

**ПРОДУКЦІЯ САЛЬМОЦИНУ *SalE1b* В ТРАНСГЕННИХ РОСЛИНАХ
Nicotiana tabacum ТА ВИЗНАЧЕННЯ АНТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ
ЕКСТРАКТІВ ТЮТЮНУ ПРОТИ *SALMONELLA ENTERICA***

Овчаренко О. О.^{1,2}, Рудас В. А.¹, Балко О. І.³, Балко О. Б.³, Кучук М. В.¹

¹*Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України*

²*Національний технічний університет України*

«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»

³*Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України*

ovcharenkooo77@gmail.com

Проблема виникнення стійких до антибіотиків штамів в умовах сьогодення має значну актуальність через широке застосування антибіотиків в медицині і сільському господарстві. Мікроорганізми можуть набувати резистентність через ряд механізмів, у т.ч. за допомогою формування біоплівки [1]. Пошук нових антимікробних речовин потребує детальних досліджень. Бактеріоцини є однією із груп сполук з антимікробною активністю [2]. Це речовини білкової природи, які синтезуються багатьма мікроорганізмами. Одними із перспективних представників бактеріоцинів вважаються сальмоцини, які проявляють антимікробну активність щодо широкого спектру бактерій роду *Salmonella*. Рослини можуть бути потенційними продуцентами бактеріоцинів, оскільки характеризуються рядом переваг. Нами була проведена *Agrobacterium*-опосередкована генетична трансформація тютюну (*Nicotiana tabacum*) сорту Самсун генетичною конструкцією pNMD35541 з геном сальмоцину *SalE1b*. В конструкції використано вектор з системою *magnICON*, який несе гени біосинтезу сальмоцину та елементи вірусу тютюнової мозаїки під контролем етаноліндуцибельного промотора, люб'язно наданий фірмою Nomad Bioscience GmbH [3]. Конструкція дозволяє отримувати стабільно трансформовані рослини, які будуть синтезувати гетерологічний білок лише після індукції етанолом, що дозволяє уникнути метаболічного перевантаження рослини продуцента під час росту, підсилити рівні експресії цільового гена та підвищити рівень біобезпеки таких рослин продуцентів, оскільки цільовий ген без індукції не працює. Недоліком такої конструкції є Т-ДНК великий розмір, що ускладнює процес перенесення. Хоча тютюн вважається модельним видом при генетичній трансформації, через значний розмір Т-ДНК методика потребувала модифікації, оскільки неодноразові спроби отримати трансформовані рослини з цією конструкцією за допомогою традиційної методики не були успішними. Регенерація трансгенних пагонів була отримана лише при модифікованому методі генетичної трансформації, для чого збільшили час співкультивування, використали 2,4-Д та ацетосиренгон. Всі експланти в подальшому культивували на середовищі MCP з доданням 100 мг/л канаміцину. Було отримано понад 100 незалежних ліній. Рослини адаптували *ex vitro* та вирощували в теплиці. Після індукції етанолом в рослинах відбувалася експресія гена біосинтезу сальмоцину. Екстракти рослин виявляли антимікробну активність проти *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Ebony* NCTC 6017. Лінії відрізнялися між собою за рівнем антимікробної активності. Були відібрані лінії трансгенних рослин, які мали високу антимікробну активність екстрактів, що становила понад 600 тис. ОА/г СВ листків.

ЛІТЕРАТУРА

1. Balko, O.I., Avdeeva, L.V., Balko, O. B. (2018). Depositary Function of *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm on Media with Different Carbon Source Concentration. *Mikrobiolohichnyi Zhurnal*, 80(6). 15-27. doi: <https://doi.org/10.15407/microbiolj80.06.015>
2. Balko, O. I., Balko, O. B. & Avdeeva, L. V. (2020). Bacteriocins of Some Groups of Gram-Negative Bacteria. *Mikrobiolohichnyi Zhurnal*, 82(3). 71-84. <https://doi.org/10.15407/microbiolj82.03.071>
3. Schneider, T., Hahn-Löbmann, S., Stephan, A., Schulz, S., Giritch, A., Naumann, M., ... & Gleba, Y. (2018). Plant-made *Salmonella* bacteriocins salmocins for control of *Salmonella* pathogens. *Scientific reports*, 8(1), 4078. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-22465-9>