

**КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА**

06.07 – КР. 1998 «С». 2023.01.11. 1 ПЗ

**БАЛАЖИНЕЦЬ ДІАНА ІВАНІВНА**

2024

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ  
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

**Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології**

**УДК 606:636.09:615**

**ПОГОДЖЕНО**  
**Декан факультету**  
**захисту рослин, біотехнологій та екології**  
 \_\_\_\_\_ **Коломієць Ю.В.**  
 «\_\_» \_\_\_\_\_ 2024 р.

**ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ**  
**Завідувач кафедри**  
**екобіотехнології та біорізноманіття**  
 \_\_\_\_\_ **Кваско О.Ю.**  
 «\_\_» \_\_\_\_\_ 2024 р.

**КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА**

**на тему** «Особливості культивування актиноміцетів роду *Streptomyces* у виробництві саліноміцину»

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»  
 (код і назва)

Освітня програма «Екологічна біотехнологія та біоенергетика»  
 (назва)

Орієнтація освітньої програми освітньо-професійна  
 (освітньо-професійна або освітньо-наукова)

**Гарант освітньої програми**  
**д.с.-г.н., професор**

\_\_\_\_\_ **Лісовий М.М.**

**Керівник кваліфікаційної роботи**  
**к.б.н., доцент**  
 \_\_\_\_\_  
 (науковий ступінь та вчене звання)

\_\_\_\_\_ **Кваско О.Ю.**  
 (підпис) (ПІБ)

**Виконала** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_ **Балажинець Д.І.**  
 (підпис) (ПІБ студента)

**КИЇВ-2024**

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ  
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

**Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології  
Кафедра екобіотехнології та біорізноманіття  
Освітній ступінь «Магістр»  
Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»**

**ЗАТВЕРДЖУЮ**  
**Завідувач кафедри**  
**екобіотехнології та біорізноманіття**  
**Кваско О.Ю.**  
“        ”        \_\_\_\_\_ **2024 р.**

**ЗАВДАННЯ**  
**на виконання кваліфікаційної роботи студенту**

Балажинець Діані Іванівні

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи «Особливості культивування актиноміцетів роду *Streptomyces* у виробництві саліноміцину»

керівник роботи к.б.н., доцент Кваско Олена Юріївна,  
(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

2. Строк подання студентом роботи 15 листопада 2024 року

3. Вихідні дані до роботи культура штамів *Streptomyces* sp., протоколи культивування стрептоміцетів, методика визначення саліноміцину.

4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити):

4.1. Проаналізувати літературні джерела стосовно теми кваліфікаційної роботи

4.2. Визначити оптимальний склад поживного середовища для культивування *Streptomyces albus* ZD11 для синтезу саліноміцину (тип поживного середовища, джерело карбону та концентрацію глюкози).

4.3. Виявити вплив джерела нітрогену, концентрації натрій хлориду на ростові показники та рівень синтезу саліноміцину штамом *S. albus* ZD11

4.3. Дослідити вплив фізико-хімічних параметрів (температури та рН поживного середовища) на ріст та вихід саліноміцину

4.4. Визначити вплив терміну культивування на вихід біомаси та саліноміцину штамом *S. albus* ZD11.

### 5. Консультанти розділів роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
1	Кваско О. Ю.		
2	Кваско О. Ю.		
3	Кваско О. Ю.		

6. Дата видачі завдання 1 вересня 2023 року

### КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	Вибір теми і отримання завдання кваліфікаційної роботи	Вересень 2023 р.	
2	Опрацювання літературних джерел по темі роботи	Жовтень 2023 р.- грудень 2023 р.	
3	Проведення експериментальних досліджень	Січень-травень 2024 р.	
4	Аналіз отриманих результатів	Травень-серпень 2024 р.	
5	Підготовка висновків	Вересень 2024 р.	
6	Написання і оформлення бакалаврської кваліфікаційної роботи	Вересень-жовтень 2024 р.	
7	Підготовка до захисту кваліфікаційної роботи	Жовтень-листопад 2024 р.	

Завдання прийняв до виконання

\_\_\_\_\_ **Балажинець Д.І.**  
(підпис) (прізвище та ініціали)

Керівник  
кваліфікаційної роботи

\_\_\_\_\_ **Кваско О.Ю.**  
(підпис) (прізвище та ініціали)

## РЕФЕРАТ

Кваліфікаційна робота виконана на тему «Особливості культивування актиноміцетів роду *Streptomyces* у виробництві саліноміцину» в обсязі 65 сторінки комп'ютерного тексту формату А4, містить 12 рисунків, 125 використаних джерел. Складається з наступних розділів:

1. Огляд літератури;
2. Матеріали та методи дослідження;
3. Результати дослідження та їх обговорення.

**Метою даної роботи** було дослідити особливості культивування актиноміцетів *Streptomyces albus* ZD11 для оптимізації росту та отримання саліноміцину.

Згідно поставленої мети було сформульовано наступні **завдання**:

1. Визначити оптимальний склад поживного середовища для культивування *Streptomyces albus* ZD11 для синтезу саліноміцину (тип поживного середовища, джерело карбону та концентрацію глюкози).
2. Виявити вплив джерела нітрогену, концентрації натрій хлориду на ростові показники та рівень синтезу саліноміцину штамом *S. albus* ZD11
3. Дослідити вплив фізико-хімічних параметрів (температури та рН поживного середовища) на ріст та вихід саліноміцину штамом *S. albus* ZD11.
4. Визначити вплив терміну культивування на вихід біомаси та саліноміцину штамом *S. albus* ZD11.

**Об'єктом дослідження** є процес культивування актиноміцетів роду *Streptomyces*.

**Предметом дослідження** є штами актиноміцетів роду *Streptomyces*.

В роботі застосовано такі **методи дослідження** як біотехнологічні, мікробіологічні, а також статистичні.

## ЗМІСТ

	Стор.
<b>ВСТУП</b>	7
<b>РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ</b>	10
1.1. Біологічна характеристика актиноміцетів роду <i>Streptomyces</i>	10
1.2. Саліноміцин: структура, властивості, застосування	15
1.3. Синтез та накопичення вторинних метаболітів у актиноміцетів роду <i>Streptomyces</i>	18
1.4. Методи культивування актиноміцетів у промислових умовах	28
1.5. Сучасні підходи до оптимізації біотехнологічних процесів виробництва	32
<b>РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ</b>	38
2.1. Характеристика об'єкту досліджень – штамів актиноміцетів роду <i>Streptomyces</i>	38
2.2. Оптимізація складу поживного середовища для культивування <i>Streptomyces</i> з метою підвищення виходу саліноміцину	38
2.3. Вивчення впливу фізико-хімічних параметрів та терміну культивування на ріст та синтез саліноміцину	39
2.4. Визначення саліноміцину колориметричним методом	40
<b>РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ</b>	41
3.1. Оптимізація складу середовища для максимального виходу продукту	41
3.2. Вплив фізико-хімічних параметрів (температури та рН) на ріст культури <i>S. albus</i> ZD11 та синтез саліноміцину	47
3.3. Вплив терміну культивування на ріст та ефективність синтезу саліноміцину <i>S. albus</i>	50
<b>ВИСНОВКИ</b>	52
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ</b>	53

## ВСТУП

Актиноміцети є групою грам-позитивних спороутворюючих бактерій з ниткоподібною структурою, що широко використовуються в біотехнології та фармацевтиці через свої унікальні метаболічні властивості [1]. Актиноміцети є джерелом вторинних метаболітів, що проявляють протигрибкову, противірусну, протипухлинні активності. Зокрема, активні штами *Streptomyces griseus* є джерелом отримання одного з перших ефективних антибіотиків проти туберкульозу — стрептоміцину [2]. Крім того, широко використовуються протигрибковий препарат ністатин, джерелом якого також є один з представників актиноміцетів роду *Streptomyces* – *S. noursei* [3]. В якості імуносупресантів для профілактики відторгнення трансплантатів використовують такролімус та рапаміцин, продуцентом яких є актиноміцет *S. hygroscopicus* [1]. Представники роду *Streptomyces* також проявляють протипухлинну активність завдяки здатності синтезувати актиноміцин D [2, 3].

Актиноміцети широко застосовують і в біотехнологіях, зокрема, у виробництві ферментів (протеаз, целюлаз, амілаз) для харчової, текстильної та паперової промисловості, для біодеградації складних органічних відходів, а також у виробництві біопестицидів та біоінсектицидів [4-6].

Одним із цінних продуктів синтезу штамами стрептоміцетів є саліноміцин - монокарбоксільний поліефірний антибіотик, виділений зі штаму *Streptomyces albus* (№ 80614). Використання саліноміцину у ветеринарній медицині розпочалося у 1980-х роках [10] як антимікробного засобу широкого спектру дії з активністю проти грам-позитивних бактерій, грибів та паразитів [11]. Крім того, саліноміцин є одним із найпоширеніших кокцидіостатиків для лікування захворювань у птахів у фермерських господарствах США [12, 13].

Як протимікробний препарат, саліноміцин в першу чергу функціонує як іонофор, що полегшує транспорт катіонів ( $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$  або  $Mg^{2+}$ ) через клітинні мембрани організмів-мішеней, включаючи найпростіших і грам-позитивних бактерій. Особливо важливо, що такий полегшений транспорт збільшує

внутрішньоклітинний кальцій до токсичних для кокцидій рівнів, індукуючи вибіркове розташування осморегуляторних органел у клітині, тим самим порушуючи осмотичний баланс і призводячи до остаточної загибелі чутливих організмів. Також саліноміцин активує нетрадиційні шляхи загибелі клітин, збільшує пошкодження ДНК та інгібує сигнальний шлях *Wnt*, і все це може бути пов'язано з протираковою активністю саліноміцину [8, 9, 14, 15].

Саліноміцин як новий протираковий засіб завдяки більш ніж у 100 разів вищій ефективності, ніж паклітаксел, широко використовується для лікування раку молочної залози [7]. Встановлено, що саліноміцин впливає на стовбурові ракові клітини інших типів, сприяючи подоланню їх хіміорезистентності. Отже, саліноміцин є перспективним протираковим препаратом для хіміопрофілактики та терапії [8, 9] та актуальним є пошук продуцентів даного антибіотика та оптимізація умов їх культивування.

Враховуючи вище зазначене, **метою даної роботи** було дослідити особливості культивування актиноміцетів *Streptomyces albus* ZD11 для оптимізації росту та отримання саліноміцину.

Згідно поставленої мети було сформульовано наступні **завдання**:

1. Визначити оптимальний склад поживного середовища для культивування *Streptomyces albus* ZD11 для синтезу саліноміцину (тип поживного середовища, джерело карбону та концентрацію глюкози).
2. Виявити вплив джерела нітрогену, концентрації натрій хлориду на ростові показники та рівень синтезу саліноміцину штамом *S. albus* ZD11
3. Дослідити вплив фізико-хімічних параметрів (температури та рН поживного середовища) на ріст та вихід саліноміцину
4. Визначити вплив терміну культивування на вихід біомаси та саліноміцину штамом *S. albus* ZD11.

**Об'єктом дослідження** є процес культивування актиноміцетів роду *Streptomyces*.

**Предметом дослідження** є штами актиноміцетів роду *Streptomyces*.

В роботі застосовано такі методи дослідження як біотехнологічні, мікробіологічні, а також статистичні.

Практична значущість даної роботи полягає у використанні результатів для оптимізації промислового виробництва саліноміцину з використанням *Streptomyces*.

Робота виконувалась на кафедрі екобіотехнології та біорізноманіття факультету захисту рослин, біотехнологій та екології Національного університету біоресурсів і природокористування України.

## РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### 1.1. Біологічна характеристика актиноміцетів роду *Streptomyces*

Актиноміцети, до яких належить рід *Streptomyces*, є прокаріотичними організмами, які класифікуються як бактерії, але мають достатньо унікальних рис, щоб складати окрему групу мікроорганізмів. Особливістю їх метаболізму є здатність виживати в стресових для інших мікроорганізмів умовах, зокрема, за умов високого рН, високої температури або водного стресу. Морфологія актиноміцетів має спільні риси з грибами — витягнуті клітини, що здатні галузитись на нитки, утворювати гіфи. Проте гіфи актиноміцетів можна відрізнити від грибних гіфів за розміром, оскільки гіфи актиноміцетів набагато менші за гіфи грибів. Однією з відмінних рис актиноміцетів є здатність використовувати велику різноманітність субстратів у ґрунті, особливо деякі менш розкладні полімери комах і рослин, такі як хітин, целюлоза та геміцелюлоза. Хоча спочатку актиноміцети вважалися ґрунтовими мікроорганізмами, зараз визнається, що морські актиноміцети також існують і мають важливе значення. Зокрема, було показано, що морські актиноміцети синтезують унікальні вторинні метаболіти, відмінні від тих, що були виявлені у ґрунтових актиноміцетів [16].

*Actinobacteria* є одним з основних виробників біологічно активних продуктів, що мають медичне, промислове та сільськогосподарське застосування. Цей відділ є одним з найбільших відділів, що класифікуються в домені Бактерії. У цьому відділі зареєстровано 6 класів, 18 порядків, 14 підрядів, 63 родини та 374 роди, найбільшим родом якого є рід *Streptomyces*. Подібно до інших родів актинобактерій, стрептоміцети є грампозитивними бактеріями з вмістом ГК 69-78% і з фізіологічними характеристиками, що нагадують багато видів грибів. Вони належать до родини *Streptomycetaceae* та порядку *Streptomycetales*. Приблизно 39% актинобактерій є продуцентами

біологічно активних сполук, причому близько 80% цих продуцентів — представники роду *Streptomyces* [16].

Рід *Streptomyces* був вперше відкритий як широко розповсюджене джерело антибіотиків у 1943 році, сьогодні зареєстровано понад 800 видів *Streptomyces* з офіційно опублікованими назвами [16]. Повторне відкриття відомих вторинних метаболітів від видів *Streptomyces* переорієнтувало вчених на відкриття рідкісних актиноміцетів, стверджуючи, що види *Streptomyces* більше не є важливим біологічним ресурсом для нових антибіотиків. Умови навколишнього середовища та різні середовища існування значною мірою сприяють різноманітності та виробництву природних біологічно активних сполук. У цьому оглядовому документі термін «стрептоміцети» використовується для позначення ґрунтових і морських мікроорганізмів, класифікованих як *Streptomyces* spp. з філу *Actinobacteria*, порядку *Actinomycetales* і родини *Streptomycetaceae*. Стрептоміцети повсюдно поширені в наземних і морських середовищах з найбільшим зареєстрованим різноманіттям у наземних біотопах. Незалежно від середовища існування, природні продукти, що виробляються стрептоміцетами в нормальних та екстремальних умовах, мають велику структурну різноманітність та значну біологічну активність. Оскільки методи виділення стрептоміцетів добре вивчені представники роду *Streptomyces* виробляють найбільшу кількість натуральних продуктів порівняно з іншими родами актинобактерій [17].

Стрептоміцети мають помітно відмінну від грамнегативних бактерій структуру клітинної стінки, так що рід *Streptomyces* був ідентифікований за складом клітинної стінки. Подібно до інших актинобактерій, стрептоміцети не мають зовнішньої мембрани, а їхні клітинні стінки мають товстий пептидоглікановий (або муреїновий) шар. Наявність LL-діамінопімеліну в клітинній стінці надає типову хемотаксономічну характеристику всім представникам роду *Streptomyces*, а його присутність разом з гліцином характеризує клітинну стінку як тип I. Тейхоєві кислоти (аніонні глікополімери) є ще одним важливим компонентом клітинної стінки, який надає негативного

заряду поверхні клітини і сприяє фізіологічному функціонуванню та коагрегації клітин [18].

Життєвий цикл починається, коли сприятливі умови навколишнього середовища та наявність поживних речовин сприяють проростанню спор (рис. 1.1.1). Далі зародкові трубки ростуть, утворюють синцитіальні вегетативні або субстратні міцелії, які складаються з взаємопов'язаних живильних гіф, що відповідають за поглинання поживних речовин. Коли поживних речовин стає мало або виникає інший стресовий стан, запрограмована загибель клітин субстратної грибниці та диференціація клітин у центрі колонії призводить до утворення повітряних гіф. Ці повітряні гіфи важко відрізнити від живильних гіф, оскільки вони вкриті гідрофобним волокнистим шаром, можливо, для того, щоб допомогти повітряним гіфам розірвати поверхневий натяг повітряних кишень у ґрунті, тоді як живильні гіфи мають гладку гідрофільну поверхню [18].

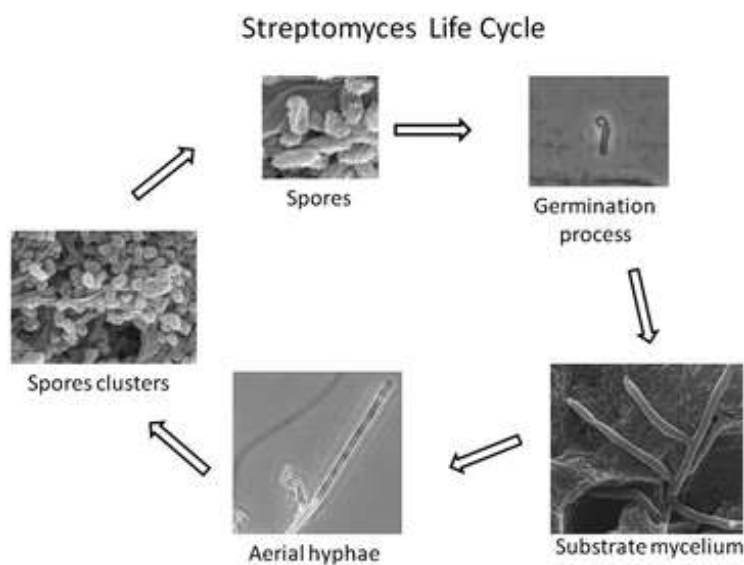


Рис. 1.1.1. Життєвий цикл стрептоміцетів [18].

Ріст *Streptomyces* включає розширення кінчика гіфи та субапікальне розгалуження. На відміну від процесу у паличкоподібних бактерій, де цитокінез базується на побудові поперечної стінки шляхом відкладення муреїну в бічних стінках, ріст стрептоміцетів відбувається шляхом утворення гіф на клітинному полюсі. Хоча це не є чітко з'ясованим, ця модель росту клітин регулюється

апикальним білковим комплексом *DivIVA*. У *Bacillus subtilis* *DivIVA* взаємодіє з системою *Min* для координації поділу в середині клітини. На відміну від них, у стрептоміцетів *Min*-система відсутня, тому *DivIVA* впливає на поділ на кінчику клітини. Інший аспект росту стрептоміцетів пов'язаний з консервацією двох груп білків, гомолога тубуліну *FtsZ* і декількох мембранних білків, які пов'язані з цитокінетичним *Z*-кільцем і септальним пептидогліканом (рис. 1.1.2) [18].

Остання фаза життєвого циклу *Streptomyces* складається з апикальних клітин повітряних гіф, що диференціюються в ланцюжок спор. Диференційований апикальний компартмент росте шляхом розширення кінчика і починає синхронний множинний поділ клітин до контрольованої у розвитку форми [18]. Знову ж таки, це відбувається за участі *FtsZ*, що призводить до утворення споруючих перегородок, а потім ці преспори збирають товсті стінки спори шляхом відкладення актину. Розмір спор *Streptomyces* може коливатися від 0,7 до 1,2 мкм. Останні дві фази життєвого циклу стрептоміцетів тісно пов'язані з продукуванням антибіотиків. Під час запрограмованої загибелі клітин міцелію-субстрату одночасно виробляються антибіотики, можливо, для захисту джерел поживних речовин від мікроорганізмів-конкурентів [18].

Серед 23 000 біологічно активних вторинних метаболітів, що продукуються мікроорганізмами, дві третини виробляються актинобактеріями, причому на *Streptomyces* spp. припадає понад 70 % з них. Таке утворення вторинних метаболітів пов'язують з розвитком повітряних гіф внаслідок обмеження поживних речовин. Біологічна активність цих сполук включає інгібіторну або мікробіцидну активність проти мікроорганізмів (наприклад, антибіотики), токсичність проти метазоан, мікробну гормоноподібну активність і транспорт металів. Доведено, що вторинні метаболіти, які продукуються стрептоміцетами, підвищують адаптацію до біологічних, фізичних і хімічних стресів, тому їх називають "метаболітами стресу" [18].

Структурні дослідження геному показують, що більшість генів, які беруть участь у регуляції шляхів утворення вторинних метаболітів, розташовані кластерами. Ці кластери можуть кодувати високофосфорильований

гуанозиновий нуклеотид (p)ppGpp та деякі регуляторні білки, що беруть участь у виробництві вторинних метаболітів. У видів *Streptomyces*, що перебувають в умовах аліментарного стресу, алармон ppGpp відіграє роль регулятора продукування антибіотиків. Члени сімейств регуляторних білків SARP і LAL, як видається, приурочені до актинобактерій, переважно роду *Streptomyces*, і демонструють видоспецифічний контроль над вторинними шляхами метаболізму. Комунікація між клітинами є визначальним фактором для модуляції виробництва антибіотиків, а  $\gamma$ -бутиролактони (GBL) є основними міжклітинними сигнальними сполуками [18].

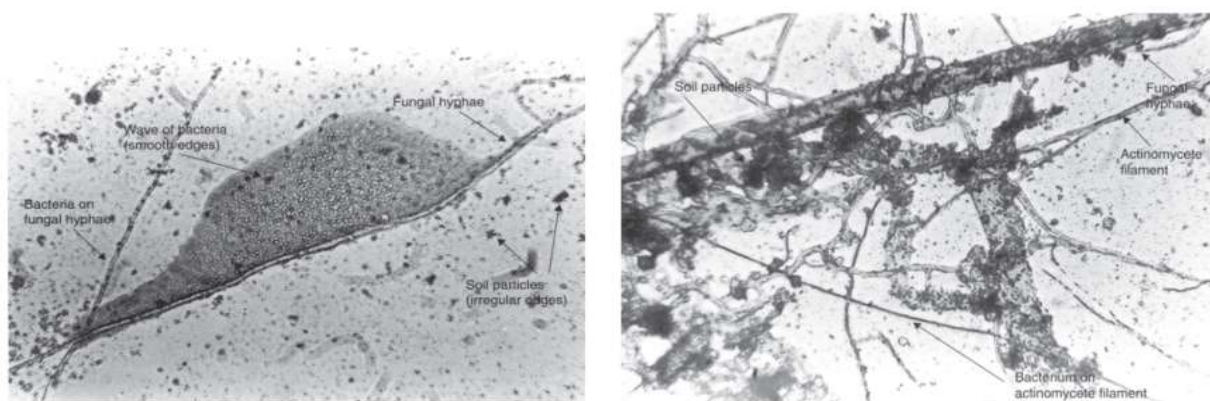


Рис. 1.1.2 Порівняння морфології ґрунтових бактерій, актиноміцетів та грибів [19].

Загальні екофізіологічні риси роду *Streptomyces* підтримують концепцію космополітичної біогеографічної поведінки. Ці риси включають здатність утворювати спори за несприятливих абіотичних умов, конкурентну здатність, пов'язану з виробництвом антибіотиків, широкий діапазон рН, сприятливий для росту, і широкий діапазон рН, оптимальний для росту різних видів *Streptomyces* (наприклад, рН 4,3 для ацидофільного *S. yeochonensis*, рН 7,0 для нейтрофільного *S. roseus* і рН 10 для алкаліфільного *S. alkalithermotolerans* [18]). Стрептоміцети, як правило, є хемоорганотрофами з великою універсальністю для метаболізму широкого спектру джерел вуглецю, включаючи моно- і дисахариди, поліоли, органічні кислоти (глюкозу, декстрозу, фруктозу, лактозу, мальтозу, маніт, рамнозу, сахарозу, гліцерин і гліколеву кислоту), полісахариди

(в тому числі целюлозу і крохмаль), а також більш складні і важкодоступні джерела вуглецю (наприклад, гумінові і фульвокислоти) [18].

Представники роду *Streptomyces* добре відомі як бактерії, що мешкають у ґрунті. Проте вони широко поширені як у водному, так і в наземному середовищі. Таке космополітичне поширення стрептоміцетів можна пояснити тим, що вони утворюють спори, які легко поширюються і, таким чином, можуть пояснити їх присутність у різних середовищах. Деякі представники роду *Streptomyces* були виділені з різних вегетативних і репродуктивних частин рослин, таких як коріння, бульби, стебла, листя і насіння. Існує багато питань щодо екологічного та фізіологічного значення цієї взаємодії, які потенційно можуть бути використані для успішного практичного застосування, пов'язаного зі стимуляцією росту та захистом рослин [18].

## 1.2. Саліноміцин: структура, властивості, застосування

Саліноміцин - це поліетерний іонофорний антибіотик, що походить від *Streptomyces albus*. Він має значну біологічну активність, зокрема, протимікробні та протипухлинні властивості, що робить його важливою сполукою в наукових та клінічних дослідженнях. Саліноміцин характеризується поліетерною структурою, що дозволяє йому функціонувати як іонофор, полегшуючи транспорт іонів через біологічні мембрани. Ця властивість порушує градієнти іонів, зокрема калію, що призводить до загибелі клітин, впливаючи на осморегуляцію. Завдяки своєму механізму перенесення іонів, він застосовується як антикокцидний засіб у ветеринарії, особливо для боротьби з інфекціями, спричиненими *Eimeria* у домашньої птиці.

Саліноміцин інтенсивно вивчається на предмет його потенціалу впливу на ракові стовбурові клітини. У кількох дослідженнях він продемонстрував вищу ефективність проти ракових стовбурових клітин порівняно з традиційними хіміотерапевтичними препаратами, такими як таксол. Здатність індукувати апоптоз, аутофагію та некроз робить його перспективним

кандидатом для терапії агресивних видів раку, включаючи рак молочної залози та інші пухлини. Окрім протиракових досліджень, похідні саліноміцину також виявляють антибактеріальну активність, в тому числі проти стійких до антибіотиків штамів *Mycobacterium tuberculosis*. Подальші дослідження похідних саліноміцину тривають з метою підвищення його ефективності та зменшення потенційних токсичних побічних ефектів. Ці дослідження також спрямовані на покращення розуміння взаємозв'язку між структурою та активністю, що має вирішальне значення для розробки більш селективних протиракових або антимікробних сполук.

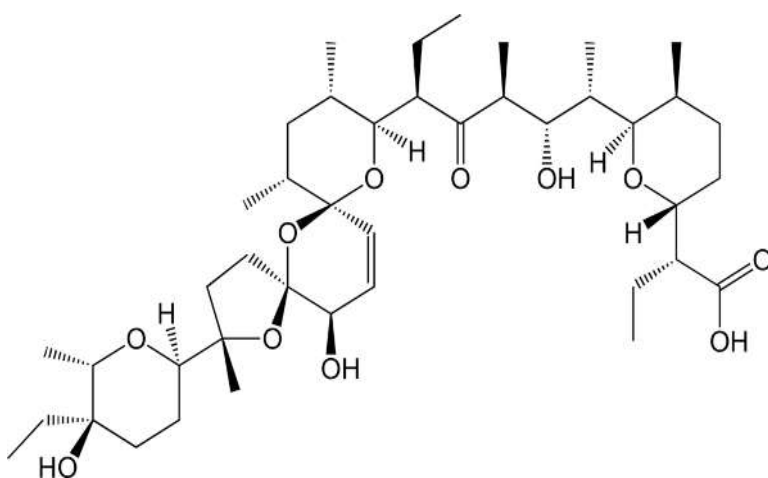


Рис. 1.2.1. Структура саліноміцину [20].

Після відкриття саліноміцину як кілера для знищення ЦСК, фармакологічні ефекти саліноміцину були протестовані на декількох моделях клітинних ліній *in vitro* та *in vivo*. Наприклад, Донг (Dong) та ін. використовували CD<sub>133+</sub>, як маркер ракових стовбурових клітин при багатьох типах раку, щоб продемонструвати, що CD<sub>133+</sub> колоректальні ракові стовбурові клітини чутливі до лікування саліноміцином, але не до традиційного протиракового препарату оксаліплатину, щодо клітинної проліферації, утворення колоній, клітинної міграції та вторгнення. Спостережувані ефекти супроводжувалися посиленням регуляції експресії епітеліального клітинного маркера E-кадгерину та пригніченням експресії мезенхімального клітинного маркера віментину, що додатково свідчить про інгібуючий вплив саліноміцину

[21]. Мезенхімальні субпопуляції в плоскоклітинних карциномах демонструють резистентність до традиційної цитотоксичної терапії, але не до саліноміцину *in vitro* та *in vivo* [22]. Клітини Kitlow CD44+CD34- в стромальних пухлинах шлунково-кишкового тракту (GIST) є клоногенними клітинами зі здатністю до самооновлення та диференціювання. Саліноміцин блокує проліферацію KitlowCD<sub>44+</sub>-CD<sub>34-</sub> клітин і підвищує їх чутливість до іматинібу у мишей [23].

Відомо, що стовбурові клітини лейкемії людини, подібні до клітин KG-1a, виявляють стійкість до хімотерапевтичних препаратів через експресію функціональних транспортерів, таких як Р-глікопротеїн, білок резистентності до раку молочної залози та MRP8, які здатні збільшувати відтік лікарських засобів. На відміну від традиційних хімотерапевтичних препаратів, таких як етопозид і доксорубінцин, саліноміцин здатний долати мультирезистентність, опосередковану ABC-транспортером, та резистентність до апоптозу [24]. Саліноміцин як інгібітор Р-глікопротеїну пригнічує ріст клітинних ліній раку з надмірною експресією Р-глікопротеїну та опосередкований Р-глікопротеїном відтік лікарських препаратів [25].

Селективний цитотоксичний ефект саліноміцину на пухлинні стовбурові клітини також був виявлений при остеосаркомі *in vitro* та *in vivo*. Саліноміцин також сенсibiliзує ці ракові стовбурові клітини до традиційних хімотерапевтичних препаратів, включаючи метотрексат, адриаміцин і цисплатин [26]. Зовсім недавно саліноміцин продемонстрував глибоку цитотоксичність щодо стовбурових клітин раку шлунка, що експресують високу альдегіддегідрогеназу, з активністю, що перевершує 5-фторурацил і цисплатин [27]. Комбінаторна ефективність трастузумабу і саліноміцину у боротьбі з *HER2*-позитивними раковими клітинами і раковими стовбуровими клітинами була підтверджена посиленою загибеллю клітин, що підтверджується утворенням маммосом [28, 29].

Саліноміцин спочатку застосовувався як антибактеріальний та антикокцидний препарат, який комерційно використовується як кокцидіостат у птахівництві [9, 30]. Кілька досліджень також показали, що саліноміцин може

бути привабливим препаратом для боротьби з вірусами, наприклад, нещодавно його перепрофілювали як потенційний засіб проти тяжкого гострого респіраторного синдрому, спричиненого коронавірусом 2 (SARS-CoV-2) [31]. Механізм дії саліноміцину як протимікробного засобу, ймовірно, пов'язаний з його іонофорною природою [32-34]. Однак, на той час клітинна функціональна мішень зв'язування саліноміцину була невідома. Крім того, з того часу були опубліковані спроби максимізувати ефективність препарату за допомогою системи доставки на основі наноносіїв. Хімічні модифікації, які допоможуть розкрити функцію саліноміцину або підвищити його ефективність, також перебувають на стадії розробки.

### **1.3. Синтез та накопичення вторинних метаболітів у актиноміцетів роду *Streptomyces***

Рід *Streptomyces* включає спороутворюючі, нитчасті та грампозитивні бактерії з філуму Actinobacteria [35, 36], що мешкають у різних середовищах, таких як екстремальні умови та малодосліджені біотопи, наземні та морські регіони, симбіонти, ендofіти, мангрові зарості тощо. Вивчено понад 850 видів стрептоміцетів [37, 38]. За оцінками, грам ґрунту містить  $10^9$  колонієутворюючих одиниць (КУО) бактерій, з них  $10^7$  КУО актинобактерій [39]. *Streptomyces* sp. можуть утворювати розгалужений субстратний та повітряний міцелій [40] і мають складні морфологічні характеристики зі складним багатоклітинним розвитком, починаючи від проростання гіф зі спор і закінчуючи утворенням септ з ланцюжком одноядерних спор.

Стрептоміцети мають надзвичайно високий G+C% (>70%) та лінійні, помірно великі геноми (8-10 Мб), що вважається особливістю серед бактерій. Стрептоміцети мають кілька біосинтетичних генних кластерів на кожному геномі, які є джерелом численних біологічно активних сполук, що мають медичне або сільськогосподарське застосування [41, 42].

Стійкість до протимікробних препаратів одна з найсерйозніших проблем охорони здоров'я, спричинена стійкими патогенними бактеріями, а також грибками, вірусами та паразитами [43]. Щороку вона призводить до смерті 17 мільйонів людей у всьому світі, а також величезної кількості дітей та людей похилого віку [44]. Мультирезистентні бактерії, відомі як "супербактерії", ще більше погіршують ситуацію. За останні кілька десятиліть поява бактерій з множинною стійкістю до ліків катастрофічно зростає. Найпоширенішими резистентними бактеріями є кишкова паличка, стійка до цефалоспоринової та фторхінолонової, *Klebsiella pneumoniae* - до цефалоспоринової та карбапенемів, *Staphylococcus aureus* - до метициліну та ванкоміцину, *Neisseria gonorrhoeae* - до цефалоспоринової, нетифозна сальмонела - до фторхінолонової та бета-лактамаз розширеного спектру дії, *Streptococcus pneumoniae* - до пеніциліну, види шигел - до фторхінолонової, а *Mycobacterium tuberculosis* - до рифампіцину, ізоніазиду, фторхінолонової та ентеробактерій, що виробляють карбапенемазу. Основною причиною нещодавнього зростання антибіотикорезистентності є невибіркове та нераціональне використання антибіотиків та часте самолікування. Виникнення і поширення механізмів резистентності серед бактерій відбувається швидше, ніж відкриття і розробка нових антибіотиків.

Крім того, нові ліки очікують на деякі небезпечні для життя захворювання, які спричиняють тяжкі випадки смерті в усьому світі, зокрема рак, який є основною причиною смерті в більшості країн [45, 46], і хвороба Альцгеймера, від якої досі не винайдено ефективних ліків і яка спричинила деменцію у 13,2 мільйона пацієнтів у Китаї до 2019 року, а до 2050 року сягне 150 мільйонів у всьому світі. За останні 30-40 років у людей з'явилися нові інфекційні захворювання, в тому числі ВІЛ, атипова пневмонія та вірус Зіка. Протягом останніх двох з половиною років SARS-CoV-2 спричиняє серйозні проблеми для здоров'я людей у вигляді пандемії в усьому світі. Специфічні та ефективні препарати для лікування цих нових захворювань ще тільки розробляються (National Institutes of Health, 2007). Агрохімічна галузь також очікує на появу препаратів нового покоління, хоча широко застосовуються

обмежені типи агрохімікатів, зокрема авемектин або спіносад і сполуки, похідні гліфосату.

На додаток до можливості комбінування невдалих препаратів з іншими сполуками, які відновлюють бажані ефекти [47], скринінг нових природних продуктів, особливо зі стрептоміцетів, пропонує життєздатну альтернативу і можливість підвищити ефективність лікування цих захворювань, що є надзвичайно важливим рішенням для зменшення цього жахливого результату.

Види стрептоміцетів розглядаються як сховище різноманітних природних продуктів [3, 48-50] завдяки їхньому потужному та складному вторинному метаболізму [51]. Стрептоміцети продукують близько 100 000 антибіотичних сполук, на які припадає 70-80% усіх природних біологічно активних продуктів фармакологічного та агрохімічного застосування [52].

Стрептоміцети продукують різноманітні природні продукти з високою структурною різноманітністю, включаючи макроліди, тетрацикліни, аміноглікозиди, глікопептиди, ансаміцини та терпени. Наприклад, *Streptomyces hygroscopicus* виділяє близько 180 метаболітів з широким спектром біологічної активності.

Біологічно активні природні продукти, отримані зі стрептоміцетів, мають здатність функціонувати як антимікробні, противірусні, цитотоксичні, протипухлинні, антигіпертензивні, імуносупресивні, інсектицидні, антиоксидантні, стимулятори росту рослин та гербіцидні агенти [53-56]. Отже, виявлені метаболіти можна розділити на чотири класи: 1) сполуки з регуляторною активністю - морфогенні агенти, сидерофори та фактори росту; 2) антипротозойні, антибактеріальні, протигрибкові та противірусні засоби - антагоністичні агенти; 3) інсектициди, пестициди та гербіциди - агробіологічні агенти; 4) неврологічні агенти, імуномодулятори, протипухлинні агенти та інгібітори ферментів - фармакологічні препарати.

Стрептоміцети виробляють ці сполуки як вторинні метаболіти під час стаціонарної фази, які не обов'язково потрібні для їхнього розвитку чи розмноження, але можуть забезпечити конкурентну перевагу організмам. Деякі

з цих метаболітів допомагають репродуктивним бактеріальним клітинам, вилучаючи такі метали, як залізо (сидерофори), захищаючи їх від ультрафіолету (через пігментацію), обмежуючи конкуренцію (антибіотики), дозволяючи їм спілкуватися з іншими видами, опосередковувати важливі взаємодії мікроорганізм-хазяїн і мікроорганізм- мікроорганізм у кишечнику ссавців, а також регулювати біосинтетичні шляхи [57, 58]. Крім того, вони відіграють життєво важливу роль у біодеградації ґрунту та утворенні гумусу, а також продукують численні леткі речовини, такі як геосмін, який відповідає за особливість "запаху мокрої землі".

Антибіотики - найцінніша продукція стрептоміцетів. Актиноміцети виробляють дві третини всіх мікробних антибіотиків, причому приблизно 80% з них походять з роду *Streptomyces*, які добре відомі завдяки своєму терапевтичному та сільськогосподарському використанню. Найпоширеніші антибіотики походять від стрептоміцину, вперше отриманого з ґрунтових ізолятів, до добре відомого даптоміцину (рис. 1.3.1), схваленого у 2003 році Управлінням з контролю за продуктами і ліками США [59]. Наземні, морські та естуарійні середовища є нішами для зберігання антимікробних препаратів для стрептоміцетів. Майже половина виділених видів стрептоміцетів були ідентифіковані як продуценти антибіотиків.

Деякі популярні антибіотики, наприклад, цефаміцин, хлорамфенікол, тетрациклін, канаміцин, спектиноміцин, монензин і мітоміцин С були отримані від видів *S. clavuligerus*, *S. venezuelae*, *S. aureofaciens*, *S. kanamyceticus*, *S. spectabilis*, *S. cinnamomensis* і *S. lavendulae* відповідно [61]. *S. griseus*, *S. avermitilis* та *S. cattleya* продукують стрептоміцин, поліпептид авермектин та фторметаболіти відповідно [42]. Крім того, існують також деякі інші види стрептоміцетів, які можуть продукувати велику кількість антибіотиків. Новий штам *S. parvulus* MARS-17, знайдений у ґрунті, виділяє актиноміцин D [62]. н-Бутанольні екстракти штаму АСТК2 *S. flavogriseus* мають широкий спектр антимікробної активності. Штам *S. cheonanensis* VUK-A секретує дві біологічно

активні сполуки 2-метилбутилпропілфталат і діетилфталат, які мають широкий спектр антимікробної активності [63].

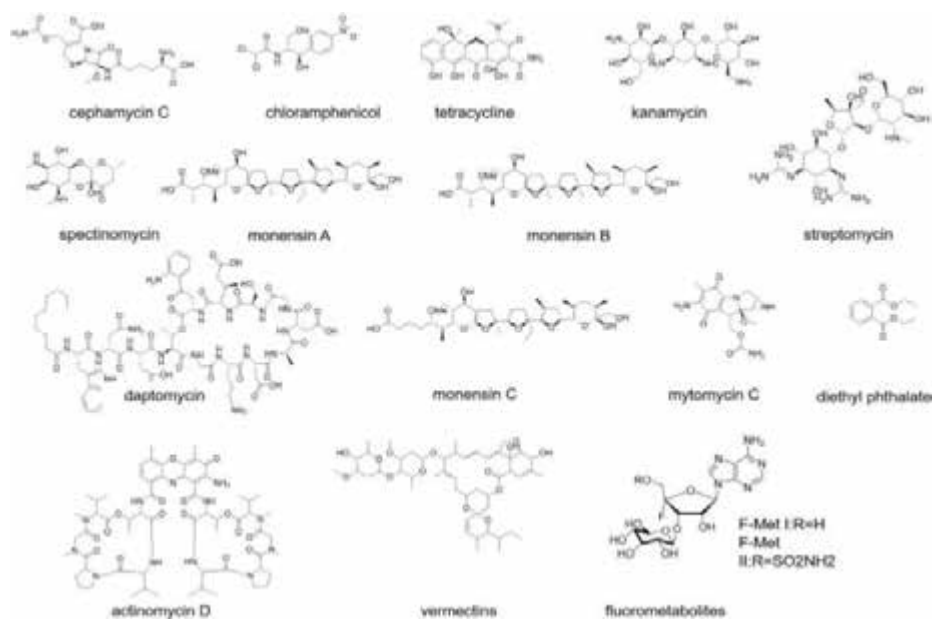


Рис. 1.3.1. Антибіотики від *Streptomyces* [60].

Сьогодні кілька видів *Streptomyces* є джерелом як медичних, так і комерційних антибіотиків, і вони чудово себе зарекомендували в обох контекстах. Багато антибіотиків було накопичено в одному виді *Streptomyces* (наприклад, *S. griseus* і *S. hygroscopicus*), а також одні й ті ж антибіотики виробляються з різних видів *Streptomyces* (наприклад, стрептотрицин і актиноміцин). Антибіотики зазвичай групуються на основі механізму дії, хімічної структури або спектру активності. Антибіотики, отримані зі стрептоміцетів, класифікуються відповідно до їх основних структурних класів. Основними типами антибіотиків, що виробляються стрептоміцетами, є аміноглікозиди (такі як гентаміцин, стрептоміцин, тобраміцин, неоміцин і канаміцин), антрацикліни (доксорубіцин), глікопептиди, β-лактами (монобактами, цефалоспорини та карбапенеми), макроліди (кларитроміцин, еритроміцин та азитроміцин), ансаміцини (рифаміцин), нуклеозиди, пептиди, поліени, поліестери та тетрацикліни.

Більшість біологічно активних сполук було виділено зі звичайних наземних середовищ. Стрептоміцети, виділені з екстремальних умов, також

здатні продукувати антибактеріальні продукти, зокрема, алкалоїди, ангуцикліни, макроліди та пептиди [64]. Деякі штами природних секреторів біологічно активних антибактеріальних метаболітів - *Streptomyces* sp. RAUACT-1, *S. arenicola*, *S. griseus*, *S. nodosus*, *S. lincolnensis*, *S. pacifica* та *S. pristinaespiralis* секретують 1,4-дигідрокси-2-(3-гідроксибутил)-9,10-антрахінон, антрацен 9,10 антрацен, ареніміцин, фригоциклінон, лайоламіцин, лінкоміцин, мітоміцин С, пасифіканони А і В, пристінаміцин і рапаміцин відповідно. Стрептоміцети виділяють бісантрахінон, карбоміцин, глаціапіроли та тирандаміцини, які також проявляють антибактеріальну активність [39]. Нещодавно термофільний *Streptomyces werraensis* МІ S.24 3 має як антибактеріальні, так і цитотоксичні властивості [65].

Виробництво унікальних полікетидів та фенольних сполук *Streptomyces lanatus* AR2 з помітною біологічною активністю дозволило організму адаптуватися до суворих умов, таких як солоні водно-болотні угіддя, отримуючи корисні природні продукти з біотехнологічним, фармацевтичним та медичним застосуванням [66]. Морські стрептоміцети вважаються найбільшим і найвидатнішим сховищем незліченної кількості природних продуктів та антибіотиків. Морські стрептоміцети зустрічаються в різних об'єктах аквакультури, таких як морські водорості, молюски, риби, губки, мангрові зарості, морська вода та донні відкладення [67].

Піперазиміцин А-С, алофікоціанін, нокардамін, салінамід А і В, 8-аміно-[1,4] діазонан-2, 5-діон і лейцил-4-гідроксипролін - деякі з поліпептидних антибіотиків морського походження, виділені зі штамів *Streptomyces* КММ7210, *Streptomyces* M097, *Streptomyces* sp. (з неідентифікованої морської губки), *Streptomyces* sp. CNB-091 та *S. acrimycini*, відповідно [67].

*Streptomyces* sp. 6921 з морських відкладів Маврикію секретує С-глікозиди гемаломіцини, антрахінони, фридаміцин Е та хромофор, які мають сильну антибактеріальну активність [68]. *S. corchorusii* AUBN секретує тетраценоміцин D, який має цитотоксичну активність [69]. Комодохінони А, В, антрациклінові антибіотики, виробляються з ферментаційного бульйону

*Streptomyces* sp. KS3, що виявляють нейрогенну активність. *Streptomyces* sp. NPS008187 продукує піролюксвітерпени та гліціапіроли А, що мають сильну антибактеріальну активність [70]. Продукт стрептофеназинів з морського *Streptomyces* sp. 182SMLY діє проти метицилін-резистентного *S. aureus* [71].

Новий аналог тетрацикліну SBR-22, полікетид, виділений з *S. psammoticus*, виявляє антибактеріальну активність проти метицилін-резистентного *S. aureus* [72]. Тріоксакарцин А, В і С проявляють антиплазмодійну активність, і ці продукти секретуються *S. ochraceus* і *S. bottropensis* [67]. Стрептохлорин зі штаму *Streptomyces* 04DH110 має антипроліферативну активність [73]. Штам *Streptomyces olivaceus*, виділений з мангрових заростей у Макао, Китай, було піддано повногеномному секвенуванню та МС/МС аналізу для визначення потенціалу штаму продукувати вторинні метаболіти. Згідно з отриманими даними, геном *S. olivaceus* налічував 105 генних кластерів, а аналіз геному дозволив передбачити наявність 53 відомих вторинних метаболітів. Було виявлено 28 вторинних метаболітів, які були класифіковані як антибіотики і отримані з *S. olivaceus*, однак жоден з них не був виявлений раніше [74].

Утворення біоплівки вважається одним з критичних факторів, що визначають токсичність деяких патогенних бактерій, включаючи метицилін-резистентного *S. aureus*. Численні антибіотики, отримані зі стрептоміцетів, або їхні похідні були використані для дослідження антибіоплівкової активності у метицилін-резистентного *S. aureus*. Загалом три антибіотики, а саме: рифампін, даптоміцин і тигециклін, використовувалися для лікування стафілококових біоплівкових інфекцій, пов'язаних з пристроями, таких як антимікробна блокуюча терапія. Даптоміцин, тигециклін і рифампін продемонстрували кращу антибіоплівкову активність проти зрілих біоплівок, тоді як ванкоміцин не зміг усунути старі біоплівки в модельних експериментах [75]. Міноциклін також виявився ефективнішим порівняно з ванкоміцином у пригніченні утворення біоплівок та усуненні зрілих біоплівок у іса-позитивних та іса-негативних MRSA [76].

Деякі нещодавно відкриті біологічно активні сполуки з видів *Streptomyces* показали перспективну антибіоплівкову активність метицилін-резистентного *S. aureus* (на мікромольному рівні), включаючи антибіотик 5812-A/C, стрепторубін В [77], альнуміцин D, гранатицин В, калафунгін, медерміцин [78], коліміцин С, напірадіоміцин SF2415B3 [79], гігроцин С [80], 8-О-метилтетрагоміцин [81], пангліміцин D [82] та АТ37-1 [83].

Відродження грибкової інфекції є кризою громадського здоров'я. Вторинні метаболіти, що продукуються актинобактеріями, зокрема представниками роду *Streptomyces*, мають широкий спектр біологічної активності, включаючи протигрибкові сполуки [84]. *Streptomyces* sp. ICBG292, продукує пірицидин-А1 та нігеріцин, які пригнічують ріст грибкового патогену *Escovopsis*, а також запобігають зараженню *Leishmania donovani*, патогеном людини [85]. В іншому дослідженні було виявлено, що патогенний гриб *Rhizoctonia solani* AG-4, який погіршує стан листя капусти, можна лікувати за допомогою штаму *S. padanus* PMS-702. Відповідальною сполукою за пригнічення гриба є полієновий макролід фунгіхромін, який має сильну протигрибкову активність [72].

Нова молекула, названа цифоміцином, має протигрибкову активність проти мультирезистентних грибкових патогенів [85]. Стрептоміцети в симбіозі з південним сосновим короїдом (*Dendroctonus frontalis*) виділяють вторинні метаболіти мікангіміцин, фронталамід А та фронталамід В. Фронталамід має протигрибкову активність, а мікангіміцин - проти росту гриба-антагоніста *Ophiostoma minus* [85]. Стрептохлорин і наталаміцин, отримані зі стрептоміцетів, також мають протигрибкову активність [85]. Крім того, *S. nodosus*, *S. aureofaciens*, *S. griseus*, *S. noursei*, *S. aureus* та *S. diastachromogenes* виділяють протигрибкові сполуки, названі амфотерицином, ауреофацином, кандицидином, ністатином, олігоміцином та актиноміцином D відповідно [61]. Ще однією протигрибковою сполукою стрептоміцетів є дар'ямід [86]. Штам *Streptomyces*, ідентифікований з ризосферних ґрунтів, виділяє чотири протигрибкові сполуки, а саме: актиноміцин, фунгіхромін, тайландин В та

протигрибковий міцин [87]. В одному з досліджень було показано, що *S. halstedii* K122 виявляє протигрибкові сполуки бафіломіцин B1 і C1, які пригнічують ріст грибів *Penicillium roqueforti*, *Aspergillus fumigatus*, *Paecilomyces variotii* і *Mucor hiemalis* [88]. В іншому дослідженні протигрибковий білок 1 (*Afp1*) з *S. tendae* використовується для обмеження росту грибів [89].

Virantmycin B (1), виділені з *Streptomyces* sp. AM-2504, показали активність проти вірусу денге [91]. Біологічно активна хімічна речовина ксіаміцин D, виділена з культури *Streptomyces* sp. (#HK18), мала найсильніший інгібуючий вплив на проліферацію вірусу ПЕДВ [92]. 9(10H)-акриданон, вторинний метаболіт, виділений зі штаму *S. fradiae* VITMK2, може інгібувати вірус синдрому білих плям [92].

Дихлорметанові екстракти *Streptomyces* sp. продемонстрували широку та потужну противірусну активність проти різних вірусів грипу, включаючи підтипи H1N1 та H3N2, а також вірус грипу B [93]. *Streptomyces* sp. SMU03 продукує противірусний бутанолід [(4S)-4-гідрокси-10-метил-11-оксо-додек-2-ен-1,4-олід], який має широку та сильну активність проти вірусів грипу, включаючи підтипи H1N1 та H3N2, та вірусу грипу B [94].

Існують тисячі природних речовин, які впливають на активність імунних клітин або секрецію антитіл для боротьби з інфекцією та підтримки імунологічного гомеостазу і, таким чином, регулюють роботу імунної системи [95]. Вторинні метаболіти бактерій *Streptomyces* мають широкий спектр імуномодулюючої активності і зробили значний внесок в імуномодулюючу терапію. Вторинні метаболіти *S. calvus* виявилися ефективними імуномодуляторами в мононуклеарних клітинах периферичної крові людини [96]. Короткі полікетиди, що продукуються деякими стрептоміцетами та спорідненими бактеріями, які мають сильні протизапальні та проапоптичні властивості, відомі як сполуки мануміцинового типу [97].

Імунодепресанти використовуються для запобігання відторгненню пересаджених тканин і органів, а також для лікування аутоімунних

захворювань [98]. Антипроліферативні/імуносупресивні хімічні речовини, що виробляються бактеріями *Streptomyces* (наприклад, рапаміцин і такролімус), відіграють важливу роль у резистентності деяких видів раку слизових оболонок (наприклад, раку товстої кишки) та гігієнічній гіпотезі [99]. Такролімус був виявлений як потужний імунодепресант у штамі *Streptomyces tsukubaensis* 9993T, який вперше був використаний в Японії в 1993 році для зменшення відторгнення трансплантата після трансплантації печінки [100]. Різні таксономічно різні штами *Streptomyces*, зокрема *S. tacrolimus* ATCC 55098T, були ідентифіковані як продуценти такролімусу [101].

*Streptomyces* sp. СК4412 синтезує активовану Т-клітинну імуносупресивну хімічну речовину під назвою таутоміцетин [102], що має механічно чітку імуносупресивну дію, яка в 100 разів перевищувала дію циклоспорину А [103]. Таутоміцетин значно пригнічує розмноження, міграцію та інвазію клітин раку молочної залози, що дозволяє припустити, що його можна використовувати як можливу терапевтичну альтернативу для лікування раку молочної залози [104]. Рапаміцин і такролімус є антипроліферативними/імуносупресивними препаратами, виявленими у *Streptomyces*. *Streptomyces* sp. RAI20 продукує інданостатин, нейропротекторну сполуку проти токсичності глутамату [105].

Рак все ще залишається страшною хворобою, яка щороку забирає мільйони життів. Стрептоміцети також продукують деякі відомі протиракові препарати, такі як доксорубіцин і блеоміцин [106]. Дослідження, проведене в мангрових лісах Малайзії, показало наявність у стрептоміцетів малайзійських фенольних сполук та піролопіразину, що мають протиракову активність [107]. *Streptomyces* sp. 211726 та *Streptomyces* sp. QD518, виділених з ґрунту, також виявляє протиракові сполуки, включаючи сім аналогів азаломіцину F та макроциклічні лактони [108, 109].

#### 1.4. Методи культивування актиноміцетів у промислових умовах

Хоча актиноміцети, разом з нитчастими грибами, є найбільш продуктивними продуцентами біологічно активних метаболітів, а проблема повторного відкриття стала перешкодою для всіх скринінгових програм, аналіз послідовностей геномів найбільш важливих продуцентів актиноміцетів показав, що значна частина їхніх геномів все ще залишається невивченою, і що увімкнення "тихих шляхів" може виявити виробництво нових молекул [110]. Інші дослідження, проведені на великій колекції еталонних штамів, показали, що майже всі лінії актиноміцетів містять біосинтетичну інформацію і повинні мати потенціал для продукування біологічно активних сполук [111]. Традиційно продукування більшості відомих сполук ініціювалося лише емпіричними змінами параметрів культивування та обмеженою кількістю стресових умов (склад середовища, реологія, аерація). Насправді, використання обмеженої кількості трьох-чотирьох умов одночасно вважалося достатнім для отримання нових вторинних метаболітів [112].

Сьогодні, незважаючи на численні повногеномні дослідження, що підтверджують наявність цього величезного біосинтетичного потенціалу, в багатьох випадках виявленого лише у вигляді загадкових шляхів, ми все ще не знаємо харчових потреб і фізіології більшості досліджених груп штамів, а також ключових елементів, що беруть участь у регуляції виробництва їхніх вторинних метаболітів. Крім того, багато з цих шляхів, коли вони увімкнені, ймовірно, демонструють лише залишкову експресію, а отже, продукують нові молекули, рівень яких значно нижчий за наші аналітичні межі виявлення. Підхід "один штам - багато видів діяльності" спрямований на часткове використання цього мікробного біосинтетичного потенціалу шляхом маніпулювання умовами виробництва штамів [113]. Використання високопродуктивних мініатюрних форматів для культивування бактерій раніше досліджувалося іншими групами [114], але високопродуктивне культивування бактерій, запропоноване System Duetz, дозволило проводити ферментацію в

об'ємах до 750 мкл у 96-лункових планшетах, які пізніше були легко інтегровані у високоавтоматизовані платформи для екстракції та скринінгу.

Ця технологія була застосована для вивчення та розробки нових виробничих умов для основних таксономічних груп актиноміцетів (*Streptomyces*, *Micromonosporaceae*, *Streptosporangiaceae*, *Pseudonocardiaceae*, *Nocardiaceae* та *Thermomonosporaceae*) відповідно до їх наземного або морського походження, екологічних стресів або поживних речовин. У той час як оригінальні мікропланшети, описані в літературі, були протестовані лише з обмеженою кількістю таксонів, ми не виявили жодних серйозних проблем у культивуванні та оптимізації умов росту для всіх основних таксономічних груп актиноміцетів у широкому спектрі складних і синтетичних рідких середовищ, навіть при тривалих інкубаціях, що тривають до 14 днів, без спостереження за повним випаровуванням. Ця нова можливість паралельного тестування великої кількості поживних умов дала змогу дослідити малі групи ізолятів і зрозуміти їхні потреби в деяких випадках у 20 різних середовищах.

Вони включали різноманітні склади з точки зору джерел вуглецю, неорганічних або комплексних джерел азоту, мікроелементів, буферів і рівнів фосфатів, з відносно низькими витратами часу і ресурсів. Було показано, що в середньому вісім-десять виробничих умов є хорошим балансом між кількістю біологічно активних речовин, отриманих з ферментативних екстрактів, і зусиллями, вкладеними в їх підготовку. Не збільшуючи наші ресурси, нам вдалося в п'ять разів збільшити кількість екстрактів, готових до оцінки антибіотичної активності. Активність проти грампозитивного патогену *Staphylococcus aureus* оцінювалася як зони пригнічення і як репрезентативна міра швидкості виробництва. Поступове збільшення кількості поживних умов призводило до збільшення кількості вироблених антибіотиків у всіх досліджуваних таксономічних групах, досягаючи плато лише після додавання восьмої-десятої умови. В ході скринінгу ми вивчили вплив поступового збільшення кількості досліджуваних умов культивування на антибіотичну активність і підтвердили, що продукування антибактеріальної активності в

традиційному підході з трьома середовищами може бути збільшене у *Streptomyces* на 25% при введенні комбінації з восьми середовищ.

На рисунку 3 показано результати, отримані з двома групами штамів по 400 стрептоміцетів і 480 нестрептоміцетів, відповідно, які культивували в масивах комбінацій з восьми середовищ, оптимізованих спеціально для кожної групи. Додавання більшої кількості поживних середовищ мало більш радикальний вплив на продукування активності так званими нестрептоміцетичними штамми, яка зросла на 32%. Ми підтвердили, після кумулятивного досвіду тижнів ферментації з використанням різних наборів середовищ і штамів, що тільки хороший підбір композицій середовищ може зменшити кількість штамів, активних в різних умовах. Використання восьми умов забезпечило 30% активності стрептоміцетів, отриманої лише на одному середовищі, тоді як у нестрептоміцетів ця цифра досягала 40% активності. Ці та подібні результати мікроферментації нитчастих грибів, що культивуються в різних умовах [115], підтверджують, що правильне маніпулювання умовами середовища може сприяти подальшому розвитку біосинтетичного потенціалу мікроорганізмів [116] і збільшує шанси на виявлення нових молекул з активних екстрактів, відібраних для подальшого дослідження в проектах з хімічної ізоляції.

Другим викликом для такої мініатюризації виробничих умов є масштабування та відтворення антибіотичної активності, виявленої під час мікроферментації, у більших форматах ферментації. Були випробувані різні підходи для імітації у великих об'ємах умов ферментації з перенесенням кисню і силами зсуву, що розвиваються в мікрорунках, включаючи вибір квадратних пляшок для культивування замість колб Ерленмейєра. Застосування рідинної хромато-мас-спектрометрії (РХ-МС) для відстеження загальної маси позитивних іонів як прямої міри виробництва метаболітів було надзвичайно корисним для моніторингу продуктивності штамів у цих різних форматах. Ми помітили, що в більшості досліджених випадків загальний об'єм і геометрія контейнера рідко були лімітуючим фактором у продукуванні антибіотичної

активності, і були отримані дуже хороші кореляції між профілями LC-MS штамів, вирощених у мікролунках, і штамів, вирощених у квадратних пляшках або колбах Ерленмейєра. Ці мікроферментації виявилися надзвичайно корисними для попередньої оцінки великої кількості штамів і поживних умов з метою визначення найкращого середовища для виробництва метаболіту, що становить інтерес. Одним з обмежень цього підходу є невелика кількість екстракту (не більше 0,5 мл), яка може бути отримана в результаті ферментації в мікролунках, що може стати проблемою, якщо для первинного скринінгу та виявлення метаболітів потрібні більші об'єми. Незважаючи на ці обмеження, хороша відтворюваність мікроферментації гарантує, що великомасштабні ресурси для відрощування будуть зосереджені виключно на цікавих зразках.

Культивування тут обмежується невеликою рідинною та твердою ферментацією для вивчення біологічно активних речовин, що виробляються актиноміцетами. Ферментація є надзвичайно важливою процедурою для відкриття нових лікарських засобів. Різні штами потребують різних умов ферментації, включаючи компоненти, концентрацію та рН бульйону, а також час, температуру та аерацію ферментації.

Усі потенційні біологічно активні речовини в штаммах актиноміцетів повинні вироблятися у ферментаційному бульйоні якомога більше. Основні або цільові сполуки, що вивчаються, повинні вироблятися якомога більше. Фон ферментаційного бульйону повинен бути якомога меншим для усунення перешкод від самого бульйону. Для вивчення біологічно активних речовин актиноміцетів можуть бути використані наступні ферментаційні бульйони. Кожен штам слід ферментувати 4-8 бульйонами протягом 4-7 днів, підбираючи оптимальний бульйон і час ферментації.

Процедури твердої ферментації також використовувалися для культивування актиноміцетів іноді на стадії досліджень. Вміст біологічно активних речовин, що виробляються актиноміцетами при твердій ферментації, більший, ніж при рідинній ферментації. Оптимальний компонент твердого середовища для різних актиноміцетів відрізняється один від одного. Слід

підкреслити, що не всі актиноміцети можуть рости в умовах твердої ферментації [117].

### **1.5. Сучасні підходи до оптимізації біотехнологічних процесів виробництва**

Стрептоміцети, грампозитивні міцеліальні бактерії з високим вмістом ГК, демонструють складну морфологічну диференціацію і належать до актинобактерій [118]. Повідомляється, що 61% виявлених на сьогоднішній день біологічно активних речовин, отриманих з мікроорганізмів, виробляються актинобактеріями (переважно *Streptomyces*). Більшість клінічно важливих препаратів, що містять антибіотики та інші біологічно активні речовини, походять від стрептоміцетів. За останні десятиліття вчені досягли значних успіхів у з'ясуванні регуляторних механізмів, пов'язаних з виробництвом антибіотиків у стрептоміцетів. Як правило, виробництво антибіотиків суворо і детально регулюється пірамідальними транскрипційними регуляторними каскадами, що включають сигнальні шляхи, глобальні регулятори, шлях-специфічні регулятори і регуляцію за допомогою зворотного зв'язку. Ці переплетені мережі можуть визначати рівень продукування антибіотиків за певних умов культури [40].

Продукування антибіотиків у стрептоміцетів може бути значною мірою посилене за рахунок перебудови регуляторної мережі. Антибіотики або спеціалізовані метаболіти зазвичай означають те саме для вторинних метаболітів, що виробляються стрептоміцетами. Регуляторні мережі є основними "вузькими місцями", що призводять до надлишкового виробництва цільових антибіотиків. Маніпуляції з регуляторними генами можуть сприяти подоланню цих "вузьких місць", щоб увімкнути експресію генних кластерів для виробництва антибіотиків. Для маніпулювання регуляторними генами застосовуються різні стратегії для досягнення оптимального продукування антибіотиків як у нативних, так і в гетерологічних хазяїв.

Позитивні регулятори (активатори) у стрептоміцетів можуть посилювати біосинтез антибіотиків, тоді як негативні (репресори) пригнічують його. Активатори кластерів генів біосинтезу антибіотиків часто надмірно експресуються для збільшення виходу антибіотиків. Наприклад, регулятори сімейства LAL, такі як *MilR*, *NemR* та *AveR*, надмірно експресуються для збільшення виробництва мілбеміцину, немадектину та авермектину відповідно [115]. Інші випадки включають підвищену продукцію окситетрацикліну через надмірну експресію *otcR* та продукцію такролімусу через надмірну експресію *bulZ* [116]. Однак надлишкова експресія регуляторів може знижувати продукцію антибіотиків, вказуючи на поріг продукції для ефективного посилення.

Регулятори сімейства *TetR* та *LysR*, що діють переважно як репресори, широко розповсюджені в геномах стрептоміцетів. Видалення репресорів родини *TetR* призвело до збільшення виходу антибіотиків, таких як авермектин у *S. avermitilis* та кальциміцин у *S. chartreusis*. Глобальний репресорний білок *WblA*, що впливає на розвиток і синтез антибіотиків, виявляє подібні ефекти; його делеція збільшує продукцію пікроміцину і даптоміцину у різних видів *Streptomyces*. Плейотропний репресорний ген *nsdA* негативно впливає на диференціювання і синтез антибіотиків у *S. coelicolor*. Мутантні штами з делецією *nsdA* показали підвищену продукцію мілбеміцину та натаміцину. Нарешті, делеції рецепторів  $\gamma$ -бутиролактону, як і рецепторів А-фактора *argA*, посилюють дію антибіотиків, таких як стрептоміцин і валаміцин, шляхом зняття репресії на специфічних біосинтетичних шляхах [117].

Гени, що кодують транспортери для секреції антибіотиків, часто розташовані в біосинтетичних генних кластерах і включають АТФ-зв'язуючу касету та транспортери надродини основних фасилітаторів. Ці транспортери допомагають підтримувати стійке виробництво антибіотиків, виводячи токсичні кінцеві продукти. Наприклад, гени-транспортери, такі як *ActA* і *ActB*, сприяють механізму зворотного зв'язку, що сприяє синтезу антибіотиків [119]. Надмірна експресія специфічних транспортерів, таких як *AvtAB* у *S. avermitilis*,

подвоює виробництво авермектину, хоча інші продукти залишаються незмінними [70]. Посилене виробництво антибіотиків також спостерігалось при ко-суперекспресії генів резистентності, пов'язаних з відтоком, таких як *otrA*, *otrB* і *otrC*, що збільшує виробництво окситетрацикліну на 179% у *S. rimosus* [112]. Крім того, транспортери, такі як *GouM*, експортують гугеротин у *S. graminearus*, тоді як надмірна експресія *BotT* у ботроміцинових ВГС призвела до 20-кратного збільшення продукції. Механізми відтоку зменшують самотоксичність та інгібування зворотного зв'язку, як показано на прикладі надмірної експресії *RifP*, що посилює рифаміцин В в *Amycolatopsis mediterranei*, та надмірної експресії *DrrC*, що збільшує продукцію *DXR* у *S. peucetius* більш ніж у п'ять разів [50]. Таким чином, транспортери відіграють ключову роль у підтримці виходу антибіотиків, регулюючи внутрішньоклітинні концентрації та пом'якшуючи токсичні ефекти.

Класичне покращення штамів за допомогою декількох раундів випадкового мутагенезу є ефективним, але трудомістким. Більш швидка альтернатива - рибосомна інженерія - відбирає мутанти з надлишковою продукцією антибіотиків шляхом введення мутацій, які надають стійкість до лікарських препаратів, наприклад, мутацій стійкості до стрептоміцину в гені *rpsL*. Цей підхід дає вищий відсоток продуктивних мутантів порівняно з випадковим мутагенезом [50]. Мутації в гені *rpsL*, такі як *K88E* і *L90K* у *S. lividans* та *K88R* у *S. albus*, значно підвищили продукування антибіотиків. Інший метод передбачає інактивацію гена *rsmG*, який кодує метилтрансферазу, для подальшого підвищення продукування антибіотиків, як це спостерігається у *S. coelicolor*. Інженерія рибосом була застосована до понад п'ятдесяти штамів *Streptomyces*, довівши свою економічну ефективність та універсальність навіть у штамів без детального генетичного фону [50]. Поєднання перебудови регуляторної мережі з метаболічною інженерією може ще більше оптимізувати виробництво антибіотиків, збалансувавши первинний і вторинний метаболізм.

Секвенування геному стрептоміцетів показало, що кожен геном має генетичний потенціал з 20-40 різними кластерами генів для вторинних

метаболітів. Вони можуть продукувати набагато більше сполук, ніж повідомлялося раніше [50]. Оскільки багато з цих генних кластерів експресуються на низькому рівні в лабораторних умовах, їх називають криптичними генними кластерами. Для активації цих кластерів і відкриття нових молекул було розроблено кілька стратегій. Можливі підходи включають використання сигнальних зондів, рибосомну інженерію, регуляторне розблокування та гетерологічну експресію [50].

Стрептоміцети потенційно можуть продукувати багато вторинних метаболітів, але більшість біосинтетичних генних кластерів залишаються мовчазними або загадковими. Для їх активації були розроблені культурально-залежні методи, такі як підхід "один штам - багато сполук", коли зміна однієї умови вирощування, наприклад, температури або етанолового шоку, може стимулювати вироблення метаболітів. Наприклад, *S. venezuelae* продукує жадоміцин лише після температурного або етанольного шоку, що значно підвищує врожайність [112]. Авторегулятори, такі як  $\gamma$ -бутиролактони, також можуть індукувати продукування антибіотиків. Наприклад, було показано, що гадспорин стимулює вироблення продигініну у *S. lividans* і сприяє синтезу вторинних метаболітів у інших штамів *Streptomyces* [50]. Хімічні добавки, включаючи рідкоземельні елементи, такі як скандій, також активують ці гени, збільшуючи вихід антибіотиків до 25 разів у таких видів, як *S. coelicolor* і *S. griseus* [112]. Методи спільного культивування забезпечують іншу стратегію, коли комбіновані культури стрептоміцетів з іншими бактеріями, такими як *Tsukamurella pulmonis*, можуть стимулювати вироблення криптичних метаболітів у видів стрептоміцетів за допомогою міжклітинних взаємодій або низькомолекулярної сигналізації [50].

Рибосомна інженерія полягає у модифікації рибосом або РНК-полімераз, які впливають на синтез вторинних метаболітів. Мутації в рибосомних елементах змінюють їх структуру, що впливає на синтез білків і стимулює вторинний метаболізм. Метод базується на скринінгу штамів із мутаціями, що дають стійкість до антибіотиків, і не потребує спеціального обладнання чи

знання генетичного фону штамів. Наприклад, відкриття ізоіндоліноміцину, нового полікетиду з біоактивними властивостями, стало можливим завдяки активації криптичного гена в рифампіцин-резистентних мутантах. Виробництво піперідаміцинів було індуковане у гентаміцин-резистентного мутанта *Streptomyces mauvecolor*. Мутації в рибосомних генах також активують експресію криптичних або слабо виражених БГК у *Streptomyces griseus* [50]. Гетерологічна експресія стала важливим методом для активації цільових кластерів у супер-хостах, що часто включає надекспресію регуляторних генів із застосуванням відповідних промоторів [50].

Статистичні методи, такі як метод поверхні відгуку, показали перспективи в оптимізації умов росту для максимізації виходу метаболітів. Цей метод дозволяє точно налаштувати температуру, рН і джерела поживних речовин, які є важливими для покращення виробництва антибіотиків. Методологія оптимізації ферментаційних умов за допомогою статистичних методів, таких як метод поверхні відгуку (RSM), дозволяє суттєво підвищити продуктивність антагоністичних метаболітів. Застосування RSM дає змогу оцінювати взаємодію між різними параметрами, такими як концентрація вуглецю, азоту, температура та рівень інокуляції, для досягнення максимального біосинтезу метаболітів. Наприклад, оптимальні умови для штаму *Streptomyces sp. 1-14* включають температуру близько 30°C, високий рівень аерації та специфічні джерела живлення, що сприяють підвищенню антибактеріальної активності з 43.8% до 56.1%. Результати таких досліджень підтверджують ефективність застосування антагоністичних мікроорганізмів як біоконтролю для захисту сільськогосподарських культур, зокрема бананів, від фузаріозного в'янення. Це відкриває нові можливості для розробки біопрепаратів, які поєднують екологічну безпеку та високу ефективність [118].

Поєднання оптимізації середовища зі статистичними методами дизайну, такими як Плакетт-Бурман і дизайн Бокса-Бенкена, значно підвищило продуктивність у дослідженнях, присвячених виробництву лінкоміцину *S.*

*lincolnensis*. Регулювання таких компонентів, як рівень фосфору та глюкози, відіграло важливу роль у збільшенні виробництва.

Біологічно активні вторинні метаболіти, такі як антибіотики, імуносупресанти та антимикробні речовини, мають важливе значення для медицини, сільського господарства та ветеринарії. Рід *Streptomyces* відомий своєю здатністю синтезувати різноманітні вторинні метаболіти, зокрема лінкоміцин — представник класу лінкозамідів, який ефективний проти грампозитивних бактерій. Лінкоміцин блокує білковий синтез шляхом інгібування реакції пептидилтрансферази на 50S-субодиниці рибосоми, що робить його популярним антибіотиком у ветеринарній та людській медицині.

У промислових умовах виробництво лінкоміцину може супроводжуватися утворенням побічного продукту — лінкоміцину В, який має значно нижчу антибактеріальну активність і вищу токсичність. Для підвищення виходу лінкоміцину А та зниження рівня лінкоміцину В використовуються оптимізаційні підходи, зокрема статистичні методи оптимізації, такі як Plackett-Burman, метод найшвидшого підйому та Box-Behnken Design (BBD). Ці методи дозволяють покращити ферментаційні параметри, такі як концентрація вуглецю, азоту та осмотичний тиск.

Дослідження показали, що підвищення осмотичного стресу стимулює експресію генів, відповідальних за біосинтез лінкоміцину А, зокрема *lmbU*, *lmbW*, та *mscl*. Наприклад, застосування оптимізованого середовища з високим вмістом глюкози та зниженою концентрацією кукурудзяного екстракту дозволило збільшити вихід лінкоміцину А до 4600 мг/л та зменшити вміст лінкоміцину В до 0.8%.

Важливість генетичного та ферментаційного контролю підкреслюється тим, що ці підходи дозволяють суттєво зменшити потребу у складних процесах очищення, що є ключовим фактором для зниження витрат та підвищення ефективності промислового виробництва [119].

## РОЗДІЛ 2. Матеріали та методи дослідження

### 2.1. Характеристика об'єкту досліджень – штамів актиноміцетів роду *Streptomyces*

Для оптимізації умов культивування з метою максимального виходу саліноміцину було використано штам *S. albus* ZD11, отриманий методом стріп-планшетів від промислового штаму-продуцента саліноміцину CGMCC 4.7658 *S. albus* ZD11  $\Delta$ lip1 ZD11 з розривом lip1; Spr.

### 2.2. Оптимізація складу поживного середовища для культивування *Streptomyces* з метою підвищення виходу саліноміцину

Для визначення оптимального складу поживного середовища для культивування *S. albus* ZD11 було досліджено три типи поживних середовищ солодово-дріжджовий бульйон, гліцеро-аспарагіновий бульйон та бульйон Гаузе (склад поживних середовищ наведено нижче). До поживних середовищ було додано різні джерела карбону (глюкоза, фруктоза, сахароза, мальтоза, галактоза, лактоза, рафіноза) та нітрогену (цистеїн,  $\text{NaNO}_3$ , аспарагін,  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , метіонін, гліцин) у концентрації 15 г/л.

Склад поживних середовищ для культивування *S. albus* ZD11:

#### 1. Середовище (бульйон) Гаузе:

Нітрат амонію ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ) — 1 г/л

Нітрат калію ( $\text{KNO}_3$ ) — 1 г/л

Фосфат натрію ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) — 1 г/л

Сульфат магнію ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) — 0,5 г/л

Хлорид кальцію ( $\text{CaCl}_2$ ) — 0,5 г/л

Глюкоза — 10 г/л

Вода дистильована — до 1 л

**2. Солодово-дріжджовий екстракт:**

Дріжджовий екстракт — 3 г/л

Глюкоза — 5 г/л

Агар-агар (для твердого середовища) — 20 г/л

Вода дистильована — до 1 л

**3. Гліцерино-аспарагіновий бульйон:**

L-аспарагін — 1 г/л

Гліцерин — 10 г/л

Хлорид натрію (NaCl) — 1 г/л

Сульфат магнію ( $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ) — 0,5 г/л

Фосфат калію ( $K_2HPO_4$ ) — 1 г/л

Вода дистильована — до 1 л

Для визначення оптимальної концентрації глюкози в поживному середовищі *S. albus* ZD11 культивували на середовищі солодово-дріжджовий бульйон з додаванням 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 г/л. Для визначення впливу вмісту натрій хлориду мікроорганізми культивували на середовищі солодово-дріжджовий бульйон, що містило 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4 г/л натрій хлориду. Культуру *S. albus* ZD11 вирощували в конічних колбах об'ємом 250 мл, інокуляту вносили у кількості 3% від загального об'єму поживного середовища. Вихід біомаси визначали ваговим методом і у перераховували у г/л поживного середовища. Вихід саліноміцину оцінювали колориметричним методом (розділ 2.4.)

**2.3. Вивчення впливу фізико-хімічних параметрів та терміну культивування на ріст та синтез саліноміцину**

Для визначення впливу фізико-хімічних параметрів (температури, рН поживного середовища) на ріст та накопичення саліноміцину *S. albus* ZD11.

культивували при температурі 24, 26, 28, 30, 32, 35 °С та показників рН поживного середовища 5,0; 5,5; 6,0; 6,5; 7,0; 7,5; 8,0; 8,5; 9,0.

Для визначення динаміки росту та синтезу саліноміцину *S. albus* ZD11 культивували протягом 10 діб із щоденним фіксуванням показників виходу біомаси та синтезу саліноміцину. Вихід біомаси визначали ваговим методом і у перераховували у г/л поживного середовища. Вихід саліноміцину оцінювали колориметричним методом (розділ 2.4.)

#### **2.4. Визначення саліноміцину колориметричним методом**

Для визначення продукції саліноміцину використовували колориметричний аналіз на основі ванілін-сірчаної кислоти. Спочатку ферментаційний бульйон (1 мл) екстрагували 9 мл метанолу протягом 12 годин і центрифугували при  $12\ 000 \times g$  протягом 10 хвилин. Чотириста мікролітрів надосадової рідини змішували з 400 мкл метанолу. До цієї суміші додавали 200 мкл ванілін-сірчаної кислоти (ванілін, 3 г; метанол, 900 мл; концентрована сірчана кислота, 100 мл), після чого суміш інкубували при 60°C протягом 30 хвилин. Поглинання продукту реакції вимірювали при 520 нм за допомогою УФ-спектрофотометра. Значення OD використовували для представлення виходу саліноміцину відповідно до стандартної кривої стандартного зразка саліноміцину [125].

## РОЗДІЛ 3. Результати досліджень та їх обговорення

### 3.1. Оптимізація складу середовища для максимального виходу продукту

Склад поживного середовища суттєво впливає на ріст та синтез антибіотиків мікроорганізмами, в тому числі стрептоміцетами. Зокрема, ріст мікроорганізмів залежить від типу поживного середовища, типу джерела карбону, його концентрації. Крім того, ріст та рівень синтезу антибіотиків стрептоміцетами залежить від вмісту натрій хлориду в поживному середовищі. Наші дослідження було спрямовано на оптимізацію складу поживного середовища, зокрема, використовували три типи поживних середовищ (солодово-дріжджовий бульйон, гліцерино-аспарагіновий бульйон та бульйон Гаузе), різні джерела карбону (глюкоза, фруктоза, сахароза, мальтоза, галактоза, лактоза, рафіноза) та нітрогену (цистеїн,  $\text{NaNO}_3$ , аспарагін,  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , метіонін, гліцин), концентрації глюкози (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 г/л ) та натрій хлориду (0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4 г/л).

Результати досліджень показали, що найбільш оптимальним середовищем для росту та накопичення саліноміцину серед досліджених варіантів поживних середовищ виявилось середовище солодово-дріжджовий бульйон. При культивуванні на зазначеному середовищі вихід біомаси складав  $5,9 \pm 0,88$  г/л, що було в 1,59-1,84 рази вище, у порівнянні з культивуванням на середовищах гліцерино-аспарагіновий бульйон та бульйон Гаузе відповідно. Щодо синтезу саліноміцину, показано, що при вирощуванні на солодово-дріжджовому екстракті вихід саліноміцину був найвищим та становив  $183,2 \pm 4,3$  мг/л що перевищує даний показник при використанні гліцерино-аспарагінового бульйону та бульйону Гаузе (рис. 3.1.1.).

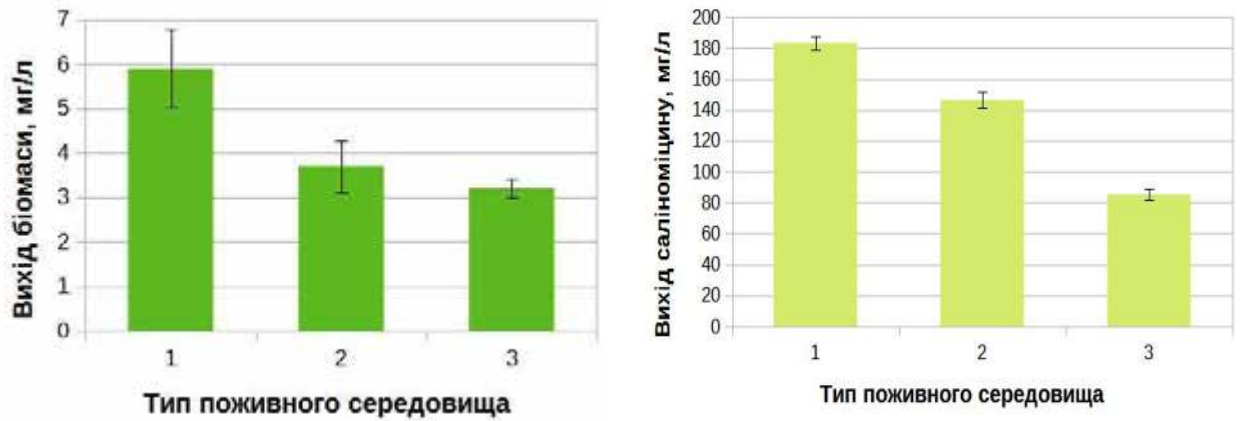


Рис. 3.1.1. Вихід біомаси та саліноміцину при культивуванні *S. albus* ZD11 на середовищах різного складу: 1 - солодово-дріжджовий бульйон; 2 - гліцерино-аспарагіновий бульйон; 3 — бульйон Гаузе.

У подальших дослідженнях було визначено ріст та рівень синтезу саліноміцину *S. albus* ZD11 в залежності від джерела карбону в поживному середовищі солодово-дріжджовий бульйон. Так, до поживного середовища додавали такі джерела карбону як глюкоза, фруктоза, сахароза, мальтоза, галактоза, лактоза, рафіноза у концентрації 15 г/л.

Результати досліджень показали, що максимальний вихід біомаси спостерігається при додаванні в поживне середовище солодово-дріжджовий екстракт глюкози як джерела карбону. Так, при використанні глюкози вихід біомаси складав  $9,8 \pm 1,22$  г/л, а вихід саліноміцину при цьому становив  $157,2 \pm 4,3$  мг/л. Дещо нижчий показник виходу біомаси та виходу саліноміцину спостерігали при додаванні в поживне середовище мальтози як джерела карбону. За даних умов вихід біомаси складав  $8,0 \pm 1,22$  г/л та вихід саліноміцину —  $149,0 \pm 4,3$  мг/л. Таким чином, за відсутності глюкози в якості джерела карбону для отримання саліноміцину може бути використана мальтоза як джерело карбону в поживному середовищі для культивування *S. albus* ZD11 (рис. 3.1.2).

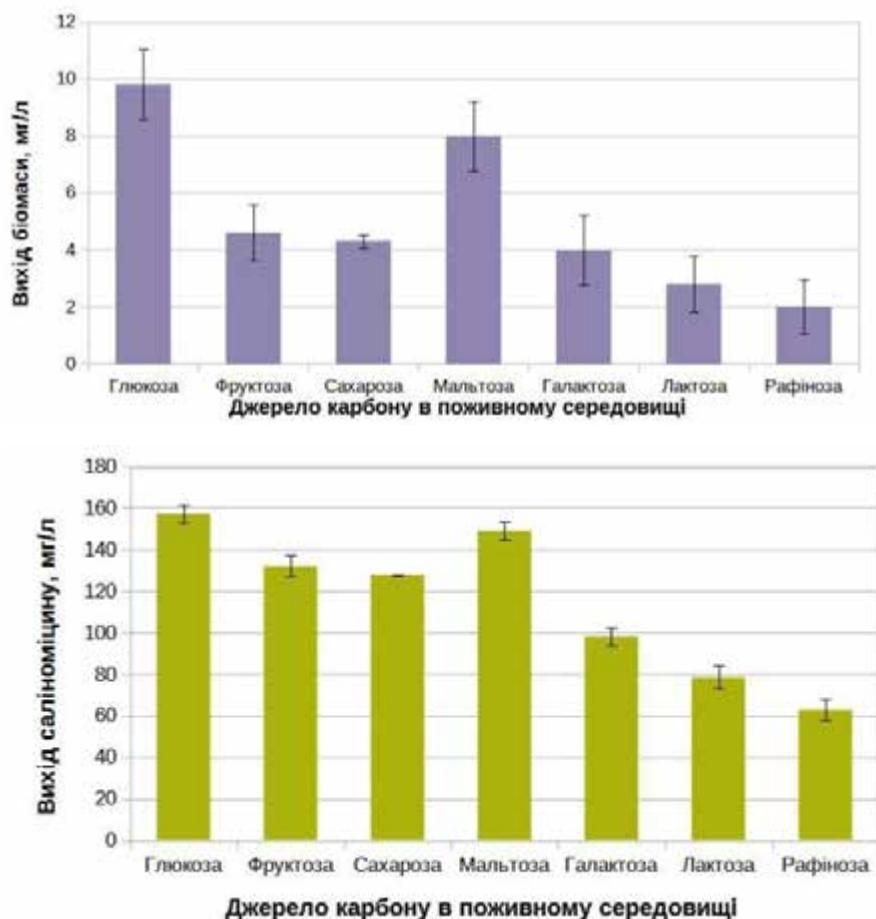


Рис. 3.1.2. Вихід біомаси та саліноміцину в залежності від джерела карбону в поживному середовищі.

Ріст *S. albus* ZD11 та синтез саліноміцину залежить також від концентрації джерела карбону в поживному середовищі (для наших досліджень концентрація глюкози). Так, нами було проаналізовано вплив 5-40 г/л (з кроком 5 г/л) глюкози на вихід біомаси та антибіотику саліноміцину.

Дослідження показали, що найбільш оптимальною концентрацією глюкози в поживному середовищі для отримання максимального виходу продукту (саліноміцину) є концентрація 15 г/л глюкози в поживному середовищі. За даних умов вихід саліноміцину становив  $192,0 \pm 0,33$  мг/л, при тому що вихід біомаси також виявився максимальним та складав  $9,6 \pm 0,22$  г/л. Зниження концентрації глюкози до 15 г/л призводило до несуттєвого зниження рівня синтезу саліноміцину, отже при дефіциті вихідної сировини можна знижувати концентрацію глюкози у поживному середовищі до 15 г/л без

суттєвих втрат виходу кінцевого продукту. Подальше зниження або підвищення вмісту глюкози у поживному середовищі призводило до суттєвого зниження ростових показників *S. albus* ZD11 та зниження рівня продукування саліноміцину (рис. 3.1.3).

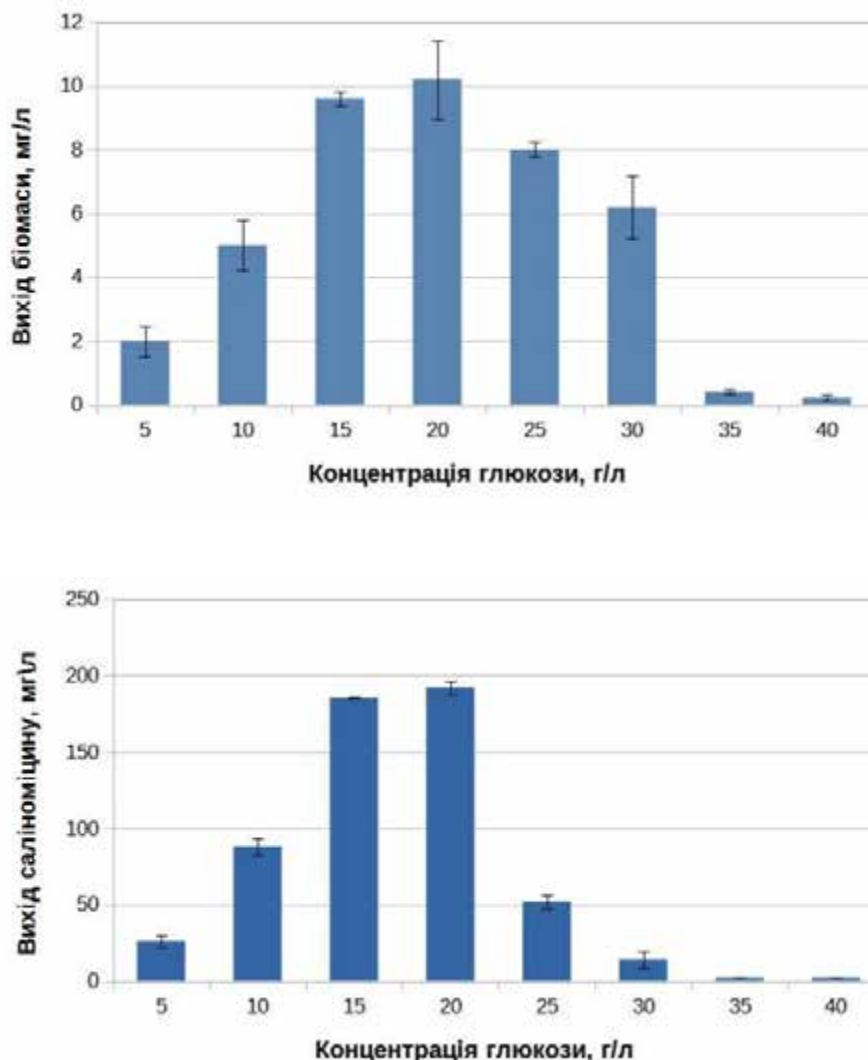


Рис. 3.1.3. Вплив концентрації глюкози в поживному середовищі на вихід біомаси та рівень синтезу саліноміцину

Важливим фактором, що впливає на ріст та вихід цільового продукту (зокрема, антибіотика саліноміцину) є тип джерела нітрогену в поживному середовищі. Так, наступним етапом нашого дослідження було визначити вихід біомаси та саліноміцину в залежності від типу джерела нітрогену в поживному середовищі для культивування *S. albus* ZD11. Нами було проаналізовано вплив

цистеїну,  $\text{NaNO}_3$ , аспарагину,  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , метіоніну, гліцину на досліджувані параметри.

Результати досліджень показали, що найбільш високий рівень накопичення біомаси *S. albus* ZD11 та вихід саліноміцину спостерігається при використанні цистеїну в якості джерела нітрогену. При додаванні цистеїну в поживне середовище для культивування *S. albus* ZD11 було отримано  $112,3 \pm 4,3$  мг/л саліноміцину при рівні накопичення біомаси міцелію  $9,2 \pm 0,68$  г/л. Проте зазначений показник хоча й був максимальним серед усіх досліджуваних варіантів використання джерел нітрогену, але був нижчим за умов класичного варіанту використання поживного середовища солодово-дріжджового бульйону з модифікацією додаванням 15-20 г/л глюкози.

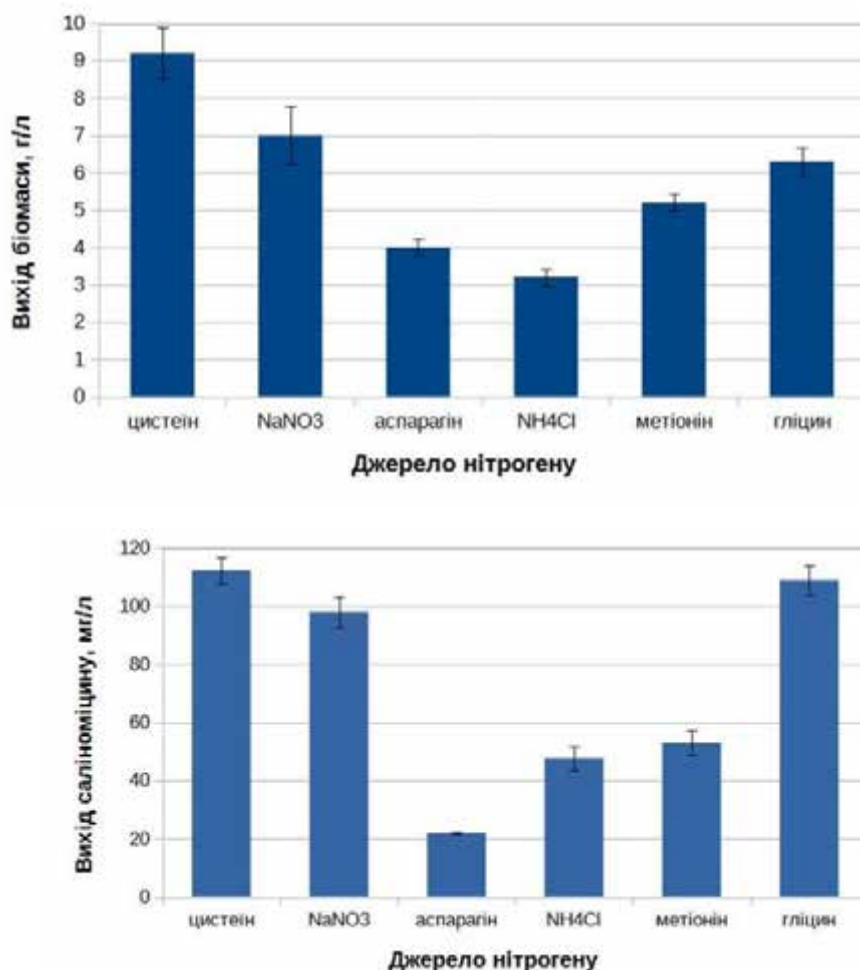


Рис. 3.1.5. Вихід біомаси та саліноміцину в залежності від джерела нітрогену в середовищі

На ростові параметри та синтез цільового продукту штамами *Streptomyces* sp. впливає концентрація натрій хлориду в поживному середовищі. Так, нами було досліджено вихід біомаси та саліноміцину при культивуванні *S. albus* ZD11 на поживних середовищах із додаванням різних концентрацій натрій хлориду, зокрема, 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4 г/л. Було виявлено, що при використанні натрій хлориду у концентраціях 0,5-2 г/л вихід біомаси та рівень синтезу саліноміцину сягає максимального рівня та достовірно не відрізняється в межах цього діапазону концентрацій.

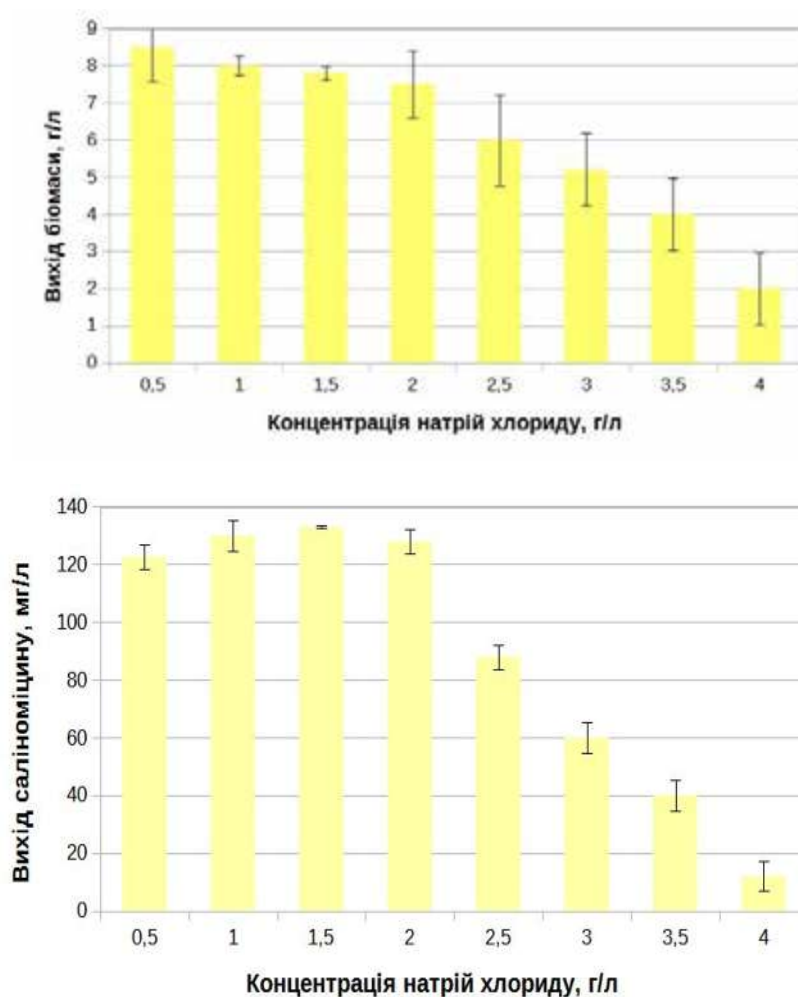


Рис. 3.1.6. Вплив концентрації натрій хлориду на ріст та синтез саліноміцину

Підвищення концентрації натрій хлориду в поживному середовищі призводило до пригнічення росту *S. albus* ZD11 та відповідно зниження рівня

синтезу саліноміцину. Варто зазначити, що отриманий максимальний показник виходу саліноміцину при додаванні 0,5-2 г/л натрій хлориду є суттєво нижчим за вихід саліноміцину за умов культивування на середовищі солодово-дріжджового бульйон з додаванням 15-20 г/л глюкози. Отже, вміст натрій хлориду в зазначених концентраціях не призводить до збільшення виходу саліноміцину при вирощуванні *S. albus* ZD11 та відповідно не є доцільним додати до поживного середовища натрій хлорид.

Таким чином, проведені дослідження показали, що для максимального накопичення біомаси та рівня синтезу саліноміцину доцільним є культивування *S. albus* ZD11 на поживному середовищі солодово-дріжджовий екстракт з додаванням 15-20 г/л глюкози. Разом з тим, тип джерела нітрогену та вміст натрій хлориду не призводить до значного підвищення рівня синтезу саліноміцину у порівнянні з вихідним середовищем, тому використання даних компонентів не є необхідним для культивування *S. albus* ZD11 з метою отримання антибіотика саліноміцину.

### **3.2. Вплив фізико-хімічних параметрів (температури та рН) на ріст культури *S. albus* ZD11 та синтез саліноміцину**

Важливим фактором, що здійснює вплив на ріст та накопичення вторинних метаболітів мікроорганізмами є температура та водневий показник середовище (рН). В наших дослідженнях було визначено вплив даних фізико-хімічних параметрів на вихід біомаси та синтез саліноміцину *S. albus* ZD11. Так, *S. albus* ZD11 культивували при температурі 24, 26, 28, 30, 32, 35 °С та показників рН 5,0; 5,5; 6,0; 6,5; 7,0; 7,5; 8,0; 8,5; 9,0.

Результати досліджень показали, що температура культивування впливає на ріст та синтез саліноміцину *S. albus* ZD11. Так, вирощування при температурі 24-26 °С ріст культури не відбувається і відповідно синтез антибіотика також. Варто зазначити, що для росту культури більш сприятливою виявилась температура 30 °С, проте спостерігалось зниження

синтезу саліноміцину. Оптимальною для синтезу саліноміцину виявилась температура культивування 28 °С. За даних умов було отримано  $196 \pm 0,33$  мг/л саліноміцину, що є дещо вищим (в 1,08 рази) за показник при вирощуванні при температурі 30 °С.

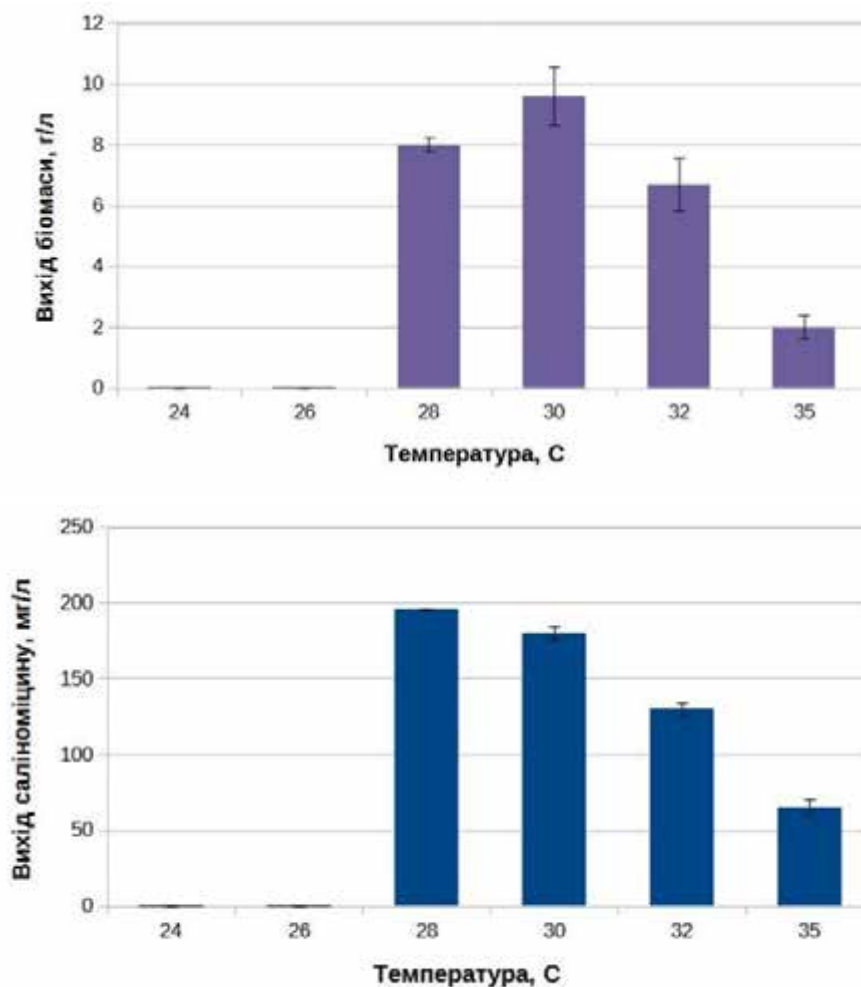


Рис. 3.2.1. Вплив температури культивування на ріст та синтез саліноміцину *S. albus* ZD11

Одним із важливих параметрів, що впливають на накопичення біомаси та синтез вторинних метаболітів мікроорганізмами є водневий показник рН поживного середовища. Нами було проаналізовано вплив даного фактору на ріст та накопичення саліноміцину *S. albus* ZD11. Було показано, що рН поживного середовища суттєво впливає на ростові та біохімічні показники *S. albus* ZD11. Так, при вирощування за рН 5,0 та 5,5 спостерігалось пригнічення росту культури та відсутність синтезу саліноміцину. Оптимальним як для

накопичення біомаси, так і синтезу саліноміцину виявилось рН 6,5, за якого вихід саліноміцину був максимальним та становив  $194,2 \pm 4,1$  мг/л. Підвищення рН до 9,0 спричинювало зниження ростових характеристик та метаболітичної активності, зокрема, синтезу саліноміцину культурою *S. albus* ZD11 (рис.3.2.2).

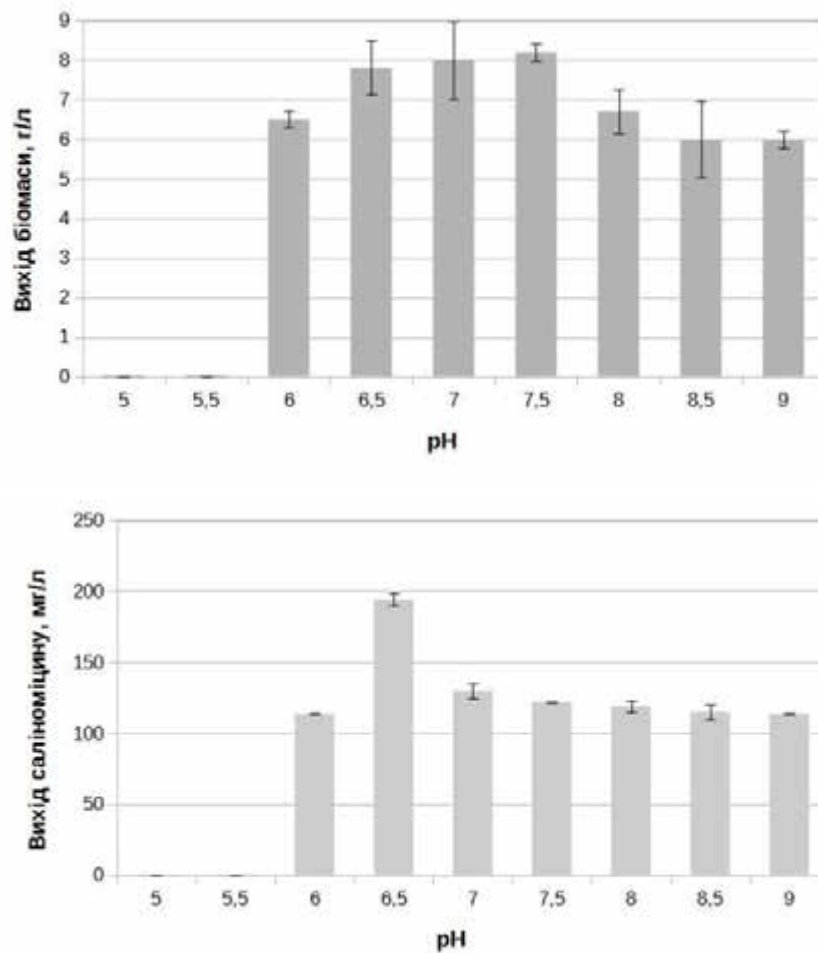


Рис. 3.2.2. Вплив рН поживного середовища на ріст та синтезу саліноміцину *S. albus* ZD11.

Таким чином, оптимальним для росту та отримання саліноміцину з використанням *S. albus* ZD11 як продуцента є культивування за температури 28 °С та рН поживного середовища 6,5.

### 3.3. Вплив терміну культивування на ріст та ефективність синтезу саліноміцину *S. albus*

Важливим параметром, що враховується при розробці технологій отримання біологічно активних речовин з використанням мікроорганізмів в якості продуцента є термін культивування. Нами було вивчено динаміку росту та синтезу саліноміцину *S. albus* ZD11 при культивуванні протягом 10 діб із щоденним фіксуванням показників виходу біомаси та синтезу саліноміцину.

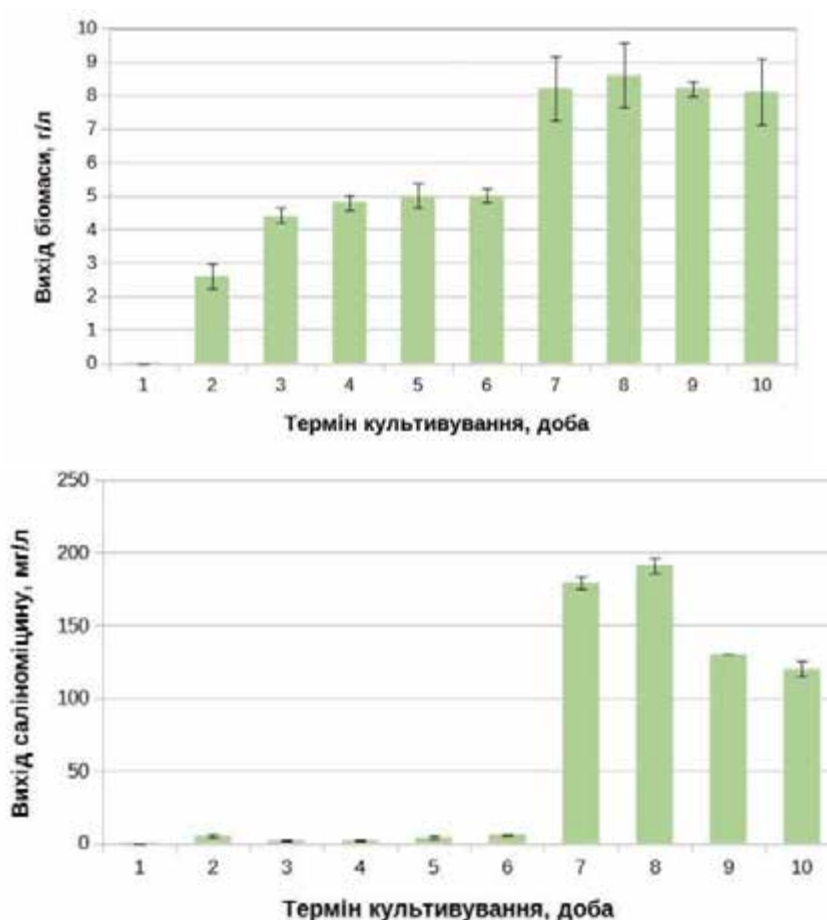


Рис. 3.3.1. Вплив терміну культивування на вихід біомаси та саліноміцину культурою *S. albus* ZD11

Дослідження показали, що достатнього рівня накопичення біомаси ( $8,2 \pm 0,96$  —  $8,6 \pm 0,98$  г/л) та синтезу саліноміцину ( $179,2 \pm 4,3$  —  $191,4 \pm 5,2$  мг/л) можна досягти на 7-8 добу культивування. Збільшення терміну культивування

не призводить до достовірного збільшення рівня накопичення біомаси та синтезу саліноміцину.

Таким чином, оптимальним терміном культивування *S. albus* ZD11 для достатнього рівня накопичення біомаси та синтезу антибіотика саліноміцину є термін 7-8 діб. Збільшення терміну культивування не призводить до зростання ростових показників та рівня накопичення саліноміцину і, отже, є недоцільним.

## ВИСНОВКИ

Проведені дослідження дозволяють зробити наступні висновки:

1. Визначено, що для максимального накопичення біомаси та рівня синтезу саліноміцину доцільним є культивування *S. albus* ZD11 на поживному середовищі солодово-дріжджовий екстракт з додаванням 15-20 г/л глюкози.

2. Показано, що тип джерела нітрогену та вміст натрій хлориду не призводить до значного підвищення рівня синтезу саліноміцину у порівнянні з вихідним середовищем, тому використання даних компонентів не є необхідним для культивування *S. albus* ZD11 з метою отримання антибіотика саліноміцину.

3. Виявлено, що оптимальним для росту та отримання саліноміцину з використанням *S. albus* ZD11 як продуцента є культивування за температури 28 °С та рН поживного середовища 6,5.

4. Визначено, що достатнього рівня накопичення біомаси та синтезу антибіотика саліноміцину культура *S. albus* ZD11 досягає на 7-8 добу. Збільшення терміну культивування не призводить до зростання ростових показників та рівня накопичення саліноміцину і, отже, є недоцільним.

Таким чином, оптимальними умовами для культивування *S. albus* ZD11 для максимального виходу саліноміцину є культивування на поживному середовищі солодово-дріжджовий екстракт (рН 6,5) з додаванням 15-20 г/л глюкози за температури 28 °С протягом 7-8 діб.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Genilloud O., González I., Salazar O., Martín J., Tormo J. R., Vicente F. Current approaches to exploit actinomycetes as a source of novel natural products // *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*. 2011. Vol. 38, No. 3. P. 375–389.
2. De Simeis D., Serra S. Actinomycetes: A Never-Ending Source of Bioactive Compounds—An Overview on Antibiotics Production // *Antibiotics*. 2021. Vol. 10, No. 5. P. 483.
3. Genilloud O. Actinomycetes: Still a source of novel antibiotics // *Natural Product Reports*. 2017. Vol. 34. P. 1203–1232.
4. Silva, G., Kitano, I., Ribeiro, I., Lacava, P. The Potential Use of Actinomycetes as Microbial Inoculants and Biopesticides in Agriculture. *Frontiers in Soil Science*. 2022. 2.
5. Mebrat Y. Production of secondary metabolites by Actinomycetes and their biological applications: A review. *International Journal of Science, Technology, Engineering and Mathematics*. 2024. 4(3), 154–172.
6. Maithani, D., Sharma, A., Gangola, S., Chaudhary, P., & Bhatt, P. Insights into applications and strategies for discovery of microbial bioactive metabolites. *Microbiological Research*. 2022. 261, 127053.
7. Gupta P. B., Onder T. T., Jiang G., Tao K., Kuperwasser, C., Weinberg, R. A., & Lander, E. S. Identification of selective inhibitors of cancer stem cells by high-throughput screening. *Cell*. 2009. 138, 645–659.
8. Naujokat C., Fuchs D., & Opelz, G. . Salinomycin in cancer: A new mission for an old agent. *Journal of Molecular Medicine Reports*. 2010. 3, 555–559.
9. Huczynski A. Salinomycin: A new cancer drug candidate. *Journal of Chemical Biology and Drug Design*. 2012. 79, 235–238.
10. Miyazaki, Y., Shibuya, M., Sugawara, H., Kawaguchi, O., & Hirsoe, C. Salinomycin, a new polyether antibiotic. *Journal of Antibiotics (Tokyo)*. 1974. 27, 814–821.
11. Mahmoudi, N., de Julian-Ortiz, J. V., Ciceron, L., Galvez, J., Mazier, D., Danis, M., Derouin, F., & Garcia-Domenech, R. Identification of new antimalarial

drugs by linear discriminant analysis and topological virtual screening. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2006. 57, 489–497.

12. Butaye, P., Devriese, L. A., Haesebrouck, F. Antimicrobial growth promoters used in animal feed: effects of less well-known antibiotics on gram-positive bacteria // *Journal of Clinical Microbiology Reviews*. 2003. 16: 175–188.

13. Callaway, T. R., Edrington, T. S., Rychlik, J. L., Genovese, K. J., Poole, T. L., Jung, Y. S., Bischoff, K. M., Anderson, R. C., Nisbet, D. J. Ionophores: their use as ruminant growth promotants and impact on food safety // *Journal of Current Issues in Intestinal Microbiology*. 2003. 4: 43–51.

14. Kim, J. H., Chae, M., Kim, W. K., Kim, Y. J., Kang, H. S., Kim, H. S., Yoon, S. Salinomycin sensitizes cancer cells to the effects of doxorubicin and etoposide treatment by increasing DNA damage and reducing p21 protein // *British Journal of Pharmacology*. 2011. 162: 773–784.

15. Kim, W. K., Kim, J. H., Yoon, K., Kim, S., Ro, J., Kang, H. S., Yoon, S. Salinomycin, a p-glycoprotein inhibitor, sensitizes radiation-treated cancer cells by increasing DNA damage and inducing G2 arrest // *Journal of Investigational New Drugs*. 2012. 30: 1311–1318. DOI: 10.1007/s10637-011-9685-6.

16. Donald, L., Pipite, A., Subramani, R., Owen, J., Keyzers, R. A., Taufa, T. Streptomyces: Still the Biggest Producer of New Natural Secondary Metabolites, a Current Perspective // *Microbiology Research*. 2022. 13: 418–465.

17. Laskaris, P., Karagouni, A. D. Streptomyces, Greek Habitats and Novel Pharmaceuticals: A Promising Challenge // *Microbiology Research*. 2021. 12: 840–846.

18. Sousa, J. A. J., Olivares, F. L. Plant growth promotion by streptomycetes: ecophysiology, mechanisms and applications // *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*. 2016. 3: 24.

19. Pepper, I., et al. *Environmental and Pollution Science*. Cambridge, Massachusetts: Academic Press of Elsevier, 2006. 532 p.

20. Zhou, S., Wang, F., Wong, E. T., Fonkem, E., Hsieh, T.-C., Wu, J. M., Wu, E. Salinomycin: A Novel Anti-Cancer Agent with Known Anti-Coccidial Activities // *Current Medicinal Chemistry*. 2013. Vol. 20, Issue 33. P. 4095–4101.

21. Dong, T. T., Zhou, H. M., Wang, L. L., Feng, B., Lv, B., Zheng, M. H. Salinomycin selectively targets 'CD133+' cell subpopulations and decreases malignant traits in colorectal cancer lines // *Annals of Surgical Oncology*. 2011. 18: 1797–1804.
22. Basu, D., Montone, K. T., Wang, L. P., Gimotty, P. A., Hammond, R., Diehl, J. A., Rustgi, A. K., Lee, J. T., Rasanen, K., Weinstein, G. S., Herlyn, M. Detecting and targeting mesenchymal-like subpopulations within squamous cell carcinomas // *Cell Cycle*. 2011. 10: 2008–2016.
23. Bardsley, M. R., Horvath, V. J., Asuzu, D. T., Lorincz, A., Redelman, D., Hayashi, Y., Popko, L. N., Young, D. L., Lomber, G. A., Urrutia, R. A., Farrugia, G., Rubin, B. P., Ordog, T. Kitlow stem cells cause resistance to Kit/platelet-derived growth factor alpha inhibitors in murine gastrointestinal stromal tumors // *Gastroenterology*. 2010. 139: 942–952.
24. Fuchs, D., Daniel, V., Sadeghi, M., Opelz, G., Naujokat, C. Salinomycin overcomes ABC transporter-mediated multidrug and apoptosis resistance in human leukemia stem cell-like KG-1a cells // *Journal of Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2010. 394: 1098–1104.
25. Riccioni, R., Dupuis, M. L., Bernabei, M., Petrucci, E., Pasquini, L., Mariani, G., Cianfriglia, M., Testa, U. The cancer stem cell selective inhibitor salinomycin is a p-glycoprotein inhibitor // *Blood Cells, Molecules, and Diseases*. 2010. 45: 86–92.
26. Tang, Q. L., Zhao, Z. Q., Li, J. C., Liang, Y., Yin, J. Q., Zou, C. Y., Xie, X. B., Zeng, Y. X., Shen, J. N., Kang, T., Wang, J. Salinomycin inhibits osteosarcoma by targeting its tumor stem cells // *Cancer Letters*. 2011. 311: 113–121.
27. Zhi, Q. M., Chen, X. H., Ji, J., Zhang, J. N., Li, J. F., Cai, Q., Liu, B. Y., Gu, Q. L., Zhu, Z. G., Yu, Y. Y. Salinomycin can effectively kill ALDH(high) stem-like cells on gastric cancer // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2011. 65: 509–515. DOI: 10.1016/j.biopha.2011.06.006.
28. Oak, P. S., Kopp, F., Thakur, C., Ellwart, J. W., Rapp, U. R., Ullrich, A., Wagner, E., Knyazev, P., Roidl, A. Combinatorial treatment of mammospheres with

trastuzumab and salinomycin efficiently targets HER2-positive cancer cells and cancer stem cells // *International Journal of Cancer*. 2012. 131: 2808–2819. DOI: 10.1002/ijc.27595.

29. Naujokat, C., Steinhart, R. Salinomycin as a drug for targeting human cancer stem cells // *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2012. 2012: 950658.

30. Zhou, S., Wang, F., Wong, E. T., et al. Salinomycin: a novel anti-cancer agent with known anti-coccidial activities // *Current Medicinal Chemistry*. 2013. Vol. 20, № 33. P. 4095–4101.

31. Jeon, S., Ko, M., Lee, J., et al. Identification of antiviral drug candidates against SARS-CoV-2 from FDA-approved drugs // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2020. 64(7): e00819–e00820.

32. Xipell, E., Aragón, T., Martínez-Velez, N., et al. Endoplasmic reticulum stress-inducing drugs sensitize glioma cells to temozolomide through downregulation of MGMT, MPG, and Rad51 // *Neuro-Oncology*. 2016. 18(8): 1109–1119.

33. Lim, Y. C., Ensbey, K. S., Offenhäuser, C., et al. Simultaneous targeting of DNA replication and homologous recombination in glioblastoma with a polyether ionophore // *Neuro-Oncology*. 2020. 22(2): 216–228.

34. Kaushik, V., Yakisich, J. S., Kumar, A., Azad, N., Iyer, A. K. V. Ionophores: potential use as anticancer drugs and chemosensitizers // *Cancers*. 2018. 10(10): 360.

35. Khadayat, K., Sherpa, D. D., Malla, K. P., et al. Molecular identification and antimicrobial potential of *Streptomyces* species from Nepalese soil // *International Journal of Microbiology*. 2020. 2020:8817467.

36. Lee, N., Hwang, S., Kim, J., et al. Mini review: Genome mining approaches for the identification of secondary metabolite biosynthetic gene clusters in *Streptomyces* // *Computational and Structural Biotechnology Journal*. 2020. 18: 1548–1556.

37. Kemung, H. M., Tan, L. T.-H., Khan, T. M., et al. *Streptomyces* as a prominent resource of future anti-MRSA drugs // *Frontiers in Microbiology*. 2018. 9: 2221.

38. Aryal, S., Neupane, L., Adhikari, R., et al. Novel *Streptomyces* sp. reported in 2018: A meta-analysis // *Anti-Infective Agents*. 2020. 19. P. 2–13.
39. Harir, M., Bendif, H., Bellahcene, M., et al. *Streptomyces* secondary metabolites // *Basic Biology and Applications of Actinobacteria*. 2018. 6. P. 99–122.
40. Chater, K. F. Recent advances in understanding *Streptomyces* // *F1000Research*. 2016. 5: 2795.
41. Ward, A. C., Allenby, N. E. E. Genome mining for the search and discovery of bioactive compounds: The *Streptomyces* paradigm // *FEMS Microbiology Letters*. 2018. 365: fny240.
42. Nicault, M., Zaiter, A., Dumarcay, S., Chaimbault, P., Gelhaye, E., Leblond, P., et al. Elicitation of Antimicrobial Active Compounds by Streptomyces-Fungus Co-Cultures // *Microorganisms*. 2021. 9:178.
43. Amann, S., Neef, K., Kohl, S. Antimicrobial resistance (AMR) // *Eur. J. Hosp. Pharm.* 2019. 26. P. 175–177.
44. Procópio, R. E., Silva, I. R., Martins, M. K., Azevedo, J. L., and Araújo, J. M. Antibiotics produced by *Streptomyces* // *Braz. J. Infect. Dis.* 2012. 16. P. 466–471.
45. Rotow, J., and Bivona, T. G. Understanding and targeting resistance mechanisms in NSCLC // *Nat. Rev. Cancer*. 2017. 17. C. 637–658.
46. Perin, J., Mulick, A., Yeung, D., Villavicencio, F., Lopez, G., Strong, K. L., et al. Global, regional, and national causes of under-5 mortality in 2000–19: An updated systematic analysis with implications for the Sustainable Development Goals // *Lancet Child Adolesc. Health*. 2022. 6. P. 106–115.
47. Brown D. Antibiotic resistance breakers: Can repurposed drugs fill the antibiotic discovery void? // *Nat. Rev. Drug Discov*. 2015. 14. P. 821–832.
48. Azerang P., and Sardari, S. Bioactive compound produced from Actinomycetes-*Streptomyces* // *Chemistry*. 2017. 151. P. 1507–1523.
49. Lapaz, M. I., Cisneros, E. J., Pianzzola, M. J., and Francis, I. M. Exploring the exceptional properties of *Streptomyces*: A hands-on discovery of natural products // *Am. Biol. Teach*. 2019. 81.P. 658–664.

50. Xia, H., Li, X., Li, Z., Zhan, X., Mao, X., and Li, Y. The application of regulatory cascades in *Streptomyces*: Yield enhancement and metabolite mining // *Front. Microbiol.* 2020. 11:406.
51. Chang, T.-L., Huang, T.-W., Wang, Y.-X., Liu, C.-P., Kirby, R., Chu, C.-M., et al. An Actinobacterial Isolate, *Streptomyces* sp. YX44, produces broad-spectrum antibiotics that strongly inhibit *Staphylococcus aureus* // *Microorganisms.* 2021. 9:630.
52. Bubici, G. *Streptomyces* spp. as biocontrol agents against *Fusarium* species // *CAB Rev.* 2018. 13:50.
53. Abdel-Razek, A. S., El-Naggar, M. E., Allam, A., Morsy, O. M., and Othman, S. I. Microbial natural products in drug discovery // *Processes.* 2020. 8:470.
54. Nguyen, C. T., Dhakal, D., Pham, V. T. T., Nguyen, H. T., and Sohng, J.-K. Recent advances in strategies for activation and discovery/characterization of cryptic biosynthetic gene clusters in *Streptomyces* // *Microorganisms.* 2020. 8:616.
55. Salwan, R., and Sharma, V. Bioactive compounds of *Streptomyces*: Biosynthesis to applications // *Stud. Nat. Prod. Chem.* 2020. 64. C. 467–491.
56. Pham, V. T. T., Nguyen, C. T., Dhakal, D., Nguyen, H. T., Kim, T.-S., and Sohng, J. K. Recent Advances in the Heterologous Biosynthesis of Natural Products from *Streptomyces* // *Appl. Sci.* 2021. 11:1851.
57. Sharma, V., Kaur, R., and Salwan, R. *Streptomyces*: Host for refactoring of diverse bioactive secondary metabolites // *Biotech.* 2021. 11:340.
58. Bolourian A., and Mojtahedi, Z. *Streptomyces*, shared microbiome member of soil and gut, as ‘old friends’ against colon cancer // *FEMS Microbiol. Ecol.* 2018. 94
59. Wang L., Ravichandran V., Yin, Y., Yin, J., and Zhang, Y. Natural products from mammalian gut microbiota // *Trends Biotechnol.* 2019. 37. C. 492–504.
60. Waters M., Tadi P. *Streptomycin* // *Treasure Island, FL: StatPearls.* 2021.
61. Alam, K., Mazumder, A., Sikdar, S., Zhao, Y. M., Hao, J., Song, C., Wang, Y., Sarkar, R., Islam, S., Zhang, Y., and Li, A. *Streptomyces*: The biofactory of secondary metabolites // *Front. Microbiol.* 2022. 13:968053.

62. Akintunde, O. G. Production of an Antibiotic-like Activity by *Streptomyces* sp. COUK1 under Different Growth Conditions // Ph.D. thesis. Johnson City, TN: East Tennessee State University, 2014.

63. Rahman, M., Islam, M. Z., Islam, M., and Ul, A. Antibacterial activities of Actinomycete isolates collected from soils of Rajshahi, Bangladesh // *Biotechnol. Res. Int.* 2011. 6.

64. Dezfully, N. K., and Ramanayaka, J. G. Isolation, identification and evaluation of antimicrobial activity of *Streptomyces flavogriseus*, strain ACTK2 from soil sample of Kodagu, Karnataka State (India) // *Jundishapur J. Microbiol.* 2015. 8

65. Sivalingam, P., Hong, K., Pote, J., and Prabakar, K. Extreme environment *Streptomyces*: Potential sources for new antibacterial and anticancer drug leads? // *Int. J. Microbiol.* 2019. 5283948.

66. Mohamed, H., Hassane, A., Rawway, M., El-Sayed, M., Gomaa, A. E.-R., Abdul-Raouf, U., et al. Antibacterial and cytotoxic potency of thermophilic *Streptomyces werraensis* MI-S. 24-3 isolated from an Egyptian extreme environment // *Arch. Microbiol.* 2021. 203. C. 4961–4972.

67. Riahi, K., Hosni, K., Raies, A., and Oliveira, R. Unique secondary metabolites of a *Streptomyces* strain isolated from extreme salty wetland show antioxidant and antibacterial activities // *J. Appl. Microbiol.* 2019. 127. C. 1727–1740.

68. Dharmaraj, S. Marine *Streptomyces* as a novel source of bioactive substances // *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2010. 26. C. 2123–2139.

69. Maskey, R. P., Helmke, E., and Laatsch, H. Himalomycin A and B: Isolation and structure elucidation of new fridamycin type antibiotics from a marine *Streptomyces* isolate // *J. Antibiot.* 2003. 56. C. 942–949.

70. Itoh, T., Kinoshita, M., Aoki, S., and Kobayashi, M. Komodoquinone A, a novel neuritogenic anthracycline, from marine *Streptomyces* sp. KS3 // *J. Nat. Prod.* 2003. 66. C. 1373–1377.

71. Macherla, V. R., Liu, J., Bellows, C., Teisan, S., Nicholson, B., Lam, K. S., et al. Glaciapyrroles A, B, and C, pyrrollosesquiterpenes from a *Streptomyces* sp. isolated from an Alaskan marine sediment // *J. Nat. Prod.* 2005. 68. C. 780–783.

72. Liang, Y., Chen, L., Ye, X., Anjum, K., Lian, X.-Y., and Zhang, Z. New streptophenazines from marine *Streptomyces* sp. 182SMLY // Nat. Prod. Res. 2017. 31. C. 411–417.

73. Sujatha, P., Raju, K. B., and Ramana, T. Studies on a new marine streptomycete BT-408 producing polyketide antibiotic SBR-22 effective against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* // Microbiol. Res. 2005. 160. C. 119–126.

74. Shih, H.-D., Liu, Y.-C., Hsu, F.-L., Mulabagal, V., Dodda, R., and Huang, J.-W. Fungichromin: A substance from *Streptomyces padanus* with inhibitory effects on *Rhizoctonia solani* // J. Agric. Food Chem. 2003. 51. C. 95–99.

75. Hu, D., Lee, S. M.-Y., Li, K., and Mok, K. M. Secondary metabolite production potential of mangrove-derived *Streptomyces olivaceus* // Mar. Drugs. 2021. 19. C. 332.

76. Hogan, S., Zapotoczna, M., Stevens, N. T., Humphreys, H., O’Gara, J. P., and O’Neill, E. In vitro approach for identification of the most effective agents for antimicrobial lock therapy in the treatment of intravascular catheter-related infections caused by *Staphylococcus aureus* // Antimicrob. Agents Chemother. 2016. 60. C. 2923–2931.

77. Chopra, S., Harjai, K., and Chhibber, S. Antibiotic susceptibility of ica-positive and ica-negative MRSA in different phases of biofilm growth // J. Antibiot. 2015. 68. C. 15–22.

78. Suzuki, N., Ohtaguro, N., Yoshida, Y., Hirai, M., Matsuo, H., Yamada, Y., et al. A compound inhibits biofilm formation of *Staphylococcus aureus* from *Streptomyces* // Biol. Pharm. Bull. 2015. 38. C. 889–892.

79. Oja, T., San Martin Galindo, P., Taguchi, T., Manner, S., Vuorela, P. M., Ichinose, K., et al. Effective antibiofilm polyketides against *Staphylococcus aureus* from the pyranonaphthoquinone biosynthetic pathways of *Streptomyces* species // Antimicrob. Agents Chemother. 2015. 59. C. 6046–6052.

80. Bauermeister, A., Pereira, F., Grilo, I. R., Godinho, C. C., Paulino, M., Almeida, V., et al. Intra-clade metabolomic profiling of MAR4 *Streptomyces* from

the Macaronesia Atlantic region reveals a source of anti-biofilm metabolites // *Environ. Microbiol.* 2019. 21. C. 1099–1112.

81. Wang, J., Nong, X.-H., Amin, M., and Qi, S.-H. Hygrocin C from marine-derived *Streptomyces* sp. SCSGAA 0027 inhibits biofilm formation in *Bacillus amyloliquefaciens* SCSGAB0082 isolated from South China Sea gorgonian // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2018. 102. C. 1417–1427.

82. Mary, T. R. J., Kannan, R. R., Iniyan, A. M., Ramachandran, D., and Vincent, S. G. P. Cell wall distraction and biofilm inhibition of marine *Streptomyces* derived angucycline in methicillin resistant *Staphylococcus aureus* // *Microb. Pathog.* 2021. 150. C. 104712.

83. Kim, J. W., Kwon, Y., Bang, S., Kwon, H. E., Park, S., Lee, Y., et al. Unusual bridged angucyclinones and potent anticancer compounds from *Streptomyces bulli* GJA1 // *Org. Biomol. Chem.* 2020. 18. C. 8443–8449.

84. Driche, E. H., Sabaou, N., Bijani, C., Zitouni, A., Pont, F., Mathieu, F., et al. *Streptomyces* sp. AT37 isolated from a Saharan soil produces a furanone derivative active against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* // *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2017. 33. C. 105.

85. Siupka, P., Hansen, F. T., Schier, A., Rocco, S., Sřrensen, T., and Piotrowska-Seget, Z. Antifungal activity and biosynthetic potential of new *Streptomyces* sp. MW-W600-10 strain isolated from coal mine water // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. 22. C. 7441.

86. Ortega, H. E., Ferreira, L. L. G., Melo, W. G. P., Oliveira, A. L. L., Alvarenga, R. F. R., Lopes, N. P., et al. Antifungal compounds from *Streptomyces* associated with attine ants also inhibit *Leishmania donovani* // *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2019. 13. C. E0007643.

87. Chevrette, M. G., Carlson, C. M., Ortega, H. E., Thomas, C., Ananiev, G. E., Barns, K. J., et al. The antimicrobial potential of *Streptomyces* from insect microbiomes [Текст] // *Nat. Commun.* 2019. 10. C. 516.

88. Fu, P., La, S., and MacMillan, J. B. Daryamide analogues from a marine-derived *Streptomyces* species // *J. Nat. Prod.* 2017. 80. C. 1096–1101.

89. Peng, F., Zhang, M.-Y., Hou, S.-Y., Chen, J., Wu, Y.-Y., and Zhang, Y.-X. Insights into *Streptomyces* spp. isolated from the rhizospheric soil of *Panax notoginseng*: Isolation, antimicrobial activity and biosynthetic potential for polyketides and non-ribosomal peptides // *BMC Microbiol.* 2020. 20. C. 143.
90. Frändberg, E., Petersson, C., Lundgren, L. N., and Schnürer, J. Secretion of *Streptomyces halstedii* K122 produces the antifungal compounds bafilomycin B1 and C1. *Can. J. Microbiol.* 2000, 46, 753–758.
91. Freitas, D. A., Leclerc, S., Miyoshi, A., Oliveira, S. C., Sommer, P. S. M., Rodrigues, L., et al. Secretion of *Streptomyces tendae* antifungal protein 1 by *Lactococcus lactis*. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2005, 38, 1585–1592.
92. Hirota-Takahata, Y., Kurosawa, E., Ishimoto, Y., Iwadate, Y., Kizuka, M., Chiba, J., et al. Vestaines, novel vasoactive compounds, isolated from *Streptomyces* sp. SANK 63697. *J. Antibiot.* 2017, 70, 179–186.
93. Hayakawa, Y., Kobayashi, T., and Izawa, M. Indanostatin, a new neuroprotective compound from *Streptomyces* sp. *J. Antibiot.* 2013, 66, 731–733.
94. Zhao, Q., Wang, L., and Luo, Y. Recent advances in natural products exploitation in *Streptomyces* via synthetic biology. *Eng. Life Sci.* 2019, 19, 452–462.
95. Li, F., Chen, D., Lu, S., Yang, G., Zhang, X., Chen, Z., et al. Anti-influenza A viral butenolide from *Streptomyces* sp. Smu03 inhabiting the intestine of *Elephas maximus*. *Viruses* 2018, 10, 356.
96. Ortuño-Sahagún, D., Zänker, K., Rawat, A. K. S., Kaveri, S. V., and Hegde, P. Natural immunomodulators. *J. Immunol. Res.* 2017, 7529408.
97. Mahmoudi, F., Baradaran, B., Dehnad, A., Shanehbandi, D., Mohamed Khosroshahi, L., and Aghapour, M. The immunomodulatory activity of secondary metabolites isolated from *Streptomyces calvus* on human peripheral blood mononuclear cells. *Br. J. Biomed. Sci.* 2016, 73, 97–103.
98. Hrdý, J., Súkeníková, L., Petrásková, P., Novotná, O., Kahoun, D., Petříček, M., et al. Inhibition of pro-inflammatory cytokines by metabolites of *Streptomyces*—A potential alternative to current anti-inflammatory drugs?. *Microorganisms* 2020, 8, 621.

99. Fireman, M., DiMartini, A. F., Armstrong, S. C., and Cozza, K. L. Immunosuppressants. *Psychosomatics* 2004, 45, 354–360.
100. Bolourian, A., and Mojtahedi, Z. Immunosuppressants produced by *Streptomyces*: Evolution, hygiene hypothesis, tumour rapalog resistance and probiotics. *Environ. Microbiol. Rep.* 2018, 10, 123–126.
101. Muramatsu, H., and Nagai, K. *Streptomyces tsukubensis* sp. nov., a producer of the immunosuppressant tacrolimus. *J. Antibiot.* 2013, 66, 251–254.
102. Martínez-Castro, M., Barreiro, C., Romero, F., Fernandez-Chimeno, R. I., and Martín, J. F. *Streptomyces tacrolimicus* sp. nov., a low producer of the immunosuppressant tacrolimus (FK506). *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2011, 61, 1084–1088.
103. Choi, S.-S., Hur, Y.-A., Sherman, D. H., and Kim, E.-S. Isolation of the biosynthetic gene cluster for tautomycetin, a linear polyketide T cell-specific immunomodulator from *Streptomyces* sp. CK4412. *Microbiology* 2007, 153, 1095–1102.
104. Choi, S.-S., Nah, H.-J., Pyeon, H., and Kim, E.-S. Biosynthesis, regulation, and engineering of a linear polyketide tautomycetin: A novel immunosuppressant in *Streptomyces* sp. CK4412. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 2017, 44, 555–561.
105. Niu, M., Sun, Y., Liu, X., Tang, L., and Qiu, R. Tautomycetin induces apoptosis by inactivating Akt through a PP1-independent signaling pathway in human breast cancer cells. *J. Pharmacol. Sci.* 2013, 121, 17–24.
106. Hayakawa, Y., Kobayashi, T., and Izawa, M. Indanostatin, a new neuroprotective compound from *Streptomyces* sp. *J. Antibiot.* 2013, 66, 731–733. doi: 10.1038/ja.2013.80
107. Du, L., Sánchez, C., Chen, M., Edwards, D. J., and Shen, B. The biosynthetic gene cluster for the antitumor drug bleomycin from *Streptomyces verticillus* ATCC15003 supporting functional interactions between nonribosomal peptide synthetases and a polyketide synthase. *Chem. Biol.* 2000, 7, 623–642. doi: 10.1016/s1074-5521(00)00011-9

108. Azman, A.-S., Othman, I., Fang, C.-M., Chan, K.-G., Goh, B.-H., and Lee, L.-H. Antibacterial, anticancer and neuroprotective activities of rare actinobacteria from mangrove forest soils. *Indian J. Microbiol.* 2017, 57, 177–187.
109. Tan, L. T.-H., Ser, H.-L., Yin, W.-F., Chan, K.-G., Lee, L.-H., and Goh, B.-H. Investigation of antioxidative and anticancer potentials of *Streptomyces* sp. MUM256 isolated from Malaysia mangrove soil. *Front. Microbiol.* 2015, 6:1316. doi: 10.3389/fmicb.2015.01316
110. Newitt, J. T., Prudence, S. M. M., Hutchings, M. I., and Worsley, S. F. Biocontrol of cereal crop diseases using streptomycetes. *Pathogens* 2019, 8:78.
111. Bentley, S., Chater, K., Cerdeño-Tárraga, A. M., et al. Complete genome sequence of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Nature* 2002, 417, 141–147.
112. Ayuso-Sacido, A., Genilloud, O. New PCR Primers for the Screening of NRPS and PKS-I Systems in Actinomycetes: Detection and Distribution of These Biosynthetic Gene Sequences in Major Taxonomic Groups. *Microb. Ecol.* 2005, 49, 10–24.
113. Yarbrough, G. G., Taylor, D. P., Rowlands, R. T., Crawford, M. S., Lasure, L. L. Screening microbial metabolites for new drugs. Theoretical and practical issues. *J. Antibiot.* 1993, 46, 535–544.
114. Bode, H. B., Bethe, B., Höfs, R., Zeeck, A. Big effects from small changes: possible ways to explore nature's chemical diversity. *Chembiochem* 2002, 3(7), 619–627.
115. Dieting, U., Trauthwein, H., Zimmermann, H. High-throughput screening in the climatic chamber. *Elements Degussa Sci. News* 2005, 11, 10.1016/S1369-703X(00)00109-1.
116. Bills, G. F., Platas, G., Fillola, A., Jiménez, M. R., Collado, J., Vicente, F., et al. Enhancement of antibiotic and secondary metabolite detection from filamentous fungi by growth on nutritional arrays. *J. Appl. Microbiol.* 2008, 104, 1644–1658.

117. Jiang, Y., Li, Q., Chen, X., and Jiang, C. Isolation and Cultivation Methods of Actinobacteria. In Dhanasekaran, D., & Jiang, Y. (Eds.). *Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications*. InTech, 2016.
118. Hopwood, D. A. Highlights of *Streptomyces* genetics. *Heredity* 2019, 123, 23–32.
119. Baltz, R. H. Natural product drug discovery in the genomic era: realities, conjectures, misconceptions, and opportunities. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 2019, 46, 281–299.
120. Palazzotto, E., Tong, Y., Lee, S. Y., and Weber, T. Synthetic biology and metabolic engineering of actinomycetes for natural product discovery. *Biotechnol. Adv.* 2019, 37, 107366.
121. Li, C., He, H., Wang, J., Liu, H., Wang, H., Zhu, Y., et al. Characterization of a LAL-type regulator NemR in nemadectin biosynthesis and its application for increasing nemadectin production in *Streptomyces cyaneogriseus*. *Sci. China Life Sci.* 2019, 62, 394–405.
122. Ma, D., Wang, C., Chen, H., and Wen, J. Manipulating the expression of SARP family regulator BulZ and its target gene product to increase tacrolimus production. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2018, 102, 4887–4900.
123. Yun, T. Y., Feng, R. J., Zhou, D. B., Pan, Y. Y., Chen, Y. F., Wang, F., et al. Optimization of fermentation conditions through response surface methodology for enhanced antibacterial metabolite production by *Streptomyces* sp. 1-14 from cassava rhizosphere. *PLoS ONE* 2018, 13(11)
124. Zheng, X., Ye, R., Ding, Q., et al. Simultaneous improvement of lincomycin A production and reduction of lincomycin B levels in *Streptomyces lincolnensis* using a combined medium optimization approach. *Ann. Microbiol.* 2022, 72, 16.
125. Zhu, Z. H., Li, H., Yu, P., Guo, Y. Y., Luo, S., Chen, Z. B., et al. SlnR is a positive pathway-specific regulator for salinomycin biosynthesis in *Streptomyces albus*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2017, 101, 1547–1557.

## АПРОБАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ



МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ  
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ



ФАКУЛЬТЕТ ЗАХИСТУ РОСЛИН, БІОТЕХНОЛОГІЙ ТА ЕКОЛОГІЇ  
КАФЕДРА ЕКОБІОТЕХНОЛОГІЇ ТА БІОРІЗНОМАНІТТЯ

Х ВСЕУКРАЇНСЬКА НАУКОВО-  
ПРАКТИЧНА КОНФЕРЕНЦІЯ  
СТУДЕНТІВ, АСПІРАНТІВ ТА МОЛОДИХ  
ВЧЕНИХ «БІОТЕХНОЛОГІЯ:  
ЗВЕРШЕННЯ ТА НАДІЇ»

2-3 травня 2024 р.

м.Київ



**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ  
УКРАЇНИ  
ФАКУЛЬТЕТ ЗАХИСТУ РОСЛИН, БІОТЕХНОЛОГІЙ ТА ЕКОЛОГІЇ**

**X Всеукраїнська науково-практична конференція студентів, аспірантів та молодих  
вчених**

**«Біотехнологія: звершення та надії»**

**2-3 ТРАВНЯ 2024**

**м. Київ**

which can have a suppressive effect on the accumulation of viral infection and, accordingly, its subsequent detection by visual and instrumental methods. However, quite often the impact of the phytohormone is manifested in the formation of etiolated elongated potato shoots with poorly developed leaf blades. Given that the accumulation of the virus and, accordingly, the effectiveness of its testing depends on the development of the leaf, it often takes up to 2-3 weeks for the plant to adapt to the aftereffects of gibberellic acid and form leaves of sufficient size. Potato plants with Cametur formed low shoots - 5-7 cm, and in the control - 12-14 cm. The leaf surface area was 2.1 cm<sup>2</sup> in the control, while in the Cametur treatment, it was 11.2 cm<sup>2</sup>. However, the treatment with the preparation slightly reduced the germination of indices - in the control it was 97%, and in the variant - 94%. The treatment had no significant effect on the detection of viral infection compared to the control. Thus, given that the treatment with Cametur significantly increases the leaf surface area of the indices, which simplifies the performance of enzyme-linked immunosorbent assay, it is advisable to use the preparation in the post-harvest control of potato seed lots.

УДК 606:636.09:615

**Балажинець Д.І., Кваско О.Ю.**

**ОСОБЛИВОСТІ КУЛЬТИВУВАННЯ АКТИНОМІЦЕТІВ РОДУ *STREPTOMYCES* У ВИРОБНИЦТВІ САЛІНОМІЦИНУ**

*Національний університет біоресурсів і природокористування України  
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна  
e-mail: kvasko.olena@gmail.com*

Актиноміцети, зокрема представники роду *Streptomyces*, є одними з найважливіших мікроорганізмів у біотехнології. Вони синтезують широкий спектр вторинних метаболітів, серед яких антибіотики, імуносупресанти та протипухлинні препарати. Одним із таких продуктів є саліноміцин, що демонструє високу активність проти патогенних мікроорганізмів і ракових клітин, зокрема стовбурових клітин пухлин. Оптимізація умов культивування *Streptomyces* є ключовим етапом для підвищення продуктивності синтезу цих біологічно активних сполук.

Метою дослідження було визначити оптимальні умови культивування штаму *Streptomyces albus* ZD11 для максимального синтезу саліноміцину. Основними завданнями стали вивчення впливу складу поживного середовища, температури, рН та тривалості культивування на вихід біомаси та продукцію саліноміцину.

У дослідженні використовували модифікований штаму *Streptomyces albus* ZD11, відомий своєю здатністю до синтезу саліноміцину. Культивування проводили на різних поживних середовищах: солодово-дріжджовому бульйоні, гліцерино-аспарагіновому бульйоні та бульйоні Гаузе. Вивчали вплив різних джерел вуглецю (глюкози, фруктози, мальтози) та азоту (аспарагіну, NH<sub>4</sub>Cl, цистеїну) на ріст і синтез антибіотика. Дослідження фізико-хімічних параметрів охоплювало температурний діапазон від 24°C до 35°C, рН середовища від 5,0 до 9,0, а також різні тривалості культивування (від 3 до 10 діб).

Дослідження показали, що найкращі результати забезпечує солодово-дріжджовий бульйон із додаванням 15–20 г/л глюкози. За цих умов вихід біомаси досягав 9,6 г/л, а концентрація саліноміцину становила 192,0 мг/л. З інших поживних середовищ гліцерино-аспарагіновий бульйон також продемонстрував задовільні результати, однак його продуктивність була нижчою. Оптимальні фізико-хімічні параметри включали температуру культивування 28°C і рН середовища 6,5. Саме за цих умов синтез саліноміцину був максимальним — 196,0 мг/л. Тривалість культивування значно впливала на продуктивність: пік синтезу антибіотика спостерігався на 7–8 добу. Подальше продовження терміну культивування не покращувало результатів, а в деяких випадках навіть знижувало концентрацію активної речовини.

Таким чином, оптимізовані умови культивування *Streptomyces albus* ZD11 включають використання солодово-дріжджового бульйону з 15–20 г/л глюкози при температурі 28°C і

pH 6,5. Найвищий синтез саліноміцину досягається на 7–8 добу культивування. Результати цього дослідження можуть бути використані для масштабування процесу в промислових умовах з метою підвищення продуктивності отримання біологічно активних речовин.

УДК 631.416.8:631.851

**Бевзюк Д.С., Кваско О.Ю.**

**ФІТОРЕМЕДІАЦІЯ КАДМІЮ РОСЛИНАМИ ГІРЧИЦІ САЛАТНОЇ  
*BRASSICA JUNCEAE* L.**

*Національний університет біоресурсів і природокористування України  
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна  
e-mail: kvasko.olena@gmail.com*

Останнім часом набуває особливої актуальності проблема забруднення навколишнього середовища важкими металами як наслідок індустріалізації та урбанізації, так і активних військових дій на території України. Джерелом важких металів можуть слугувати стічні води нафтогазової промисловості, фосфорні добрива у сільському господарстві, осад стічних вод, видобуток і виплавка металів, пестициди, гальванічне покриття та спалювання викопного палива, а також босприпаси, снаряди та вибухонебезпечні предмети. Одним із підходів до відновлення земель є застосування здатності низки видів рослин до вилучення та видалення елементарних забруднювачів або зниження їхньої біодоступності в ґрунті — фітореємедіація. Після завершення фітореємедіації, використані рослини можуть бути зібрані та спалені з подальшою переробкою металів або захороненням на звалищі. Це призведе до зменшення забруднення металами із забрудненої ділянки.

Враховуючи вище зазначене метою даної роботи було вивчення здатності рослин гірчиці салатної *Brassica juncea* до поглинання кадмію з водного середовища.

Результати досліджень показали, що накопичення біомаси рослинами *B. juncea* в присутності 5, 10, 20 та 50 мкг/мл кадмію достовірно не відрізнялось від контролю, що дозволяє зробити висновок, що рослини гірчиці салатної можна віднести до толерантних по відношенню до досліджуваного важкого металу. Було визначено, що протягом 21 доби культивування концентрація кадмію у живильному середовищі пропорційно знижувалась, про що свідчить про успішне поглинання даного металу рослинами *B. juncea*, причому метал накопичувався у більшій кількості в коренях рослин гірчиці салатної у порівнянні з пагонами.

Таким чином, рослини *B. juncea* здатні поглинати кадмію з водного середовища, причому більше кадмію накопичується в коренях рослин гірчиці салатної порівняно з пагонами. Результати наших досліджень продемонстрували потенційну можливість використання *B. juncea* для реємедіації важких металів (зокрема, кадмієм) із забрудненого водного середовища. Цю рослину можна вирощувати на територіях, забруднених важкими металами (зокрема, кадмієм), а потім вилучити, спалити та захоронити для безпечної утилізації.

УДК 574.64

**Бідувка Д.С., Нестерова Н.Г.**

**ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ЗАБРУДНЮВАЧІВ АНТРОПОГЕННОГО РЕЄСТРУ НА ВОДНІ  
ЕКОСИСТЕМИ МЕТОДОМ ЦИТОСТАТИЧНОЇ РЕАКЦІЇ КУЛЬТУРИ ДАФНІЙ (*DAPHNIA*  
*PULEX* / *MAGNA*)**

*Національний університет біоресурсів і природокористування України  
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна  
e-mail: rejuvenationfund@gmail.com*