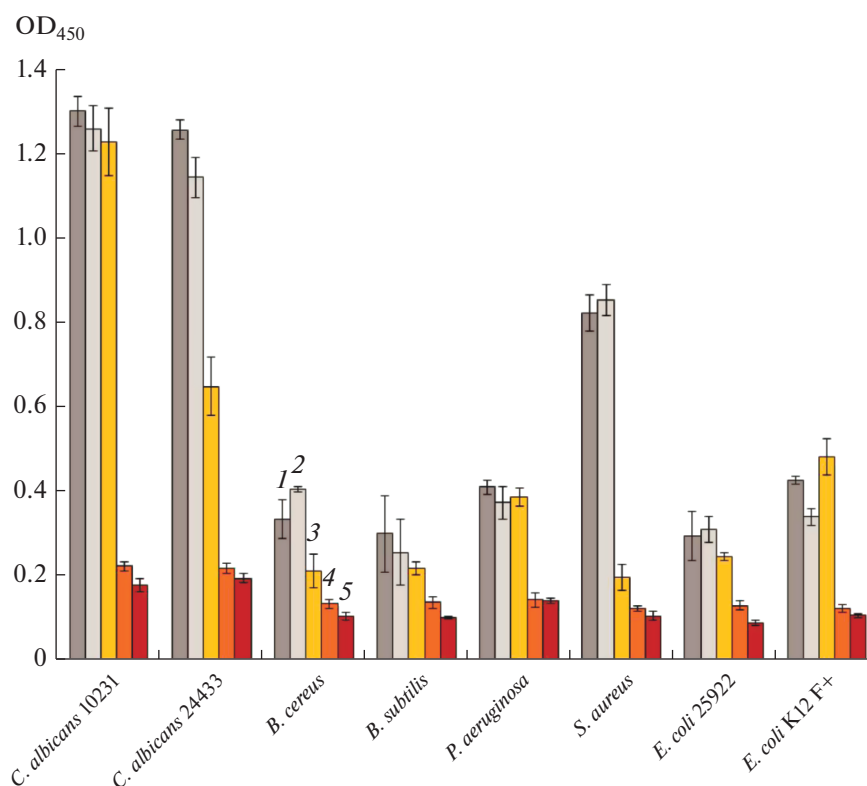
**Количественная оценка антимикробной активности штамма PX69<sup>T</sup>.** Культивирование в микропланшетах позволило количественно оценить степень ингибирования тест-культур экстрактами КЖ штамма PX69<sup>T</sup>. Наибольшее подавление роста тест-культур наблюдалось при использова-



**Рис. 2.** Динамика роста *Lacipirellula parvula* PX69<sup>T</sup> на средах с различными концентрациями глюкозы и пептона. Квадратами показан рост на среде GPM1, кругами – на среде GPM2, треугольниками – на среде GPM3.



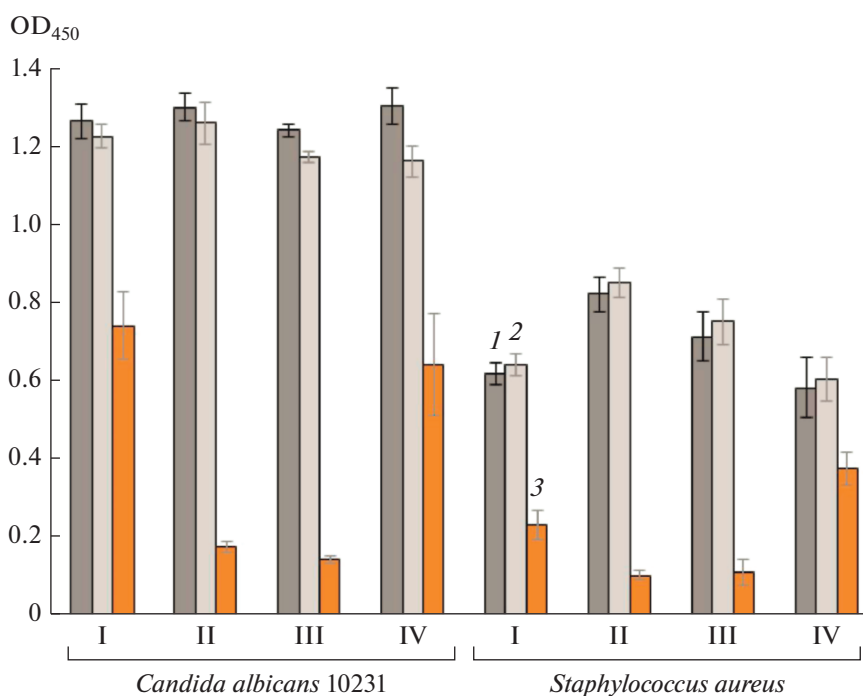
**Рис. 3.** Зоны подавления роста тест-культур бактерий *S. aureus* (I), *E. coli* K12 F+ (II) и дрожжей *C. albicans* 24433 (III) экстрактами культуральной жидкости штамма PX69<sup>T</sup>, выращенного на средах GPM1 (1), GPM2 (2) и GPM3 (3). Фотографии сделаны после 2 сут инкубации.



**Рис. 4.** Антимикробная активность экстрактов культуральной жидкости *Lacipirellula parvula* PX69<sup>T</sup> в отношении тест-культур микроорганизмов: 1 – положительный контроль; 2 – контроль с добавлением метанола; 3, 4 и 5 – внесение экстрактов КЖ планктомицета, выращенного на средах GPM1, GPM2 и GPM3 соответственно. Данные приведены для экстракта 20-сут культуры планктомицета.

нии экстрактов, полученных на средах GPM2 и GPM3, тогда как активность полученных на среде GPM1 экстрактов в большинстве случаев была незначительной (рис. 4). Ингибирующая активность экстрактов КЖ, полученных на средах GPM2 и GPM3, была максимальной по отноше-

нию к *S. aureus* (85 и 87% подавления роста соответственно) и двум штаммам дрожжей *C. albicans* (83–86% соответственно). Менее выраженный ингибирующий эффект наблюдался по отношению к *E. coli* K12F+ (71 и 75% соответственно). Степень ингибирования роста остальных тест-



**Рис. 5.** Зависимость антимикробной активности *Lacipirellula parvula* PX69<sup>T</sup> в отношении *C. albicans* 10231 и *S. aureus* от возраста культуры, использованной для экстракции вторичных метаболитов: 1 – положительный контроль; 2 – контроль с добавлением метанола; 3 – внесение экстракта КЖ планктомицета, выращенного на среде GPM3. Сроки инкубации культуры: I – 11 сут, II – 20 сут, III – 40 сут, IV – 60 сут.

культур – *E. coli* 25922, *B. cereus*, *B. subtilis* и *P. aeruginosa* – при использовании сред GPM2 и GPM3 составила 54–65 и 66–70% соответственно (рис. 4).

**Зависимость антимикробной активности экстрактов КЖ штамма PX69<sup>T</sup> от длительности культивирования.** Возраст культуры, использованной для получения экстракта КЖ, во многом определял его активность в отношении тест-культур (рис. 5). В случае всех исследованных культур, наибольшее ингибирующее воздействие оказывали экстракты КЖ 20- и 40-сут культур *Lacipirellula parvula* PX69<sup>T</sup>. Активность слишком “молодых” (11 сут инкубации) или “старых” (60 сут) экстрактов КЖ составляла менее половины таковой у 20- и 40-суточных культур. По-видимому, синтез соединений с антимикробной активностью имеет место только на определенной стадии развития культуры планктомицета, причем при слишком длительной инкубации может происходить их частичная деградация.

Таким образом, проведенные нами исследования подтвердили наличие антимикробной активности *Lacipirellula parvula* PX69<sup>T</sup> в отношении широкого ряда тест-культур микроорганизмов, причем наибольшая антимикробная активность наблюдалась в отношении штаммов *S. aureus* и *Candida albicans*. Степень проявления этой активности существенно зависела от состава среды и длительности культивирования планктомицета.

Идентификация соединений, ответственных за наблюдаемую антимикробную активность *Lacipirellula parvula* PX69<sup>T</sup>, а также условий, инициирующих и стимулирующих их синтез, представляет предмет дальнейших исследований.

#### ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант РНФ 16-14-10210).

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит результатов исследований, в которых в качестве объектов использовались люди или животные.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют отсутствие конфликта интересов.

**Вклад авторов:** Идея и схема исследования предложены С.Н. Дедыш. Анализ генома штамма PX69<sup>T</sup> выполнен В.А. Салтыковой. Эксперименты по культивированию планктомицета, экстракции вторичных метаболитов и оценке их антимикробной активности проведены С.Э. Беловой и В.А. Салтыковой. Текст статьи написан С.Э. Беловой и С.Н. Дедыш. Все авторы участвовали в обсуждении результатов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Boedeker C., Schüler M., Reintjes G., Jeske O., van Teeseling M.C., Jogler M., Rast P., Borchert D., Devos D.P., Kucklick M., Schaffer M., Kolter R., van Niftrik L., Engelmann S., Amann R., Rohde M., Engelhardt H., Jogler C. Determining the bacterial cell biology of Planctomycetes // Nat. Commun. 2017. V. 8. P. 14853.  
<https://doi.org/10.1038/ncomms14853>
- Buckley D.H., Huangyutham V., Nelson T.A., Rumberger A., Thies J.E. Diversity of Planctomycetes in soil in relation to soil history and environmental heterogeneity // Appl. Environ. Microbiol. 2006. V. 72. P. 4522–4531.
- Cotter P.D., Ross R.P., Hill C. Bacteriocins – a viable alternative to antibiotics? // Nat. Rev. Microbiol. 2013. V. 11. P. 95–105.
- Dedysh S.N., Ivanova A.A. Planctomycetes in boreal and subarctic wetlands: diversity patterns and potential ecological functions // FEMS Microbiol. Ecol. 2019. V. 95. fyy227.  
<https://doi.org/10.1093/femsec/fyy227>
- Dedysh S.N., Kulichevskaya I.S., Beletsky A.V., Ivanova A.A., Rijpstra W.I.C., Sinninghe Damsté J.S., Mardanov A.V., Ravin N.V. *Lacipirellula parvula* gen. nov., sp. nov., representing a lineage of planctomycetes widespread in low-oxygen habitats, description of the family *Lacipirellulaceae* fam. nov. and proposal of the orders *Pirellulales* ord. nov., *Gemmatales* ord. nov. and *Isosphaerales* ord. nov. // Syst. Appl. Microbiol. 2020. V. 43. Art. 126050.  
<https://doi.org/10.1016/j.syapm.2019.126050>
- Donadio S., Monciardini P., Sosio M. Polyketide synthases and nonribosomal peptide synthetases: the emerging view from bacterial genomics // Nat. Prod. Rep. 2007. V. 24. P. 1073–1109.  
<https://doi.org/10.1039/b514050c>
- Fischbach M.A., Walsh C.T. Assembly-line enzymology for polyketide and nonribosomal peptide antibiotics: logic, machinery, and mechanisms // Chem. Reviews. 2006. V. 106. P. 3468–3496.
- Fuerst J.A. The planctomycetes: emerging models for microbial ecology, evolution and cell biology // Microbiology (SGM). 1995. V. 141. P. 1493–1506.
- Glöckner F.O., Kube M., Bauer M., Teeling H., Lombardot T., Ludwig W., Gade A., Beck A., Borzym K., Heitmann K., Rabus R., Schlesner H., Amann R., Reinhardt R. Complete genome sequence of the marine planctomycete *Pirellula* sp. strain 1 // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2003. V. 100. P. 8298–8303.
- Graça A.P., Calisto R., Lage O.M. Planctomycetes as novel source of bioactive molecules // Front. Microbiol. 2016. V. 7. Art. 1241.  
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01241>
- Guo M., Han X., Jin T., Zhou L., Yang J., Li Z., Chen J., Geng B., Zou Y., Wan D., Li D., Dai W., Wang H., Chen Y., Ni P., Fang C., Yang R. Genome sequences of three species in the family *Planctomycetaceae* // J. Bacteriol. 2012. V. 194. P. 3740–3741.
- Jeske O., Jogler M., Petersen J., Sikorski J., Jogler C. From genome mining to phenotypic microarrays: *Planctomycetes* as source for novel bioactive molecules // Antonie van Leeuwenhoek. 2013. V. 104. P. 551–567.  
<https://doi.org/10.1007/s10482-013-0007-1>
- Jeske O., Surup F., Ketteniß M., Rast P., Förster B., Jogler M., Wink J., Jogler C. Developing techniques for the utilization of Planctomycetes as producers of bioactive molecules // Front. Microbiol. 2016. V. 7. Art. 1242.  
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01242>
- Ivanova A.A., Naumoff D.G., Miroshnikov K.K., Liesack W., Dedysh S.N. Comparative genomics of four *Isosphaera* planctomycetes: a common pool of plasmids and glycoside hydrolase genes shared by *Paludisphaera borealis* PX4<sup>T</sup>, *Isosphaera pallida* IS1B<sup>T</sup>, *Singulisphaera acidiphila* DSM 18658<sup>T</sup>, and strain SH-PL62 // Front. Microbiol. 2017. V. 8. Art. 412.  
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00412>
- Lage O.M., Bondoso J. Planctomycetes and macroalgae, a striking association // Front. Microbiol. 2014. V. 5. Art. 267.  
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00267>
- Ravin N.V., Rakitin A.L., Ivanova A.A., Beletsky A.V., Kulichevskaya I.S., Mardanov A.V., Dedysh S.N. Genome analysis of *Fimbriglobus ruber* SP5<sup>T</sup>, a planctomycete with confirmed chitinolytic capability // Appl. Environ. Microbiol. 2018. V. 84. Art. e02645-1.
- Reintjes G., Arnosti C., Fuchs B.M., Amann R. An alternative polysaccharide uptake mechanism of marine bacteria // ISME J. 2017. V. 11. P. 1640–1650.
- Schwarzer D., Finking R., Marahiel M.A. Nonribosomal peptides: from genes to products // Nat. Prod. Rep. 2003. V. 20. P. 275–287.
- Staley J.T., Fuerst J.A., Giovannoni S., Schlesner H. The order *Planctomycetales* and the genera *Planctomyces*, *Pirellula*, *Gemmata*, and *Isosphaera* // The Prokaryotes: A Handbook on the Biology of Bacteria: Ecophysiology, Isolation, Identification, Applications / Eds. Balows A., Trüper H.G., Dworkin M., Harder W., Schleifer K.-H. New York, N.Y.: Springer New York, 1992. P. 3710–3731.
- Tracanna V., de Jong A., Medema M.H., Kuipers O.P. Mining prokaryotes for antimicrobial compounds: from diversity to function // FEMS Microbiol. Rev. 2017. V. 41. P. 417–442.
- Weber T., Blin K., Duddela S., Krug D., Kim H.U., Brucoleri R., Lee S.Y., Fischbach M.A., Müller R., Wohlleben W., Breitling R., Takano E., Medema M.H. antiSMASH 3.0—a comprehensive resource for the genome mining of biosynthetic gene clusters // Nucl. Acids Res. 2015. V. 43. W237–W243.
- Wiegand S., Jogler M., Jogler C. On the maverick *Planctomycetes* // FEMS Microbiol. Rev. 2018. V. 42. P. 739–760.
- Wiegand S., Jogler M., Boedeker C., Pinto D., Vollmers J., Rivas-Marín E., Kohn T., Peeters S.H., Heuer A., Rast P., Oberbeckmann S., Bunk B., Jeske O., Meyerdierks A., Store-sund J.E., Kallscheuer N., Lückner S., Lage O.M., Pohl T., Merkel B.J., Hornburger P., Müller R.-W., Brümmer F., Labrenz M., Spormann A.M., Op den Camp H.J.M., Overmann J., Amann R., Jetten M.S.M., Mascher T., Medema M.H., Devos D.P., Kaster A.-K., Øvreås L., Rohde M., Galperin M.Y., Jogler C. Cultivation and functional characterization of 79 planctomycetes uncovers their unique biology // Nat. Microbiol. 2019. V. 5. P. 126–140.  
<https://doi.org/10.1038/s41564-019-0588-1>
- Yadav S., Vaddavalli R., Siripuram S., Eedara R.V.V., Yadav S., Rabishankar O., Lodha T., Chintalapati S., Chintalapati V. *Planctopirus hydrillae* sp. nov., an antibiotic producing planctomycete isolated from the aquatic plant *Hydrilla* and its whole genome shotgun sequence analysis // J. Antibiotics. 2018. V. 71. P. 575–583.

## Antimicrobial Activity of a Novel Freshwater Planctomycete *Lacipirellula parvula* PX69<sup>T</sup>

S. E. Belova<sup>1</sup>, V. A. Saltykova<sup>1, 2</sup>, and S. N. Dedysh<sup>1, \*</sup>

<sup>1</sup>Winogradsky Institute of Microbiology, Research Center of Biotechnology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119071 Russia

<sup>2</sup>Moscow State University, Moscow, 119991 Russia

\*e-mail: dedysh@mail.ru

Received March 28, 2020; revised March 29, 2020; accepted April 7, 2020

Planctomycetes are a phylogenetic group of bacteria with complex cell organization, large genomes and a wide spectrum of genome-encoded secondary metabolites. As suggested by analysis of available planctomycete genomes, these bacteria represent a promising source of potentially novel biologically active compounds. The number of cultured planctomycetes, however, remains limited. This study was undertaken in order to assess the presence of antimicrobial activity and its spectrum in the recently described freshwater planctomycete *Lacipirellula parvula* PX69<sup>T</sup> representing the novel family *Lacipirellulaceae*. The genome of strain PX69<sup>T</sup> contained 6 gene clusters encoding type III polyketide synthases, non-ribosomal peptide synthetases, and other secondary metabolites, which displayed low similarity to those in other bacteria. Strain PX69<sup>T</sup> was shown to exhibit antimicrobial activity against a number of test microorganisms. The highest antimicrobial activity, up to 83–87% of growth inhibition, was observed against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. The medium composition and the cultivation time have been optimized in order to maximize antimicrobial activity of strain PX69<sup>T</sup>.

**Keywords:** *Planctomycetes*, freshwater planctomycetes, *Lacipirellula parvula*, family *Lacipirellulaceae*, genome analysis, secondary metabolites, type III polyketide synthases, non-ribosomal peptide synthetases, antimicrobial activity