

могут увидеть иммунные клетки и «потренироваться» на нём, чтобы при появлении настоящего патогенного микроорганизма иммунитет был готов к встрече [7].

Библиографический список

1. Букринская А.Г., Жданов В. М. Молекулярные основы патогенности вирусов.– М., 1991.
2. Дебабов В.Г. // Молекулярная биология, 1997.
3. Иммунопрофилактика – 2000 / под ред. В.К. Таточенко и Н.А. Озерцовского. – М., 2000
4. Медуницын Н.В. Вакцинология. – М., 1999.
5. [Никоноров Ю.М.](#), [Чубукова О.В.](#) Перспективы применения ДНК-вакцин в профилактике хантавирусных инфекций. – Тихоокеанский медицинский журнал, 2008. - № 2. - 4с.
6. Denise R. Shaw, [Theresa V. Strong](#) DNA VACCINES FOR CANCER Frontiers in Bioscience 11, 1189-1198, January 1, 2006.
7. <http://bio.fizteh.ru>

PROSPECTS OF DNA VACCINE IN PREVENTION OF INFECTIOUS DISEASES

Zhuravskaya N.P., Taranova-Ibragimova R.F.

This article contains information about methods of prevention of infectious diseases using DNA vaccines

УДК 759.873.088.5:661.185

СИНТЕЗ МИКРОБНЫХ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В ПРИСУТСТВИИ КАТИОНОВ МЕДИ

Филюк И.В., 5 курс, факультет биотехнологии и экологического контроля

Софилканич А.П., аспирант 3-го года обучения

Конон А. Д., аспирант 2-го года обучения

Научный руководитель: д.б.н., профессор Пирог Т.П.

Консультант: ведущий инженер Шевчук Т.А.

Национальный университет пищевых технологий, г. Киев, Украина

Ранее мы сообщали о способности изолированных нами штаммов *Rhodococcus erythropolis* ИМВ Ас-5017 и *Acinetobacter calcoaceticus* ИМВ В-7241 синтезировать поверхностно-активные вещества (ПАВ) при культивировании на гидрофильных и гидрофобных субстратах: *n*-гексадекан, жидкие парафины, этанол, глюкоза, глицерин [1–3]. В дальнейших исследованиях была показана возможность интенсификации синтеза ПАВ штаммами ИМВ В-7241 и ИМВ Ас-5017 при внесении в среду с этанолом (*n*-гексадеканом, глицерином) органических кислот, использовании смешанных энергетически неравноценных ростовых субстратов и масштабировании процесса на ферментационное оборудование.

Установлено, что препараты ПАВ *R. erythropolis* ИМВ Ас-5017 и *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241 повышают степень деструкции нефтяных загрязнений в воде и почве, а также обладают антимикробными свойствами.

Из литературы известно, что микробные поверхностно-активные вещества (рамнолипиды, софоролипиды, липопептиды) характеризуются также способностью к образованию стабильных комплексов с тяжелыми токсичными металлами (Al^{3+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Hg^{2+} , Ca^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Mn^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+}), благодаря чему защищают клетки продуцента от их действия, а также могут использоваться в природоохранных технологиях для удаления металлов [5, 4].

Цель данной работы – исследовать рост и синтез ПАВ при культивировании *R. erythropolis* ИМВ Ас-5017 и *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241 на средах с различными источниками углерода в присутствии катионов меди.

Культивирование *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241 и *Rhodococcus erythropolis* ИМВ Ас-5017 проводили на описанных нами ранее питательных средах [1–3]. В качестве источника углерода и энергии использовали этанол, *n*-гексадекан, жидкие парафины (C_{10} – C_{18}), а также подсолнечное масло в концентрации 2 % (по объему). При культивировании *R. erythropolis* ИМВ Ас-5017 на среде с подсолнечным маслом в среду дополнительно вносили 0,1 % глюкозы. В начале процесса культивирования, в экспоненциальной и стационарной фазе роста штаммов ИМВ В-7241 и ИМВ Ас-5017 в среду вносили Cu^{2+} (0,01–0,5 мМ) в виде 1М раствора $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

Рост бактерий и синтез ПАВ оценивали по таким показателям: концентрация биомассы, поверхностное натяжение (σ_s) свободной от клеток культуральной жидкости, условная концентрация ПАВ (ПАВ*, безразмерная величина), индекс эмульгирования культуральной жидкости (E_{24} , %) [1–3].

На первом этапе исследовали рост и синтез ПАВ при внесении в этанолсодержащую среду культивирования *R. erythropolis* ИМВ Ас-5017 Cu^{2+} в концентрации 0,1 и 0,5 мМ. Установлено, что в этом случае независимо от концентрации катионов меди и момента их внесения (начало процесса, экспоненциальная или стационарная фаза роста) наблюдалось полное ингибирование роста бактерий и образования ПАВ. Поэтому в дальнейших исследованиях концентрацию Cu^{2+} снижали в 10 раз. Показано, что внесение Cu^{2+} (0,01 и 0,05 мМ) в среду с этанолом в начале процесса культивирования штамма ИМВ Ас-5017 сопровождалось снижением в 3–4 раза уровня биомассы и в 1,7 раза концентрации ПАВ по сравнению с показателями на среде без катионов меди. В связи с этим в последующих экспериментах внесение Cu^{2+} осуществляли только в экспоненциальной и стационарной фазе роста бактерий.

При добавлении 0,01 мМ Cu^{2+} в экспоненциальной фазе роста *R. erythropolis* ИМВ Ас-5017 на среде с этанолом наблюдали увеличение условной концентрации ПАВ на 25 % по сравнению с культивированием штамма на среде без Cu^{2+} . При этом концентрация биомассы незначительно снижалась, а индекс эмульгирования культуральной жидкости практически не изменялся. Внесение 0,01 мМ Cu^{2+} в стационарной фазе роста *R. erythropolis* ИМВ Ас-5017 на среде с этанолом или повышение концентрации катионов меди до 0,05 мМ не

сопровождалось каким-либо существенным изменением концентрации биомассы, показателя ПАВ* и E_{24} . После пересева бактерий, выращенных в присутствии Cu^{2+} , на среду без катионов меди наблюдали некоторое снижение показателей синтеза ПАВ по сравнению с использованием посевного материала, полученного на среде с этанолом без Cu^{2+} .

В то же время при культивировании штамма ИМВ Ас-5017 на *n*-гексадекане или подсолнечном масле наблюдали совсем другие закономерности, чем при выращивании на этаноле. Во-первых, клетки, растущие на гидрофобных субстратах, оказались устойчивыми к более высоким концентрациям катионов меди. Во-вторых, стимуляция синтеза ПАВ в присутствии катионов меди была более существенной, чем на этаноле. Так, внесение 0,1 мМ Cu^{2+} в экспоненциальной фазе роста *R. erythropolis* ИМВ Ас-5017 на среде с *n*-гексадеканом или подсолнечным маслом сопровождалось увеличением условной концентрации ПАВ на 40–42 % по сравнению с культивированием бактерий на средах без Cu^{2+} .

Независимо от момента внесения более высокой (0,5 мМ) концентрации Cu^{2+} в среду с подсолнечным маслом наблюдали снижение показателя ПАВ* в 1,6–1,7 раза по сравнению с таковым на среде без катионов меди. При культивировании штамма ИМВ Ас-5017 на среде с *n*-гексадеканом условная концентрация ПАВ снижалась всего в 1,2–1,3 раза при добавлении 0,5 мМ Cu^{2+} только в экспоненциальной фазе роста. Отметим, что при внесении катионов меди в среду с гидрофобными субстратами не отмечали существенных изменений концентрации биомассы и индекса эмульгирования культуральной жидкости по сравнению с показателями на среде без Cu^{2+} .

Внесение максимальной из исследованных концентраций Cu^{2+} (0,5 мМ) в экспоненциальной фазе роста штамма ИМВ В-7241 на среде с этанолом, *n*-гексадеканом и жидкими парафинами сопровождалось увеличением условной концентрации ПАВ на 50–60 % по сравнению с показателем на среде без катионов меди. Добавление катионов меди как в экспоненциальной, так и стационарной фазе роста *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241 на всех исследуемых субстратах практически не сказывалось на значении индекса эмульгирования (E_{24}) и концентрации биомассы. Максимальное повышение (на 140 %) значения ПАВ* было зафиксировано при внесении 0,1 мМ Cu^{2+} в экспоненциальной фазе роста штамма ИМВ В-7241 на среде с жидкими парафинами. Отметим, что при культивировании *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241 на этом субстрате существенное (в 2 и более раз) повышение условной концентрации ПАВ наблюдали во всех вариантах добавления катионов меди (независимо от их концентрации и момента внесения).

Интересным оказался тот факт, что пересев бактерий *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241, выращенных на всех субстратах в присутствии Cu^{2+} , на среду без катионов меди сопровождался существенным повышением показателя ПАВ* по сравнению с использованием аналогичного инокулята, полученного на среде без Cu^{2+} . При этом максимальное (в 2,1–3,5 раза) увеличение условной концентрации ПАВ было отмечено при культивировании штамма ИМВ В-7241 на жидких парафинах.

Данные, представленные выше, свидетельствуют, что увеличение синтеза ПАВ в ответ на внесение катионов меди более значительное при культивировании *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241 и *R. erythropolis* ИМВ Ас-5017 на средах с гидрофобными субстратами. Мы предположили, что положительное влияние Cu^{2+} на синтез ПАВ при выращивании бактерий на средах с углеводородами (*n*-гексадекан, жидкие парафины) может быть обусловлено активирующим действием катионов меди на активность монооксигеназ, катализирующих первую реакцию катаболизма этих субстратов. Ранее [1] нами было показано, что окисление *n*-гексадекана у штамма ИМВ Ас-5017 осуществляется трехкомпонентным алкангидроксилазным комплексом, состоящим из растворимой НАДН-рубредоксинредуктазы, растворимого рубредоксина и мембран- связанной монооксигеназы, или алкангидроксилазы (АлКБ). Эксперименты показали, что этот фермент функционирует и у штамма *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241, растущего на углеводородах.

Исследование активности алкангидроксилазы обоих штаммов в присутствии Cu^{2+} показало, что катионы меди являются активаторами этого фермента. Так, присутствии 0,05 и 0,1 мМ Cu^{2+} активность алкангидроксилазы штамма ИМВ Ас-5017 повышалась в 1,5 и 2 раза соответственно. Более существенным было увеличение после внесения катионов меди активности алкангидроксилазы *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241. Так, в присутствии 0,01 и 0,05 мМ Cu^{2+} алкангидроксилазная активность штамма ИМВ В-7241 повышалась в 3 раза. Отметим, что при концентрации катионов меди 0,01 мМ активность данного фермента у *R. erythropolis* ИМВ Ас-5017 увеличивалась незначительно (с 769 до 870 нмоль·мин⁻¹·мг⁻¹ белка).

Поскольку увеличение синтеза ПАВ наблюдалось и при внесении Cu^{2+} в этанолсодержащую среду, мы предположили, что катионы меди могут также являться активаторами ключевых ферментов C_2 -метаболизма и биосинтеза ПАВ. Показано, что в присутствии определенных (разных для различных ферментов) концентраций Cu^{2+} в реакционной смеси наблюдается увеличение активности как 4-нитрозо-*N,N*-диметиланилин(НДМА)-зависимой алкогольдегидрогеназы, так и ферментов биосинтеза поверхностно-активных глико- (фосфоенолпируват-(ФЕП)-синтетаза) и аминоклипидов (НАДФ⁺-зависимая глутаматдегидрогеназа) у бактерий *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241, растущих на этаноле.

Таким образом, в результате проведенной работы установлена возможность интенсификации синтеза ПАВ *R. erythropolis* ИМВ Ас-5017 и *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241 на гидрофобных (*n*-гексадекан, жидкие парафины, подсолнечное масло) и гидрофильных (этанол) субстратах при внесении катионов меди в экспоненциальной фазе роста обоих штаммов или использовании посевного материала *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241, выращенного до стационарной фазы роста на среде с Cu^{2+} .

Полученные результаты могут быть основой для повышения эффективности технологий микробного синтеза путем увеличения в среде

культивирования продуцента активаторов ключевых ферментов метаболизма ростового субстрата и биосинтеза целевого продукта.

Библиографический список

1. Пирог Т.П., Шевчук Т.А., Клименко Ю.А. Интенсификация синтеза поверхностно-активных веществ при культивировании *Rhodococcus erythropolis* ЕК-1 на n-гексадекане // Прикл. биохимия и микробиология. – 2010. – Т. 46, № 6. – С. 651–658.
2. Пирог Т.П., Антонюк С.И., Карпенко Е.В., Шевчук Т.А. Влияние условий культивирования штамма *Acinetobacter calcoaceticus* К-4 на синтез поверхностно-активных веществ // Прикл. биохимия и микробиология. – 2009. – Т. 45, № 3. – С. 304–310
3. Пирог Т.П., Шевчук Т.А., Конон А.Д., Шулякова М.А., Иутинская Г.А. Синтез поверхностно-активных веществ *Acinetobacter calcoaceticus* ИМВ В-7241 и *Rhodococcus erythropolis* ИМВ Ас-5017 в среде с глицерином // Микробиол. журнал. – 2012. – Т. 74, № 1. – С. 20–27.
4. Orell A., Navarro C.A., Arancibia R., Mobarec J.C., Jerez C.A. Life in blue: copper resistance mechanisms of bacteria and archaea used in industrial biomining of minerals // *Biotechnol. Adv.* – 2010. – V. 28, N 6. – P. 839–848.
5. Jayabarath J., Sundar S.S., Arulmurugan R., Giridhar R. Bioremediation of heavy metals using biosurfactants // *Int. J. Biotechnol. Appl.* – 2009. – V. 1, N 2. – P. 50–54.

SYNTHESIS OF MICRIBIAL SURFACTANTS IN PRESENCE OF COPPER CATIONS

Filyuk I.V., Sofilkanych A.P., Konon A.D.

It was established that the addition of Cu^{2+} in the exponential growth phase of *Rhodococcus erythropolis* IMV В-7241 and *Acinetobacter calcoaceticus* IMV Ас-5017 on hydrophobic (n-hexadecane, liquid paraffin, sunflower oil) and hydrophilic (ethanol) substrates was accompanied by increased conditional concentrations of surfactants by 25–140% compared to the indexes on medium without copper cations.

УДК 579.22

ПОДБОР ОПТИМАЛЬНЫХ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ДЛЯ ПРОДУКЦИИ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДА БАКТЕРИЯМИ *XANTOBACTER XYLOPHILUS Z-0055*

Шипулина О.С., 5 курс, факультет ветеринарной медицины и биотехнологии

Научный руководитель: аспирант Кичемазова Н.В.,

к.б.н., доцент Бухарова Е.Н., д.б.н., профессор Карпунина Л.В.

ФГБОУ ВПО «Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова»

Экзополисахариды (ЭПС) микробного происхождения все больше привлекают внимание исследователей в связи с их применением в различных отраслях народного хозяйства. В связи с этим поиск новых микроорганизмов-