

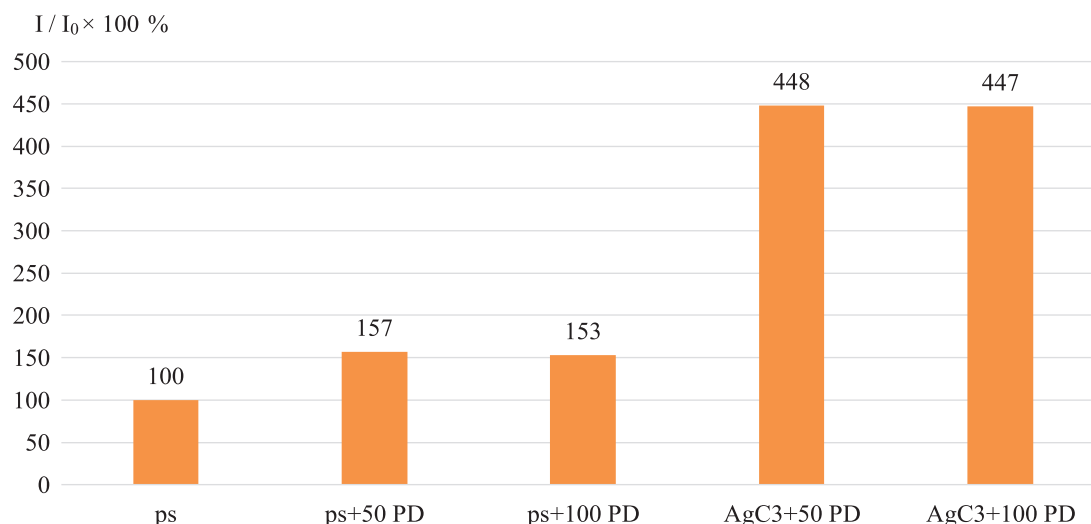


Рисунок 3 – Гистограмма интенсивности флуоресценции IgG-FITC на поверхности полистирола и нанопленок AgC3

I_0 – интенсивность флуоресценции контроля; I – интенсивность флуоресценции; Ps – полистирол; ps+50 PD и ps+100 PD – полистирол, покрытый слоем ПДАДМАХ при его концентрации 50 и 100 мкг/мл; AgC3+50 PD и AgC3+100 PD – серебряные нанопленки, покрытые слоем ПДАДМАХ при его концентрации 50 и 100 мкг/мл

В ходе проведения данного исследования установлено, что параметры сорбции модельного иммуноглобулина зависят как от толщины используемого слоя ПДАДМАХ, так и от концентрации белка. Была определена оптимальная концентрация ПДАДМАХ, позволяющая обеспечить повышенную сорбцию конъюгата IgG-FITC составляет 50 мкг/мл. При дальнейшем увеличении толщины полиэлектrolитного слоя происходит снижение интенсивности флуоресценции до уровня флуоресценции конъюгата IgG-FITC, иммобилизованного на поверхности слоя ПДАДМАХ, покрывающего интактную полистирольную ячейку.

ЛИТЕРАТУРА

1. Abdulhalim, I. Plasmonic Sensing Using Metallic Nano-Sculptured Thin Films / I. Abdulhalim // Small. – 2018. – Vol. 10, № 17. – P. 499–514.
2. Ghanadan, A. Immunofluorescence in the diagnosis of diseases/ A. Ghanadan, A. Saghazadeh, M. Daneshpazhooh // Expert Review of Clinical Immunology. – 2019. – Vol. 11, iss. 5. – P. 611–642.
3. Liu, Y. Microfluidics-Based Plasmonic Biosensing System Based on Patterned Plasmonic Nanostructure Arrays / Y. Liu, X. Zhang // Micromachines. – 2021. – Vol. 12, iss. 3. – P. 826–830

ВЛИЯНИЕ ОРГАНОМИНЕРАЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ СЕЛЕНА И ЦИНКА С ХРОМОМ НА МЕТАБОЛИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ INFLUENCE OF ORGANOMINERAL COMPLEXES BASED ON NANOTRACE ELEMENTS SELENIUM AND ZINC WITH CHROMIUM ON THE METABOLIC ACTIVITY OF MICROORGANISMS

К. В. Озем, Е. Е. Тарасова

K. V. Ozem, E. E. Tarasova

Учреждение образования «Международный государственный экологический институт
имени А. Д. Сахарова» Белорусского государственного университета, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ,
Минск, Республика Беларусь
leozember47@gmail.com

International State Environmental Institute of Belarusian State University, ISEI BSU,
Minsk, Republic of Belarus

В работе изучено влияния органоминеральных комплексов наномикроэлементов на метаболизм Escherichia coli и Staphylococcus aureus с использованием рядов Гисса.

The effect of organomineral complexes of nanotrace elements on the metabolism of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* using the Hiss series was studied.

Ключевые слова: *E. coli*, *St. aureus*, микроорганизмы, ряды Гисса, метаболизм, органоминеральные комплексы на основе наночастиц.

Keywords: *E. coli*, *St. aureus*, microorganisms, Hiss series, metabolism, organomineral complexes based on nanoparticles.

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2024-1-378-382>

Нанотехнологии, появившиеся в последней четверти XX века, стремительно развиваются. Один за другим появляются проекты, которые пару лет назад казались фантастическими. Коллектив ученых из нескольких институтов НАН Беларуси сумел за три года не только создать микроэлементный нанопрепарат, не уступающий по эффективности лучшим мировым аналогам, но и внедрить его в производство (для растениеводства).

В настоящее время широко обсуждаются перспективы использования наночастиц при создании лекарственных препаратов. Размеры наночастиц колеблются от 1 до 100 нм, что позволяет им беспрепятственно проходить через клеточную мембрану. В основном эти лекарственные препараты созданы на основе липосом, полимеров, оксидов железа, мицелл. Отсутствие фундаментальных исследований в данной области является одним из основных препятствий при разработке лекарственных препаратов нового поколения на основе наночастиц, в том числе селена и цинка с хромом [1].

Как кишечная палочка, так и золотистый стафилококк являются факультативными анаэробами, то есть они могут существовать как в присутствии кислорода, так и без него. Также они гетеротрофны, то есть получают энергию и питательные вещества из органических веществ в окружающей их среде. Кишечная палочка может ферментировать углеводы для получения энергии в отсутствие кислорода или подвергаться аэробному дыханию для производства большего количества энергии при наличии кислорода. Метаболизм углеводов в *E. coli* происходит по двум основным путям: пути Энтнера-Дудорова (ЭД) и пути Эмбдена-Мейергофа-Парнаса (ЭМП) [2].

Путь ЭМП представляет собой гликолитический путь, который превращает глюкозу в пируват. Путь ЭД является альтернативой пути ЭМП и используется в основном грамотрицательными бактериями. Он начинается с фосфорилирования глюкозы гексокиназой с образованием глюкозо-6-фосфата (G6P), аналогично пути ЭМП, но затем G6P превращается в 6-фосфоглюконат (6PG) вместо перехода к следующим этапам. 6PG подвергается окислительному декарбоксилированию, катализируемому 6-фосфоглюконатдегидратазой и 2-дегидро-3-дезоксифосфоглюконат (ДДФ)-альдолазой, что приводит к образованию пирувата и глицеральдегид-3-фосфата (GAP) соответственно. GAP переходит к дальнейшему гликолизу с образованием АТФ, в то время как образовавшийся пируват может далее метаболизироваться в цикле Кребса.

Золотистый стафилококк способен использовать широкий спектр углеводов для своего метаболизма. Механизм углеводного обмена у *St. aureus* включает несколько этапов, включая транспорт, расщепление и утилизацию сахара.

Транспорт углеводов в бактериальную клетку облегчается несколькими транспортными системами, включая фосфоенолпируват-зависимую фосфотрансферную систему (PTS) и транспортеры ABC. Эти переносчики обеспечивают поглощение и концентрацию определенных сахаров, таких как глюкоза, лактоза и фруктоза. Оказавшись внутри клетки, сахара подвергаются расщеплению или катаболизму, который катализируется специфическими ферментами. Например, глюкоза может подвергаться гликолизу с образованием пирувата, АТФ и НАДН. Лактоза может быть расщеплена пермеазой лактозы и бета-галактозидазой, которые производят глюкозу и галактозу [3].

Продукты распада сахаров далее метаболизируются для производства энергии для бактериальной клетки. Пируват, например, может быть преобразован в ацетил-КоА, который вступает в цикл лимонной кислоты для получения большего количества АТФ. Помимо использования сахаров в качестве источника энергии, *St. aureus* также может продуцировать несколько факторов вирулентности, таких как экзотоксины и внеклеточные ферменты, используя углеводы в качестве субстрата. Например, было показано, что выработке важного фактора вирулентности, альфа-токсина, способствует рост на глюкозе.

В целом, углеводный обмен *St. aureus* имеет решающее значение для его выживания и вирулентности, что делает его важной областью исследований по разработке новых антибиотиков и терапевтических средств.

Для определения сахаролитических ферментов проводят посев на «пестрый ряд» Гисса (среды Гисса – включают в себя углевод и индикатор Андрее). Различают короткий «пестрый ряд», он включает углеводы, такие как глюкоза, лактоза, мальтоза, сахароза, маннит. Длинный «пестрый ряд» включает те же углеводы, что и короткий ряд, дополнительно в его состав входят моносахариды: арабиноза, ксилоза, рамноза, галактоза. Полисахариды – инулин, крахмал, гликоген. Спирты – глицерин, дульцит, инозит.

Принцип действия при определении сахаролитических ферментов следующий: при утилизации микроорганизмом содержащегося в среде углевода с образованием кислоты pH сдвигается в кислую сторону, и среда изменяет свой цвет. При разложении кислоты на газ и воду, наблюдается присутствие пузырьков в пробирке.

В ходе эксперимента была проведена инкубация взвесей микроорганизмов с органоминеральными комплексами Se и Zn с Cr с добавлением питательной среды. Время выдержки микроорганизмов с нанопрепаратами

составляло 0, 24, 48 и 72 часа при температуре 37°C. После инкубации на разных временных промежутках производился посев полученных суспензий на цветные ряды Гисса. Схемы проведения посевов представлены в таблицах 1,2. Цветные ряды Гисса имеют в своём составе следующие углеводы: мальтоза, глюкоза, маннитол, сорбитол, лактоза.

Таблица 1

Схема проведения эксперимента для суспензии *E. coli*

Мальтоза	Глюкоза	Маннитол	Сорбитол	Лактоза
<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>
<i>E. coli</i> Se	<i>E. coli</i> Se	<i>E. coli</i> Se	<i>E. coli</i> Se	<i>E. coli</i> Se
<i>E. coli</i> Zn и Cr	<i>E. coli</i> Zn и Cr	<i>E. coli</i> Zn и Cr	<i>E. coli</i> Zn и Cr	<i>E. coli</i> Zn и Cr

Таблица 2

Схема проведения эксперимента для суспензии *St. aureus*

Мальтоза	Глюкоза	Маннитол	Сорбитол	Лактоза
<i>St. aureus</i>	<i>St. aureus</i>	<i>St. aureus</i>	<i>St. aureus</i>	<i>St. aureus</i>
<i>St. aureus</i> Se	<i>St. aureus</i> Se	<i>St. aureus</i> Se	<i>St. aureus</i> Se	<i>St. aureus</i> Se
<i>St. aureus</i> Zn и Cr	<i>St. aureus</i> Zn и Cr	<i>St. aureus</i> Zn и Cr	<i>St. aureus</i> Zn и Cr	<i>St. aureus</i> Zn и Cr

Изменения, протекающие в рядах Гисса при посеве суспензий *E. coli* и *St. aureus* приведены в таблицах 3, 4. Условные обозначения: (+) – Изменение цвета сред Гисса, (-) – Отсутствие изменения цвета среды, Г – Наличие газообразования.

Таблица 3

Изменения, протекающие в рядах Гисса при посеве суспензий *E. coli* без инкубации

Мальтоза	Глюкоза	Маннитол	Сорбитол	Лактоза
<i>E. coli</i> (+) Г	<i>E. coli</i> (+) Г	<i>E. coli</i> (+) Г	<i>E. coli</i> (+)	<i>E. coli</i> (+) Г
<i>E. coli</i> c Se (+) Г	<i>E. coli</i> c Se (+) Г	<i>E. coli</i> c Se (+) Г	<i>E. coli</i> c Se (+) Г	<i>E. coli</i> c Se (+) Г
<i>E. coli</i> c Zn и Cr (+) Г	<i>E. coli</i> c Zn и Cr (+)	<i>E. coli</i> c Zn и Cr (-)	<i>E. coli</i> c Zn и Cr (+) Г	<i>E. coli</i> c Zn и Cr (+) Г

Таблица 4

Изменения цвета сред Гисса при посеве суспензий *St. aureus* без инкубации

Мальтоза	Глюкоза	Маннитол	Сорбитол	Лактоза
<i>St. aureus</i> (-)	<i>St. aureus</i> (-)	<i>St. aureus</i> (-)	<i>St. aureus</i> (-)	<i>St. aureus</i> (-)
<i>St. aureus</i> c Se (-)	<i>St. aureus</i> c Se (-)	<i>St. aureus</i> c Se (-)	<i>St. aureus</i> c Se (-)	<i>St. aureus</i> c Se (-)
<i>St. aureus</i> c Zn и Cr (-)	<i>St. aureus</i> c Zn и Cr (-)	<i>St. aureus</i> c Zn и Cr (-)	<i>St. aureus</i> c Zn и Cr (-)	<i>St. aureus</i> c Zn и Cr (-)

Добавление органоминерального комплекса с Se не повлияло на метаболическую активность *E. coli*. Органоминеральный комплекс с Zn и Cr остановил метаболизм маннитол в 3-й пробирке. *St. aureus* не ферментировал углеводы в цветных рядах. Добавление органоминеральных комплексов не повлияло на метаболизм микроорганизмов.

Далее был проведен посев суспензий, инкубированных с препаратами. Время инкубации суспензий 24 часа (Таблица 5,6).

Таблица 5

Изменения, протекающие в рядах Гисса при посеве суспензий E. coli – инкубация 24 часа

Мальтоза	Глюкоза	Маннитол	Сорбитол	Лактоза
E. coli (+)	E. coli (+)	E. coli (+) Г	E. coli (+) Г	E. coli (+) Г
E. coli с Se (+)	E. coli с Se (+)	E. coli с Se (+)	E. coli с Se (+)	E. coli с Se (+)
E. coli с Zn и Cr (+) Г	E. coli с Zn и Cr (+)	E. coli с Zn и Cr (+) Г	E. coli с Zn и Cr (+)	E. coli с Zn и Cr (+) Г

Таблица 6

Изменения сред Гисса при посеве суспензий St. aureus – инкубация 24 часа

Мальтоза	Глюкоза	Маннитол	Сорбитол	Лактоза
St. aureus (+)	St. aureus (+)	St. aureus (+) Г	St. aureus (+)	St. aureus (+)
St. aureus с Se (+) Г	St. aureus с Se (+)	St. aureus с Se (+) Г	St. aureus с Se (+)	St. aureus с Se (+)
St. aureus с Zn и Cr (+) Г	St. aureus с Zn и Cr (+) Г	St. aureus с Zn и Cr (+) Г	St. aureus с Zn и Cr (+)	St. aureus с Zn и Cr (+) Г

Инкубация в 24 часа снижает процесс газообразования как у чистой суспензии E. coli, так и при добавлении к ней нанопрепаратов. У St. aureus идёт разнонаправленный процесс газообразования для разных сахаров.

Изменения в цветных рядах Гисса при посеве микроорганизмов, инкубированных в течение 48 часов представлены в таблицах 7 и 8.

Таблица 7

Изменения, протекающие в рядах Гисса при посеве суспензий E. coli – инкубация 48 часов

Мальтоза	Глюкоза	Маннитол	Сорбитол	Лактоза
E. coli (+)	E. coli (+)	E. coli (+) Г	E. coli (+)	E. coli (+) Г
E. coli с Se (+) Г	E. coli с Se (+)	E. coli с Se (+)(-)	E. coli с Se (+) Г	E. coli с Se (+) Г
E. coli с Zn и Cr (+) Г	E. coli с Zn и Cr (+)	E. coli с Zn и Cr (+)(-)	E. coli с Zn и Cr (+) Г	E. coli с Zn и Cr (+)

Таблица 8

Изменения сред Гисса при посеве суспензий St. aureus – инкубация 48 часов

Мальтоза	Глюкоза	Маннитол	Сорбитол	Лактоза
St. aureus (+)	St. aureus (+)	St. aureus (+) Г	St. aureus (+)	St. aureus (+)
St. aureus с Se (+) Г	St. aureus с Se (+) Г	St. aureus с Se (+)	St. aureus с Se (+)	St. aureus с Se (+)
St. aureus с Zn и Cr (+) Г	St. aureus с Zn и Cr (+)	St. aureus с Zn и Cr (+)(-)	St. aureus с Zn и Cr (+)	St. aureus с Zn и Cr (+)

Наблюдается угнетение метаболизма E. coli в отношении маннитол в присутствии органоминеральных комплексов Se и Zn с Cr. Снижено газообразование с глюкозой, маннитолом и лактозой. При добавлении органоминеральных комплексов заметно снижение метаболической активности через 48 часов с сорбитолом и маннитолом. Наблюдается снижение газообразования St. aureus в отношении глюкозы маннитол сорбитол и лактозы при добавлении наномикроэлементов.

Спустя 72 часа инкубации наблюдается снижение газообразования в большей части пробирок как с органоминеральными комплексами, так и без таковых. St. aureus в присутствии органоминерального комплекса с Zn и Cr в пробирке с глюкозой, маннитолом и лактозой усилил метаболизм, на что указывает повышенное газообразование в этих пробах, а комплекс с Se ухудшил метаболизм микроорганизмами маннитол и сорбитол (Таблица 9, 10).

Таблица 9

Изменения, протекающие в рядах Гисса при посеве суспензий *E. coli* – инкубация 72 часа

Мальтоза	Глюкоза	Маннитол	Сорбитол	Лактоза
<i>E. coli</i> (+)	<i>E. coli</i> (+)	<i>E. coli</i> (+) Г	<i>E. coli</i> (+)	<i>E. coli</i> (+) Г
<i>E. coli</i> с Se (+)	<i>E. coli</i> с Se (+)	<i>E. coli</i> с Se (+)(-)	<i>E. coli</i> с Se (+)	<i>E. coli</i> с Se (+) Г
<i>E. coli</i> с Zn и Cr (+)	<i>E. coli</i> с Zn и Cr (+)	<i>E. coli</i> с Zn и Cr (+) Г	<i>E. coli</i> с Zn и Cr (+)	<i>E. coli</i> с Zn и Cr (+) Г

Таблица 10

Изменения сред Гисса при посеве суспензий со *St. aureus* – инкубация 72 часа

Мальтоза	Глюкоза	Маннитол	Сорбитол	Лактоза
<i>E. coli</i> (+)	<i>E. coli</i> (+)	<i>E. coli</i> (+) Г	<i>E. coli</i> (+)	<i>E. coli</i> (+) Г
<i>E. coli</i> с Se (+)	<i>E. coli</i> с Se (+)	<i>E. coli</i> с Se (+)(-)	<i>E. coli</i> с Se (+)	<i>E. coli</i> с Se (+) Г
<i>E. coli</i> с Zn и Cr (+)	<i>E. coli</i> с Zn и Cr (+)	<i>E. coli</i> с Zn и Cr (+) Г	<i>E. coli</i> с Zn и Cr (+)	<i>E. coli</i> с Zn и Cr (+) Г

Таким образом изучение метаболической активности микроорганизмов по определению их гликолитической активности на средах Гисса показало, что сахаролитические свойства с образованием кислот и газа ярко выражены для *E. coli* как с добавлением Se, так и Zn с Cr, на всех интервалах инкубации. В то время как гликолитические процессы для *St. aureus* менее выражены и отсутствует процесс газообразования.

Сравнительный анализ метаболической активности микроорганизмов без добавления и с добавлением наночастиц Se и Zn с Cr показал, что метаболические процессы с образованием кислот и газа более выражены у *E. coli*, по сравнению со *St. aureus* как без наночастиц Se и Zn с Cr, так и с их добавлением, что свидетельствует о более глубоких ферментативных процессах, происходящих под воздействием на наночастиц.

ЛИТЕРАТУРА

1. Скоринова К.Д., Кузьменко В.В., Василенко А.И. Перспектива создания лекарственных препаратов на основе наночастиц селена (обзор). *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2020;9(2):33-44.
2. Liu H, Sun Y, Ramos KR, Nisola GM, Valdehuesa KN, Lee WK, Park SJ, Chung WJ. Combination of Entner-Doudoroff pathway with MEP increases isoprene production in engineered *Escherichia coli*. *PLoS One*. 2013 Dec 20;8(12)
3. Capra EJ, Laub MT. Evolution of two-component signal transduction systems. *Annu Rev Microbiol*. 2012;66:325-47. doi: 10.1146/annurev-micro-092611-150039. Epub 2012 Jun 28.

MITOCHONDRIAL DNA VARIANT M.4344T>C IN τ RNAGIn CAUSES DEVELOPMENTAL DELAY

МУТАЦИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК M.4344T>C τ RNAGIn ВЫЗЫВАЕТ ОТСТАВАНИЕ В РАЗВИТИИ

Jianxin Lyu², Chen Xiandan^{1,2}, A. Sysa¹

Ж. Лю², Ч. Сяндань^{1,2}, А. Г. Сыса¹

¹ International Sakharov Environmental Institute of Belarusian State University, ISEI BSU,
Minsk, Republic of Belarus, aliaksei.sysa@iseu.by

² Key Laboratory of Laboratory Medicine, Ministry of Education, Zhejiang Provincial Key Laboratory of Medical Genetics, School of Laboratory Medicine and Life sciences, Wenzhou Medical University, Wenzhou, Zhejiang, China

¹ Учреждение образования «Международный государственный экологический институт имени А. Д. Сахарова» Белорусского государственного университета, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ, г. Минск, Республика Беларусь

² Ведущая лаборатория медицинской диагностики Министерства образования, ведущая лаборатория медицинской генетики факультета лабораторной медицины и наук о жизни провинции Чжэцзян, Медицинский университет Венчжоу, Венчжоу, Чжэцзян, Китай