

Л.В. Поліщук, О.І. Бамбура, В.В. Лук'янчук

*Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України,
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ МСП, Д03680, Україна*

АНТИБІОТИЧНА АКТИВНІСТЬ СТРЕПТОМІЦЕТІВ

Проведено дослідження антибіотичної активності метаболітів, що синтезуються 17 штамами стрептоміцетів, у яких виявлено плазмідні ДНК. Досліджувані штами стрептоміцетів було ізольовано із зразків ґрунтів України з різним антропогенним забрудненням. Встановлено, що ці штами стрептоміцетів у своїй більшості (85,3 %) продукують біологічно активні метаболіти, які пригнічують ріст патогенних для людей, тварин чи рослин мікроорганізмів із різних таксономічних груп. Жоден штам із 17 досліджуваних стрептоміцетів не пригнічував росту дріжджів чи кишкової палички.

У всіх 17 досліджених культур стрептоміцетів виявлено полрезистентність до антибіотиків, що застосовуються у медицині та ветеринарії: макролідних, аміноглікозидних, бета-лактамних та інших груп. Виявлено також стійкість окремих штамів (8 культур) до антибіотика тіострептону, що широко використовується у наукових дослідженнях.

Ключові слова: *Streptomyces, антибіотична активність, резистентність до антибіотиків.*

Загальновідома здатність стрептоміцетів продукувати біологічно активні речовини: антибіотики, ферменти, вітаміни тощо. Як встановлено, одна і та ж культура стрептоміцета може продукувати одночасно метаболіти з антибіотичними властивостями різної хімічної природи та механізмом дії. Штами стрептоміцетів використовуються в мікробіологічній промисловості у ролі продуцентів 75 % антибіотиків, що знайшли широке застосування в медицині та ветеринарії. Антибіотики, що синтезуються стрептоміцетами, мають антимікробну, антифунгальну, антигельмінтну та протиракову активність.

Широке застосування антибіотиків при лікуванні людей і тварин, існування горизонтального перенесення плазмідами генів стійкості до антибіотиків (як плазмідних, так і хромосомних), можливість детермінації синтезу антибіотиків плазмідами спонукали інтенсивні дослідження позахромосомної спадковості стрептоміцетів-продуцентів антибіотиків [5, 9, 11, 12, 13, 15, 17]. Встановлено, що гени, які детермінують синтез антибіотиків, регуляцію синтезу та стійкість до утвореного продукту, як правило, розташовані поруч. Регуляція роботи даного кластеру генів здійснюється скоординовано: одночасно з активізацією генів синтезу антибіотика активізуються і гени стійкості до антибіотика [12-15, 17].

Метою даної роботи було виявити синтез метаболітів з антибіотичною активністю у 17 штамів стрептоміцетів, що містили плазмідні, і які були виділені зі зразків ґрунтів України з різним антропогенним забрудненням.

Матеріали та методи. В роботі було використано 17 штамів стрептоміцетів із колекції відділу генетики мікроорганізмів НАНУ, виділених у різні роки зі зразків ґрунтів України з різним антропогенним забрудненням: 1) ґрунти, забруднені гербіцидами (Л-група) – 5 штамів; 2) ґрунти, забруднені солями міді (М-група) – 4 штами та 3) ґрунт із дослідної ділянки ІМВ НАНУ (Т-група) – 8 штамів) (табл. 1) [5]. Родова належність мікроорганізмів визначена за допомогою рекомендацій визначників [1].

При виконанні роботи використовували агаризовані середовища: соєве, Гаузе 1, МПА [1]. Середовища соєве та МПА, до складу яких входять природні компоненти (такі, як соєве борошно і м'ясний бульйон) використовували при збереженні досліджуваних та тестерних культур. Синтетичне середовище Гаузе 1 використовували при дослідженні антибіотичної активності.

Здатність штамів стрептоміцетів синтезувати речовини з антибіотичними властивостями досліджували методом накладання агарових блоків, що були вирізані з п'ятидобових газонів культур, вирощених на соєвому середовищі. У ролі тест-культур було використано представників різних таксономічних груп: *Clavibacter michiganensis* 13a, *Pseudomonas syringae* 8511, *Erwinia carotovora* 8982, *Escherichia coli* УКМ В 906, *Agrobacterium tumefaciens* 8628, *Xanthomonas campestris* 80036, *S.levoris* 165, *S.globisporus* 1912, *Mycobacterium smagmatis* NCTS

© Л.В. Поліщук, О.І. Бамбура, В.В. Лук'янчук, 2012

Генетичні, морфологічні та фізіолого-біохімічні властивості плазмідовмісних штамів стрептоміцетів

Штами	Плазмід, тпн	Синтез антибіотичних речовин	Споруляція	Пігменти
<i>S.sp.</i> J155	30-40	Виявлено	Spo ⁺	Світло-коричневий
<i>S.sp.</i> J127	30-40		Spo ⁺	Коричневий
<i>S.sp.</i> J141	60-70	Виявлено	Spo ⁺	
<i>S.sp.</i> J142	13-15	Виявлено	Spo ⁺	Коричневий
<i>S.sp.</i> J125	13,7 *	Виявлено	Spo ⁺	Фіолетовий
<i>S.sp.</i> T1	13-15		Spo ⁻	Коричневий
<i>S.sp.</i> T2	13-15	Виявлено	Spo ⁺	
<i>S.sp.</i> T4	30-40	Виявлено	Spo ⁻	Коричневий
<i>S.sp.</i> T8	3,75; 7,5 *	Виявлено	Spo ⁺	Фіолетовий
<i>S.sp.</i> T19	декілька	Виявлено	Spo ⁺	
<i>S.sp.</i> T23	10-15	Виявлено	Spo ⁺	
<i>S.sp.</i> T25	10-15	Виявлено	Spo ⁺	
<i>S.sp.</i> T29	25-40		Spo ⁺	
<i>S.sp.</i> M4	10-13	Виявлено	Spo ⁺	
<i>S.sp.</i> M5	6-8, 13-15	Виявлено	Spo ⁻	Коричневий
<i>S.sp.</i> M25	13-15	Виявлено	Spo ⁻	Червоно-коричневий
<i>S.sp.</i> M28	8-10	Виявлено	Spo ⁺	

Примітка: * – точний молекулярний розмір плазмід визначено за даними рестрикційного аналізу

Чутливість культур стрептоміцетів до антибіотиків досліджували методом накладання стандартних паперових дисків з антибіотиками [3]. У дослідженнях використовуються диски із антибіотиками таких груп: аміноглікозиди (гентаміцин, канаміцин, мономіцин, неоміцин, стрептоміцин), макроліди (олеандоміцин, еритроміцин), β-лактами (ампіцилін, бензилпеніцилін, карбепеніцилін, метицилін, оксацилін) та представники деяких інших груп (рифампіцин, тетрациклін, левоміцетин, полімиксин) (фірма «НИЦФ», Росія). Тіострептон фірми “Sigma”, США додавали в середовище Гаузе 1 до концентрації 50 мкг/мл.

Результати та їх обговорення. Багато уваги надається вченими дослідженню шляхів синтезу стрептоміцетами антибіотиків, їх детермінації і регуляції, зв'язку цих біосинтетичних процесів із первинним метаболізмом, цитодиференціацією та наявністю в клітинах плазмідної ДНК [7, 8, 19]. Для більшості стрептоміцетів встановлено, що структурні гени синтезу вторинних метаболітів (у тому числі і антибіотиків) мають здебільшого хромосомну локалізацію [11, 15, 19]. Дослідниками виявлена наявність позахромосомної ДНК у багатьох штамів продуцентів антибіотиків. Молекулярний розмір плазмід цих штамів становив 12-1000 тпн [13]. Однак, тільки для невеликої кількості плазмід встановлена детермінація синтезу антибіотиків чи його регуляції. Так, наприклад, встановлено, що плазміда *Streptomyces rochei* pSLA2-L (210,6 тпн) детермінує синтез антибіотиків ланкацидіну та ланкаміцину, плазміда *Streptomyces lasaliensis* pKSL (520,0 тпн) – синтез ласалоциду та ехіноміцину. Однак, беззаперечно доведено тільки локалізацію генів, необхідних для синтезу антибіотика метиленоміцину А (*mmu-mmf*-кластеру), на плазмідах SCP1 (356 тпн, *Streptomyces coelicolor*), pSV1 (175,4 тпн, *Streptomyces violaceoruber*) та ще ряду інших [8, 11, 13]. Крім цього виявлено кореляцію наявності плазмідних ДНК з синтезом антибіотиків для ряду культур стрептоміцетів, наприклад плазміди pSA1 (8,8 тпн, *Streptomyces ambofaciens*) та pSLL (93, 0 тпн, *Streptomyces laurentii*). Вважається, що ці плазміди містять гени, що регулюють синтез спіраміцину та тіострептону, відповідно [12, 14].

Раніше нами вже повідомлялося, що 94 штамів стрептоміцетів, які були виділені зі зразків ґрунтів України з різним антропогенним забрудненням, були досліджені нами на наявність позахромосомної ДНК, і було виявлено 17 штамів, які містили плазміди [5]. Серед штамів, що були виділені з ґрунтів із різною антропогенною контамінацією, спостерігалася різна по-

ширеність плазмідних ДНК: 10 % (Л-група), 16 % (М-група) та 42 % (Т-група). Молекулярні розміри виявлених нами плазмідних ДНК були у діапазоні від 3 тпн до 70 тпн. Встановлено, що ряд штамів містять більш ніж 1 плазмиду (*Streptomyces sp.*M15, *S.sp.*T8, *S.sp.*T19).

Як відомо, стрептоміцети здатні синтезувати антибіотичні речовини різної хімічної природи, які можуть бути активними щодо широкого спектру мікроорганізмів, грибів та пухлин [2, 4, 19, 20]. Тому у ролі тестерних у даній роботі використовувалися мікроорганізми (14 культур), що належать до різних таксономічних груп: ентеробактерій, бацил, дріжджів, актиноміцетів.

Встановлено, що 14 штамів (82,3 %) синтезують антибіотичні речовини, що пригнічують ріст та розвиток одного чи більше використаних тестерних прокаріотичних мікроорганізмів. Метаболіти тільки трьох штамів (*S.sp.*L27, *S.sp.*T1 та *S.sp.*T29) не пригнічували ріст чи розвиток жодної з 14 використаних культур мікроорганізмів (табл. 2). Жоден штам із 17 досліджуваних стрептоміцетів не пригнічував росту дріжджів та кишкової палички.

Таблиця 2

Спектр антибіотичної активності досліджуваних стрептоміцетів

Досліджувані штами <i>Streptomyces</i>	Штами тестерних культур											
	Кількість чутливих тест-культур	<i>Clavibacter michiganensis</i> 13a	<i>Pseudomonas syringae</i> 8511	<i>Erwinia carotovora</i> 8982	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 8628	<i>Xanthomonas campestris</i> 80036	<i>Streptomyces levoris</i> 165	<i>Streptomyces globisporus</i> 1912	<i>Mycobacterium smagmatis</i> NCT5 8150	<i>Bacillus subtilis</i> H24	<i>Corynebacterium glutamicum</i> ATCC14020	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S.sp.</i> L25	6			+	+	+	+	+	+			
<i>S.sp.</i> L27	0											
<i>S.sp.</i> L41	5	+				+		+				+
<i>S.sp.</i> L42	4				+	+	+			+		
<i>S.sp.</i> L55	3	+					+	+				
<i>S.sp.</i> T1	0											
<i>S.sp.</i> T2	8				+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S.sp.</i> T4	8	+				+	+	+	+	+	+	+
<i>S.sp.</i> T8	5					+	+	+	+			+
<i>S.sp.</i> T19	2	+									+	
<i>S.sp.</i> T23	2					+		+				
<i>S.sp.</i> T25	3	+				+		+				
<i>S.sp.</i> T29	0											
<i>S.sp.</i> M4	6		+				+	+		+	+	+
<i>S.sp.</i> M5	1							+				
<i>S.sp.</i> M25	6	+	+				+	+	+	+		+
<i>S.sp.</i> M28	4	+					+		+			+

Штами *S.sp.*T2 та *S.sp.*T4 продукували метаболіти, що були активними проти більшості використаних тест-культур (по 8 культур). Встановлено, що тестерні штами *S.levoris* 165 та *S.globisporus* 1912 є найбільш чутливими до антибіотичних речовин, синтезованих досліджуваними штамми плазмідовмісних стрептоміцетів. У той час, як найбільш стійкими є використані штами ервінії та псевдомонад.

Цікавою є виявлена здатність метаболітів переважної більшості штамів стрептоміцетів пригнічувати ріст фітопатогенних бактерій. Наприклад, встановлено, що найбільш чутливими з використаних фітопатогенів до дії метаболітів стрептоміцетів виявилися *Clavibacter michiganensis* 13a та *Xanthomonas campestris* 80036. Тільки 4 штами виявилися нездатними пригнічувати ріст фітопатогенних штамів. Найбільш активним щодо цих тест культур є штам *S.sp.*L25. Його метаболіти пригнічують ріст 3 з 5 штамів, у тому числі і *Erwinia carotovora* 8982, яка не пригнічувалася жодним іншим досліджуваним штамом стрептоміцетів.

Раніше нами проведені дослідження чутливості фітопатогенних штамів до 83 штамів стрептоміцетів загалом (як плазмідовмісних, так і безплазмідних), що були відібрані з ко-

лекції культур, ізольованих ґрунтів з антропогенним навантаженням [6]. Необхідно відмітити, що збереглися загальні тенденції активності досліджуваної колекції штамів стрептоміцетів: (незалежно від вибірковості другої колекції по плазмідному статусу) найбільш чутливими в обох дослідженнях є штами *Clavibacter michiganensis* 13a та *Xanthomonas campestris* 8003b, а найменш чутливим є штам *Agrobacterium tumefaciens* 8628. Однак, виявлено значне зменшення кількості активних штамів стрептоміцетів відносно *Pseudomonas syringae* 8511 (11,7% плазмідовмісних штамів проти 55,8 % загальної колекції). Вдвічі збільшився і відсоток неактивних штамів (з 8,0 % до 17,6 %). У попередньому дослідженні серед штамів з Т-групи не було жодного, який би не пригнічував ріст фітопатогенних мікроорганізмів, однак, у приведених дослідженнях, два з трьох неактивних плазмідовмісних штамів належать до цієї групи.

Як відомо, в хіміотерапії пухлин широко застосовують антибіотики, що синтезовані стрептоміцетами, наприклад, полікетидний антибіотик доксорубіцин [2]. Загальною характеристикою таких антибіотиків є їх активність відносно представників цієї ж родини. В нашій роботі в ролі тест-культур використано 3 штами актиноміцетів: *S.levoris* 165, *S.globisporus* 1912 та *Corynebacterium glutamicum* ATCC14020).

Встановлено, що всі три тестерні штами актиноміцетів пригнічуються тільки трьома з 17 досліджуваних штамів, дві тест-культури пригнічуються десятьма штамів, а 10 досліджуваних штамів продукували метаболіти активні стосовно тільки одного з штамів актиноміцетів. Метаболіти штаму *S.sp.*M5 пригнічували ріст тільки однієї з 17 тест-культур – *S.globisporus*.

Ми вважаємо, що потребують подальших досліджень метаболіти 7 штамів стрептоміцетів, які здатні утворювати стерильні зони на газоні *Staphylococcus aureus* – у зв'язку з поширенням стафілококових інфекцій.

Однією з найголовніших морфологічних ознак стрептоміцетів є утворення повітряного міцелію. Дослідження цієї характеристики необхідне у зв'язку з тим, що з одного боку, утворення поверхневих білків спор стрептоміцетами у деяких штамів детермінується плазмідами (наприклад, SCP1, SCP2 і SLP2), а з другого – виявлено, що спорування корелює з синтезом біологічно активних речовин, зокрема антибіотиків [4, 8, 10].

Серед 17 плазмідовмісних штамів виявлено 4 «лисі» культури, які не мали характерного для типових спорулюючих культур стрептоміцетів оксамитової поверхні колоній (так звані «bald-colonies»). (табл. 1). Виявлено також 2 штами, у яких спонтанно з'являються неспорулюючі колонії (*S.sp.*T8, *S.sp.*J125). З іншого боку, внесення в поживне середовище сульфату цинку (2,5 мМ) призводило до споруляції «лисого» штаму *S.sp.*M25. В наших дослідженнях не виявлено чіткої кореляції між споруванням та антибіотичною активністю штамів стрептоміцетів: три з чотирьох «лисих» культур синтезували метаболіти, що пригнічували ріст тест-мікроорганізмів (табл. 2).

Деякі первинні та вторинні метаболіти, що синтезуються стрептоміцетами, забарвлюють міцелій, спори чи поживне середовище в різні кольори [4, 10, 20]. Встановлено, що вони виконують різні функції в клітині. Одні з них – це вітаміни (наприклад, жовті – це провітамін А), інші – це антибіотики (фіолетові – ландоміцин Е). Наявність пігментації також, за даними літератури, корелює з активністю синтезу антибіотиків [4, 19, 20]. Як видно з табл. 1, 53 % штамів продукують дифундуючі пігменти різних відтінків та інтенсивності. Більшість із них (7 штамів з 9) забарвлюють середовище в коричневий колір. Також виявлено і синтез пігменту, який забарвлює середовище у фіолетовий колір. Як видно з табл. 1, у досліджуваних культур стрептоміцетів кореляції синтезу антибіотиків та забарвлення середовища не виявлено.

Доведено, що культури стрептоміцетів, що продукують метаболіти з біоцидними властивостями – є головними донорами генів стійкості до цих речовин. Таке горизонтальне поширення генів у біоценозах здійснюється завдяки здатності плазмід переносити як свій генетичний матеріал, так і мобілізувати перенесення хромосомної ДНК клітини хазяїна. Існуюча загрозна ситуація із резистентністю до антибіотиків патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів вимагає, з одного боку, інтенсивних пошуків нових антибіотиків, а з другого – вивчення стійкості культур стрептоміцетів (як промислових продуцентів антибіотиків, так і ґрунтових ізолятів).

За даними літератури, найбільш поширеними механізмами резистентності мікроорганізмів до антибіотиків, що кодуються хромосомними та плазмідними генами, є ферментативна

модифікація мішеней дії антибіотиків, руйнування антибіотиків та efflux-механізм виведення цих токсичних речовин із клітини. Відомо, що гени стійкості до антибіотиків є невід'ємною частиною кластеру генів, що забезпечують синтез антибіотиків, наприклад ген стійкості до метиленоміцину А (*mmr*-ген, 1,43 тпн) входить до *mmu*-*mmf*-кластеру генів (22,0 тпн), що детермінує синтез антибіотика плазмід SCP1 *Streptomyces coelicolor*, рSV1 *Streptomyces violaceoruber* та ще ряду інших [13]. Крім того, встановлено, що ряд інших плазмід також містять гени резистентності, які не є частиною біосинтетичних кластерів [9, 16, 17]. Доведено, що гени стійкості до антибіотиків, як і кластери генів, що детермінують синтез антибіотиків, мають хромосомне походження – вони були «прихоплені» плазмідами при ексцизії інтегрованих форм з хромосом клітин стрептоміцетів продуцентів антибіотиків [13].

Встановлено, що плазмідні гени резистентності здебільшого детермінують ферменти, які модифікують молекули антибіотиків чи мішені їх дії. Наприклад, плазміда рNO33 (37,0 тпн, *S.albus* IFO14147) кодує β-лактамазу, яка забезпечує клітині стійкість до ампіциліну [17]. В той же час, штам *S.thermoluteus* T422 отримує стійкість до еритроміцину-лінкоміцину-спіраміцину завдяки тому, що плазміда рST4 (25,7 тпн) детермінує РНК-метилазу, яка модифікує рибосомальну РНК, а плазміда рST1 (27,0 тпн) штаму *S.thermogriseoviolaceus* T422 забезпечує стійкість клітин до рифампіцину завдяки ферментативній модифікації ДНК-залежної-РНК-полімерази [9]. За даними літератури, навіть плазміди, молекулярний розмір яких не перевищує 10 тпн, можуть кодувати стійкість до антибіотиків: так плазміда рGIF3 *S.incarnatus*, що детермінує стійкість до тіострептонону, має молекулярний розмір 8,7 тпн. Молекулярний розмір *tsr*⁺-гену плазміди рGIF3 становить 1,14 тпн [16].

Була досліджена резистентність 17 плазмідовмісних штамів стрептоміцетів до 17 антибіотиків, які належать до різних груп: β-лактамних, аміноглікозидних, макролідних, поліпептидних, тетрацикліну, хлорамфеніколу (табл. 3). Всі перевірені культури стрептоміцетів виявилися найбільш стійкими до β-лактамів. Більшість штамів (52,9 %) виявляли стійкість всіх β-лактамних антибіотиків, 8 інших штамів із них продемонстрували різну стійкість до антибіотиків цієї групи. Так, наприклад, штамми *S.sp.*T1 та *S.sp.*M5 виявилися стійкими тільки до карбевіліна, а штам *S.sp.*T4 стійкий до трьох антибіотиків (ампіциліну, пеніциліну та метициліну).

Таблиця 3

Стійкість плазмідовмісних штамів стрептоміцетів до антибіотиків

Досліджувані штам	Антибіотики																
	Амп	Пен	Кар	Мет	Окс	Ген	Кан	Мон	Нео	Стр	Лев	Ери	Оле	Пол	Тет	Риф	Тіо
<i>S.sp.</i> L25	R	R	R		R							R	R	R			
<i>S.sp.</i> L27	R	R	R	R	R						R	R	R		R		R
<i>S.sp.</i> L41	R	R	R										R		R		R
<i>S.sp.</i> L42	R	R	R	R	R								R		R		
<i>S.sp.</i> L55	R	R	R	R	R		R				R			R			R
<i>S.sp.</i> T1			R			R					R			R		R	R
<i>S.sp.</i> T2	R	R	R	R	R						R			R			
<i>S.sp.</i> T4	R	R				R						R	R		R	R	
<i>S.sp.</i> T8	R	R	R	R	R						R			R	R		R
<i>S.sp.</i> T19	R	R	R	R	R				R				R				R
<i>S.sp.</i> T23	R	R	R	R	R						R		R	R			
<i>S.sp.</i> T25	R		R	R	R					R			R				R
<i>S.sp.</i> T29			R	R	R						R						R
<i>S.sp.</i> M4	R		R									R		R	R	R	
<i>S.sp.</i> M5			R					R	R		R	R	R	R	R		
<i>S.sp.</i> M25	R	R	R	R	R						R			R	R		R
<i>S.sp.</i> M28	R	R	R	R	R								R	R			

Примітки: Амп – ампіцилін, Пен – бензилпеніцилін, Ери – еритроміцин, Кан – канаміцин, Кар – карбевілін, Лев – левоміцетин, Мет – метицилін, Мон – мономіцин, Нео – неоміцин, Оле – олеандоміцин, Окс – оксацилін, Пол – полмиксин, Риф – рифампіцин, Стр – стрептоміцин, Тет – тетрациклін, Тіо – тіострептон; R – стійкість до антибіотика.

Найбільш чутливими ці штам стрептоміцетів виявилися до всіх застосованих аміноглікозидних антибіотиків: тільки штам *S.sp.*M5 був резистентним до двох із 5 використаних. Чотири з 17 досліджених стрептоміцетів виявилися стійкими до обох макролідних антибіотиків. Чутливими до обох макролідів, як встановлено, є 35,3% культур.

Резистентність до тіострептону детермінується „малою” стрептоміцетною плазмідною рGIF3 (8,7 тпн) [16]. Нами встановлено, що 8 штамів стрептоміцетів є чутливими до тіострептоні.

Найбільш резистентними виявилися штами *S.sp.*M25, *S.sp.*J127 та *S.sp.*T8: вони були стійкі до всіх п'яти β-лактамічних антибіотиків, левоміцетіна, тетрацикліна та ряду інших.

Таким чином, нами встановлено, що досліджувані плазмідовмісні штами стрептоміцетів у своїй більшості (85,3 %) мають здатність продукувати біологічно активні метаболіти, які пригнічують ріст мікроорганізмів із різних таксономічних груп, що є патогенними для людей, тварин чи рослин. У всіх 17 досліджених культур стрептоміцетів встановлена також наявність резистентності до багатьох антибіотиків, які застосовуються в медицині та ветеринарії. Виявлено і стійкість цих ґрунтових ізолятів до антибіотика тіострептоні, що широко використовується у наукових дослідженнях.

Виходячи з даних літератури, що, по-перше, здебільш плазмідну локалізацію встановлено для генів, які детермінують стійкість до антибіотиків чи важких металів, а, по-друге, гени резистентності є невеликими за розмірами, ми вважаємо, що найбільш можливою є детермінація виявленими нами плазмідами стійкості до антибіотиків, наприклад, β-лактамічних чи тіострептоні. Однак, така наша гіпотеза потребує підтвердження.

Л.В. Полищук, О.И. Бамбура, В.В. Лукьянчук

Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины; ул. Академика Заболотного, 154, Киев МСП, Д 03680, Украина

АНТИБИОТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ СТРЕПТОМИЦЕТОВ

Резюме

Проведены исследования антибиотической активности метаболитов синтезуемых 17 штаммами стрептомицетов, содержащих плазмидные ДНК. Исследованные штаммы были выделены из образцов почв Украины с разной антропогенной нагрузкой. Установлено, что эти штаммы, в своем большинстве (85,3%), синтезируют биологически активные метаболиты, угнетающие рост патогенных для людей, животных или растений микроорганизмов различных таксономических групп. Ни один из 17 штаммов исследованных стрептомицетов не угнетал рост дрожжей или кишечной палочки.

У всех 17 исследованных культур стрептомицетов выявлено множественную резистентность к антибиотикам, которые используются в медицине и ветеринарии: макролидным, аминогликозидным, бета-лактамым и других групп. Виявлена и устойчивость некоторых штаммов (8 культур) к антибиотіку тіострептоні, широко використовуємому в научних дослідженнях.

К л ю ч е в ы е с л о в а: Streptomyces, антибиотическая активность, устойчивость к антибиотикам.

L.V. Polishchuk, O.I. Bambura, V.V. Lukyanchuk

Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

ANTIBIOTICAL ACTIVITY OF STREPTOMYCES CULTURES

S u m m a r y

Antibiotical activity of metabolites synthesized by 17 plasmid-containing cultures of *Streptomyces* has been studied. These cultures were isolated from soils of Ukraine with different anthropogenic contamination. The cultures, in their majority (85.3%), synthesized bioactive metabolites, which suppressed growth of microorganisms of different taxonomical groups, pathogenic for people, animals or plants. None of 17 *Streptomyces* cultures was able to suppress growth of yeasts or *Escherichia coli*.

All 17 investigated cultures of *Streptomyces* were polyresistant to antibiotics, which were used in medicine and veterinary: makrolide, aminoglycoside, beta-lactam and other groups. Resistance of 8 cultures to the antibiotic thiostrepton, which was widely used in some branches of science, was found.

The paper is presented in Ukrainian.

K e y w o r d s: Streptomyces, antibiотical activity of metabolites, resistance to antibiotic.

The author's address: Polishchuk L.V., Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine; 154 Acad. Zabolotny St., Kyiv, MSP, D 03680, Ukraine.

1. Валагурова Е.В., Козырицкая В.Е., Иутинская Г.А. Актиномицеты рода *Streptomyces*. Описание видов и компьютерная программа их идентификации. – Киев : Наук. думка, 2003. – 496 с.
2. Гаузе Г.Ф., Дудник Ю.В. Противоопухолевые антибиотики. – М.: Медицина, 1987. – 175 с.
3. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках. – М.: Высш. школа, 1986. – 448 с.
4. Калакуцкий Л.В., Агре Н.С. Развитие актиномицетов. – М.: Наука, 1977. – 285 с.
5. Лук'яничук В.В., Полищук Л.В., Мацелюх Б.П. Плазмиды стрептомицетів, ізольовані з ґрунтів України з різним антропогенним навантаженням // Мікробіол. журн. – 2010. – 72, № 5. – С.19–26.
6. Полищук Л.В. Бамбура О.І. Дослідження чутливості фітопатогенних бактерій до метаболітів стрептомицетів // Збірник статей учасників міжнародної конференції «Фітопатогенні бактерії, фітонцидологія, алелопатія». – Київ, 2005. – С.188–191.
7. Baltz R.H. Genetics and biochemistry of tylosin productin : A model for genetic engineering in antibiotic-producing *Streptomyces* // Genetic Engineering of Microorganisms for Chemicals / Eds A. Hollaender, R.D. DeMoss, S. Kaplan, J. Konisky, D. Savage, R.S. Wolfe // Proc. Symp. Chempaian. Urbana. – New-York; London : Plenum Press, 1982. – P. 431–444.
8. Champness W., Riggle P., Adamidis T., Vandervere L.P. Identification of *Streptomyces coelicolor* genes involved in regulation of antibiotic synthesis // Gene. – 1992. – 115. – P.55–60.
9. Chongguang L., Yugu X. Study on the plasmids of thermophilic *Streptomyces* // J. Genetics and Genomics (China). – 1988. – 15, N 3. – P. 207–214.
10. Davis N.K., Chater K.F. Spore color in *Streptomyces coelicolor* A3(2) involves the developmentally regulated synthesis of a compound biosynthetically related to polyketide antibiotics // Mol. Biol. – 1990. – 4, N 10. – P.1679–1691.
11. Hirochika H., Nakamura K., Sakaguchi K. A linear DNA plasmid from *Streptomyces rochei* with an inverted terminal repetition of 614 base pairs // EMBO J. – 1984. – 3. – P.761–766.
12. Ikeda H., Tanaka H., Omura S. Genetic and biochemical features of spiramycin biosynthesis in *Streptomyces ambofaciens* – curing, protoplast regeneration and plasmid transfer // J. Antibiot. (Tokyo). – 1982. – 35, N 4. –P.507–16.
13. Kinashi H. Giant linear plasmids in *Streptomyces*: a treasure trove of antibiotic biosynthetic clusters // J. Antibiot. (Tokyo). – 2011. – 64, N 1. – P.19–25.
14. Kinoshita-Iramina C., Kitahara M., Doi K., Ogata S. A conjugative linear plasmid in *Streptomyces laurentii* ATCC31255 // Biosci. Biotechnol. Biochem. –1997. – 61, N 9. – P.1469–1473.
15. MacNeil D.J., Ocei J.L., Gewain K.M., MacNeil T., Gibbons P.H., Ruby L.C., Danis S.J. Complex organization of the *Streptomeces avermitilis* genes encoding the avermectin polyketide synthase // Gene. – 1992. – 115. –P.119–125.
16. Malina H., Roberto-Gero M. Characterization of an 8.7-kilobase tiostreptone resistance-encoding plasmid (pDIF3) of *Streptomyces incarnates* // Appl. Environ. Microbiol. – 1992. – 58, N 3. – P.895–899.
17. Takagi H., Hoshino Y., Nakamori S., Inouve S. Isolation and sequence analysis of plasmid pN033 in the epsilon-poly-L-lysine-producing actinomycete *Streptomyces albulus* IFO14147 // J. Biosci. Bioeng. – 2000. –89, N 1. – P.94–96.
18. Thompson C.J., Skinner R.H., Thompson J., Ward J.M., Hopwood D.A., Cundliffe E. Biochemical characterization of resistance determinants cloned from antibiotic-producing *Streptomyces* // J. Bacteriol. – 1982. –151, N 2. – P.678–685.
19. Vining L.C. Secondary metabolism, inventive evolution and biochemical diversity – a review // Gene. –1992. – 115. – P.135–140.
20. Waksman S.A. The Actinomycetes. – Baltimor, USA : Waverly Press, Inc., 1961. – 1. – 327 p.

Отримано 23.05.2011