

**КЛЕТОЧНАЯ АГРЕГАЦИЯ ФАКУЛЬТАТИВНОЙ МЕТИЛОТРОФНОЙ БАКТЕРИИ
METHYLORUBRUM EXTORQUENS – ПРОДУЦЕНТА ПОЛИ-3-ГИДРОКСИБУТИРАТА**

Е.Р. Митина, В.В. Алексахина, А.Б. Пиеничникова

МИРЭА – Российский технологический университет, Москва, Россия

Факультативные метилотрофные бактерии рода *Methylorubrum* – грамотрицательные фитосимбионты, запасующие в клетках поли-3-гидроксибутират и окрашенные в розовый цвет за счет синтеза каротиноидов. Многие представители этого рода образуют макроскопические скопления клеток – клеточные агрегаты (флоки). Бактериальная агрегация участвует в образовании биопленок, развитии инфекций; клетки в составе агрегатов более устойчивы к действию неблагоприятных условий среды.

В настоящей работе использовали штамм *Methylorubrum extorquens* (ВКПМ В-13995), продуцирующий поли-3-гидроксибутират (ПГБ) и склонный к агрегации. Ранее проведенная оптимизация состава питательной среды показала, что при увеличении соотношения С/Н продукция ПГБ усиливается, при этом отмечается и усиление агрегации *M. extorquens*. Цель настоящей работы – изучение влияния состава питательной среды на агрегацию и биосинтез ПГБ бактерией *Methylorubrum extorquens*.

Оценку влияния состава среды на агрегацию проводили, варьируя содержание метанола, сульфата аммония и фосфатов. Содержание метанола варьировали от 0,5 до 2 % об., агрегацию определяли как отношение массы сухих агрегатов, удерживаемых бумажным фильтром, к общей сухой биомассе в процентах (гравиметрический метод). С ростом концентрации метанола агрегация увеличивалась с 60 до 92 %. Увеличение концентрации сульфата аммония в среде от 0,5 г/л до 4 г/л при 1 % метанола привело к снижению агрегации с 83 % до 44 %. Для оценки влияния концентрации источника фосфора на агрегацию изменяли общую концентрацию фосфатов от 0,6 г/л до 2,3, что привело к снижению агрегации с 70 % до 52 %. Таким образом, увеличение соотношения С/Н и С/Р, т. е. дефицит источников азота и фосфора, способствует несбалансированному росту и агрегации. В условиях оптимального роста (метанол 1 %, сульфат аммония 0,5 г/л) за 48 часов культивирования образуется 1,05 г./л агрегатов с содержанием ПГБ 14 % и 0,15 г./л планктонной биомассы, содержащей 20 % ПГБ.

Кинетику роста *M. extorquens* изучали при различных соотношениях С/Н, рост клеток в планктоне оценивали по оптической плотности на длине волны 600 нм, прирост агрегатов определяли гравиметрическим методом. Рост агрегатов сопутствует планктонному росту – через 24 ч отношение массы планктона к массе агрегатов составило величину 1,2 мг/мг, а в 48 ч – 1,1 мг/мг. Это подтверждает, что агрегаты, наряду с отдельными клетками, являются формой жизни бактерий, которая усиливается в условиях стресса. Так, выживаемость 30-часовой культуры ресуспендированных агрегированных клеток в присутствии 5×10^{-3} мг/мл стрептомицина в течение 5 часов составила 75 % от контроля (без антибиотика), тогда как планктонных клеток только 20 %.