

дерального университета в целях повышения его конкурентоспособности среди ведущих мировых научно-образовательных центров. Так же данное исследование было поддержано грантом Российской Научного Фонда № 14-14-00924.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Fakhrullin R.F. Interfacing living unicellular algae cells with biocompatible polyelectrolyte-stabilised magnetic nanoparticles. / R.F. Fakhrullin, L.V. Shlykova, A.I. Zamaleeva, D.K. Nurgaliev, Y.N. Osin, J.García-Alonso, V.N. Paunov // Macromol Biosci. – 2010, V.10, P.1257-1264.
2. Lee P. C. Adsorption and Surface – Enhanced Raman of Dyes on Silver and Gold Sols / P. C. Lee , D. Meisel // Journal of Physical Chemistry. – 1982, V. 86, P. 3391–3395.
3. Diaspro A. Single Living Cell Encapsulation in Nano-organized Polyelectrolyte Shells. / A. Diaspro, D. Silvano, S. Krol, O. Cavalleri, A. Gliozzi // Langmuir. – 2002, V. 18, P. 5047–5050.

УДК 579.66

**ИЗМЕНЕНИЕ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ДРОЖЖЕЙ
S. CEREVIAE И БАКТЕРИЙ E. COLI, ПОКРЫТЫХ
СЕРЕБРЯНЫМИ НАНОЧАСТИЦАМИ,
СТАБИЛИЗИРОВАННЫЕ РАЗЛИЧНЫМИ
ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТАМИ**

А.А. Данилушкина, С.А. Коннова, Р.Ф. Фахруллин

Казанский федеральный университет
420008, г. Казань, ул. Кремлёвская, 18, anchutka124@gmail.com

В настоящее время для покрытия живых клеток существует биосовместимый метод послойного нанесения полиэлектролитов. У данного метода есть два недостатка: длительный процесс нанесения полиэлектролитов, подавление жизнеспособности покрываемых объектов, поэтому для сокращения времени покры-

тия дрожжей *S. cerevisiae* и бактерий *E. coli* полиэлектролитами мы предлагаем заблаговременную подготовку (стабилизацию полиэлектролитами) частиц и дальнейшее одноэтапное покрытие стабилизованными частицами клеток. Также мы решили выяснить влияние полиэлектролит-стабилизованных серебряных наночастиц на жизнеспособность дрожжей *S. cerevisiae* и бактерии *E. coli*.

Ключевые слова: серебряные наночастицы; одноэтапное покрытие; полиэлектролиты; цитотоксичность.

CHANGING THE VIABILITY YEAST *S. CEREV рIAE* AND BACTERIA *E. COLI*, COVERING WITH SILVER NANOPARTICLES STABILIZED WITH VARIOUS POLYELECTROLYTE

A.A. Danilushkina, S.A. Konnova, R.F. Fahrullin

Kazan Federal University, 18 Kremlyovskaya St.,

Kazan 420008, Russian Federation, anchutka124@gmail.com

*Currently, coverage of live cells there is biocompatible polyelectrolyte method of layering. In this method has two drawbacks: the long process of applying polyelectrolytes suppression viability covered objects, so to reduce the time coverage of *S. cerevisiae* and *E. coli* bacteria polyelectrolytes we offer advance preparation (stabilization polyelectrolytes) particles and a further one-step coating particles stabilized cells. Also, we decided to investigate the effect of polyelectrolyte-stabilized silver nanoparticles on the viability of the yeast *S. cerevisiae* and the bacteria *E. coli*.
Keywords: silver nanoparticles; one-step coating; polyelectrolytes; cytotoxicity.*

Поверхностно-клеточная инженерия является динамично развивающейся междисциплинарной областью исследований, направленная на изготовление искусственных функциональных оболочек на поверхности биологических клеток [1]. Взаимодействие клеток с многослойными полимерами, рассматривается как мощный способ ослабления или усиления внутренних свойств клеток для контроля деления клеток или их сборки в искусственные многоклеточные кластеры [2].

В данной работе мы изготавливаем серебряные наночастицы, покрытые полиэлектролитами, и используем их для прямого одношагового нанесения на поверхность клеток. Далее мы наблюдали изменение жизнеспособности дрожжей *S. cerevisiae* и бактерий *E. coli*.

Для стабилизации серебряных наночастиц мы использовали следующие полиэлектролиты: РАН (polyallylamine hydrochloride), PEI (polyethyleneimine), PDADMAC (poly(diallyldimethylammonium chloride)). Растворы данных полиэлектролитов добавляли к наночастицам серебра, обрабатывали ультразвуком, перемешивали на роторе. На последнем этапе проводили отмывку полученных частиц от избытка полиэлектролита. Затем покрывали клетки дрожжей *S. cerevisiae* и бактерий *E. coli* полученными полимер-стабилизованными серебряными наночастицами. Для этого встряхивали клетки и наночастицы на шейкере и промывали дистиллированной водой. Для определения влияния полиэлектролитов и серебряных наночастиц на жизнеспособность дрожжей *S. cerevisiae* и бактерий *E. coli* мы использовали следующие тесты на токсичность: окрашивание витальными красителями (Fluorescein diacetate, Propidium iodide) и построение кривой роста.

Серебряные наночастицы были стабилизированы полиэлектролитами: РАН, PDADMAC, PEI [3]. Полученные полимер-стабилизированные серебряные наночастицы были охарактеризованы следующими видами микроскопии: гиперспектральная система CytoViva (рис. 1), атомно-силовая микроскопия (рис. 2), просвечивающая электронная микроскопия. Дрожжи и бактерии были покрыты полимер-стабилизированными серебряными наночастицами. Также были проведены тесты на жизнеспособность (рис. 3).

По полученным данным кривых роста дрожжей *S. cerevisiae* и бактерий *E. coli* следует, что полиэлектролит РАН слабо влияет на их жизнеспособность ($95,9\% \pm 7,8$ живых клеток относительно контроля), полиэлектролит PDADMAC влияет сильнее ($93,6\% \pm 5,2$ живых клеток относительно контроля), а PEI ещё сильнее ($63,3\% \pm 6,1$ живых клеток относительно контроля). Сами серебряные наночастицы мало влияют на жизнеспособность дрожжей *S. cerevisiae* и бактерий *E. coli* ($97,9\% \pm 2,1$). Также полимер-стабилизированные

наночастицы серебра значительно упрощают процесс покрытия клеток.

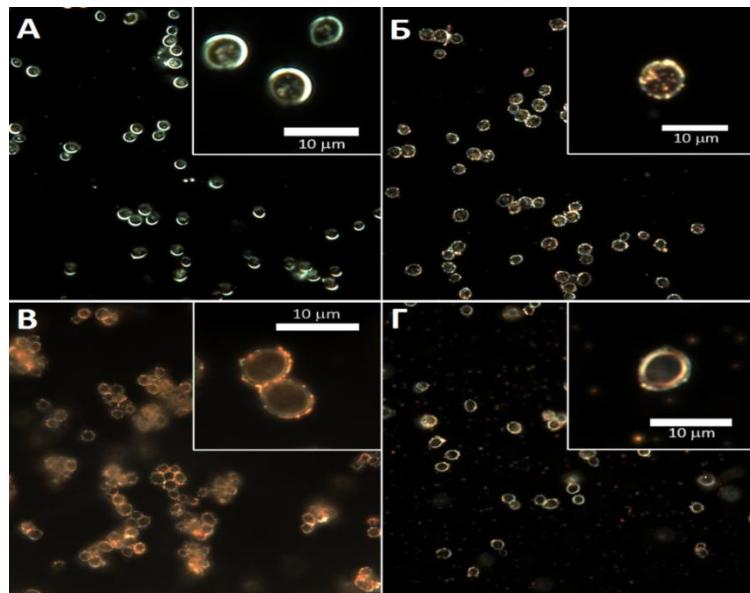


Рис. 1. Изображения гиперспектральной микроскопии. Дрожжи *S.cerevisiae* с полимерными покрытиями, стабилизированные AgNPs: нативные клетки (А), РАН (Б), РДАДМАС (В), РЕИ (Г)

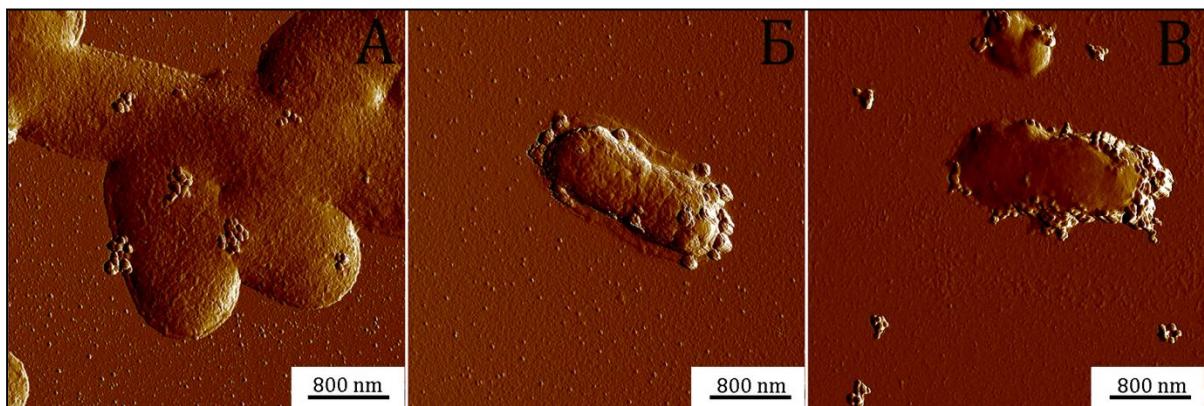


Рис. 2. ACM изображения клеток *E.coli*, покрытые РАН–AgNPs (А); РДАДМАС–AgNPs (Б) и РЕИ–AgNPs (В) [2]

В данной статье мы описали быстрый метод нанесения серебряных наночастиц, стабилизованных полиэлектролитами, на дрожжи *S. cerevisiae* и бактерии *E. coli*. Также мы выяснили, что наибольшей цитотоксичностью обладают серебряные наночастицы, стабилизированные полиэлектролитами РЕИ и РДАДМАС.

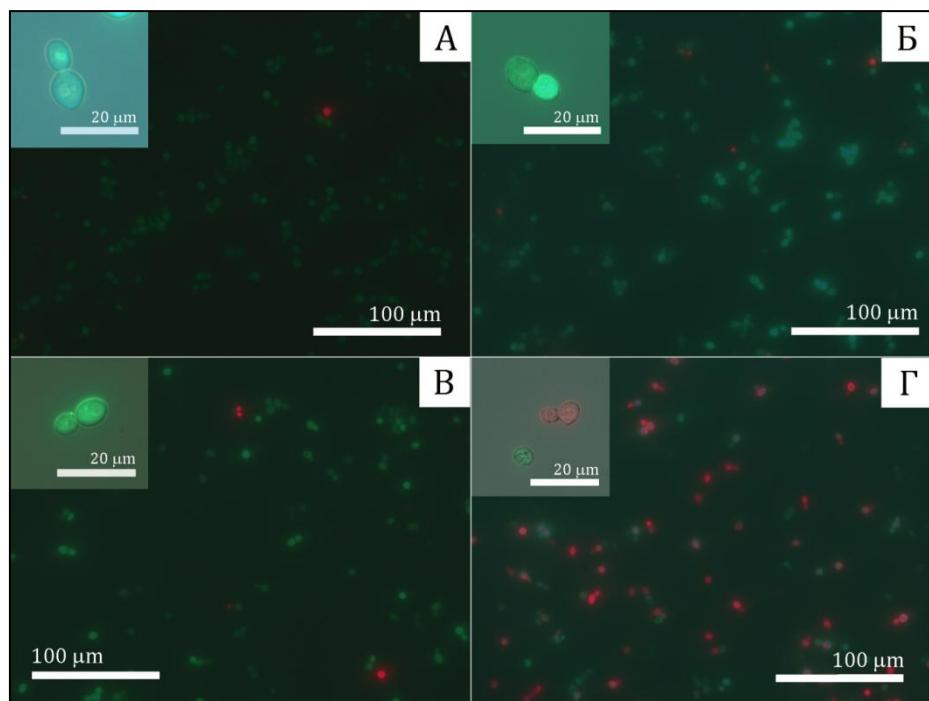


Рис. 3. Тест на жизнеспособность дрожжевых клеток, покрытые AgNPs, стабилизированные разными полиэлектролитами: (А) нативные клетки (98% жизнеспособность); (Б) РАН-AgNPs (97% жизнеспособных); (В) PDADMAC-AgNPs (94% жизнеспособных); (Г) - PEI-AgNPs (63% жизнеспособных) [2]

Данное исследование было поддержано грантом Российского Научного Фонда № 14-14-00924. Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной в рамках государственной поддержки Казанского (Приволжского) федерального университета в целях повышения его конкурентоспособности среди ведущих мировых научно-образовательных центров.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Fakhrullin R.F., Choi I., Lvov Y. Cell Surface Engineering: Fabrication of Functional Nanoshells. Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2014.
2. Konnova S.A., Danilushkina A.A., Fakhrullina G.I., Akhatova F.S., Badrutdinov A.R., Fakhrullin R.F. Silver nanoparticle-coated “cyborg” microorganisms: rapid assembly of polymerstabilised nanoparticles on microbial cells. RSC Advances, 2015, pp. 13530–13537.

3. Fakhrullin R.F., Lvov Y.M. Face-Lifting and Make-Up for Micro-organisms: Layer-by-Layer Polyelectrolyte Nanocoating. ACS Nano, 2012, pp. 4557–4564.

УДК 577.218

**ГЕТЕРОЛОГИЧНАЯ ЭКСПРЕССИЯ РМА1
В КЛЕТКАХ ПРОДУЦЕНТА ЦЕФАЛОСПОРИНА
С *ACREMONIUM CHRYSOGENUM*: ВЛИЯНИЕ НА
БИОСИНТЕЗ АНТИБИОТИКА И ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ
БАЛАНС КЛЕТКИ**

М.В. Думина, А.А. Жгун, М.И. Новак, А.Г. Домрачева, М.А. Эльдаров,
Ю.Э. Бартошевич

Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследо-
вательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Рос-
сийской академии наук»

117312, Россия, г. Москва, пр-т 60-летия Октября 7/1,
DuminaMaria@gmail.com

Созданы генетические конструкции для экспрессии H^+ -АТФазы плазмалеммы РМА1 в виде гибридного белка, сплитого с желтым флуоресцентным белком YFP, в клетках продуцента бета-лактамного антибиотика цефалоспорина С *Acremonium chrysogenum*. Исследован характер субклеточной локализации РМА1-YFP гибрида в *A. chrysogenum*. Методом агробактериального переноса получены трансформанты высокопродуктивного штамма *A. chrysogenum* ВКМ F-4081D, экспрессирующие ген *rma1-yfp*. Показано, что повышенная экспрессия H^+ -АТФазы в рекомбинантных клонах *A. chrysogenum* ВКМ F-4081D_PMA1-TagYFP приводит к снижению внутриклеточного содержания АТФ, что оказывает в целом негативный эффект на биосинтез конечного продукта цефалоспорина С.

Ил. 3. Табл. 1. Библиогр. 6 назв.

Ключевые слова: антибиотик, биосинтез, генетическая инжене-
рия.