

УДК 57.021:57.022

ЛЕТУЧИЕ ОРГАНИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ, СИНТЕЗИРУЕМЫЕ БАКТЕРИЯМИ, КАК СТРЕССОРЫ: ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ДЕТЕРМИНАНТЫ, УЧАСТВУЮЩИЕ В ОТВЕТЕ КЛЕТОК *ESCHERICHIA COLI* НА ИХ ДЕЙСТВИЕ

Надий Д.А. (Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, ФГБУ Институт молекулярной генетики Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»), **Шевченко Н.А.** (Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева), **Плюта В.А.** (ФГБУ Институт молекулярной генетики Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»)

Научный руководитель – д.б.н., профессор Хмель И.А.

(ФГБУ Институт молекулярной генетики Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»)

Микроорганизмы выделяют многочисленные летучие органические соединения (ЛОС), которые выполняют разные биологические функции, в том числе могут подавлять или стимулировать рост других микроорганизмов. Целью работы является изучение участия генетических детерминантов *Escherichia coli* в ответе клеток на действие ЛОС и влияния ЛОС на целостность геномной и плазмидной ДНК.

Введение. Многие микроорганизмы продуцируют летучие органические соединения (ЛОС), выполняющие разнообразные биологические функции. Известно, что ЛОС являются средством передачи информации от одного организма к другому: могут быть ингибиторами или стимуляторами роста микроорганизмов и растений, аттрактантами или репеллентами при действии на насекомых, медиаторами в межклеточных взаимодействиях. Знания о летучих веществах, об их биологической роли и метаболизме открывают широкие перспективы для развития как фундаментальных наук, так и различных прикладных областей: сельского хозяйства, пищевой промышленности, диагностики заболеваний. К настоящему моменту механизмы действия летучих веществ на клетки микроорганизмов, в частности, генетические детерминанты бактерий, вовлеченные в регуляцию ответа к действию ЛОС, изучены мало

Основная часть. В данной работе изучалась роль трех глобальных регуляторных генов, контролирующих экспрессию большого количества генов, в том числе отвечающих за устойчивость бактериальной клетки к различным типам стресса, при действии ЛОС (диметилдисульфида (ДМДС), 2-фенилэтанола, изоамилового спирта и 2-октанона). Ген *groS* кодирует сигма S субъединицу РНК-полимеразы; ген *crp* кодирует белок, участвующий в контроле катаболитной репрессии; ген *lon* кодирует протеиназу, играющую важную роль в деградации дефектных и ряда короткоживущих регуляторных белков. В качестве модельного объекта была использована *Escherichia coli*, поскольку лучше всего генетические детерминанты стрессового ответа изучены у этой бактерии. Для исследования использовались штаммы *E. coli* дикого типа (SBS1936, AB1157 и MG1655) и мутантные по генам *groS*, *crp*, *lon* (SBS2680, AM306 и AB1899). В ходе работы сравнивалась динамика роста штаммов дикого типа и мутантных штаммов.

Изучалась способность клеток отвечать на действие ЛОС при нарушении разных типов репарации ДНК. Сравнивалась динамика роста штаммов *E. coli* дикого типа (AB1157 и BW25113) и штаммов с мутациями в генах различных репаративных систем: *recA*, *lexA* (SOS репарации), *uvrA*, *uvrB* (эксцизионной репарации) и *mutS*, *mutY*, *mutM* и *mutT* (репарации окислительных повреждений ДНК) при действии ЛОС.

В следующей части работы было исследовано влияние ЛОС на ДНК (плазмидную и геномную) для оценки её целостности 1) при непосредственном действии ЛОС на ДНК, выделенную из штамма *E. coli* С600, содержащего плазмиду ColD-CA23; 2) при действии ЛОС на штамм *E. coli* С600 с последующим выделением ДНК из него.

Выводы. В результате исследования было показано, что:

- ген *crp* играет роль в регуляции устойчивости клеток к 2-октанону; ген *lon* - к высоким количествам ДМДС; ген *proS* - к высоким количествам 2-октанона (наблюдается дозозависимый эффект). В то же время эти гены не играют существенной роли в регуляции устойчивости клеток в присутствии других исследованных ЛОС;
- гены, ответственные за различные системы репарации ДНК в целом не играют существенной роли в регуляции устойчивости клеток к действию исследуемых ЛОС. Следует отметить, однако, что при действии 2-фенилэтанола наблюдалось достоверное снижение роста штамма *mutT* по сравнению с контролем (штамм BW25113); увеличивалась также устойчивость штамма *ivrA*. Мутанты *mutS* и *mutY* были более устойчивыми при действии изоамилового спирта по сравнению с контролем (штамм BW25113).
- исследуемые ЛОС при действии на штамм *E. coli* C600, содержащий плазмиду ColD-SA23, не влияли на целостность геномной и плазмидной ДНК. ЛОС не оказывали также действия *in vitro* непосредственно на геномную и плазмидную ДНК, выделенные из этого штамма. Были получены предварительные данные о влиянии ЛОС на РНК. Действие ЛОС приводило к уменьшению количества РНК и/или ее деградации по сравнению с контролем без ЛОС.

Таким образом, в процессе выполнения работы получены данные, расширяющие представления о механизмах действия ЛОС различной природы на клетки бактерий и о генетических детерминантах, участвующих в регуляции ответа клеток бактерий на воздействие этих веществ.

Изучение ЛОС открывает новые перспективы фундаментальных исследований микроорганизмов, их метаболизма, новые аспекты антагонистических отношений микроорганизмов и их взаимодействия с эукариотическими организмами, а также возможности прикладного использования ЛОС и штаммов, их синтезирующих.