

объектом очистки становятся не отдельные молекулы белка, а устойчивые нуклеопротеиновые комплексы, обладающие собственными зарядовыми и структурными характеристиками. Вероятно, сохранённая способность капсидных белков к димеризации и сильные электростатические взаимодействия обуславливают формирование сложных комплексов с нуклеиновыми кислотами.

Испытанные протоколы очистки показали, что традиционные подходы, основанные на теоретических характеристиках белка (Ni-NTA, катионообменная и гидрофобная хроматография), оказываются малоэффективными. Наиболее перспективным методом оказалось использование анионообменной хроматографии, где комплекс связывается с сорбентом через нуклеиновый компонент. Градиентная элюция позволила получить фракции целевого белка со значительно сниженным содержанием нуклеиновых кислот. Перспективными направлениями дальнейшей оптимизации остаются применение мультимодальной и гепарин-аффинной хроматографии, а также использование осаждения нуклеиновых кислот с полиэтиленимином (ПЭИ). Дополнительно показано, что стабильность нуклеопротеиновых комплексов зависит от концентрации NaCl в буфере: повышение ионной силы снижает их растворимость. Таким образом, доказано, что рекомбинантный химерный С-белок формирует прочные нуклеопротеиновые комплексы, и эффективная очистка требует использования подходов, нацеленных именно на разделение белка и нуклеиновых кислот.

### Литература

1. Byk L.A., Gamarnik A.V. Properties and functions of the dengue virus capsid protein // Annual Review of Virology. 2016. Vol. 3. № 1. P. 263–281.
2. Gil L., Cobas K., Lazo L. et al. A tetravalent formulation based on recombinant nucleocapsid-like particles from dengue viruses induces a functional immune response in mice and monkeys // Journal of Immunology. 2016. Vol. 197. № 9. P. 3597–3606.
3. Jonsson C.B., Gallegos J., Fero P. et al. Purification and characterization of the Sin Nombre virus nucleocapsid protein expressed in *Escherichia coli* // Protein Expression and Purification. 2001. Vol. 23. № 1. P. 134–141.
4. Brudenell E.L., Pohare M.B., Zafred D. et al. Efficient overexpression and purification of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 nucleocapsid proteins in *Escherichia coli* // Biochemical Journal. 2024. Vol. 481. № 11. P. 669–682.
5. Chen C., Zhang Z., Zheng Q. et al. Purification and inhibitor screening of the full-length SARS-CoV-2 nucleocapsid protein // Journal of Immunology. 2025. Vol. 202. № 1. P. 1–10. doi: 10.4049/jimmunol.1600927

УДК 579.61+615.322

DOI: <http://doi.org/10.20914/2304-4691-2025-2-32-33>

## СИНЕРГИДНОЕ ДЕЙСТВИЕ ФЛАВОНОИДОВ КВЕРЦЕТИНА И ДИГИДРОКВЕРЦЕТИНА В СОЧЕТАНИИ С ПОЛИМИКСИНОМ В НА БИОПЛЕНКИ БАКТЕРИИ *METHYLOPHILUS QUAYLEI*

В.В. Покоева, А.Б. Пшеничникова

ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет», Москва, Россия

Способность бактерий проявлять резистентность или толерантность к антибиотикам – важнейшие механизмы эволюции, противостоять которым в контексте антибиотикотерапии можно только с привлечением вспомогательных веществ – адьювантов антибиотиков. Главной особенностью адьювантов является не столько антибиотическая активность, сколько способность нарушать системы антибиотикорезистентности или биопленкообразования. Растительный флавоноид кверцетин является адьювантом нескольких групп антибиотиков, среди которых – резервный антибиотик полимиксин В, обладающий высокой антибактериальной активностью, но в эффективных концентрациях высоко токсичный. Поскольку действующие концентрации возрастают для бактерий в составе биопленок целью настоящей работы явилась разработка антибиопленочного комплекса антибиотика полимиксина В и флавоноидов кверцетина или дигидрокверцетина.

В качестве модели бактериальных биопленок *in vitro* использовали биопленки метилотрофных бактерий *Methylophilus quaylei* МТ (ВКМ В-2338), полученные на полипропиленовых купонах в жидкой синтетической среде с 1 об.% метанола при 30°C, pH 7 при перемешивании со скоростью 60 об./мин в течении 24 ч. Добавки полимиксина В и флавоноидов вносили в культуральную жидкость одновременно с суточным инокулятом бактерий *M. quaylei*. Купоны с биопленками асептически переносили в стерильный буферный раствор и проводили десорбцию клеток интенсивным встряхиванием со стеклянными бусами. Количественно полученные биопленки характеризовали методом подсчета колониеобразующих единиц (КОЕ). Также биопленки окрашивали красителем кристаллическим фиолетовым и исследовали методом световой микроскопии.

Ранее нами было изучено влияние полимиксина В на рост биопленок *M. quaylei* [1] и по этим данным в настоящей работе были выбраны концентрации 0,1-1,0 мкг/мл. Концентрация кверцетина была ограничена низкой растворимостью в воде. В метаноле растворимость выше и, как было нами определено экспериментально, составила 32,2 мг/мл. В культуральную жидкость кверцетин добавляли в концентрациях 0,16 и 0,32 мг/мл в виде насыщенного раствора в метаноле. Дигидрокверцетин растворяется в воде лучше, но его добавляли в культуральную жидкость в тех же концентрациях. Выживаемость бактерий в биопленках в присутствии флавоноидов по сравнению с контролем без добавок составила для кверцетина 92,5 и 75%, а для дигидрокверцетина – 52,6 и 39,5% (для добавок флавоноидов в концентрациях 0,16 и 0,32 мг/мл соответственно). То есть слабый антибиопленочный эффект флавоноиды проявили, дигидрокверцетин – более выраженное. На микрофотографиях в контроле биопленки были представлены цепочками клеток, объединенными в продолговатые переплетающиеся кластеры. В присутствии флавоноидов размер кластеров уменьшался, увеличивалась пористость. Добавление в культуральную жидкость полимиксина В в концентрациях 0,1, 0,5 и 1,0 мкг/мл дозозависимо снижало выживаемость бактерий в биопленках по сравнению с контролем до 56,7, 43,2 и 24,3% от контроля соответственно. На микрофотографиях наблюдали отдельные клетки и цепочки клеток. Совместное включение в состав питательной среды полимиксина В и флавоноидов обнаружило синергидное действие. Так, для кверцетина, добавленного в концентрации 0,32 мг/мл, выживаемость бактерий в биопленках уменьшилась соответственно до 35,1, 21,6 и 10,8%. Таким образом, эффективность полимиксина В в концентрации 0,5 мкг/мл в присутствии кверцетина превысила его действие на биопленки в концентрации 1 мкг/мл в отсутствие адьюванта. Таким образом, добавление адьюванта привело к увеличению эффективности полимиксина В, что позволит снизить его концентрацию.

#### Литература

1. Мохамед А.М.Х.А., Амзаева Д.Н., Пшеничникова А.Б., Швец В.И. Влияние полимиксина В на формирование биопленки бактерией *Methylophilus quaylei* на полипропилене и тефлоне // Тонкие химические технологии. 2018. Т. 13. № 2. С. 31–39.