

**Рис. 1.** Скэффолд РНВ при окрашивании Флуорексином (а) и Hoechst 33342 (б)

взято по 5 штук, так как подсчет клеток производился спустя 24 часа и 72 часа, также один образец был контрольным.

Далее перенесли все скэффолды в пробирки микроцентрифужные (Эппендорфа) с 1 мл натрий-фосфатного буфера (PBS) для удаления спирта и полного прилегания образцов на дно лунки культурального 96-луночного планшета.

Приготовление суспензии клеток производилось в питательной среде DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium). В каждую лунку с образцами, кроме контрольных, внесли по 100 мкл суспензии с 10000 клеток, а также в контрольные лунки для отслеживания роста клеток без скэффолдов. Оставили клетки инкубироваться в термостате при 37 °С с подачей CO<sub>2</sub>.

Спустя 24 часа и 72 часа были добавлены такие флуоресцентные красители, как Hoechst

33342 и Флуорексон. Hoechst 33342 имеет максимальное флуоресцентное излучение в диапазоне 510–540 нм, а Флуорексон – при 515 нм. Результаты роста клеток получены с использованием микроскопа инвертированного для лабораторных исследований Axio Vert.A1 Carl Zeiss. Фотографии приведены на рисунках 1а и 1б.

Подсчет клеток осуществлен с помощью программного обеспечения ImageJ.

Было выявлено, что на скэффолдах РНВ и PCL спустя 24 часа культивирования рост клеток происходит примерно одинаково. Однако спустя 72 часа наблюдается значительно лучшее свойство биосовместимости у полимерного материала PCL. Рост клеток на РНВ приостанавливается, клетки не размножаются.

### Список литературы

1. Sung H.-J., Meredith C., Johnson C. // *Biomaterials*, 2004.– V.24.– P.5735–5742.
2. Santoro M., Shah S.R., Walker J.L. // *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2016.– V.107.– P.206–212.

## ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРНОГО ШОКА НА ПРОДУКЦИЮ ПИОЦИАНИНА *Pseudomonas aeruginosa*

Д.Р. Хузина, И.Ю. Хохлова

Научный руководитель – к.м.н., доцент М.В. Чубик

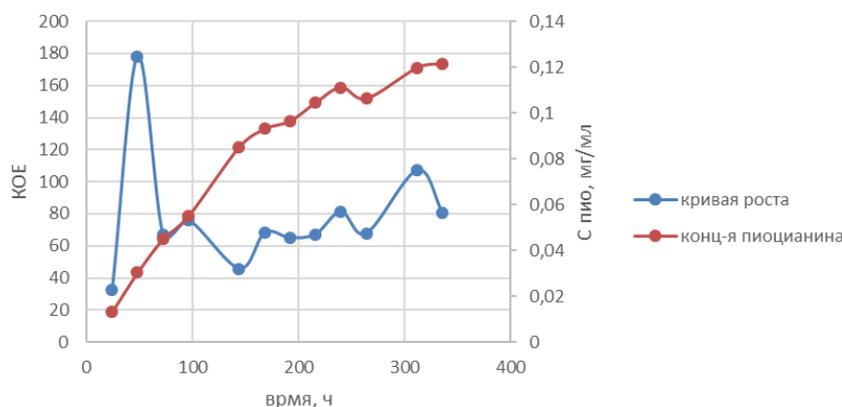
Национальный исследовательский Томский политехнический университет  
634050, Россия, г. Томск, пр. Ленина 30, drh7@tpu.ru

Актуальной задачей современной медицины и биотехнологии является создание эффективных и безопасных препаратов, обладающих антибиотическими свойствами.

*Pseudomonas aeruginosa* продуцирует пиоцианин, который может стать основой для разработки нового антибиотика.

**Таблица 1.** Количественная оценка содержания пиоцианина и КОЕ

| Время культивирования | 24 ч. | 48 ч.  | 72 ч. | 96 ч. | 144 ч. | 168 ч. | 192 ч. | 216 ч. | 240 ч. | 264 ч. | 312 ч. | 336 ч. |
|-----------------------|-------|--------|-------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| t° (°C)               | 37°C  | 37°C   | 37°C  | 32°C  | 32°C   | 32°C   | 27°C   | 27°C   | 27°C   | 22°C   | 22°C   | 22°C   |
| КОЕ (млн.м.о)         | 32,67 | 178,30 | 66,75 | 75,81 | 45,80  | 68,16  | 64,92  | 67,25  | 81,21  | 67,75  | 107,15 | 80,29  |
| С пиоц. (мг/мл)       | 0,02  | 0,03   | 0,05  | 0,06  | 0,08   | 0,09   | 0,09   | 0,1    | 0,11   | 0,11   | 0,12   | 0,12   |



**Рис. 1.** График зависимости количества КОЕ от оптической плотности и график выделения пиоцианина в зависимости от времени

**Целью работы** является изучение влияния температурного шока на продукцию пиоцианина синегнойной палочкой.

На первом этапе был произведен посев культуры бактерий *P. aeruginosa*, известная также как синегнойная палочка, на плотную питательную среду ГРМ №9. Затем осуществляли пересев суточной культуры на жидкую питательную среду ГРМ-бульон.

Условия культивирования микроорганизмов в данном исследовании варьировали каждые трое суток в течение 14 дней, для выяснения подходов повышения продукции данных антибиотиков.

Бактерии синегнойной палочки являются мезофилами [1]. Температурные пределы роста от 5–7 до 42 °С. Оптимальной температурой роста для бактерий *Pseudomonas aeruginosa* является (25–37) °С [2].

Для получения кривой роста, был построен градуировочный график суточной культуры с использованием стандарта мутности Мак-Фарланда. Оптическую плотность определяли на спектрофотометре СФ-102 при длине волны 580 нм.

Также, для получения кривой роста, ежедневно проводили динамические измерения оптической плотности инокулята.

Проводили количественную оценку содержания пиоцианина при длине волны 700 нм.

Выход пиоцианина оценивали по оптической плотности супернатанта, путем пересчета на концентрацию продукта по закону Бугера-Ламберта-Бера (1).

$$A = C \cdot l \cdot \epsilon \quad (1)$$

где: A – оптическая плотность; C – концентрация, моль/л; l – толщина кюветы, см; ε – молярный коэффициент поглощения.

Средние значения количества КОЕ и концентрации пиоцианина в течение 14 суток, представлены в таблице 1. Температура культивирования составляла 37 °С первые трое суток. Затем температуру культивирования снижали на 5 °С через равные промежутки времени.

Таким образом, полученные в ходе исследования результаты показывают (рис. 1), что при переходе через оптимальную температуру рост микроорганизмов существенно замедляется. Но концентрация пиоцианина – увеличивается, максимальный выход наблюдается при понижении температуры до 22 °С, хотя температурный оптимум роста синегнойной палочки 37 °С.

### Список литературы

1. *Нетрусов А.И. Микробиология: учебник для студ. высш. учеб. заведений – 3-е изд., испр. – М.: Издательский центр «Академия», 2009. – 352 с.*
2. *Воробьев А.А. Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии. – М.: МИА, 2003. – 236 с.*