

- Antarctic. *PLoS ONE*. 2015. Vol. 10, No. 9. P. 1–17.
2. Kunakh V., Twardovska M., Andreev I., Drobyk N., Navrotska D., Nuzhyna N., Poronnik O., Konvalyuk I., Myryuta G., Ivannikov R., Parnikoza I. Development, integrative study and research prospects of *Deschampsia antarctica* collection. *Polish Polar Research*. 2023. Vol. 44, No. 1. P. 41–68.
 3. Navrotska D., Andreev I., Betekhtin A., Rojek M., Parnikoza I., Myryuta G., Poronnik O., Miryuta N., Szymanowska-Pułka J., Grakhov V., Ivannikov R., Hasterok R., Kunakh V. Assessment of the molecular cytogenetic, morphometric and biochemical parameters of *Deschampsia antarctica* from its southern range limit in maritime Antarctic. *Polish Polar Research*. 2018. Vol. 39, No. 4. P. 525–548.
 4. Navrotska D.O., Twardovska M.O., Andreev I.O., Parnikoza I.Yu., Betekhtin A.A., Zahrychuk O.M., Drobyk N.M., Hasterok R., Kunakh V.A. New forms of chromosome polymorphism in *Deschampsia antarctica* Desv. from the Argentine islands of the Maritime Antarctic region. *Ukrainian Antarctic Journal*. 2014. No. 13. P. 185–191.

УДК 579.2

**ГЕТЕРОЛОГІЧНА ЕКСПРЕСІЯ КЛАСТЕРУ ГЕНІВ
НОВОГО ПРИРОДНОГО АНТИБІОТИКА Је478 У
ШТАМАХ СТРЕПТОМІЦЕТІВ**

**Тістечок С.І.¹, Ребець Ю.В.², Федоренко В.О.¹, Лужецький
А.М.³, Громико О.М.¹**

¹Львівський національний університет імені Івана Франка,
Україна

²ТЗОВ Експлоджен, Україна

³Саарландський університет, Німеччина

E-mail: Stepan.Tistechok@lnu.edu.ua

Множинна антибіотикорезистентність патогенних мікроорганізмів – одна з найболючіших проблем людства. Неконтрольоване використання антибіотиків як у медицині, так й у ветеринарії призводить до стрімкого розвитку резистому серед мікроорганізмів. Одним з шляхів подолання цієї проблеми є

впровадження у клінічну практику нових антибіотичних препаратів. Мікробні природні сполуки є однією з найефективніших платформ для створення нових протимікробних препаратів, а одним з найбільших джерел таких сполук є бактерії класу *Actinomycetia*. Ці бактерії синтезують приблизно дві третини всіх природних антибіотиків, які використовуються в медицині, ветеринарії та сільському господарстві [2]. Проте, через значне повторне відкриття вже відомих сполук, пошук нових сповільнюється. Дослідження нових і недостатньо вивчених біотопів може бути однією зі стратегій вирішення цього. Оскільки, сьогодні з'являється все більше повідомлень про відкриття нових антибіотиків з мікроорганізмів, що виділили з раніше недосліджуваних біотопів [3].

Одним з таких середовищ існування є Кримський півострів, мікробіота якого практично не досліджена. На цій території росте велика кількість рідкісних та ендемічних рослин, ризосфера яких є багатим джерелом різноманіття актиноміцетів. Однією з таких рослин є яловець високий (*Juniperus excelsa* Bieb.). В недавньому нашому дослідженні ми продемонстрували потенціал актиноміцетів, виділених з ризосфери цієї рослини до продукції нових антибіотиків [4]. Це спонукало нас до глибшого дослідження спектру вторинних метаболітів актиноміцетів ризосфери *J. excelsa*.

Дещо раніше в екстракті ізоляту, який за аналізом нуклеотидної послідовності гену 16S рРНК був віднесений до роду *Streptomyces*, ми ідентифікували новий гуанідин-вмісний терпеновий антибіотик Je478, який демонструє яскраво виражену антибактеріальну та, зокрема, антимікобактеріальну активність. Більшість гуанідин-вмісних вторинних метаболітів є модифікованими пептидами та алкалоїдами. Лише невелика їхня частина належить до полікетидів та терпенів [1]. Біосинтез жодного із гуанідин-вмісних терпенів не вивчений, їхнє походження та гени, що кодують відповідні біосинтетичні шляхи, залишаються невідомими.

Клонування біосинтетичного кластера та його експресія в спеціально сконструйованих для цього гетерологічних господарях є абсолютними передумовами для подальших

біосинтетичних досліджень. Ми секвенували геном продуцента антибіотика Je478 та ідентифікували ймовірний кластер генів біосинтезу. Для того, щоб підтвердити ідентифікований кластер ми сконструювали космідну бібліотеку нативного продуцента та відшукали косміду, яка містить ділянку хромосоми із передбачуваним кластером генів. Далі, ми клонували ген інтегрази (*int*) в косміду P04_E01 з допомогою Red/ET рекомбінації. Отриманий вектор pSTS10, який містить ділянку хромосоми з передбачуваним кластером перенесли в гетерологічні штами-господарі *Streptomyces albus* Del14 та *S. lividans* Del8 шляхом кон'югації. Отримані транскон'юганти *S. albus* STS10 і *S. lividans* STS10 перевіряли на здатність продукувати антибіотик Je478. Визначення продукції Je478 у гетерологічних штаммах здійснювали після семиденного вирощування в середовищі DNPM. Для екстракції антибіотика Je478 використовували етилацетат. Отримані екстракти аналізували з допомогою ВЕРХ-МС. Виявили, що обидва гетерологічні штами продукували Je478, а їхній рівень продукції був однаковий з нативним штамом.

Таким чином, у цьому дослідженні ми підтвердили ідентифікований кластер генів біосинтезу антибіотика Je478, шляхом гетерологічної експресії в штаммах-господарях *S. albus* Del14 і *S. lividans* Del8. Продовження дослідження, зокрема інактивація окремих генів в кластері, дасть змогу встановити їхню роль у біосинтезі антибіотика Je478. Крім того, зважаючи на унікальну структуру Je478, ми припускаємо, що за її формування можуть відповідати нові, раніше не описані ферменти.

Список літератури:

1. Berlinck R.G.S., Bernardi D.I., Fill T., Fernandes A.A.G., Jurberg I.D. The chemistry and biology of guanidine secondary metabolites. *Nat Prod Rep.* 2021. 38(3): 586-667.
2. De Simeis D., Serra S. Actinomycetes: A Never-Ending Source of Bioactive Compounds-An Overview on Antibiotics Production. *Antibiotics (Basel)* 2021. 10(5):483.
3. Farda B., Djebaili R., Vaccarelli I. et al. Actinomycetes from Caves: An Overview of Their Diversity, Biotechnological Properties, and Insights for Their Use in Soil Environments. *Microorganisms (Basel)*. 2022. 10(2):453.

4. Tistechok S., Stierhof M., Myronovskyi M. et al. Furaquinocins K and L: Novel Naphthoquinone-Based Meroterpenoids from *Streptomyces* sp. Je 1-369. *Antibiotics* (Basel). 2022. 11(11):1587.