

апликации геля, в сравнении с группой воздействия нитратом серебра наблюдался менее выраженный отек, а образование и созревание грануляционной ткани на месте тканевого дефекта было более быстрым. Таким образом, дальнейшая разработка лекарственных средств на основе взаимодействия нитрата серебра и тиоловых соединений позволит расширить базу местных антимикробных средств, с высоким бактерицидным потенциалом, но низкой цитотоксичностью.

#### Список литературы

1. Петрова М.Б., Червинец В.М., Овчинников М.М. и др. Оценка влияния геля L-цистеина нитрата серебра на репаративные процессы в коже и активность микробной флоры // Вестник ТвГУ. Серия «Биология и экология». – 2010. – 17 (16). – С.30-35.
2. Petrova, M., Pavlova, N., Kharitonova, E. and Ilyashenko, N. Reparative histogenesis of skin: Reaction on the application of L-cysteine of argentinum nitrate gel // Open Journal of Regenerative Medicine – 2012, № 1. – 25-28. doi: 10.4236/ojrm.2012.13004.

### ПСИХРОФИЛЬНЫЕ БАКТЕРИИ И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДЛЯ БИОРЕМЕДИАЦИИ АРКТИЧЕСКИХ ЭКОСИСТЕМ, ЗАГРЯЗНЕННЫХ НЕФТЬЮ И НЕФТЕПРОДУКТАМИ

Пикула К.С., Захаренко А.М., Гульков А.Н.

Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, e-mail: k.pikula@mail.ru

С сокращением добычи углеводородов в традиционных районах, освоение Арктики стало одним из приоритетных направлений внутренней и внешней политики стран Северной Америки, Северной Европы и Азии [1]. Приоритетным направлением исследований становится обеспечение баланса между разработкой ресурсов Арктики и защитой окружающей среды.

Арктические экосистемы обладают крайне низкой устойчивостью даже к незначительному антропогенному воздействию. Разливы нефти, как показывает практика, могут произойти на любом из этапов добычи, хранения и транспортировки [2]. С увеличением надежности технологического оборудования и ужесточением контроля за соблюдением природоохранительных мероприятий, вероятность возникновения опасных ситуаций снижается, но необходимо признать, что антропогенное воздействие при разработке месторождений нефти – процесс, который практически невозможно исключить.

Ликвидация разливов нефти в условиях севера и большой удаленности от крупных техногенных центров является задачей, не имеющей универсального решения. Необходимо учитывать ряд факторов, затрудняющих ликвидацию нефтяных разливов на территории Арктики: низкие температуры, образование и движение ледяных массивов, наличие экстремальных и непредсказуемых погодных условий, продолжительные периоды темноты. Исследования показывают, что каждое из арктических морей располагает специфическими региональными особенностями, поэтому процедура и способ ликвидации нефтяных разливов, вероятно, будет различаться [8].

В настоящее время, наиболее перспективными и экономически целесообразными становятся биологические методы очистки. Они основаны на естественных процессах разложения нефти в природе с участием микроорганизмов, способных окислять углеводороды. Для увеличения эффективности естественных процессов восстановления, предполагается активировать аборигенную микрофлору загрязненных объектов и вносить биопрепараты, содержащие штаммы бактерий способных быстро разлагать нефтепродукты. В суровых условиях Севера для этой цели могут быть использованы только психрофильные микроорганизмы, активно развивающиеся при

низких температурах (оптимальная температура роста 10-15°C; описаны виды, живущие при отрицательных температурах до -15°C, -25°C) [3, 11].

Для выживания и роста микроорганизмов при низкой температуре используется огромное количество адаптивных функций: изменения в структуре белков, оболочке и энергетической системе, приобретение холодоустойчивых комплексов и факторов, ответственных за потребление питательных веществ. Однако определяющий фактор заключён в функциях холодо-активных белков-ферментов, которые управляют циклом деления клетки и метаболизмом. Эти ферменты могут эффективно катализировать реакции при очень низких температурах, что позволяет клеткам функционировать в этих условиях [14].

Холодо-адаптированные белки обладают большей подвижностью (способны изменять свою конформацию при низких температурах), это позволяет быстро образовывать фермент- субстратный комплекс и катализировать реакцию. Большинство ферментов мезофильных организмов практически неактивны при температурах близких к нулю (их оптимальная температура работы 25-37°C). Это обусловлено разницей в составе аминокислот и, как следствие, более лабильными связями белков [12]. Кроме этого холодо-адаптированные белки обладают увеличенным размером полости, в которой находится молекула воды. Наличие воды в связанном виде придаёт большую подвижность при низких температурах.

В результате повышенной пластичности, участок активации фермента становится менее устойчивым и уменьшается сродство фермента с субстратом. По этой причине холодо-активные ферменты потребляют меньше энергии на удержание субстрата, что, в свою очередь, ведёт к уменьшению нижнего предела энергии активации, необходимой для создания комплекса фермент-субстрат и увеличивает скорость реакции. Таким образом, удельная активность данных ферментов при низких температурах в несколько раз выше, чем у аналогичных ферментов мезофильных организмов.

В большинстве случаев психрофильные организмы обладают низкой устойчивостью к загрязнению нефтью и нефтепродуктами. Поэтому одной из основных задач направления становится разработка биопрепаратов на основе микроорганизмов, устойчивых к высокому содержанию углеводородов и способных к эффективному окислению нефтяного загрязнения при низких температурах.

Некоторые исследовательские группы уже достигли определённых успехов при выделении штаммов нефтеокисляющих микроорганизмов из северных экосистем. Так, ученые биологического факультета МГУ выделили около ста видов микроорганизмов, способных разлагать нефть и ее продукты при низких (в том числе и отрицательных) температурах. Выделенные виды делят на две группы. Первая окисляет углеводороды, разлагая их на углекислый газ и воду (к ним относят *Nocardia coeliaca* и *Psychrobacter fozielii*). Вторая группа – эмульгирующие бактерии (к ним относят *Arthrobacter rhombi* и *Rhodococcus erythropolis*), они выделяют поверхностно-активные вещества и адаптируют углеводороды для использования остальными микроорганизмами.

Для повышения эффективности и стабильности холодоустойчивых бактерий, адаптации их к определённому составу и количеству загрязнения, контроля и программирования процесса очистки может быть использована генетическая и химическая модификация. Недавно, исследователями из США была расшифрована и описана аминокислотная последовательность

для фермента цитохром P450 алкангидроксилазы, полученного из психрофильных организмов. Этот фермент имеет способность к преобразованию n-алканов в легко разлагающиеся спирты при температуре до 5°C [5].

Чаще всего генетическую модификацию разделяют на шесть основных секций:

1. Направленная эволюция (НЭ). Включает в себя произвольный мутагенез с использованием ошибок полимеразной цепной реакции (ПЦР) и перестановок в ДНК, которые не нуждаются в структурной информации. Метод ограничен низкой эффективностью, потребностью в большой базе данных мутаций и необходимостью проведения скрининга среди организмов, обитающих в экстремальных условиях. С использованием НЭ были получены многие ферменты с увеличенной активностью или/и стабильностью. Так, один из наиболее выдающихся случаев одновременного повышения активности (в 23 раза) и стабильности (в 26 раз при) был достигнут в случае с психрофильной липазой из *M. antarctica* с использованием НЭ и всего при двух мутациях (V210I/A281E).

2. Сайт-направленный мутагенез (СНМ). В отличие от НЭ не требуются многочисленные циклы скрининга, но метод ограничен недостатком структурной информации. СНМ используется не только при изучении структурно-функциональной стабильности белков, но также используется для изменения каталитических свойств ферментов.

3. Компьютерное моделирование генетической модификации. Также как и НЭ, метод успешно реализуется для увеличения каталитических свойств ферментов. Использование ограничено потребностью в огромной базе данных и сложностью выделения из множества вариантов тех, которые дают улучшение.

4. Совместно-направленный мутагенез (СНМ). Основан на замещении специфических аминокислот в тех сайтах гена, где они встречаются, на более распространенные.

5. Сплайсинг. Гибридные ферменты могут быть образованы с помощью слияния части подобных или полностью отличающихся ферментов. Искусственные гибридные ферменты производят для увеличения активности, стабильности и продуктивности белков, достижения взаимной активации между сходными участками гена.

6. Делеции (усечение). Метод может быть использован для увеличения каталитических свойств ферментов.

Отдельным направлением для придания организмам необходимых свойств является химическая модификация.

С помощью химического воздействия на поверхность гидрофильных остатков могут быть увеличены суммарный заряд и стабильность белка [13].

Несмотря на то, что изучение организмов, обитающих в критических условиях окружающей среды давно ведутся и в этом направлении достигнуты значительные успехи [4, 7; 9], знания о генетическом разнообразии и функциях микроорганизмов Арктики остаются сильно ограниченными и требуют дальнейшего расширения [10]. Психрофильные микроорганизмы по-прежнему являются слабо изученным ресурсом, использование которого имеет большие экологические и экономические перспективы. Необходимым условием для использования холодоустойчивых бактерий в процессе очистки загрязнённых территорий является более чёткое понимание механизмов метаболизма, используемых в процессе биоремедиации. Накопление баз данных по холодо-адаптированным ферментам и детальное изучение их каталитических

свойств позволит в будущем проводить наиболее точные модификации, такие как сайт-направленный мутагенез. Это позволит получить психрофильные бактерии, способные эффективно окислять нефтепродукты и синтезировать поверхностно-активные вещества (биосурфактанты) препятствующие гибели аборигенных организмов арктических экосистем.

#### Список литературы

1. Боговяленский В.И. Поиск, разведка и разработка месторождений углеводородов в Циркумарктическом регионе // Арктика: экология и экономика. – 2013. – № 2 (10). – С. 62–71.
2. Павленко В. И. и др. Актуальные проблемы предотвращения, ликвидации разливов нефти в Арктике и методы оценки экологического ущерба прибрежным территориям // Арктика: экология и экономика. – № 3 (19). – 2015.
3. Bakermans C., Bergholz P.W., Rodrigues, D., Vishnevetskaya, T.A., Ayala-del-Rio, H.L., Tiedje, J., 2011. Genomic and expression analyses of cold-adapted microorganisms. In: Miller, R.V., Whyte, L.G. (Eds.), Polar Microbiology: Life in a Deep Freeze. ASM Press, Washington, pp. 126–155.
4. Barragan-Huerta B.E. et al. Biodegradation of organochlorine pesticides by bacteria grown in microniches of the porous structure of green bean coffee // International Biodeterioration & Biodegradation 59 (2007) 239–244.
5. Bowman J.S., Deming J.W., 2014. Alkane hydroxylase genes in psychrophile genomes and the potential for cold active catalysis. BMC Genomics 16, 15.
6. Bowman J.S., Deming J.W., 2014. Alkane hydroxylase genes in psychrophile genomes and the potential for cold active catalysis. BMC Genomics 16, 15.
7. Furukawa K., Fujihara H. Microbial Degradation of Polychlorinated Biphenyls: Biochemical and Molecular Features // Journal of bioscience and bioengineering. 2008 Vol. 105, No. 5, 433–449;
8. Kristensen, M et al. Marine biodegradation of crude oil in temperate and Arctic water samples / Journal of Hazardous Materials 300 (2015) 75–83.
9. Lal R. et al. Oakeshott Biochemistry of Microbial Degradation of Hexachlorocyclohexane and Prospects for Bioremediation // Microbiology And Molecular Biology Reviews, 2010, Vol. 74, No. 1 p. 58–80
10. Liao, L. et al. Draft genome of *Marinomonas* sp. BS120584 from Arctic sea ice // Marine Genomics 23 (2015) 23–25 [A. Blaud et al. Arctic soil microbial diversity in a changing world / Research in Microbiology xx (2015) 1e18.
11. Mykytyczuk N.C., Foote S.J., Omelon C.R., Southam G., Greer C.W., Whyte L.G., 2013. Bacterial growth at –15 °C; molecular insights from the permafrost bacterium *Planococcus halocryophilus* Or1. ISME J, 1211–1226.
12. Siddiqui K., Cavicchioli R., 2006. Cold-adapted enzymes. Annu. Rev. Biochem. 75, 403e433.
13. Siddiqui K.S., Some like it hot, some like it cold: Temperature dependent biotechnological applications and improvements in extremophilic enzymes, Biotechnol Adv (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.11.001>.
14. Struvay C., Feller, G., 2012. Optimization to low temperature activity in psychrophilic enzymes. Int. J. Mol. Sci. 13, 11643e11665.

#### ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ЧИСТОГО ГОРОДА

Чернов П.Ю., Новоселов В.Ю., Ожев А.Д., Татаева С.А.  
 Адыгейский государственный университет, Майкоп,  
 e-mail: P.A.V.E.I@yandex.ru

Главной проблемой Республики Адыгья является загрязнение почв различными химическими веществами. Источниками загрязнения служат автотранспорт, промышленность, сельское хозяйство и др.

Основными причинами загрязнения почвы на территории жилой застройки продолжают оставаться: отсутствие схем очистки населенных мест или их несовершенство, увеличение количества твердых бытовых отходов [5]. Недостаток специализированной техники и контейнеров для сбора и удаления отходов, отсутствие центральной системы канализации в ряде населенных пунктов республики, неудовлетворительное состояние канализационных сетей, отсутствие условий для мойки и дезинфекции мусоросборных контейнеров, отсутствие селективного сбора отходов от населения, возникновение несанкционированных свалок [2].

Хозяйственная деятельность человека все чаще становится основным источником загрязнения почвы [1].

Размещение отходов на свалках ведет к выделению метана – одного из парниковых газов и опасных химических веществ, которые оказывают вредное воз-