

УДК 574.64; 582.232

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ КЛЕТОК МИКРООРГАНИЗМОВ С ИОНАМИ ЗОЛОТА

Я.В. Саванина, А.Ф. Лебедева, Е.Л. Барский, М.В. Гусев

(кафедра физиологии микроорганизмов)

Клетки микроорганизмов поглощают из водной среды ионы различных металлов. Токсическое действие тяжелых металлов (ТМ) прежде всего сказывается на первичных продуцентах — микроводорослях и цианобактериях. Такие ТМ, как Cd, Cr, Ni, Hg, Pb, Au связываются клеточными оболочками, обнаруживаются в активно делящихся клетках; в минимальных концентрациях многие из них стимулируют фотосинтез и дыхание микроводорослей, но о физиологической роли и участии их в каких-либо специфических реакциях имеются лишь незначительные сведения. В частности, ионы золота используются в качестве микроэлемента бактериями *Micrococcus luteus* и *Bacillus megatherium* (Liu et al., 1999; Levchenko et al., 2002).

Золото (Au) — химический элемент I группы периодической системы с атомной массой 196,9665. Золото в чистом виде является химически устойчивым (благородным) металлом, что обусловлено аномально высоким значением первого потенциала ионизации (890 кДж/моль). Данное обстоятельство позволяет использовать его в химической и электронной аппаратуре, при контрастировании препаратов для электронной микроскопии (Fergusson et al., 1998; Thomas, Klibanov, 2003).

Коллоидное золото широко применяется в иммунохимических исследованиях. Наличие у гранул золота гидрофобных свойств и электростатического заряда на их поверхности стимулировало получение специфических маркеров с большим числом макромолекул, таких как антитела, пектины, ферменты, различные белки, гликопротеиды и полисахариды (Fergusson et al., 1998; Jimenes et al., 2005).

Растворение Au в водной среде происходит при образовании прочных комплексов Au с лигандами и окислителями (например, в царской водке с образованием золотохлористо-водородной кислоты). В присутствии воздуха или H_2O_2 в качестве окислителей O_2 адсорбируется на поверхности золота, после чего этот поверхностный слой вступает в реакцию с CN^- с образованием $AuCN$, а затем прочного комплекса $Au(CN)_2^-$, переходящего в раствор. Наиболее типичны для золота степени окисления I, III, и в ионной форме Au проявляет достаточно высокую токсичность, сопоставимую с токсичностью свинца. Ионы “благородных ме-

таллов” — золота, серебра, платины — образуют ковалентные комплексы преимущественно с такими лигандами, как иодид, бромид, цианид, цистеиновая SH-группа, имидазол, тиоэфиры, цистеиновый дисульфид и др., и поэтому относятся к “мягким” ионам (Паффедет, 1982).

В настоящее время уделяется большое внимание поиску энергосберегающих, природоохранных способов добычи и переработки золотосодержащих руд, одним из которых является микробиологическая геотехнология, позволяющая извлекать золото из руд, концентратов, пород и растворов, отходов промышленного производства с помощью микроорганизмов и продуктов их метаболизма. Обработка руд и концентратов производится по следующей схеме: измельчение руды — бактериальное выщелачивание — фильтрация — нейтрализация твердых остатков — цианирование.

1. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ С СОЕДИНЕНИЯМИ Au

1. При деструкции минералов

Взаимодействие микроорганизмов с соединениями Au можно рассматривать в двух аспектах — деструкции горных пород и минералов и их накопления. Происхождение золото-углеродистых отложений связано с тем, что органическое вещество бактериального происхождения участвует как в процессах растворения и миграции золота, так и в осаждении золота из растворов. “Нельзя не обратить внимание на частое нахождение золота с органическими веществами, которые, может быть, служат осадителями золота из водных растворов” (Вернадский, 1965).

Химическая миграция Au начинается с химического выветривания — выщелачивания, которое переводит золото в раствор. Процесс выщелачивания многократно усиливается под действием микроорганизмов. Прямое воздействие микроорганизмов на горные породы включает адсорбцию минеральных компонентов на поверхности клеток и прямое ферментативное окисление и восстановление переходных металлов и серы. Непрямое воздействие осуществляется органическими продуктами метаболизма микроорганизмов и соединениями, образующимися при разрушении минералов. Как правило, эти механизмы разрушения минералов и

горных пород взаимосвязаны (Boskey, 2003). При контактном взаимодействии происходит окисление или восстановление золота при непосредственном контакте микроорганизмов и продуктов их метаболизма с золотосодержащими породами и рудами. При неконтактном взаимодействии тонкодисперсное золото, ассоциированное чаще всего с сульфидными минералами, становится доступным для воздействия бактерий и/или продуктов их метаболизма в результате бактериального окисления нерастворимых соединений, главным образом сульфидов, в растворимые сульфаты. В трансформации пород и минералов участвуют аэробные хемолитотрофные бактерии, использующие неорганические субстраты окисления, и бактерии, обладающие "анаэробным дыханием", т.е. использующие неорганические акцепторы электронов, отличные от O_2 (Moiseenko, Marakushev, 2000; Rawlings et al., 2003).

Бактериальное выщелачивание Au осуществляется благодаря совокупности ряда химических реакций, включая окисление двухвалентного железа и других восстановленных металлов или элементарной серы и окисление нерастворимых сульфидов тяжелых металлов до растворимых сульфатов и серы. Образующаяся энергия используется бактериями, а ионы Fe^{3+} служат индикатором растворения и являются окислителями других ТМ в минералах.

Непрямое бактериальное выщелачивание ТМ связано с окислением Fe^{2+} до Fe^{3+} , при котором в кислой среде ТМ переходят в окисленную легко-растворимую форму. Химическое выщелачивание трехвалентным железом хотя и является энергетически выгодным процессом, протекает довольно медленно. Бактерии же при нормальных температурах и атмосферном давлении ускоряют процесс окисления на 2—3 порядка, при этом вновь образуется Fe^{2+} , окисляющий ТМ в минералах (Каравайко, 1985; Suzuki, 2001).

Чаще всего для извлечения Au, Cu, Zn, Co и др. из сульфидных минералов используются бактерии *Thiobacillus ferrooxidans*, *Th. thiooxidans* (Hitchins et al., 1988; Chong et al., 2002). Хемолитотрофные бактерии всегда присутствуют в средах с низкими значениями pH, содержащих сульфиды различных металлов, двухвалентное железо и восстановленные соединения серы: в рудных залежах и рудничных водах, болотной почве и воде, сероводородных источниках и промышленных сточных водах. Существуют как мезофильные формы, которые живут и размножаются при температурах 20—40°, так и термофильные, которые нуждаются в температурах выше 45° (Suzuki, 2001; Rawlings, 2002). При приемлемом для их существования pH среды они биокаталитически эффективны для сульфидных, оксидных, карбонатных и также некоторых силикатных руд.

Менее изучены хемолитотрофные и гетеротрофные микроорганизмы, которые способствуют высвобождению золота при трансформации силикатов. При этом разрушается устойчивая к химическому воздействию связь между кремнием и кислородом (Peters, 1986).

Синтезируемое хемолитотрофами органическое вещество может служить источником энергии и углерода для гетеротрофных микроорганизмов, способных адаптироваться к значениям pH 2—4. К их числу принадлежат бактерии родов *Bacillus*, *Micrococcus*, *Sarcina*, *Microsporium*; *Catellasporea*, *Sulfurihydrogenium* и *Desulfotomaculum* (Staldman, 2002; Takai et al., 2003). К данному уровню pH могут адаптироваться также дрожжи *Saccaromyces*, *Rhodotula*, *Saccharothrix*, грибы *Aspergillum*, *Penicillum*, *Fusarium* и микроводоросли — *Cyanidium*, *Chlorella*, *Chlamydomonas* (Ленгуорси, 1981; Lee et al., 2000). Некоторые из перечисленных микроорганизмов способны взаимодействовать с золотом, высвобожденным из руд ацидофильными хемолитотрофами, что значительно расширяет возможности биохимической трансформации золота.

2. При очистке золотосодержащих стоков

Для биологической очистки золотосодержащих сточных вод важны такие свойства микроорганизмов, как детоксикация стоков и концентрирование металлов (Eisler, 2003). Загрязнения сточных вод при золотодобыче связаны главным образом с цианидами, сопутствующими ТМ и металлоидами (Roussel et al., 2000; Tabak et al., 2003). Микробная обработка золотоарсенопиритовых концентратов позволяет окислить пирит до серной кислоты и сульфата железа и перевести мышьяк арсенопирита в нерастворимую соль. При этом высвобождается более 95% связанного золота (против 5—10% при прямом выщелачивании цианидами), а содержание мышьяка снижается до 2% (Каравайко, 1985). Бактерии, окисляющие арсенопирит, устойчивы к концентрациям арсената до 0,1 мг/л (Craw, Pacheco, 2002).

Многие виды бактерий, грибов, микроводорослей способны использовать цианид в качестве источника органического азота и углерода (Akciil, Mider, 2003). В частности, у *Th. ferrooxidans*, *Th. thiooxidans* и *Th. caldus* обнаружен фермент роданаза, который окисляет CN^- в тиоцианат (Gardner, Rawling, 2000).

Химический процесс цианирования можно заменить микробиологическим, используя бактерии-цианогены. Полученная в лаборатории биопленка *Chromobacterium violaceum* растворяет за несколько суток до 100% Au^0 с образованием комплексных соединений Au^{3+} . Увеличению продукции цианида способствует добавление в среды органических веществ (Campbell et al., 2001).

Альтернативой стадии цианирования в гидро-металлургическом процессе может служить микробиологическое растворение золота. С экономической точки зрения использование в качестве растворителя золота культуральной жидкости, содержащей аминокислоты и белки, рентабельно при содержании золота в исходной руде более 1,5 г/т (Каравайко, 1985).

Миграция веществ в водной среде осуществляется как в виде ионного стока, так и твердой взвеси, коллоидного раствора. Растворимая фракция ТМ включает органические комплексы, гидратированные ионы, неорганические соединения, комплексы с гидроксидом и другими ионами; в ионном виде в общей растворимой фракции содержится менее 0,5% ТМ. Для золота коллоидная форма миграции сопоставима с ионным стоком (Минеев, 1976).

В растворении золота участвуют как некоторые микроорганизмы, включая *Bacillus* sp., *Serratia marcescens* и *Agrobacterium tumefaciens*, так и продукты их метаболизма и/или разложения (Ляликова, Моикчеева, 1969; Паффедет, 1982). Органические вещества, являясь субстратами окисления, влияют на направленность окислительно-восстановительных реакций, определяя возможность миграции и концентрирования в первую очередь переходных металлов, а затем и других элементов. В присутствии хелатирующих органических лигандов как природных (гумусовые кислоты, аминокислоты, полипептиды, пирокатехин, фруктоза), так и искусственных (ЭДТА, цитрозоацетат) происходит спонтанное образование комплексных соединений ТМ, которым принадлежит ведущая роль в растворении, переносе и концентрировании металлов органическими веществами. Золото наиболее часто мигрирует в виде комплексных соединений с Cl^- , Br^- , SCN^- , CN^- . Комплексные соединения Au формируются в кислой среде, в частности под действием продуктов окисления сульфидов тионовыми бактериями (Lakin et al., 1974).

В результате жизнедеятельности микроорганизмов в среде культивирования накапливаются аминокислоты, органические и нуклеиновые кислоты, а также ферменты. В присутствии окислителей аминокислоты наиболее активно растворяют золото с образованием комплексных соединений. По комплексообразующей способности аминокислоты располагаются в ряду: цистеин > гистидин > аспарагин > метионин > глицин, лейцин, серин, фенилаланин, триптофан > лизин (Минеев, 1976; Каравайко, Верникова, 1989).

Истинные растворы золота могут быть получены только при избытке аминокислот: при соотношении золота и аминокислот менее чем 1 : 10 происходит восстановление золота до металла и образование тонкодисперсных коллоидных систем с диаметром частиц менее 1 мкм. Восстановление

золота наиболее быстро и полно происходит также в кислой среде, в роли восстановителей могут быть практически все аминокислоты (Минеев, 1976). Помимо органических соединений стабилизаторами коллоидных частиц золота в природе являются кремнезем, карбонат натрия, гидроокись железа, чем, по-видимому, и объясняется наличие высокодисперсного золота в каолине и мусковите (Lakin et al., 1974).

Осаждение золота из растворов и его микробиологическое концентрирование происходит на так называемых "биогеохимических барьерах". Существование биогеохимических барьеров связано с наличием многочисленных границ между разными компонентами природной среды. В каждом из компонентов существует свое равновесное состояние вещества, а при переходе границы вещество попадает в иную среду, где создаются другие условия для равновесия. Тяжелые металлы могут концентрироваться на окислительном, кислородном, сероводородном, сорбционном биогеохимических барьерах (Заварзин, 2003).

3. Накопление золота клетками микроорганизмов

Удаление и концентрирование ТМ из промышленных стоков, природных водоемов и почв, определяемые способностью некоторых гетеротрофных микроорганизмов, в частности бактерий и дрожжей, аккумулировать большие количества ТМ, — одно из важнейших направлений биотехнологии металлов. Микроводоросли и цианобактерии наравне с гетеротрофными микроорганизмами могут быть использованы для детоксикации и извлечения ценных металлов из металлосодержащих стоков, поскольку способны как переводить ТМ в менее опасные формы, так и аккумулировать металлы из водной среды и донных отложений в количестве, многократно превышающем потребность в них как в компонентах минерального питания (Whiston et al., 1995). По разным оценкам, за счет связывания ТМ клетками микроводорослей удаляется из среды от 20 до 96% добавленных металлов (Nagase et al., 1994; Eisler, 2003).

Накапливаются как метаболически важные металлы, так и те, которые в метаболизме не используются, включая золото. Концентрация золота в водной среде крайне низка: в морской воде содержится от 0,4 до 133 пМ золота, в пресной — от 0,5 до 660 пМ. Клетки бактерий накапливают до 7 мг золота/г сухой биомассы, что сопоставимо с концентрационным фактором железа, пресноводные водоросли — до 25 мг/г, биомасса грибов, включая дрожжи — до 100 мкг/г (Eisler, 2003). Для клеток *Bacillus* sp., предварительно адаптированных к золоту, способность к накоплению ТМ снижается в ряду $\text{Au}^{3+} > \text{Mn}^{2+} > \text{Cu}^{2+} > \text{Fe}^{3+} >$

$> \text{Ni}^{2+} > \text{Co}^{2+}$ (Andres et al., 2003). Цианобактерии также способны к аккумуляции золота, в частности *Spirulina platensis* накапливает золото в форме Au^{3+} (Карамушка и др., 1995).

К числу механизмов накопления металлов относятся биосорбция, биоаккумуляция и взаимодействие со вторичными метаболитами. В аккумуляции золота клетками микроорганизмов можно выделить фазу адсорбции металлов на поверхности клеток (быстрая фаза накопления) и последующую более медленную фазу связывания ионов золота с внутриклеточными компонентами. Накопление Au клетками микроорганизмов зависит от pH, концентрации Au, возраста и состояния культуры и др. и определяется количеством и реакционной способностью связывающих участков, активностью транспортных систем и формой, в которой металл присутствует в среде, включая степень окисления (Au^0 , Au^+ или Au^{3+}) и наличие и активность лигандов: степень аккумуляции большинства металлов выше в виде свободных ионов или неорганических комплексов. Изменения, снижающие подвижность ионов ТМ, снижают и аккумуляцию (Tsuruta, 2004).

В клетках дрожжей до 50% Au связано с фрагментами клеточных стенок и до 20% — с фрагментами цитоплазматических и лизосомальных мембран. В клетках *Pseudomonas aeruginosa* гранулы Au^0 диаметром 2–40 нм сконцентрированы в клеточной стенке, в периплазматическом пространстве и на поверхности цитоплазматической мембраны (Коробушкина и др., 1987; Karthikeyan, Beveridge, 2002). Суммарное накопление ТМ клеточными оболочками цианобактерий *Anacystis nidulans* и *Nostoc muscorum* оценивается в 20–35% (Лебедева и др., 1993).

Адсорбция ТМ на клеточных оболочках у различных групп микроорганизмов является лимитирующей стадией процесса аккумуляции. Накопление ионов и взвесей металлов в ближайшем окружении клеток цианобактерий и микроводорослей объясняется большой катионной емкостью их клеточных оболочек, клеящих слизи, чехлов и клеточных выделений. Адсорбция Au^{3+} , Ag^+ , Cu^{2+} , Sr^{2+} на внеклеточных полисахаридах (ВПС) при концентрациях ТМ $< 0,05$ М превышает таковое для клеточных оболочек на один-два порядка. Наблюдаемый эффект может быть связан с образованием комплексов Me^{n+} –ВПС (Эстрела-Льопис и др., 2003).

Связывание ионов золота клетками бактерий обусловлено на начальном этапе электростатическим взаимодействием с отрицательно заряженными группами белков, углеводов, липопротеидов и гликопротеидов. Гликопротеид с молекулярной массой около 50 кДа, выделенный из клеточных стенок *Pseudomonas* sp. и *Bacillus* sp., связывает частицы коллоидного золота. Сорбционная способ-

ность клеток *Micrococcus luteus* снижается при частичном разрушении оболочек клеток как лизоцимом, так и трипсином (Moiseenko, Marakushev, 1990, 2000).

Различия в накоплении соединений золота грамположительными и грамотрицательными бактериями обусловлены степенью гидрофобности и электростатическим зарядом исследуемых соединений, с одной стороны, и различиями в строении внешних оболочек микроорганизмов — с другой. Грамположительные бактерии преимущественно накапливают тетрахлораурат, а грамотрицательные бактерии *Acinetobacter calcoaceticus*, *Erwinia herbicola*, *Ps. aeruginosa* и *Ps. maltophilia* в основном накапливают дицианоурат. В значительно меньшей степени грамположительные бактерии накапливают дицианоурат (Tsuruta, 2004). Воздействие низких концентраций органических растворителей на клетки *Ps. aeruginosa* приводит к разрушению внешней мембраны, при этом уровень накопления UO_2^{2+} клетками возрастает, т.е. внешняя мембрана грамотрицательных бактерий, включая цианобактерии, препятствует адсорбции ТМ на гликопротеидах клеточной оболочки (Hu et al., 1996), но принимает участие во взаимодействии клеток с коллоидным золотом. После аналогичной обработки органическими растворителями клетки *B. cereus* и *Ps. alcaligenes* перестают связывать коллоидное золото (Карамушка et al., 1990; Savvaidis, 1998).

Адсорбционные свойства клеток зависят от величины поверхностного заряда, который в свою очередь определяется количеством диссоциированных ионогенных групп на клеточной поверхности. Степень диссоциации этих групп зависит от pH среды. Зеленая водоросль *Chlorella vulgaris* имеет высокое сродство к соединениям Au^+ и Au^{3+} при pH ~ 3. В этих условиях клетки накапливают более 10% золота в расчете на сухую массу. Клетки цианобактерии *S. platensis* и бактерии *Ps. maltophilia* также способны извлекать Au из раствора при низких значениях pH в отличие от дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и актиномицетов *Streptomyces erythraeus* (Savvaidis, 1998; Tsuruta, 2004).

Поверхностное связывание ионов ТМ достаточно лабильно, они легко вытесняются H^+ , двухвалентными и поливалентными катионами. Большую часть ионов Au можно экстрагировать из клеток разбавленными или концентрированными кислотами (для золота наиболее эффективна HCl), NaOH, раствором ЭДТА, тиомочевины, что позволяет многократно использовать биомассу в адсорбционно-десорбционном цикле для очистки среды от ТМ (Chu et al., 1997; Tsuruta, 2004).

Нитчатые цианобактерии образуют войлокоподобную структуру — мат. В его состав помимо клеток цианобактерий входит внеклеточный матрикс (чехлы и ВПС), а также гетеротрофный компонент (грибы, бактерии, актиномицеты). Состав

гетеротрофных микроорганизмов зависит от таксономического положения цианобактерий и экологических условий и включает ряд доминирующих и минорных видов (Держинская и др., 1996). Динамика численности сопутствующих микроорганизмов в определенной степени зависит от токсических воздействий. В природных и искусственных сообществах, включающих аборигенные бактерии из придонных отложений промышленных водоемов и лабораторные штаммы цианобактерий, автотрофные микроорганизмы выделяют органические субстраты, которые поддерживают рост бактерий и способствуют накоплению ионов и взвесей металлов в ближайшем окружении клеток, бактерии в свою очередь обеспечивают окисление, восстановление и осаждение связанных ионов ТМ. Такие сообщества представляют автономные биологические системы, структурная организация и ферментное разнообразие которых позволяют им в природных и техногенных водных экосистемах противостоять стрессовым ситуациям и использовать в метаболизме вещества, традиционно относимые к токсикантам. Природными и искусственными “микробными пленками” из водной среды аккумулируется до 98% растворенных металлов и металлоидов, таких как Pb, Cd, Zn, Co, Cr, Fe, Mn, Se и As (Bender et al., 1995). Такому сорбционному барьеру приписывают образование золоторудных месторождений Витватерсранда Южной Африки (Заварзин, 2003).

В процессе сорбции ионов Au^{3+} на клеточной оболочке и внеклеточных полисахаридах цианобактерий и микроводорослей происходит их восстановление до Au^0 и его кристаллизация (Эстрела-Льопис и др., 2003). Подобный эффект наблюдается у дрожжей *Candida utilis*, бактерий *M. luteus* и *Ps. aeruginosa* (Коробушкина и др., 1987; Moiseenko, Marakushev, 2000). До 95% Au^{3+} , адсорбированного клетками, *B. megatherium* восстанавливается на клеточной поверхности в Au^0 , образуя кристаллы (Liu et al., 2000). На поверхности полученной в лаборатории биопленки *Ps. aeruginosa*, обработанной $AuCl_3$ в концентрации 0,01–5 мМ, обнаруживается образование внутри- и внеклеточных коллоидных частиц Au диаметром 0,01–0,5 мкм; образование кристаллов Au^0 происходит главным образом внутри клеток (Karthikeyan, Beveridge, 2002).

Взаимодействие бактерий с частицами коллоидного золота (аккреционный путь минералообразования) может происходить как: 1) адсорбция золота на поверхности клетки без изменения размеров частиц; 2) адсорбция золота с одновременным укрупнением частиц; 3) адсорбция и осаждение крупной золотобактериальной массы; 4) укрупнение частиц золя без заметной адсорбции на поверхности клеток (Andres et al., 2003).

Изменение агрегативной устойчивости золя золота возможно как благодаря повышению концент-

рации противоиона сверх порога коагуляции под действием бактериальных метаболитов (флокуляция), так и за счет увеличения растворимости золя благодаря окислительному комплексообразованию с последующим восстановлением ионов золота клеточными донорами электронов.

В аэробных условиях на поверхности клеток *M. luteus* адсорбируется до 50 мг/г сухой биомассы коллоидного Au, тогда как в анаэробных условиях накопление Au заметно снижается (Moiseenko, Marakushev, 1990). Взаимодействие комплексов Au^{3+} с гликопротеидами клеточной стенки с образованием тетрахлороауратов ингибируется азидом (Karamushka et al., 1990).

Флокулировать золь золота способны только живые клетки, и возраст культур не оказывает существенного влияния на их активность. Скорость флокуляции коллекционных штаммов на несколько порядков ниже, чем у изолированных аборигенных культур. Быстро растущие эвтрофные бактерии (*Pseudomonas*, *Rhizobacterium*, *Spirillum*) менее эффективно взаимодействуют с золем золота, чем представители медленно растущих олиготрофов (*Microcystis*, *Hiphomicrobium*).

Частицы монодисперсного золя золота образуют цепочки и скопления на поверхности клеток *Ps. stutzeri*. Более значительна степень флокуляции у клеток *Ps. cereus*: частицы золота размером 10 нм связываются с полисахаридным слоем клеточной стенки, укрупняются до размеров 30–40 нм и затем слипаются, образуя характерные гроздьи. У *Ps. alcaligenes* и *Flavobacterium rigence* можно наблюдать картину гетерокоагуляции: агрегаты частиц золота как бы склеивают клетки, образуя плотную золотобактериальную массу. В отдельных случаях способностью флокулировать коллоидальное золото обладают не только вегетативные клетки, но и споры (Tanimoto et al., 1996; Jenkins et al., 2004).

Другой путь минералообразования связан с собирательной перекристаллизацией: на поверхности клеток *B. subtilis*, *Ps. alcaligenes*, *B. cereus* и *M. luteus* образуются игольчатые кристаллы золота диаметром 1–5 мкм. Кристаллы золота образуют сростки или располагаются поодиночке, в ряде случаев можно наблюдать образование “шубы” из игольчатых кристаллов на поверхности клеток (Liu et al., 2000; Jenkins et al., 2004).

Около 50% поглощенных ТМ аккумулируются внутренними структурами клеток цианобактерий *A. nidulans* и *N. muscorum* (Лебедева и др., 1993). Золото в клетках дрожжей *C. utilis* связывается преимущественно тиолсодержащими внутриклеточными структурами, включая микротрубочки клеточного скелета, актинсодержащие структуры (Sadovsky-Losika et al., 2002; Jimenes et al., 2005).

Взаимодействие белков с частицами коллоидного золота *in vitro* включает электростатическое и хемосорбционное связывание с функциональными

группами аминокислотных остатков. Положительно заряженные белки при pH 7,6 (трипсин, лизоцим, папаин, РНКаза и др.) определяют снижение электрокинетического потенциала и флокуляцию частиц золя золота. О преобладающей роли электростатических сил свидетельствует также зависимость связывания частиц золя белками от величины pH. В присутствии п-хлормеркурибензоата, реагента на SH-группы, наблюдается снижение флокулирующей активности белков, что свидетельствует о специфическом связывании золота тиоловыми группами аминокислотных остатков, а также о важной роли таких тиолсодержащих соединений, как цистеин, тиогликолиевая кислота, глутатион (GSH) во вне- и внутриклеточном связывании ионов золота (Hidham et al., 1986; Basch, Rather, 2004).

II. ВЛИЯНИЕ ИОНОВ ЗОЛОТА НА СТРУКТУРУ И МЕТАБОЛИЗМ МИКРОБНОЙ КЛЕТКИ

Исследование эффектов ионов золота на структуру, физиологические процессы и биохимические реакции эукариотных клеток получило значительное развитие в начале 20-х гг. XX в. при обнаружении терапевтического эффекта соединений Au^+ при лечении ревматоидного артрита. Наиболее изучено воздействие Au^+ -тиолатных и фосфиновых комплексных соединений (Sigler, 1983; Nomiya et al., 2000). Комплексные соединения ионов золота растворяются в фосфолипидных мембранах и липопротеидных комплексах, восстанавливаются и концентрируются в лизосомах, называемых в этом случае ауросомами. Комплексные соединения золота легко проходят в клеточное ядро; коллоидные частицы золота облегчают перенос плазмид в клетки млекопитающих (Thomas, Klibanov, 2003). Воздействие ионов золота проявляется в подавлении активности протеолитических ферментов, Se-содержащей GSH-пероксидазы, а также в ингибировании синтеза ДНК, РНК и белка (Scallan, Fazerkerley, 1999; Criado et al., 2003).

Следует отметить, что взаимодействие комплексных соединений золота с клетками прокариотных организмов, постоянно контактирующих с золотом в природе, исследовано гораздо слабее. Естественный отбор приводил к образованию золототолерантных штаммов микроорганизмов с уникальными молекулярными механизмами обезвреживания токсичных соединений золота.

Ионные и комплексные соединения Au^+ и Au^{3+} характеризуются достаточно высокой токсичностью, антибактериальным и цитостатическим эффектом: тиолатный комплекс Au^+ в концентрациях до 1 мкг/мл подавляет рост бактерий, грибов и простейших (Novelli et al., 1999; Tiekink, 2002). Токсичность комплексных соединений Au в значительной степени определяется активностью лигандов, определяющих не только интенсивность ак-

кумуляции, но и интенсивность выведения комплексного соединения из клетки: фосфиновые комплексы Au в большей степени растворимы в мембранных липидах и характеризуются меньшей степенью аккумуляции и меньшей токсичностью (Tiekink, 2002). Фосфиновый комплекс Au^{3+} токсичен для *B. subtilis* и *B. cereus*, но существенно менее эффективен в случае дрожжей *C. albicans* (Nomiya et al., 2000; Nomiya et al., 2003). Au^0 также проявляет токсический эффект: коллоидное золото при ультрафиолетовом облучении окисляет тиолы до дисульфидов (Li, Beng, 2004), металлическое или амальгамное золото зубных протезов подавляет рост бактерий в зубной бактериальной пленке (Auschill et al., 2002).

Токсический эффект ионов таких металлов, как Cd, Cu, Hg, Ag и Au, обусловлен преимущественным взаимодействием этих ТМ с сульфгидрильными группами. Основной механизм их воздействия — ингибирование ряда мембранных процессов при взаимодействии с SH-содержащими соединениями мембран и снижение физиологически доступного фонда GSH при образовании комплексных соединений с ТМ (Fauchon et al., 2002). Таким образом, в условиях накопления клетками ТМ обнаруживается сдвиг в окислительную сторону соотношения тиолы/дисульфиды, а также усиление перекисного окисления липидов вне зависимости от механизма токсического действия ТМ. За первоначальной реакцией — взаимодействием с тиолсодержащими компонентами клетки — следует каскадный ответ более сложных молекул и их агрегатов и как конечный результат — влияние металла на физиологические процессы в клетке.

Мембранная проницаемость — интегральный показатель, характеризующий структурную целостность и функциональную активность липидного и белкового компонентов мембран. Воздействие Au^{3+} и Au^0 нарушает обмен ионов, их транспорт, преобразование энергии, поддержание концентрационных градиентов в клетке (Karamushka et al., 1990; Gruzina et al., 1997, 2003). Увеличение проницаемости мембран может зависеть как от снижения количества SH-групп и увеличения дисульфидных связей, так и от образования дефектных областей в липидах в результате накопления свободных жирных кислот и продуктов перекисного окисления мембранных липидов (Ochiai, 1995).

Процессы адсорбции, флокуляции и перекристаллизации коллоидного золота могут быть связаны с работой дыхательной цепи и генерацией на цитоплазматической мембране бактериальной клетки трансмембранного электрохимического потенциала. Снижение скорости связывания частиц золота клетками *B. cereus* и *Ps. alcaligenes* обнаруживается в присутствии протонотворных разбавителей фенольной природы — 2,4-динитрофенола и пентахлорфенола, являющихся трансмембранными

переносчиками H^+ , а также каналоформера грамицидина D, создающего трансмембранный канал преимущественно для одновалентных катионов (Tanimoto et al., 1996). В восстановлении комплексных соединений золота участвует цитохромоксидазный компонент дыхательной цепи (Маракушев и др., 1988).

Снижение скорости укрупнения золя коллоидного золота на поверхности клеток бактерии *B. cereus* под действием $HgCl_2$ объясняется конкуренцией ионов Hg^{2+} и Au^{3+} , взаимодействующих с сульфгидрильными группами и такими лигандами, как гистидин, аргинин и метионин (Маракушев и др., 1988).

Сродство цистеина к Au^+ даже выше, чем сродство цианида. Подтверждением тому может служить обнаруженное двукратное уменьшение адсорбции золота на поверхности бактериальных клеток в присутствии р-хлормеркурибензоата. В присутствии таких тиоловых соединений, как пенициллин, глутатион и тиомалат, наблюдается замещение цианида в комплексном соединении $Au(CN)_2^-$ и образование смешанно-лигандного комплекса (Levis, Shaw, 1986).

Золото преимущественно связывается с тиолсодержащими компонентами клетки, включая актинсодержащие структуры, металлотioneины (MT), глутатионовые пептиды (GSH), что используется при изучении их распределения в клетке (Sadovsky-Losika, 2002; Basch, Rather, 2004; Zechmann et al., 2005). Неспецифическое связывание Au с SH-группами белков приводит к ингибированию таких ферментов, как роданаза, тиосульфатоксидаза и GSH-пероксидаза, протеолитических ферментов и др. (Peters, 1986). Ионы Au^+ подобно своим стереохимическим аналогам Pt^{2+} , Pd^{2+} и комплексам рутения могут образовывать тройные комплексы между аминокислотными остатками, Au^+ и нуклеотидными основаниями (Kasselouri et al., 1987). Препарат Au^+ ингибирует синтез ДНК, РНК, белка, связанный с получением тимидина, лейцина и урацила (Criado et al., 2003). Считается, что подобное химическое взаимодействие является основным механизмом возникновения антиопухолевого эффекта при действии соединений этих металлов: ингибирование синтеза ДНК приводит к подавлению клеточного деления (Паффедет, 1982; Tiepink, 2002; Zhang, Lippard, 2003).

III. УСТОЙЧИВОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ

Микроводоросли, цианобактерии и гетеротрофные бактерии накапливают ТМ в концентрациях, многократно превышающих как их содержание в водной среде, так и физиологически необходимое количество. Устойчивость к воздействию ТМ определяется комплексом взаимодополняющих процессов, включая снижение проницаемости клеточных мембран для металлов; выведение металлов из кле-

ток и детоксикацию металлов в среде, на поверхности и внутри клеток. Ионы ТМ, накопленные клетками микроорганизмов, при определенных концентрациях угнетают их жизнедеятельность, нарушают физиологические процессы, в том числе и механизмы, регулирующие содержание ТМ в клетках. Дальнейшее нерегулируемое поступление ТМ может привести к гибели клеток (Ochiai, 1995).

Влияние внешних условий на устойчивость клеток к ТМ, как правило, опосредовано: изменения, снижающие подвижность ионов ТМ, снижают и аккумуляцию. Толерантность бактерий *Thiobacillus* к ионам золота в значительной степени связана с тем, что накапливающиеся в результате их жизнедеятельности Fe^{3+} и H^+ препятствуют проникновению в клетку ионов Au (Каравайко, Верникова, 1989).

Механизмы устойчивости клеток к ТМ, не зависящие от факторов внешней среды, можно условно подразделить на две группы. "Внеклеточные" механизмы устойчивости микроводорослей и цианобактерий определяются высокой катионной емкостью клеточных стенок, клеящих слизей, чехлов и клеточных выделений, которые выполняют барьерную функцию между клеткой и окружающей средой. Общая экскреция внеклеточного органического вещества фитопланктоном оценивается в 7–50% от всего фиксированного углерода, его происхождение связано с размножением клеток, реассимиляцией и процессом автолиза; цианобактерии *N. muscorum* выделяют до 1 г внеклеточных метаболитов на 1 г сухой биомассы (Adhikary, 1998).

При концентрациях Au^{3+} , Ag^+ , Cu^{2+} , Sr^{2+} < 50 мМ наблюдается резкое увеличение выделения внеклеточных метаболитов и увеличение отрицательного поверхностного заряда клеток микроводорослей *Chl. vulgaris*, цианобактерий *S. platensis*, дрожжей *Sac. cerevisiae*, бактерий *B. cereus* и *Ps. cepacia*. Предположительно, усиленное выделение экзометаболитов вызывается ионами металла, которые, проникая в клетку, воздействуют на ее метаболизм (Hidham et al., 1986; Эстрела-Льопис и др., 2003). Выделяемые цианобактериями в присутствии ТМ биофлокулянты представляют собой полианионные соединения с молекулярной массой более 200 кДа, включающие до 2% галактуроновой и глюкуроновой кислот. В состав внеклеточного флокулянта, выделяемого *Anabaena* sp., входят нейтральные сахара, органические кислоты и белки. Связывание ТМ осуществляется благодаря карбоксильным группам и сульфогруппам полисахаридов (Bender et al., 1995; Won et al., 1998).

"Эндогенная" устойчивость к ТМ обеспечивается внутриклеточными перестройками и изменениями метаболизма, направленными на изоляцию или связывание ионов металлов с последующим выведением их из клеток или локализацией в них.

У устойчивых штаммов бактерий образуются комплексы белков и ферментных систем, обеспечивающих связывание и редокс-превращения ТМ, а также АТФ-зависимые ионные каналы, ответственные за откачивание токсичных ионов из клеток (Nies, Silver, 1995).

Сублетальные концентрации ТМ часто приводят к стимуляции некоторых физиологических процессов, направленных на поддержание внутренней структуры и обмена веществ в клетках, которое сопровождается истощением энергетических ресурсов. Au^{3+} в сублетальной концентрации стимулирует окисление серы и двухвалентного железа в клетках *Th. ferrooxidans* (Минеев, 1976). Детоксикация ТМ так или иначе связана с активацией фотосинтеза и дыхания, наблюдаемой в первые часы воздействия ионов Au, Ag, Cu и Fe на клетки *N. muscorum*, *D. salina* (Verma, Singh, 1995; Devars et al., 2000).

В качестве механизмов физиологической адаптации можно рассматривать гипераккумуляцию ионов ТМ и их восстановление внутри клеток. Гипераккумуляция Ni, Pt, Cu, Hg, Sb фототрофными микроорганизмами разных групп осуществляется при участии биополимеров или металлооксидоредуктаз (Nies, Silver, 1995; Wakatsuki, 1995).

Механизмы устойчивости к золоту могут реализовываться посредством интенсификации восстановления ионов Au, при этом растворимое токсичное соединение переходит в недоступную форму. Неспецифическое восстановление Au^{3+} до коллоидного Au^0 при растворении нейтральных комплексов Au^{3+} в таких растворителях, как метанол, этанол и диметилсульфоксид существенно ослабляет его цитотоксический эффект (Carrasco et al., 2001). Восстановление ионов Au^{3+} на клеточной оболочке и внеклеточных полисахаридах до Au^0 и его кристаллизация наблюдаются у цианобактерий и микроводорослей, дрожжей *C. utilis*, бактерий *M. luteus*, *Th. ferrooxidans*, *Pseudomonas* sp. и др. (Коробушкина и др., 1987, Эстрела-Льопис и др., 2003; Liu et al., 1999).

В восстановлении ионов Au^+ , Au^{3+} участвуют системы переноса электронов, локализованные как в цитоплазматической, так и митохондриальной мембране. Комплексные соединения Au^{3+} восстанавливаются биомассой водорослей *Chlorella* sp. до Au^+ (Watkins et al., 1987).

У различных организмов в функционировании систем детоксикации принимают участие лизосомы, разнообразные метаболически инертные гранулы и специфические металлосвязывающие соединения, такие как МТ и гамма-Glu-Cys-пептиды, включая глутатион. Эти соединения характеризуются низким молекулярным весом и высоким содержанием SH-групп, что позволяет им образовывать с различными металлами хелатные комплек-

сы с высокими константами стабильности (Rausser, 1999).

Сульфгидрильные группы белков являются основными внутриклеточными лигандами Au^+ и Au^{3+} у бактерий *Ps. aeruginosa*, дрожжей *C. albicans*, позвоночных животных (Lisdar, Karube, 2002; Jimenes et al., 2005).

Первоначально в связывании ионов ТМ принимает участие глутатион, полученный комплекс нестабилен и содержит один цистеиновый остаток. Ионы Au^+ , связываясь с анионными участками белков в присутствии таких лигандов, как SH-группы цистеина, способны образовывать тетраэдрические комплексы (Levis, Shaw, 1986; Basch, Rather, 2004; Конопка et al., 2004). Связанные ионы ТМ могут переноситься с глутатиона на γ -глутамилцистеиновые пептиды, образуя 2–3- или 4-координатные комплексы в зависимости от длины пептидов (Nyberg, Zhou, 1995; Zechmann et al., 2005).

В качестве центрального звена во всех современных схемах детоксикации токсичных металлов рассматриваются МТ. Эти представления базируются на уникальных свойствах и повсеместном распространении МТ. Для этой группы белков характерны молекулярная масса до 10 кДа и высокое содержание цистеина (до 33%). У большинства МТ все остатки Cys депротонированы и служат лигандами ионов ТМ в соотношении около трех лигандов на ион металла; связываются в среднем 7 двухвалентных ионов ТМ или до 12 одновалентных Cu^+ , при этом формируются специфические кластеры (Zheng et al., 2004; Jimenes et al., 2005).

В некоторых случаях формируются смешанные структуры, содержащие ионы разных металлов, при формировании которых важны как относительные объемы ионов, так и их сродство к тиолатным лигандам: Au^+ или Au^{3+} в первую очередь замещает цинк в составе МТ, а при избытке Au-содержащих комплексных соединений замещается и кадмий, при этом формируются кластеры, содержащие Au, Cu, Zn или Cd в различных соотношениях (Laib et al., 1985).

Как правило, высокомолекулярные комплексы ТМ локализуются в цитоплазме и вакуолях, а низкомолекулярные — в цитоплазме. В низкомолекулярных комплексах преобладают моно- и дитиолы (Nyberg, Zhou, 1995). Вакуолизация цитоплазмы и появление плотных включений в вакуолях под действием ТМ наблюдаются в клетках *Dunaliella salina*, *Chlamydomonas bullosa* и *Tetraselmis suecica* (Nassiri, Ginsburger-Vogel, 1995). В организме животных ионы Au восстанавливаются и концентрируются в лизосомах, называемых в этом случае ауросомами.

В деградации высокомолекулярных комплексов ТМ и выведении их из клеток также участвует глутатион: в клетках *Phaeodactium tricornutum*, обра-

ботанных Cd и Pb, при росте на среде, свободной от ТМ, снижается количество ФХ и увеличивается содержание свободного глутатиона (Morelli, Scarpino, 2001). Снижение окислительно-восстановительного потенциала среды культивирования бактерий *Ps. diminuta* и цианобактерий *Nostoc* sp. в присутствии добавленного золота, по-видимому, обусловлено накоплением в клетках низкомолекулярных тиолов, которые связывают ионы золота. Изменения редокс-потенциала среды отражают стимуляцию биосинтеза МТ и/или других тиолсодержащих компонентов клеток, их эффективное взаимодействие с металлами и последующее выделение комплекса из клеток (Лебедева и др., 2004).

Устойчивость микроорганизмов к ТМ может кодироваться на уровне хромосом, плазмид или транспозонов при участии одного или нескольких генов: устойчивость *Pseudomonas* sp. к катионам Hg, Cd и Cu кодируется в хромосоме и плазмидах. Комплексные соединения Pt^{2+} и Au^{3+} непо-

средственно воздействуют на транскрипцию ДНК, влияя на синтез МТ и стрессовых белков (Crisado et al., 2003). Соли Au участвуют в регуляции транскрипции: активатор транскрипции гена *Cue* у *Escherichia coli* вовлечен в распознавание солей Au, Ag и Cu. Его Au-активация снижается хелаторами Cu и других ТМ (Stoyanov, Brown 2003). Использование золота некоторыми микроорганизмами в качестве микроэлемента также может рассматриваться как один из механизмов адаптации к его наличию в среде: золотосодержащий протеин *M. luteus* участвует в окислении метана, используемого бактериями в качестве источника органического углерода и энергии (Levchenko et al., 2002; Liu et al., 1999; Staldman, 2002).

* * *

Работа выполнена при поддержке Комиссии по грантам Президента РФ по ведущим научным школам (№ НШ-1457.2003.4).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Вернадский В. И. 1965. Химическое строение биосферы Земли и ее окружения. М.
- Дзержинская И. С., Саинов Д. И., Сопрунова О. Б. 1996. Состав и свойства техногенных альго-бактериальных сообществ // Вестн. Астраханск. гос. тех. ун-та. № 2. 84–86.
- Заварзин Г. А. 2003. Лекции по природоведческой микробиологии. М. 213 с.
- Каравайко Г. И. 1985. Биотехнология переработки металлсодержащих руд и концентратов // Вестн. АН СССР. № 1. 72–83.
- Каравайко Г. И., Верникова Л. М. 1989. Микробиологическое растворение самородного золота // Биотехнология металлов / Под ред. Г. И. Каравайко и др. М. С. 346–351.
- Каравайко Г. И., Кондратьева Т. Ф., Пивоварова Т. А., Мунтян Л. Н. 1997. Физиологические и генетические характеристики некоторых штаммов *Thiobacillus ferrooxidans*, используемых в биогидрометаллургии // Прикл. биохим. и микробиол. 33. № 5. 532–538.
- Карамушка В. И., Грузина Т. Г., Ульберг З. Р. 1995. Аккумуляция золота (III) клетками цианобактерий *Spirulina platensis* // Микробиология. 264. № 2. 192–196.
- Коробушкина Е. Д., Помогова И. Н., Каравайко Г. И., Работнова И. Л. 1987. Влияние золота на рост и морфологические свойства *Candida utilis* // Микробиология. 56. № 1. 44–51.
- Лебедева А. Ф., Саванина Я. В., Савельев И. Б. 1993. Распределение ванадия в клетках цианобактерий *Anacystis nidulans* и *Nostoc muscorum*: взаимосвязь с SH-содержащими низкомолекулярными белками // Вестн. Моск. ун-та. Сер. Биология. № 4. 58–61.
- Лебедева А. Ф., Саванина Я. В., Барский Е. Л. 2004. Накопление ионов золота клетками гетеротрофной бактерии *Pseudomonas diminuta* и цианобактерии *Nostoc* sp. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. Биология. № 4. 19–22.
- Ленгуорси Т. 1981. Жизнь микроорганизмов в экстремальных условиях. М. С. 259–287.
- Ляликова Н. Н., Моикчеева Л. Я. 1969. Роль бактерий в миграции золота на месторождениях // Микробиология. 38. № 5. 805–810.
- Маракушев С. А., Балежина Т. Л., Ковалевская А. Н. 1988. Роль редокс-процессов при взаимодействии гетеротрофных микроорганизмов золотосодержащих месторождений с коллоидным золотом // Докл. АН СССР. 300. № 5. 1211–1214.
- Минеев Г. Г. 1976. Участие микроорганизмов в геохимическом цикле миграции и концентрирования золота // Геохимия. № 4. 577–582.
- Паффедет Р. 1982. Химия золота. М.
- Черняк А. С., Шестопалова Л. Ф. 1976. Изучение комплексов золота (I) с цистеином в щелочной среде // Журн. неорган. химии. 21. № 3. 851–853.
- Эстрела-Льопис В. Р., Юркова И. Н., Бородинова Т. И. 2003. Роль внеклеточных полисахаридов (ВПС) микроорганизмов в биосорбции металлов // Тез. докл. X Междунар. конф. "Новые информационные технологии в медицине и экологии". Гурзуф. С. 232–234.
- Adhikary S. P. 1998. Polysaccharides from mucilaginous envelope layers of cyanobacteria and their ecological significance // J. Sci. and Ind. Res. 57. N 8. 454–466.
- Akcil A., Mider T. 2003. Microbial destruction of cyanide wastes in gold mining: process // Biotechnol. Lett. 25. N 6. 445–450.
- Andres Y., Texier A. C., Le Clorier P. 2003. Rare earth element removal by microbial biosorption // J. Environ. Technol. 24. N 11. 1367–1375.
- Auschill T. M., Arweiler N. B., Brex M., Reich E., Scullan A., Netuschil B. 2002. The effect of dental restorative materials of dental biofilm // Eur. J. Oral. Sci. 110. N 1. 48–53.

- Basch H., Rather M.A. 2004. Molecular binding at gold transport interfaces. IV Thiol chemisorption // J. Chem. Phys. **120**. N 12. 5771–5780.
- Benedek T.G. 2004. The history of gold therapy for tuberculosis // J. Hist. Med. Allied. Sci. **59**. N 1. 50–89.
- Bender J., Lee R.F., Phillips P. 1995. Uptake and transformation of metals and metalloids by microbial mats and their use in biodegradation // J. Ind. Microbiol. **214**. N 2. 113–118.
- Boskey A.L. 2003. Biomineralisation: an overview // Connect. Tissue. Res. **44**. Suppl 1. 5–9.
- Campbell S.C., Olson C.J., Clark T.R., McFeters G. 2001. Biogenic production of cyanide and its application to gold recovery // J. Ind. Microbiol. Biotechnol. **26**. N 3. 134–139.
- Carrasco J., Criado J.J., Macial R.I., Manzano J.L., Marin J.J., Medarde M., Rodriguez E. 2001. Structural characterization and cytostatic activity of chlorobischolesterol unaunagold (III) // J. Inorg. Biochem. **84**. N 3–4. 287–292.
- Chong N., Karamanev D.G., Margaritis A. 2002. Effect of particle–particle shearing on the bioleaching of sulfide minerals // Biotechnol. Bioeng. **80**. N 3. 349–357.
- Chu K.H., Hashim M.A., Phang S.M., Samuel V.B. 1997. Biosorption of cadmium by algal biomass: Adsorption and desorption characteristics // Water, Sci and Technol. **235**. N 7. 115–122.
- Criado J.J., Manzano J.L., Rodriguez-Fernandez E. 2003. New organotin compounds. Synthesis, characterization, and reactivity of Pt (II) and Au (III) complexes with bile acid: DNA-interaction and “in vitro” anticancer activity // J. Inorg. Biochem. **96**. N 2–3. 311–320.
- Craw D., Pacheco L. 2002. Mobilisation and bioavailability of arsenic around mesothermal gold deposits in a semiarid environment, Otago, New Zealand // Scientific World J. **5**. N 2 (2). 308–319.
- Devars S., Aviles C., Cervantes C., Moreno-Sanchez R. 2000. Mercury uptake and removal by *Euglena gracilis* // Arch. Microbiol. **174**. N 3. 175–180.
- Eisler R. 2003. Biorecovery of gold // Indian. J. Exp. Biol. **41**. N 9. 967–71.
- Fauchon M., Langiel G., Aude J.C., Lombardia L., Solarue P., Petat C., Marguerie G., Sentenal A., Verner M., Labarre J. 2002. Sulfur sparing in the yeast proteome in response to sulfur demand // J. Moll. Cell. **9**. 713–23.
- Fergusson D.J., Kughes D.A., Beesley J.E. 1998. Immunogold probes in electron microscopy // Methods Mol. Biol. **80**. 297–231.
- Gardner M.N., Rawling D.E. 2000. Production of rhodanese by bacteria present in bio-oxidation plant used to recover gold from arsenopyrite concentration // J. Appl. Microbiol. **89**. N 1. 185–190.
- Gruzina T.G., Balakina M.N., Karamushka V.I., Stepura L.G., Ulberg Z.R. 1997. Transmembrane potential and ATP-ase activity of the plasma membrane of bacteria exposed to heavy metals // Ukr. Biokhim. J. **69**. N 1. 54–59.
- Gruzina T.G., Checkovskaia M.N., Vember V.V., Ul'berg Z.R. 2003. Effect of colloidal gold on physiologic-biochemical processes in *Echerichia coli* // Ukr. Biokhim. J. **75**. N 3. 95–8.
- Hill D.R., Peat A., Potts M. 1994. Biochemistry and structure of the glican secret by decation-tolerant *Nostoc commune* (Cyanobacteria) // Protoplasma. **18**. 126–148.
- Hitchins S.R., Brierley J.A., Brierley C.L. 1988. Microbial pretreatment of refractory sulfide and carbonaceous ores improves the economics of gold recovery // Mining eng. **40**. N 4. 249–254.
- Hu M.Z.-C., Norman J.M., Faison B.D., Reeves M.E. 1996. Biosorption of uranium by *Pseudomonas aeruginosa* strain CSU: characterization and comparison studies // Biotechnol. and Bioeng. **51**. N 2. 232–247.
- Jenkins A.T., French-Constant R., Buchling A., Clarke D.J., Jarvis K. 2004. Study of the attachment of *Pseudomonas aeruginosa* on gold and modified gold surfaces using surface plasmon resonance // Biotechnol. Prog. **20**. N 4. 11233–1236.
- Jimenes O.A., Chikeyan S., Baca A.J., Wang J., Zhou F. 2005. Sensitive detection of sulfhydryl groups in surface-confined metallothioneins and related species via ferrocene-capped gold nanoparticle/streptavidin conjugates // Environ. Sci. Technol. **39**. N 5. 1209–12.
- Hidham D.P., Sadler P.J., Scaven H.D. 1986. Gold-resistant bacteria: excretion of a cysteine-rich protein by *Pseudomonas cepacia* induced by antiarthritis drug // J. Inorg. Biochem. **28**. N 2–3. 253–261.
- Karamushka V.I., Ulberg Z.R., Grizina T.G. 1990. The role of membrane processes in Au (III) and Au (0) accumulation by bacteria // Ukr. Biokhim. J. **62**. N 1. 76–82.
- Kasselouri S., Galoufis A., Hajiliadis N. 1987. Pd (II) and Pt (II) ternary complexes with nucleosides and aminoacids // Inorg. Chem. Acta. **235**. 123–125.
- Karthikeyan S., Beveridge T.J. 2002. *Pseudomonas aeruginosa* biofilms react with and precipitate toxic soluble gold // Environ. microbiol. **4**. N 11. 667–675.
- Konopka M., Rousseau R., Stich I., Marx D. 2004. Detecting thiolates from copper and gold clusters which bond to break // J. Am. Chem. Soc. **126**. N 38. 12103–12111.
- Lakin H.W., Curtin G.C., Hubert A.E. 1974. Geochemistry of gold in the weathering cycle // US Geol. Surv. Bull. **133**. 591–602.
- Laib J.E., Shaw C.E., Petering D.H., Eidness M.K., Elder R.C., Garvey J.S. 1985. Formation and characterization of aurothioneins: Au, Zn, Cd-thionein, Au, Cd-thionein and (Thiomalato-Au)-Thionein // Biochemistry. **24**. N 8. 1977–1986.
- Lee S.D., Kim E.S., Roe J.H., Kim J., Kang S.O., Hah Y.C. 2000. *Saccharomyces violaceae* sp. nov. isolated from a gold mine cave and *Saccharothrix albidocapillata* (Pseudonocardiaceae) comb. nov. // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. **50**. Pt. 3. 1315–1323.
- Lee S.D., Kang S.O., Hah Y.C. 2000. *Catellasporea koreensis* sp. nov. a novel actinomyces isolated from a gold mine cave // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. **50**. Pt. 3. 1103–1111.
- Levchenko L.A., Sadkov A.P., Marakuchev S.A., Lariontseva N.V. 1997. Participation of biological membranes in colloidal gold transforma-

tion by *Micrococcus luteus* cells // Membr. Cell Biol. **11**. N 1. 131–135.

Levchenko L.A., Sadkov A.P., Lariontseva N.V., Koldasheva E.M., Shilova A.K., Shilov A.E. 2002. Gold help bacteria to oxidize methan // J. Inorg. Biochem. **88**. N 3–4. 251–253.

Lewis G., Shaw C.F. 1986. Competition of thiols and cyanide for gold (I) // Inorg. Chem. **25**. N 1. 58–62.

Li J.J., Beng X. 2004. Photocatalytic activity of gold nanocrystals and its role in determining the stability of surface thiol monolayer // J. Nanosci. Nanotechnol. **4**. N 6. 565–568.

Lisdorf F., Karube J. 2002. Copper proteins immobilized on gold electrodes for (bio) analytical studies // Biosens. Bioelectron. **17**. N 1–2. 1051–1057.

Liu Y., Fu J., Hu R., Yao B., Weng S. 1999. Studies on reduction of Au^{3+} by bacteria for preparing gold catalyst // Wei Sheng Wu Xue Bao. **39**. N 3. 260–263.

Liu Y., Fu J., Chen P., Yu X., Yang P. 2000. Studies on biosorption of Au^{3+} by *Bacillus megaterium* // Wei Sheng Wu Xue Bao. **40**. N 4. 425–429.

Moiseenko V.G., Marakushev S.A. 1990. The microbiological concentration and crystallization of gold in ore deposits and placers // Abstr. Pacif. RIM Congr. Queensland (Austral.), 3–5.

Moiseenko V.G., Marakushev S.A. 2000. Biochemical mineralisation of native gold // Done Biochem. **370**. N 1–6. 12–15.

Morelli E., Scarano G. 2001. Synthesis and stability of phytochelates induced by cadmium and lead in the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum* // Mar. Environ. Res. **52**. N 4. 383–395.

Nagase H., Inthorn D., Miura K. 1994. Use of photosynthetic organisms in biological purification // Jap. J. Toxicol. and Env. Health. **240**. N 6. 479–485.

Nassiri Y., Ginsburger-Vogel T. 1995. EELS investigation of cadmium and copper in contaminated microalga *Tetraselmis suecica* // Biol. Cell. **84**. N 3. 221.

Nies D.H., Silver S. 1995. Ion efflux systems involved in bacterial metal resistances // J. Ind. Microbiol. **14**. N 2. 186–199.

Nomiya K., Noguchi R., Ohsawa K., Tsuda K., Oda M. 2000. Synthesis, crystal structure and antimicrobial activity of two isomeric gold (I) complexes with nitrogen-containing heterocycle and triphenylphosphine ligands $[Au(L)(PPh_3)]$ (HL=pyrazole and imidazole) // J. Inorg. Biochem. **78**. N 4. 363–370.

Nomiya K., Yamamoto S., Noguchi R., Yokoyama H., Kasuda N.C., Ohya K., Kato C. 2003. Ligand exchangeability of 2-coordinate phosphine gold (I) complexes with AuSP and AuNP cores showing selective antimicrobial activities against gram-positive bacteria. Crystal structures of $[Au(2Hmpa)(PPh_3)]$ and $[Au(6-Hmpa)(PPh_3)_2]$ (2-Hmpa=2-mercaptopyruvic acid, 6-Hmpa=6-mercaptopyruvic acid) // J. Inorg. Biochem. **95**. N 2–3. 208–220.

Novelli F., Resine M., Sparatore F., Juliano C. 1999. Gold (I)-complexes as antimicrobial agents // Farmaco. **54**. N 4. 232–236.

Nyberg S., Zhou L. 1995. Polarography as a tool in peptide and protein analysis: studies on metal-chelating substances induced by cadmium in the algae *Phaeodactylum tricornutum* and the gramineae *Agrostis capillaris* // Ecotoxicol. and Environ. Safety. **32**. N 2. 147–153.

Ochiai E.I. 1995. Toxicity of heavy metals and biological defense: principles and application in bioinorganic chemistry // J. Chem. Educ. **72**. N 6. 479–484.

Omar N.B., Merroun M.L., Gonzalez M.T., Arias J.M. 1996. Brewery yeast as a biosorbent for uranium // J. Appl. Bacteriol. **81**. 283–287.

Oudjehaki K., Zagury C.J., Deschenes L. 2002. Natural attenuation potential of cyanide via microbial activity in mine tailing // Appl. Microbiol. and Toxicol. **58**. N 3. 409–415.

Peters A. 1986. Gegenwartigen Stand und Perspektiven der Biogeochemie / Biomiss. Inf. Bd. 10. N 3. 1–13.

Rausser W.E. 1999. Structure and function of metal chelator produced by plants: the case of organic acids, amino acids, phytyl and metallothioneins // Cell. Biochem. Biophys. **31**. N 1. 19–48.

Rawlings D.E. 2002. Heavy metal mining using microbes // Ann. Rev. Microbiol. **56**. 65–91.

Rawlings D.E., Dew D., du Plessis C. 2003. Biomineralisation of metal containing ores and concentrates // Trends Biotechnol. **21**. N 1. 38–44.

Roussel C., Nel C., Bril H. 2000. Mineral controlling arsenic and lead solubility in an abandoned gold mine tailings // Sci. Total. Environ. **263**. N 1. 209–219.

Sadovsky-Losika H., Berdicevsky I., Tsarfaty I., Segal E. 2002. Effect of *Candida albicans* metabolite(s) on cellular actin // FEMS Microbiol. Lett. **215**. N 1. 57–62.

Savvaidis L. 1998. Recovery of gold from thiourea solution using microorganisms // Biometals. **11**. N 2. 145–51.

Scallan M.F., Fazakerley J.K. 1999. Aurothiolates enhance the replication of semliki forest virus in the CNS and the exocrine pancreas // J. Neurobiol. **5**. N 4. 392–400.

Sigler J.W. 1983. Parenteral gold in the treatment of rheumatoid arthritis // Am. J. Med. **75**. N 6A. 59–62.

Silver S., Phung L.T. 1996. Bacterial heavy metal resistance: new surprises // Ann. Rev. Microbiol. **50**. 753–789.

Staldman T.C. 2002. A gold mine of fascinating enzymes: those remarkable strict anaerobic bacteria *Methanococcus vannielli* and *Clostridium stricklandii* // J. Biol. Chem. **277**. N 51. 49091–49100.

Stoyanov J.V., Brown N.L. 2003. The *Escherichia coli* copper-responsive cop A promoter is activated by gold // J. Biol. Chem. **278**. N 3. 1407–1410.

Suzuki J. 2001. Microbial leaching of metal from sulfide minerals // Biotechnol. Adv. **19**. N 2. 119–132.

Tabak H.H., Sharp R., Burckle J., Kawahara F.K., Govind R. 2003. Advances in biotreatment of acid mine drainage and biorecovery of metals: Metal precipitation for recovery and recycle // Biodegradation. **14**. N 6. 423–436.

- Takai K., Kobayashi H., Wealson K.H., Horikoshi K. 2003. *Sulfurihydrogenium subterraneum* gen nov, sp nov, from a surface hot aquifer // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. **53**. Pt. 3. 823–827.
- Tanimoto Y., Ichikawa Y., Yasuda Y., Tochikubo K. 1986. Permeability of dormant spores of *Bacillus subtilis* to gramicidin S // FEMS Microbiol. Lett. **136**. N 2. 151–156.
- Tarras-Wahlenberg N.H., Flachier A., Lane S.N., Sangfors O. 2001. Environmental impact and metal exposure in aquatic ecosystem in rivers contaminated by small scale gold mining: the Puyango river basin, southern Ecuador // Sci Total Environ. **278**. N 1–3. 239–261.
- Thomas M., Klibanov A.M. 2003. Conjugation to gold nanoparticles enhances polyethylenimine's transfer of plasmid DNA into mammalian cells // Proc. Natl. Acad. Sci. **100**. N 16. 9138–9143.
- Tkachenko A.G., Xie H., Coleman D., Glomm W., Ryan J., Anderson F., Franzen S., Feldheim D.L. 2003. Multifunctional gold nanoparticle complexes for nuclear targeting // J. Am. Chem. Soc. **125**. N 16. 47001.
- Tiekink E.R. 2002. Gold derivatives for the treatment of cancer // Crit. Rev. Oncol. Hematol. **42**. N 3. 225–228.
- Tsuruta T. 2004. Biosorption and recycling of gold using various microorganisms // J. Gen. Appl. Microbiol. **50**. N 4. 221–228.
- Verma S.K., Singh S.P. 1995. Multiple metal resistance in the cyanobacterium *Nostoc muscorum* // Bul. Env. Contam. Toxicol. **54**. 614–619.
- Wakatsuki T. 1995. Metal oxidoreduction by microbial cells // J. Ind. Microbiol. **14**. N 2. 169–177.
- Watkins J.W., Elder R.C., Greene B., Damell D.W. 1987. Determination of gold binding in an algal biomass using EXAFS and XANES spectroscopy // Inorg. Chem. **26**. N 7. 1147–1151.
- Whiston A.J., McAuley P.J., Smith V.J. 1995. Removal of heavy metals from wastewater by marine microalgae // J. Exp. Bot. **246**. Suppl. 13.
- Won Choi Chang, Yoo Soon-Ae, On In Hye, Parc Sang Ho. 1998. Characterization of an extracellular flocculating substance produced by a planktonic cyanobacterium *Anabaena* sp. // Biotechnol. Lett. **20**. N 7. 643–646.
- Zechmann B., Zelling G., Muller M. 2005. Changes in subcellular distribution of glutathione during virus infection in *Cucurbita pepo* (L.) // Plant Biol. Stuttg. **7**. N 1. 49–57.
- Zhang C.X., Lippard S.J. 2003. New metal complexes as potential therapeutic // Curr. Open Chem. Biol. **7**. N 4. 481–489.
- Zheng W.J., Wu F., Zhuang H.Q., Liu C., Yang F., Ma W.L., Hua Z.C. 2004. Expression of human metallothionein III and metalloabsorption capacity in *Escherichia coli* // Prep. Biochem Biotechnol. **34**. N 3. 265–78.

GOLD IONS INTERACTION WITH THE CELLS OF MICROORGANISMS

Ya.V. Savanina, A.F. Lebedeva, E.L. Barsky, M.V. Gusev

Different aspects of microorganisms interaction with gold compounds: auriferous minerals destruction in environment, purification of industrial waste-water, gold accumulation by cells were examined. Significant attention to the gold ions effects on the structure and biochemical reactions of microbial cells, and also microorganisms detoxication from heavy metals including gold was given.