

УДК 615.332, 663.18

DOI: 10.20535/ibb.2017.1.1.112896

Т.С. Тодосійчук<sup>1\*</sup>, В.О. Федоренко<sup>2</sup>, М.В. Молочко<sup>1</sup>, О.М. Громико<sup>2</sup>

<sup>1</sup>КПІ ім. Ігоря Сікорського, Київ, Україна

<sup>2</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка, Львів, Україна

## РОЗРОБЛЕННЯ УМОВ ГЛИБИННОГО БІОСИНТЕЗУ АНТИБІОТИКА ЛАНДОМІЦИНУ А

**Проблематика.** Розробка способу та біотехнології виробництва протипухлинного антибіотика мікробного походження – ландоміцину А.

**Мета дослідження.** Встановлення раціональних параметрів глибинного біосинтезу ландоміцину А при культивуванні у лабораторних умовах.

**Методика реалізації.** Культивування продуцента *Streptomyces cyanogenus* S136 проводили на качалкових пристроях у колбах. Антибіотик екстрагували з культуральної рідини етилацетатом і визначали його вміст за оптичною густиною екстракту.

**Результати дослідження.** Досліджено умови та параметри глибинного біосинтезу антибіотика ландоміцину А штамом *S. cyanogenus* S136. Запропоновано альтернативні живильні середовища для біосинтезу ландоміцину А на основі екстракту соєового борошна та на основі кукурудзяного борошна, що дає змогу отримати до 80 мкг/мл антибіотика. Встановлено вплив інтенсивності перемішування і температури на рівень накопичення продукту та його динаміку. Визначено раціональні технологічні параметри глибинного культивування продуцента, а саме: температура  $25 \pm 1$  °С, інтенсивність перемішування 230–250 об/хв, тривалість глибинної ферментації 50–60 год.

**Висновки.** Підібрані варіанти живильних середовищ (на основі кукурудзяного борошна та екстракту соєового борошна) і встановлені параметри біосинтезу ландоміцину А є основою для оптимізації та розробки технології отримання антибіотика в промислових умовах.

**Ключові слова:** *S. cyanogenus* S136; біосинтез; антибіотик; ландоміцин А; технологічні параметри.

### Вступ

Сьогодні біотехнологія є вагомим фактором розвитку економіки і має суттєвий вплив на різні галузі промисловості та відповідні сегменти ринку, одночасно пропонуючи багато варіантів подальших шляхів удосконалення технологій [1, 2]. Доцільність таких розробок пов'язана також із виникненням множинної резистентності злоскісних пухлин до використовуваних хіміотерапевтичних агентів і з відсутністю ефективних ліків для певних видів раку [3].

Більшість протипухлинних антибіотиків мають низьку вибірковість цитотоксичної дії, що призводить до серйозних побічних ефектів при їх використанні [4]. Перевага ландоміцину А, що належить до групи ангуциклінів, полягає в тому, що ця сполука не інтеркалює у ДНК, маючи при цьому високу протипухлинну активність [5]. Це визначає перспективи його використання у медицині й актуальність розробки біотехнології його виробництва.

Близько 70 % антибіотиків, що застосовуються в медицині та ветеринарії, продукуються бактеріями роду *Streptomyces* [6, 7], біосинтетична здатність яких є мінливою та може значно підвищуватися при використанні оптимального складу

живильного середовища та умов культивування – інтенсивності аерації, температури, рН тощо [8, 9].

Аерація – один із суттєвих факторів культивування, що визначає характер розвитку мікроорганізмів і їх біосинтетичну активність [9–11]. Так, трикратне збільшення рівня аерації (від 0,25 до 0,75 л/хв) при культивуванні *Streptomyces sundarbansensis* sp. привело до підвищення його антимікробної активності на 74 %, що свідчить про високу залежність біосинтезу від аерації для цього продуцента [10]. Оптимальний біосинтез рапаміцину штамом *Streptomyces hygroscopicus* МТСС 4003 у біореакторі отримано при перемішуванні 300 об/хв і аерації 1 V/V/хв [11].

Не менш важливий вплив на рівень синтезу антибіотиків чинить температура культивування, і, як правило, зі збільшенням температури до 39 °С збільшується і їх продукція [12–14]. Проте для синтезу протигрибкових речовин культурами *S. lydicus* і *S. ederenis* оптимальною була температура 24 °С, у той час як для *S. erumpens* і *S. antimycoticus* – 28 °С [13, 14].

З урахуванням загальних закономірностей та відмінностей при культивуванні стрептоміцетів-продуцентів антибіотиків залишається задача визначення оптимальних параметрів глибин-

\* corresponding author: todosiichuk@i.ua

ної ферментації (температури, інтенсивності аерації, тривалості процесу) для максимального продукування цільового продукту для кожного окремого продуцента. Це стосується й продуцента протипухлинного антибіотика ландоміцину А *S. cyanogenus* S136 із Колекції культур мікроорганізмів-продуцентів антибіотиків Львівського національного університету імені Івана Франка [5, 15].

Основною проблемою промислового виробництва протипухлинних антибіотиків, і ландоміцину А зокрема, є невеликий вихід цільової сполуки, що зумовлює високу собівартість готового продукту. Одним зі шляхів зниження вартості антибіотика є підбір живильних середовищ для його біосинтезу на основі дешевших компонентів та оптимізація технологічних параметрів біосинтезу продукту. Тому проведена робота була спрямована на дослідження умов глибинного біосинтезу ландоміцину А і встановлення раціональних технологічних параметрів глибинної ферментації продуцента.

### Постановка задачі

Мета роботи – встановити раціональні параметри глибинного біосинтезу ландоміцину А при культивуванні в лабораторних умовах, що дають змогу здешевити вартість продукту при високому рівні його синтезу.

Основні задачі дослідження такі:

- визначити вплив інтенсивності перемішування і аерації на рівень синтезу антибіотика на досліджуваних середовищах;
- визначити динаміку біосинтезу ландоміцину А штамом *S. cyanogenus* S136 у встановлених умовах та оптимальну тривалість процесу;
- отримати вихідні дані для розробки промислового біосинтезу та технологічного регламенту виробництва субстанції ландоміцину А.

### Матеріали і методи

У роботі використовували культуру *S. cyanogenus* S136, що продукує антибіотик ландоміцину А, з Колекції культур мікроорганізмів-продуцентів антибіотиків Львівського національного університету імені Івана Франка [15].

Культуру підтримували на вівсяному середовищі (вівсяне толокно – 30 г/л, агар – 20г/л) і стандартному для стрептоміцетів середовищі Га-

узе. Посівний матеріал вирощували на середовищі TSB (“Himedia”, Індія).

Для біосинтезу ландоміцину А продуцентом *S. cyanogenus* S136 використовували середовище SG (“Himedia”, Індія) та його модифікації, де замінювали соєвий триптон (10 г/л) на: кукурудзяне борошно (15 г/л), пептон ферментативний (10 г/л), соєве борошно (15 г/л), екстракт соєвого борошна (100 г/л), екстракт дріжджів (10 г/л), горохове борошно (15 г/л).

Біосинтез проводили на качалках при перемішуванні 100–200 об/хв за температури  $28 \pm 1$  °C упродовж 48–72 год. Визначення біосинтетичної активності культури *S. cyanogenus* S136 на досліджуваних середовищах проводили екстрагуванням антибіотика та подальшим вимірюванням оптичної густини отриманого розчину. Екстракцію антибіотика проводили з культуральної рідини рівним об'ємом етилацетату (х/ч) упродовж 2–3 год за температури 20–25 °C. Органічну фазу відділяли центрифугуванням, випаровували, а сухий антибіотик розчиняли в етанолі та визначали оптичну густину розчину на спектрофотометрі при довжині хвилі 448 нм у кюветі на 5 мм. Концентрацію антибіотика визначали за калібрувальним графіком залежності концентрації ландоміцину А від оптичної густини розчину, перераховували концентрацію продукту на одиницю об'єму культуральної рідини та виражали у мікрограмах на мілілітр.

### Результати і їх обговорення

Вибір альтернативних компонентів у живильних середовищах (на основі рекомендованого та використовуваного раніше в дослідженнях середовища SG) ґрунтується на аналізі здатності до їх утилізації стрептоміцетами та поширеністю у біотехнологічних розробках.

Отримані дані щодо рівня біосинтезу продукту на використаних живильних середовищах (рис. 1) показали значні відміни в метаболічній активності штаму *S. cyanogenus* S136 при рості на різних живильних субстратах.

Так, найнижчий рівень синтезу антибіотика – 20–40 % від максимального (70 мкг/мл на контрольному середовищі SG), спостерігався на середовищах з екстрактом дріжджів і гороховим борошном.

Показники, найближчі до максимального значення синтезу, були відзначені при рості продуцента на середовищах, що як альтернативний компонент містили екстракт соєвого борошна (80 %) та кукурудзяне борошно (70 %). Їх можна

розглядати як альтернативу високовартісному соєвому триптону – основи середовища SG.

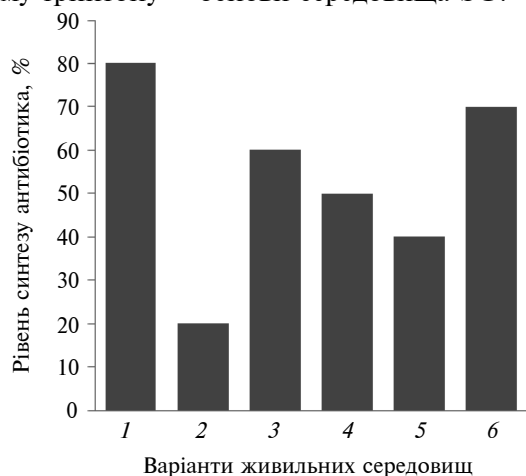


Рис. 1. Порівняння рівня біосинтезу антибіотика ландоміцину *A. S. cyanogenus* S136 при культивуванні на різних живильних середовищах щодо контролю (100 % на середовищі SG): 1 – SG-екстракт соєвого борошна, 2 – SG-горохове, 3 – SG-пептон, 4 – SG-соєве борошно, 5 – SG-дріжджове, 6 – SG-кукурудзяне

Для аналізу впливу складу живильного середовища на біосинтетичні процеси досліджували морфологію продуцента наприкінці культивування. На рис. 2 наведено результати мікроскопіювання зразків культури, що вирощувалася на окремих середовищах.

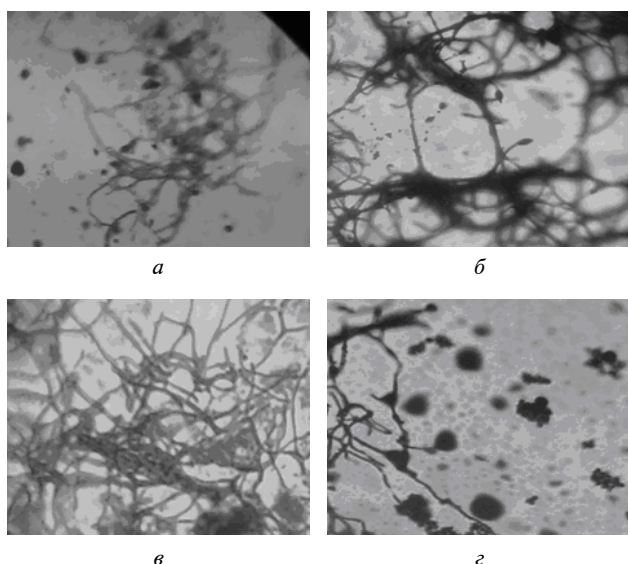


Рис. 2. Вплив складу живильного середовища на морфологію *S. cyanogenus* S136 і накопичення біомаси при культивуванні на середовищах: а – SG-кукурудзяне, б – SG-екстракт соєвого борошна, в – SG, г – SG-горохове

При мікроскопіюванні було видно відмінності в концентрації клітин та їх морфологічному стані. Так, рівномірний розгалужений міцелій середньої товщини спостерігався на середовищі SG, товстіші гіфи культура утворювала на середовищі з екстрактом соєвого борошна і значно меншу кількість частково фрагментованих клітин – на гороховому середовищі. Порівнюючи дані мікроскопіювання та рівня синтезу на вказаних середовищах, можна зробити висновок, що використані альтернативні компоненти живлення впливають насамперед на розвиток клітин продуцента, а не безпосередньо гальмують або стимулюють синтез продукту.

Одними з визначальних факторів біосинтезу антибіотиків є температура та інтенсивність перемішування, тому визначали рівень синтезу продукту на чотирьох вибраних середовищах за умови зміни вказаних параметрів.

Аналіз впливу температури на ефективність біосинтезу показав, що в діапазоні 25–31 °C вона несуттєво впливає на концентрацію продукту (табл. 1). У той же час зменшення температури до 22 °C знижує біосинтетичну активність культури більш ніж на 10 %. Так, на середовищі SG різниця між рівнем біосинтезу при 31 та 23 °C становить 22 мкг/мл.

Таблиця 1. Вплив температури на біосинтетичну здатність *S. cyanogenus* S136

Живильне середовище	Вміст антибіотика (мкг/мл) за температури культивування		
	22–23 °C	25–26 °C	30–31 °C
SG	63 ± 2,5	82 ± 3,0	85 ± 2,5
SG–пептон	26 ± 1,5	40 ± 1,5	45 ± 2,0
SG–кукурудзяне борошно	42 ± 1,0	55 ± 2,5	56 ± 2,5
SG–екстракт соєвого борошна	53 ± 2,5	70 ± 3,0	75 ± 3,5

Отримані дані свідчать, що культура має широкий температурний діапазон (25–31 °C), у якому спостерігається практично однаковий рівень біосинтезу продукту. Це визначає технологічність штаму та відсутність небезпеки зниження активності культури при можливих порушеннях температурного режиму на виробництві.

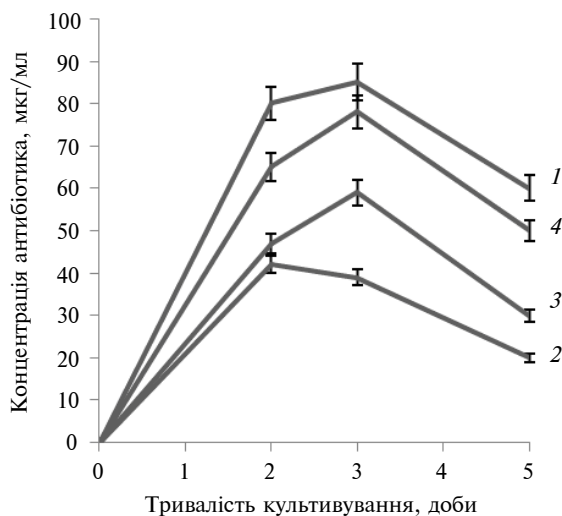
Дослідження інтенсивності перемішування (табл. 2) показало значний вплив цього параметра на накопичення антибіотика в процесі біосинтезу. В усіх варіантах максимальну концентрацію продукту спостерігали при 230 об/хв. Оскільки при культивуванні в колбах інтенсивність

перемішування визначає не лише гомогенізацію, а й аерацію культури та масообмінні процеси, то очевидні високі потреби продуцента в кисні.

**Таблиця 2.** Вплив інтенсивності перемішування на біосинтетичну здатність *S. cyanogenus* S136

Живильне середовище	Вміст антибіотика (мкг/мл) за інтенсивності перемішування		
	120 об/хв	180 об/хв	230 об/хв
SG	53 ± 2,5	70 ± 2,0	82 ± 2,0
SG–пептон	20 ± 1,0	31 ± 1,5	40 ± 1,5
SG–кукурудзяне борошно	32 ± 1,5	41 ± 2,0	53 ± 2,0
SG–екстракт соєвого борошна	43 ± 2,0	60 ± 2,5	70 ± 2,5

Вивчення динаміки біосинтезу продукту за умов, встановлених у ході роботи (температура  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , перемішування 230–250 об/хв), дало можливість визначити оптимальну тривалість процесу і відмінності в ході біосинтезу при використанні різних середовищ (рис. 3).



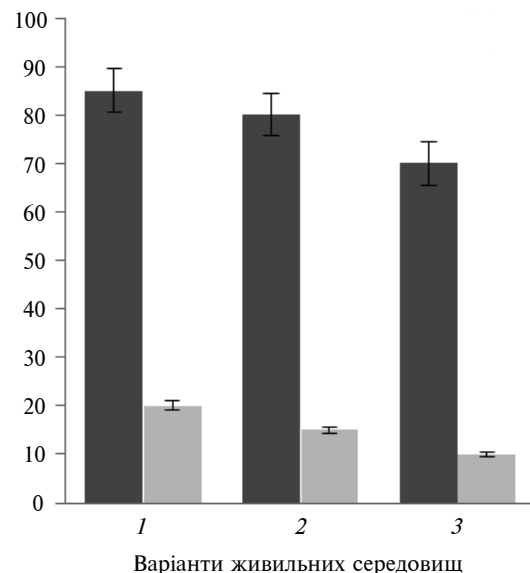
**Рис. 3.** Динаміка біосинтезу ландоміцину А *S. cyanogenus* S136 при культивуванні на живильних середовищах: 1 – SG, 2 – SG–пептон, 3 – SG–кукурудзяне борошно, 4 – SG–екстракт соєвого борошна

Так, на контрольному середовищі SG з 2 до 3-ї доби культивування спостерігається незначне підвищення концентрації продукту (з 80 до 90 мкг/мл), а на середовищах з екстрактом соєвого борошна та з кукурудзяним борошном це збільшення більш значне.

Ферментативний пептон як компонент живлення вичерпується вже на 2-гу добу росту культури. Можлива також наявність у його складі інгібіторів синтезу антибіотика. Загалом зниження

концентрації антибіотика зумовлене трансформацією його молекули внаслідок її нестабільності у водному середовищі. Отже, тривалість біосинтезу ландоміцину А залежно від використовуваного живильного середовища становить 50–60 год, а при дальшій оптимізації в умовах біореактора, очевидно, можливе й зменшення тривалості процесу.

Вибір середовищ для синтезу продукту може ґрунтуватися не лише на рівні його синтезу, а й на продуктивності культури, яка визначається відношенням кількості продукту до кількості накопиченої біомаси продуцента. Тому на завершальному етапі роботи використовували два відібраних альтернативних живильних середовища та визначали не лише концентрацію продукту, а й концентрацію біомаси продуцента. Максимальна продуктивність культури продуцента (20 мкг/мг біомаси) досягалася при вирощуванні на контрольному середовищі SG (рис. 4). Дещо нижча продуктивність, як і загалом концентрація продукту, була на середовищі на основі екстракту соєвого борошна.



**Рис. 4.** Дослідження рівня синтезу антибіотика ландоміцину А та продуктивності *S. cyanogenus* S136 при культивуванні на живильних середовищах: 1 – SG, 2 – SG–екстракт соєвого борошна, 3 – SG–кукурудзяне борошно; ■ – концентрація антибіотика, мкг/мл, ■ – продуктивність, мкг антиб./мг біомаси

Для аналізу вартості живильних середовищ за основними компонентами було досліджено ринок сировини в Україні станом на 2015 р. Згідно з даними компанії ТОВ «Феліцата Україна», ТОВ «Продовольча компанія «Заря Подолья»,

ТОВ “Дніпродзержинськ”, ТОВ “АКЦЕПТ ЛД”, УП “Орбита-Н” та інтернет-каталогу товарів і послуг “All.Biz” вартість основних компонентів становить: соєвого борошна – 15–35 грн/кг; глюкози – 35–60 грн/кг, кукурудзяного борошна гідролізованого – 150–200 грн/кг, соєвого трип-тону – 1950–3000 грн/кг.

Розрахунок показує зниження вартості підібраних живильних середовищ порівняно з вихідним у 2–4 рази залежно від обсягу партії сировини, а також варіанта попередньої її обробки (приготування екстракту тощо) в умовах різних підприємств.

### Висновки

1. Підбрано два варіанти живильних середовищ для глибинного біосинтезу ландоміцину А штамом *S. cyanogenus* S136 на основі кукурудзяного борошна та екстракту соєвого борошна. Це

дало можливість отримати до 80 мкг/мл антибіотика при зниженні в 2–4 рази вартості середовища щодо вихідного (SG) і досягнути продуктивності культури 10–15 мкг /мг біомаси.

2. Встановлено основні параметри біосинтезу ландоміцину А культурою *S. cyanogenus* S136, а саме: температура  $25 \pm 1$  °С, інтенсивність перемішування 230–250 об/хв, тривалість виробничої глибинної ферментації 50–60 год.

3. Показано підвищені потреби продуцента в аерації, що при культивуванні в колбах виявлялося в підвищенні інтенсивності перемішування (до 250 об/хв) за максимального коефіцієнта 10 співвідношення об'єму колб і живильного середовища.

Підібрані варіанти живильних середовищ для глибинної ферментації та встановлені параметри біосинтезу ландоміцину А культурою *S. cyanogenus* S136 є основою для дальшої оптимізації та розробки промислової технології отримання цього антибіотика.

### Список літератури

1. Новіков В. Тенденції розвитку комерційної біотехнології / В. Новіков, Ю. Сидоров, О. Швед // Вісн. НАН України. – 2008. – № 2. – С. 25–39.
2. Костюк Р.В. Розвиток інноваційної діяльності біотехнологічних підприємств у сучасних умовах / Р.В. Костюк // Актуальні проблеми економіки. – 2009. – Т. 98, № 8. – С. 79–84.
3. Аляев Ю.Г. Применение митомицина в лечении рубцовых осложнений после радикальной простатэктомии / Ю.Г. Аляев, Л.М. Рапопорт, Д.Г. Цариченко // Андрология и генитальная хирургия. – 2013. – № 2. – С. 19–25.
4. Викторов А.П. Современные антинеопластические лекарственные средства: проблемы / А.П. Викторов, Е.В. Матвеева // Здоров'я України. – 2010. – Темат. номер. Квітень. – С. 26–28.
5. Chemistry and biology of landomycins, an expanding family of polyketide natural products / В. Ostash, А. Korynevskа, R. Stoika, V. Fedorenko // Mini-Rev. Med. Chem. – 2009. – Vol. 9, № 9. – P. 1040–1051.
6. Oskay M. Antifungal and antibacterial compounds from *Streptomyces* strains / M. Oskay // African J. Biotechnol. – 2009. – Vol. 8, № 13. – P. 3007–3017.
7. Yücel S. Selection of *Streptomyces* isolates from Turkish karstic caves against antibiotic resistant / S. Yücel, M. Yamaç // Pak. J. Pharm. – 2010. – Vol. 23. – P. 1–6.
8. Sanchez S. Metabolic regulation of fermentation process / S. Sanchez, A.L. Demain // Enzyme Microb. Technol. – 2002. – Vol. 31, № 7. – P. 895–906.
9. Rafieenia R. Effect of nutrients and culture conditions on antibiotic synthesis / R. Rafieenia // Asian J. Pharm. Hea. Sci. – 2013. – Vol. 3. – P. 810–815.
10. Sarkar S. Enhanced antimicrobials production by *Streptomyces sundarbansensis* sp. nov. in a novel extended surface biofilm reactor / S. Sarkar // Int. J. Adv. Biotechnol. Res. – 2015. – Vol. 6, № 1. – P. 12–20.
11. Kinetics of rapamycin production by *Streptomyces hygroscopicus* MTCC 4003 / S. Dutta, B. Basak, B. Bhunia [et al.] // 3 Biotech. – 2014. – Vol. 4. – P. 523–531.
12. Effect of fermentation temperature on validamycin A production by *Streptomyces hygroscopicus* 5008 / Y. Liaoa, Z.H. Wei, L. Baia [et al.] // J. Biotechnol. – 2009. – Vol. 142, № 3-4. – P. 271–274.
13. Identification and characterization of antibiotic producing actinomycetes isolates / M. Kumari, B.E. Myagmarjav, B. Prasad, M. Choudhary // Am. J. Microbiol. – 2013. – Vol. 4, № 1. – P. 24–31.
14. Optimization of culture conditions for production of bioactive metabolites by *Streptomyces* spp. isolated from soil / S. Bundale, D. Begde, N. Nashikkar [et al.] // Adv. Microbiol. – 2015. – Vol. 5, № 6. – P. 441–451.

15. Пат. 84651 Україна, МПК 6 С 02 F1/28. Спосіб продукції ландоміцину А / А.М. Лужецький, В.О. Федоренко, І.С. Осташ та ін. ; заявник та патентовласник Львів. нац. ун-т. ім. Івана Франка. – № 201305666 ; заявл. 30.04.2013 ; опубл. 25.10.2013.

## References

- [1] Novikov V, Sydorov Y, Shved O. Trends in commercial biotechnology. *Visnyk NAN Ukrainy*. 2008;2:25-39.
- [2] Kostyuk RV. The development of innovative activities of the biotechnological companies in the modern conditions. *Aktual'ni Problemy Ekonomiky*. 2009;98(8):79-84.
- [3] Alyaev YG, Rapoport LM, Carichenko DG. The use of mitomycin in the treatment of scar complications after radical prostatectomy. *Andrologiya i Genitalnaya Hirurgiya*. 2013;2:19-25.
- [4] Viktorov AP, Matveeva EV. Modern antineoplastic drugs: problems. *Zdorov'ya Ukrainy*. 2010 Apr;26-8.
- [5] Ostash B, Korynevska A, Stoika R, Fedorenko V. Chemistry and biology of landomycins, an expanding family of polyketide natural products. *Mini Rev Med Chem*. 2009 Aug;9(9):1040-51. DOI 10.2174/138955709788922593
- [6] Oskay M. Antifungal and antibacterial compounds from *Streptomyces* strains. *African J Biotechnol*. 2009 July 6;8(13):3007-17.
- [7] Yücel S, Yamaç M. Selection of *Streptomyces* isolates from Turkish karstic caves against antibiotic resistant microorganisms. *Pak J Pharm Sci*. 2010 Jan;23(1):1-6.
- [8] Sanchez S, Demain AL. Metabolic regulation of fermentation process. *Enzyme Microb Technol*. 2002 Dec 2;31(7):895-906. DOI 10.1016/S0141-0229(02)00172-2
- [9] Rafieenia R. Effect of nutrients and culture conditions on antibiotic synthesis. *Asian J. Pharm. Hea. Sci*. 2013 July-Sep;3:810-5.
- [10] Sarkar S. Enhanced antimicrobials production by *Streptomyces sundarbansensis* sp. nov. in a novel extended surface biofilm reactor. *Int J Adv Biotechnol Res*. 2015;6(1)12-20.
- [11] Dutta S, Basak B, Bhunia B, Chakraborty S, Dey A. Kinetics of rapamycin production by *Streptomyces hygroscopicus* MTCC 4003. *3 Biotech*. 2014 Oct;4(5):523-531. DOI 10.1007/s13205-013-0189-2
- [12] Liaoa Y, Wei ZH, Bai L, Deng Z, Zhong JJ. Effect of fermentation temperature on validamycin A production by *Streptomyces hygroscopicus* 5008. *J Biotechnol*. 2009 Jul 15;142(3-4):271-4. DOI 10.1016/j.jbiotec.2009.04.015
- [13] Kumari M, Myagmarjav BE, Prasad B, Choudhary M. Identification and characterization of antibiotic producing actinomycetes isolates. *Am J Microbiol*, 2013;4(1):24-31. DOI 10.3844/ajmsp.2013.24.31
- [14] Bundale S, Begde D, Nashikkar N, Kadam T, Upadhyay A. Optimization of culture conditions for production of bioactive metabolites by *Streptomyces* spp. isolated from soil. *Adv Microbiol*. 2015;5(6):441-51. DOI 10.4236/aim.2015.56045
- [15] Luzhets'kyy A, Fedorenko V, Ostash I, Ostash B. A method of production landomycin A. *Ukrainian*; 84651, 2013.

T.S. Todosiichuk, V.O. Fedorenko, M.V. Molochko, O.M. Gromyko

## DEVELOPMENT OF CONDITIONS OF SUBMERGED BIOSYNTHESIS OF LANDOMYCIN A

**Background.** Development of the process and biotechnology of production of antitumor antibiotic with microbial origin – landomycin A.

**Objective.** Establishment of the rational parameters for the submerged biosynthesis of landomycin A during the cultivation in the laboratory conditions.

**Methods.** Cultivation of the producer *Streptomyces cyanogenus* S136 was performed on shaking devices in the flasks. Antibiotic was extracted from culture fluid with ethyl acetate; the content of antibiotic was determined by measuring optical density of the extract.

**Results.** Conditions and parameters for antibiotic submerged biosynthesis of the landomycin A by *S. cyanogenus* S136 were investigated. Alternative nutrient mediums for the biosynthesis of the landomycin A were presented. Mediums that are based on soybean's flour extract and corn's flour allow obtaining up to 80 mg/ml of antibiotic. The influence of mixing intensity and temperature on the rate of the product accumulation and its dynamics was established. Rational technological parameters of the producer's submerged biosynthesis such as temperature  $25 \pm 1$  °C mixing intensity 230–250 U/min, duration of the submerged fermentation 50–60 hours were established.

**Conclusions.** Variants of the culture media, that were selected (based on the corn's flour and the extract of the soybean's flour) and the parameters of the landomycin A biosynthesis, that were set are the basis for optimization and design of the technology for obtaining the antibiotic in industrial conditions.

**Keywords:** *Streptomyces cyanogenus* S136; biosynthesis; antibiotic; landomycin A; technological parameters.

Т.С. Тодосийчук, В.А. Федоренко, М.В. Молочко, А.Н. Громыко

#### РАЗРАБОТКА УСЛОВИЙ ГЛУБИННОГО БИОСИНТЕЗА АНТИБИОТИКА ЛАНДОМИЦИНА А

**Проблематика.** Разработка способа и биотехнологии производства противоопухолевого антибиотика микробного происхождения – ландомицина А.

**Цель исследования.** Установление рациональных параметров глубинного биосинтеза ландомицина А при культивировании в лабораторных условиях.

**Методика реализации.** Культивирование продуцента *Streptomyces cyanogenus* S136 проводили на качалочных устройствах в колбах. Антибиотик экстрагировали из культуральной жидкости этилацетатом и определяли его содержание по оптической плотности экстракта.

**Результаты исследований.** Исследованы условия и параметры глубинного биосинтеза антибиотика ландомицина А штаммом *S. cyanogenus* S136. Предложены альтернативные питательные среды для биосинтеза ландомицина А на основе экстракта соевой муки и на основе кукурузной муки, позволяющие получить до 80 мкг/мл антибиотика. Установлено влияние интенсивности перемешивания и температуры на уровень накопления продукта и его динамику. Определены рациональные технологические параметры глубинного культивирования продуцента, а именно: температура  $25 \pm 1$  °С, интенсивность перемешивания 230–250 об/мин, продолжительность глубинной ферментации 50–60 ч.

**Выводы.** Подобранные варианты питательных сред (на основе кукурузной муки и экстракта соевой муки) и установленные параметры биосинтеза ландомицина А являются основой для оптимизации и разработки технологии получения антибиотика в промышленных условиях.

**Ключевые слова:** *Streptomyces cyanogenus* S136; биосинтез; антибиотик; ландомицин А; технологические параметры.

Reprinted from: Naukovi Visti NTUU KPI. 2017;3:52-60

Received 6 November 2017

Accepted 4 December 2017