

УДК 579.017.7; 57.021; 57.022

## СИНТЕЗ ЛЕТУЧИХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ МИКРООРГАНИЗМАМИ КАК СПОСОБ МЕЖКЛЕТОЧНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ

**Сидорова Д.Е.** (ФГБУ Институт молекулярной генетики Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»), **Чурсина М.А.** (ФГБОУ ВО Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева), **Скрипка М.И.** (ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)»), **Плюта В.А.** (ФГБУ Институт молекулярной генетики Национального исследовательского центра «Курчатовский институт») **Научный руководитель – д.б.н., проф. Хмель И.А.** (ФГБУ Институт молекулярной генетики Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»)

Летучие органические соединения (ЛОС), синтезируемые микроорганизмами, это целый арсенал новых химических соединений, которые могут быть перспективными для использования как индивидуальных соединений, так и штаммов, их синтезирующих, в биотехнологии, медицине, сельском хозяйстве и в других прикладных областях. Целью нашей работы является изучение действия ЛОС с разной химической структурой на различные биологические объекты (микроорганизмы, растения, животные), а также на Quorum Sensing (QS) системы регуляции бактерий.

**Введение.** В последние годы все большее внимание исследователей стали привлекать ЛОС, синтезированные бактериями, а также их значимость в жизнедеятельности других микроорганизмов и во взаимодействии с высшими организмами. На сегодняшний день немало научных работ посвящено значимости ЛОС во взаимодействии между организмами. Установлено, что ЛОС могут модулировать рост и развитие других организмов, в частности, влиять на активность ферментов и на экспрессию генов, а также выполнять роль химических сигналов и действовать на QS систему регуляции бактерий. Изучение ЛОС открывает новые возможности для биотехнологии. Они могут быть использованы для получения биотоплива или как промежуточные вещества для синтеза полезных для человека продуктов. Штаммы-продуценты ЛОС перспективны для биологического контроля заболеваний растений, а препараты на основе ЛОС могут быть использованы для фумигации с/х земель. Однако для полноценного использования этих веществ в прикладных целях необходимо подробное изучение механизмов их действия.

**Основная часть.** Целью нашей работы является исследование ЛОС, выделяемых бактериями, и их действия на различные биологические объекты (бактерии и их биопленки, грибы, растения, животные). Одной из задач является изучение действия индивидуальных ЛОС с разной химической структурой: спиртов (изоамиловый спирт, 2-фенилэтанол), кетонов (2-бутанон, 2-пентанон, 2-октанон, бета-ионон – ненасыщенный кетон) и терпенов (лимонен и  $\alpha$ -пинен). Данные вещества продуцируются бактериями разных таксономических групп, в том числе штаммов *Pseudomonas* и *Serratia*.

Объектами исследований данной работы являются: фитопатогенные бактерии *Agrobacterium tumefaciens* C58 и *A. tumefaciens* Chry5, модельное растение *Arabidopsis thaliana*, плодовые мушки *Drosophila melanogaster*. Мы также исследовали действие ЛОС на QS системы RhII/RhlR, LasI/LasR и LuxI/LuxR типов с помощью специфических lux-биосенсорных штаммов *E. coli* JLD271/pAL101, JLD271/pAL105 и DH5 $\alpha$ /pSB401 соответственно.

По результатам исследований установлено, что ЛОС способны оказывать бактериостатическое и бактерицидное действие на штаммы агробактерий. Наибольшее ингибирующее действие оказывали 2-октанон и изоамиловый спирт. Эти вещества убивали бактерии в зрелых биопленках и подавляли их образование; наиболее сильный эффект наблюдался в присутствии 2-октанона, изоамилового спирта и 2-фенилэтанола.

Одним из свойств бактерий, важных для формирования биопленок, является их способность мигрировать по полутвердым поверхностям. При изучении действия ЛОС на свиминг-миграцию *A. tumefaciens* была обнаружена положительная корреляция между ингибированием выживаемости бактерий в биоплёнках и ингибированием их подвижности. Так, наибольшее снижение миграции наблюдалось при действии 2-октанона, изоамилового спирта и 2-фенилэтанола. Воздействие терпенов не оказывало существенного влияния на выживаемость бактерий и на их миграцию.

Quorum Sensing (QS) – это система регуляции бактерий, которая является ключевым фактором в способности бактерий образовывать биопленки. Известно, что ЛОС могут влиять на эту систему, вызывая Quorum Quenching (QQ) эффект – процесс, подавляющий QS системы бактерий. Изоамиловый спирт, 2-фенилэтанол и 2-октанон осуществляли QQ у систем всех трех типов (RhII/RhlR, LasI/LasR и LuxI/LuxR). QS система LuxI/LuxR типа была также чувствительна к  $\beta$ -иону (снижение биолюминесценции ~ на 95%) и в меньшей степени к 2-пентанону (снижение ~ на 60%), однако в случае систем RhII/RhlR и LasI/LasR типа эти соединения не снижали QS.

В опытах по изучению действия ЛОС на *A. thaliana* обнаружено, что исследуемые вещества тормозили прорастание семян и ингибировали рост зрелых растений, при этом утрачивалась их зеленая окраска. Важно отметить, что в присутствии 2-бутанона биомасса зрелых растений увеличивалась по сравнению с контролем без ЛОС.

Показано, что при действии исследуемых ЛОС насекомые *D. melanogaster* погибали быстрее всего в присутствии лимонена и  $\alpha$ -пинена, хотя оба этих терпена слабо действовали на бактерии и растения. При воздействии других ЛОС насекомые также погибали, однако уже при большем количестве ЛОС.

**Выводы.** В рамках этой работы установлено:

- Исследуемые ЛОС оказывают ингибирующее действие на *A. tumefaciens*, а также способны подавлять образование биопленок и убивать клетки в зрелых биоплёнках.
- ЛОС могут подавлять способность бактерий к миграции. Существует положительная корреляция между ингибированием выживаемости бактерий в биоплёнках и ингибированием их подвижности.
- При количествах, не оказывающих значительного бактерицидного действия на клетки *lux*-биосенсоров, 2-фенилэтанол и 2-октанон осуществляли Quorum Quenching (QQ) в отношении QS систем всех трёх типов. QS система LuxI/LuxR типа была также чувствительна к  $\beta$ -иону и в меньшей степени к 2-пентанону.
- Модельное растение *A. thaliana* также оказалось чувствительным к действию ЛОС: вещества подавляли прорастание семян и ингибировали жизнедеятельность зрелых растений. Кетон 2-бутанон оказывал стимулирующее действие на зрелые растения.
- При действии лимонена и  $\alpha$ -пинена на *D. melanogaster* мушки погибали быстрее всего, хотя эти вещества не проявляли такого явного действия на другие исследуемые биологические объекты. Другие ЛОС также сильно ингибировали жизнедеятельность мушек, причем было замечено, что с удлинением углеводородной цепи кетона выживаемость мух снижалась.

Таким образом, исследование ЛОС, образуемых микроорганизмами, их взаимодействия с различными клеточными процессами – это новая, мало изученная область микробиологии, которая открывает новые аспекты жизнедеятельности микроорганизмов, новые пути их метаболизма и закономерности взаимодействия с другими микроорганизмами и высшими организмами.

Сидорова Д.Е.

Подпись

Хмель И.А. (научный руководитель)

Подпись