

Литература

1. *Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium*. Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci // *Nature*. 2014. №511. P. 421–427.
2. *Yin J., Lin J., Luo X.* mir-137: a new player in schizophrenia // *International journal of molecular sciences*. 2014. №15. P. 3262–3271.
3. *Warburton A., Breen G., Bubb V.J., Quinn J.P.* A GWAS SNP for Schizophrenia Is Linked to the Internal MIR137 Promoter and Supports Differential Allele-Specific Expression. // *Schizophrenia Bulletin*. 2015. № 144. P.1–6.
4. *Liu B., Zhang X., Hou B., Li J.* The impact of MIR137 on dorsolateral prefrontal-hippocampal functional connectivity in healthy subjects // *Neuropsychopharmacology*. 2014. № 39. P. 2153–2160.
5. *Guan F., Zhang B., Yan T., Li L.* MIR137 gene and target gene CACNA1C of MIR137 contribute to schizophrenia susceptibility in Han Chinese // *Schizophrenia Research*. 2014. №152. P.97–104.
6. *Patel V. S., Kelly S., Wright C.* MIR137HG risk variant rs1625579 genotype is related to corpus callosum volume in schizophrenia // *Neuroscience Letters*. 2015. № 602. P. 44–49.
7. Интернет-адрес:
http://browser.1000genomes.org/Homo_sapiens/Variation/Population?r=1:98502434-98503434;v=rs1625579;vdb=variation;vf=1146801.
8. *Hommers L.G., Domschke K., Deckert J.* Heterogeneity and individuality: microRNAs in mental disorders // *Journal of neural transmission*. 2015. №122. P.79–97.

СПОСОБНОСТЬ ПРИРОДНЫХ БАКТЕРИЙ СИНТЕЗИРОВАТЬ НАНОЧАСТИЦЫ СЕРЕБРА

В. В. Марукевич, А. Э. Охремчук, Е. С. Голомако, М. И. Чернявская

Способность к продукции наночастиц различных металлов бактериями является адаптивным механизмом в условиях критических концентраций ионов тяжелых металлов. В ионной форме металлы более реакционно способные и токсичные для клетки. Различные редуцирующие агенты внутри или вне клетки восстанавливают их катионы до нейтральных атомов, последние агрегируют с образованием наночастиц, проявляющих биоцидный эффект [1]. Цитотоксическое влияние наночастиц на микроорганизмы обусловлено их проникновением в клетку и нарушением структур клетки за счет поверхностного плазмонного резонанса и высвобождения ионов металла. В этом аспекте наночастицы серебра весьма привлекательны, поскольку могут рассматриваться в качестве альтернативы антибиотикам, резистентность к которым широко распространена среди патогенных микроорганизмов [2].

Целью данной работы было исследование физических и антимикробных свойств наночастиц серебра, полученных путем биологического синтеза.

Объектами исследования служили бактерии разных таксономических групп, выделенные из различных природных источников (всего 38 штаммов).

Бактерии культивировали в жидкой полноценной среде ПДБ (г/л: пептон – 10; дрожжевой экстракт – 5; NaCl – 8, рН 7,0-7,2) при температуре 28 или 37 °С в течение 48 ч с аэрацией. Клетки осаждали центрифугированием 10 мин при 12 000 об/мин, в культуральную жидкость добавляли водный раствор AgNO₃ (конечная концентрация 1 ммоль/л). Растворы выдерживали на свету в течение 48 ч при комнатной температуре с перемешиванием.

Наличие наночастиц серебра определяли спектрофотометрически (Metertech SP-8001), измеряя оптическую плотность растворов в диапазоне длин волн 200-800 нм. Для исследования структурно-фазовых характеристик применялись методы просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) и просвечивающей электронной дифракции (ПЭД) с использованием микроскопа Philips CM20. Антимикробную активность наночастиц серебра определяли методом агаровых лунок, где в качестве тест-культуры использовали бактерии *Salmonella typhimurium* TA100.

Растворы наночастиц серебра имеют характерный красно-коричневый цвет и поглощают свет области 380-450 нм [3]. Оптическая характеристика синтезированных растворов, в которых происходило изменение цвета (с желтого на вишневый или коричневый), позволила установить наличие присущих наночастицам серебра пиков в 13 из 38 раствора. Их форма, положение и интенсивность варьировали. В растворах, синтезированных бактериями *Bacillus flexus* 6-3 пики лежали в области около 411-426 нм (рис. 1а), *B. amyloliquefaciens* 7IA3 – 406-408 и 460-466 нм, *B. pumilis* 6 – 357-360 и 461-464 нм, *B. pumilis* 7 – 378-383 нм, *Bacillus sp.* 23 – 380-386 и 459-464 нм, *Acinetobacter radioresistens* L5A-16 – 377-381 и 461-462 нм (рис. 1в), *A. radioresistens* 5Aб – 362-365 и 460-465 нм, *Deitzia sp.* 10-15 – 370-377 нм, *Deinococcus sp.* A2-6 – 401-406 нм (рис. 1б).

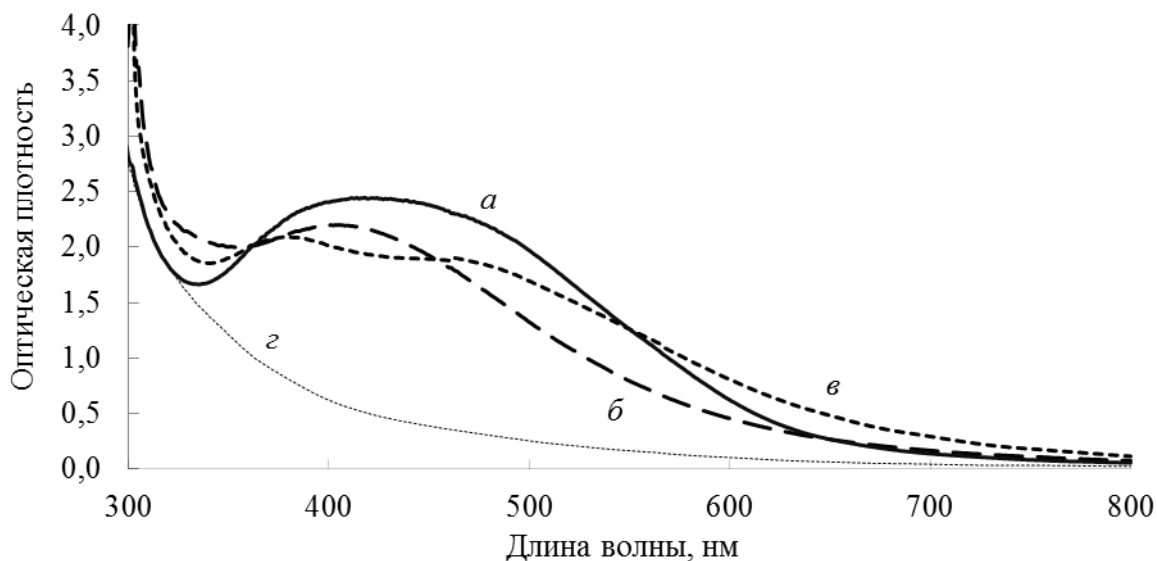


Рис. 1. Оптические характеристики растворов серебряных наночастиц
 а – *Bacillus flexus* 6-3, б – *Deinococcus* sp. A2-6, в – *Acinetobacter radioresistens* L5A-16,
 г – питательная среда ПДБ

Наличие пиков в заданной области было отмечено у 4 штаммов с неопределенной таксономической принадлежностью: А20-23 – 385-389 нм, А36-2 – 399-403 нм, А50-13 – 398-402 нм, А20-5 – 403-407 нм.

Для последующей характеристики наночастиц были отобраны растворы наночастиц, синтезированные бактериями *A. radioresistens* L5A-16, *B. flexus* 6-3 и *Deinococcus* sp. A2-6.

С помощью метода просвечивающей электронной дифракции, картины которой сопоставили с рассчитанными межатомными плоскостями, определили, что кристаллам серебра, образованным в супернатанте *Deinococcus* sp. A2-6 соответствует гексагональная кристаллическая решетка, а *A. radioresistens* L5A-16 и *B. flexus* 6-3 – кубическая.

Методом просвечивающей электронной микроскопии изучена морфология наночастиц. Установлено, что образованные одним и тем же штаммом частицы имеют разные размеры. В частности, *Deinococcus* sp. A2-6 синтезирует наночастицы от 9 до 60 нм (большинство наночастиц размером 14-18 нм), *A. radioresistens* L5A-16 – в диапазоне 1-200 нм (большинство наночастиц размером 40-80 нм), *B. flexus* 6-3 – в диапазоне 1-40 нм (большинство наночастиц размером от 5 до 10 и от 15 до 20 нм).

С помощью метода агаровых лунок было установлено, что синтезированные наночастицы, аналогично ионам серебра, обладают антимикробным действием в отношении бактерий *S. typhimurium* TA100 (рис. 2).

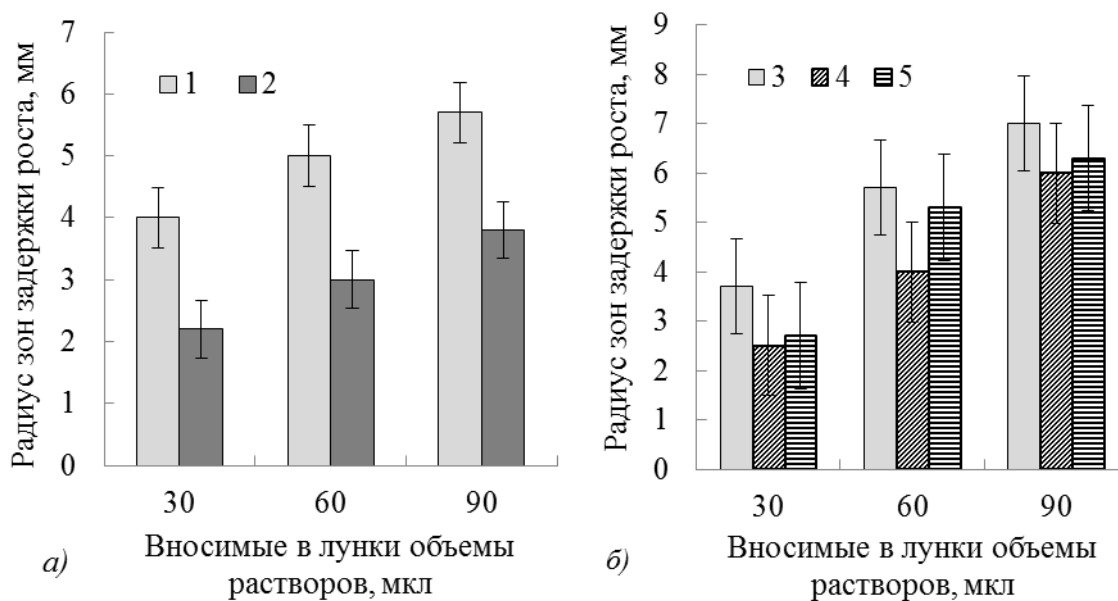


Рис. 2. Воздействие наночастиц серебра, синтезированных бактериями, на рост тест-культуры *S. typhimurium* TA100

а): 1 – Раствор соли AgNO₃ 1 ммоль/л, 2 – наночастицы, синтезированные *Deinococcus* sp. A2-6,
 б): 3 – Раствор соли AgNO₃ 1 ммоль/л, 4 – *B. flexus* 6-3, 5 – *A. radioresistens* L5A-16

В среднем, ионы серебра (использовали 1 ммоль/л раствор нитрата серебра) подавляли рост тест-культуры в большей степени, что подтверждает предположение о том, что синтез наночастиц – это один из способов нейтрализации токсического воздействия ионов тяжелых металлов [1]. С другой стороны, наличие антимикробной активности у всех синтезированных растворов говорит о возможности использования наночастиц серебра в качестве биоцидов.

Таким образом, было установлено, что 34 % исследованных штаммов способно к внеклеточному синтезу наночастиц серебра. Размеры преимущественно синтезируемых наночастиц варьировали в зависимости от штамма: от 5–10 нм – у бактерий *B. flexus* 6-3 до 40-80 нм – у *A. radioresistens* L5A-16. Обнаружено также, что могут формироваться наночастицы с гексагональной (*Deinococcus* sp. A2-6) и кубической (*B. flexus* 6-3, *A. radioresistens* L5A-16) формой кристаллической решетки. Синтезированные наночастицы обладали выраженной антимикробной активностью в отношении тест-культуры *S. typhimurium* TA100.

Литература

1. Plaza G.A., Chojniak J., Banat J.M. Biosurfactant mediated biosynthesis of selected metallic nanoparticles // International Journal of Molecular Sciences. 2014. V. 15. P. 13720-13737.
2. Sweet M.J., Singleton I. Silver Nanoparticles: A Microbial Perspective // Applied Microbiology. 2011. V. 77, Chapter 5. P. 115–133.

3. Крутяков Ю.А., Кудринский А.А., Оленин А.Ю., Лисичкин Г.В. Синтез и свойства наночастиц: достижения и перспективы // Успехи химии. 2008. Т. 77, № 3. С. 242–269.

УЧАСТИЕ НАРУЖУ-ВЫПРЯМЛЯЮЩИХ КАЛИЕВЫХ КАНАЛОВ В СТРЕСС-ИНДУЦИРУЕМОМ ВЫХОДЕ ИОНОВ КАЛИЯ ИЗ КЛЕТОК КОРНЯ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

А. С. Мацкевич, В. В. Самохина, В. С. Мацкевич, А. И. Соколик

Калий (K^+) является наиболее распространенным макроэлементом, который участвует во множестве физиологических процессах. Утечка ионов калия приводит к нарушению обмена веществ у растений: ослабляет деятельность целого ряда ферментов, нарушает белковый и углеводный обмен, повышает затраты углеводов на дыхание. Утечка K^+ в корнях растений активируется такими стрессовыми факторами, как патогены, засоление, холод, тяжелые металлы и окислительный стресс, которые индуцируют образование АФК [1]. Сигнально-регуляторная роль АФК может быть обусловлена их влиянием на катионные каналы, в частности, K^+ -проницаемые каналы [2]. Целью работы явилось установить характеристики выхода ионов K^+ из корней арабидопсиса при воздействии различных стрессовых факторов, заменив его аналогом радиотрейсером ^{86}Rb .

В работе был использован ^{86}Rb в форме хлорида, предоставленный Радиоизотопным Центром POLATOM (Польша). Объектом исследования были корни проростков *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. природного экотипа *Wassilevskija* (WS-0), а также мутанты *gork1-1*, у которых отсутствует ген GORK, кодирующий основной наружу выпрямляющий K^+ -канал. Культура целых растений выращивалась вертикально из семян на чашках Петри (100% среды Мурашиге и Скуга, 0,25% фитогеля, 1% сахарозы, рН 6) с использованием стандартных протоколов [3]. Активность проростков измеряли при помощи β -радиометра, имеющего детектор размером 5x7 см. В ходе опыта корни проростков, помещенные в специальные держатели, погружали в раствор следующего состава (ммоль/л): 0,1 KCl, 0,1 CaCl₂, рН 6,0, доведенный 2 Tris / 4 MES, содержащий ^{86}Rb . Через 30 мин загруженные ^{86}Rb проростки извлекали из радиоактивного раствора и помещали в тот же раствор без изотопа. Через определенные интервалы времени проростки извлекали из раствора, ополаскивали и помещали на подставку, покрытую фильтровальной бумагой, для установки в счетчик. По истечении 5 мин эксперимента рас-