

## ДОДАТОК

### ВИБРАНІ ТЕЗИ ДОПОВІДЕЙ на об'єднаній XV та XVI Міжнародній науковій конференції «Фактори експериментальної еволюції організмів» (20–25 вересня 2021 р., м. Кам'янець-Подільський, Хмельницька область, Україна)

ГРОМИКО О. М.<sup>1</sup>, ТІСТЕЧОК С. І.<sup>1</sup>, РОМАН І. І.<sup>1</sup>, АРАВЦЬКА О. В.<sup>1</sup>, ЛУЖЕЦЬКИЙ А. М.<sup>2</sup>,  
ФЕДОРЕНКО В. О.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка, Львів, Україна

<sup>2</sup>Саарландський університет, Саарбрюккен, ФРН

e-mail: oleksandr.gromyko@lnu.edu.ua

#### РІЗНОМАНІТТЯ ТА ВЛАСТИВОСТІ ҐРУНТОВИХ АКТИНОБАКТЕРІЙ о. ГАЛІНДЕЗ (МОРСЬКА АНТАРКТИКА)

Антарктичні актинобактерії демонструють великий потенціал як продуценти широкого спектру біологічно активних сполук. Наші дослідження зосереджені на вивченні різноманіття актинобактерій, асоційованих з рослинами о. Галіндез (Морська Антарктика). З ризосфери *Deschampsia antarctica* E. Desv. виділено 43 подібних до актинобактерій ізоляти; зі зразків моху *Polytrichum strictum* Bridel – 23. За допомогою філогенетичного аналізу на основі послідовностей генів 16S рРНК визначено таксономічне положення досліджуваних ізолятів та віднесено їх до 5 родів актинобактерій: *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Umezawaea*, *Kribbella* та *Micrococcus*. Більшість ізолятів ризосфери *D. antarctica* представляли рід *Streptomyces* (39%), *Umezawaea* spp. становили 26%, *Micromonospora* spp. – 21%. Натомість серед симбіонтів *P. strictum* левову частку становили ізоляти роду *Micromonospora* (60%) і лише 30% – стрептоміцети. Актинобактерій роду *Umezawaea* серед них не виявлено. Ізолятів родів *Kribbella* і *Micrococcus* серед представників ризосфери *D. antarctica* було 12 і 2% відповідно, і по 5% – серед симбіонтів *P. strictum*. Слід відзначити, що рід *Umezawaea* виявлений на території Антарктики вперше.

Помічено відмінності між двома групами ізолятів у спектрі антимікробних активностей проти грам-позитивних, грам-негативних бактерій, міцеліальних грибів і дріжджів. Серед симбіонтів *D. antarctica* кількість антагоністів бактерій *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* (в т.ч. MRSA), *Escherichia coli* була в 2–5 разів вищою, ніж серед ізолятів, асоційованих з *P. strictum*. Натомість антагоністичні властивості проти дріжджів *Candida albicans*, а також фітопатогенних бактерій (*Pectobacterium carotovorum*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Erwinia amylovora*) та грибів (*Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*) були властиві значно більшій кількості ізолятів зі зразків моху.

У результаті ПЛР-скрінингу в геномах актинобактерій ризосфери *D. antarctica* виявлено гени ПКС I типу (65,1%), ПКС II типу (25,6%) і НРПС (9,3%). Серед симбіонтів *P. strictum* генів цих біосинтетичних систем було дещо більше – ПКС I – 82,6%, ПКС II – 69,6% та НРПС – 17,4%. За результатами секвенування та анотації геному штаму *Umezawaea* sp. Da 62-2 (ризосфера *D. antarctica*), який виявив широкий спектр антимікробної дії, ідентифіковано 49 кластерів біосинтетичних генів вторинного метаболіту. Близько 15 скупчень не мають гомології з будь-якими відомими скупченнями і є перспективними для вивчення. В результаті дереплікативного аналізу в екстракті *Umezawaea* sp. Da 62-2 виявлено протималярійні сполуки флоеодіктини C1 і C2, які до сьогодні виділяли тільки з морських губок, а також дві потенційно нові сполуки з молекулярними масами m/z 242,2480 [M+H]<sup>+</sup> і m/z 398,3420 [M+H]<sup>+</sup>. В екстракті штаму *Streptomyces* sp. Psp 67-19 (асоційований з *P. strictum*) ідентифіковано антибіотики антиміцини A1, A3 та A10, циклічні октапептиди суругаміди A та D, а також три потенційно нові сполуки з масами m/z 534,3063 [M+H]<sup>+</sup> та m/z 282,2803 [M+H]<sup>+</sup>.

Отримані дані вказують на перспективність вивчення антарктичних актинобактерій як продуцентів потенційно нових біологічно активних речовин.

Дослідження частково профінансоване в рамках Державної цільової науково-технічної програми досліджень в Антарктиці на 2011–2023 роки (договори № Н/07-2019 і № Н/02-2020).

КВАСКО А. Ю.<sup>1</sup>, БІЛЯВСЬКА Л. О.<sup>2</sup>, ІУТИНСЬКА Г. О.<sup>2</sup>, ЄМЕЦЬ А. І.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України», Київ, Україна,

<sup>2</sup>Інститут мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, Київ, Україна,  
e-mail: kvasko.anna@ukr.net

## ВПЛИВ АВЕРМЕКТИН-ВМІСНИХ БІОСТИМУЛЯТОРІВ НА МОРФОГЕНЕТИЧНИЙ ПОТЕНЦІАЛ НЕЗРІЛИХ ЗАРОДКІВ ПШЕНИЦІ

Сучасним альтернативним підходом до вирішення проблеми ураження патогенними міксоміцетами роду *Fusarium* надважливої сільськогосподарської рослини пшениці є застосування у біотехнології безпечних регуляторів росту природного або синтетичного походження з метою створення ліній рослин з підвищеною стійкістю до несприятливих умов навколишнього середовища та патогенів (Blyuss et al., 2019; Tsygankova et al., 2019). У генетичній інженерії та біотехнології пшениці застосовують різні типи експлантів, проте, незрілі зародки є найбільш перспективними через високий морфогенетичний потенціал та регенерацію в культурі *in vitro*, порівняно з іншими (Hayta et al., 2019; Wang et al., 2019, Kvasko et al., 2020). З метою створення ліній пшениці, стійких до фітопатогенів (зокрема, патогенів роду *Fusarium*) було проведено дослідження впливу на калюсогенез пшениці нових полікомпонентних біостимуляторів природного походження Аверком та Аверком Нова (Аверком+полісахарид хітозан), створених в Інституті мікробіології та вірусології НАН України.

У роботі як експланти було використано незрілі зародки пшениці м'якої (*Triticum aestivum* L.) сорту Зимоярка. Насіння пшениці збирали на 14–16 добу після запилення та стерилізували за наступною схемою: 70% етанол – 2 хв, гіпохлорит натрію – 15 хв, 0,04% AgNO<sub>3</sub> – 10 хв, триразове промивання стерильною дистильованою водою. Незрілі зародки ізолювали та розміщували на середовище МС (Murashige & Skoog, 1962) з вітамінами за Гамборгом (Duchefa, Нідерланди), з додаванням 5 мг/л AgNO<sub>3</sub>, 0,5 г/л L-глутаміну, 30 г/л мальтози та 2 мг/л 2,4-Д для індукції калюсогенезу. До середовища додавали окремо біостимулятори Аверком та Аверком Нова у концентраціях 0, 10, 25, 50, 75 та 100 мкл/л.

Через 14–16 днів культивування фіксували показники утворення морфогенного калюсу, залежно від досліджуваних концентрацій біостимуляторів, порівнюючи з контролем (без додавання біостимуляторів). За результатами дослідження, на 14 добу культивування незрілих зародків пшениці найвищий відсоток утворення морфогенного калюсу було зафіксовано за додавання до середовища препаратів Аверком та Аверком Нова у концентраціях 50 мкл/л (43,5±1,23% та 48,7±1,98% відповідно). Для контролю цей показник становив 41,6±2,56%. За використання препаратів у концентраціях 10 та 25 мкл/л утворення морфогенного калюсу спостерігали пізніше (починаючи з 16 доби), проте, відсоток утворення морфогенного калюсу за додавання концентрацій 25 мкл/л був також достатньо високим (на рівні 35,8–39,0% для обох препаратів). За використання препарату Аверком у концентраціях 75 та 100 мкл/л спостерігали затримку утворення первинного калюсу, відсоток калюсоутворення на 14 добу становив 4,5±1,95%, а також індукцію соматичного ембріогенезу. За додавання препарату Аверком Нова у концентраціях 75 та 100 мкл/л відсоток утворення калюсу був низький, порівняно з контролем (7,8±1,45% та 95,7±2,68% відповідно), і спостерігали індукцію переважно пагоноутворення. Таким чином, було виявлено ефективний вплив нових полікомпонентних біостимуляторів природного походження на морфогенетичний потенціал пшениці сорту Зимоярка в умовах *in vitro* за використання незрілих зародків як експлантів. Наступним етапом роботи буде молекулярно-генетичний аналіз відселектованих за морфогенетичними показниками ліній, вирощених в присутності авермектин-вмісних препаратів, з метою відбору ліній пшениці з підвищеною стійкістю до фітопатогену *F. graminearum* L.

Роботу було виконано за фінансової підтримки проекту "Отримання рослин зі стійкістю до фузаріозу за допомогою поліфункціональних біостимуляторів на основі авермектину" (№ 0120U103109) цільової програми наукових досліджень НАН України «Геномні, молекулярні та клітинні основи розвитку інноваційних біотехнологій» (2020–2024 рр.).

## **ПІДВИЩЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ВКОРІНЕННЯ *IN VITRO* РОСЛИН ВИДІВ РОДУ *CARLINA L.***

Створення колекцій рослин *in vitro* є однією із форм охорони рослин природної флори та збереження їх біорізноманіття. Види роду *Carlina L.*, зокрема *Carlina acaulis L.*, *Carlina cirsioides Klok* та *Carlina onopordifolia Bess. ex Szaf., Kulcz. et Pawl.*, мають неабияку цінність у народній медицині та в житті людини загалом (Собко, 2005).

Раніше нами були підібрані умови для отримання стерильних проростків *C. acaulis*, *C. cirsioides* та *C. onopordifolia in vitro* (Процюк та ін., 2019). Оскільки після отримання асептичних рослин наступним етапом є забезпечення умов їх росту та вкорінення, то метою цього дослідження є пошук способів підвищення ефективності вкорінення рослин *in vitro* цих видів.

Нами було розроблено 4 підходи для проростання насіння та ефективнішого вкорінення рослин *in vitro*: *1 варіант* – попередня обробка насіння розчином гіберелової кислоти (ГК<sub>3</sub>) концентрацією 1000 мг/л протягом 16–18 год. Схожість насіння за такого підходу становила: для *C. acaulis* – 71 %, *C. cirsioides* та *C. onopordifolia* – 100 %. При цьому відсоток формування коренів складав 33,3 %, 33,3 %, 22,2 % відповідно. Схожість насіння *C. acaulis*, яке не обробляли регуляторами росту (контроль), була у 1,2 рази меншою у порівнянні з насінням, що піддавалось дії розчину ГК<sub>3</sub>. Середня довжина коренів (СДК) у проростків *C. acaulis* на 10 добу становила 5 мм. Насіння *C. cirsioides* та *C. onopordifolia* проростало на 8–18 доби. Для *C. cirsioides* на 20 добу показники СДК становили 16 мм, для *C. onopordifolia* – 13 мм. Середня довжина коренів *C. acaulis* на 30-ту добу з часу висаджування насіння досягала 24 мм, для *C. cirsioides* – 31,7 мм, для *C. onopordifolia* – 19,4 мм. У *2 варіанті* насіння відкашників обробляли індоліл-3-масляною кислотою (ІМК). Його схожість за таких умов становила 100 %. Відсоток формування коренів при замочуванні у розчині ІМК для *C. acaulis* та *C. cirsioides* був у 2,4 і 3 рази вищим у порівнянні з контролем та за оброблення розчином ГК<sub>3</sub>. Для *C. onopordifolia* цей показник був у 3 рази вищим, ніж у контролі та у 4,5 рази, ніж при замочуванні у розчині ГК<sub>3</sub>. У *3 варіанті* ми тестували рідкі, агаризовані (вміст агару 8 г/л) живильні середовища та середовища із агаром (4 г/л) та перлітом (16 г/л): МС, МС/2, МС/4 (середовище МС із зменшеними в чотири рази концентраціями макро- та мікросолей), доповнюючи їх кінетином (Кін), 1-нафтилоцтовою кислотою (НОК), ГК<sub>3</sub>, індолілоцтовою кислотою (ІОК), ІМК у різних концентраціях та співвідношеннях, рН 5,7. Використання агаризованих і рідких живильних середовищ з містками з фільтрувального паперу та з поролоновими дисками не дало позитивних результатів, а також додавання регулятора росту Кін 0,1–0,15 мг/л не забезпечувало формування коренів. Висаджені пагони відкашників практично їх і не формували та через 2–2,5 місяці гинули. У *4 варіанті* живильні середовища МС доповнювали різними ауксинами. Найбільш ефективним для вкорінення рослин цих видів було використання 0,1 мг/л ІОК. У такому випадку відсоток вкорінених рослин *C. onopordifolia* становив 33,3 %, середня кількість коренів на рослину (СКК) – 2,3; для рослин *C. cirsioides* ці показники склали 28,6 % і 2,5 відповідно. Такий же відсоток вкорінення для рослин останнього виду забезпечувало живильне середовище, доповнене 0,1 мг/л ІМК. У випадку *C. cirsioides* доповнення живильного середовища ІОК або НОК забезпечувало формування більшої кількості пагонів на рослину. З'ясовано, що для вкорінення рослин відкашників ефективним було живильне середовище МС/2, доповнене 0,2 мг/л ІОК, 0,5 мг/л ГК<sub>3</sub> та 0,1 мг/л НОК. Інтенсивність ризогенезу для *C. onopordifolia* становила 60 %, для *C. cirsioides* – 62,5 %, однак корені за 6–10 місяців культивування досягали лише 8–10 мм. Замочування асептичних рослин протягом 1 хв у стерильному розчині ІМК концентрацією 1000 мг/л дозволило підвищити показники вкорінення рослин *C. onopordifolia* та *C. cirsioides* до 76,2 % та 74,3 %; СКК при цьому становили 3,5 та 3,7 відповідно. Проте, як показали наші дослідження, проростки під час такого замочування травмуються; для замочування потрібний стерильний розчин ІМК у достатній кількості та асептичні умови; цей стерильний розчин не може багаторазово використовуватися, оскільки він швидко інфікується та розкладається.

---

Отже з'ясовано, що найефективнішим для формування кореневої системи у рослин *C. acaulis*, *C. cirsioides* та *C. onopordifolia* виявилось замочування насіння цих видів у розчині ІМК концентрацією 1000 мг/л протягом 2–4 год. У результаті відсоток вкорінення рослин *C. cirsioides* та *C. onopordifolia* підвищився до 100 %, *C. acaulis* – до 80 %.

## ОСАДЧА Ю. В.

Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ, Україна  
e-mail: seledat@ukr.net

### ГЕМАТОЛОГІЧНИЙ ПРОФІЛЬ КУРЕЙ-НЕСУЧОК ЗА ВПЛИВУ ВИСОТИ РОЗТАШУВАННЯ КЛІТКОВИХ БАТАРЕЙ

Інтенсивне ведення галузі птахівництва включає низку технологічних операцій, що викликають надмірне напруження пристосувальних систем організму курей та розвиток у них стресу. Відомо, що дія технологічних стресорів, таких як висока щільність утримання, зміна мікроклімату виробничих приміщень та складу раціону, вакцинації, транспортування і переміщення знижують рівень імунологічної реактивності організму птиці, що зумовлює зменшення її продуктивності. Однак, до цього переліку вивчених технологічних стресорів не входить збільшення ярусності кліткового устаткування, яке є одним із способів ресурсозбереження у птахівництві і застосовується виробничниками для отримання більшої кількості продукції з 1 м<sup>2</sup> площі приміщення. Адже все частіше постачальники обладнання пропонують кліткове устаткування, яке розташовують у 12 і, навіть, 15 ярусів, що утворюють 4–5 поверхів. Це дозволяє підвищити концентрацію поголів'я птиці у пташнику в 4–5 разів, порівняно з 3-ярусними клітковими батареями, та у 8–10 разів – порівняно з підлоговим способом утримання. За цих умов птиця верхнього поверху перебуває на висоті більше 12 метрів над землею, а поголів'я в одному пташнику може досягати 590 тис. голів. Тому актуальним питанням є вивчення впливу на організм птиці висоти розташування кліткових батарей.

Для цього в умовах сучасного комплексу з виробництва харчових яєць в одному пташнику було сформували 4 групи курей, кожна з яких утримували на окремому поверсі-аналогу за площею та клітковим устаткуванням. Кожен поверх був обладнаний 3-ярусними клітковими батареями «Big Dutchman» (Німеччина), що склалися з 1176 кліток. Кліткові батареї кожного поверху були відмежовані одна від одної решітчастою підлогою. Отже, 1–3 яруси входили до 1-го поверху, 4–6 яруси – до 2-го, 7–9 яруси – до 3-го, а 10–12 яруси – до 4 поверху кліткового устаткування. У віці 52 тижні відбирали по 30 проб цільної крові у несучок кожної групи. Гемограму курей-несучок визначали на гематологічному аналізаторі Micros 60 (Horiba Ltd.) у лабораторії «Бальд» (сертифікат №LB/02/2016).

Виявлено, що підвищення висоти розташування кліткових батарей не відобразилося на показниках гемограм курей, що може вказувати на відсутність негативного впливу збільшення ярусності кліткового устаткування. Тоді як, утримання курей у клітках багаторусної кліткової батареї першого поверху (1–3 ярус) супроводжувалось змінами показників гемограми, характерними для стресового стану організму, а саме підвищення у крові кількості лейкоцитів на 29,0–73,2 % (3,5 > норми), еритроцитів – на 14,3–18,5 %, ШОЕ – на 26,0–46,5 % та зниження концентрації тромбоцитів на 12,8–14,8 %, а також порушення співвідношення різних форм лейкоцитів – підвищення концентрації гетерофілів на 6,8–13,5 % (4,5 % > норми) на тлі зменшення моноцитів на 1,8–2,5 % (1,2 % < норми), лімфоцитів на 1,7–8,4 %, еозинофілів на 1,7–1,9 % та базофілів на 0,9–1,4 %. Підвищення вмісту лейкоцитів є характерною відповіддю імункомпетентних тканин на дію глюкокортикоїдів і катехоламінів, концентрація яких у крові птиці підвищується під дією різних стрес-факторів. Тоді як, підвищення вмісту лейкоцитів за рахунок саме гетерофілів виникає через гіперкортизолемію і гіперкатехоламінемію, обумовлені стресом, які призводять до збільшення числа та мобілізації їх у крові. Збільшення пулу циркулюючих гетерофілів є результатом підготовки організму до захисної реакції у відповідь на можливі пошкодження.

### ЕКСПОРТ ЛАНДОМІЦИНІВ У *STREPTOMYCES CYANOGENUS* S136: МОЛЕКУЛЯРНИЙ МЕХАНІЗМ РЕГУЛЯЦІЇ

Штам *Streptomyces cyanogenus* S136 продукує суміш ландоміцинів, глікозильованих ангуциклінових природних сполук. Ландоміцин А (ЛаА) – найбільший за молекулярною масою та є фінальним продуктом біосинтетичного шляху ландоміцинів у *S. cyanogenus* S136. Ландоміцини володіють антипроліферативними властивостями і становлять інтерес як потенційні протиракові агенти. Наша робота сфокусована на вивченні процесу експорту ландоміцинів з клітин продуцента. Ця робота має як практичну мету, підвищення синтезу ландоміцинів, так і фундаментальну – краще розуміння механізму експорту як завершального етапу біосинтезу вторинних метаболітів. У попередніх роботах ми показали, що гени *lanK* (кодує репресор родини TetR) та ген *lanJ* (кодує протон-залежний антипортер), які знаходяться у кластері генів біосинтезу ЛаА, задіяні в експорті ландоміцинів. Однак, білок LanJ не є ключовим експортером ландоміцинів, а точний ефектор LanK все ще не з'ясовано. Ми показали, що делеція гена *lanJ* не припиняє синтез ландоміцинів та їхній експорт все ще продовжується. Поза межами *lan*-кластера, в геномі S136 ми ідентифікували паралог *lanJ* (*scy3375*). Делеція обох цих генів призвела до значного зниження синтезу ландоміцинів та накопичення їх у біомасі.

Нами здійснено картування операторного сайту LanK у межах міжгенної ділянки *lanKJ* і показано, що він знаходиться посередині міжгенної ділянки. За допомогою EMSA – тесту показано, що трисахарид є молекулою мінімальної довжини, яка виступає ефектором LanK і запускає його від'єднання від промотора *lanKJ*.

СИРВАТКА В. Я.<sup>1,2</sup>, ГРОМИКО О. М.<sup>1</sup>, КУЛИК Н. В.<sup>1</sup>, ФЕДОРЕНКО В. О.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка, Львів, Україна,

<sup>2</sup>Інститут біології тварин НААН, Львів, Україна,

e-mail: vasyly.syrvatka@gmail.com

### НАНОЧАСТИНКИ МЕТАЛІВ ПРОТИ МЕХАНІЗМІВ АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТІ БАКТЕРІЙ

Набуття та поширення антибіотикорезистентності серед бактерій є однією із глобальних проблем людства, що потребує нагального вирішення. Стійкість до антибіотиків загрожує сталому розвитку всіх сфер де їх застосовують, зокрема, сільського господарства, ветеринарії та медицини. Запобігання появи антибіотикорезистентності лежить у площині раціонального використання антибіотиків, пошуку нових та вдосконалення дії існуючих антибактеріальних речовин. Модифікації наявних на ринку антибіотиків, зокрема, наночастинками металів, є перспективним методом підвищення їхньої ефективності. Наночастинки металів, а саме аргентуму, купруму та цинку, володіють самодостатньою антибактеріальною дією, яка в комплексі з антибіотиками може синергічно посилюватися. Багатофакторна дія таких комплексів може ефективно долати наявні та запобігти появі нових механізмів стійкості бактерій.

Метою дослідження було визначення можливості використання наночастинок металів, зокрема, аргентуму, купруму та цинку, в подоланні механізмів стійкості бактерій до антибіотиків. У роботі було використано типові клінічні штами мікроорганізмів *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 та *Candida albicans* ATCC 885-653, *Bacillus subtilis* ATCC 31324, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 2579, а також колекцію мутантів *Streptomyces albus*, отриманих на кафедрі генетики та біотехнології, зі зміненою стійкістю до антибіотиків, зокрема, *Streptomyces albus*: J1074 (дикий тип), КО-1305, КО-1402, КО-1407, КО-1408 та ΔmiaAB. Для експериментів використовували комплекси наночастинок срібла (AgNP) з різними антибіотиками:

---

ампіцилін (AMP), цефотоксим (СХМ), цефтріаксон (СРО), цефуроксим (СТХ), хлорамфенікол (СНЛ), новобіоцин (NVB), тейкопланін (ТЕІ) та ванкоміцин (VAN), а також наночастинки купруму (CuNP) та цинку (ZnNP). Нано-характеристики наночастинок металів підтверджували та контролювали впродовж експерименту за допомогою спектрофотометрії та трансмісійної електронної мікроскопії. Антибактеріальні властивості комплексів наночастинок та наночастинок з антибіотиками визначали за допомогою мінімальної інгібуючої (МІК) та бактерицидної концентрації (МБК) у середовищах ПБ, GYM та TSB. Як контроль використовували розчини антибіотиків в однакових концентраціях без наночастинок та наночастинки без антибіотиків.

Ми отримали результати, які доводять ефективність наночастинок та їхню спільну дію з антибіотиками. Усі синтезовані комплекси виявляли вищу бактерицидну активність щодо всіх типових клінічних штамів мікроорганізмів, порівняно з контролем. У дикого типу *Streptomyces albus* та ΔmiaAB спостерігалось значне пригнічення росту у групах, які отримували наночастинки комплексів з NVB, СТХ та СХМ, порівняно з антибіотиком без наночастинок. Мінімальна інгібуюча концентрація комплексів наночастинок з антибіотиками становила: 0,55–0,85 мМ для AgNPs-TEI; 0,1–0,5 мМ – AgNPs-VAN; 5,5–8,0 мМ – AgNPs-CHL; 5,5–8,0 мМ – AgNPs-CXM; 4,5–7,5 мМ – AgNPs-CTX; 5,5–8,0 мМ – AgNPs-CRO; 1,5–8,0 мМ – AgNPs-AMP та 4,5–8,5 мМ – AgNPs-NVB.

Таким чином, наночастинки аргентуму, купруму та цинку можуть покращити антибактеріальні властивості антибіотиків і подолати стійкість до них.

**KACHOR A., SAMBORSKYI M., REBETS Y.**

*Explogen LLC, Lviv, Ukraine*

*e-mail: anya.aiva18@gmail.com*

### ***STREPTOMYCES UKRAINASCABIEI*, A NOVEL SPECIES IN THE GENUS *STREPTOMYCES* ASSOCIATED WITH POTATO COMMON SCAB**

Bacteria of genus *Streptomyces* are one of the most important producers of biologically active compounds, such as antibacterial and antifungal antibiotics, antitumor and antiviral agents, enzyme inhibitors and other. Although the majority of the described species are not pathogenic, several cause diseases in humans, animals and plants. One of these is *Streptomyces scabiei*, the plant pathogen associated with potato common scab (PCS). *Streptomyces scabiei* is a predominant species most often found on infected potato tubers, although *S. europaeiscabiei*, *S. turgidiscabies*, *S. acidiscabies*, *S. stelliscabiei*, *S. reticuliscabiei*, *S. luridiscabiei*, *S. puniscabiei*, and *S. niveiscabiei* are described as PCS agents too. All these *S. scabiei* related species are producing a variety of phytotoxic compounds.

The aim of this research was to isolate a new *Streptomyces* species, associated with PCS, from lesions on the potato tuber surface and to study the natural products accumulated by isolated strains in terms of antibacterial and herbicidal activities.

A small piece of potato tissue was taken from lesions on the scabby tuber, homogenized in sterile water and seeded on MS medium supplemented with fosfomycin and cycloheximide. The plates were incubated for 7 days at 28°C. Three actinobacteria strains, designated as *Streptomyces* sp. EXG0029, EXG0030 and EXG0031, were isolated from the surface of tuber lesion with the EXG0031 being dominant one. All three isolates were tested for pathogenicity on radish seedlings. Radish seeds were placed on an 8-day old culture of *Streptomyces* strains and incubated at room temperature for another 8 days. An actinomycete strain was considered pathogenic if the seed germination was abnormal (hypertrophy) or did not germinate.

The strain EXG0029 completely abolished seed germination. Hypertrophic growth of seedlings was observed in the case of strain EXG0031. Metabolites produced by both strains were extracted from biomass and analyzed by LC-MS. The compounds identification was carried out with the Dictionary of Natural Products database using exact mass, origin and absorption spectra parameters. Both strains were found to produce thaxtomine A, a phytotoxin known to be produced by *S. scabiei* and species.

The genomes of *Streptomyces* sp. EXG0029 and EXG0031 were sequenced, assembled and annotated. Results of genomic and phylogenetic analysis proven that both strains EXG0029 and EXG0031 are novel

---

representatives of the genus *Streptomyces* associated with potato common scab and closely related to *S. scabiei*. At the same time, strain EXG0031 is genetically distinct enough to be designated as a novel species named *Streptomyces ukrainascabiei*.

**REBETS Y., LUZHETSKYY A.**

*Explogen LLC, Lviv, Ukraine*  
*info@explogen.com.ua*

## **BIOSENSOR DEVELOPMENT AND APPLICATION**

The progress in molecular biology, genetics and genomics has brought the deep understanding of basic mechanisms of genetic information realization. With accumulation of such knowledge the biology is shifting from analysis era to the new period of synthesis – the construction of dedicated biological devices with the predictable and controllable features and behavior.

The screening for new natural products with the desired chemistry or activities are of a high importance for the biology of antibiotics producing Actinobacteria. At the same time the current methods, primarily based on utilization of analytical instruments, have a serious limitation first of all due to low throughput and poor possibilities for multiplexing. These limitations could be overcome with the development of compound-specific biological sensors.

Herein, we will present the design, construction and tuning of the antibiotic-specific cell-based biosensor for the potent antimycobacterial compound pamamycin. The biosensor is built on the transcription factor PamR2 specifically interacting with the compound and the signal output part consisting of the reporter gene and pamamycin-regulated promoter. The basic design was significantly improved after gaining detailed understanding of the PamR2 functionality. The modification of the signal output part led to decrease in noise to signal ratio. Solving the crystal structure of the PamR2 with the bound pamamycin allowed for the rational protein design in order to increase the operating range of biosensor. As a result, the construct with the low signal to noise ratio and broadened range of concentration recognized by the sensor was built. The biosensor was utilized in the screening program to identify new producers of pamamycins.

At the same time, the understanding of functional and structural properties of PamR2 allowed constructing the hybrid protein by fusing PamR2 DNA-binding domain and ChdA ligand-recognition domain. The chimera protein was found to be functional and able to recognize a wide spectra of tetracycline antibiotics. The properties and potential applications for such biological sensor devices will be presented and discussed.

**SAMBORSKYY M.**

*Explogen LLC, Lviv, Ukraine.*  
*email: marko@explogen.com.ua.*

## **ANTISMASHBLAST – A SECONDARY METABOLITE CLUSTERS GENE HOMOLOGY SEARCH TOOL**

We present a blast database search tool with web interface for searches among secondary metabolite clusters found in Actinobacteria. It allows easy searching for homologues to the genes of interest among the secondary metabolite clusters found in the published actinobacteria genomes. Since domestic metabolism genes are excluded, it simplifies searches in cases, where there are a lot of hits from similar genes involved in primary metabolism. Blast results include convenient links to full antismash results for each of the genomes and NCBI genbank annotation.

It has the BLAST database for each type of sequences:

- 
1. nucleotide – entire genome regions encoding secondary metabolite clusters as predicted by antis-mash – can be used for regulatory elements search;
  2. protein – aminoacid sequences of proteins from secondary metabolite clusters as predicted by antis-mash – for searching of homologues for protein of interest.

The tool's web interface can be accessed at: <http://194.44.177.159:65044/antismashblast/>

This tool is an opensource, and the software components used for creation of the dataset can be found at: <https://github.com/explogen/antismashblast/>