

Л.О. Максименко, О.І. Балко, О.Б. Балко

Інститут мікробіології і вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України,
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ, 03143, Україна,
тел.: +38 (044) 526 94 24; e-mail: maksymenko.l.a@gmail.com

НИЗЬКОМОЛЕКУЛЯРНІ КАРОТОВОРИЦІНИ *PECTOBACTERIUM CAROTOVORUM* SUBSP. *CAROTOVORUM*

Мета. Вивчення властивостей низькомолекулярних бактеріоцинів *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* Б4. **Методи.** Низькомолекулярні каротоворицини отримували індукцією налідиксовою кислотою із 13 штамів *Pectobacterium carotovorum*, концентрували висоловлюванням сульфатом амонію, розділяли ультрацентрифугованням, додаткову очистку проводили на ДЕАЕ-сефарозі. Активність отриманих каротоворицинів перевіряли на *Pectobacterium carotovorum* б6А, а також *Escherichia coli* ВЕ, К12 і С600. Для досліджуваних речовин визначали молекулярну масу та перевіряли серологічну спорідненість із піоцинами S1-S5 підтипу. **Результати.** Отримані низькомолекулярні каротоворицини відрізнялися за рівнем та спектром кілерної активності відносно індикаторних штамів, проте найвищу активність проявляли щодо *E. coli* ВЕ. Було показано, що до складу сумарної фракції каротоворицинів штаму *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* Б4 входять білки 30, 38, 42 і 54 кДа. При подальшій очистці було виділено єдиний активний компонент з молекулярною масою 54 кДа, який впливав лише на *E. coli* ВЕ. Перевірка гомології досліджуваного каротоворицину із піоцинами S1-S5 підтипів показала відсутність серологічної спорідненості. **Висновки.** Досліджуваний бактеріоцин *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* Б4 з молекулярною масою 54 кДа за виявленими властивостями не відповідає жодному із описаних на даний момент бактеріоцинів і може бути новим представником низькомолекулярних каротоворицинів. Відсутність серологічної спорідненості із низькомолекулярними піоцинами S підтипу і активність виключно щодо штаму *E. coli* ВЕ можуть вказувати на гомологію даного білка із коліцинами.

Ключові слова: *Pectobacterium carotovorum*, низькомолекулярні каротоворицини, серологічна спорідненість, піоцини, коліцини.

Зростання антибіотикорезистентності збудників гнійно-запальних захворювань, необхідність впровадження екологічно безпечних препаратів для контролю за поширенням фітопатогенних бактерій та очистки природних ресурсів від мікробної контамінації розглядаються як пріоритетні проблеми сьогодення [10, 14]. В основу їх вирішення може бути покладено використання нових речовин з антимікробною активністю [11]. Одними із найбільш поширених чинників мікробного антагонізму вважаються бактеріоцини [10].



Відомо, що фітопатогенні бактерії *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* при лізогенній індукції здатні виділяти високо- та низькомолекулярні бактеріоцини (каротоворицини, кароцини) [4, 5]. В роботах вітчизняних вчених дані речовини позначають як «каротоворицини» [4], а закордонні дослідники вживають термін «кароцини» [7, 8, 15]. Високомолекулярні каротоворицини є аналогами фагових хвостових відростків, тоді як низькомолекулярні – це протеазочутливі білки, які не седиментують при ультрацентрифугуванні, не візуалізуються при електронній мікроскопії, здатні вільно дифундувати в агаризованому середовищі [4, 8]. В проведених раніше дослідженнях встановлено, що окремі низькомолекулярні бактеріоцини *P. carotovorum* характеризуються вузьким спектром активності [6]. Виявлена особливість є нетиповою для зазначених бактеріоцинів і потребує подальшого дослідження.

Тому, метою даної роботи було вивчення властивостей низькомолекулярних бактеріоцинів *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* Б4.

Матеріали і методи

Об'єктами дослідження були каротоворицини, які синтезуються фітопатогенними бактеріями *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, виділеними із різних регіонів [3] (табл. 1).

Таблиця 1

Штами *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, продуценти каротоворицинів
Table 1
***Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* strains, producers of carotovoricins**

Штам	Джерело виділення
J2 (NCPPB 1744)	<i>Daucus sativus</i> Roehl, Японія
Б1	<i>Solanum tuberosum</i> L., Черкаська обл., Україна
Б3, Б4, Б13, Б15	<i>Solanum tuberosum</i> L., Київська обл., с. Новосілки, Україна
Б2, Б11, Б12, Б16, Б17, Б23	<i>Solanum tuberosum</i> L., Київська обл., м. Васильків, Україна
Б26	<i>Solanum tuberosum</i> L., Вінницька обл., с. Сокольці, Україна

Культури-продуцентів вирощували в середовищі М9, індукцію та отримання бактеріоцинів проводили відповідно до загальноприйнятих методик [5, 6].

Концентрування каротоворицинів здійснювали методом висолювання сульфатом амонію, який вносили в 0,1 М розчин NaCl до 50% насичення в лізати штамів *P. carotovorum*. Отриманий преципітат осаджували центрифугуванням при 10 тис. g протягом 30 хв. Осад ресуспендували в 1 мл А-буферу [5] із 20 мМ MgSO₄, обробляли РНК-азою і ДНК-азою (Thermoscientific) (по 1 мкг/мл) при 37 °С протягом 30 хв, після чого доводили 0,05 М натрій фосфатним буфером (рН 7,2) до необхідного об'єму (3 мл).

Розділення суміші концентрованих бактеріоцинів об'ємом 3 мл проводили за допомогою ультрацентрифугування при 120 тис g протягом 4 год на центрифугі Beckman (ротор SW-40) в 8 мл 5–20% градієнті сахарози, який містив 20% етанолу в 0,01 М трис-НСl буфері (рН 7,2). Для подальших досліджень відбирали верхні шари отриманого градієнта об'ємом 5–6 мл,



які містили низькомолекулярні каротоворицини. Додаткову очистку відібраних бактеріоцинів здійснювали методом колонкової хроматографії на ДЕА-Е-сефарозі [6]. Для цього використовували колонку 40×15 мм, яку зрівноважували 30 мл 0,05 М натрій фосфатного буферу (рН 7,2). На колонку наносили зразок концентрованих низькомолекулярних каротоворицинів об'ємом 2 мл. Елюцію проводили ступеневим градієнтом за допомогою 0,1 М; 0,2 М та 0,3 М розчинів NaCl по 6 мл і відбирали фракції об'ємом 2 мл. Активні фракції об'єднували і використовували для подальших досліджень.

Для перевірки кілерної активності низькомолекулярних каротоворицинів застосовували фракції, розділені за допомогою ультрацентрифугування та колонкової хроматографії. Дослідження проводили стандартними методами [6], як індикаторні штами використовували *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* 66A, а також *Escherichia coli* BE, K12 і С600.

Електрофоретичне розділення білків низькомолекулярних бактеріоцинів *P. carotovorum* проводили за методом Laemmli [12], як маркери застосовували суміш білків фірми Pharmacia: фосфорилаза – 94000 Да, альбумін – 67000 Да, овальбумін – 43000 Да, карбонік-ангідраза – 30000 Да, трипсин-інгібітор – 20100 Да, лактоальбумін – 14400 Да. Дослідження гомології каротоворицинів і піоцинів здійснювали за стандартною методикою по Оухтерлоні [13]. Для визначення серологічної спорідненості використовували піоцини, отримані із 5 колекційних штамів *Pseudomonas aeruginosa* (УКМ, Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України) відповідно до описаних раніше методів [2]. Належність піоцинів до відповідного підтипу встановлювали за допомогою ПЛР із підібраними праймерами за стандартною методикою [9].

Результати та їх обговорення

На початковому етапі роботи проводили дослідження кілерної активності низькомолекулярних каротоворицинів, виділених із 13 штамів *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* J2 та Б1-Б26, щодо індикаторних культур *P. carotovorum* 66A та *E. coli* BE, K12 і С600 (рис. 1).

Встановлено, що низькомолекулярні каротоворицини, отримані із бактерій з різних регіонів, відрізняються за рівнем та спектром кілерної активності відносно використаних індикаторних штамів. Дані речовини спричиняли утворення зон лізису діаметром від 3 до 20 мм. Більшість із отриманих бактеріоцинів проявляли найвищу активність до *E. coli* BE, про що свідчила поява негативних зон великого діаметру.

З метою ідентифікації досліджуваних бактеріоцинів проводили порівняння їх властивостей із характеристиками описаних в літературі кароцинів. Відомо, що пошкодження нуклеїнової кислоти клітини-хазяїна за допомогою фізичних (ультрафіолетове опромінення) або хімічних (мітоміцин С, налідиксова кислота) чинників активує ген *hcsA*, продукт якого розщиплює репресорний білок PrtR, стимулюючи виділення бактеріоцинів [10]. Аналогічна залежність рівня індукції від впливу фізичних та хімічних чинників була показана для кароцина D [15]. Для кароцина S2 індукційний ефект викликає лише ультрафіолетове опромінення, тоді як обробка штаму-продуцента хімічними чинниками не стимулює продукцію бактеріоцинів [7].



На відміну від попередніх бактеріоцинів, виділення кароцина S1 посилюється лише при додаванні в ростове середовище глюкози та лактози і не пов'язане із пошкодженням нуклеїнової кислоти [8]. У проведеній роботі синтез низькомолекулярних каротоворицинів *P. carotovorum* посилювали за допомогою обробки штамів-продуцентів налідиксовою кислотою. Наведене свідчить, що за механізмом індукції досліджувані бактеріоцини близькі до кароцина D.

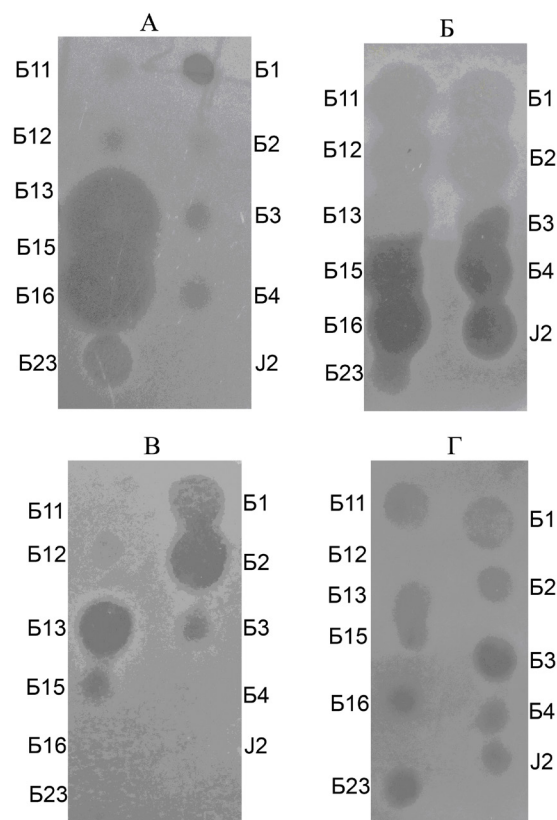


Рис. 1. Активність низькомолекулярних каротоворицинів штамів *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* щодо *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* 66A (А), *Escherichia coli* BE (Б), *E. coli* C600 (В) і *E. coli* K12 (Г).

Примітка: Номер штаму продуцента низькомолекулярного каротоворицину вказано поруч із ділянкою нанесення відповідного зразка.

Fig 1. Activity of low-molecular-weight carotovoricins of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* against *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* 66A (A), *Escherichia coli* BE (B), *E. coli* C600 (B) і *E. coli* K12 (Г).

Note: The number of strain-producers of low-molecular-weight carotovoricins is shown near the section of corresponding sample application.

Одним із основних критеріїв ідентифікації бактеріоцинів вважається їх молекулярна маса. При визначенні діючих компонентів штаму *P. carotovorum* Б4 у складі сумарної фракції низькомолекулярних каротоворицинів було виявлено білки масою 30, 38, 42 і 54 кДа (рис. 2А) Аналогічні білкові компоненти, а також додаткові мінорні білки масою 58 та 67 кДа було виділено раніше із фракції низькомолекулярних бактеріоцинів штаму *P. carotovorum* J2 [1], що свідчить про типовість досліджуваних каротоворицинів *P. carotovorum* Б4.

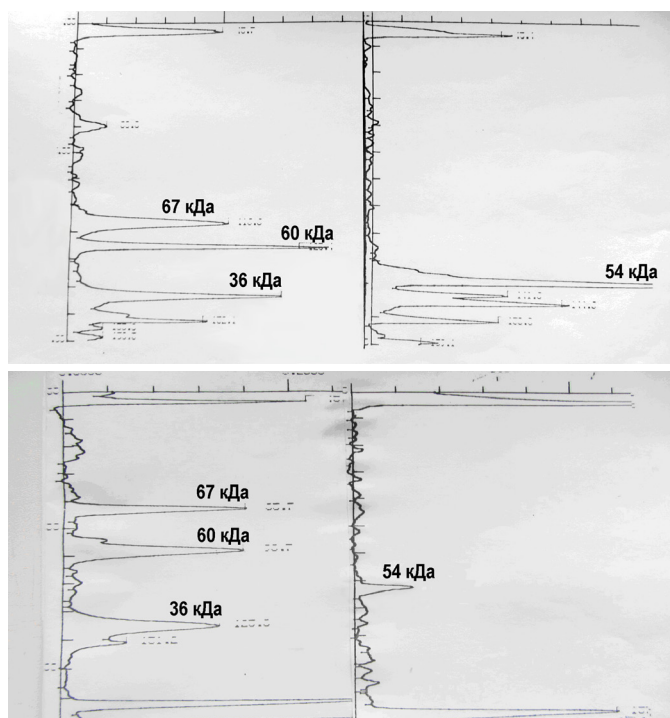


Рис. 2. Денситограма профілю електрофоретичного розділення сумарної (А) та очищеної (Б) фракцій білків низькомолекулярних каротоворицинів, виділених із *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* Б4.
1 – фракція низькомолекулярних каротоворицинів,
2 – маркери молекулярної маси (Pharmacia).

Fig 2. The densitogram of electrophoretic separation profile of summary (A) and purified protein fraction of low-molecular-weight carotovoricins, isolated from *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* B4.
1 – low-molecular-weight carotovoricin fraction,
2 – molecular mass markers (Pharmacia).

При подальшому розділенні компонентів сумарної фракції на ДЕА-Е-сефарозі було отримано очищений низькомолекулярний каротоворицин *P. carotovorum* Б4. Дана фракція містила єдиний компонент із молекулярною масою 54 кДа (рис. 2Б). Серед описаних в літературі низькомолекулярних бактеріоцинів *P. carotovorum* схожою молекулярною масою – 55,5 кДа, характеризується лише кароцин S1 [8]. Молекулярна маса кароцина S2 є вищою і становить 85 кДа [7], тоді як кароцин D – є значно нижчою – близько 29 кДа [15]. Таким чином, виділений нами каротоворицин *P. carotovorum* Б4 за молекулярною масою близький до кароцина S1 і відрізняється від схожого за механізмом індукції кароцина D.

Порівняння генетичної спорідненості кароцинів із бактеріоцинами інших видів бактерій дозволило встановити, що N-кінцева ділянка кароцина D на 30% гомологічна коліцину E3 *E. coli* і на 27% – до піоцинів S-типу *P. aeruginosa*. Натомість, C-кінцева ділянка даного кароцина виявляє 55% ідентичності із доменом транслокації піоцинів [15]. Гени іншого низькомолекулярного бактеріоцина *P. carotovorum* – кароцин S1 є гомологічними до

генів піоцинів S3 та AP41 [8], а кароцина S2 – характеризуються високою спорідненістю до коліцина D і клебіцина D [7]. Наведене свідчить, що низькомолекулярні бактеріоцини *P. carotovorum* можуть бути схожими або до піоцинів S-типу *P. aeruginosa*, або до коліцинів *E. coli*.

Перевірка гомології отриманих каротоворіцинів *P. carotovorum* Б4 із низькомолекулярними піоцинами S1, S2, S3, S4 і S5 підтипів показала відсутність серологічної спорідненості. Проте, досліджуваний бактеріоцин *P. carotovorum* Б4 у складі очищеної фракції пригнічував ріст лише *E. coli* BE. Зважаючи на вузький спектр кілерної активності виділеного білка можна зробити припущення про його гомологію із коліцинами. Отже, за серологічною спорідненістю отриманий нами каротоворіцин близький до кароцина S2 і відрізняється від схожих за механізмом індукції кароцина D та молекулярною масою кароцина S1.

Таким чином, досліджуваний бактеріоцин *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* Б4 з молекулярною масою 54 кДа за виявленими властивостями не відповідає жодному із описаних на даний момент бактеріоцинів і може бути новим представником низькомолекулярних каротоворіцинів. Відсутність серологічної спорідненості із низькомолекулярними піоцинами S підтипу і активність виключно щодо штаму *E. coli* BE можуть вказувати на гомологію даного білка із коліцинами.

L.O. Maksimenko, O.I. Balko, O.B. Balko

Zabolotny Institute of Microbiology and Virology NAS of Ukraine,
154, Zabolotny str., Kyiv, 03143, Ukraine,
tel.: +38 (044) 526 94 24; e-mail: maksymenko.l.a@gmail.com

***PECTOBACTERIUM CAROTOVORUM* SUBSP. *CAROTOVORUM* LOW-MOLECULAR-WEIGHT CAROTOVORICINS**

Summary

The aim was studying of properties of low-molecular-weight bacteriocins of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* B4. **Methods.** Low-molecular-weight bacteriocins were obtained from 13 *Pectobacterium carotovorum* strains by nalidixic acid induction, concentrated by salting-out with ammonium sulphate, separated by ultracentrifugation, additional purification was carried out at DEAE-sepharose. The activity of obtained bacteriocins was tested against *Pectobacterium carotovorum* 66A, as well as *Escherichia coli* BE, K12 and C600. Molecular mass was determined and serologic relationships with pyocins of S1-S5-type were checked for the researched substances. **Results.** The obtained low-molecular-weight carotovoricins differed in level and spectrum of killer activity against indicator strains, but the highest activity was against *Escherichia coli* BE. It was shown that proteins of 30, 38, 42 and 54 kDa were the parts of summary fraction of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* B4 carotovoricins. After further purification a single active component with molecular mass of 54 kDa was isolated. This protein was characterized by narrow pectrum of killer activity and influenced only on *Escherichia coli* BE. Checking of homology of the researched carotovoricin and pyocins of S1-S5-type indicated the absence of



serologic relationships. **Conclusions.** According to revealed properties, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* B4 carotovoricin with molecular mass of 54 kDa doesn't conform to the characteristics of any described bacteriocins and can be a member of new low-molecular-weight carotovoricins. The absence of serologic relationships with low-molecular-weight pyocins of S-type and activity against only *Escherichia coli* BE can indicate the homology of this protein and colicins.

Key words: *Pectobacterium carotovorum*, low-molecular-weight carotovoricins, serologic relationships, pyocins, colicins.

Л.А. Максименко, О.И. Балко, А.Б. Балко

Институт микробиологии и вирусологии имени Д.К. Заболотного НАН Украины,
ул. Академика Заболотного, 154, Киев, 03143, Украина,
тел.: +38 (044) 526 94 24; e-mail: maksymenko.l.a@gmail.com

НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ КАРОТОВОРИЦИНЫ *PECTOBACTERIUM CAROTOVORUM* SUBSP. *CAROTOVORUM*

Реферат

Цель. Изучение свойств низкомолекулярных бактериоцинов *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* Б4. **Методы.** Низкомолекулярные каротоворицины были получены индукцией налидиксовой кислотой из 13 штаммов *Pectobacterium carotovorum*, сконцентрированы высаливанием сульфатом аммония, разделены ультрацентрифугированием и дополнительно очищены на ДЕАЕ-сефарозе. Активность полученных каротоворицинов проверяли на *Pectobacterium carotovorum* 66А, а также *Escherichia coli* BE, K12 и С600. У исследуемых веществ определяли молекулярную массу и наличие серологического родства с пиоцинами S1-S5 подтипов. **Результаты.** Полученные низкомолекулярные каротоворицины отличались по уровню и спектру киллерной активности, однако наивысшую активность проявляли по отношению к *E. coli* BE. Суммарная фракция каротоворицинов штамма *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* Б4 представлена белками 30, 38, 42 и 54 кДа. В результате дальнейшей очистки был выделен единственный активный компонент с молекулярной массой 54 кДа, который обладал узким спектром киллерной активности и влиял только на *E. coli* BE. При изучении гомологии данного каротоворицина с пиоцинами S1-S5 подтипов показано отсутствие серологического родства. **Выводы.** Согласно полученным результатам, исследованный бактериоцин *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* Б4 с молекулярной массой 54 кДа отличается от изученных на данный момент бактериоцинов и может быть новым представителем низкомолекулярных каротоворицинов. Отсутствие серологического родства с низкомолекулярными пиоцинами S подтипа и активность исключительно по отношению к штамму *E. coli* BE могут свидетельствовать о гомологии данного белка с колицинами.

Ключевые слова: *Pectobacterium carotovorum*, низкомолекулярные каротоворицины, серологическое родство, пиоцины, колицины.



СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Балко О.Б. Структурно-функціональна організація каротоворіцинів та їх роль в мікробному антагонізмі: Автореф. дис...канд. біол. наук. К., 2007. – 20 с.
2. Балко А.Б., Видасов В.В., Авдеева Л.В. Оптимизация условий индукции бактериоцинов *Pseudomonas aeruginosa* // Мікробіол. журн. – 2013. – 75, № 1. – С. 79–85.
3. Максименко Л.А., Пархоменко Н.И., Мороз С.Н., Горб Т.Е. Изучение свойств изолятов пектолитических фитопатогенных бактерий, выделенных в Украине // Мікробіол. журн. – 2013. – 75, №6. – С. 66–72.
4. Товкач Ф.И. Биологические свойства и классификация бактериоцинов *Erwinia carotovora* // Микробиология. – 1998. – 67, № 6. – С. 767–774.
5. Товкач Ф.И. Дефектная лизогения *Erwinia carotovora* // Микробиология. – 2002. – 71, № 3. – С. 359–367.
6. Товкач Ф.І., Максименко Л.О., Балко О.Б. Множинність бактеріоцинів *Erwinia carotovora* // Вісник державного агроєкологічного університету. – 2005. – № 2. – С. 163–168.
7. Chan YC, Wu JL, Wu HP, Tzeng KC, Chuang DY. Cloning, purification, and functional characterization of Carocin S2, a ribonuclease bacteriocin produced by *Pectobacterium carotovorum* // BMC Microbiol. 2011 May 12;11:99. DOI: 10.1186/1471-2180-11-99
8. Duen-yau Chuang, Yung-chei Chien, Huang-Pin Wu. Cloning and Expression of the *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* Gene Encoding the Low-Molecular-Weight Bacteriocin Carocin S1 // Journal of bacteriology. – 2007. – 189, № 2. – P. 620–626.
9. Elfarash A., Wei Q., Cornelis P. The soluble pyocins S2 and S4 from *Pseudomonas aeruginosa* bind to the same FpvAI receptor. // Microbiology. – 2012. – 1. – P. 268–275.
10. Ghequire M.G.K., De Mot R. Ribosomally encoded antibacterial proteins and peptides from *Pseudomonas*. // FEMS Microbiol. Rev. – 2014. – 38. – P. 38523–38568.
11. Gillor O, Nigro LM, Riley MA. Genetically engineered bacteriocins and their potential as the next generation of antimicrobials. // Curr Pharm Des. – 2005. – 11, № 8. – P. 1067–75.
12. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T // Nature. – 1970. – 227. № 5259. – P. 680–685.
13. Ouchterlony O. Antigen-antibody reactions in gels. In: Handbook Immunodiffusion and immunoelectrophoresis. Ann. Arbor. Michigan.: Ann. Arbor. Science Publishers, 1968. – P. 37.
14. Roh E., Lee Y., Ra D., Choi J., Moon E., Heu S. Diverse Antibacterial activity of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* isolated in Korea. // J.Microbiol Biotechnol. – 2009. – 19, № 1. – P. 42–50.
15. Roh E., Park T.H., Kim Mi, Lee S., Ryu S., Oh Cs., Rhee S., Kim Dh., Park Bs., Heu S. Characterization of a new bacteriocin, carocin D, from *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* Pcc 21 // Appl Environ Microbiol. – 2010. – 76, № 22. – P. 7541–7549.



References

1. Balko OB. Structural and functional organization of carotovoricins and their role in bacterial antagonism. PhD thesis, Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, 2007: 20. (In Ukrainian)
2. Balko AB, Vidasov VV, Avdeeva LV. Optimization of *Pseudomonas aeruginosa* bacteriocin induction. Microbiol. j. 2013;(75):79–85. (In Russian)
3. Maksymenko LA, Parkhomenko NI, Moroz SN, Gorb TE. Properties investigation of isolates of pectolitic phytopathogenic bacteria obtained in Ukraine. Microbiol. j. 2013;75(6):66–72. (In Russian)
4. Tovkach FI. Biological properties and classification of *Erwinia carotovora* bacteriocins. Microbiology. 1998;67(6):767-774. (In Russian)
5. Tovkach FI. Defective lisogeny in *Erwinia carotovora*. Microbiology. 2002;71(3):359-367. (In Russian)
6. Tovkach FI, Maksimenko LA, Balko OB. The multiplicity of bacteriocins of *Erwinia carotovora*. Bull Agroecol State Univ. 2005;2:163-168.
7. Chan YC, Wu JL, Wu HP, Tzeng KC, Chuang DY. Cloning, purification, and functional characterization of Carocin S2, a ribonuclease bacteriocin produced by *Pectobacterium carotovorum*. BMC Microbiol. 2011 May 12;11:99. DOI: 10.1186/1471-2180-11-99
8. Duen-yau Chuang, Yung-chei Chien, Huang-Pin Wu. Cloning and Expression of the *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* Gene Encoding the Low-Molecular-Weight Bacteriocin Carocin S1. Journal of bacteriology. 2007;189(2):620-626.
9. Elfarash A, Wei Q, Cornelis P. The soluble pyocins S2 and S4 from *Pseudomonas aeruginosa* bind to the same FpvAI receptor. Microbiology. 2012;(1):268-275.
10. Ghequire MGK, De Mot R. Ribosomally encoded antibacterial proteins and peptides from *Pseudomonas*. FEMS Microbiol. Rev. 2014;(38):38523-38568.
11. Gillor O, Nigro LM, Riley MA. Genetically engineered bacteriocins and their potential as the next generation of antimicrobials. Curr Pharm Des. 2005;11(8):1067-75.
12. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T. Nature. 1970;227(5259):680-685.
13. Ouchterlony O. Antigen-antibody reactions in gels. In: Handbook Immunodiffusion and immunoelectrophoresis. Ann. Arbor. Michigan. Ann. Arbor. Science Publishers, 1968. 37.
14. Roh E, Lee Y, Ra D, Choi J, Moon E, Heu S. Diverse Antibacterial activity of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* isolated in Korea. J. Microbiol Biotechnol. 2009;19(1):42-50.
15. Roh E, Park TH, Kim Mi, Lee S, Ryu S, Oh Cs, Rhee S, Kim Dh, Park Bs, Heu S. Characterization of a new bacteriocin, carocin D, from *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* Pcc 21. Appl Environ Microbiol. 2010;76(22):7541-7549.

Стаття надійшла до редакції 29.06.2017 р.

