

8. Djilianov D., Georgieva T., Moyankova D., Atanassov A., Shinozaki K., Smeeken S. C. M. Improved abiotic stress tolerance in plants by accumulation of osmoprotectants – gene transfer approach. *Biotechnol. & Biotechnological Equipment*. 2005. № 19. P. 63–71.

9. Dubrovna O. V., Stasik O. O., Priadkina G. O., Zborivska O. V., Sokolovska-Sergienko O. G. Resistance of genetically modified wheat plants, containing a double-stranded RNA suppressor of the proline dehydrogenase gene, to soil moisture deficiency. *Agricultural Science and Practice*. 2020. 7, No 2. P. 24–34.

10. Kochetov A. B., Shumny V. K. Transgenic plants as genetic models for studying functions of plant genes. *Russian Journal of Genetics: Applied Research*. 2017. Vol. 7, No. 4. P. 421–427.

11. Vendruscolo E. C., Schuster I., Pileggi M. Stress-induced synthesis of proline confers tolerance to water deficit in transgenic wheat. *J. Plant Physiol*. 2007. Vol. 164, № 10. P. 1367–1376.

УДК 606; 579.66

## **ВИКОРИСТАННЯ БАКТЕРІЙ-ПРОДУЦЕНТІВ НЕЗАМІННИХ АМІНОКИСЛОТ У БІОТЕХНОЛОГІЇ**

*Л. С. Кушнір, Ю. В. Максименко*

Житомирський державний університет імені Івана Франка, вул. Велика Бердичівська, 40, Житомир, 10008, Україна

Білки відіграють надзвичайно важливу роль у процесах життєдіяльності організмів, у тому числі і людини. Вони є результатом експресії генів та інструментом, за допомогою якого геном керує всіма метаболічними реакціями у клітині. Білки беруть участь у побудові клітин та тканин, у вигляді ферментів каталізують різноманітні біохімічні реакції, захищають від зовнішніх впливів. Білки – високомолекулярні сполуки, біополімери, в основі побудови яких є амінокислоти.

Амінокислоти – мономери білків, які у своєму складі мають карбоксильну та амінну групи, які визначають їх амфіфільні властивості. Загалом білки складаються з 20 основних амінокислот, які мають зазвичай L-конфігурацію (крім клітин деяких мікроорганізмів) [2].

Існує декілька класифікацій амінокислот, в залежності від їх будови, властивостей тощо. За біологічним значенням їх поділяють на замінні та незамінні. Замінні амінокислоти можуть синтезуватися в достатній кількості з незамінних амінокислот або інших речовин в організмі людини. Незамінні амінокислоти не здатні синтезуватись в організмі, тож їх джерелом для людини виступає їжа. Тому вивчення бактерій-продуцентів незамінних амінокислот є важливим питанням для біотехнології.

До незамінних амінокислот належать: валін, лейцин, ізолейцин, лізин, метіонін, треонін, триптофан і фенілаланін. Незамінні амінокислоти користуються досить високою популярністю у біотехнологічній промисловості.

Це потребує постійного вдосконалення технологій, обладнання і пошуку нових мікроорганізмів-продуцентів. L-валін є однією з трьох амінокислот з розгалуженим ланцюгом (валін, лейцин та ізолейцин), необхідних для здоров'я тварин і важливих для метаболізму, тому його широко додають у продукти харчування, ліки та корми. L-валін переважно виробляється шляхом мікробної ферментації, і ефективність виробництва значною мірою залежить від якості мікроорганізмів. Останніми роками продовжуються зусилля з виявлення механізмів і регуляції біосинтезу L-валіну в *Corynebacterium glutamicum*, найбільш утилітарної бактерії для виробництва амінокислот. Метаболічна інженерія, заснована на метаболічному біосинтезі та регуляції L-валіну, забезпечує ефективну альтернативу традиційній селекції для розвитку штамів. Промислово конкурентоспроможні штами *C. glutamicum*, що продукують L-валін, були створені за допомогою генетично визначеної метаболічної інженерії [10].

Дослідження продукування бактеріями цієї амінокислоти в Україні досить спорадичні, однак іноземні вчені вже ретельно займаються цим питанням. Зокрема, потужні продуценти L-валіну були виявлені японськими вченими Takayasu Tsuchida, Fumihiko Yoshinaga, Koji Kubota, Haruo Momose серед стійких мутантів, отриманих із трьох типових бактерій, що продукують L-глутамінову кислоту: *Brevibacterium lactofermentum*, *Corynebacterium acetoacidophilum*, *Arthrobacter citreus* [9].

Іншим японським вченим Zenjiro Sugisaki було проведено скринінговий тест на бактерії, що продукують L-валін, і було визнано, що в культурі досить велика кількість L-валіну практично виробляється як єдина амінокислота деякими видами бактерій. Два штами щойно виділених бактерій, що акумулюють L-валін, були досліджені і названі *Aerobacter cloacae* var sp. NISR-B-151 та *A. aerogenes* NISR-B-801 [8].

L-амінокислоти, такі як L-метіонін, L-лейцин, L-пролін, L-валін або L-треонін, можуть отримувати культивуванням бактерії *Escherichia coli*, в якій продукція L-амінокислоти збільшена за рахунок підвищення активності білків, що кодуються генами b2682 і b2683 [4].

Для одержання лейцину відомі мікробіологічні способи, засновані на використанні мутантів з порушеною регуляцією синтезу амінокислот. Мутанти характеризуються стійкістю до різних структурних аналогів амінокислот, а також, у більшості випадків, потребою в амінокислотах для росту. У цих способах у якості продуцентів лейцину застосовують мутантні штами групи глутаматпродукуючих *Corynebacterium glutamicum*, *Brevibacterium flavum*, *B. lactofermentum*. Найбільш високий рівень накопичення лейцину отримано при використанні штаму *Brevibacterium lactofermentum* на поживному середовищі, яке в якості вуглевода містить глюкозу. Було багато праць про ферментацію вироблення L-ізолейцину, але опублікований лише один звіт про виробництво L-ізолейцину з глюкози мутантом *Brevibacterium flavum* [3,7].

Грамположитивна бактерія *C. glutamicum* використовується для промислового виробництва L-глутамату та L-лізину. В останні десять років були розроблені методи генної інженерії для *C. glutamicum* і, отже, технологія

рекомбінантної ДНК була використана для вивчення шляхів біосинтезу та покращення продуктивності амінокислот шляхом маніпулювання ферментативними, транспортними та регуляторними функціями цієї бактерії [5].

Українськими вченими було проведено дослідження продуцентів незамінних амінокислот аспартагної родини: *C. glutamicum*, *Brevibacterium flavum*, *Brevibacterium sp.* Було визначено, що такі бактерії, як *Brevibacterium flavum* та *Brevibacterium sp.* є біосинтетично активними продуцентами треоніну та лізину відповідно [1]. Ароматичні амінокислоти синтезуються загальним шляхом біосинтезу. Триптофан-продукуючий мутант *C. glutamicum* був створений за допомогою генної інженерії, щоб виробляти тирозин або фенілаланін у великій кількості [6].

Отже, незамінні амінокислоти є важливою складовою нормального функціонування всіх ознак життєдіяльності організму. Основними бактеріями-продуцентами є: *Escherichia coli*, бактерії родів *Corynebacterium* та *Brevibacterium*. Проте питання використання бактерій-продуцентів амінокислот потребує ще детальнішого вивчення задля знаходження нових бактерій-продуцентів та удосконалення промислового виробництва.

#### Література

1. Андріяш Г. С., Заболотна Г. М., Шульга С. М. Мутантні штами мікроорганізмів-продуцентів лізину та треоніну. *Biotechnology Acta*. 2014. V. 7, No 3. P. 95–101.
2. Гонський Я. І., Максимчук Т. П., Калинський М. І. Біохімія людини: підручник. Тернопіль : Укрмедкнига, 2002. С. 15–62.
3. Леонова Т. В., Гусятинер М. М., Жданова Н. И., Ивановская Л. Р., Зайцева З. М., Ясиновский В. Г., Шильникова И. И., Краева Н. К., Роговер В. С., Раньковская В. А. Штамм бактерий *Corynebacterium sp.* – продуцент L-лейцина: пат. 3959075 США, заявл.17.03.1973; опубл. 10.05.1996.
4. Таболина Е. А., Рыбак К. В., Хургес Е. М., Ворошилова Э. Б., Гусятинер М. М. Способ получения L-аминокислот, штамм *Escherichia coli* – продуцент L-аминокислоты (варианты): пат. 3959075 США, заявл.17.03.1973; опубл. 10.05.1996.
5. Eikmanns B., Eggeling L., Sahm H. Molecular aspects of lysine, threonine, and isoleucine biosynthesis in *Corynebacterium glutamicum*. *Antonie van Leeuwenhoek*. 1993-1994. Volume 64. P. 145–163.
6. Ikeda M., Katsumata R. Metabolic Engineering To Produce Tyrosine or Phenylalanine in a Tryptophan-Producing *Corynebacterium glutamicum* Strain. *ASM Journals. Applied and Environmental Microbiology*. 1992. Vol. 58. No. 3. P. 781–785.
7. Ikeda S., Fujuta I., Yoshinaga F. Screening of L-Isoleucine Producers among Ethionine Resistant Mutants of L-Threonine Producing Bacteria. *Agr. Biol. Chem.* 1976. 40 (3). P. 511–516.
8. Sugisaki Z. Studies on L-valine fermentation part I. Production of L-valine by *Aerobacter bacteria*. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 1959. Vol. 5. No. 3. P. 138–149.

9. Tsuchida T., Yoshinaga F., Kubota K., Momose H. Production of L-Valine by 2-Thiazolealanine Resistant Mutants Derived from Glutamic Acid Producing Bacteria. *Agricultural and Biological Chemistry*. 1975. Volume 39. Issue 6. P. 1319–1322.

10. Wang X., Zhang H., Quinn P. Production of L-valine from metabolically engineered *Corynebacterium glutamicum*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2018. Volume 102. P. 4319–4330.

УДК 546.55/.59+546.655

## МЕТОДИ СИНТЕЗУ НАНОЧАСТОК СРІБЛА ТА ЦЕРІЮ

*М. О. Маліношевська, О. А. Шидловська*

Київський національний університет технологій та дизайну, вул. Немировича-Данченка, 2, Київ, 01011, Україна

Сучасний етап розвитку науки характеризується мініатюризацією технологічних процесів, що призводить до формування абсолютно нового напрямку – нанотехнологій. За останні роки нанотехнології досягли лідерства в галузі хімії, біології, медицини та косметології.

При переході речовин в нанорозмірні структури спостерігаються суттєві зміни їх хімічних, фізичних і фізико-хімічних властивостей. У нанометровому діапазоні змінюватимуться електропровідність, теплостійкість, магнетизм, коефіцієнт оптичної густини, вплив речовин на організм людини тощо [3].

До початку 1980-х рр. науковий та прикладний інтерес до срібних наночастинок був обумовлений лише можливістю їх застосування як високодисперсної підкладки для посилення сигналу молекул в органічних сполуках спектроскопії. Фундаментальні дослідження, проведені 1980-1990 рр. показали, що наночастилки мають рідкісне поєднання цілющих якостей: унікальні оптичні властивості, зумовлені поверхневим плазмонним резонансом, високою питомою масою поверхні, каталічною активністю тощо.

Діоксид церію та матеріали на його основі знаходять широке застосування в промисловості, у тому числі у виробництві паливних елементів, сенсорів, тримаршрутних каталізаторів і т.д. В останнє десятиліття наночастилки  $\text{CeO}_2$  привертають увагу дослідників як неорганічний антиоксидант, здатний ефективно захищати живі системи від окислювального стресу [4].

На даний момент існує досить багато методів хімічного синтезу [2] для отримання наночастинок металів: хімічне відновлення (цитратний, борогідридний метод та ін.), синтез у двофазних водо-органічних системах, метод лазерної абляції, радіолітичні методи, синтез у зворотних міцелах, термічний розклад прекурсору дією розчинника або дією мікрохвиль тощо, серед яких найбільш поширеними є відновлення наночастинок та стабілізація їх з утворенням колоїдів.

Сьогодні існує два основних способи отримання наночастинок [1, 8]:

1) «зверху вниз», від макроскопічних об'єктів – подрібнення матеріалу – фізичний метод, що включає термічне випаровування наночастинок під час