

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЛИЯНИЯ СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ НА СТИМУЛИРОВАНИЕ ПРОДУКЦИИ ПИОЦИАНИНА БАКТЕРИЕЙ *P. aeruginosa*

А.А. Степанова, И.Ю. Хохлова

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

*Национальный исследовательский Томский политехнический университет  
634050, Россия, г. Томск, пр. Ленина 30, ari.step@mail.ru*

Антибиотикорезистентность является основной причиной снижения эффективности антибиотикотерапии. В связи этим существует необходимость поиска новых антибиотических веществ. Биологический синтез является одним из основных способов получения антибиотиков.

Отличительной особенностью метаболизма бактерий рода *Pseudomonas* является способность к синтезу пигментов феназинового ряда. Вырабатываемый *Pseudomonas aeruginosa* пиоцианин обладает антимикробной активностью по отношению ко многим видам грамположительных и грамотрицательных бактерий (включая кишечную палочку, золотистый стафилококк и микобактерии), имеет противогрибковые свойства в отношении к грибам родов *Trichophyton* и *Microsporum*, также оказывает нейтрализующее действие на дифтерийный токсин [1].

Подбор оптимальной питательной среды является важным этапом в производстве микробных биологических веществ. Было проведено исследование по влиянию компонентов в составе питательной среды на выход пиоцианина. Использовали гидролизат рыбной муки (ГРМ) как комплексный источник питательных веществ. В качестве дополнительных источников углерода исследовали глицерин, этанол и уксусную кислоту. Культивирование проводили в термостате при температуре 37 °С в течение 14 суток.

Для получения кривой роста был построен градуировочный график. По полученному графику было определено уравнение зависимости количества колоний образующих единиц (КОЕ) от оптической плотности бактериальной суспензии. Измерение оптической плотности инокулята производили каждые сутки при длине волны 580 нм. Одновременно с учетом количества КОЕ, вели контроль концентрации пиоцианина в питательной среде. Для этого измеряли оптическую плотность супернатанта культуральной жидкости при длине волны 700 нм. Затем, путем пересчета на концентрацию продукта по закону Бугера-Ламберта-Бера (1) оценивали количественный выход пиоцианина:

$$A = C \cdot I \cdot \varepsilon \quad (1)$$

где:  $A$  – оптическая плотность;  $C$  – концентрация, моль/л;  $I$  – толщина кюветы, см;  $\varepsilon$  – молярный коэффициент поглощения.

По полученным данным были построены графики изменения КОЕ и концентрации пиоцианина во времени при культивировании продуцента на разных питательных средах (рисунок 1).

Была проведена работа по исследованию влияния источников углерода в составе питательной среды на продукцию пиоцианина. Наибольший рост продуцента и концентрация пиоцианина отмечались на среде с глицерином



**Рис. 1.** Зависимость концентрации пиоцианина от времени на среде с разными источниками углерода

в качестве источника углерода. На среде с этанолом после 14 суток культивирования концентрация пиоцианина почти в два раза меньше, чем

на среде с глицерином. На среде с уксусной кислотой отсутствует зеленое окрашивание среды, характерное при продукции пиоцианина.

### Список литературы

1. Смирнов В.В., Киприанова Е.А. Бактерии рода *Pseudomonas*. – Киев: Наук. думка, 1990. – 264 с.

## МЕТОДИКА ВЫРАЩИВАНИЯ ТУМОРОИДОВ НА МОДЕЛИ ОПУХОЛЕВОЙ КУЛЬТУРЫ MCF-7

М.С. Третьякова, Е.В. Плотников  
Научный руководитель – д.х.н, профессор М.С. Юсубов

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

На сегодняшний день одной из актуальных проблем онкологии является высокая токсичность и низкая эффективность химиопрепаратов при терапии. Каждая опухоль индивидуальна, и ответ на химиотерапию специфичен. В связи с этим оптимальным методом для решения вопроса о выборе химиопрепарата для каждого больного был бы подбор лекарства, избирательно подавляющего *in vitro* рост опухолевой культуры, приготовленной на основе клеток его опухоли [1].

Монослойная культура уже широко используется в доклинических исследованиях, и по многим параметрам не отражает истинной картины роста опухоли в живом организме за счет доступности кислорода, питательных веществ и метаболитов [2].

Сфероиды или тумороиды представляют собой трехмерные модели, создаваемые из опухолевых клеток или в комбинации с другими типами клеток. Они моделируют межклеточные взаимодействия и контакты клеток с окружающей средой. Сфероиды являются удобной моделью, поскольку повторяют характеристики опухолевых клеток *in vivo* в отношении кинетики роста, клеточной гетерогенности и активности сигнальных путей [3].

Способы получения сфероидов можно разделить на две основные группы – создание сфероидов с использованием специальных матриц-носителей (скаффолдов) и без их использования. Все эти методы имеют место быть и зависят от клеточной культуры и задач исследования.

Проведение быстрого скрининга различных новых онкостатических соединений требует надежных и максимально релевантных методик оценки антипролиферативной активности *in vitro*. Формирование и изучение роста тумороидов является одной из таких моделей. В данной работе мы оптимизировали методику выращивания тумороидов на основе культуры рака молочной железы (MCF-7).

В работе использовался один из простых методов выращивания сфероидов – метод висячей капли. Клетки помещались на крышку чашки Петри в капле культуральной среды (DMEM). На дне капли клетки спонтанно агрегировали и образовывали трехмерные структуры.

Выбранная нами культура MCF-7 обладает высокой туморогенностью и высокой пролиферацией клеток

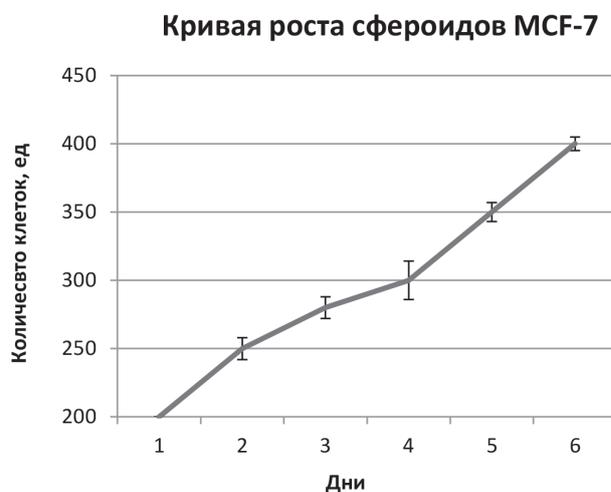


Рис. 1. Кривая роста сфероидов MCF-7