



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **118364** (13) **U**

(51) МПК (2017.01)

**A61K 33/24** (2006.01)

**A61K 33/38** (2006.01)

A61P 31/00

A61P 43/00

**B82B 1/00**

МІНІСТЕРСТВО  
ЕКОНОМІЧНОГО  
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

(21) Номер заявки: **u 2016 13262**

(22) Дата подання заявки: **26.12.2016**

(24) Дата, з якої є чинними  
права на корисну  
модель: **10.08.2017**

(46) Публікація відомостей  
про видачу патенту: **10.08.2017, Бюл.№ 15**

(72) Винахідник(и):

**Дибкова Світлана Миколаївна (UA),  
Ульберг Зоя Рудольфовна (UA),  
Грузіна Тамара Григорівна (UA),  
Резніченко Людмила Сергіївна (UA)**

(73) Власник(и):

**ІНСТИТУТ БІОКОЛОЇДНОЇ ХІМІЇ ІМ. Ф.Д.  
ОВЧАРЕНКА НАН УКРАЇНИ,  
бул. Академіка Вернадського, 42, м. Київ,  
03680 (UA)**

**(54) ЗАСТОСУВАННЯ НАНОЧАСТИНОК ЗОЛОТА АБО СРІБЛА ЯК АГЕНТІВ ЕЛІМІНАЦІЇ ПЛАЗМІД  
АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТІ**

(57) Реферат:

Застосування наночастинок золота або срібла. Наночастинок золота або срібла використовують як агенти елімінації плазмід антибіотикорезистентності.

**UA 118364 U**



Корисна модель належить до біотехнології, медицини та ветеринарії.

Відомо, що в бактеріальних популяціях розповсюджені екстрахромосомні фактори спадковості - плазміди, які несуть гени антибіотикорезистентності (R-плазміди), гени деградації хімічних речовин тощо [Пехов А.П. Основы плазмидологии. 1996 г.]. Оскільки явище стійкості до антибіотиків являє загрозу для здоров'я людини та тварин, пошук засобів деструкції R-плазмід та їх незворотної елімінації із бактеріальної клітини є надзвичайно актуальним завданням.

Автори вивчили характер взаємодії R-плазмід (на прикладі рекомбінантних плазмід pUC19 та pBR322) з наночастинками золота і срібла та вперше запропонували застосовувати такі частинки як агенти елімінації плазмід антибіотикорезистентності.

У наведених нижче прикладах здійснення корисної моделі надані переконливі свідчення щодо ефективності застосування наночастинок золота й срібла для зміни структури R-плазмід та їх елімінації із бактеріальних клітин.

Приклад 1. Вплив наночастинок золота або срібла на структуру R-плазмід

Використовували стерильні водні препарати наночастинок золота або срібла розміром 30 нм у вихідних концентраціях відповідно 19,2 та 86,0 мкг/мл за металом.

Як об'єкти досліджень застосовували рекомбінантні плазміди pUC19 та pBR322, які використовуються для клонування та мають гени антибіотикорезистентності. Плазмід pUC19 містить 2686 нуклеотидних пар, висококопійна, несе ген, що забезпечує стійкість до антибіотика ампіциліну  $Amp^r$ , (GenBank Assession Number LO9137). Плазмід pBR322 містить 4361 нуклеотидну пару, висококопійна, несе гени ампіцилінової  $Amp^r$  та тетрациклінової  $Tet^r$  резистентності, (Genbank Assession Number J01749). Плазміди pUC19 та pBR322 знаходилися в бактеріях E.coli XL 1-Blue Kan (Stratagene).

Препарати плазмід одержували методом лужного лізису за Бірнбоймом і Долі [Birnboim H.C., Doly J. Nucleic Acids Res. - 1979. - 7. - № 6. - P. 1513-1523] та розчиняли в стерильній дистильованій воді і зберігали при -20 °C.

Препарати плазмід, розведені стерильною дистильованою водою, змішували зі стерильним водним препаратом наночастинок металу та проводили інкубацію при 24 °C протягом 30-60 хвилин. Концентрація наночастинок в інкубаційних сумішах складала: золота - 9,6 за металом, а срібла 43,0 мкг/мл за металом.

Після завершення процесу інкубації одержували препарати плазмідної ДНК з наночастинками відповідного металу та здійснювали їх електронно-мікроскопічний аналіз за допомогою трансмісійного електронного мікроскопу JEOL JEM-1230 Electron Microscope ("Tokyo Boeki Ltd", Японія). Для порівняння готували та аналізували також контрольні препарати наночастинок металів та контрольні препарати нативних плазмід.

На фіг. 1 представлені одержані електронно-мікроскопічні зображення взаємодії наночастинок золота з плазмідною pUC19 (A) та зображення взаємодії наночастинок срібла з плазмідною pUC19 (B), а також зображення контролю - препарату нативної плазмід pUC19 (C).

На фіг. 2 наведено електронно-мікроскопічні зображення результатів взаємодії наночастинок золота (A) та срібла (B) з плазмідною pBR322, а також зображення контролю - препарату нативної плазмід pBR322 (C).

Аналіз наведених електронно-мікроскопічних зображень свідчить про наявність структурних змін в обох плазмідах під дією наночастинок як золота так і срібла. Якщо на зображеннях контрольних препаратів плазмід мають структуру у формі глобул, то після інкубації з наночастинками препарати містять релаксовані форми плазмід у вигляді "розплетених" ниток з розміщеними на них наночастинками металів, причому наночастинки срібла розміщуються на нитках плазмід pUC19 з певною періодичністю.

Наведені експериментальні дані є доказом наявності безпосередньої дії наночастинок золота і срібла на структуру R-плазмід, яка призводить до їх релаксації.

Приклад 2. Елімінація плазмід pUC19 та pBR322 з клітин бактерій E.coli XL 1-Blue Kan (Stratagene)

Елімінацію плазмід pUC19 та pBR322 з клітин плазмідовмісних бактерій E.coli здійснювали: шляхом спонтанної елімінації та шляхом обробки плазмідовмісних бактерій наночастинками золота та срібла з послідуною контрелекцією.

Рівень спонтанної елімінації оцінювали при культивуванні плазмідовмісних бактерій E. coli XL 1-Blue (pUC19) та E.coli XL 1-Blue (pBR322) на середовищі МПБ без антибіотика протягом 18 годин.

В тих же умовах культивування проводили обробку бактерій E. coli XL 1-Blue (pUC19) та E. coli XL 1-Blue (pBR322) препаратами наночастинок золота або срібла.

Використовували препарати наночастинок золота розміром 20 нм в концентрації (за металом) 5,8 мкг/мл та розміром 30 нм - в концентрації 30 нм - 9,6 мкг/мл, а також препарати наночастинок срібла розміром 30 нм в концентрації 17,0 мкг/мл за металом.

5 Одержані результати оцінки частоти елімінації плазмід з плазмідовмісних штамів бактерій *E. coli* XL 1-Blue у вищевказаних умовах наведено в таблиці.

Представлені у таблиці дані свідчать про високу частоту елімінації R-плазмід під дією наночастинок золота та срібла, яка значно перевищує рівень спонтанної елімінації.

10 Наведені у прикладах 1, 2 експериментальні дані підтверджують здатність наночастинок золота та срібла змінювати структуру плазмід шляхом релаксації та викликати високу частоту елімінації плазмід pUC19 та pBR322 із бактерій штамів *E. coli* XL 1-Blue (pUC19) та *E. coli* XL 1-Blue (pBR322). Таким чином, можливість та ефективність застосування наночастинок золота і срібла як агентів елімінації R-плазмід є доведеною.

Таблиця

Тип елімінації плазмід	Плазмідовмісний штам	Частота елімінації (%)
Спонтанна елімінація	<i>E.coli</i> XL 1-Blue (pUC 19)	37
	<i>E.coli</i> XL 1-Blue (pBR322)	34
Елімінація наночастинок золота 20 нм	<i>E.coli</i> XL 1-Blue (pUC 19)	89
	<i>E.coli</i> XL 1-Blue (pBR322)	86
Елімінація наночастинок золота 30 нм	<i>E.coli</i> XL 1-Blue (pUC19)	91
	<i>E.coli</i> XL 1-Blue (pBR322)	90
Елімінація наночастинок срібла 30 нм	<i>E.coli</i> XL 1-Blue (pUC19)	98
	<i>E.coli</i> XL 1-Blue (pBR322)	96

15

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Застосування наночастинок золота або срібла як агентів елімінації плазмід антибіотикорезистентності.

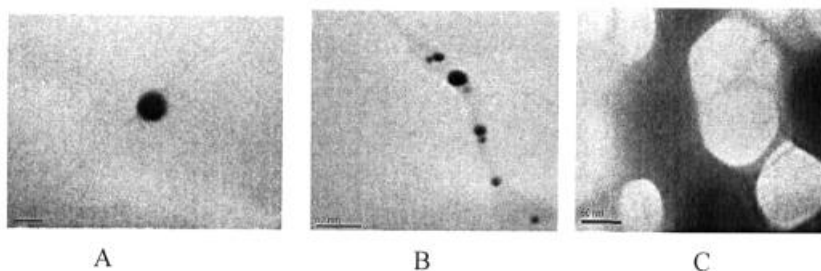
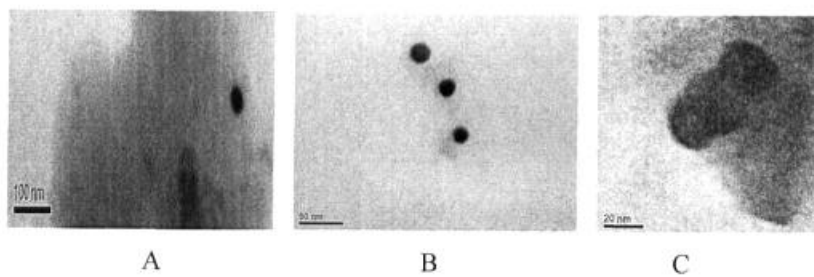


Fig. 1



**Fig. 2**

---

Комп'ютерна верстка Л. Ціхановська

---

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

---

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601