

3. Mesoporous Carbon-based Rhodium Catalysts for Benzene Hydrogenation, J. M. Jandosov, Z. A. Mansurov, M. A. Biisenbayev, Z.R.Ismagilov, N.V.Shikina, I.Z. Ismagilov, S .R. Konuspayev, M. Shaymardan, "Carbon2011", July 24-29,2011, Conference in Shanghai,China, CD-Author index # 880

4. Mansurov Z.A. Some Applications of Nanocarbon Materials for Novel Devices // Gross R. et al (eds.). Nonoscale-Devices – Fundamentals.- Springer, 2006. - P. 355-368.

5. Углеродные наноструктурированные материалы на основе растительного сырья// Под ред. З.А.Мансурова. Алматы: Қазақ университеті. 2010. - С.207-274.

УДК 615.9::574. 579.842.11

**А.П. Зарубина¹, Е.П. Лукашев¹, Л.И. Деев¹, И.М. Пархоменко¹, А.Б. Рубин¹,
С.А. Шойынбекова², О.Т. Жылқыбаев², Н.Б. Кұрманкұлов³**

**ЛЮМИНИСЦЕНТТІ БАКТЕРИЯЛАРДЫҢ ТЕСТ-ЖҮЙЕЛЕРІН ПАЙДАЛАНЫП БІР
ҚАБАТТЫ КӨМІРТЕКТІ НАНОТҮТІКШЕЛЕРДІҢ БИОЛОГИЯЛЫҚ ЭФФЕКТТЕРІН
БИОТЕСТІЛЕУ**

(М.В. Ломоносов атындағы Мәскеу ұлттық университеті, Мәскеу қаласы, әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Ә.Б. Бектұров атындағы химия ғылымдары институты)

Табиғи люминисцентті *Photobacterium leiognathi* теңіз бактерияларының **lux**-опероны енгізіліп клондалған *Escherichia coli* K12 TG1 штаммының клеткаларына бір қабатты көміртекті нанотүтікшелердің әсері зерттелді. Атомды-күш микроскопы көмегімен нанотүтікшелер әсері динамикадағы бактерия клеткаларының морфологиясының өзгеруі анықталып, КТБ саны бойынша бақыланған клеткалардың тіршілікке қабілеттілігінің төмендегені тіркелді. Клеткалардың тіршілікке қабілеттілігінің төмендеуі мен морфологиялық бұзылуының алдында оттекті тұтыну жылдамдығы және бактериялар биолюминисценциясы интенсивтілігінің өзгеруі байқалды. Бұл бактериялардың тірі дақылдарын ғана емес, сонымен қатар стандартты лиофилді кептірілген «Эколум» жүйесінің биосенсорларын пайдалану арқылы, кең қолданыстағы және ыңғайлы биолюминисценттік тестті наноматериалдардың бастапқы улылығын бағалаудың мүмкін екендігін көрсетеді.

Сонғы жылдардағы наноматериалдардың биологиялық нысандармен әрекеттесуіне деген зерттеушілер қызығушылығының артуы, оларды қолдану мүмкіндігінің перспективасының зор екендігіне байланысты. Бірақ наноматериалдардың басқа заттардан өзге токсикологиялық қауіпті қасиеттері болуы мүмкін, сондықтан жаңа наноматериалдардың зиянды әсерін зерттеп, бағалаудың қажеттілігі өзекті мәселе болып табылады [1]. Көміртекті материалдар, әресе нанотүтікшелер биологияда, медицинада, күнделікті қолданыстағы және жоғары технологиялық өнімдер өндірісінде практикалық маңызға ие наноматериалдар болып табылады. Мұндай нанобөлшектер метанның, жанар майлардың, газдардың жану өнімдерінің құрамына қоршаған ортаға көп мөлшерде бөлінеді [1,2]. Бірақ олардың биологиялық жүйелерге әсері зерттелмеген деуге болады [3,4].

Алдыңғы жасалған зерттеулерде біз бір қабатты көміртекті нанотүтікшелер бактериялы клеткалардың қою суспензиясына бактерицидті әсер ететінін анықтадық. Атомдық-күш микроскопиясы және комбинациялы шашырату спектрлерін үйлестіре отырып, бактериалды клеткалардың морфологиясының өзгеру сипаты сулы суспензияда шоғырланған бактерия клеткалар мен нанотүтікшелердің ірі агрегаттары пайда болған кезде байқалатындығы көрсетілді. Тазартылған және тазартылмаған нанотүтікшелердің бактерия клеткаларына әсерін салыстыра отырып, зерттеп, бактерицидты әсер олардың құрамынадағы коспалардың болуына емес, тікелей нанотүтікшелерге байланысты деген тұжырым жасалды [5].

Kang S. әріптестерімен ұқсас морфологиялық өзгерістер байқаған [3]. Олар бактериалды клеткалар мен нанотүтікшелер агрегаттарының әрекеттесуін екі түрлі жағдайда зерттеді: *Escherichia coli* бактерияларын көміртекті нанотүтікшелермен тұзды ерітіндіде инкубациялау арқылы және миллисаңылаулы фильтрге жұқтырылған клеткаларға тазартылған көміртекті нанотүтікшелердің агрегаттарының әсерін салыстырды. Авторлар суспензияда дара нанотүтікшелердің клеткаларға іс жүзінде әсер етпейді деп есептейді. Біз бұл тұжырыммен келіспейміз, себебі дара нанотүтікшелердің цитотоксикологиялық әсері шектеулі критерийлермен бағаланған.

Ұсынылып отырған жұмыста *E. coli* бактериясы суспензиясында жеке бір қабатты көміртекті нанотүтікшелердің және олардың ұсақ агрегаттарының бактерицидты әсері бағаланды. Мұнда клеткалардың тіршілікке қабілеттілігінің өзгерістері мен морфологиялық зақымдалуы ғана емес, сонымен қатар, олардың метаболизмін сипаттайтын көрсеткіштері: оттекті тұтыну қабілеті және бактериялар биолюминисценциясының интенсивтілігі зерттелді. Бұл жеке бір қабатты көміртекті нанотүтікшелердің цитотоксикологиялық әсерін анықтап қана қоймай, сонымен бірге наноматериалдардың улы қасиеттерінің мониторингінің перспективті әдісін ұсынуға мүмкіндік туғызды.

Нысандар мен зерттеу әдістері

Зеттеу нысандары: люминисцентті *Photobacterium leiognathi* теңіз бактерияларының *lux*-оперонымен клондалған *Escherichia coli* K12 TG1(*lux*) бактерияларының генді-инженерлі штаммы алынған. Штамм М.В. Ломоносов атындағы Мәскеу ұлттық университетінің биология факультетінің микробиология кафедрасының биологиялық белсенді қосылыстар зертханасында алынып, сонда сақталынуда және «Эколюм» тест-жүйесінің биолюминисцентті сенсоры ретінде қолданылып, түрлі заттардың улылығын бағалау үшін қолданылады [6].

Бір қабырғалы көміртекті нанотүтікшелер. Диаметрі 0.7–2 нм және ұзындығы бірнеше мкм бөлшектері бар нанотүтікшелер Ресей ғылым академиясының А.М. Прохоров атындағы жалпы физика институты жаратылыстану-ғылыми зерттеулер орталығының наноматериалдар спектроскопиясы зертханасында доға разряды әдісімен синтезделген [7]. Көміртектің басқа формалары және металдық катализаторлар қалдықтарынан арнайы химиялық әдістермен тазартылған нанотүтікшелер [8]. Тәжірибенің алдында стерилді дистилденген судағы көміртекті нанотүтікшелері ұнтағының суспензиясы ірі агрегаттарын бұзу үшін ультрадыбыспен бір сағат өңделді.

Тәжірибе барысы: тәжірибеге 220 айналым/мин. эткеншеkte 28°C-та терең жағдайда LB-сорпасында өсірілген *E. coli* бактериясының түнгі дақпылы алынды. *E. coli* бактериясының тығыздығын нефелометрия ($\kappa = 670$ нм) әдісімен бағаланып, 1 мл-дегі клетка саны алдын ала құрастырылған калибрлеу қисығы бойынша анықталды. Бактерия суспензиясын 1,5 мл-лі конусты микроцентрифуга пробиркаларына 1 мл-ден құйып, центрифугада 5 мин. бойы 6000 g жылдамдықпен айландыру арқылы тұнбаға түсірілді. Дайындалған *E. coli* суспензиясы мен бір қабатты көміртекті нанотүтікшелерді, клетка мен нанотүтікшелер аяққы концентрациялары 1 мл сулы суспензияда $1 \cdot 10^9$ және 0,2 мг болатындай етіп араластырылды. Бақылау үлгілері ретінде дистилденген суда өсірілген бактерия клеткалары алынды. Бақылау және тәжірибе үлгілерін (нанотүтікшелермен) 0,3 мл көлемде (3 қайтара) «Vortex»-те араластырып, бөлме температурасында (20-21°C) 1, 2, 3 сағ., сонымен қатар 1–7 тәулік аралығында өсірілді. Инкубациядан кейін үлгілерді дистилденген сумен 1,5 мл-ге жеткізіп, араластырады және 1 мин нанотүтікшелердің ірі агрегаттары және оларға жабысқан бактерияларды бөлу үшін 1000 g жылдамдықта центрифугалайды. Зерттеу үшін ұсақ агрегаттары, жеке нанотүтікшелері және бактерия клеткалары бар тұнба бетіндегі сұйықтық алынды.

Бактериялардың тіршілікке қабілеттілігі бактерия суспензиясын сұйылту әдісімен анықталды. Ол үшін 2, 3, 5 тәулік өсірілген бактерия суспензиясын агарланған LB қоректік ортада, 32°C-та 24 сағат инкубацияланады. Бақылау және тәжірибе үлгілерінде өскен биолюминисцентті колониялардың саны (колониятүзуші бірлік – КТБ) анықталды.

Бактерия клеткаларының морфологиясы және бір қабатты көміртекті нанотүтікшелердің әсері FemtoScan атомды-күш микроскопының («Перспективті технологиялар орталығы», Мәскеу) көмегімен зерттелді. Сұйықтатылған бактерия клеткалардың суспензиясын (5 мкл) слюданың жаңа сындырып алынған бетіне тамызып, 20 мин жабық Петри табақшасында кептірілді. Зондтың үлгі беттеріне әсерін азайту үшін зерттеулер бөлме температурасы мен ылғалда, жартылай контактлі режимде жүргізілді. Үлгілерді дайындаудың бұл әдісі қойылған мәселеге сәйкес келеді, себебі, бұрынырақ бақылау препараттарында клеткалардың морфологиялары бірнеше ай бойы өзгермей сақталатындығы көрсетілген [9,10]. Кейбір тәжірибелерде Nanoscope III (Digital Instruments, АҚШ) атомды-күшті микроскобы қолданылған. Өлшемдер үзік түйісу режимінде жүргізілді. Алынған кескін FemtoScan Online бағдарламасы көмегімен өңделді.

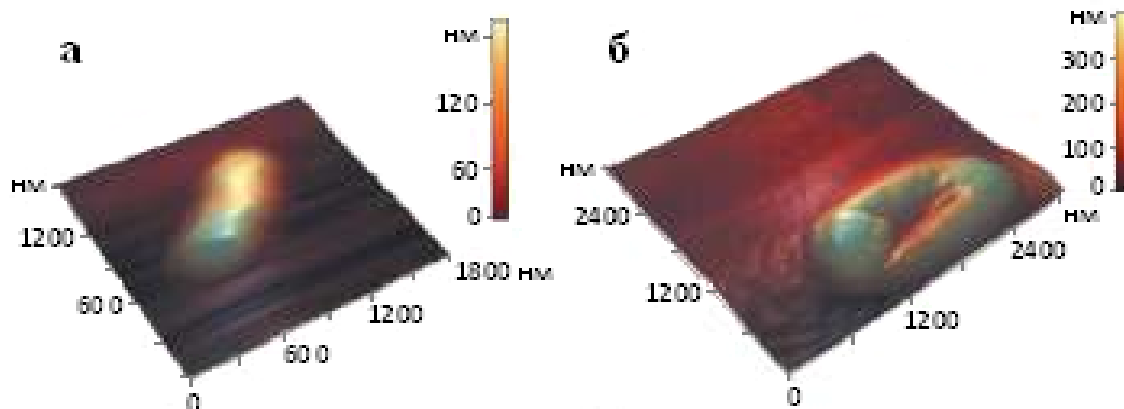
Дистилденген суда бактериялардың оттег тұтынуына нанотүтікшелердің әсерін полярография әдісімен Кларктың оттекті электродымен, AZ885 термометрімен және магнитті араластырғыш роторымен жабдақталған термостатты (25 оС) герметикалық кюветада анықталды. Вольт-амперлі қисықтарды және диффузиялық токтың шекті мәндерінің өзгерістерін (полярланған кернеуі – 0.69 В) тіркеу полярограф ПУ-1, санды мультиметр М4660А және оның бағдарламасымен қамтамасыз ету арқылы жүзеге асырылды. Дистилденген суда 25оС-да еріген оттегі концентрациясын, тәжірибе уақытындағы атмосфералық қысымының мәнін ескере отырып, Генри сәйкестігі бойынша есептелінді. Бактериялардың 109 клеткаға шаққандағы оттегін тұтыну жылдамдығы нмоль O₂/мл/мин бойынша есептелді.

Сәулелену интенсивтілігі және биосенсордың сәулелену интенсивтілігі үлгілердің токсикологиялық индексі бойынша анықталды [6]. Токсикологиялық индексі $T = 100 - (I_0 - I) / I_0$ формуласы бойынша есептелді, мұндағы I_0 – бактерия клеткаларының бақылаудағы, ал I – тәжірибе үлгілеріндегі интенсивтілігі.

Оттегін тұтыну жылдамдығын, биолюминисценция интенсивтілігін, КТБ санын анықтау үшін және атомдық-күш микроскопы скандарын дайындау үшін қажетті сынамалары бір мезгілде, бірдей бақылау және тәжірибе бактерия суспензияларынан алынды. Бактериялардың өсуі және оларға бір қабатты көміртекті нанотүтікшелердің әсері «Биотокс» люминометрі көмегімен бағаланды.

Тәжірибе нәтижелері және оларды талдау

Бұл жұмыста бактериалды клеткалардың жекеленген бір қабатты көміртекті нанотүтікшелермен және олардың ұсақ агрегаттарымен әрекеттесуінің нәтижелері келтірілген. Таңдалған центрифугалау режимінде (1000g) бастапқы суспензия клеткаларының 20–30%-ы, сонымен қатар бір қабатты көміртекті нанотүтікшелердің ірі агрегаттары тығыз қара тұнба түрінде шөгетінін 670 нм-дегі нефелометриялық өлшеу арқылы және супернатанттағы толқын ұзындығы 240–370 нм-де жазылған жұтылу спектрі бойынша анықталған. Бұл кезде нанотүтікшелермен 1–6 тәулік аралығында әрекеттескен, бірақ олардың агрегаттармен байланыспайтын бактериялар суспензияда қалады.



1 сурет. Бір қабатты көміртекті нанотүтікшелермен инкубацияланған бактерия клеткаларының морфологиялық өзгерістері: **а**-бақылау; **б**-бір қабатты көміртекті нанотүтікшелермен өсірілген клеткалар

Біз клеткаларда болатын (анықталған және төменде сипатталып жазылған) өзгерістерді жеке көміртекті нанотүтікшелердің және олардың тұнбаға түспейтін майда агрегаттарының әсерінен болады деп есептейміз.

1-суретте *E. coli* бактериясы клеткаларының 4 тәуліктен кейінгі бақылау суспензиясындағы (**а**) және көміртекті нанотүтікшелермен инкубацияланған (**б**) үлгілерінің атомдық-күш микроскопымен алынған мәліметтер келтірілген. Таяқша пішінді клеткалардың ұзындығы 2–2,5 мкм, ені ~1 мкм, биіктігі 250 ± 50 нм. Төсеніш бетіне инкубациялағанда нанотүтікше конгломераттарымен байланыспаған және центрифугалау кезінде тұнбаға түспеген бактериалды клеткалар жұқтырылды. Өсірілген бақылау және тәжірибе үлгілерін 4-тәулікте салыстырғанда, нанотүтікшелермен инкубацияланған бактериалды клеткалар морфологиясының қатты өзгергені анық көрінеді. Клеткалардың бет жағы деформацияланып, ішкі құрамы жартылай жойылады, нәтижесінде клетканың ортасында ойық пайда болады. Нанотүтікшелермен 7–8 тәулік инкубацияланған клеткалардың ішіндегі нәрі ағып кетеді де, атомдық-күш микроскоптарындағы скандарда тек жаншылған клетканың қабықшасы ғана көрінеді. Бактериалды клеткалар морфологиясына тазартылған және тазартылмаған нанотүтікшелі материалдардың әсерлерінде айқын айырмашылық байқалған жоқ.

1 кесте. Бір қабатты көміртекті нанотүтікшелермен инкубацияланған бактерия клеткалардың тіршілікке қабілеттілігі (КТБ саны бойынша)

	Инкубация уақыты, тәулік	0	2	3	4	5
КТБ саны, мл	бақылау	$8,9 \times 10^9$	$7,7 \times 10^9$	$7,2 \times 10^9$	$6,8 \times 10^9$	$6,6 \times 10^9$
	тәжірибе	–	$4,8 \times 10^9$	$5,2 \cdot 10^8$	$3,8 \cdot 10^8$	$3,7 \cdot 10^8$

Нанотүтікшелер бактерия клеткаларымен тікелей жанасқанда клетка қабырғасы мен мембранасын бұзады деп болжауға болады. Клеткалар морфологиясының бұзылуы нанотүтікшелердің бактерицидті әсерімен байланысты екендігін бактерия клеткалардың тіршілікке қабілеттілігінің көрсеткіштері дәлелдейді (1-кесте). Бұл кестеден көрініп тұрғандай, аз көлемде конусты микроцентрифуга

пробиркаларында бөлме температурасында инкубацияланған және әрі қарай стационарлы жағдайда агар ортасында өсірілген бактериялардың титрі екінші тәулікте – екі есе, ал үшінші тәулікте – он есе азаяды. Сонымен, нанотүтікшелермен әрекеттескенде бактериялардың жойылуы атомдық-күш микроскопымен анықталған морфологиялық өзгерістердің алдында жүзеге асатындығы көрсетілді.

Клетканың тіршілікке қабілеттілігінің төмендеуі және морфологиялық өзгерістерімен қатар, олардың оттекті тұтыну жылдамдығы мен биолюминисценциясының интенсивтілігінің өзгеруі де байқалды. Бақылау үлгілеріндегі және нанотүтікшелермен 1–6 тәулік аралығында инкубацияланған клеткалардың оттекті тұтыну жылдамдықтарын салыстырғанда, соңғысының (нанотүтікшелі үлгілерде) оттекті тұтыну жылдамдығының төмендеуі бір тәуліктен кейін-ақ байқалды. Бактерияларды бір қабатты көміртекті нанотүтікшелермен 1 тәулік инкубациялағанда, оттекті тұтыну жылдамдығы бақылау үлгілерімен салыстырғанда 36,6 % төмендейді. Әрі қарай, 5–6 тәуліктер аралығында ол көрсеткіш аса өзгермейді.

Біз қолданып отырған сәулеленетін фенотипті *E. coli* бактерия штаммының биолюминисценциясы тәжірибені жүргізу жағдайында ұзақ уақыт тұрақты болатындығы, бір қабатты нанотүтікшелердің бактерия клеткасына әсерін бірнеше тәулік бойы бақылауға мүмкіндік берді. Нанотүтікшелермен инкубацияланған клеткалар биолюминисценциясы екі тәуліктен кейін күрт төмендесе, бұл клеткалардың айқын морфологиялық өзгерістері тек төрт тәуліктен кейін ғана пайда болатынын анықтадық (2-кесте). Бұл морфологиялық өзгерістер пайда болардың алдындағы биолюминисценттік өшіру кезеңінде клеткалардың тіршілікке қабілеттілігі төмендейтінін КТБ тесті бойынша анықтадық.

2 кесте. Нанотүтікшелермен әрекеттескен бактериялардың биолюминисценциясы

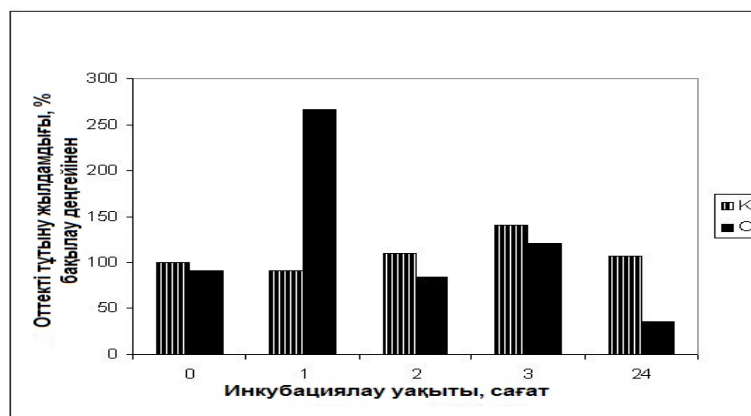
Бактерияларды инкубациялау уақыты, сағ.	Бактериялардың нативті клеткалары	Регидратациядан кейінгі лиофилді кептірілген бактериялар
Токсикологиялық индекс (<i>T</i>)		
0	2	-7*
24	-100*	45
48	56	52
72	73	81

* ($T < 0$) – сәулелену стимуляциясы байқалады, механизмі түсініксіз, токсикологиялық зерттеулерде үлгі токсикологиялық емес деп есептеледі [6].

Бактерия биолюминисценциясының интенсивтілігіне нанотүтікшелердің әсерін нативті клеткаларға және белгілі әдіспен регидратталған [6], лиофилді кептірілген, «Эколюм» биосенсорда қолданылатын бактерияларға зерттедік. Регидратталған бактериялардың қою суспензиясы бір қабатты көміртекті нанотүтікшелермен инкубацияланды, бұл суспензияның соңғы концентрациясы $1 \cdot 10^9$ клетка мен 0.2 мг нанотүтікшелерді құрайды. Біз олардың биолюминисценциясы бір тәуліктен кейін-ақ 45–50 %-ға төмендейтінін анықтадық, ал нативті клеткаларда ондай өзгеріс 2 тәуліктен кейін ғана байқалған болатын (2 кесте).

Бактериалды биолюминисценция негізіндегі тест-жүйелер ынғайлы, әрі экономикалық тиімді, ол алуан түрлі химиялық заттар мен олардың қоспаларының, сонымен қатар физикалық әсерлердің улылығын жедел бағалу үшін кеңінен қолданылады [11,12]. Биотестлеудің бұл әдісі – өлшеудің қарапайымдылығымен, жеделдігімен (үлгінің экспресс-анализінің уақыты 5–30 мин құрайды), дәлдігімен, алынған мәндердің ұдайы қайталанатындығымен (тәжірибе қателігі ~ 10 %-ға жуық), тестілеудің микрокөлемде жүргізілетіндігімен (0,1–1,0 мл), өзге тест-жүйелерімен алынған нәтижелермен корреляциясы бойынша ерекшеленеді [14–16]. Бактерицидті эффекттердің әсерін зерттеу арқылы, бактериалды клеткалардың тіршілікке қабілеттілігі мен биолюминисценция арасында тікелей байланыс бар екендігі анықталды [17, 18]. Стандартты биосенсордың лиофилді кептірілген люминисцентті бактериялары ұзақ сақталады (жарты жылдан аса) және оларды қажет болса әртүрлі тесттерде пайдалануға болады [6, 11].

Бактериалды клеткаларды нанотүтікшелермен инкубациялаудың бастапқы кезеңінде-ақ оттегін тұтыну бойынша өзгерістері байқалады. Бір сағаттан кейін оттекті тұтынуы 2 есе өседі де, 3 сағатта клеткалар мен нанотүтікшелердің әрекеттесуі қайта қалпына келеді (2 сурет).



2 Сурет. Бактериалды клеткалардың бір қабатты көміртекті нанотүтікшелермен инкубациялаудың бастапқы кезеңінде оттегі тұтынуының өзгеруі: К – бақылау, О – бір қабатты көміртекті нанотүтікшелермен инкубациялау

Дәл осы уақытта, яғни оттекті тұтыну өскенде, биолюминисценция интенсивтілігі бақылаумен салыстырғанда 60 %-ға дейін төмендейді. Бұл ерте эффекттер – қызметіне қатысатын тотықсызданған флавин үшін өзара бәсекелесетін – биолюминисценция мен тыныс алу тізбектері реакцияларының қосарлануына нанотүтікшелердің әсер етуіне байланысты болуы мүмкін [13]. Бұл эффекттің механизмі әлі түсініксіз және қосымша зерттеуді талап етеді.

Сонымен, бактериалды клеткалардың сулы суспензияларын бір қабатты нанотүтікшелермен инкубациялағанда бактериалардың бұзылатындығы анықталды. Бұл бір қабатты қабатты нанотүтікшелердің бактерицидті әсері бар, ол бактериалды клетка қабырғалары мен мембраналарын механикалық бұзады деп тұжырым жасауға мүмкіндік береді. Бактериалды клеткалардың оттекті тұтыну жылдамдығының динамикасы мен олардың биолюминисценциясының интенсивтілігі биохимиялық бұзылулар айқын морфологиялық өзгерістерге әкелетіндігін көрсетеді. Бұл наноматериалдардың бастапқы улылығын бағалау үшін нативті бактерия дақылдарына ғана емес, сонымен қатар стандартты лиофилді кептірілген «Эколюм» биосенсоры жүйесі үшін де кеңінен қолданылатын және ыңғайлы бактериалды люминесцентті тест жасауға мүмкіндік береді.

1. Козырев С.В., Якуцени П.П. // Нанотехнологии — панорама направлений. Российские нанотехнологии. - 2008. - Т. 3. - № 3—4. - С. 8—11.
2. Murr L.E., Bang J.J., Lopez D.A. // J. of Mater. Sci. - 2004. - V. 39. - E 2199-2204.
3. Kang S., Pinault M., Pfeifferle L.D., Elimelech M. // Langmuir. - 2007. - V. 23. - №. 17. - P. 8670-8673.
4. Shvedova A.A., Castranova V., Kisin E.R. // J. of Toxicology and Environmental Health, Part A. - 2003. - V. 66. - R 1909-26.
5. Образцова Е.А., Лукашев Е.П., Зарубина А.П., Пархоменко И.М., Яминский И.В. // Вестник Моск. Ун-та. Сер. № 3. Физика и астрономия. - 2009. - № 3. - С. 19-24.
6. Данилов В.С., Зарубина А.П., Ерощников Г.Е., Соловьева Л.Н., Карташев Ф.В., Завильгельский Г.Б. // Вестник Моск. Ун-та. Сер. 16. Биология. - 2002. - № 3. - С. 20-24.
7. Obratsova E.D., Bonard J.-M., Kuznetsov V.L. et al. // Nanostructured Materials. - 1999. - V. 12. - P. 56.
8. Terekhov S.V., Obratsova E.D., Lobach A.S., Konov V.I. // Appl. Phys. - 2002. - V. 74. - P. 393-396.
9. Sokolov I.Y., Firtel M., Henderson G.S.J. // Vac Sci Technol. - 1996. - V. 14. - P. 674-678.
10. Сканирующая зондовая микроскопия биополимеров. / Под ред. Яминского И.В. М.: Научный мир. - 1997. - С. 88.
11. Зарубина А.П., Мажуль М.М., Новоселова Л.А., Гапочка М.Г. // Сенсор. - 2005. - №3. - R 14-21.
12. Steinberg S.M., Poziomek E.J., Engelmann W.H., Rogers K.R. // Chemosphere. - 1995. - V. 30. - № 11. - P. 2155-2197.
13. Мажуль М.М., Завильгельский Г.Б., Зарубина А.П., Юдина Т.П., Данилов В.С. // Микробиология. - 1999. - Т. 68. - № 2. - С. 149-154.
14. Bulich A.A., Tung K.K., Scheibner G. // J. Biolum. Chemilum. - 1990. - V. 5. - № 2. - R 71-77.
15. Kaiser K.L. // Environ. Health Perspect. - 1998. - V. 106. - № 2. - R 583-591.
16. Данилов В.С., Ганшин В.М. // Сенсорные системы. - 1998. - Т. 12. - № 1. - С. 56-68.
17. Backhaus T., Grimme L.H. // Chemosphere. - 1999. - V. 38. - № 14. - R 3291-3301.
18. Jassim S.A.A., Ellison A., Denyer S.P., Stewart G.S.A.B. // Biolum. Chemilum. - 1990. - V. 5. - № 3. - P. 115-122.

Изучено действие одностенных углеродных нанотрубок (ОУНТ) на клетки штамма *Escherichia coli* K12 TG1 с клонированным в него *lux*-опероном природных люминесцентных морских бактерий *Photobacterium leiognathi*. С помощью атомно-силовой микроскопии (АСМ) выявлены изменения морфологии бактериальных клеток в динамике действия ОУНТ, зарегистрировано снижение выживаемости клеток, контролируемое по числу КОЕ. Показано, что морфологическим нарушениям и снижению выживаемости клеток предшествовали изменения скорости потребления

кислорода и интенсивности биолюминесценции бактерий. Это позволяет предложить широко используемый и удобный биолюминесцентный тест для первичной оценки токсичности наноматериалов, используя не только живые культуры бактерий, но и стандартные лиофильновысушенные биосенсоры системы «Эколюм».

The effect of a single-wall carbon nanotubes (carbon SWNT) on bacterial cells Escherichia coli K12 TG1 with cloned lux operon of natural marine bacteria Photobacterium leiognathi was studied. Using atom force microscopy (AFM) bacterial cell morphological changes were revealed and cell viability decrease controlled by the number of colony-forming units was registered. It was shown that prior to these changes we can observe changes in the intensity of oxygen consumption and bacterial luminescence intensity. This allows to recommend well-known and easy-to-use bioluminescent test for initial testing of nanomaterial toxicity, using for this purpose living bacteria cultures as well as lyophilized biosensors «Ecolum».

УДК 574.64

Б.К. Заядан^{*}, *Д.Н. Маторин*^{**}, *К. Болатхан*^{***}, *А.К. Садвакасова*^{*}, *А.А. Усербаева*^{*},
А.Ж. Балтабекова^{*}

ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА И ЗОЛОТА НА ПАРАМЕТРЫ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА МУТАНТОВ ЗЕЛЕННОЙ МИКРОВОДОРОСЛИ *CHLAMYDOMONAS REINHARDTII* DANG

(* Казахский национальный университет имени аль-Фараби

** Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

*** Ийылдыз Технический Университет (Стамбул))

В данной статье представлена перспективность использования высокочувствительных мутантов Chlamydomonas reinhardtii для оценки токсикологического действия современных наноматериалов.

Ключевые слова: *Chlamydomonas reinhardtii* Dang, наночастицы серебра, золота, флуоресценция хлорофилла, фотосинтез, биотестирование, экология.

В настоящее время все возрастающее внимание во всем мире уделяется перспективам развития нанотехнологий. Использование нанотехнологий и наноматериалов бесспорно является одним из самых перспективных направлений науки и техники в XXI веке. Учитывая, что в перспективе ожидается тесный контакт человека и других биологических объектов с наноматериалами, изучение вопросов потенциальных рисков их использования представляется первостепенной задачей.

В настоящее время для задач биомониторинга перспективным является применение методов измерения флуоресценции хлорофилла для выявления действия токсикантов на водоросли [1, 2, 3, 4]. Основой флуоресцентных методов является то, что хлорофилл, находящийся в фотосинтетических мембранах, служит своего рода природным датчиком состояния клеток водорослей. Достижения в изучении механизмов первичных процессов фотосинтеза выявили связь показателей флуоресценции хлорофилла с характеристиками состояния фотосинтетического аппарата фотосинтезирующих организмов [5, 6].

Энергия кванта света, поглощенного светособирающим комплексом, может быть превращена в энергию разделенных зарядов, которая используется в дальнейших реакциях фотосинтеза, либо потеряна путем излучения кванта флуоресценции или за счет рассеяния в тепло. Измерение соотношения интенсивности флуоресценции хлорофилла при насыщающем фотосинтез возбуждающем свете (F_m) и условиях, не вызывающих изменений состояния фотосинтетического аппарата (F_o), позволяет определить эффективность первичных процессов фотосинтеза, которая равна $(F_m - F_o)/F_m = F_v/F_m$. Эффективность первичных процессов фотосинтеза (F_v/F_m) представляет собой безразмерную энергетическую характеристику фотосинтеза, аналогичную коэффициенту полезного действия и не зависящую от видовой специфики организма [7]. Интенсивность флуоресценции F_o с высоким коэффициентом корреляции соответствует суммарному содержанию светособирающих пигментов фотосинтетического аппарата фитопланктона, и, соответственно, коррелирует с обилием клеток микроводорослей [8, 9].

Целью данной работы является выявление токсического эффекта наночастиц серебра и золота на клетки дикого и мутантных штаммов микроводорослей *Chlamydomonas reinhardtii*.

Материалы и методы

В работе использовались штамм дикого типа СС-124 и мутантные штаммы (устойчивый к эритромицину СС-79 и к норфлуразону Nfr -4) зеленой микроводоросли *Chlamydomonas reinhardtii* из коллекции фототрофных микроорганизмов кафедры биотехнологии КазНУ им. аль-Фараби. Подсчет клеток в суспензии осуществляли под микроскопом в камере Горяева. Культивирование водорослей