

Влияние белков параспоральных кристаллов *Bacillus thuringiensis* на метаболизм строго анаэробных прокариот¹

Тарусова Ольга Витальевна

студент

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

E-mail: yinnigo@gmail.com

Введение

Известно, что различные белки, образующие параспоральные кристаллы энтомопатогенных бактерий *Bacillus thuringiensis*, проявляют антимикробную активность в отношении ряда прокариот [1-3]. Кристаллы *B. thuringiensis* попадают в почву и как экологически безопасные бактериальные инсектициды. Поэтому, исследование действия Cry-белков, а также других белков кристаллов *B. thuringiensis* – актуальная проблема, имеющая большую теоретическую и практическую значимость [4]. Особую важность представляет изучение антимикробной активности Cry-белков – высокоспецифичных токсинов ряда беспозвоночных. Некоторые из Cry-белков введены в состав генетически модифицированных сельскохозяйственных растений для защиты последних от вредных насекомых, поэтому в значительных количествах накапливаются в почве и могут ощутимо влиять на почвенные биогеоценозы, обязательными компонентами которых являются разнообразные прокариоты.

В качестве тест-микроорганизмов в работе использовали строго анаэробных бактерий *Moorella thermoautotrophica* (DSMZ 1974), *Moorella thermoacetica* (DSMZ 6867), *Clostridium acetobutylicum* (MSUMD 8), а также архею *Methanosarcina barkeri* штамм Fusaro (DSMZ 804). Представители этих родов прокариот могут быть как свободноживущими, так и симбионтами чувствительных к белкам параспоральных кристаллов *B. thuringiensis* беспозвоночных и являются удобной моделью для изучения механизмов антимикробного действия таких белков.

Методы

Исследовали влияние хроматографически очищенных с помощью ионообменной хроматографии на колонках MonoQ, MonoS белков: Cry9A, выделенного из кристаллов *B. thuringiensis* subsp. *galleria*, Cry3Aa, его 49- и 52-кДа фрагментов, выделенных из кристаллов *B. thuringiensis* subsp. *tenebrionis*, Cyt-белка из кристаллов *B. thuringiensis* subsp. *israelensis* на рост указанных тест-микроорганизмов, образование ими газов и летучих жирных кислот с помощью газового и газовой-жидкостного хроматографического анализа, а также на синтез ферментов антиокислительной защиты, в частности, каталазы и супероксиддисмутазы. Картину лизиса клеток, морфологию спор и параспоральных кристаллов *B. thuringiensis* исследовали с помощью трансмиссионной и сканирующей электронной микроскопии.

Результаты

Белки параспоральных кристаллов и некоторые фрагменты этих белков в разной степени влияют на метаболизм исследованных прокариот, что приводит к подавлению роста и лизису клеток последних. Антимикробный эффект изучаемых белков – прежде всего мембранотропный. Трансмиссионная электронная микроскопия дала возможность обнаружить особенности лизиса клеток под влиянием 49 кДа-фрагмента Cry3Aa-белка.

Выявлена сеть пилей вокруг спор нескольких подвигов *B. thuringiensis*, в которой совместно удерживаются споры и параспоральные кристаллы – не только первичные автономные факторы патогенности этих бактерий, но и факторы защиты от конкурентной микрофлоры (благодаря антимикробной активности составляющих их белков) молодых дочерних популяций, развивающихся из спор.

¹ Тезисы доклады основаны на материалах исследований, проведенных в рамках гранта Российского Фонда Фундаментальных Исследований (грант № 05-04-49710 «Изучение антибактериального эффекта эндотоксинов, продуцируемых энтомопатогенными бактериями *Bacillus thuringiensis*»).

Белок Cry3Aa и его фрагменты оказывают более выраженное антибиотическое действие на клостридий, чем Cry9A. Изучение влияния серотонина и дофамина на проявление антимикробной активности изучаемых белков показало способность регуляторных молекул изменять эту активность посредством влияния на проницаемость клеточных мембран. В некоторых случаях (что показано, например, в опытах с *M. barkeri*) нейромедиаторы используются в качестве дополнительных источников азота.

С помощью трансмиссионной и сканирующей электронной микроскопии изучена морфология включений, образующихся из белка Cry9A, клонированного в акристаллоносный штамм *B. thuringiensis* subsp. *israelensis*.

Обсуждается роль белков параспоровальных включений *B. thuringiensis* как возможных факторов окислительного стресса у строго анаэробных прокариот.

Литература

1. Yudina T.G., Konukhova A.V., Revina L.P., Kostina L.I., Zalunin I.A., Chestukhina G.G. 2003. Antibacterial activity of Cry- and Cyt-proteins from *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*. Can. J. Microbiol. V.49. No.1. P.37-44.
2. Юдина Т.Г., Брюханов А.Л., Нетрусов А.И. 2004. Чувствительность архей к антибиотическому действию белков параспоровальных включений различных подвигов *Bacillus thuringiensis*. Микробиология. Том 73. №1. С.25-30.
3. Yudina T.G., Brioukhanov A.L., Zalunin I.A., Revina L.P., Shestakov A.I., Voyushina N.E., Chestukhina G.G., Netrusov A.I. 2007. Antimicrobial activity of different proteins and their fragments from *Bacillus thuringiensis* parasporal crystals against clostridia and archaea. Anaerobe. V.13. No.1.P.6-13.
4. Revina L.P., Kostina L.I., Dronina V.F., Zalunin I.A., Chestukhina G.G., Yudina T.G., Konukhova A.V., Izumrudova A.V. 2005. Novel antibacterial proteins from entomocidal crystals of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*. Can. J. Microbiol. V.51. No.2. P.141-148.