МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Некоммерческое акционерное общество «Казахский национальный исследовательский технический университет имени К.И.Сатпаева»

Институт геологии и нефтегазового дела имени К.Турысова

Кафедра Химической и биохимической инженерии

Айжарықова Нұржауған Мәлікқызы

Оценка антибактериальной активности экстрактов цианобактерий, выделенных из горячих источников Алматинской области

ДИПЛОМНАЯ РАБОТА

6В05101 – Химическая и биохимическая инженерия

Алматы 2025

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Некоммерческое акционерное общество «Казахский национальный исследовательский технический университет имени К.И.Сатпаева»

Институт Геологии и нефтегазового дела имени К.Турысова

Кафедра Химической и биохимической инженерии

ДОПУЩЕН К ЗАЩИТЕ
Заведующий кафедрой Химической и биохимической инженерии
К.Х.н., ассоц. профессор
_____Мангазбаева Р.А.
«17» июня 2025 г.

ДИПЛОМНАЯ РАБОТА

На тему: «Оценка антибактериальной активности экстрактов цианобактерий, выделенных из горячих источников Алматинской области»

6В05101 – Химическая и биохимическая инженерия

Выполнила Айжарыкова Н.М.

Рецензент
К.б.н., доцент кафедры
Биотехнологии
КазНУ имени аль-Фараби
_____Акмуханова Н.Р.
«30» 05 2025г.

Научный руководитель
PhD, преподаватель кафедры
Химической и биохимической
инженерии
_____ Сандыбаева С.К.
«30» 05 2025г.

Алматы 2025 г.

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Некоммерческое акционерное общество «Казахский национальный исследовательский технический университет имени К.И. Сатпаева»

Институт Геологии и нефтегазового дела им. К. Турысова

Кафедра Химическая и биохимическая инженерия

6B05101 – Химическая и биохимическая инженерия

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой Химической и биохимической инженерии
К.х.н., ассоц. профессор
Мангазбаева Р.А.
«12» июня 2025 г.

ЗАДАНИЕ
на выполнение дипломной работы

Обучающейся: Айжарыкова Нұржауған Мәліккызы
Тема: «Оценка антибактериальной активности экстрактов цианобактерий, выделенных из горячих источников Алматинской области».
Утверждена приказом проректора по академической работе №26-П/Ө от «29» января 2025 г.
Срок сдачи законченной работы: «30» мая 2025 г.
Исходные данные к дипломной работе: Штамм цианобактерии *Oscillatoria subbrevis*, изолированный из термальных источников Чунджи (Алматинская область, Казахстан). Методы: лабораторные исследования, молекулярное моделирование (*in silico*), биохимический анализ.
Краткое содержание дипломной работы:
а) Выделение и изучение морфологических свойств аксеничной культуры *Oscillatoria subbrevis*.
б) Определение оптимальных условий культивирования и биохимического состава биомассы.
в) Оценка антибактериальной активности экстрактов цианобактерий *in vitro* и *in silico*.
Рекомендуемая основная литература из 72 наименований

ГРАФИК

подготовки дипломной работы

Наименование разделов, перечень разрабатываемых вопросов	Сроки представления научному руководителю	Примечение
Литературный обзор	17.02.2025	Выполнено
Методика исследования	03.03.2025	Выполнено
Результаты исследования	28.04.2025	Выполнено
Заключение	28.04.2025	Выполнено

Подписи

Консультантов и норм контроллера на законченную дипломную работу с указанием относящихся к ним разделов работы

Наименование разделов	**Консультанты, И.О.Ф. (уч. Степень, звание)**	**Дата подписания**	**Подпись**
Литературный обзор	PhD, преподаватель кафедры Химической и биохимической инженерии Сандыбаева С.Қ.	17.02.25	
Материалы и методы исследования	PhD, преподаватель кафедры Химической и биохимической инженерии Сандыбаева С.Қ.	03.03.25	
Получение эксперментальных данных	PhD, преподаватель кафедры Химической и биохимической инженерии Сандыбаева С.Қ.	28.04.25	

Научный ркуоводитель _____ Сандыбваева С.Қ.

Задание приняла к исполнению обучающаяся _____ Айжарықова Н.М.

Дата «12» июня 2025 г.

АННОТАЦИЯ

Тема работы: «Оценка антибактериальной активности экстрактов цианобактерий, выделенных из горячих источников Алматинской области».

Объём работы: 39 страниц, включая 16 рисунков и обзор литературы, выполненный на основе анализа 72 источников, включая научные статьи, монографии и методические руководства.

Цель исследования: Оценка антибактериальных свойств экстракта цианобактерии *Oscillatoria subbrevis*, выделенной из горячих источников Алматинской области, с применением лабораторных методов и молекулярного моделирования (*in silico*).

Объект исследования: Штамм цианобактерии *Oscillatoria subbrevis*, изолированный из термальных источников Чунджи (Алматинская область, Казахстан).

Предмет исследования: Антибактериальная активность экстракта цианобактерии, их биохимический состав и взаимодействие с бактериальными мишенями.

Основные результаты:

1. Выделена аксеничная культура *Oscillatoria subbrevis* и изучены её морфологические и культуральные свойства.
2. Определены оптимальные условия культивирования: температура 32°C, pH 7.0, освещённость 50 мкмоль/м²·с.
3. Проведён биохимический анализ биомассы, выявивший высокое содержание фикобилипротеинов (C-фикоэритрина, C-фикоцианина) и белков.
4. Методом молекулярного докинга установлено, что C-фикоэритрин и β-каротин проявляют высокую аффинность к бактериальным ферментам (β-лактамазам и ДНК-гиразам).
5. *In vitro* тестирование подтвердило антибактериальную активность экстракта против грамотрицательных (*Escherichia coli*, *Proteus spp.*) и грамположительных (*Sarcina spp.*) бактерий.

Практическая значимость: Полученные результаты могут быть использованы для разработки новых природных антибактериальных препаратов, а также для расширения знаний о биоразнообразии и метаболическом потенциале термофильных цианобактерий.

Ключевые слова: цианобактерии, *Oscillatoria subbrevis*, горячие источники, антибактериальная активность, фикобилипротеины, молекулярный докинг, *in silico* анализ, термофильные микроорганизмы.

АҢДАТПА

Жұмыс тақырыбы: «Алматы облысындағы ыстық көздерден бөлінген цианобактериялардың экстракттарының антибактериялық белсенділігін бағалау»

Жұмыс көлемі: 39 бет, оның ішінде 16 сурет және 72 дереккөзге (ғылыми мақалалар, монографиялар және әдістемелік нұсқаулықтар) негізделген әдебиеттерге шолу.

Зерттеу мақсаты: Алматы облысындағы ыстық көздерден бөлінген *Oscillatoria subbrevis* цианобактериясының экстрактының антибактериялық қасиеттерін зертханалық әдістер мен молекулалық модельдеу (*in silico*) арқылы бағалау.

Зерттеу объектісі: Алматы облысы, Қазақстан, Шонжы термалды көздерінен бөлінген *Oscillatoria subbrevis* цианобактерия штамы.

Зерттеу пәні: Цианобактерия экстрактының антибактериялық белсенділігі, олардың биохимиялық құрамы және бактериялық нысаналармен өзара әрекеттесуі.

Негізгі нәтижелер:

1. *Oscillatoria subbrevis* аксендік дақылдары бөлініп алынды, оның морфологиялық және дақылды қасиеттері зерттелді.
2. Өсірудің оңтайлы шарттары анықталды: температура 32°C, pH 7.0, жарықтандыру 50 мкмоль/м²·с.
3. Биомассаға биохимиялық талдау жүргізіліп, фикобилипротеиндердің (фикоэритрин, фикоцианин) және ақуыздардың жоғары мөлшері анықталды.
4. Молекулалық докинг әдісі арқылы фикоэритрин мен β-каротиннің бактериялық ферменттерге (β-лактамазалар мен ДНҚ-гиразалар) жоғары аффиндігі бар екені анықталды.
5. *In vitro* тестілеу экстракттың грамтеріс (*Escherichia coli, Proteus spp.*) және грамоң (*Sarcina spp*.) бактерияларға қарсы антибактериялық белсенділігін растады.

Практикалық маңыздылығы: Алынған нәтижелер табиғи антибактериялық препараттардың жаңа түрлерін әзірлеу үшін және термофильді цианобактериялардың биоалуантүрлілігі мен метаболикалық әлеуеті туралы білімді кеңейту үшін пайдаланылуы мүмкін.

Түйінді сөздер: цианобактериялар, *Oscillatoria subbrevis*, ыстық көздер, антибактериялық белсенділік, фикобилипротеиндер, молекулалық докинг, *in silico* талдау, термофильді микроағзалар.

ANNOTATION

Title of the work: «Assessment of the antibacterial activity of a cyanobacterial extract isolated from hot springs of the Almaty region»

Volume: 39 pages, including 16 figures and a literature review based on the analysis of 72 sources, including scientific articles, monographs, and methodological manuals.

Research objective: To evaluate the antibacterial properties of an extract from the cyanobacterium *Oscillatoria subbrevis*, isolated from hot springs of the Almaty region, using laboratory techniques and molecular modeling (*in silico*).

Research object: The *Oscillatoria subbrevis* strain isolated from the thermal springs of Chundzha (Almaty region, Kazakhstan).

Subject of the study: The antibacterial activity of a cyanobacterial extract, its biochemical composition, and interaction with bacterial targets.

Main results:

1. An axenic culture of *Oscillatoria subbrevis* was obtained, and its morphological and cultural characteristics were studied.
2. Optimal cultivation conditions were determined: temperature of 32°C, pH 7.0, and light intensity of 50 μmol/m²·s.
3. Biochemical analysis of the biomass revealed a high content of phycobiliproteins (C-phycoerythrin, C-phycocyanin) and proteins.
4. Molecular docking showed that C-phycoerythrin and β-carotene exhibit high affinity to bacterial enzymes (β-lactamases and DNA gyrases).
5. *In vitro* testing confirmed the antibacterial activity of the extract against Gram-negative (*Escherichia coli, Proteus spp.*) and Gram-positive (*Sarcina spp.*) bacteria.

Practical significance: The results can be used for the development of new natural antibacterial agents and to expand knowledge about the biodiversity and metabolic potential of thermophilic cyanobacteria.

Keywords: cyanobacteria, *Oscillatoria subbrevis*, hot springs, antibacterial activity, phycobiliproteins, molecular docking, in silico analysis, thermophilic microorganisms.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 10
1. Литературный обзор 12
1.1 Эволюционное и биологическое значение цианобактерий. Структурные особенности: клеточная стенка, фотосинтетические пигменты, вторичные метаболиты. 12
1.2 Экологические ниши и адаптация к экстремальным условиям. Горячие источники в Алматинской области 13
1.3 Применение цианобактерий в промышленности, пищевой и фармацевтических отраслях 14
1.3.1 Промышленное применение 14
1.3.2 Применение в пищевой промышленности 16
1.3.3 Фармацевтическое применение 17
1.4 Антибактериальные свойства цианобактерий 19
1.4.1 Поликетиды 20
1.4.2 Пептиды 20
1.4.3 Алкалоиды 21
1.4.4 Липиды 22
1.4.5 Пигменты 22
1.4.6 Наночастицы 23
1.5 Потенциал воздействия на quorum sensing 24
1.6 In silico-анализ биологически активных соединений цианобактерий и микроводорослей 25
2. Материалы и методы исследования 27
2.1 Объект исследования 27
2.2 Определение видового состава альгофлоры 27
2.3 Изоляция фотосинтезирующих микроорганизмов из естественных местообитаний и создание их аксеничных культур 28
2.4 Методы изоляции и поддержания чистых культур микроводорослей и цианобактерий 28
2.5 Изучение морфологических свойств культур цианобактерий 29
2.6 Методика культивирования цианобактерий в лабораторных условиях 29
2.7 Методы определения скорости роста и сухой биомассы цианобактерий 29

2.8 Определение общего содержания белка, липидов и пигментов в клетках микроводорослей и цианобактери 30
2.9 Экстракция биоактичных веществ цианобактерии 31
2.10 Оценка антибактериальной активности 32
2.11 In silico-анализ 32
3. Результаты и обсуждение 34
3.1 Выделение аксеничной культуры цианобактерии из горячих источников Алматинской области 34
3.2 Определение культурально-морфологических свойств выделенной культуры цианобактерии 35
3.3 Определение условий культивирования выделенной культуры цианобактерии 36
3.4 Определение продуктивности и сбор сухой биомассы выделенной культуры цианобактерии 38
3.5 Проведение докинг-анализа предполагаемых метаболитов с бактериальными мишенями методом *in silico* 40
3.6 Оценка антибактериальной активности экстрактов цианобактерии *in vitro* методом дисков с пропиткой и измерением зон ингибирования роста патогенных штаммов 42
ЗАКЛЮЧЕНИЕ 45
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ 47

ВВЕДЕНИЕ

Цианобактерии, являющиеся древнейшими фототрофными прокариотами с историей эволюции свыше 3,5 млрд лет [1], демонстрируют уникальную экологическую пластичность, позволяющую им колонизировать разнообразные среды обитания - от пресноводных экосистем до экстремальных гидротермальных источников. Особый научный интерес представляют термофильные штаммы, продуцирующие широкий спектр биологически активных метаболитов с выраженной антимикробной, противовирусной и антимикотической активностью [3,5].

Метаболический потенциал цианобактерий обусловлен наличием специализированных биосинтетических систем, включающих поликетидсинтазы и нерибосомные пептидсинтазы, что обеспечивает продукцию высокоактивных липопептидов, алкалоидов и поликетидов [6]. Многочисленные исследования подтверждают способность цианобактериальных экстрактов подавлять рост клинически значимых микроорганизмов, включая *Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Escherichia coli и Klebsiella pneumoniae* [9,31].

Термофильные цианобактерии, такие как представители родов *Oscillatoria, Phormidium* и *Nostoc*, выделенные из гидротермальных источников Алматинской области, представляют особую ценность благодаря способности синтезировать термостабильные антимикробные соединения [7,8]. Горячие источники Чунджи (Уйгурский район) являются уникальной экосистемой для изучения биоразнообразия термофильных цианобактерий.

В условиях глобального распространения антибиотикорезистентности [30] поиск новых антимикробных агентов среди природных источников приобретает особую актуальность. Современные исследования сочетают традиционные микробиологические методы с компьютерным моделированием (молекулярный докинг, молекулярная динамика), что позволяет эффективно идентифицировать перспективные соединения [49-51]. Особый интерес представляют метаболиты цианобактерий как потенциальные ингибиторы β-лактамаз - ключевых факторов бактериальной резистентности [49].

Изучение антимикробных свойств штамма *Oscillatoria subbrevis* из гидротермальных источников Алматинской области с применением комплексного подхода, включающего биологические тесты и компьютерное моделирование, открывает новые перспективы для разработки инновационных противомикробных препаратов.

Актульность исследования: На фоне глобального распространения антибиотикорезистентности, спровоцированной избыточным и нерегулируемым применением антибиотиков, поиск альтернативных антимикробных агентов стал первостепенным направлением современной биомедицины. Резистентность патогенных микрооргнанизмов к широкому спектру антибиотиков заметно снижает эффективность традиционного лечения инфекций. В связи с этим природные источники биоактивных

веществ, в том числе цивнобактерии, рассматривются как многообещющие претенденты для разработки новых антимикробных препаратов.

Цель исследования: Оценить антибактериальные свойства экстрактов цианобактерии *Oscillatoria subbrevis*, выделенной из горячих источников Алматинской области, с использованием лабораторных методов и молекулярного моделирования (*in silico*)

Задачи исследования:

1. Выделение аксеничной культуры цианобактерии из горячих источников Алматинской области
2. Определение культурально-морфологических свойств выделенной культуры цианобактерии
3. Определение условий культивирования выделенной культуры цианобактерии
4. Определение продуктивности и сбор сухой биомассы выделенной культуры цианобактерии
5. Проведение докинг-анализа предполагаемых метаболитов с бактериальными мишенями методом *in silico*
6. Оценка антибактериальной активности экстрактов цианобактерии *in vitro* методом дисков с пропиткой и измерением зон ингибирования роста патогенных штаммов.

Научная новизна: Впервые изучен штамм *Oscillatoria subbrevis,* обнаруженный в горячих источниках Алматинской области, как возможный источник антибактериальных веществ. Использование методов молекулярного докинга позволяет заранее выявить наиболее перспективные соединения, еще до лабораторных испытаний, что делает исследование не только эффективным, но и новаторским.

Практическая значимость: Полученные результаты могут быть использованы в дальнейшем для разработки новых природных антибактериальных препаратов. Работа также расширяет представление о биоразнообразии и метаболическом потенциале цианобактерий, обитающих в геотермальных источниках Казахстана

1. Литературный обзор

1.1 Эволюционное и биологическое значение цианобактерий. Структурные особенности: клеточная стенка, фотосинтетические пигменты, вторичные метаболиты.

Цианобактерии (сине-зелёные водоросли) - это древняя и морфологически разнообразная группа прокариотических фотоавтотрофных микроорганизмов, свидетельства существования которых находят еще с архейного эона, датируемого периодом 3,3-3,5 млрд лет назад [1]. Морфологическое разнообразие этой группы включает одноклеточные, нитчатые и колониальные формы, часто окруженные слизистыми капсулами [2]. Эти организмы демонстрируют исключительную экологическую пластичность, населяя разнообразные биотопы - от пресных и морских водоемов до наземных экосистем, включая экстремальные местообитания с высокой температурой и минерализацией.

Экстремальные среды в которых проявляются их уникальная способность выживать и адаптироваться, влияют на разнообразие и структуру сообществ цианобактерий, где такие факторы, как температура, pH и минеральный состав, играют ключевую роль в формировании микробных сообществ. И потому, исследования направленные на выделение термотолерантных штаммов цианобактерий из горячих источников подтверждает их биотехнологический потенциал. На данный момент, исследования с применением амплификации 16S рРНК и фенотипической характеристики выявили обширное разнообразие цианобактерий в термальных источниках, включая 45 родов и 19 таксонов с потенциальной биотехнологической ценностью [3]. Для сравнения: общее количество описанных видов микроводорослей, по данным AlgaeBase, превышает 50 000 [4].

Одним из ключевых факторов адаптации цианобактерий в усслoвиях высоких температур (гидротермальных источников) считается синтез широкого спектра вторичных метаболитов - молекул с уникальным составом и специализированными функциями. Эти соединения участвуют в процессах химической защиты, сигнализации (включая восприятие кворума) и зачастую проявляют противовирусные, антибактериальные, противогрибковые и гербицидные свойства. Подобная метаболическая активность открывает перспективы для использования цианобактерий и их производных в здравоохранении, сельском хозяйстве и промышленности [3, 5].

В последнее время особенно возрос интерес к способности цианобактерий производить химические вещества, которые являются как фармакологически активными, так и важными для промышленности. Их метаболическое разнообразие, обеспеченное сложными биосинтетическими путями, такими как поликетидсинтазы (ПКС) и нерибосомные пептидсинтетазы (НРПС), позволяют синтезировать широкий спектр вторичных метаболитов, включая липопептиды, поликетиды, алкалоиды и фенольные соединения, которые демонстрируют мощные антимикробные,

антиоксидантные и противовоспалительные свойства [6]. Например, метаболиты видов *Oscillatoria, Phormidium* и *Nostoc,* выделенных из горячих источников Алматинской области, обладают термостабильными характеристиками и высоким биотехнологическим потенциалом [7]. С точки зрения фармакологии, вторичные метаболиты цианобактерий действуют на различных уровнях: они могут ингибировать синтез клеточной стенки бактерий, нарушать процессы внутриклеточной сигнализации и вызывать апоптоз патогенных клеток. Интерес представляют также механизмы ингибирования кворум-сенсинга у грамположительных и грамотрицательных бактерий, что открывает новые перспективы в борьбе с устойчивыми к антибиотикам штаммами, такими как *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa.*

1.2 Экологические ниши и адаптация к экстремальным условиям. Горячие источники в Алматинской области

Горячие источники - это геотермальные системы, где нагретые подземные воды выходят на поверхность, формируя среды с экстремальными условиями (высокая температура, переменный pH, минерализация), которые поддерживают уникальные микробные сообщества, такие как цианобактерии [8]. Горячие источники Алматинской области являются уникальным природным резервуаром для изучения термофильных цианобактерий, способных вырабатывать биоактивные соединения. Микробные сообщества этих сред содержат множество биоактивных соединений, которые могут быть использованы в фармацевтике, а изучение их метаболических путей могут привести к открытию новых антимикробных агентов. Как цели исследования в данном направлении, термофильные цианобактерии уже преуспели показав себя в роли источника с многообещающими антибактериальными свойствами, что могут помочь в решении проблемы устойчивости к антибиотикам в клинической практике [9]. Поэтому исследования горячих источников на территории Казахстана предоставляют ценную информацию для понимания эволюции микроорганизмов и открывают перспективы для поиска новых биологически активных соединений.

Среди ограниченного круга микроорганизмов, способных развиваться в условиях гидротермальных источников, цианобактерии занимают особое положение. Эти организмы формируют характерные пигментированные микробные маты, отличающиеся выраженной слоистой структурой в водоемах с нейтральной и щелочной реакцией среды. Данные биопленки выполняют важные экологические функции, создавая уникальные микробиотопы для разнообразных микроорганизмов. Исследования гидротермальных систем в различных регионах мира выявили специфические цианобактериальные сообщества. В источниках Бакресвара (Западная Бенгалия, Индия) доминируют представители родов *Synechococcus* (*S. bigranulatus*), *Gloeocapsa* (*G. gelatinosa*) и *Fischerella* (*F. thermalis*). Анализ термальных водоемов провинции Юньнань (Китай) показал, что максимальное видовое богатство

цианобактерий наблюдается в зоне умеренных температур (45-65°C), а не в наиболее нагретых участках. Формирование этих специфических сообществ определяется комплексом абиотических факторов, включая температурный режим, кислотность среды (pH), минеральный состав вод, гидродинамические характеристики. Полученные данные подчеркивают ключевую роль цианобактерий как первичных продуцентов в экстремальных гидротермальных экосистемах и их значение для поддержания микробного разнообразия в этих уникальных биотопах [3, 10].

Горячие источники в Алматинской области Казахстана служат важными экосистемами для изучения различных микробных сообществ, в частности цианобактерий. Эти термальные и минеральные источники характерезуются высокими температурами и уникальным химическим составом, что делает их подходящей средой для термофильных организмов. Цианобактерии, известные своей способностью осуществлять кислородный фотосинтез, процветают в этих экстрмальных условиях и вносят значительный вклад в местное биоразнообразие. Их уникальная способность к фотосинтезу при экстремальных температурах обусловлена специфическим липидным составом клеточных мембран и синтезом термозащитных белков, таких как HSP (heat shock proteins).

Район Чунджи в Алматинской области является одной из самых перспективных зон для изучения термофильных цианобактерий. Здесь насчитывается более 140 горячих источников с температурами воды от 30 °C до 98 °C и pH в пределах 7-9.

В результате исследований, проведённых на базе Казахского национального университета им. Аль-Фараби, было выделено 8 аксеничных культур цианобактерий, включая *Oscillatoria subbrevis, Nostoc commune* и *Spirulina fusiformis*. Эти виды продемонстрировали высокую адаптивность и значительный биотехнологический потенциал, особенно в области синтеза термостабильных ферментов и пигментов [7].

1.3 Применение цианобактерий в промышленности, пищевой и фармацевтических отраслях

Привлекательность цинабоактерий обусловлено их разнообразынм промышленным применением, в особенности их потенциалом в области биоремедиации, производстве биотплива и наноматериалов. Их метаболическое разнообразие и способность к адаптации делают их перспективными инструментами для устойчивого развития и экологических технологий.

1.3.1 Промышленное применение

Цианобактерии нашли широкое применение в экологических технологиях очистки окружающей среды, что привело к формированию специального направления - цианоремедиации. Основу этого процесса составляет комплекс физико-химических механизмов, включающий ионный

обмен, адсорбцию на поверхности клеток, образование поверхностных комплексов, осаждение металлов, хелатирование ионов. Способность цианобактерий к эффективному поглощению токсичных металлов обусловлена особенностями их клеточной стенки, содержащей реакционноспособные карбоксильные, сульфатные и фосфатные группы, формирующие устойчивые комплексы с катионами. Исследования *Synechocystis sp.* выявили максимальную сорбционную емкость по отношению к хрому (91%), что значительно превышает показатели для мышьяка (77%) и кадмия (57%). Аналогичные закономерности наблюдаются у *Anabaena variabilis*, демонстрирующей 78% связывание ионов кадмия и 54% - хрома, причем эффективность процесса зависит от специфики металл-лигандных взаимодействий, включая хелатирование и ионный обмен. Эти особенности позволяют рассматривать цианобактериальные системы как перспективную основу для разработки экологичных технологий детоксикации, не требующих значительных энергозатрат по сравнению с традиционными физико-химическими методами [11,12].

Помимо биосорбции, цианобактерии синтезируют внеклеточные полисахариды (ВПС), обладающие высокой анионной природой, что способствует связыванию металлов и повышает устойчивость микроорганизмов к токсическому воздействию [13, 14]. ВПС также играют важную роль в формировании биопленок, что повышает стабильность биоремедиационных процессов и улучшает долговременную эффективность металлоудаления. Например, консорциум A21, включающий *Cyanobium* и бактерии *Sphingopyxis*, способен трансформировать стероиды, такие как андростендион, в менее токсичные соединения, что подтверждает их потенциал для очистки сточных вод от эндокринных дизрапторов [15].

Еще одной перспективной областью применения цианобактерий является фикосинтетическая нанотехнология, основанная на их способности к биологическому синтезу наночастиц [16]. Металлические наночастицы, полученные с использованием фотосинтетических микроорганизмов, находят применение в медицине, биосенсинге, антимикробных покрытиях, катализе и доставке лекарств. Важными биологическими агентами синтеза наночастиц являются протеины, полисахариды, ферменты и липиды, выполняющие функцию восстановителей и стабилизаторов наноструктур. Биологический метод производства наноматериалов с участием цианобактерий снижает затраты и минимизирует образование токсичных побочных продуктов, обеспечивая экологически безопасный альтернативный подход [11].

Казахстанские исследования выявили высокую водородную продуктивность у местных штаммов цианобактерий: *Synechocystis sp.* S-1 (2.35 ммоль H_2/мг Chl a·ч) и *Anabaena variabilis* A-1 (8.67 ммоль H_2/мг Chl a·ч) [17]. Эффективность биогенного синтеза водорода существенно варьирует в зависимости от физико-химических параметров культивирования – оптимальные концентрации $NaHCO_3$ (50-200 mM) и HEPES-буфера (10-50 mM), а также поддержание pH в диапазоне 7.5-8.5 обеспечивают

максимальную активность гидрогеназ. Физиологическая особенность этих штаммов заключается в способности поддерживать стабильный фотосинтетический аппарат при одновременной активации ферментов водородного метаболизма. Полученные показатели продуктивности подтверждают техническую осуществимость создания биореакторов на основе цианобактерий для масштабированного производства экологичного топлива, хотя требуют дальнейшей оптимизации для достижения промышленно значимых уровней выхода водорода.

1.3.2 Применение в пищевой промышленности

Современные исследования подтверждают значительный потенциал цианобактерий, в частности представителей родов *Arthrospira* (коммерческое название "спирулина") и *Chlorella*, в качестве функциональных пищевых ингредиентов. Биохимический анализ *Arthrospira platensis* и *A. maxima* выявил уникальный нутриентный профиль: 60-70% белков с полным набором незаменимых аминокислот, 15-20% углеводов преимущественно в форме полисахаридов, 5-8% липидов, включая γ-линоленовую кислоту, а также комплекс фикобилипротеинов (2-10% от общего белка), хлорофилла и каротиноидов [18]. Однако технологические процессы, в частности термическая обработка, существенно влияют на сохранность биологически активных компонентов. Распылительная сушка при температурах 180-200°C на входе и 80-90°C на выходе приводит к 20% снижению содержания термолабильных витаминов группы B (с 275 до 216 мг/кг сухого вещества) и частичной денатурации фикоцианина - ключевого антиоксидантного пигмента [19]. Эти данные подчеркивают необходимость разработки щадящих методов переработки биомассы, позволяющих максимально сохранить ее нутриентную ценность при промышленном производстве пищевых добавок и специализированных кормов для аквакультуры.

Применение микроводорослей в пищевой промышленности демонстрирует значительный потенциал для обогащения продуктов питания, что подтверждается рядом исследований. Включение 2.5-5.0% *Spirulina* и *Chlorella vulgaris* в энергетические батончики повысило содержание белка и витамина B12, хотя и вызвало изменения органолептических свойств - Spirulina придала продукту темно-зеленый цвет и морской привкус, а Chlorella добавила умами-ноты [20]. При обогащении безглютенового хлеба микроводорослями (*Tetraselmis chuii, Chlorella vulgaris, Nannochloropsis gaditana*) после этанольной обработки наблюдалось увеличение содержания белка, минералов (особенно кальция - в 6 раз при использовании Tc) и антиоксидантной активности, при этом улучшились технологические характеристики: повышение объема на 12-27% и снижение твердости на 23-65% по сравнению с контрольным образцом [21]. Наиболее впечатляющие результаты показало добавление 12.5% *Spirulina* в пасту, что привело к увеличению содержания белка на 77.47%, железа - на 296.99%, кальция - на 57.27%, а также к 2-2.5-кратному росту уровня γ-линоленовой и

докозагексаеновой кислот, при этом продукт получил высокие оценки потребителей [22]. В животноводстве добавление 0.5% *Spirulina platensis* в корм бройлеров улучшило показатели роста, антиоксидантный статус и состояние желудочно-кишечного тракта [18]. Применение 0.5-1% *Spirulina platensis* в йогуртах повысило их антиоксидантную активность на 20-30% и улучшило пребиотические свойства, хотя более высокие концентрации (>2%) негативно влияли на текстуру [23]. Эти данные свидетельствуют, что микроводоросли и цианобактерии представляют собой ценные ингредиенты для создания функциональных продуктов питания, однако требуют тщательного подбора концентраций и методов обработки для оптимизации их технологических и органолептических характеристик.

1.3.3 Фармацевтическое применение

Цианобактерии, благодаря уникальной организации своих биосинтетических систем, продуцируют широкий спектр вторичных метаболитов с доказанной фармакологической активностью. Таксономический анализ показывает неравномерное распределение биоактивных соединений среди различных порядков: Oscillatoriales (49%), Nostocales (26%), Chroococcales (16%), Pleurocapsales (6%) и Stigonematales (4%) [24]. Особый интерес представляет способность этих микроорганизмов комбинировать системы нерибосомного синтеза пептидов с поликетидсинтазными комплексами, что позволяет им продуцировать структурно разнообразные соединения, включая циклические алкалоиды, липопептиды, депсипептиды и их гибридные формы. Фармакологический профиль этих соединений охватывает противоопухолевую, антимикробную (бактерии, грибы), противовирусную и иммуномодулирующую активность, что делает цианобактерии перспективным источником для разработки новых терапевтических средств [25]. Наибольший потенциал демонстрируют представители порядка Oscillatoriales, чьи метаболиты отличаются особой структурной сложностью и выраженной биологической активностью.

Среди противоопухолевых соединений, выделенных из цианобактерий, особый интерес представляют криптофицины, курацин А и симплостатин 1. Криптофицины представляют собой циклические депсипептиды, способные ингибировать динамику микротрубочек и индуцировать апоптоз опухолевых клеток. Курацин А, выделенный из *Lyngbya majuscula*, препятствует полимеризации микротрубочек, вызывая остановку клеточного цикла и гибель клеток различных типов рака, включая рак груди, колоректальный рак и рак почек. Симплостатин 1, аналог доластатина 10, индуцирует апоптоз опухолевых клеток посредством фосфорилирования белка Bcl-2 и активации каспазы-3 [26]. Среди перспективных подходов к использованию цианобактерий в онкологии также выделяется биосинтез наночастиц золота (AuNPs). В частности, штамм *Phormidium commune*, используется для биогенного синтеза золотых наночастиц, обладающих высокой стабильностью и биосовместимостью. Эти наночастицы демонстрируют значительную

противоопухолевую активность, вызывая апоптоз раковых клеток за счет индукции образования активных форм кислорода (ROS), нарушения мембранного потенциала митохондрий, фрагментации ДНК и экспрессии каспазы-3. Кроме того, отмечено увеличение экспрессии проапоптотического белка Bax и снижение уровня антиапоптотического белка Bcl-2, что усиливает программируемую гибель опухолевых клеток [27].

Антимикробная активность цианобактерий также представляет большой интерес для современной медицины. Метаболиты, такие как питиопептолиды из *Lyngbya majuscula*, карбамидоциклофаны из *Nostoc sp.* и носком ин из *Nostoc commune*, обладают выраженной активностью против патогенных бактерий, включая антибиотикоустойчивые штаммы. Эти соединения открывают новые возможности в борьбе с устойчивостью к антибиотикам и могут стать основой для разработки новых антибактериальных препаратов. Некоторые цианобактериальные соединения проявляют мощное противогрибковое и противовирусное действие. Гассаллидины, выделенные из *Hassallia sp.* и *Anabaena sp.*, эффективны против *Candida albicans* и *Aspergillus flavus*, тогда как скаитовирин из *Scytonema varium* ингибирует репликацию вирусов, включая ВИЧ и вирус Эбола. Соединения, такие как Са-спирулин из *Spirulina platensis*, демонстрируют способность подавлять активность герпесвирусов, вирусов кори, гриппа и ВИЧ, что делает цианобактерии перспективным объектом для разработки новых противовирусных препаратов [28].

В последнее время активно изучаются возможности использования цианобактерий в терапии нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера. Морские цианобактерии, в частности *Synechococcus sp. XM-24*, содержат биоактивные соединения, способные взаимодействовать с ключевыми мишенями, связанными с патогенезом этого заболевания. К таким мишеням относятся рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGFA) и митоген-активируемая протеинкиназа 3 (MAPK3). Выявлено, что *E*-октадец-11-еновая кислота и капроновая кислота изопропилового эфира могут оказывать нейропротекторное действие, взаимодействуя с данными мишенями. Методы молекулярного докинга и молекулярной динамики подтвердили высокую стабильность их взаимодействий, что свидетельствует о потенциальной эффективности цианобактериальных соединений в лечении нейродегенеративных заболеваний [29].

Таким образом, цианобактерии являются богатым источником природных соединений с высоким фармакологическим потенциалом. Их метаболиты уже применяются в клинической практике или находятся на стадии испытаний. Новейшие исследования демонстрируют их перспективность не только в онкологии, но и в терапии нейродегенеративных заболеваний. Дальнейшие исследования в области биотехнологии и генной инженерии позволят раскрыть новые терапевтические возможности этих

микроорганизмов и способствовать созданию инновационных лекарственных средств.

1.4 Антибактериальные свойства цианобактерий

Рост бактериальной устойчивости к антибиотикам (антимикробная резистентность, AMR), признанной «тихой пандемией», представляет одну из самых серьёзных угроз для общественного здравоохранения. Если не предпринимать срочных мер, в ближайшие годы ситуация может стать крайне опасной, поэтому необходимо сдерживать распространение резистентных штаммов и открывать новые препараты [30]. В этом контексте цианобактерии рассматривают как перспективный источник инновационных антибактериальных соединений благодаря широкому спектру соединений - алкалоидов, терпенов, поликетидов, липидов и пептидов. Их экстракты эффективны против грамположительных и грамотрицательных бактерий, включая патогенные штаммы *Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Escherichia coli и Klebsiella pneumoniae.*

Многочисленные научные работы указывают на значительную антибактериальную силу цианобактерий, особенно тех, что адаптированы к сложным природным средам. Например, виды *Phormidium*, полученные из горячих источников в Омане, проявили наибольшую активность среди девяти протестированных штаммов при экстракции бутанолом [5]. Их экстракты эффективно подавили рост как грамположительных (*Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis*), так и грамотрицательных бактерий (*Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae* и др.), при этом выбор растворителя существенно влиял на эффективность. В другом эксперименте, проведенном на штаммах из горячих источниках Бандар-Аббаса (Иран) [31], было выделено 21 вид цианобактерий, среди которых *Oscillatoria subbrevis, Synechocystis aquatilis* и *Synechococcus cerdorum* проявили выраженную антибактериальную активность: их метанольные экстракты эффективно ингибировали рост *Bacillus subtilis* и *Escherichia coli*. Почвенный вид *Phormidium fragile*, выделенный в Индии, создал зону подавления роста в 20 мм против *Bacillus subtilis* [32], что свидетельствует о его мощном ингибирующем действии. Перспективные результаты также были получены при исследовании нитчатых цианобактерий из солоноватых вод озера Чилика: *Oscillatoria sancta* продемонстрировала наибольшую антибактериальную активность по сравнению с *O. proteus*, а также высокий уровень антиоксидантной и ферментативной активности. [33]. Эти результаты подтверждают перспективность цианобактерий как источника природных антибиотиков и подчеркивают важность дальнейших исследований, направленных на выявление активных веществ и понимание принципов их работы.

Как было выявлено в недавних исследованиях, антибактериальные метаболиты цианобактерий могут оказывать свое действие посредством нескольких ключевых механизмов: подавление кворум-сенсинга, которое играет существенную роль в вирулентности и образовании биоплёнок;

разрушение структуры клеточной мембраны; нарушение функционирования метаболических процессов бактерий; и ингибирование синтеза ДНК, РНК и белков внутри бактериальной клетки. Следовательно, изучение антибактериальных свойств цианобактерий и их производных метаболитов имеет существенный практический вес для создания новых инструментов в борьбе с резистентными патогенами [34].

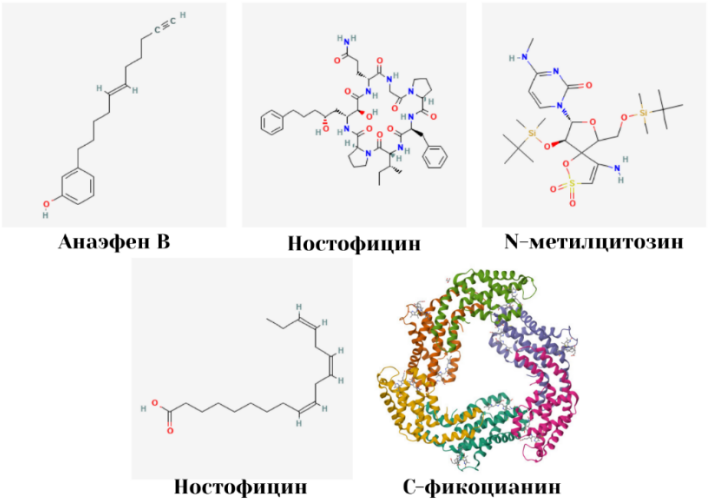


Рисунок 1 – Химическая структура некоторых антибактериальных соединений, продуцируемых цианобактериями

1.4.1 Поликетиды

Поликетиды представляют собой обширный класс природных соединений, синтезируемых широким спектром организмов - от микроорганизмов до высших растений и морских беспозвоночных. Биосинтез этих соединений осуществляется поликетидсинтазами – мультиферментными комплексами, катализирующими образование структурно разнообразных молекул из простых предшественников. Цианобактерии продуцируют уникальные поликетидные соединения, включая анаэфены, цилиндрофридины, ностоциклин А, а также различные циклические производные (карбамидоциклофаны и цилиндроциклофаны). Особого внимания заслуживают недавно идентифицированные в морских цианобактериях *Hormoscilla* (штамм VPG 16-59) алкилфенольные соединения - анаэфены А-С. Среди них анаефен В проявил заметную антибактериальную активность против грамположительных микроорганизмов *Bacillus cereus* и *Staphylococcus aureus*, демонстрируя минимальную ингибирующую концентрацию 6,1 мкг/мл. Эти данные подтверждают значительный потенциал цианобактериальных метаболитов как источника новых антимикробных агентов [36].

1.4.2 Пептиды

Циклические пептиды представляют собой значимую группу вторичных метаболитов, продуцируемых цианобактериями, которые подразделяются на

два основных класса: рибосомно синтезированные и посттрансляционно модифицированные пептиды (ПТМП), а также нерибосомные пептиды (НРП), образующиеся при участии специализированных пептидных синтетаз. Среди ПТМП особое место занимают цианобактины, отличающиеся наличием характерных макроциклических структур. Цианобактерии продуцируют широкий спектр циклических пептидов с выраженной биологической активностью, включая АК-3, калофицин, гормотамнин А, лобоцикламид В, ностоцикламид и толибиссидины А и В. Особый интерес представляет ностофицин - уникальный циклический пептид, выделенный из *Nostoc calcicola* (штамм MK506349). Его структура включает необычную комбинацию аминокислотных остатков: глицин, D-глутамин, L-фенилаланин, D-изолейцин, L-пролин и новый, ранее не описанный аминокислотный компонент Ahoa, что существенно отличает его от известных микроцистинов. Фармакологическая оценка ностофицина выявила его выраженную антимикробную активность в отношении широкого спектра микроорганизмов, включая грамотрицательные (*Escherichia coli*) и грамположительные (*Staphylococcus aureus*) бактерии, а также грибковые патогены (*Candida albicans* и *Aspergillus niger*). Наибольшая эффективность соединения отмечена в отношении грибковых культур (МИК 9-52 мкг/мл), тогда как антибактериальная активность находилась в диапазоне умеренных значений (МИК 18-52 мкг/мл). Эти характеристики, в сочетании с уникальной структурной организацией, делают ностофицин перспективным объектом для дальнейших исследований в области разработки новых противомикробных препаратов и направленного дизайна биологически активных соединений [37].

1.4.3 Алкалоиды

Цианобактерии продуцируют разнообразные алкалоиды - азотсодержащие вторичные метаболиты, среди которых особый интерес представляют производные индола с полициклической структурой, демонстрирующие выраженную антимикробную активность. Ярким примером служит N-метилцитизин, выделенный из *Hapalosiphon aureus* и охарактеризованный комплексом физико-химических методов (ТСХ, УФ-, ИК-спектроскопия, ЯМР ^{1}H-анализ) [38]. Данное соединение проявляет дозозависимую биологическую активность: при концентрации 150 мкг/мл оно подавляет рост бактериальных культур (*E. coli, S. aureus*) на 33.3%, тогда как противогрибковый эффект (в отношении *A. fumigatus* и *C. albicans*) достигает аналогичного уровня уже при 50 мкг/мл. Важно отметить, что даже при 18-часовой экспозиции N-метилцитизин не проявляет цитотоксичности и гемолитической активности в отношении человеческих эритроцитов. Механизм антимикробного действия этих соединений, как установлено, включает ингибирование бактериальной РНК-полимеразы и нарушение топологии ДНК [35], что в сочетании с возможностью контролируемого культивирования цианобактерий открывает перспективы для разработки новых антиинфекционных препаратов на их основе.

1.4.4 Липиды

Липиды цианобактерий классифицируются на свободные жирные кислоты, глико-глицеролипиды и фосфолипиды, каждая группа из которых обладает специфическими биологическими активностями. Их роль как перспективных антимикробных агентов приобретает особую актуальность в условиях глобального роста устойчивости патогенов к традиционным антибиотикам. Свободные жирные кислоты, такие как α-линоленовая кислота (АЛК) и гексадека-тетраеновая кислота (ГДТК), продемонстрировали значительное антибактериальное действие против грамположительных бактерий, таких как *Staphylococcus aureus*. Механизм их действия связан с нарушением целостности мембран бактериальных клеток, что приводит к снижению поглощения питательных веществ и нарушению клеточного дыхания [35]. К примеру, гамма-линоленовая кислота (ГЛК), фармацевтически значимая жирная кислота, была выделена из антарктического цианобактерия *Nostoc CCC537* и продемонстрировала антибактериальную активность против *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhi, Escherichia coli* и *Enterobacter aerogenes*. Выяснилось, что производство ГЛК в цианобактерии регулируется изменениями уровня фосфатов и нитратов, а также температурой роста. В ходе исследования, увеличение концентрации фосфатов до 116 мкМ повысило выработку ГЛК на 20,5%, тогда как снижение температуры до 10°C также способствовало ее увеличению [39]. Эти соединения также проявляют синергетическую активность с антибиотиками, увеличивая их проницаемость в клетки бактерий. Глико-глицеролипиды, такие как моно- и дигалактозилдиацилглицеролы (МГДГ и ДГДГ), а также сульфохинозил-диацилглицеролы (СХДГ), широко распространены в цианобактериях и обладают антибактериальными и антибиопленочными свойствами. Например, сульфо-глицеролипиды, выделенные из *Sphaerospermopsis sp*., проявили активность против *S. aureus*, а также ингибировали формирование биопленок бактерий. Механизмы их действия включают нарушение структуры мембран и фотозащиту клеток [40]. Таким образом, липиды цианобактерий представляют собой перспективное направление для разработки новых антимикробных препаратов и покрытий для медицинских устройств. Их использование, как самостоятельных агентов, так и в комбинации с антибиотиками, может предложить альтернативу текущим методам борьбы с бактериальными инфекциями и биопленками.

1.4.5 Пигменты

Исследования экстремофильных штаммов цианобактерий, таких как *Oscillatoria subbrevis* CZS 2201, выделенных из гидротермальных источников, выявили их значительный потенциал в биосинтезе уникальных фотосинтетических пигментов. Данные микроорганизмы демонстрируют высокую продуктивность по фикобилипротеинам, достигая концентраций 45.81 мг/г для фикоцианина и 64.17 мг/г для фикоэритрина, а также

синтезируют термостабильные каротиноидные пигменты, включая миксоксантофилл [41]. Эти соединения, помимо своей основной функции в фотосинтетическом аппарате, проявляют выраженную биологическую активность. Особый интерес представляет их антимикробное действие, обусловленное уникальной структурной организацией молекул, сохраняющих стабильность и активность в экстремальных условиях. Способность термофильных цианобактерий к интенсивному синтезу данных пигментов открывает перспективы их использования в качестве природных источников биологически активных соединений с широким спектром применения.

Фикоцианин, являясь ключевым фотосинтетическим пигментом цианобактерий, демонстрирует выраженную антимикробную активность даже в низких концентрациях (4.48-17.92 мкг), что подтверждено исследованиями штаммов *Oscillatoria sp.* [42]. Особую ценность представляет исключительная термостабильность этих соединений, характерная для таких экстремофильных штаммов, как *Oscillatoria subbrevis* CZS 2201, что открывает перспективы их промышленного применения [41]. Исследования очищенного фикоцианина из *Oscillatoria minima* выявили его полифункциональную биологическую активность, включающую не только антимикробное, но и выраженное антиоксидантное и альгицидное действие [43]. Эти данные подтверждают, что термофильные цианобактерии представляют уникальную природную платформу для получения стабильных многофункциональных биомолекул, сохраняющих активность в экстремальных условиях, что имеет особое значение для разработки новых биотехнологических решений.

1.4.6 Наночастицы

Наночастицы, полученные из цианобактерий, представляют собой перспективные биологически активные соединения с выраженными антибактериальными свойствами. Особый интерес вызывают серебряные наночастицы (Ag-NPs), синтезируемые с использованием экстрактов цианобактерий. Биофабрикация таких наноматериалов основана на способности полисахаридов и белков, содержащихся в цианобактериальных культурах, выступать в роли природных восстановителей и стабилизаторов, обеспечивая формирование наночастиц с высокой антимикробной активностью [44].

Исследования показали, что серебряные наночастицы, синтезированные с участием экстракта *Desertifilum* IPPAS B-1220, обладают выраженной бактерицидной активностью в отношении грамположительных и грамотрицательных патогенных микроорганизмов. Их антимикробное действие проявляется за счет взаимодействия с клеточной стенкой бактерий, разрушения мембран и ингибирования клеточных процессов. Более того, экспериментальные данные свидетельствуют о значительном подавлении роста не только патогенных бактерий, а также о цитотоксическом эффекте наночастиц в отношении клеток рака молочной железы (MCF-7), печени (HepG2) и кишечника (Caco-2) с IC50 58, 32 и 90 мкг/мл, соответственно [45].

Дополнительные исследования показали, что биосинтез серебряных наночастиц возможен и с использованием других видов цианобактерий, таких как *Desertifilum tharense* и *Phormidium ambiguum*. Эти наночастицы демонстрируют активное ингибирование роста мультирезистентных штаммов бактерий, включая *Staphylococcus aureus* (MRSA). Максимальная зона ингибирования, зарегистрированная для наночастиц *Desertifilum tharense*, достигала 25 мм, в то время как для *Phormidium ambiguum* она варьировалась в пределах 9-18 мм. Это подтверждает высокую антибактериальную активность биосинтезированных Ag-NPs, что открывает перспективы их использования в медицине и фармацевтике в качестве альтернативных антимикробных агентов [46]. Таким образом, наночастицы, полученные с использованием цианобактериальных экстрактов, обладают значительным потенциалом в области биомедицины. Их антимикробная активность в отношении широкого спектра патогенов, а также возможность биофабрикации с минимальным воздействием на окружающую среду, делает их перспективной основой для разработки новых антибактериальных препаратов.

1.5 Потенциал воздействия на quorum sensing

Одной из уникальных особенностей цианобактерий является их потенциальное влияние на бактериальные системы quorum sensing (QS - «кворумного чувства»). Эти системы обеспечивают межклеточную коммуникацию у бактерий и регулируют множество процессов, включая продукцию факторов вирулентности, формирование биопленок и адаптацию к изменениям окружающей среды. Как упоминалось ранее, цианобактерии стали богатым источником биологически активных метаболитов, включая пептиды, поликетиды и их гибриды. И мнногие из этих соединений проявляют активность по отношению к системам QS патогенных бактерий. Линьгбиоиновая кислота, выделенная из *Lyngbya majuscula*, продемонстрировала ингибирующее действие на LasR-рецепторную систему *Pseudomonas aeruginosa*, что делает её перспективным кандидатом для разработки антивирулентных препаратов [47].

Механизмы воздействия цианобактериальных метаболитов на системы QS включают конкурентное связывание с рецепторами автоиндукторов и разрушение сигнальных молекул. Одним из примеров такого действия является доскаденамид А, выделенный из *Moorea bouillonii*. Это соединение действует как агонист QS через связывание с рецептором LasR, несмотря на структурные отличия от традиционных молекул гомосеринлактона [47]. Потенциальные терапевтические применения этих соединений связаны с их способностью снижать патогенность бактерий без непосредственного воздействия на их жизнеспособность. Такой подход снижает риск развития устойчивости к традиционным антибиотикам и может дополнять существующие методы лечения бактериальных инфекций. В частности, ингибирование QS-систем у *Pseudomonas aeruginosa* может препятствовать продукции токсинов и формированию устойчивых биопленок, что имеет

критическое значение для лечения хронических инфекций [48]. Исследования показывают, что цианобактерии могут вмешиваться не только в классические системы Las и Rhl, но и в систему псевдомонасового хинолона (*Pseudomonas* quinolone signal - PQS), которая играет ключевую роль в регуляции вторичного метаболизма и вирулентности. Эволюция систем QS у бактерий, таких как *P. aeruginosa*, демонстрирует их адаптивные способности, включая развитие систем, независимых от рецептора LasR. Цианобактериальные модуляторы QS способны воздействовать на эти адаптивные изменения и могут служить инструментами для изучения динамики бактериальных сообществ [47, 48]. Перспективные направления исследований включают дальнейшее изучение структурного разнообразия цианобактериальных метаболитов и их взаимодействия с различными системами QS у бактерий. Синтетическая биология и химическая модификация этих соединений могут способствовать созданию новых терапевтических агентов. Кроме того, изучение роли цианобактерий в регуляции микробных сообществ может расширить наши знания о механизмах природной борьбы с бактериальными патогенами.

1.6 In silico-анализ биологически активных соединений цианобактерий и микроводорослей

Основные современные методы in silico-моделирования, такие как молекулярный докинг и молекулярная динамика, представляют собой недорогую альтернативу для прогнозирования биологической активности. Такие инструменты предполагают возможность выявления перспективных молекул, при помощи которых можно взаимодействовать с важными белками-мишенями и, тем самым, прогнозировать их свойства до затратных лабораторных исследований.

В одном из актуальных исследований была использована in silico-методология для оценки способности микроводорослевых метаболитов ингибировать β-лактамазы - ферменты, ответственные за разрушение β-лактамных антибиотиков. Такие соединения, как фенилакридин, криптофицин и кверцетин, показали более высокое сродство к мишеням, чем коммерчески доступные ингибиторы, включая клавулановую кислоту и тазобактам [49]. Это указывает на потенциал природных молекул в качестве альтернативных средств для борьбы с антибиотикорезистентностью.

Кроме того, in silico-анализ находит успешное применение и в других областях. Так, например, были проведены докинг-исследования, направленные на оценку иммуномодулирующего потенциала микроводорослевых пигментов при взаимодействии с провоспалительными белками IL-6 и TNF-α [50]; исследованы возможности цианобактериальных соединений в качестве ингибиторов пищеварительных ферментов при лечении метаболических нарушений [51]; а также проанализированы многочисленные биологические свойства фикоцианина как активного компонента в разных сферах [43]. Данные исследования демонстрируют универсальность подхода,

который может быть успешно использован для анализа различных антибактериальных соединений.

В рамках данной дипломной работы планируется использование молекулярного докинга для оценки взаимодействия соединений, выделенных из цианобактерий горячих источников Алматинской области, с белками бактериального происхождения. Это позволит оценить потенциал этих соединений как антибактериальных агентов и обосновать дальнейшие экспериментальные исследования.

2. Материалы и методы исследования

2.1 Объект исследования

Для проведения исследования были использованы водные и почвенные образцы, собранные на территории термальных источников вблизи населенного пункта Чунджа, расположенного в Уйгурском районе Алматинской области Республики Казахстан. Географические координаты точки отбора проб: 43°00'10.0" северной широты и 79°59'30.0" восточной долготы**.** Данный район характеризуется устойчиво высокой температурой воды, что создаёт благоприятные условия для существования термофильных водорослей и цианобактерий. Материалом исследования стали новые выделенные и коллекционные штаммы цианобактерий.

Рисунок 2 – Географическое расположение точки отбора проб в районе горячих источников Чунджа (Уйгурский район Алматинской области, 43°00'10.0" с.ш., 79°59'30.0" в.д.)

2.2 Определение видового состава альгофлоры

Водные пробы помещались в предварительно простелиризованные пластиковые емкости объемом 1 литр. После фильрации через мембранные фильтры с порами 0,45 мкм, пробы доставлялись в лабораторияю и хранились при 4ºС до проведения дальнейших исследований. Биологические отложения и налеты и собирались с поверхности воды и дна с помощью стерильных иструментов (шипцов и шпателей) и помещались в стерильные стекляные банки.

Видовой состав цианобактерий определялся путем морфологического анализа при помощи светового микроскопа. Идентификация осуществлялась на основании сравнения наблюдаемых морфологических признаков с описаниями, приведенными в определителях цианобактерий.

2.3 Изоляция фотосинтезирующих микроорганизмов из естественных местообитаний и создание их аксеничных культур

Собранные образцы помещались в стерильные пробирки и колбы, наполненные жидкой питательной средой. Уровень жикости на занимал более трети или четверти общего объема сосуда. Культивирование осуществлялось либо при естественном освещении, либо под искуственным светом люмитнесцентных ламп, обеспечивающих освещенность 6-10 тысяч люкс.

Для развития и увеличения биомассы в процессе культивирования применялись среды BG-11, BG-11 без добавления азота, а также среда Заррука. Достигнув необходимой концентрации, культура переносилаь на плотную среду в чашки Петри. Для этого прмменялись общепринятые миеробиологические методики, включающие распределение суспензии поп поверхности агара с использованием стерильного шпателя.

Псоле образования отдельных колоний проводился их пересев на свежую среду для создания устойчивой и чистой культуры. Полученные таким образом культуры впоследствии использовались для изучения их морфологии (рис. 3).

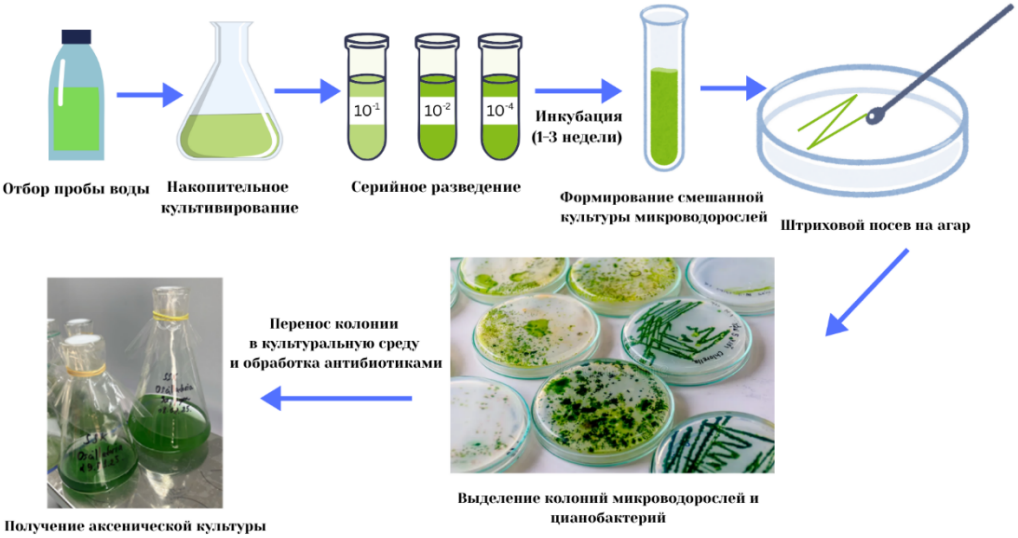


Рисунок 3 – Методика выделения аксенической культуры

2.4 Методы изоляции и поддержания чистых культур микроводорослей и цианобактерий

Для избавления от посторонних микроорганизмов в культурах цианобактерий использовали ряд антибиотиков (пенициллин, гентамицин, тетрациклин, неомицин, ампициллин, хлорамфеникол, канамицин) в дозах от 1,5 до 25 мкг/мл, а также их сочетания, общая концентрация которых достигала 20 мкг/мл. Необходимые дозы антибиотиков вносились в питательные среды уже после их стерилизации. В качестве противогрибкового средства использовали нистанин, обладающий широким спектром действия. Для повышения повышенияя качества выделения альгологических штаммов применялись комплексные методы, объеденяющие

антибиотики и физические процедуры: фильтрация, разведение, изоляция отдельных клеток с использованием микропипетки и др.

Определение чистоты культур осуществлялось посредством посева на стерильный 0,25% -ный мясной бульон, помутнение бульона указывало на наличие бактериальных примесей. Одновременно проводился микроскопический анализ культур для выявления сопутсвтвующих микроорганизмов. После получения чистых колоний цианобактерий их с помощью стерильной петли переносили из чашек Петри в стерильные колбы с жидкой средой.

2.5 Изучение морфологических свойств культур цианобактерий

В ходе исследования морфологии изолированных цианобактериальных культур применяли комплексный микроскопический анализ. Экспериментальная часть работы выполнялась с использованием цифровых микроскопов Levenhuk MED D20T и MICROmed MET1, обеспечивающих высококачественную визуализацию. Методика исследования предусматривала последовательное изучение препаратов при трех уровнях увеличения (10×, 40×, 100× объективы в сочетании с 10× окулярами). Особое внимание уделяли компьютерной обработке полученных изображений с применением специализированного программного обеспечения, что значительно повышало точность морфологических измерений.

2.6 Методика культивирования цианобактерий в лабораторных условиях

Штаммы выращивались на питательных средах BG-11 [52, 53] и Заррука [54, 55], обеспечивающих оптимальные условия для роста фотосинтетических цианобактерий. Температуру поддерживали на уровне 28-32°C, а продолжительность культивирования составляла 12 дней, до достижения стационарной фазы роста. Освещение обеспечивали белыми люминесцентными лампами с интенсивностью 53-62 мкмоль фотонов·$м^{-2}$·$с^{-1}$ и фотопериодом 12 часов света и 12 часов темноты. Для аэрации использовали стерильную газовоздушную смесь с содержанием CO_2 1,5-2%. Каждый эксперимент повторяли трижды для обеспечения достоверности результатов.

2.7 Методы определения скорости роста и сухой биомассы цианобактерий

Для изучения кинетики роста исследуемого штамма цианобактерий проводили лабораторное культивирование в системе непрерывного культивирования с использованием стеклянных сосудов объемом 500 мл. В качестве питательных сред применяли модифицированные среды Заррука и BG-11 с pH 7,5. Изначально в среду вносили культуру, находящуюся в логарифмической фазе роста, с начальной оптической плотностью, измеренной при длине волны 750 нм и равной A750 = 0,2. Культивирование осуществляли при строго контролируемых условиях: температуре 28±2°C,

освещенности 50 мкмоль фотонов·м$^{-2}$·с$^{-1}$, непрерывной аэрации стерильной газовоздушной смесью, содержащей 1% CO_2, и фотопериоде 12 часов света/12 часов темноты. Для мониторинга роста ежесуточно отбирали пробы объемом 5 мл и измеряли оптическую плотность при 750 нм с помощью спектрофотометра PD-303UV (Япония). Удельную скорость роста микроорганизмов (k, сут$^{-1}$) определяли на основе экспоненциальной модели развития популяции, используя следующее математическое выражение:

$$k = \frac{1}{t} \ln \frac{N_t}{N_0} \quad (1).$$

где:

N_0 - исходная плотность клеточной суспензии

Nt - конечная плотность клеток после периода культивирования t

Для определения сухой биомассы применяли гравиметрический метод: отмеренный объем клеточной суспензии подвергали центрифугированию при 5000 об/мин, полученный осадок трижды промывали дистиллированной водой для удаления остатков солей среды, после чего высушивали до достижения постоянной массы при 65°C в течение 48 часов. Сухую биомассу определяли как разницу между массой чашки Петри с высушенным осадком и массой пустой чашки, приведенную к объему исходной суспензии. Все измерения выполнялись в трехкратном биологическом повторении с обязательным контролем стерильности на каждом этапе эксперимента.

2.8 Определение общего содержания белка, липидов и пигментов в клетках микроводорослей и цианобактери

Экстракция и количественное определение белка. Клеточную суспензию центрифугировали, осадок дважды промывали буфером Tris-HCl (pH 7,0) и ресуспендировали в том же буфере. Суспензию обрабатывали ультразвуком в течение 15 мин, после чего центрифугировали. Надосадочную жидкость обрабатывали 10% трихлоруксусной кислотой (ТХУ) и нейтрализовали 2 N гидроксидом натрия. Содержание белка определяли спектрофотометрическим методом по Lowry [56].

Экстракция и анализ липидной фракции. Определение суммарного содержания липидов проводили методом гравиметрии с использованием модифицированного протокола Bligh-Dyer [57]. Навеску лиофилизированного материала (50 мг) обрабатывали 2 мл бинарной системы растворителей (хлороформ:метанол в соотношении 2:1 по объему) с последующей инкубацией при 37°C в течение 60 минут на шейкере. После сепарации методом центрифугирования (3000 об/мин, 10 мин) собирали органический слой, процедуру экстракции повторяли до визуального исчезновения пигментации в осадке. Объединенные экстракты очищали 1% раствором хлорида натрия для удаления водорастворимых компонентов. Липидную фракцию концентрировали методом ротационной эвапорации при 35°C.

Количественное содержание липидов выражали в процентах от абсолютно сухой массы по формуле:

$$\text{Липиды } (\%) = \frac{m_1 - m_2}{m_3} \times 100 \quad (2),$$

где:

m_1 - масса контейнера с липидами (г)

m_2 - масса пустого контейнера (г)

m_3 - масса сухой биомассы (г)

Определение фотосинтетических пигментов. Для экстракции хлорофилла *a* и каротиноидов использовали 100% метанол. Навеску биомассы (20 мг) гомогенизировали в 5 мл растворителя и обрабатывали в ультразвуковой бане (40 кГц, 30 мин). Экстракцию повторяли до полного обесцвечивания осадка. Объединенные экстракты центрифугировали (1350 об/мин, 10 мин) и измеряли оптическую плотность при 665.2 нм (хлорофилл *a*) и 470 нм (каротиноиды) относительно метанольного контроля. Расчет содержания пигментов проводили по уравнениям [58]:

$$\text{Хлорофилл } a = 16{,}72 \times A_{665{,}2} - 9{,}16 \times A_{652{,}4} \quad (3),$$

$$\text{Каротиноиды} = \frac{1000 + A_{470} - 1{,}63 \times \text{Хл a}}{221} \quad (4).$$

Фикобилипротеины экстрагировали 20 мМ ацетатным буфером (pH 5.1) с 40 мМ NaCl. После трех циклов замораживания-оттаивания (-80°C/+25°C) супернатант анализировали спектрофотометрически. Концентрации рассчитывали по уравнениям:

$$\text{Фикоцианин (ФК)} = \frac{A_{615} - (0{,}474 \times A_{652})}{5{,}34} \quad (5),$$

$$\text{Аллофикоцианин (АФК)} = \frac{A_{652} - (0{,}208 \times A_{615})}{5{,}09} \quad (6),$$

$$\text{Фикоэритрин} = \frac{A_{662} - (2{,}41 \times \text{ФК} - 0{,}849 \times \text{АФК})}{9{,}52} \quad (7).$$

2.9 Экстракция биоактичных веществ цианобактерии

Для извлечения биологически активных соединений применяли лиофильно высушенную цианобактериальную биомассу. На начальной стадии 500 мг обезвоженного образца обрабатывали 3 мл метанола с интенсивным перемешиванием (1 мин), после чего подвергали ультразвуковой диспергации

в течение 20 минут при частоте 40 кГц. Для оптимизации экстракции липофильных компонентов к смеси добавляли 6 мл хлороформа с последующей инкубацией на орбитальном шейкере (15 об/мин, 20 мин). Фазовое разделение достигалось введением 3 мл очищенной воды Milli-Q и энергичным встряхиванием (1 мин). Полученную двухфазную систему подвергали центрифугированию (4000об/мин, 20 мин), после чего метанольно-хлороформный слой, содержащий целевые вещества, фильтровали через гидрофобную мембрану Millex-FG с димаетром пор в 0,20 мкм. Удаление растворителей осуществляли на вакуумном концентраторе при 37°C.

2.10 Оценка антибактериальной активности

Антибактериальную активность экстрактов цианобактерий оценивали методом диск-диффузии по Кирби-Бауэру с использованием тест-штаммов грамотрицательных (*Escherichia coli, Proteus spp*.) и грамположительных (*Sarcina spp.*) бактерий. На агар Мюллера-Хинтона, засеянный этими культурами, помещали стерильные диски диаметром 10 мм, предварительно пропитанные изучаемыми экстрактами. Для сравнения применяли ампициллин (10 мкг/диск) в качестве положительного контроля и стерильный метанол - в качестве отрицательного. Для повышения выраженности зоны подавления роста также использовали модифицированный метод с лунками: в агар формировали лунки диаметром 10 мм, в которые добавляли экстракт, а сверху помещали диски, также пропитанные этим же экстрактом. После 24-часовой инкубации при температуре 37°C измеряли диаметры зон ингибирования с точностью до 0,1 мм. Протокол тестирования соответствовал общепринятым микробиологическим методикам оценки антимикробной активности природных веществ [59, 60].

Определение индекса антимикробной активности (ИАА) проводили путем сравнения зоны ингибирования, создаваемой экстрактом *Oscillatoria subbrevis*, с зоной ингибирования эталонного антибиотика по формуле:

$$\text{ИАА} = \frac{\text{Диаметр зоны ингибирования экстракта}}{\text{Зона ингибирования эталонного антибиотика}} \qquad (8)$$

2.11 In silico-анализ

Для проведения молекулярного докинг-анализа были выбраны пигменты, содержащиеся в исследуемом штамме (хлорофилл *a* [61], β-каротин [62] и фикобилипротеины: C-фикоцианин (8Z20) [63], C-фикоэритрин (3MWN) [64], C-аллофикоцианин (1ALL) [65]). В качестве молекулярных мишеней были выбраны β-лактамазы и ДНК-гиразы, играющие ключевую роль в устойчивости бактерий к антибиотикам. Для анализа использовали структуры ферментов грамотрицательной *Escherichia coli* и грамположительного *Staphylococcus aureus* (PDB ID: β-лактамазы - 1C3B [66],

7O4B [67]; ДНК-гиразы - 1AJ6 [68], 4URM [69]), что позволило оценить взаимодействие метаболитов с мишенями у представителей обоих классов бактерий. Трехмерные структуры белков-мишеней и фикобилипротеинов были получены из Protein Data Bank, а структуры низкомолекулярных лигандов загружены из Pubchem. Перед проведением докинга с сиспользованием программы. Для подготовки к докингу в Discovery Studio Visualizer были определены и отображены активные участки всех изученных белковых мишеней. С использованием пространственных данных, полученных для активных сайтов, при докинге устанавливались конкретные зоны для поиска возможных взаимодействий между лигандами и белками. Все молекулярные структуры прошли этап предварительной обработки: из структур белков исключены молекулы воды, возникшие при кристаллизации, и посторонние лиганды, затем добавлены атомы водорода и выполнена минимизация энергии. Оптимизация лигандов осуществлялась с учётом их физико-химических характеристик. Процесс докинга хлорофилла *a* и β-каротина осуществлялся в AutoDock Vina, интегрированной в PyRx, с учетом подвижности лигандов и фиксированной структуры белковых мишеней. В силу того, что фикобилипротеины являются белковыми комплексами, моделирование их взаимодействия с мишенями осуществлялось посредством сервера HADDOCK 2.4, предназначенного для докинга белок-белковых комплексов с возможностью учета гибкости молекул. Визуализация результатов, включая анализ водородных связей, гидрофобных сил и электростатических потенциалов, проводилась в Discovery Studio Visualizer.

3. Результаты и обсуждение

3.1 Выделение аксеничной культуры цианобактерии из горячих источников Алматинской области

Исследование включало в себя сбор проб из разных участков источника и выделение аксенных культур микроводорослей, с особым вниманием к цианобактериям. В результате было выявлено 57 видов и подвидов микроводорослей и цианобактерий, которые относятся к трем отделам: *Cyanophyta* (цианобактерии), *Chlorophyta* (зелёные водоросли) и *Bacillariophyta* (диатомовые водоросли). Несмотря на то, что зелёные водоросли занимают доминирующее положение в таксономическом отношении, по частоте встречаемости и обнаружения цианобактерии значительно опережают все остальные группы.

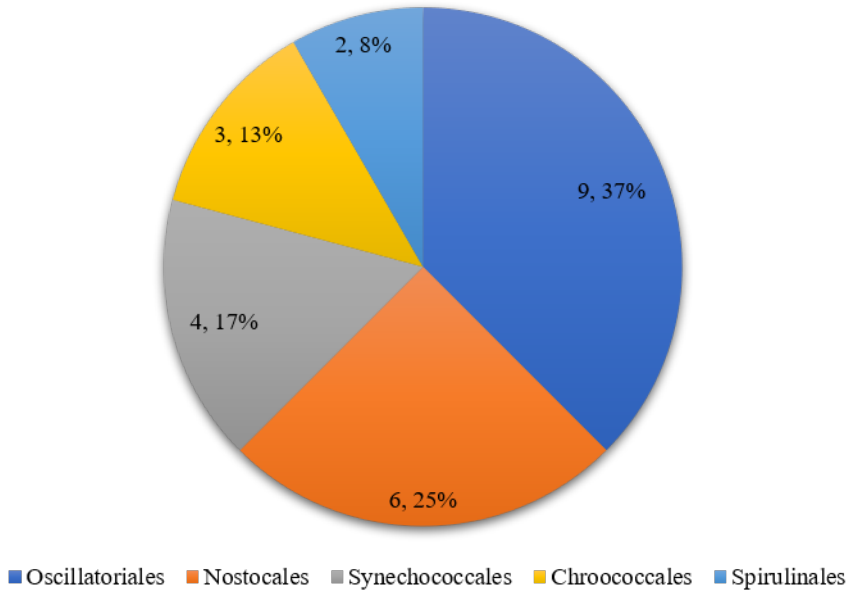


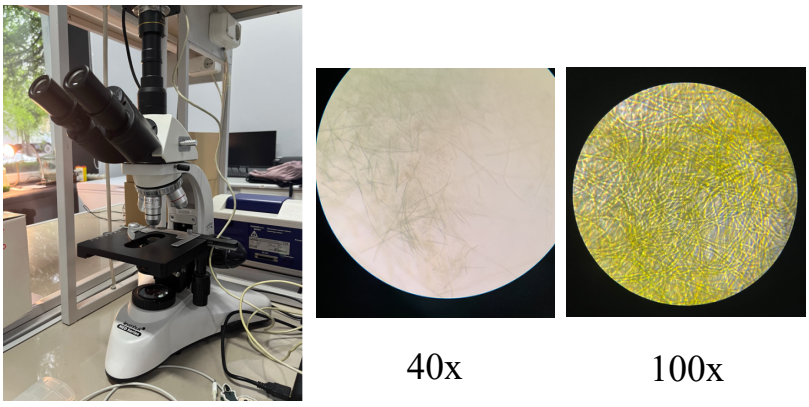
Рисунок 4 – Видовое разнообразие порядков цианобактерий в горячих источниках Чунджа (Алматинская область)

В ходе работы была проведена тщательная таксономическая классификация выделенных цианобактерий. Результаты идентификации показали, что данный набор включает 24 вида, среди которых 13 внутривидовых групп, распределенных по 5 разным ордерам: *Oscillatoriales, Nostocales, Synechococcales, Chroococcales* и *Spirulinales* (рис. 4). Изучение видового разнообразия выявило, что наибольшую долю (37,5%) среди всех выделенных видов занимают представители ордера Oscillatoriales. Далее следуют представители порядка *Nostocales* - 25%, и *Synechococcales* - 16,6%. Оставшиеся 20,9% составили представители порядков Chroococcales и *Spirulinales.* Полученные данные подтверждают высокую степень разнообразия цианобактериального сообщества в условиях термальных источников Чунджа и подчёркивают значимость дальнейших исследований по

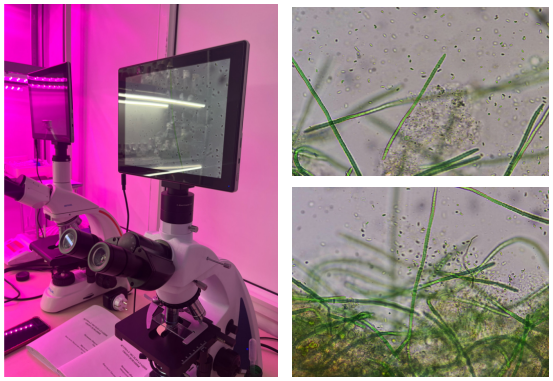
выделению и изучению аксеничных культур для возможного применения в биотехнологии.

3.2 Определение культурально-морфологических свойств выделенной культуры цианобактерии

В ходе исследования выделенной популяции цианобактерий из семейства *Oscilatoriaceae* удалось установить принадлежность к виду *Oscillatoria subbrevis*. Этот организм обладает характерной нитчатой структурой без гетероцист, трихомы формировались поодиночке, имели почти ровное строение, не сужались к концам и не имели узких мест в местах расположения поперечных перегородок. Поперечнгые стенки клеток не проявляли зернистости. Длина клеток колебалась от 1,5 до 3,1 мкм, ширина - от 6,5 до 7,1 мкм. Конечная клетка имела округлую форму, при этом не наблюдалось клиптры, что также служит отличительным признаком данного вида. Полученные данные о морфологии полностью соотвествовали описаниям, встречающимся в научной литературе по систематике цианобактерий, и подтверждают правильность идентификации культуры как *Oscillatoria subbrevis*.



а



б

Рисунок 5 – Микроснимки штамма *Oscillatoria subbrevis*, полученные с использованием (а) микроскопа Levenhuk MED D20T с окулярами 40x и 100x, (б) микроскопа MICROmed MET1

3.3 Определение условий культивирования выделенной культуры цианобактерии

Анализ влияния температуры в диапазоне от 20°C до 40°C на развитие *Oscillatoria subbrevis* (рис.6) выявило, что наилучшее увеличение массы водоросли наблюдается при 32°C. К 9-му дню культивирования при данной температуре была достигнута пиковая оптическая плотность - 4.87, что значительно превышает результаты, полученные при других температурных режимах. Хотя при 28°C и 36°C также отмечается активный рост, он оказывается менее выраженным, чем пр показателях оптимального значения температуры. Более низкие (20 и 24) и высокие (40) температурные значения оказывали негативное воздействие и приводили к снижению биомассы, что может быть обусловлено с нарушением работы ферментов при отклонении от термокомфортных условий. Таким образом, *Oscillatoria subbrevis* проявляет признаки мезофильности, демонстрируя предпочтение умеренно теплых условий для наиболее продуктивного роста.

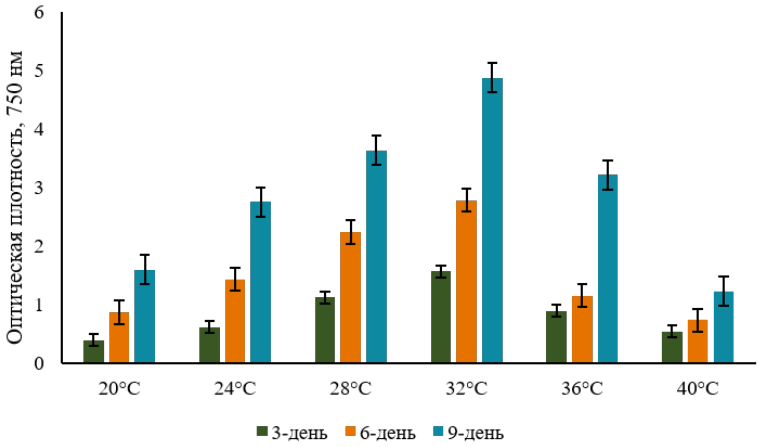


Рисунок 6 – Влияние температуры на рост *Oscillatoria subbrevis*

В рамках изучения влияния pH (рис. 7) культуральной среды на рост исследуемого штамма были протестировани значения pH: 4, 7, 8 и 9. Максимальная сухая биомасса (0.85 г/л) была зафиксирована при pH, близкому к нейтральному - 7. Полученные результаты свидетельствуют о том, что *Oscillatoria subbrevis* предпочитает слабо-нейтральную реакцию среды. При повышении параметров pH до 8 и 9 рост снижается, а при pH 4 (кислая среда) наблюдается наименьший сбор биомассы (0.28 г/л). Селодовательно, наиболее подходящим значением pH для данного вида является 7.0, поскольку

оно создает оптимальные условия для фотосинтеза и нормального функционирования клеток.

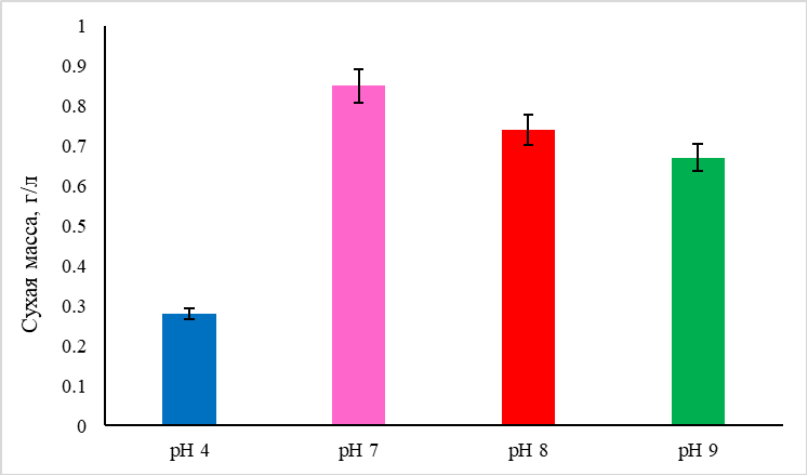


Рисунок 7 – Влияние pH на рост *Oscillatoria subbrevis*

Выраженное влияние на скорость роста культуры оказывало значение интесивности света (рис. 8). Наиболее высокая оптическая плотность была достигнута при освещенности 50 мкмоль/м^2·с. К 12-му дню биомасса увеличилась до 10.43 единиц (в единицах оптической плотности). При более низкой (30 мкмоль/м^2·с) и высокой (100-200 мкмоль/м^2·с) освещённости наблюдалось уменьшение количества биомассы. Наиболее заметное подавление роста было зафиксировано при 200 мкмоль/м^2·с, что, вероятно, обусловлено фотодеструктивными явлениями (фотострессом), оказывающими неблагоприятное воздействие на пигменты и обмен веществ. Таким образом, освещение в районе 50 мкмоль/м^2·с представляется наиболее подходящим для разведения *O. subbrevis*.

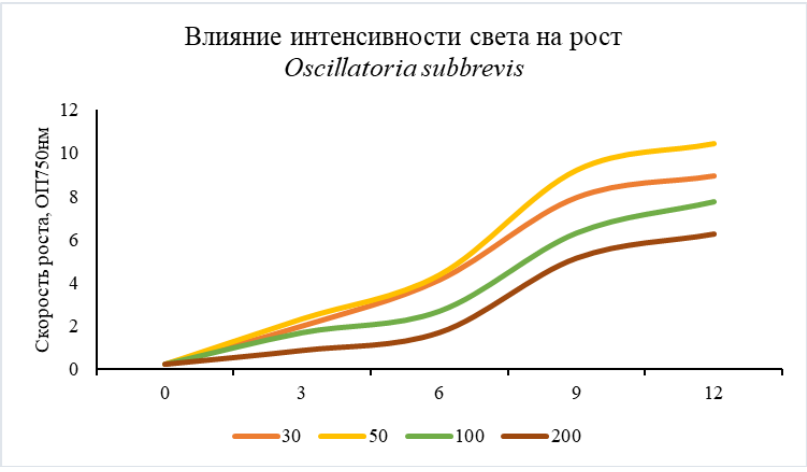


Рисунок 8 – Влияние интенсивности света на рост *Oscillatoria subbrevis*

При оценке продуктивности штамма были выявлены такие оптимальные параметры как: температура 32 °C, pH среды 7,0 и интенсивность освещения 50 мкмоль/м²·с. На фоне этих параметров наблюдался активный рост культуры, что подтверждается характерной динамикой изменения оптической плотности (рис. 9).

3.4 Определение продуктивности и сбор сухой биомассы выделенной культуры цианобактерии

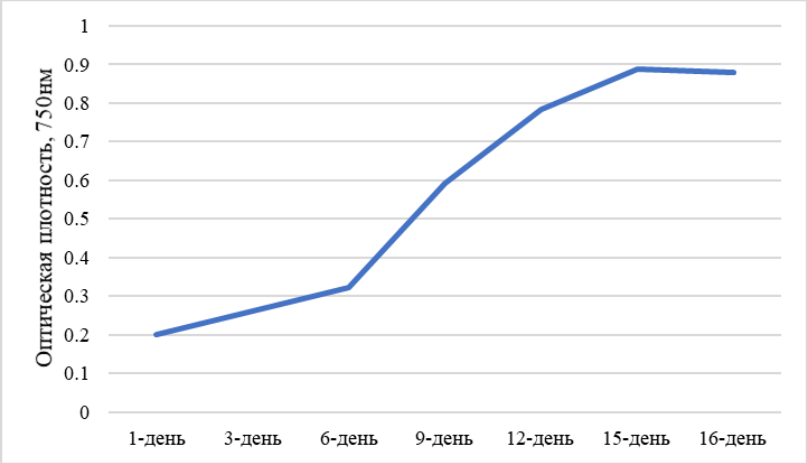


Рисунок 9 – Динамика роста *Oscillatoria subbrevis*

Анализ кривой роста показал, что в первые шесть дней наблюдалась адаптационная фаза, за которой, с 6 по 12 сутки, последовало быстрое увеличение биомассы. Пик оптической плотности был достигнут на 15-е сутки и составил 0,889 единиц при длине волны 750 нм. К 16-м суткам значение снизилось до 0,880, что свидетельствует об окончании активного роста и переходе культуры в стационарную фазу. Измерение сухой биомассы выявило, что к концу культивирования она достигла 0,25 грамма на объем среды, использованный в работе.

Результаты биохимического исследования клеточной биомассы выявили следующее содержание пигментных комплексов:

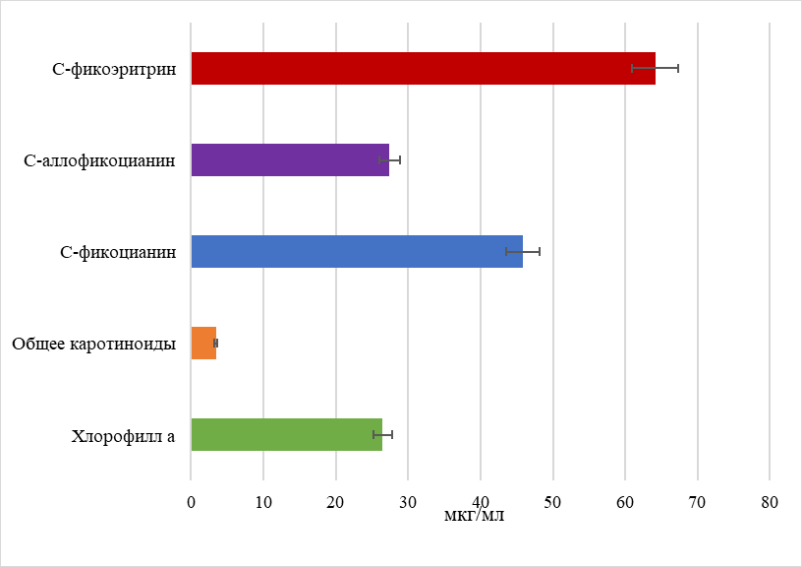


Рисунок 10 – Содержание пигментов в биомассе *Oscillatoria subbrevis*

Преобладающее содержание фикоэритрина и фикоцианина свидетельствует об интенсивном функционировании фотосинтетического аппарата в исследуемых условиях культивирования.

В ходе дальнейшего анализа был установлен химический состав макромолекул (рис. 11). Высокий уровень белка в составе биомассы указывает на активный синтез клеточных структур и ферментативных систем, что соответствует фазе активного роста, зафиксированной по данным оптической плотности. Содержание липидов, превышающее 20%, может быть связано с адаптационными свойствами мембран и участием липидов в организации фотосинтетического аппарата.

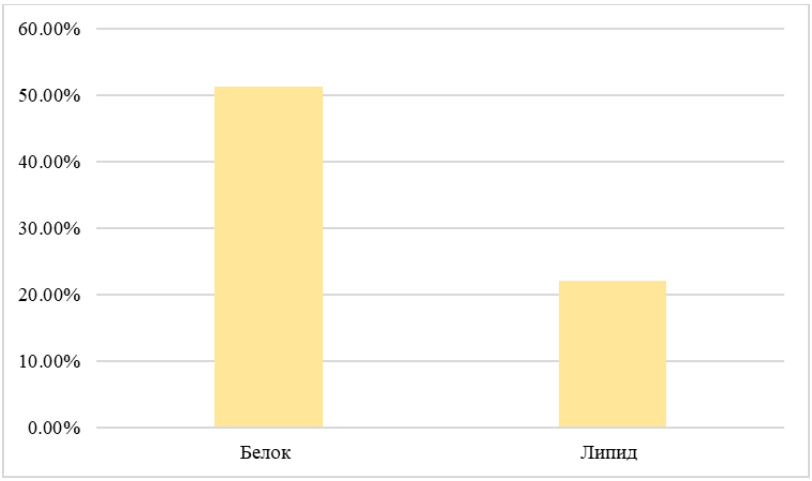


Рисунок 11 – Содержание белков и липидов *Oscillatoria subbrevis*

Таким образом, полученные данные подтверждают способность штамма Oscillatoria subbrevis к накоплению как ценной биомассы, так и биологически активных соединений при выращивании в оптимальных условиях.

3.5 Проведение докинг-анализа предполагаемых метаболитов с бактериальными мишенями методом *in silico*

С использованием метода молекулярного докинга был выполнен анализ взаимодействия пигментов цианобактерии *Oscillatoria subbrevis* - С-фикоцианина, С-фикоэритрина, С-аллофикоцианина (на основе данных, полученных в HADDOCK 2.4), а также хлорофилла А и β-каротина (данные PyRx) - с четырьмя бактериальными ферментами: TEM-1 β-лактамазой *Escherichia coli,* PC1 β-лактамазой *Staphylococcus aureus*, ДНК-гиразой поединицы В из *E. coli* и аналогичной ДНК-гиразой из *S. aureus*.

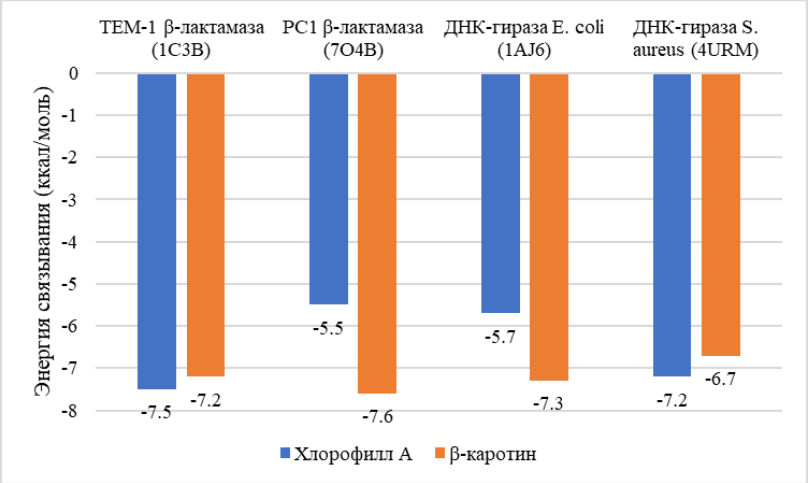


Рисунок 12 – Энергия связывания хлорофилла А и β-каротина с белками-мишенями

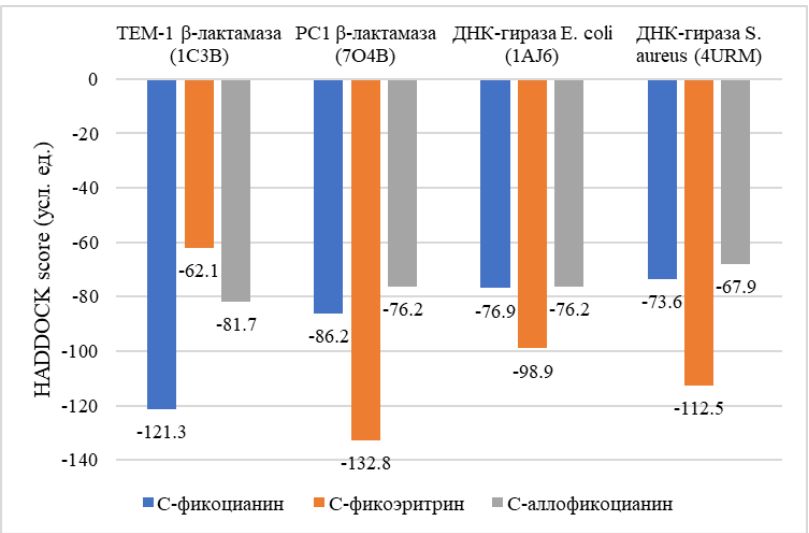
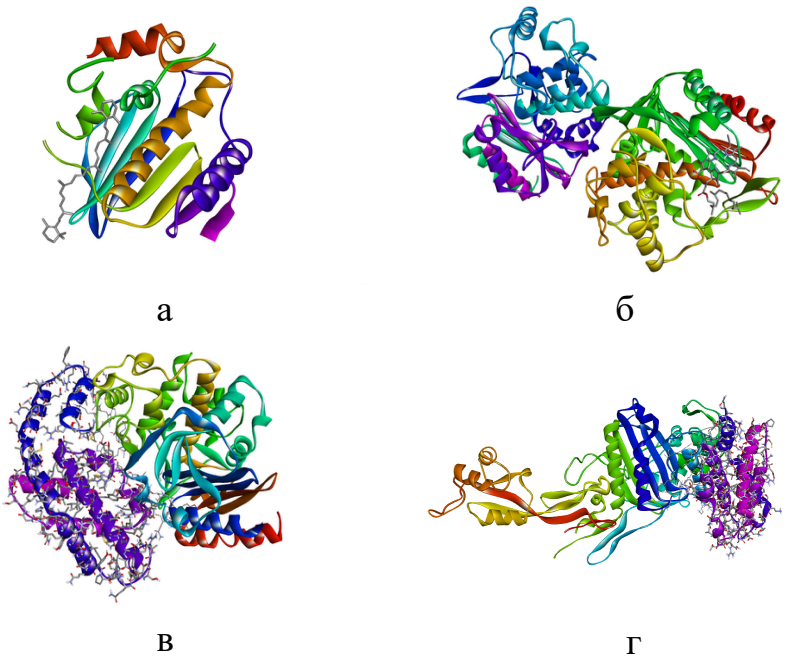


Рисунок 13 – Энергия связывания фикобилипротеинов с бактериальными белками

В группе фикобилипротеинов наибольшей способностью к связыванию отличился С-фикоэритрин (рис. 13). Он продемонстрировал минимальные

значения HADDOCK score при взаимодействии с PC1 β-лактамазой стафилококка (-132.8) и ДНК-гиразой из *S. aureus* (-112.5). Эти процессы характеризовались значительной площадью погружения в активный центр и выраженными электростатическими силами, указывающими на образование прочных комплексов. Особенно выделяется устойчивость комплекса С-фикоэритрина с ДНК-гиразой стафилококка, подтвержденная низким значением RMSD, свидетельствующим о точном расположении лиганда в белке. Полученные данные позволяют рассматривать С-фикоэритрин как перспективный природный ингибитор ферментов, ответственных за устойчивость и репликацию возбудителей. С-фикоцианин показал наиболее эффективное связывание с TEM-1 β-лактамазой кишечной палочки (HADDOCK score -121.3), однако его эффективность в отношении других белков оказалась невысокой. С-аллофикоцианин продемонстрировал менее сильные взаимодействия с целевыми белками, несмотря на значительные площади соприкосновения, что, вероятно, связано с неоптимальной ориентацией в активном центре. Результаты докинга хлорофилла А и β-каротина, выполненного в программе PyRx (рис. 12), показали, что β-каротин обладает более высокой аффинностью к ферментам. Наилучший энергетический показатель связывания (-7.6 ккал/моль) был зафиксирован при взаимодействии с PC1 β-лактамазой стафилококка. Также были сформированы стабильные комплексы с ДНК-гиразой кишечной палочки (-7.3) и TEM-1 β-лактамазой (-7.2). Хлорофилл А показал лучшие результаты против TEM-1 β-лактамазы и ДНК-гиразы стафилококка (-7.5 и -7.2



соответственно), но в целом его активность была ниже, чем у β-каротина.

Рисунок 14 – Молекулярное взаимодействие пигментов с бактериальными белками (а) β-каротин с ДНК-гиразой *Escherichia coli*, (б) хлорофилл А с TEM-1 β-лактамазой *E. coli*, (в) С-фикоцианин с TEM-1 β-лактамазой *E. coli*, (г) С-фикоэритрин с PC1 β-лактамазой *Staphylococcus aureus*

Сравнительный анализ показал, что наибольший интерес представляют два соединения: С-фикоэритрин, продемонстрировавший глубокое и стабильное связывание с ферментами *Staphylococcus aureus*, и β-каротин, проявивший универсальное связывание со всеми исследованными ферментами, включая обе β-лактамазы и обе ДНК-гиразы. Учитывая полученные данные, оба пигмента могут рассматриваться как перспективные природные антибактериальные агенты, потенциально подавляющие жизненно важные ферменты бактериальных патогенов.

3.6 Оценка антибактериальной активности экстрактов цианобактерии *in vitro* методом дисков с пропиткой и измерением зон ингибирования роста патогенных штаммов

Комбинированное применение метода диск-диффузии с модифицированным методом лунок позволило получить комплексные данные об антибактериальных свойствах экстрактов цианобактерий *Oscillatoria sp*. В контрольных экспериментах с ампициллином (10 мкг/диск) были зафиксированы стандартные зоны ингибирования: 12,0±0,5 мм для *E. coli* и 13,0±0,5 мм для *Proteus spp*., что подтверждает адекватность выбранной методики и чувствительность тест-штаммов (рис. 15).

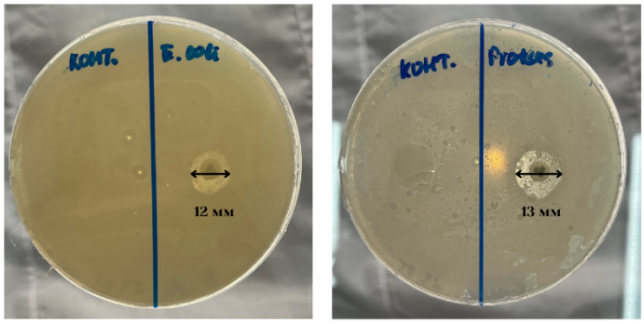


Рисунок 15 – Контрольные зоны ингибирования роста тест-штаммов под действием ампициллина

При использовании 300 мкл экстракта цианобактерий наблюдались четкие зоны ингибирования, сопоставимые с контрольными значениями: 12,0±0,5 мм для *E. coli* и 13,0±0,5 мм для *Proteus spp* (рис. 16 (б)). Однако при уменьшении объема экстракта до 20 и 10 мкл антибактериальный эффект не проявлялся, что свидетельствует о наличии четкой концентрационной зависимости активности.

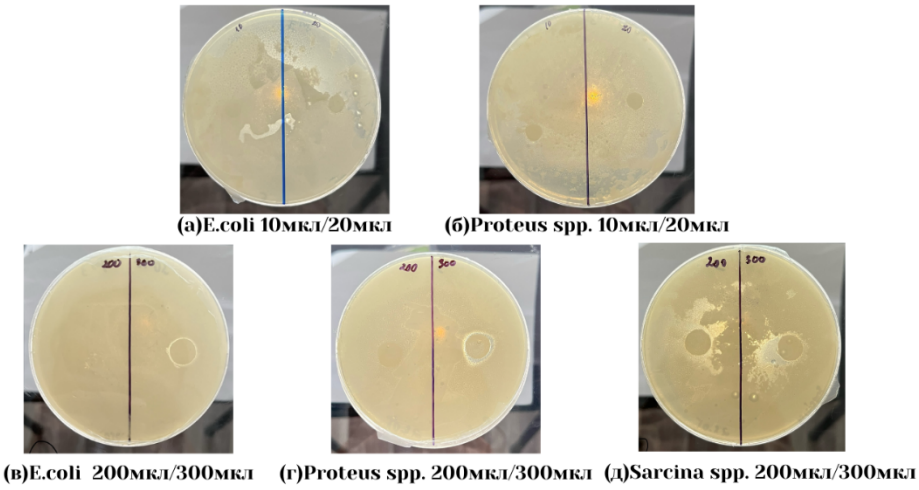


Рисунок 16 – Зоны ингибирования роста тест-штаммов под действием экстракта *Oscillatoria subbrevis*

Результаты сравнительного анализа продемонстрировали, что биологическая активность экстракта *O. subbrevis,* согласуется с данными, представленными в научной литературе. К примеру, метанольный экстракт морской *Oscillatoria sp.* [70], использованный в концентрации 100 мг/мл (50 мкл на диск), выявил зону подавления роста *E. coli* диаметром 10,17 ± 0,4 мм, что оказалось меньше, чем показатели, полученные в данном исследовании. В другой работе [71] пресноводная *Oscillatoria sp*. при применении стандартизированных дисков с экстрактом, содержащим не менее 5 мг на диск, демонстрировала зону ингибирования до 20 мм для *E. coli.*, однако, различия в условиях тестирования (состав питательной среды, размер дисков, метод экстракции) затрудняют возможность прямого сопоставления результатов. Для фенольного экстракта филаментозной формы *Oscillatoria* [72], нанесенного в объеме 30 мкл на диск в концентрации 100 мг/мл, были зафиксированы зоны подавления роста *Staphylococcus spp.* (34,06 ± 0,08 мм) и *Pseudomonas spp.* (17,11 ± 0,18 мм), с антимикробным индексом (ИАА) равным 2,10. В настоящей работе, где ампициллин (10 мкг/диск) служил контролем, ИАА для метанольного экстракта *O. subbrevis* составил 1,00 как для *E. coli*, так и для *Proteus spp.,* что свидетельствует о сравнимой с антибиотиком эффективности при значительном объеме нанесения (300 мкл).

Наибольший научный интерес представляют результаты воздействия экстракта цианобактерий на *Sarcina spp*. (рис. 16 (д)), демонстрирующие нетипичный характер антимикробной активности. В отличие от классических круглых зон ингибирования, наблюдаемых для грамотрицательных штаммов, в случае *Sarcina spp.* зафиксировано угнетение роста с неравномерными контурами и зональным распределением, что исключило возможность стандартного количественного измерения диаметра зоны. Этот эффект, вероятно, объясняется рядом причин: (1) уникальным способом воздействия действующих веществ экстракта на грамположительные микроорганизмы, возможно, связанным со структурой их клеточной оболочки; (2)

неоднородным составом экстракта, включающим соединения, различающиеся по скорости распространения в агаре; (3) специфическими особенностями самого штамма *Sarcina spp.,* которые влияют на распределение антимикробных веществ в питательной среде. Несмотря на отсутствие контрольных данных для данного микроорганизма, что несколько ограничивает интерпретацию результатов, сам факт проявления антибактериального эффекта (пусть и в атипичной форме) убедительно свидетельствует о биологической активности исследуемого экстракта. Эти наблюдения подчеркивают важность: (1) разработки специализированных методических подходов для оценки активности против грамположительных культур; (2) проведения дополнительных контролируемых экспериментов с *Sarcina spp.;* (3) углубленного фитохимического анализа состава экстракта с целью идентификации конкретных активных компонентов. Полученные данные открывают новые перспективы для изучения механизмов антимикробного действия цианобактериальных экстрактов на грамположительные микроорганизмы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Настоящее исследование было направлено на комплексное изучение антибактериальных свойств экстрактов цианобактерии *Oscillatoria subbrevis*, выделенной из горячих источников Алматинской области. В работе успешно решены все поставленные задачи, что позволило получить значимые научные и практические результаты.

Основные выводы исследования:

1. В результате проведенных исследований из термальных источников Чунджи была выделена чистая культура цианобактерии *Oscillatoria subbrevis*. Таксономический анализ показал, что данный штамм относится к порядку *Oscillatoriales*, который составляет 37,5% от всего видового разнообразия цианобактерий в исследуемом регионе. Успешное выделение культуры подтверждено микроскопическим анализом и тестами на стерильность.

2. Морфологическое исследование выявило характерные особенности штамма *Oscillatoria subbrevis*: нитчатую структуру без гетероцист, трихомы с ровным строением, длину клеток от 1,5 до 3,1 мкм и ширину от 6,5 до 7,1 мкм. Полученные данные полностью соответствуют описаниям данного вида в научной литературе, что подтверждает правильность идентификации.

3. Экспериментальным путем установлены оптимальные параметры культивирования: температура 32°C, pH 7,0, освещенность 50 мкмоль/м²·с. Эти условия обеспечили максимальный рост биомассы и активный синтез биологически активных соединений. Отклонение от оптимальных параметров приводило к значительному снижению продуктивности культуры.

4. Исследование динамики роста показало, что культура достигает стационарной фазы на 15-е сутки с максимальным значением оптической плотности 0,889. Выход сухой биомассы составил 0,25 г на используемый объем среды. Биохимический анализ выявил высокое содержание белка (51%) и липидов (22%), а также значительное количество фотосинтетических пигментов, особенно фикоэритрина (64,17 мг/г) и фикоцианина (45,81 мг/г).

5. Молекулярный докинг показал, что фикоэритрин обладает наибольшей аффинностью к бактериальным ферментам, особенно к β-лактамазе *Staphylococcus aureus* (HADDOCK score -132,8) и ДНК-гиразе того же микроорганизма (-112,5). β-каротин продемонстрировал универсальную способность связываться со всеми исследованными мишенями, включая TEM-1 β-лактамазу *Escherichia coli* (-7,2 ккал/моль). Эти результаты свидетельствуют о потенциальной антибактериальной активности данных соединений.

6. Лабораторные испытания подтвердили антибактериальную активность экстрактов. Наибольшие зоны ингибирования (12-13 мм) наблюдались против грамотрицательных бактерий *Escherichia coli* и *Proteus spp.* при использовании 300 мкл экстракта, индекс антимикробной активности показал 1,00, что свидетельствует о сравнимой с антибиотиком эффективности. Для грамположительной *Sarcina spp.* отмечен необычный

характер подавления роста с неравномерными зонами ингибирования, что требует дополнительного изучения механизмов действия.

Практическая значимость и перспективы исследований. Полученные результаты имеют важное значение для разработки новых природных антибактериальных препаратов, особенно актуальных в условиях роста антибиотикорезистентности. Выявленные биологически активные соединения представляют интерес для фармацевтической и пищевой промышленности. Перспективными направлениями дальнейших исследований являются: углубленное изучение механизмов антимикробного действия, выделение и характеристика индивидуальных активных компонентов, а также оценка их эффективности in vivo.

Таким образом, проведенное исследование позволило не только охарактеризовать новый штамм термофильных цианобактерий, но и выявить его значительный антибактериальный потенциал. Комплексный подход, сочетающий экспериментальные методы и компьютерное моделирование, доказал свою эффективность и может быть применен для изучения других перспективных микроорганизмов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Schopf J. W., Packer B. M. Early Archean (3.3-billion to 3.5-billion-year-old) microfossils from Warrawoona Group, Australia //Science. - 1987. - Т. 237. - №. 4810. - С. 70-73.
2. Guajardo-Leiva S. et al. Active crossfire between Cyanobacteria and Cyanophages in phototrophic mat communities within hot springs //Frontiers in microbiology. - 2018. - Т. 9. - С. 2039.
3. Keshari N. et al. Cyanobacterial community structure and isolates from representative hot springs of Yunnan Province, China using an integrative approach //Frontiers in microbiology. - 2022. - Т. 13. - С. 872598.
4. Guiry M. D. How many species of algae are there? A reprise. Four kingdoms, 14 phyla, 63 classes and still growing //Journal of Phycology. - 2024. - Т. 60. - №. 2. - С. 214-228.
5. Sherwani N. et al. Antibacterial and antifungal activities of cyanobacterial strains isolated from hot springs in Oman //Sultan Qaboos University Journal for Science [SQUJS]. - 2015. - Т. 20. - №. 1. - С. 11-19.
6. Carpine R., Sieber S. Antibacterial and antiviral metabolites from cyanobacteria: their application and their impact on human health //Current Research in Biotechnology. - 2021. - Т. 3. - С. 65-81.
7. Sandybayeva S. K. et al. Isolation and study of morphological and cultural properties of cyanobacteral community from hot springs in almaty region //Eurasian Journal of Ecology. - 2023. - Т. 75. - №. 2.
8. Colman D. R. et al. Covariation of hot spring geochemistry with microbial genomic diversity, function, and evolution //Nature Communications. - 2024. - Т. 15. - №. 1. - С. 7506.
9. Grabowski Ł. et al. Cyanobacteria and their metabolites-can they be helpful in the fight against pathogenic microbes? //Blue Biotechnology. - 2024. - Т. 1. - №. 1. - С. 4.
10. Debnath M., Mandal N. C., Ray S. The study of cyanobacterial flora from geothermal springs of Bakreswar, West Bengal, India //Algae. - 2009. - Т. 24. - №. 4. - С. 185-193.
11. Ciani M., Adessi A. Cyanoremediation and phyconanotechnology: cyanobacteria for metal biosorption toward a circular economy //Frontiers in Microbiology. - 2023. - Т. 14. - С. 1166612.
12. Hossain M. S., Okino T. Cyanoremediation of heavy metals (As (v), Cd (ii), Cr (vi), Pb (ii)) by live cyanobacteria (Anabaena variabilis, and Synechocystis sp.): an eco-sustainable technology //RSC advances. - 2024. - Т. 14. - №. 15. - С. 10452-10463.
13. De Philippis R., Micheletti E. Heavy metal removal with exopolysaccharide-producing cyanobacteria //Handbook of advanced industrial and hazardous wastes management. - CRC Press, 2017. - С. 931-964.

14. Potnis A. A., Raghavan P. S., Rajaram H. Overview on cyanobacterial exopolysaccharides and biofilms: role in bioremediation //Reviews in Environmental Science and Bio/Technology. - 2021. - Т. 20. - №. 3. - С. 781-794.

15. Guevara G. et al. Characterizing A21: Natural Cyanobacteria-Based Consortium with Potential for Steroid Bioremediation in Wastewater Treatment //International Journal of Molecular Sciences. - 2024. - Т. 25. - №. 23. - С. 13018.

16. Chan S. S. et al. Prospects and environmental sustainability of phyconanotechnology: a review on algae-mediated metal nanoparticles synthesis and mechanism //Environmental research. - 2022. - Т. 212. - С. 113140.

17. Kossalbayev B. D. et al. Biohydrogen production by novel cyanobacterial strains isolated from rice paddies in Kazakhstan //International Journal of Hydrogen Energy. - 2022. - Т. 47. - №. 37. - С. 16440-16453.

18. Abdelfatah S. H. et al. Spirulina platensis as a growth booster for broiler; Insights into their nutritional, molecular, immunohistopathological, and microbiota modulating effects //BMC Veterinary Research. - 2024. - Т. 20. - №. 1. - С. 11.

19. Luo G. et al. Manufacturing processes, additional nutritional value and versatile food applications of fresh microalgae Spirulina //Frontiers in Nutrition. - 2024. - Т. 11. - С. 1455553.

20. Fanari F. et al. Enhancing energy bars with microalgae: A study on nutritional, physicochemical and sensory properties //Journal of Functional Foods. - 2023. - Т. 109. - С. 105768.

21. Qazi M. W. et al. Improving the nutritional, structural, and sensory properties of gluten-free bread with different species of microalgae //Foods. - 2022. - Т. 11. - №. 3. - С. 397.

22. Koli D. K. et al. Nutritional, functional, textural and sensory evaluation of Spirulina enriched green pasta: A potential dietary and health supplement //Foods. - 2022. - Т. 11. - №. 7. - С. 979.

23. Albuquerque R. C. V. et al. Incorporation of Cyanobacteria and Microalgae in Yogurt: Formulation Challenges and Nutritional, Rheological, Sensory, and Functional Implications //Applied Microbiology. - 2024. - Т. 4. - №. 4. - С. 1493-1514.

24. Qamar H. et al. Cyanobacteria as natural therapeutics and pharmaceutical potential: Role in antitumor activity and as nanovectors //Molecules. - 2021. - Т. 26. - №. 1. - С. 247.

25. Dittmann E. et al. Natural product biosynthetic diversity and comparative genomics of the cyanobacteria //Trends in microbiology. - 2015. - Т. 23. - №. 10. - С. 642-652.

26. Wijewickrama M., Greene A., Cock I. Therapeutics from Cyanobacteria: A Review of Cyanobacteria-Derived Compounds as Anti-cancer Drug Leads //Pharmacognosy Reviews. - 2023. - Т. 17. - №. 34.

27. Hamida R. S. et al. Apoptotic Induction by Biosynthesized Gold Nanoparticles Using Phormidesmis Communis Strain AB_11_10 against Osteosarcoma Cancer //Biomedicines. - 2024. - Т. 12. - №. 7. - С. 1570.

28. Al-Nedawe R. A. D., Balia Z. N. Cyanobacteria as a Source of Bioactive Compounds with Anticancer, Antibacterial, Antifungal, and Antiviral Activities: A Review //Microbial Bioactives. - 2023. - T. 6. - №. 1. - C. 1-16.

29. Xie R. et al. Network pharmacology–based analysis of marine cyanobacteria derived bioactive compounds for application to Alzheimer's disease //Frontiers in Pharmacology. - 2023. - T. 14. - C. 1249632.

30. Murray C. J. L. et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis //The lancet. - 2022. - T. 399. - №. 10325. - C. 629-655.

31. Heidari F. et al. Antimicrobial activity of cyanobacteria isolated from hot spring of Geno //Middle-East Journal of Scientific Research. - 2012. - T. 12. - №. 3. - C. 336-339.

32. Nehul J. N. Assessment of Antibacterial Activity of a Cyanobacterium Phormidium fragile (Meneghini) Gomont //Clinical Trials and Case Studies. - 2024. - T. 3. - №. 6.

33. Parida S. et al. Assessment of Antimicrobial and Antioxidant Potential of Oscillatoria sancta and Oscillatoria proteus Isolated from Chilika Lake //Current Microbiology. - 2024. - T. 81. - №. 1. - C. 46.

34. Kar J. et al. Revisiting the role of cyanobacteria-derived metabolites as antimicrobial agent: A 21st century perspective //Frontiers in Microbiology. - 2022. - T. 13. - C. 1034471.

35. Carpine R., Sieber S. Antibacterial and antiviral metabolites from cyanobacteria: their application and their impact on human health //Current Research in Biotechnology. - 2021. - T. 3. - C. 65-81.

36. Brumley D. et al. Isolation and characterization of anaephenes A-C, alkylphenols from a filamentous cyanobacterium (Hormoscilla sp., oscillatoriales) //Journal of natural products. - 2018. - T. 81. - №. 12. - C. 2716-2721.

37. Gupta V., Vyas D. Antimicrobial effect of a cyclic peptide Nostophycin isolated from wastewater cyanobacteria, Nostoc calcicola //Curr. Bot. - 2021. - T. 12. - C. 94-101.

38. Al-Mousawi N. J. M., Al-Assadi I. J., Al-Aarajy M. J. Isolation, Identification and Antibacterial Activity of Alkaloid Compound N-Methylcytisine from Cyanobacterium Hapalosiphon Aureus //Biomedicine and Chemical Sciences. - 2023. - T. 2. - №. 2. - C. 119-124.

39. Verma D., Asthana R. K., Nath G. Antarctic cyanobacterium Nostoc CCC537, a new source of Î³-linolenic acid and its antibacterial potential //Chemical Biology Letters. - 2021. - T. 8. - №. 2. - C. 50-58.

40. Gutiérrez-del-Río I. et al. Chlorosphaerolactylates AD: The Natural Chlorinated Lactylates Isolated from the Portuguese Cyanobacterium Sphaerospermopsis Sp. LEGE 00249. - 2020.

41. Sandybayeva S. K. et al. Isolation, identification and pigment analysis of novel cyanobacterial strains from thermal springs //Plants. - 2024. - T. 13. - №. 21. - C. 2951.

42. Shanmugam A. et al. Antibacterial activity of extracted phycocyanin from Oscillatoria sp //Journal of Applied Pharmaceutical Science. - 2017. - Т. 7. - №. 3. - С. 062-067.

43. Venugopal V. C. et al. Phycocyanin extracted from Oscillatoria minima shows antimicrobial, algicidal, and antiradical activities: In silico and in vitro analysis //Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistryrrent Medicinal Chemistry-Anti-Inflammatory and Anti-Allergy Agents). - 2020. - Т. 19. - №. 3. - С. 240-253.

44. Anvar S. A. A., Nowruzi B., Afshari G. A review of the application of nanoparticles biosynthesized by microalgae and cyanobacteria in medical and veterinary sciences. - 2023.

45. Hamida R. S. et al. Synthesis of silver nanoparticles using a novel cyanobacteria Desertifilum sp. extract: their antibacterial and cytotoxicity effects //International journal of nanomedicine. - 2020. - С. 49-63.

46. Hanna A. L. et al. Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles produced by Phormidium ambiguum and Desertifilum tharense cyanobacteria //Bioinorganic Chemistry and Applications. - 2022. - Т. 2022. - №. 1. - С. 9072508.

47. Liang X. et al. Discovery and total synthesis of doscadenamide A: A quorum sensing signaling molecule from a marine cyanobacterium //Organic letters. - 2019. - Т. 21. - №. 18. - С. 7274-7278.

48. Kostylev M. et al. Evolution of the Pseudomonas aeruginosa quorum-sensing hierarchy //Proceedings of the National Academy of Sciences. - 2019. - Т. 116. - №. 14. - С. 7027-7032.

49. Pestana-Nobles R. et al. Docking and molecular dynamic of microalgae compounds as potential inhibitors of beta-lactamase //International Journal of Molecular Sciences. - 2022. - Т. 23. - №. 3. - С. 1630.

50. Widyaningrum D., Oktafika R. A., Cecilia D. Microalgae pigments as a promising immunomodulating food ingredient: In silico study //IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. - IOP Publishing, 2022. - Т. 998. - №. 1. - С. 012056.

51. Khanam A. et al. In-silico exploration of cyanobacterial bioactive compounds for managing diabetes: Targeting alpha-amylase and beta-glucosidase //Intelligent Pharmacy. - 2023. - Т. 1. - №. 4. - С. 232-243.

52. Kaushik B. D. Laboratory methods for blue-green algae. - Associated publishing company, 1987.

53. Borowitzka M. A., Borowitzka L. J. (ed.). Micro-algal biotechnology. - 1988.

54. *Пиневич Г.Д., Верзилин Н.Н., Михайлов А.А.* Изучение *Spirulina platensis* - нового объекта высокоинтенсивного культивирования // Физиология растений. 1970. Т.17. Вып. 5. С. 1037 - 1046.

55. *Владимирова М.Г., Барцевич Е.Д., Жолдаков И.А., Епифанова О.О., Маркелова А.Г., Маслова И.П., Купцова Е.С.* IPPAS - коллекция культур микроводорослей Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева АН СССР // В кн. Каталог культур коллекций СССР, М., (1991) с. 8 - 61

56. Waterborg J. H., Matthews H. R. The Lowry method for protein quantitation //Basic protein and peptide protocols. - 1994. - С. 1-4.

57. Bligh E. G., Dyer W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification //Canadian journal of biochemistry and physiology. - 1959. - Т. 37. - №. 8. - С. 911-917.

58. Singariya P., Kumar P., Mourya K. K. In-vitro Bio-efficacy of Stem extracts of Ashwagandha against Some Pathogens //Journal of Current Pharmaceutical Research. 2011d. – 2011. – Т. 8. – №. 1. – С. 25-30.

59. Ruangpan L., Tendencia E. A. Disk diffusion method. Laboratory manual of standardized methods for antimicrobial sensitivity tests for bacteria isolated from aquatic animals and environment. SEAFDEC //Aquaculture Department, Tigbauan. - 2004. - С. 13-29.

60. Perez C. Antibiotic assay by agar-well diffusion method //Acta Biol Med Exp. - 1990. - Т. 15. - С. 113-115.

61. PubChem [Электронный ресурс] // National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information. - Bethesda (MD), 2004-. - PubChem Compound Summary for CID 6433192. - Режим доступа: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6433192 (дата обращения: 26.05.2025).

62. PubChem [Электронный ресурс] // National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information. - Bethesda (MD), 2004-. - PubChem Compound Summary for CID 5280489, Beta-Carotene. - Режим доступа: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Beta-Carotene (дата обращения: 26.05.2025).

63. Brejc K. et al. Isolation, crystallization, crystal structure analysis and refinement of allophycocyanin from the cyanobacterium Spirulina platensis at 2.3 Å resolution //Journal of molecular biology. - 1995. - Т. 249. - №. 2. - С. 424-440.

64. Patel S.N., Sonani R.R., Gupta G.D., Upadhyaya C.T., Sonavane B.P., Singh N.K., Kumar V., Madamwar D. Crystal structure analysis of thermotolerant Oscillatoria Phycocyanin [Manuscript in preparation].

65. Soni B. R. et al. Structure of the novel 14 kDa fragment of α-subunit of phycoerythrin from the starving cyanobacterium Phormidium tenue //Journal of structural biology. - 2010. - Т. 171. - №. 3. - С. 247-255.

66. Powers R. A. et al. The complexed structure and antimicrobial activity of a non-β-lactam inhibitor of AmpC β-lactamase //Protein Science. - 1999. - Т. 8. - №. 11. - С. 2330-2337.

67. Martínez-Caballero S. et al. Integrative structural biology of the penicillin-binding protein-1 from Staphylococcus aureus, an essential component of the divisome machinery //Computational and Structural Biotechnology Journal. - 2021. - Т. 19. - С. 5392-5405.

68. Bordo D. et al. The three-dimensional structure of the nitrogen regulatory protein IIANtr from Escherichia coli //Journal of molecular biology. - 1998. - Т. 279. - №. 1. - С. 245-255.

69. Lu J. et al. Structures of kibdelomycin bound to Staphylococcus aureus GyrB and ParE showed a novel U-shaped binding mode //ACS chemical biology. - 2014. - Т. 9. - №. 9. - С. 2023-2031.

70. Bhuyar P. et al. Exploration of bioactive compounds and antibacterial activity of marine blue-green microalgae (Oscillatoria sp.) isolated from coastal region of west Malaysia //SN Applied Sciences. – 2020. – Т. 2. – С. 1-10.

71. Adeniyi-Martins O. et al. Antioxidant and antibacterial activities of Oscillatoria sp. and Chlorella sp //Journal of Scientific Research and Development. – 2023. – Т. 22. – №. 1. – С. 126-140.

72. Nayeem J. et al. Antimicrobial activity of indigenous Oscillatoria spp. against prevalent bacterial diseases in fish and shellfish //Aquaculture Reports. – 2025. – Т. 41. – С. 102654.

ОТЗЫВ РУКОВОДИТЕЛЯ
на дипломную работу Айжарықовой Нұржауған Мәліккызы

специальность 6B05101 – «Химическая и биохимическая инженерия»

Тема: «Оценка антибактериальной активности экстрактов цианобактерий, выделенных из горячих источников Алматинской области».

Дипломная работа Айжарыковой Нұржауған Мәліккызы посвящена крайне актуальной научной и прикладной проблеме – поиску новых природных антимикробных агентов в условиях нарастающей антибиотикорезистентности. В качестве объекта исследования были выбраны цианобактерии, выделенные из уникальной экосистемы — геотермальных источников Алматинской области. Эти микроорганизмы представляют собой перспективный биоресурс благодаря своей способности синтезировать термостабильные биологически активные соединения.

Работа выполнена на современном междисциплинарном уровне и охватывает как экспериментальные, так и компьютерные методы. Студенткой были последовательно решены все поставленные задачи: проведено выделение аксеничной культуры термофильной цианобактерии *Oscillatoria subbrevis*, дана её морфолого-культуральная характеристика, подобраны оптимальные условия культивирования, выполнена экстракция биомассы. Экстракты были протестированы на антимикробную активность *in vitro*, а также проведён молекулярный докинг предполагаемых метаболитов с ключевыми бактериальными мишенями — ферментами, участвующими в формировании антибиотикорезистентности. Такой подход позволил не только подтвердить наличие антибактериального потенциала, но и оценить его молекулярные механизмы действия.

Отличительной чертой дипломной работы является высокий уровень самостоятельности, глубокая проработка литературных источников, критический анализ полученных результатов, а также умение интерпретировать данные с позиции современной научной парадигмы. Автор уверенно владеет как базовыми микробиологическими и биохимическими методами, так и современными цифровыми инструментами *in silico*-моделирования.

Работа грамотно структурирована, логична, иллюстрирована наглядными схемами и таблицами, оформлена в соответствии с требованиями учебного заведения. В ходе выполнения дипломной работы студентка Нұржауған проявила высокий уровень ответственности, целеустремлённость, аналитическое мышление и искренний интерес к научной работе.

Дипломная работа Айжарықовой Нұржауған может быть рекомендована к защите с присвоением ей академической степени бакалавра естественных наук по специальности 6B05101 – «Химическая и биохимическая инженерия».

Научный руководитель:
PhD, преподаватель кафедры
Химической и биохимической инженерии
Сандыбаева С.Қ.

РЕЦЕНЗИЯ

на дипломную работу студенту 4 курса НАО «Казахский национальный исследовательский технический университет имени К.И.Сатпаева» специальности 6В05101 – «Химическая и биохимическая инженерия» Айжарықова Нұржауған Мәлікқызы на тему: «Оценка антибактериальной активности экстрактов цианобактерий, выделенных из горячих источников Алматинской области»

Дипломная работа посвящена актуальной и значимой теме, находящейся на стыке биотехнологии, микробиологии и фармакологии — исследованию природных антимикробных соединений, полученных из цианобактерий, обитающих в экстремальных условиях геотермальных источников. На фоне глобальной проблемы антибиотикорезистентности данное направление приобретает особую практическую значимость для разработки новых, экологически безопасных противомикробных средств.

В работе последовательно и грамотно реализован комплексный подход к оценке антибактериальных свойств цианобактерии *Oscillatoria subbrevis*, впервые выделенной из горячих источников Алматинской области. Автором проведена культурально-морфологическая характеристика штамма, оптимизированы условия его культивирования, обеспечена сбор и экстракция биомассы. Наряду с традиционными микробиологическими методами, работа отличается включением современных *in silico* подходов — молекулярного докинга предполагаемых метаболитов с мишенями патогенных бактерий, что существенно расширяет научный потенциал исследования и подтверждает его инновационный характер.

Научная новизна дипломной работы заключается в комплексном изучении ранее не охарактеризованного природного штамма *Oscillatoria subrevis* с позиции его антимикробной активности и метаболического потенциала. Практическая значимость определяется возможностью дальнейшего использования полученных данных при создании прототипов новых природных антибиотиков и расширением знаний о биоразнообразии термофильных цианобактерий Казахстана.

Структура работы логична, отражает научный подход к решению поставленных задач, каждая глава обоснованно дополняет предыдущую. Литературный обзор подготовлен на высоком уровне, содержит актуальные источники, включая современные зарубежные публикации. Методы исследования подробно описаны, результаты представлены в наглядной форме и проанализированы с точки зрения целей исследования.

Заключение:

Дипломная работа Айжарыковой Нұржауған Мәлікқызы выполнена на высоком научно-методическом уровне, полностью соответствует требованиям, предъявляемым к выпускным квалификационным работам бакалавра, и заслуживает оценки «отлично», а её автор — присуждения академической степени бакалавра по направлению «Химическая и биохимическая инженерия».

Рецензент:
к.б.н., доцент
кафедры биотехнологии
КазНУ имени аль-Фараби **Акмуханова Н.Р.**

Отчет подобия

Метаданные

Название организации
Satbayev University
Название
Оценка антибактериальной активности экстрактов цианобактерий, выделенных из горячих источников Алматинской области

Автор
Айжарықова Нұржауған МәлікқызыСандугаш Сандыбаева
Научный руководитель / Эксперт

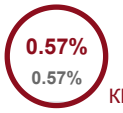
Подразделение
ИГиНГД

Объем найденных подобий

КП-ия определяют, какой процент текста по отношению к общему объему текста был найден в различных источниках.. Обратите внимание!Высокие значения коэффициентов не означают плагиат. Отчет должен быть проанализирован экспертом.

КП1

КП2



КЦ

25
Длина фразы для коэффициента подобия 2

9428
Количество слов

80479
Количество символов

Тревога

В этом разделе вы найдете информацию, касающуюся текстовых искажений. Эти искажения в тексте могут говорить о ВОЗМОЖНЫХ манипуляциях в тексте. Искажения в тексте могут носить преднамеренный характер, но чаще, характер технических ошибок при конвертации документа и его сохранении, поэтому мы рекомендуем вам подходить к анализу этого модуля со всей долей ответственности. В случае возникновения вопросов, просим обращаться в нашу службу поддержки.

Замена букв		21
Интервалы		0
Микропробелы		43
Белые знаки		0
Парафразы (SmartMarks)	a	0

Подобия по списку источников

Ниже представлен список источников. В этом списке представлены источники из различных баз данных. Цвет текста означает в каком источнике он был найден. Эти источники и значения Коэффициента Подобия не отражают прямого плагиата. Необходимо открыть каждый источник и проанализировать сожержание и правильность оформления источника.

10 самых длинных фраз

Цвет текста

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ И АДРЕС ИСТОЧНИКА URL (НАЗВАНИЕ БАЗЫ)	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)

из базы данных RefBooks (0.00 %)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)

из домашней базы данных (0.00 %)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)

из программы обмена базами данных (0.00 %)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)

из интернета (0.00 %)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	ИСТОЧНИК URL	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)

Список принятых фрагментов (нет принятых фрагментов)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	СОДЕРЖАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)