

Влияние стресс-условий на функциональное состояние клеток *Francisella tularensis*

Научный руководитель – Волох Оксана Александровна

Борисова С.В.¹, Кузнецова Е.М.², Ерохин П.С.³

1 - Российский научно-исследовательский противочумный институт "Микроб Саратов, Россия, E-mail: Svetlana.Borisova@yandex.ru; 2 - Российский научно-исследовательский противочумный институт "Микроб Саратов, Россия, E-mail: lhv@microbe.ru; 3 - Российский научно-исследовательский противочумный институт "Микроб Саратов, Россия, E-mail: erohin-8686@mail.ru

Строение поверхности клетки отражает функциональное состояние бактерии в целом. Наличие специфических признаков клеток сказывается на биофизических характеристиках их поверхности: заряд, свободная энергия и гидрофобность. Взаимодействие бактерий с биомолекулами и частицами также связаны с этими характеристиками поверхности [2]. Ранее была показана перспективность данных методов для оценки состояния клеток вакцинного штамма туляремийного микроба [1].

Целью нашей работы было изучение функционального состояния клеток *F. tularensis* 15 НИИЭГ при выращивании в условиях стресса с использованием различных питательных сред с помощью электрооптического (ЭО) мониторинга.

В работе были использованы жидкие питательные среды Д-бульон, Чемберлена и Мюллера-Хинтона. Жизнеспособность культуры оценивали высевом на пластинки с FT агаром, учитывали колониеобразующие единицы (КОЕ). Электрооптический мониторинг осуществляли на приборе EloTrace 3.0. Исследования клеток проводили с помощью сканирующего зондового микроскопа Solver P47-PRO методом полуконтактной атомно-силовой микроскопии (АСМ) в воздушной среде. Обработку и анализ изображений проводили с использованием программы ImageAnalysys. В качестве стресс-условий изучали повышение температуры до 42°C, влияние H₂O₂, сочетание этих факторов.

Было исследовано изменение ориентационных спектров клеток и их размеров в зависимости от использования различных сред и стрессовых условий. В Д-бульоне и среде Мюллера-Хинтона повышение температуры и добавление H₂O₂ приводило к увеличению среднего размера клеток на 6±1%. Повышение температуры до 42°C приводило на среде Чемберлена к аналогичному эффекту, а в Д-бульоне - к изменениям в цитоплазме клетки. Полученные данные коррелировали с результатами АСМ: наблюдалось изменение размеров, ригидности клеточной стенки и шероховатости поверхности.

ЭО мониторинг показал, что наиболее благоприятной питательной средой для выращивания туляремийного микроба и изучения стресс-факторов является среда Мюллера-Хинтона, на которой был зарегистрирован максимальный синтез экскретируемых белков. Стресс-условия (42°C, H₂O₂) не влияли на жизнеспособность *F.tularensis* и приводили к значительному увеличению экспрессии белков теплового шока.

Источники и литература

- 1) Борисова С.В. Применение новых инструментальных методов контроля на этапах получения лиофилизата вакцинного штамма *Francisella tularensis* 15 НИИЭГ / С.В. Борисова [и др.] // Современные проблемы биофизики, генетики, электроники и приборостроения. Материалы IV Всероссийского семинара памяти проф. Ю.П. Волкова. Саратов: Саратовский источник, 2018. – с.18-20.

- 2) Bunin, V.D. Determination of cell structures, electrophysical parameters, and cell population heterogeneity / V.D. Bunin, A.G. Voloshin // J. Colloid Interface Sci. - 1996. - V. 180. - P. 122-126.