

ВЛАСТИВОСТІ СТРЕПТОМІЦИН-СТІЙКИХ МУТАНТІВ *STREPTOMYCES ALBUS* J1074, ОТРИМАНИХ МЕТОДАМИ ГЕНЕТИЧНОЇ ІНЖЕНЕРІЇ ТА СЕЛЕКЦІЇ

Шемедюк А.Л.

Львівський національний університет імені Івана Франка

Науковий керівник – Осташ Б.О., доктор біологічних наук, доцент,
головний науковий співробітник кафедри генетики та біотехнології
Львівського національного університету імені Івана Франка

Незважаючи на стрімкі темпи розвитку медицини та біотехнології в останнє десятиліття спостерігається зростання рівня резистентності патогенних мікроорганізмів до більшості відомих антибіотиків. Ця проблема спонукає до пошуку й розробки нових діючих препаратів та модифікації вже наявних. Головними продуцентами антибіотиків є грампозитивні бактерії роду *Streptomyces*. Детальніше вивчення молекулярних процесів, механізмів регуляції синтезу є передумовою виявлення нових класів сполук та створення промислових штамів. Одним із доведених способів отримання промислових продуцентів антибіотиків є мутанти стрептоміцетів, які містять мутації гена *rpsL*, що кодує рибосомний білок S12. З 1996 р. японським професором Козо Очі виявлено низку алелів *rpsL*, що стимулюють продукцію антибіотиків. Наявність цих мутацій у різних бактерій веде до зміни точності трансляції, активності окремих метаболічних шляхів. Білок S12 є частиною динамічного сайту декодування, де забезпечується правильне розпізнавання кодонів. Це пояснює вплив *rpsL*-мутацій на точність трансляції, хоча послідовність подій від мутацій до зміни активності окремих метаболічних шляхів досі потребує детального вивчення. Спонтанні мутанти за *rpsL*-геном потенційно можуть нести й інші мутації, що необхідні для збалансованої та нормальної життєдіяльності клітини. Наявність кількох мутацій може надати перевагу спонтанному мутанту порівняно зі створеним штучно геном, наприклад, методами генетичної інженерії, і такий штам буде продуктивнішим. Однак, на сьогодні в науковій літературі не описано порівняння *rpsL*-мутантів різного походження, які б містили ідентичну *rpsL*-мутацію.

У роботі виконана порівняльна характеристика *Streptomyces albus*, що містять однакову точкову мутацію K88E в гені *rpsL*, але створені різними методами: з допомогою методів генної інженерії (*S. albus* K88E) і пошуку серед спонтанних мутантів стійких до стрептоміцину (*S. albus* KO-1297). Досліджувана мутація виявляється у зміщенні залишку лізину на глутамат у 88-му положенні рибосомного білка S12. Такі мутації у стрептоміцетів спряжені з фенотипом надпродукції антибіотиків. Тому обрана тема роботи актуальна, оскільки пов'язана з проблемою підвищення продуктивності штамів-продуцентів антибіотиків.

У результаті роботи виявлено, що *S. albus* КО-1297 володіє вищими показниками антибіотичної активності, ніж штам створений методами генетичної інженерії. Це вказує на існування додаткових мутацій у геномі спонтанного мутанта, виявлення яких становить неабиякий теоретичний та практичний інтерес. У ширшому розумінні, робота свідчить про те, що геноми мутантів бактерій, отриманих методами традиційної селекції, можуть містити складні набори мутацій навіть після одного циклу відбору. Ці мутації можуть бути відмінні від тих, що доступні методами генетичної інженерії.

Сконструйовано нову плазмиду для інтеграції алелі *rpsL* (L90K) у геноми стрептоміцетів. Ця плазміда дає можливість коекспресії кількох різних алелей *rpsL* в одному геномі, паралельно з інтеграцією гетерологічних кластерів генів продукції антибіотиків.