

Исследование биосинтеза и физико-химических свойств бактериального альгината, как полимера для биомедицинского применения

¹Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, г. Москва, Россия

²Биологический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, г. Москва, Россия

В настоящее время использование биополимеров являются одними из самых приоритетных биомедицинских изделий при разработке сфер, композитов или скаффолдов для различных задач в области биомедицины, в особенности тканевой инженерии, или же при разработке медицинских средств контролируемого высвобождения. Альгинат относят к одному из биополимеров, главная особенность которого является гелеобразование в присутствие ионов кальция, такие гидрогели могут быть использованы в регенеративной медицине или как носитель для доставки биологически активных веществ (БАВ). Данный экзополисахарид имеет неразветвленную структуру, состоящую из случайной последовательности маннуроновых и гулууроновых кислот. Альгинат формирует бактериальную капсулу, которая препятствует высыханию и играет роль защитного барьера для микробов от различных токсинов или тяжелых ионов металлов. Альгинат продуцируется бурыми водорослями, а также бактериями рода *Pseudomonas sp.* и *Azotobacter sp.*, но в отличие от водорослей, синтез бактериального альгината можно регулировать за счет различных условий культивирования. Также бактериальный альгинат имеет ацетилированные группы в положении О2 и О3 на маннуроновых остатках, что дает дополнительное преимущество в разработке биополимерных конструкций.

В настоящей работе был исследован биосинтез альгината бактериальным штаммом *Azotobacter agile 12*, а также его физико-химические свойства. Бактерии были выращены на жидкой среде Берка при трех различных уровнях аэрации: высокого, среднего и низкого уровня. Экзоальгинат, выделяемый бактериями *Az. agile 12* в среду, получали путем его осаждения из культуральной жидкости трехкратным объемом этанола. Капсулярный альгинат выделяли из клеточной биомассы

путем разрушения бактериальных капсул с помощью 1M раствора NaCl и 100 mM EDTA. Полученные результаты показали прямую связь между синтезом альгинатов (как экзоальгината, так и капсулярного альгината) и уровнем аэрации: чем выше концентрация молекулярного кислорода, тем больше бактерии продуцируют альгинатов. Были исследованы физико-химические свойства полученных альгинатов методами вискозиметрии, ИК-спектроскопии и реометрии. Максимальная молекулярная масса капсулярного альгината составила при среднем уровне аэрации 430 кДа, что в 2 раз больше по сравнению с другими вариантами опытов (макс. аэрация – 272 кДа, мин. аэрация - 208), молекулярная масса экзоальгинатов при всех уровнях аэрации была в диапазоне 100 кДа. Методом ИК-спектроскопии было определено соотношение маннуроновых к гулуруновым остаткам, составивших во всех вариантах опытов 70:30. Уровень ацетилирования полимеров не превышал 11.5%. Методом реометрии показано, что капсулярный альгинат формирует более жесткие гидрогели по сравнению с экзоальгинатом. Это может быть связано с тем, что молекулярная масса капсулярного альгината значительно выше экзоальгината. Данная особенность в биосинтезе *Az. agile 12* альгинатов, формирующих гидрогели разной плотности, может быть важна при создании различных биоинженерных конструкций для различных биомедицинских задач. Данная работа была поддержана Российским Научным Фондом, проект № 17-74-20104.