

Научная статья

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-89>

Микробный синтез и оценка бактерицидных свойств наночастиц сульфида кадмия

Журавлева О.А.^{1,2}, Воейкова Т.А.^{1,2}, Кулигин В.С.^{1,2}, Дебабов В.Г.^{1,2}

¹Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия;

²Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Москва, Россия

Аннотация

Введение. Продуктивность микробного синтеза стабильных наночастиц определяется стадией роста популяций бактериальных культур, используемых для получения наноструктур. Перспективно изучение биоцидной активности биогенных наночастиц сульфида кадмия (NPsCdS), сравнимых по свойствам с наноматериалами, полученными физико-химическими методами.

Цель работы — оценить влияние фазы роста клеток штаммов бактерий *Bacillus subtilis* 168 и *Shewanella oneidensis* MR-1 на эффективность биосинтеза NPsCdS и изучить их бактерицидные свойства в отношении ряда грамположительных и грамотрицательных штаммов микроорганизмов.

Материалы и методы. Наночастицы получали введением солей Na₂S и CdCl₂ до конечной концентрации 2 мМ : 2 мМ в культуральные жидкости бактерий с клетками, находящимися в различных фазах роста. Эффективность биосинтеза NPsCdS оценивали по оптической плотности водных растворов наночастиц. Бактерицидные свойства NPsCdS определяли по диаметру зоны ингибирования роста грамположительных бактерий *B. subtilis* 168, *B. amyloliquefaciens*, *Streptococcus salivarius*, *Rhodococcus rhodochrous* и грамотрицательных *S. oneidensis* MR-1, *Escherichia coli* K-12, *Pseudomonas putida*.

Результаты. Установлено, что использование клеток в стационарной фазе роста (18–24 ч) способствует получению максимального количества NPsCdS, соответствующего концентрациям 1,0–1,2 мг/мл. Высокая антимикробная активность NPsCdS показана в отношении грамположительных микроорганизмов, среди грамотрицательных бактерий незначительную чувствительность проявил штамм *P. putida*.

Обсуждение. Результаты экспериментов расширяют научные данные о влиянии фазы ростового цикла бактерий для получения наночастиц. В отношении NPsCdS оптимальной является стационарная фаза роста *B. subtilis* 168, *S. oneidensis* MR-1. Впервые продемонстрирована цитотоксичность NPsCdS/*Shewanella* в отношении бактерий различных таксономических групп.

Заключение. Разработан эффективный метод получения внеклеточных NPsCdS с использованием бактерий *B. subtilis* 168, *S. oneidensis* MR-1 в стационарной фазе роста. Показана биоцидная активность биогенных NPsCdS, что позволяет рассматривать их как новый класс противомикробных агентов.

Ключевые слова: микробный синтез, биогенные наночастицы, наночастицы сульфида кадмия, стадия бактериального роста, бактерицидная активность

Благодарность. Выражаем благодарность Национальному биоресурсному центру Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов НИЦ «Курчатовский институт» — ГосНИИгенетика за предоставление бактериальных штаммов.

Источник финансирования. Исследование выполнено при частичной финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-04-00088.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Журавлева О.А., Воейкова Т.А., Кулигин В.С., Дебабов В.Г. Микробный синтез и оценка бактерицидных свойств наночастиц сульфида кадмия. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021;98(4):416–425.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-89>

Microbial synthesis and evaluation of bactericidal properties of cadmium sulfide nanoparticles

Olga A. Zhuravliova^{1,2}✉, Tatiana A. Voeikova^{1,2}, Vladislav S. Kuligin^{1,2}, Vladimir G. Debabov^{1,2}

¹National Research Centre "Kurchatov Institute", Moscow, Russia;

²State Research Institute of Genetics and Selection of Industrial Microorganisms of the National Research Centre "Kurchatov Institute", Moscow, Russia

Introduction. The productivity of microbial synthesis of stable nanoparticles is determined by the growth stage of the populations of bacterial cultures used to obtain nanostructures. The study of the biocidal activity of biogenic nanoparticles of cadmium sulfide (NPsCdS), comparable in properties with nanomaterials obtained by physico-chemical methods, is promising.

The aim of this work was to evaluate the effect of the cell growth phase of the bacterial strains *Bacillus subtilis* 168 and *Shewanella oneidensis* MR-1 on the efficiency of biosynthesis of NPsCdS and to study their bactericidal properties against a number of gram-positive and gram-negative strains of microorganisms.

Material and methods. Nanoparticles were obtained by introducing Na₂S and CdCl₂ salts to a final concentration of 2 mM : 2 mM in liquid bacterial cultures with cells in different phases of growth. The efficiency of NPsCdS biosynthesis was evaluated by the optical density of aqueous nanoparticles solutions. The bactericidal properties of NPsCdS were determined by the diameter of zone of inhibition growth of gram-positive bacteria *B. subtilis* 168, *B. amyloliquefaciens*, *Streptococcus salivarius*, *Rhodococcus rhodochrous* and gram-negative *S. oneidensis* MR-1, *Escherichia coli* K-12, *Pseudomonas putida*.

Results. It was found that the use of cells in the stationary phase of growth (18–24 hours) contributes to obtaining the maximum amount of NPsCdS corresponding to concentrations of 1.0–1.2 mg/ml. The high antimicrobial activity of NPsCdS was shown against gram-positive microorganisms, among gram-negative bacteria, *P. putida* strain showed insignificant sensitivity.

Discussion. The experimental results expand scientific data about the effect of the phase of bacterial growth cycle on biosynthesis of nanoparticles. The stationary phase of growth of *B. subtilis* 168, *S. oneidensis* MR-1 is optimal for obtaining of NPsCdS. For the first time, the cytotoxicity of NPsCdS/*Shewanella* against bacteria of various taxonomic groups was demonstrated.

Conclusion. An effective method for obtaining extracellular NPsCdS using bacteria *B. subtilis* 168, *S. oneidensis* MR-1 in the stationary phase of growth has been developed. The biocidal activity of biogenic NPsCdS was shown, which allows to consider them as a new class of antimicrobial agents.

Keywords: microbial synthesis, biogenic nanoparticles, nanoparticles of cadmium sulfide, stage of bacterial growth, bactericidal activity

Acknowledgments. We express our gratitude to the Russian National Collection of Industrial Microorganisms of NRC «Kurchatov Institute» — GOSNIIGENETIKA for providing bacterial strains.

Funding source. The reported study was partially funded by RFBR according to the research project № 19-04-00088.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Zhuravliova O.A., Voeikova T.A., Kuligin V.S., Debabov V.G. Microbial synthesis and evaluation of bactericidal properties of cadmium sulfide nanoparticles. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2021;98(4):416–425.
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-89>

Введение

В последние годы возрос интерес к синтезу флюоресцентных квантовых точек (КТ) полупроводниковых халькогенидов металлов, благодаря их уникальным оптическим, каталитическим и антибактериальным свойствам, обусловленным размером и морфологией [1]. Среди такого типа наноматериалов наиболее значимыми являются наночастицы сульфида кадмия (NPsCdS), обладающие широким спектром поглощения и узкой полосой излучения, длительным временем жизни флюоресценции, высокими показателями фото-

стабильности и квантового выхода [2]. Перечисленные характеристики способствуют применению КТ NPsCdS в производстве оптоэлектронных устройств [3] и фотокатализаторов [4]. Благодаря способности контролировать рост штаммов микроорганизмов, наночастицы металлов и их солей, в том числе NPsCdS, демонстрируют бактерицидную активность против грамположительных (ГП) и грамотрицательных (ГО) бактерий, что делает их перспективными для использования в биомедицине в качестве антибактериальных агентов нового поколения [5, 6].

Для промышленного применения нанокристаллов халькогенидов металлов необходимы коммерчески выгодные и экологически безопасные способы их производства. На сегодняшний день разработаны различные химические и физические методы синтеза NPsCdS, позволяющие контролировать размер и морфологию наноструктур, однако эти промышленные способы имеют, как правило, высокую стоимость, энергетически затратны, требуют использования органических растворителей с образованием избытка токсичных отходов [2].

Биотехнологический подход, основанный на применении природных компонентов — микроорганизмов, водорослей, грибов, дрожжей и растительных экстрактов — в качестве биокатализаторов биосинтеза наночастиц, может служить дополнением и альтернативой промышленному синтезу наночастиц определённого состава [7–9]. Этот метод экономически выгоден, не требует сложной аппаратуры и больших трудозатрат, экологически безопасен. Биосинтез биогенных наночастиц происходит в жидких средах, содержащих соответствующие ионы химических соединений, при оптимальных температурах для биоконпонентов [8]. Различные виды бактерий являются эффективными системами для производства широкого спектра наноструктур, в том числе халькогенидов металлов [8, 9], что позволяет рассматривать микробный синтез наночастиц как новый инструмент «зеленой» химии [9]. Установлено, что локализация процесса биосинтеза наночастиц может быть как внеклеточной, так и внутриклеточной [8], что продемонстрировано в работах [9–11] с использованием других бактериальных штаммов и указывает на разнообразие процессов образования бинарных наночастиц халькогенидов металлов. При этом в большинстве случаев микробный синтез NPsCdS имеет внутриклеточную локализацию, тогда как с практической точки зрения для выделения наночастиц внеклеточный синтез более экономически эффективен и методологически удобен [12]. Поэтому очень важно разрабатывать способы биосинтеза внеклеточных NPsCdS [13].

Многочисленные исследования убедительно доказали, что биомолекулы белков, аминокислот, полисахаридов, секретируемые бактериями, отвечают за образование наноструктур, стабилизацию в водной среде, определяют их размеры и характеристики [7, 8]. Наличие природных биополимеров на поверхности КТ повышает биосовместимость нанокристаллов, что является перспективным для медицинских приложений и выгодно отличает биотехнологический подход от промышленных способов получения наноматериалов [8]. По своим свойствам наночастицы биогенного происхождения сравнимы с нанокристаллами, полученными промышленным способом [9, 14].

Биосинтез наночастиц халькогенидов металлов и их характеристики, такие как форма, размер, тип кристаллической структуры [7], устойчивость к агрегации и заряд поверхности [15], величина запрещенной зоны [16], интенсивность флюоресценции [17], зависят от применяемых видов бактерий и секретируемых ими биомолекул [9]. Условия проведения биосинтеза — время инкубации реакционной смеси [10], концентрация солей металлов [8], температура и показатель pH [12] — влияют на эффективность биосинтеза наноматериалов. Значительную роль в оптимизации процессов получения коллоидных дисперсий биогенных наночастиц играет фаза роста клеток микроорганизмов, применяемых при биосинтезе, что связано с образованием на различных стадиях роста бактерий определённых белков и других биополимерных молекул, адсорбирующихся на поверхности наноструктур и стабилизирующих их в водных суспензиях [9, 12, 16, 18].

В связи с вышеизложенным целью данного исследования была оценка влияния фазы роста клеток бактериальных штаммов *Bacillus subtilis* 168 и *Shewanella oneidensis* MR-1 на эффективность биосинтеза NPsCdS, а также изучение бактерицидных свойств биогенных NPsCdS в отношении штаммов различных таксономических групп.

Материалы и методы

Штаммы микроорганизмов, использованные для проведения биосинтеза наночастиц NPsCdS и оценки их бактерицидных свойств, были получены из Национального биоресурсного центра — Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов НИЦ «Курчатовский институт» — ГосНИИгенетика.

Среды. Культивирование бактериальных клеток осуществляли на полноценных питательных средах Luria–Bertani в жидкой (LB) и агаризованной (LBA) формах, приготовленных по стандартной прописи [19]. Использовали компоненты питательных сред: агар («Sigma-Aldrich»), триптон, дрожжевой экстракт, натрий хлористый («Диаэм» и «Химмед»). Также в работе применяли соли сульфида натрия — $\text{Na}_2\text{S} \times 9\text{H}_2\text{O}$ (ч.д.а) и хлорида кадмия — $\text{CdCl}_2 \times 2,5\text{H}_2\text{O}$ (ч.д.а) («Химмед», «Диаэм»).

Определение фаз роста бактерий *B. subtilis* 168 и *S. oneidensis* MR-1. Штаммы культивировали в 6 мл LB-среды при 30°C в условиях аэрации на круговой качалке при 220 об/мин в течение 18 ч для получения суспензии клеток «ночных» культур. Суспензию клеток «ночной» культуры в объеме 1 мл переносили в колбу, содержащую 100 мл стерильной LB-среды, и определяли оптическую плотность на фотоэлектрическом колориметре «КФК-2МП» («ЗОМЗ») при длине волны 590 нм (OP_{590}). Штаммы культивировали при тех

же условиях в течение 48 ч, отбирая пробы в объеме 2 мл каждые 2–4 ч с последующим измерением $ОП_{590}$, используя в качестве контрольной пробы исходную LB-среду. Построение кривых роста заявленных бактерий выполняли с помощью программы «MS Excel».

Оценка эффективности биосинтеза NPsCdS в зависимости от фазы роста бактерий. Биосинтез NPsCdS проводили с использованием бактериальных культур, находящихся на разных фазах роста. Продолжительность культивирования штаммов на среде LB — 6 ч (начало логарифмической фазы), 8 ч (логарифмическая фаза), 18 и 24 ч (стационарная фаза), 48 ч (фаза отмирания). Эффективность биосинтеза NPsCdS в зависимости от фазы роста бактерии оценивали по $ОП_{590}$ образцов водных растворов наночастиц, полученных по методике бактериального синтеза. В качестве контроля использовали деионизированную воду, измерения проводили трехкратно. Результаты обрабатывали посредством статистических инструментов «MS Excel» для малой выборки. Концентрацию биогенных NPsCdS вычисляли весовым методом [20].

Микробный синтез NPsCdS. Колбы, содержащие по 100 мл LB-среды, засеивали ночными культурами бактерий *B. subtilis* 168 или *S. oneidensis* MR-1, выращенных при 30°C на среде LB, либо суточной культурой бактерий со среды LBA на чашках Петри. Штаммы культивировали при 30°C на круговой качалке (220 об/мин) в течение 6, 8, 18, 24 и 48 ч. В колбы, содержащие культуральную жидкость (КЖ) с клетками бактерий на разных фазах роста, вносили водные растворы солей $Na_2S \times 9H_2O$ и $CdCl_2 \times 2,5H_2O$ до конечных концентраций 2 мМ : 2 мМ. Вес сухих навесок солей рассчитывали на общий объем КЖ. Инкубацию реакционной смеси клеток *B. subtilis* 168 (или *S. oneidensis* MR-1) и солей осуществляли в течение 24 ч при 30°C и постоянном перемешивании при 220 об/мин. Затем клетки осаждали центрифугированием («MSE») при 8000 об/мин в течение 30 мин и удаляли. Надосадок, содержащий биогенные наночастицы, декантировали и фильтровали через мембранный фильтр «Nuclepore» с размером пор 0,2 мкм («Whatman»). Выделение и очистку NPsCdS из фильтратов осуществляли в стерильной деионизированной воде двукратным центрифугированием («Beckman Coulter») в режиме повышенной скорости 32 000 об/мин — 1 ч. Суспензии диспергированных в деионизированной воде наночастиц хранили при 4°C в микропробирках типа Эппендорф по 1 мл.

Для контрольного эксперимента использовали среду LB того же объема, не содержащую бактериальных клеток, в которую добавляли водные растворы солей $Na_2S \times 9H_2O$ и $CdCl_2 \times 2,5H_2O$ до конечной концентрации 2 мМ : 2 мМ. Последующие этапы биосинтеза остались без изменения.

Электронная микроскопия. Форму и размер наночастиц NPsCdS, полученных микробным синтезом, а также осадок в контрольном эксперименте анализировали на просвечивающем электронном микроскопе «JEM-2100» («JEOL») с ускоряющим напряжением 200 кэВ в режиме светлопольных изображений [21].

Оценка бактерицидных свойств биогенных NPsCdS. Биоцидные свойства NPsCdS оценивали методом двуслойной диффузии в агаре (LBA) на чашках Петри (диаметр 90 мм) в соответствии с ОФС.1.2.4.0010.18¹. В качестве тест-культур использовали ГО-штаммы (*Shewanella oneidensis* MR-1 № В-9861, *Escherichia coli* К-12 № В-3345, *Pseudomonas putida* № В-4492) и ГП-штаммы микроорганизмов (*Bacillus subtilis* 168 № В-7360, *Bacillus amyloliquefaciens* № В-11265, *Streptococcus salivarius* № В-5994, *Rhodococcus rhodochrous* № В-3043). Антимикробную активность наночастиц контролировали по величине диаметра зоны ингибирования роста тест-штаммов (в мм) в лунках, сделанных в толще агара металлическим штамп-пробойником. В лунки вносили 50 мкл суспензии NPsCdS в концентрации 1 мг/мл, т.е. в лунке содержалось 0,05 мг наночастиц. Время инкубации чашек Петри с тест-микроорганизмами и биогенными NPsCdS составляло 24–48 ч при температурах, оптимальных для жизнедеятельности бактерий. В контрольном эксперименте вместо суспензии наночастиц использовали стерильную деионизированную воду (по 50 мкл на лунку). Эксперименты повторяли трехкратно.

Результаты

Роль бактерий в биосинтезе наночастиц

Роль бактериальных клеток как биологической субстанции в образовании индивидуальных, устойчивых к агломерации наночастиц продемонстрирована в экспериментах по биосинтезу наночастиц в присутствии бактерий. В результате реакции Na_2S и $CdCl_2$ в жидкой среде образуются $NaCl$ и нерастворимый в воде CdS . При наличии в реакционной среде бактериальных клеток и секретируемых ими белков последние адсорбируются на поверхности частиц CdS , обволакивая их и создавая защитный слой, стабилизирующий наночастицы в водной среде, что предотвращает их агломерацию и седиментацию. В контрольном эксперименте, в результате смешения двух солей, но без участия бактерий, образуется нерастворимый осадок, состоящий из агломерированных частиц CdS . На **рис. 1** представлены фотографии колб со средой LB, в которые были добавлены соли Na_2S и $CdCl_2$ в отсутствие

¹ Определение антимикробной активности антибиотиков методом диффузии в агар ОФС. 1.2.4.0010.18. М., 2018. 32 с.

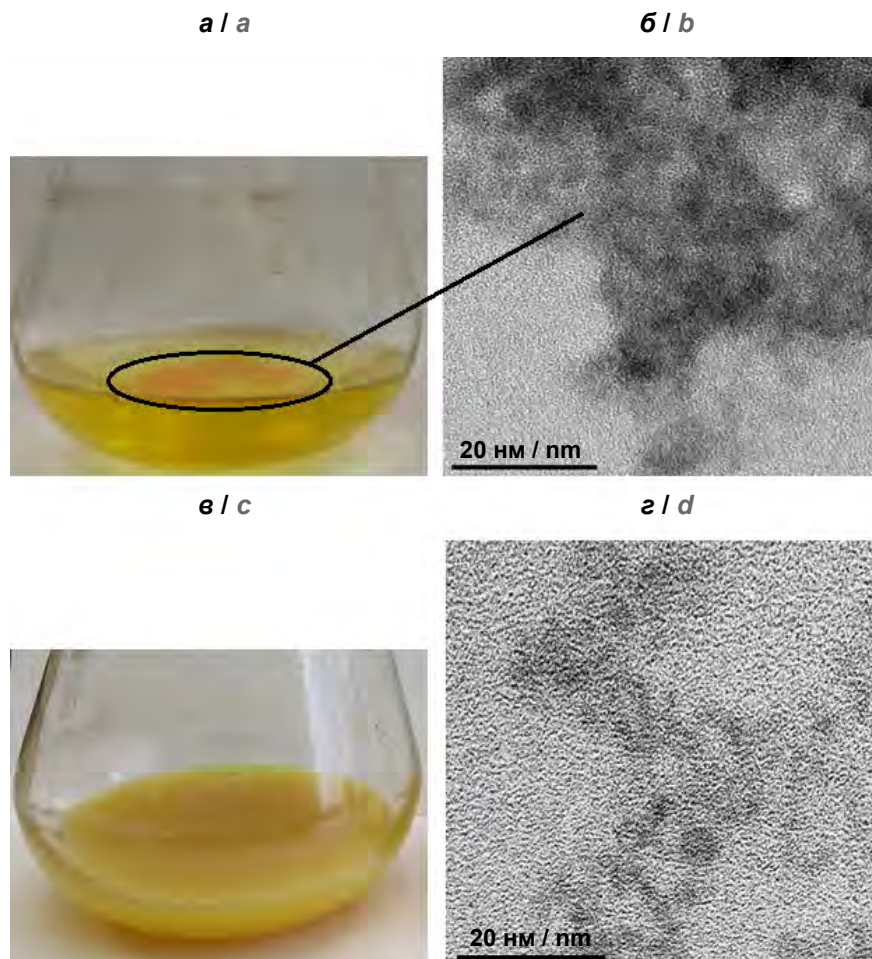


Рис. 1. Синтез CdS в отсутствие и при наличии бактериальных клеток.

a — фрагмент колбы, содержащей соли Na_2S , CdCl_2 в LB-среде (контроль); *b* — электронная микрофотография суспензии частиц, синтезированных в колбе *a*; *c* — фрагмент колбы, содержащей соли Na_2S , CdCl_2 в КЖ *S. oneidensis* MR-1; *d* — микрофотография суспензии NPsCdS из колбы *c*.

Fig. 1. Synthesis of CdS in the absence or presence of bacterial cells.

a — fragment of a flask containing Na_2S , CdCl_2 salts in LB-medium (control); *b* — electron micrograph of a suspension of particles synthesized in the flask *a*; *c* — fragment of a flask containing Na_2S , CdCl_2 salts in culture liquid of *S. oneidensis* MR-1; *d* — micrograph of a suspension of NPsCdS from the flask *c*.

клеток микроорганизмов (рис. 1, *a*), и содержащие клетки штамма *S. oneidensis* MR-1 в стационарной фазе роста (рис. 1, *c*). В первом случае реакционный раствор был практически прозрачным, имел насыщенный жёлтый цвет и плотный оранжевый осадок CdS на дне колбы (рис. 1, *a*), во втором — КЖ в колбе имела желтоватый оттенок, мутность была обусловлена наличием бактериальных клеток и наночастиц в диспергированном состоянии, осадок на дне отсутствовал (рис. 1, *c*).

Полученные суспензии частиц представлены на электронных микрофотографиях. На рис. 1, *b* видно, что частицы, полученные без использования бактериальных клеток, значительно агломерированы и сгруппированы. На микрофотографии образца, синтезированного в КЖ *S. oneidensis* MR-1, различимы расположенные отдельно друг от друга наноразмерные частицы, имеющие кристаллическую

природу, без крупных агломератов (рис. 1, *d*). Таким образом, сравнительный анализ образцов водных суспензий частиц CdS, полученных двумя принципиально различными способами, подтверждает обязательное участие биоконфигураторов, в частности микроорганизмов, в синтезе стабильных в водном растворе биогенных наноструктур.

Фазы роста бактерий B. subtilis 168 и S. oneidensis MR-1, используемых для биосинтеза NPsCdS

Динамика роста бактериальных популяций штаммов *B. subtilis* 168 и *S. oneidensis* MR-1 как периодических культур, выращиваемых на жидкой питательной среде в одинаковых условиях, представлена в виде кривых роста исследуемых микроорганизмов (рис. 2).

Установлено, что оба вида бактерий демонстрируют классический «сценарий» роста и разви-

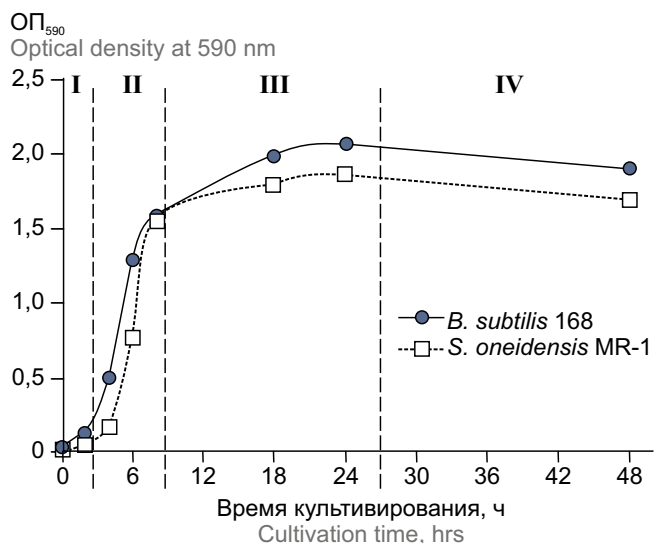


Рис. 2. Динамика бактериального роста *B. subtilis* 168 и *S. oneidensis* MR-1 на жидкой LB-среде при 30°C.

I — лаг-фаза; II — экспоненциальная (лог-фаза);
 III — стационарная фаза; IV — фаза отмирания.

Fig. 2. Dynamics of bacterial growth for *B. subtilis* 168 and *S. oneidensis* MR-1 in liquid LB-medium at 30°C.

I — lag-phase; II — exponential (log-phase); III — stationary phase;
 IV — phase of cell death.

тия бактериальных популяций при данных условиях культивирования. Так, на рис. 2 отчетливо видна сменяемость фаз роста для обеих культур: I — начальная (лаг-фаза), длящаяся около 2 ч; II — экспоненциальная или логарифмическая (лог-фаза), составляющая примерно 8 ч; далее, начиная с 8 ч, наступает стационарная фаза (III), продолжающаяся до 24–26 ч. По завершении этого времени бактериальные популяции обоих штаммов показывают снижение ОП — микроорганизмы достигают поздней стационарной фазы или фазы отмирания (IV), протекающей вплоть до окончания процесса культивирования. В интервале от лог-фазы и до 48 ч наблюдается незначительное расхождение кривых по величине ОП₅₉₀ — КЖ *B. subtilis* 168 характеризуется большими значениями, чем популяция бактериальных клеток *S. oneidensis* MR-1. Таким образом, культуры *B. subtilis* 168 и *S. oneidensis* MR-1 демонстрируют схожесть ростовых процессов популяций бактериальных клеток.

Эффективность биосинтеза NPsCdS в зависимости от фазы роста бактерий

Определение эффективности биосинтеза NPsCdS в зависимости от фазы роста бактерий было проведено с использованием обоих штаммов. Наночастицы мы обозначили как NPsCdS/*Bacillus* и NPsCdS/*Shewanella*.

Результаты измерений ОП₅₉₀ водных растворов NPsCdS/*Bacillus* и NPsCdS/*Shewanella*, проведенных в соответствии с продолжительностью

культивирования клеток штаммов, приведены на рис. 3. Из гистограммы следует, что вероятность получения большего количества биогенных наночастиц возрастает при использовании бактерий, выращенных в интервале 18–24 ч, т.е. на стационарной стадии культивирования клеток в питательной среде. При этом максимальное значение ОП₅₉₀ коллоидного раствора наночастиц было достигнуто при использовании 24-часовой культуры, что позволяет говорить о стационарной фазе ростового цикла как об оптимальной для биосинтеза нанокристаллов. Полученное значение ОП₅₉₀ NPsCdS/*Bacillus* соответствовало $1,2 \pm 0,1$ мг/мл, а NPsCdS/*Shewanella* — $1,0 \pm 0,1$ мг/мл концентрации биогенных наночастиц в водном растворе.

Проведение реакции биосинтеза NPsCdS с использованием клеток штаммов в лог-фазе (6–8 ч) или на стадии отмирания (48 ч) приводит к значительному снижению ОП₅₉₀ коллоидного раствора наночастиц и, как следствие, к снижению концентрации биогенных наночастиц в конечном водном растворе по сравнению с использованием 24-часовых культур.

Антимикробная активность биогенных NPsCdS

В соответствии с целями работы были определены биоцидные свойства наночастиц NPsCdS биогенного происхождения. Для лабораторных испытаний использовали водную суспензию NPsCdS/*Shewanella*. Результаты сравнительного анализа зон подавления роста тест-культур (таблица) демонстрируют явное различие в чувствительности микроорганизмов к воздействию биогенных наночастиц. Из таблицы видно, что из 4 исследованных ГП-штаммов различных видов все представители

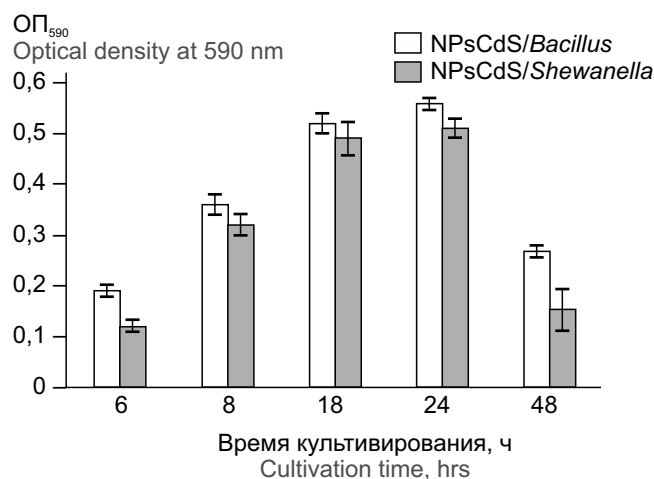


Рис. 3. Зависимость эффективности биосинтеза NPsCdS от времени культивирования бактерий *B. subtilis* 168 и *S. oneidensis* MR-1.

Fig. 3. Dependence of the efficiency of biosynthesis of NPsCdS on the cultivation time of bacteria *B. subtilis* 168 and *S. oneidensis* MR-1.

Антимикробная активность NPsCdS/*Shewanella* в отношении тест-культур микроорганизмов различных таксономических групп ($M \pm m$)

Antimicrobial activity of NPsCdS/*Shewanella* against test cultures of microorganisms of various taxonomic groups ($M \pm m$)

Штаммы Strains	Зона ингибирования, диаметр, мм Zone of inhibition, mm in diameter	
	NPsCdS	контроль control
ГП-штаммы / Gram-positive strains		
<i>B. subtilis</i> 168 № B-7360	26,0 ± 1,0	0
<i>B. amyloliquefaciens</i> № B-11265	22,0 ± 1,0	0
<i>S. salivarius</i> № B-5994	22,0 ± 1,0	0
<i>R. rhodochrous</i> № B-3043	18,0 ± 1,0	0
ГО-штаммы / Gram-negative strains		
<i>S. oneidensis</i> MR-1 № B-9861	0	0
<i>E. coli</i> K-12 № B-3345	0	0
<i>P. putida</i> № B-4492	12,0 ± 1,0	0

Примечание. Эксперимент проведён в 3 независимых повторках.
Note. Experiment was carried out in 3 independent repetitions.

оказались чувствительными к действию наночастиц, тогда как среди 3 ГО-штаммов только один демонстрировал чувствительность, выражающуюся небольшим диаметром зоны подавления роста штамма наночастицами. Таким образом, ГП-штаммы более чувствительны к NPsCdS по сравнению с бактериями, принадлежащими к ГО-группе. Среди ГП-штаммов также наблюдается различие по уровню чувствительности к биогенным наночастицам. Так, из 4 видов ГП-бактерий наиболее чувствительным оказался штамм *B. subtilis* 168. Бактерии *B. amyloliquefaciens*, *S. salivarius* и *R. rhodochrous* проявляли меньшую чувствительность к действию NPsCdS. ГО-бактерии *S. oneidensis* MR-1 и *E. coli* K-12 были устойчивы к NPsCdS. Наночастицы NPsCdS/*Shewanella* подавляли рост тест-культуры *P. putida*, однако при сравнении величины зоны ингибирования этого штамма с ГП-бактериями такой результат можно считать незначительным. В случае с контрольными образцами, содержащими стерильную деионизированную воду вместо наночастиц, подавления роста микроорганизмов не наблюдали (таблица).

Обсуждение

В подтверждение основополагающей роли биомолекул бактериального происхождения в формировании и стабилизации биогенных наноструктур нами ранее был проведен ряд исследований по

изучению условий микробного синтеза наночастиц сульфидов металлов, в частности NPsCdS, количественной и качественной оценке состава биослоя, адсорбированного на поверхности наночастиц, определению их параметров [13]. Так, при использовании разработанной нами оптимизированной методики биосинтеза наночастиц — путём введения реакционных солей-источников ионов серы и металла в КЖ бактерий — был подтверждён внеклеточный механизм синтеза наноструктур сульфидов серебра, кадмия и цинка на поверхности бактериальных клеток штаммов различных видов или в непосредственной близости с ними в зоне внеклеточной полимерной субстанции [20, 21], что для практического получения биогенных наноструктур наиболее эффективно.

Установлено влияние бактерии на формирование определённого состава биослоя на поверхности NPsCdS и других наночастиц сульфидов металлов: для *S. oneidensis* MR-1 характерна адсорбция до 15 разнообразных белковых молекул внешней оболочки или цитоплазматической мембраны бактерии, тогда как для *B. subtilis* 168 — всего один вид белка — флагеллин [21]. Белок-покрытые наночастицы характеризовались устойчивостью к агрегации в водном растворе, связанной с величиной показателя дзета-потенциала (–22,4 мВ для NPsCdS/*Shewanella* и –20,5 мВ для NPsCdS/*Bacillus*) и гидродинамического диаметра (160 и 250 нм соответственно) [22]. По нашим данным, биогенные NPsCdS вне зависимости от штамма бактерии характеризуются как сферические нанокристаллы диаметром 5 ± 1 нм, флуоресцирующие в синей области спектра (300–400 нм) при длине волны возбуждения 270 нм [22].

В настоящей работе гистограмма зависимости эффективности получения NPsCdS от времени культивирования *B. subtilis* и *S. oneidensis* (рис. 3) демонстрирует продуктивность стационарной фазы роста обеих бактерий, что соотносится с данными литературы. Действительно, в исследовании [18] инкубация смеси CdCl₂ и Na₂S с клетками *E. coli*, выращенными на стационарной фазе, привела к почти 20-кратному повышению продуктивности монодисперсных КТ NPsCdS (2–5 нм) по сравнению с граничащей поздней лог-фазой. Авторы объяснили это увеличением выхода большого количества восстановленных тиолов, доступных на протяжении стационарной стадии роста *E. coli*. В эксперименте [16] добавление CdCl₂ к клеткам *E. coli*, находящимся ближе к концу лог-стадии, способствовало внеклеточному синтезу NPsCdS, тогда как введение соли на ранней стадии клеточного роста привело к внутриклеточному осаждению наночастиц, затрудняющему их извлечение и очистку.

В нашей работе продуктивность стационарной стадии роста *B. subtilis* и *S. oneidensis* доказана повышением выхода NPsCdS на 20–25% по сравнению

с лог-фазой (8 ч) и на 45–50% по сравнению с 48-часовыми культурами (рис. 3). Данные соотносятся с ростовыми кривыми культур, также имеющими максимумы ОП₅₉₀ КЖ в стационарной фазе (рис. 2). Видимо, это связано с наибольшей концентрацией клеток в данной фазе роста, а также с активной жизнедеятельностью бактерий в питательной среде, способных выделять молекулы белка и других метаболитов в количестве, необходимом для генерации наноструктур, их накопления и стабилизации. Снижение биосинтеза NPsCdS (ОП₅₉₀) при использовании бактерий, культивируемых в течение 6, 8 или 48 ч, можно интерпретировать недостаточным для образования наночастиц количеством секретируемых белков. Негативное влияние на эффективность синтеза NPsCdS может быть следствием разрушения клеток из-за сокращения питательных веществ, накопления продуктов жизнедеятельности или под воздействием ферментов в условиях длительного культивирования бактерий (48 ч).

Возможность регулирования процесса получения наночастиц, покрытых слоем стабилизатора природного происхождения, привлекательна для внедрения биогенных наноструктур в конкретные приложения биомедицины. Так, мощное антибактериальное и противораковое действие NPsCdS, полученных физико-химическими методами [5, 6], подтолкнуло исследователей к изучению антимикробной активности биогенных наночастиц. Тестирование NPsCdS, синтезированных в присутствии клеток *E. coli*, показало подавление роста штаммов пищевых патогенных бактерий *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus licheniformis*, *E. coli* и гриба *Aspergillus flavus*, а также высокую цитотоксичность для раковых клеток меланомы *Mus musculus* (B16F10) и эпидермоидной карциномы человека (A431) по сравнению с 5-аминолевулиновой кислотой как стандартным противораковым препаратом [11]. NPsCdS/*E. coli* E-30 и NPsCdS/*Klebsiella* sp. K-6 были активнее, чем химически синтезированные наночастицы, в отношении бактерий *Staphylococcus aureus*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, а также грибов *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Geotrichum candidum*. Причем ГП-штаммы были более чувствительными, чем ГО-штаммы [14]. Нами были получены схожие результаты при использовании для биосинтеза NPsCdS других штаммов, в частности *S. oneidensis* MR-1: ГП-тест-культуры оказались менее устойчивыми к действию NPsCdS/*Shewanella*, чем ГО-штаммы (таблица).

Такая разница в восприимчивости микроорганизмов, скорее всего, связана с природой строения их клеточной стенки, определяющей проницаемость бактерий [23]. Известно, что клеточные стенки ГП-бактерий содержат многослойный пептидогликан, ковалентно связанный с отрицательно заряженными цепями теихоевой кислоты. Белки

с отрицательным зарядом поверхности, вступая в электростатическое взаимодействие с положительными ионами Cd²⁺-наночастиц, облегчают проникновение последних через мембрану клеток и их дальнейшее разрушение [23]. В исследовании [24] ингибирующее действие NPsCdS на ГП-штаммы объясняют контактом Cd²⁺ с тиоловыми группами дыхательных ферментов бактерий, что приводит к производству активных форм кислорода и, как следствие, деструкции клеток.

Отсутствие или незначительная восприимчивость ГО-тест-штаммов к NPsCdS/*Shewanella* также сводится к особенности строения их клеточной стенки. ГО-бактерии имеют во внешней мембране липополисахариды, липидная часть которых действует как эндотоксин, препятствующий проникновению чужеродных макромолекул из окружающей клетку среды [23]. При этом небольшое подавление роста *P. putida* (таблица) можно объяснить малым размером ингибирующих наночастиц (5 ± 1 нм), поскольку с уменьшением размера нанобъекта увеличивается площадь поверхности взаимодействия с бактериальной клеткой [11].

Таким образом, доказана антибактериальная активность NPsCdS, полученных методологически простым и экологически безопасным внеклеточным синтезом.

Заключение

Разработан эффективный метод получения внеклеточных NPsCdS с использованием бактерий *B. subtilis* 168, *S. oneidensis* MR-1. Установлено, что наиболее продуктивной фазой для биосинтеза наночастиц является стационарная фаза роста исследуемых штаммов. Показана биоцидная активность NPsCdS, что позволяет рассматривать их в качестве нового класса противомикробных препаратов и терапевтических агентов в борьбе с мультирезистентными бактериями, что удовлетворяет современным тенденциям биомедицины.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Veerathangam K., Pandian M.S., Ramasamy P. Size-dependent photovoltaic performance of cadmium sulfide (CdS) quantum dots for solar cell applications. *J. Alloys Compd.* 2018; 735: 202–8. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2017.11.055>
2. Садовников С.И., Гусев А.И., Ремпель А.А., ред. *Полупроводниковые наноструктуры сульфидов свинца, кадмия и серебра*. М.: Физматлит; 2018.
3. Moghaddam M., Naderi N., Hosseinfard M., Kazemzadeh A. Improved optical and structural properties of cadmium sulfide nanostructures for optoelectronic applications. *Ceram. Int.* 2020; 46(6): 7388–95. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2019.11.234>
4. Cheng L., Xiang Q., Liao Y., Zhang H. CdS-based photocatalysts. *Energy Environ. Sci.* 2018; 11: 1362–91. <https://doi.org/10.1039/C7EE03640J>
5. Nivetha A., Mangala D., Prabha S.I. Fascinating physico-chemical properties and resourceful applications of selected cadmium

- nanomaterials. *J. Inorg. Organomet. Polym.* 2019; 29: 1423–38. <https://doi.org/10.1007/s10904-019-01141-z>
6. Mostafa A.M., Mwafy E.A., Hasanin M.S. One-pot synthesis of nanostructured CdS, CuS, and SnS by pulsed laser ablation in liquid environment and their antimicrobial activity. *Opt. Laser Technol.* 2020; 121: 105824. <https://doi.org/10.1016/j.optlastec.2019.105824>
 7. Ullah M.W., Shi Z., Shi X., Zeng D., Li S., Yang G. Microbes as structural templates in biofabrication: study of surface chemistry and applications. *ACS Sustainable Chem. Eng.* 2017; 5(12): 11163–75. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.7b02765>
 8. Gahlawat G., Choudhury A.R. A review on the biosynthesis of metal and metal salt nanoparticles by microbes. *RSC Adv.* 2019; 9: 12944–67. <https://doi.org/10.1039/C8RA10483B>
 9. Feng Y., Marusak K.E., You L., Zauscher S. Biosynthetic transition metal chalcogenide semiconductor nanoparticles: progress in synthesis, property control and applications. *Current Opinion in Colloid and Interface Science.* 2018; 38: 190–203. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2018.11.002>
 10. Yang Z., Lu L., Berard V.F., He Q., Kiely C.J., Berger B.W., et al. Biomufacturing of CdS quantum dots. *Green Chem.* 2015; 17: 3775–82. <https://doi.org/10.1039/C5GC00194C>
 11. Shivashankarappa A., Sanjay K.R. *Escherichia coli*-based synthesis of cadmium sulfide nanoparticles, characterization, antimicrobial and cytotoxicity studies. *Braz. J. Microbiol.* 2020; 51(3): 939–48. <https://doi.org/10.1007/s42770-020-00238-9>
 12. Kumar A., Singh A.K., Choudhary K.K., eds. *Role of Plant Growth Promoting Microorganisms in Sustainable Agriculture and Nanotechnology.* Elsevier Inc.; 2019.
 13. Журавлева О.А., Воейкова Т.А., Хаддаж М.Х., Булушова Н.В., Исмагулова Т.Т., Бахтина А.В. и др. Бактериальный синтез наночастиц сульфидов кадмия и цинка. Характеристика и перспектива их применения. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология.* 2018; 36(4): 191–8. <https://doi.org/10.17116/molgen201836041191>
 14. Elsalam Abd S.S., Taha R.H., Tawfeik A.M., El-Monem Abd M.O., Mahmoud H.A. Antimicrobial activity of bio and chemical synthesized cadmium sulfide nanoparticles. *Egypt. J. Hosp. Med.* 2018; 70(9): 1494–507. <https://doi.org/10.12816/0044675>
 15. Sankhla A., Sharma R., Yadav R.S., Kashyap D., Kothari S.L., Kachhwaha S. Biosynthesis and characterization of cadmium sulfide nanoparticles — an emphasis of zeta potential behavior due to capping. *Mater. Chem. Phys.* 2016; 170: 44–51. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2015.12.017>
 16. Marusak K.E., Feng Y., Eben C.F., Payne S.T., Cao Y., You L., et al. Cadmium sulphide quantum dots with tunable electronic properties by bacterial precipitation. *RSC Adv.* 2016; 6(80): 76158–66. <https://doi.org/10.1039/C6RA13835G>
 17. Qi P., Zhang D., Zeng Y., Wan Y. Biosynthesis of CdS nanoparticles: A fluorescent sensor for sulfate-reducing bacteria detection. *Talanta.* 2016; 147: 142–6. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.09.046>
 18. Sweeney R.Y., Mao C., Gao X., Burt J.L., Belcher A.M., Georgiou G., et al. Bacterial biosynthesis of cadmium sulfide nanocrystals. *Chem. Biol.* 2004; 11(11): 1553–9. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2004.08.022>
 19. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Д., ред. *Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование.* М.: Мир; 1984.
 20. Воейкова Т.А., Журавлева О.А., Грачева Т.С., Булушова Н.В., Исмагулова Т.Т., Шайтан К.В. и др. Оптимизация микробного синтеза наночастиц сульфида серебра. *Биотехнология.* 2017; 33(3): 38–46. <https://doi.org/10.1016/10.21519/0234-2758-2017-33-3-38-46>
 21. Воейкова Т.А., Шебанова А.С., Иванов Ю.Д., Кайшева А.Л., Новикова Л.М., Журавлева О.А. и др. Роль белков внешней мембраны бактерии *Shewanella oneidensis* MR-1 в образовании и стабилизации наночастиц сульфида серебра. *Биотехнология.* 2015; 31(5): 41–8.
 22. Воейкова Т.А., Журавлева О.А., Кулигин В.С., Иванов Е.В., Кожухова Е.И., Егоров А.С. и др. Природоподобный метод получения полимерных нанокомпозитов и изучение их физико-химических свойств. *Вопросы материаловедения.* 2019; (4): 113–23. <https://doi.org/10.22349/1994-6716-2019-100-4-113-123>
 23. Alsaggaf M.S., Elbaz A.F., Badawy El S., Moussa S.H. Anticancer and antibacterial activity of cadmium sulfide nanoparticles by *Aspergillus niger*. *Adv. Polym. Technol.* 2020; 2020: 4909054. <https://doi.org/10.1155/2020/4909054>
 24. Bhat Ul I.H., Yi Y.S. Green synthesis and antibacterial activity of cadmium sulfide nanoparticles (CdSNPs) using *Panicum sarmentosum*. *Asian J. Green Chem.* 2019; 3(4): 455–69. <https://doi.org/10.33945/SAMI/AJGC.2019.4.3>

REFERENCES

1. Veerathangam K., Pandian M.S., Ramasamy P. Size-dependent photovoltaic performance of cadmium sulfide (CdS) quantum dots for solar cell applications. *J. Alloys Compd.* 2018; 735: 202–8. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2017.11.055>
2. Sadovnikov S.I., Gusev A.I., Rempel A.A., eds. *Semiconductor Nanostructures of Lead, Cadmium and Silver Sulfides [Poluprovodnikovye nanostruktury sulfidov svintsya, kadmiya i serebra]*. Moscow: Fizmatlit; 2018. (in Russian)
3. Moghaddam M., Naderi N., Hosseinifard M., Kazemzadeh A. Improved optical and structural properties of cadmium sulfide nanostructures for optoelectronic applications. *Ceram. Int.* 2020; 46(6): 7388–95. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2019.11.234>
4. Cheng L., Xiang Q., Liao Y., Zhang H. CdS-Based photocatalysts. *Energy Environ. Sci.* 2018; 11: 1362–91. <https://doi.org/10.1039/C7EE03640J>
5. Nivetha A., Mangala D., Prabha S.I. Fascinating physico-chemical properties and resourceful applications of selected cadmium nanomaterials. *J. Inorg. Organomet. Polym.* 2019; 29: 1423–38. <https://doi.org/10.1007/s10904-019-01141-z>
6. Mostafa A.M., Mwafy E.A., Hasanin M.S. One-pot synthesis of nanostructured CdS, CuS, and SnS by pulsed laser ablation in liquid environment and their antimicrobial activity. *Opt. Laser Technol.* 2020; 121: 105824. <https://doi.org/10.1016/j.optlastec.2019.105824>
7. Ullah M.W., Shi Z., Shi X., Zeng D., Li S., Yang G. Microbes as structural templates in biofabrication: study of surface chemistry and applications. *ACS Sustainable Chem. Eng.* 2017; 5(12): 11163–75. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.7b02765>
8. Gahlawat G., Choudhury A.R. A review on the biosynthesis of metal and metal salt nanoparticles by microbes. *RSC Adv.* 2019; 9: 12944–67. <https://doi.org/10.1039/C8RA10483B>
9. Feng Y., Marusak K.E., You L., Zauscher S. Biosynthetic transition metal chalcogenide semiconductor nanoparticles: progress in synthesis, property control and applications. *Current Opinion in Colloid and Interface Science.* 2018; 38: 190–203. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2018.11.002>
10. Yang Z., Lu L., Berard V.F., He Q., Kiely C.J., Berger B.W., et al. Biomufacturing of CdS quantum dots. *Green Chem.* 2015; 17: 3775–82. <https://doi.org/10.1039/C5GC00194C>
11. Shivashankarappa A., Sanjay K.R. *Escherichia coli*-based synthesis of cadmium sulfide nanoparticles, characterization, antimicrobial and cytotoxicity studies. *Braz. J. Microbiol.* 2020; 51(3): 939–48. <https://doi.org/10.1007/s42770-020-00238-9>

12. Kumar A., Singh A.K., Choudhary K.K., eds. *Role of Plant Growth Promoting Microorganisms in Sustainable Agriculture and Nanotechnology*. Elsevier Inc.; 2019.
13. Zhuravleva O.A., Voeykova T.A., Khaddazh M.Kh., Bulushova N.V., Ismagulova T.T., Bakhtina A.V., et al. Bacterial synthesis of cadmium and zinc sulfide nanoparticles: characteristics and prospects of application. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya*. 2018; 36(4): 233–40. <https://doi.org/10.17116/molgen201836041191>
14. Elsalam Abd S.S., Taha R.H., Tawfeik A.M., El-Monem Abd M.O., Mahmoud H.A. Antimicrobial activity of bio and chemical synthesized cadmium sulfide nanoparticles. *Egypt. J. Hosp. Med.* 2018; 70(9): 1494–507. <https://doi.org/10.12816/0044675>
15. Sankhla A., Sharma R., Yadav R.S., Kashyap D., Kothari S.L., Kachhwaha S. Biosynthesis and characterization of cadmium sulfide nanoparticles — an emphasis of zeta potential behavior due to capping. *Mater. Chem. Phys.* 2016; 170: 44–51. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2015.12.017>
16. Marusak K.E., Feng Y., Eben C.F., Payne S.T., Cao Y., You L., et al. Cadmium sulphide quantum dots with tunable electronic properties by bacterial precipitation. *RSC Adv.* 2016; 6(80): 76158–66. <https://doi.org/10.1039/C6RA13835G>
17. Qi P., Zhang D., Zeng Y., Wan Y. Biosynthesis of CdS nanoparticles: A fluorescent sensor for sulfate-reducing bacteria detection. *Talanta*. 2016; 147: 142–6. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.09.046>
18. Sweeney R.Y., Mao C., Gao X., Burt J.L., Belcher A.M., Georgiou G., et al. Bacterial biosynthesis of cadmium sulfide nano-crystals. *Chem. Biol.* 2004; 11(11): 1553–9. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2004.08.022>
19. Maniatis T., Fritsch E.E., Sambrook J. *Molecular Cloning*. Cold Spring Harbor lab.; 1982.
20. Voeykova T.A., Zhuravleva O.A., Gracheva T.S., Bulushova N.V., Ismagulova T.T., Shaytan K.V., et al. Optimization of microbial synthesis of silver sulfide nanoparticles. *Biotekhnologiya*. 2017; 33(3): 38–46. <https://doi.org/10.1016/10.21519/0234-2758-2017-33-3-38-46> (in Russian)
21. Voeykova T.A., Shebanova A.S., Ivanov Yu.D., Kaysheva A.L., Novikova L.M., Zhuravleva O.A., et al. The role of proteins of the outer membrane of *Shewanella oneidensis* MR-1 in the formation and stabilization of silver sulfide nanoparticles. *Biotekhnologiya*. 2015; 31(5): 769–75. <https://doi.org/10.1134/S0003683816080081>
22. Voeykova T.A., Zhuravleva O.A., Kuligin V.S., Ivanov E.V., Kozhukhova E.I., Egorov A.S., et al. Production of polymeric nanocomposites by nature-like method and study of their physical and chemical properties. *Voprosy materialovedeniya*. 2019; (4): 113–23. <https://doi.org/10.22349/1994-6716-2019-100-4-113-123> (in Russian)
23. Alsaggaf M.S., Elbaz A.F., Badawy El S., Moussa S.H. Anticancer and antibacterial activity of cadmium sulfide nanoparticles by *Aspergillus niger*. *Adv. Polym. Technol.* 2020; 2020: 4909054. <https://doi.org/10.1155/2020/4909054>
24. Bhat Ul I.H., Yi Y.S. Green synthesis and antibacterial activity of cadmium sulfide nanoparticles (CdSNPs) using *Panicum sarmentosum*. *Asian J. Green Chem.* 2019; 3(4): 455–69. <https://doi.org/10.33945/SAMI/AJGC.2019.4.3>

Информация об авторах

Журавлева Ольга Алексеевна — к.х.н., м.н.с. лаб. белковой инженерии группы нанобиотехнологий НИЦ «Курчатовский институт» и НИЦ «Курчатовский институт» — ГосНИИГенетика, Москва, Россия, zhuravlevaolgga@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8751-8184>

Воейкова Татьяна Александровна — к.б.н., в.н.с., с.н.с. лаб. белковой инженерии группы нанобиотехнологий НИЦ «Курчатовский институт» и НИЦ «Курчатовский институт» — ГосНИИГенетика, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-8864-9266>

Кулигин Владислав Сергеевич — инженер-исследователь лаб. белковой инженерии группы нанобиотехнологий НИЦ «Курчатовский институт»; аспирант НИЦ «Курчатовский институт» — ГосНИИГенетика, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-4674-4577>

Дебабов Владимир Георгиевич — д.б.н., акад. РАН, проф., зав. лаб. белковой инженерии, научный руководитель Курчатовского комплекса генетических исследований НИЦ «Курчатовский институт» и НИЦ «Курчатовский институт» — ГосНИИГенетика, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-8441-1100>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 17.09.2020;
принята к публикации 10.02.2021;
опубликована 20.05.2021

Information about the authors

Olga A. Zhuravliova — Cand. Sci. (Chem.), junior researcher, Laboratory of protein engineering, Nanobiotechnology group, NRC «Kurchatov Institute» and NRC «Kurchatov Institute» — GOSNIIGENETIKA, Moscow, Russia, zhuravlevaolgga@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8751-8184>

Tatiana A. Voeykova — Cand. Sci. (Biol.), leading researcher, senior researcher, Laboratory of protein engineering, Nanobiotechnology group, NRC «Kurchatov Institute» and NRC «Kurchatov Institute» — GOSNIIGENETIKA, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-8864-9266>

Vladislav S. Kuligin — research engineer, Laboratory of protein engineering, Nanobiotechnology group, NRC «Kurchatov Institute», post-graduate student, NRC «Kurchatov Institute» — GOSNIIGENETIKA, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-4674-4577>

Vladimir G. Debabov — D. Sci. (Biol.), Full Member of RAS, Professor, Head, Laboratory of protein engineering, Scientific Director, Nanobiotechnology group, NRC «Kurchatov Institute» and NRC «Kurchatov Institute» — GOSNIIGENETIKA, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-8441-1100>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 17.09.2020;
accepted for publication 10.02.2021;
published 20.05.2021