

УДК 577.336

ЛЮМІНЕСЦЕНТНІ БАКТЕРІЇ *PHOTOBACTERIUM PHOSPHOREUM* – ОБ'ЄКТ ДЛЯ ВИВЧЕННЯ БІОЛОГІЧНИХ ЕФЕКТІВ НАНОЧАСТИНОК ДІОКСИДУ ЦЕРІЮ

Студ. О.В. Новік, гр. ББТ-16¹

Науковий керівник доц. І.О. Грецький²

Науковий керівник доц. Н.М. Жолобак²

¹ Київський національний університет технологій та дизайну

² Інститут мікробіології і вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України

Мета і завдання. Виявити вплив наночастинок Церію та солей Церію різних валентностей на життєдіяльність *Photobacterium phosphoreum*

Об'єкт та предмет дослідження. Об'єкт дослідження – штам морських люмінесцентних бактерій *Photobacterium phosphoreum*, зареєстрований в Депозитарії мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України під номером ІМВ В-7071. У роботі використано наночастки діоксиду церію (СND, розмір часток 4-6 нм, $\xi \approx +10$ мВ) та III і IV валентні солі Церію.

Методи та засоби дослідження. Для проведення дослідження клітини *P. phosphoreum* нарощували шляхом глибинного культивування протягом 8 год в аеробних умовах при 21 ° С в рідкому середовищі, що складається з (г / л): пептон - 5,0; дріжджовий екстракт - 1,0; NaCl - 30,0; Na₂HPO₄ - 5,3; KH₂PO₄*2H₂O - 2,1; (NH₄)₂HPO₄ - 0,5; MgSO₄*H₂O - 0,1; гліцерин - 3,0 мл/л; рН = 7,2. Культивування проводили в 750 мл колбах з об'ємом середовища 100 мл. На початкових етапах культивування вихідна оптична щільність суспензії мікроорганізмів становила OD₆₇₀ = 0,1. Щільне ПС отримували шляхом додавання до рідкого середовища 20 г/л агар-агар. Інтенсивність люмінесценції визначали через 1 добу та 5 діб після внесення різних концентрацій досліджуваних наночастинок в рідке середовище до *P. phosphoreum* в логарифмічній фазі росту. Готові дослідні зразки зчитували на планшетному аналізаторі. Всі роботи проводили у стерильних умовах для запобігання контамінації мікроорганізмів.

Наукова новизна та / або практичне значення отриманих результатів. Вперше на базі Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного було проведено дослідну роботу з вирішення актуальних питань пов'язаних з проблемою створення нанобіокомпозицій на базі наночастинок діоксиду церію. Вона вимагає системного підходу до вивчення та оцінки біологічної дії цього комплексу.

Результати дослідження. Дослідження проводили на одnodенній та п'ятиденній культурі клітин *P. phosphoreum*. В 96 лунковий планшет вносили зразок модельного організму та розчин солей Церію різної валентності та концентрації. На кожен зразок певної концентрації робили три повтори. Концентрація зразків становила від 1мМ до 0,1нМ.

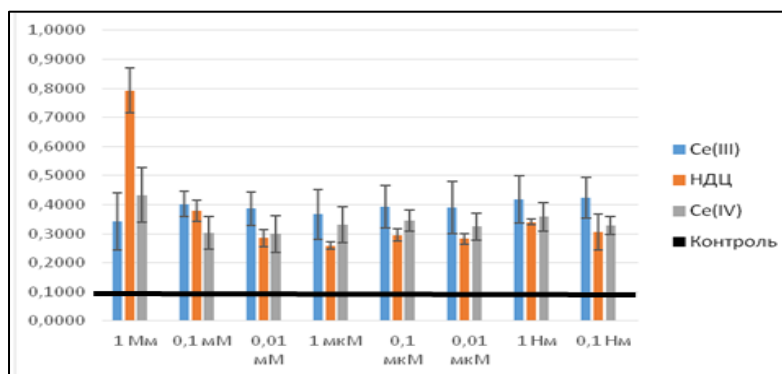


Рисунок 1 – Зміна оптичної густини біолюмінесценції *Photobacterium phosphoreum* в середовищі після МТТ-тесту в одnodенній культурі

В контрольній пробі Церій замінювали на фосфатний буфер. Далі проводили зчитування дослідних зразків за допомогою планшетного аналізатора. На зразках проводили МТТ-тест та центрифугували 1500 оборотів. Статичну обробку виконували за допомогою комп'ютерної програми Microsoft Excel 2013.

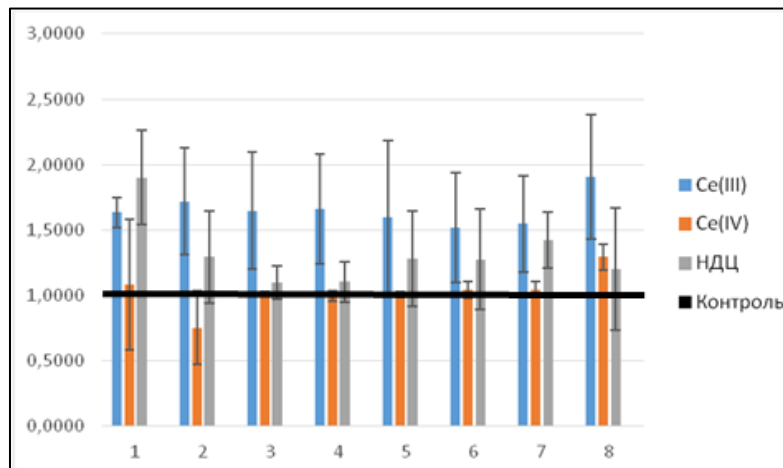


Рисунок 2 – Зміна оптичної густини біоломінесценції *Photobacterium phosphoreum* в середовищі після МТТ-тесту в п'ятиденній культурі

Висновки. Вирішення актуальних питань пов'язаних з проблемою оцінки біологічної дії наночастинок діоксиду церію вимагає системного підходу до вивчення комплексної дії цього фактору.

Наночастки діоксиду церію, що відрізняються способом синтезу і володіють різними фізико-хімічними властивостями, в тому числі і значенням ξ -потенціалу, надають різний вплив на показники оптичної густини модельного грамнегативного мікроорганізму *P. phosphoreum*: через 1 добу після внесення до клітин СND у всьому діапазоні досліджених концентрацій оптична густина значно збільшується, максимальне значення ОГ- 0,8460 відповідає концентрації 1 мМ. Таким чином, використання модельного грамнегативного мікроорганізму *P. phosphoreum* дозволяє створити систему тестування наночастинок СND і дозволяє оцінити їх нетоксичний вплив в діапазоні концентрацій 0,1 нМ - 1 мМ.

Ключові слова: *Photobacterium phosphoreum*, біоломінесценція, біотестування, наночастки діоксиду церію

ЛІТЕРАТУРА

1. Дерябін Д.Г. Бактеріальна біоломінесценція: фундаментальні та прикладні аспекти. М.: Наука, 2009. - 246 с.;
2. Гігельзон І.І., Родичева Е.К., Медведєва С.С. і ін., Біоломінісцентні бактерії / Відп. ред. Е.Н. Кондратьєва. Новосибірськ: Наука, 1984. - 278 с.;
3. Analytical bioluminescence and chemiluminescence / A. Roda, M. Guardigli, E. Mishelini [etal.] // Anal. Chem. – 2003. – Vol. 75, № 25. – P. 462–470.
4. Кацев А.М., Макемсон Дж. Ідентифікація біоломінісцентних бактерій, виділених з Чорного і Азовського морів // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В. І. Вернадського Серія «Біологія, хімія». 2006. т.19. №4. С. 111-116.
5. Малигіна, І. Ю., Кацев, А. М. Біоломінісцентні бактерії Чорного і Азовського морів // Екологія моря. - 2003. - 64. - С.18-23.