

УДК 57.033

Совместное действие наночастиц серебра и гентамицина на живые клетки *E. coli*, продуцирующие термостабильную люциферазы светляков

Ломакина Галина Юрьевна^{1,2(*)}

lomakinagalina@yahoo.com

SPIN-код: 8571-9657

Халаджан Евгения Арменовна²

e.khaladzhan@gmail.com

Угарова Наталья Николаевна¹

nugarova@gmail.com

¹ МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия² МГТУ им. Н.Э. Баумана, Москва, Россия

Аннотация. Биолуминесцентная тест-система на основе живых клеток *E. coli*, продуцирующих рН- и термостабильную люциферазу светляков использована для изучения кинетики действия аминогликозидов и наночастиц серебра. Обнаружен синергизм действия агентов при их концентрациях агентов ниже МИК, полная гибель клеток наблюдается уже через 2,5 ч инкубации — содержание внутриклеточных индикаторов ATP_{in} и Luc_{in} снижаются до нулевых значений.

Ключевые слова: люцифераза светляков, биолуминесценция, микроорганизмы, гентамицин, наночастицы серебра

Combined action of silver nanoparticles and gentamicin on living *E. coli* cells producing firefly luciferase

Lomakina Galina Yurievna^{1,2(*)}

lomakinagalina@yahoo.com

SPIN-code: 8571-9657

Khaladzhan Eugenia Armenovna²

e.khaladzhan@gmail.com

Ugarova Natalia Nikolaevna¹

nugarova@gmail.com

¹ Lomonosov MSU, Moscow, Russia² BMSTU, Moscow, Russia

Abstract. A bioluminescent test system based on living *E. coli* cells producing pH- and thermostable firefly luciferase was used to study the kinetics of action of aminoglycosides and silver nanoparticles. Synergism of the action of agents at their concentrations below MIC was found, complete cell death was observed after 2.5 hours of incubation — the intracellular indicators ATP_{in} and Luc_{in} decreased to zero values.

Keywords: firefly luciferase, bioluminescence, microorganisms, gentamicin, silver nanoparticles

Введение. Биолюминесцентные тест-системы на основе живых клеток, продуцирующих люциферазу светляков предназначены для быстрого тестирования эффективности действия лекарственных препаратов и их лекарственных форм, позволяющие за 2–4 часа оценить эффективность их действия [1, 2]. Совместное действие антибиотиков и неорганических наночастиц могут повышать активность антибиотиков, усиливая чувствительность бактерий к лекарственному средству. Цель данной работы — изучение комбинированного действия наночастиц серебра и гентамицина на биолюминесцентные клетки *E. coli*.

Методы и материалы; результаты. Антибактериальная активность гентамицина, наночастиц серебра и их совместного действия изучена на жизнеспособных клетках *E. coli* BL-21 (DE3) Codon Plus, экспрессирующих термостабильную pH-резистентную люциферазу GTSLuc, нечувствительную к известному эффекту снижения внутриклеточного pH в процессе экспоненциального роста клеток. Изучена кинетика изменения содержания АТР и люциферазы внутри и вне клеток в присутствии эффекторов в широком диапазоне концентраций агентов (0,5–70 мкг гентамицина/мл, 0,7–20 мкг наночастиц/мл) и определены минимальные ингибирующие концентрации агентов (МИК).

Обсуждение. Обнаружено синергическое действие агентов при их концентрациях ниже МИК 2 мкг гентамицина/мл и 3,5 мкг наночастиц/мл при концентрации клеточной суспензии $1,3 \times 10^9$ кл/мл. В отличие от индивидуальных компонентов, взятых в тех же концентрациях, через 2,5 ч инкубации ATP_{in} и Luc_{in} снизились до нулевых значений, накопления ATP_{ex} не наблюдалось, по-видимому, из-за его полного гидролиза внутри клетки, а Luc_{ex} вырос в 30 раз, что свидетельствует о необратимой гибели клеток. Это подтверждено классически методом посевов разведений на агаризованной питательной среде.

Заключение. Биолюминесцентная тест-система светляков успешно использована для обнаружения синергизма гентамицина и наночастиц серебра по отношению к клеткам *E. coli*. Эндогенные АТР и люцифераза — чувствительные индикаторы клеточного ответа на внешнее воздействие, позволяющие мгновенно регистрировать изменения, протекающие в клетке, такие как проницаемость клеточной мембраны, активность рибосом и АТР-синтазы и, в конечном счете, потерю жизнеспособности в кинетическом режиме.

Список источников

- [1] Lomakina G.Yu., Ugarova N.N. Bioluminescent test systems based on firefly luciferase for studying stress effects on living cells. *Biophysical Reviews*, 2022, vol. 14, pp. 887–892. <https://doi.org/10.1007/s12551-022-00978-y>
- [2] Lomakina G.Y., Kaminskaya S.S., Ugarova N.N. A bioluminescent test system based on recombinant *L. mingrelica* firefly luciferase as a means of investigating the efficacy of the gentamicin effect on live *e. coli* cells. *Biophysics*, 2024, vol. 69, no. 3. pp. 477–484. <https://doi.org/10.1134/S0006350924700556>