

дерального университета в целях повышения его конкурентоспособности среди ведущих мировых научно-образовательных центров. Так же данное исследование было поддержано грантом Российского 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. CEREVISIAE* 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 стабилизированными частицами клеток. Также мы решили выяснить влияние полиэлектролит-стабилизированных серебряных наночастиц на жизнеспособность дрожжей S.cerevisiae и бактерии E. coli.

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

CHANGING THE VIABILITY YEAST S. CEREVISIAE 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: PAH (polyallylamine hydrochloride), PEI (polyethyleneimine), PDADMAC (poly(diallyldimethylammonium chloride)). Растворы данных полиэлектролитов добавляли к наночастицам серебра, обрабатывали ультразвуком, перемешивали на ротаторе. На последнем этапе проводили отмывку полученных частиц от избытка полиэлектролита. Затем покрывали клетки дрожжей *S. cerevisiae* и бактерий *E. coli* полученными полимер-стабилизированными 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: PAH, 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 PAH 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.

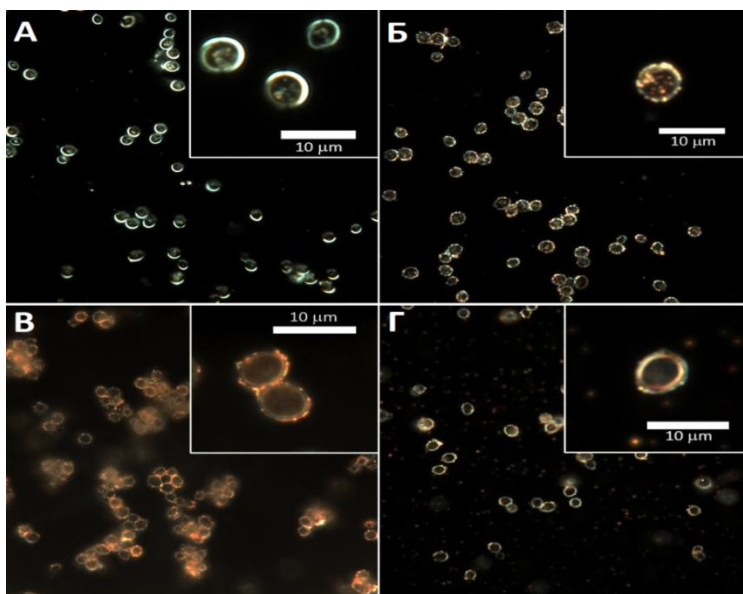


Рис. 1. Изображения гиперспектральной микроскопии. Дрожжи *S.cerevisiae* с полимерными покрытиями, стабилизированные AgNPs: нативные клетки (А), РАН (Б), PDADMAC (В), PEI (Г)

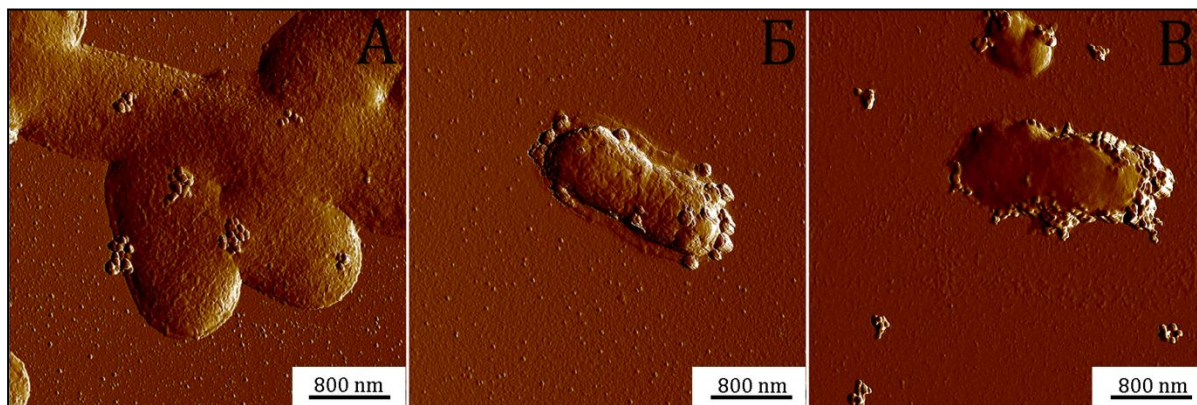


Рис. 2. АСМ изображения клеток *E.coli*, покрытые РАН–AgNPs (А); PDADMAC–AgNPs (Б) и PEI–AgNPs (В) [2]

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

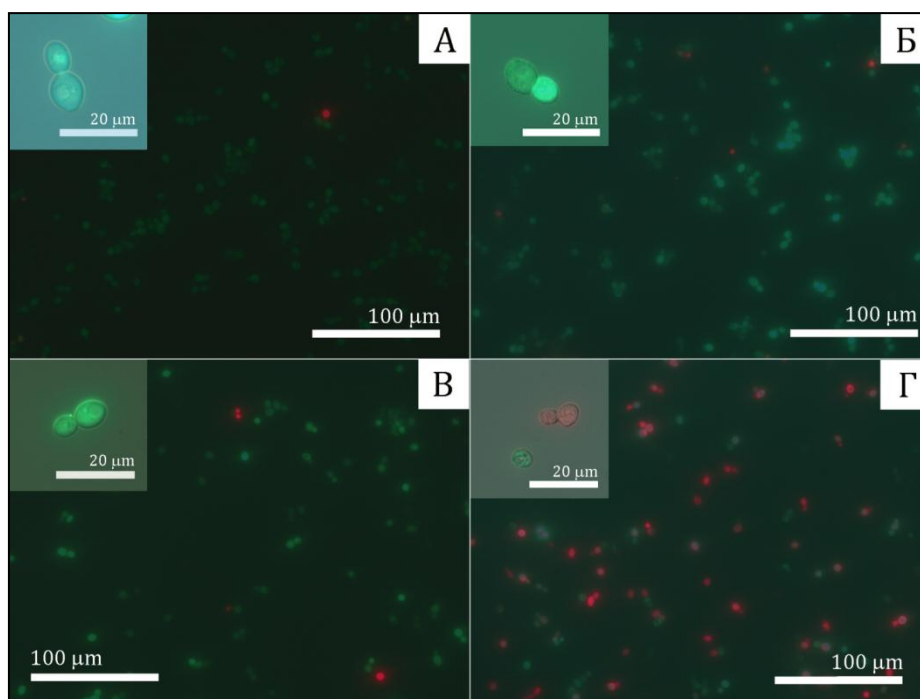


Рис. 3. Тест на жизнеспособность дрожжевых клеток, покрытые AgNPs, стабилизированные разными полиэлектролитами: (А) нативные клетки (98% жизнеспособность); (Б) PAN-AgNPs (97% жизнеспособных); (В) PDADMAC-AgNPs (94% жизнеспособных); (Г) - PEI-AgNPs (63% жизнеспособных) [2]

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 Microorganisms: Layer-by-Layer Polyelectrolyte Nanocoating. ACS Nano, 2012, pp. 4557–4564.

УДК 577.218

**ГЕТЕРОЛОГИЧНАЯ ЭКСПРЕССИЯ PMA1
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 исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук»

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

*Созданы генетические конструкции для экспрессии H⁺-АТФазы плазмалеммы PMA1 в виде гибридного белка, слитого с желтым флуоресцентным белком YFP, в клетках продуцента бета-лактамного антибиотика цефалоспорина С *Acromonium chrysogenum*. Исследован характер субклеточной локализации PMA1-YFP гибрида в *A. chrysogenum*. Методом агробактериального переноса получены трансформанты высокопродуктивного штамма *A. chrysogenum* ВКМ F-4081D, экспрессирующие ген *rta1-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 инженерия.