

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ЛЕКТИНОВ БАКТЕРИЙ

А.В. Кобелев, С.В. Клементьев, Т.В. Вдовина, А.С. Сироткин

Казанский национальный исследовательский технологический университет, г. Казань, Россия

Традиционно в качестве объектов для обнаружения лектинов используют клетки крови – эритроциты человека или животных. Однако, ввиду того, что получение клеток крови довольно затратно, и эритроциты могут сохранять активность ограниченное время, вызывает особый интерес возможность использования в качестве объектов агглютинации клеток бактерий, дрожжей и микроводорослей.

Цель работы – определение активности внеклеточных лектинов бактерий с использованием в качестве объектов агглютинации клеток микроорганизмов.

В работе использовались культуры аэробных гетеротрофных бактерий *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, р. *Acinetobacter*, накопительные культуры нитрификаторов I и II фазы, дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, микроводоросли р. *Chlorella* из коллекции микроорганизмов кафедры промышленной биотехнологии Казанского национального исследовательского технологического университета.

Периодическое культивирование микроорганизмов проводили в аэробных условиях и постоянном перемешивании при температуре 37 °С (для гетеротрофных бактерий), 25 °С (для нитрификаторов I и II фазы, дрожжей и микроводорослей) в течение 18 часов (для гетеротрофных бактерий и дрожжей) и 14 суток (для нитрификаторов I и II фазы и микроводорослей). В качестве питательных сред использовали мясоептонный бульон (для гетеротрофных бактерий), среду Виноградского (для нитрификаторов I и II фазы), среду Сабура (для дрожжей), среду Тамия (для микроводорослей).

Полученные суспензии микроорганизмов центрифугировали в течение 10 минут при 8000 об/мин в случае бактерий и дрожжей; при 2000 об/мин – для суспензии микроводорослей. Клетки микроорганизмов, осажденные центрифугированием, трижды отмывали в 1 % фосфатном буфере при 8000 об/мин в течение 10 минут, а затем доводили до 2 %-й суспензии клеток.

Из образцов культуральных жидкостей получали нативные растворы путем трехкратного центрифугирования при 10000 об/мин в течение 30 минут.

Для определения активности внеклеточных лектинов в нативных растворах использовали реакцию агглютинации на планшетах, помещая во всевозможных вариациях исследуемые клетки микроорганизмов в образцы нативных растворов. Расчет результатов проводили по формуле:  $RA=2^{n-1}$ , где: RA – агглютинирующая активность (титр, единиц), n – разведение (лунка), при которой наблюдается агглютинация клеток микроорганизмов.

Было показано, что культуральная жидкость (нативный раствор) *Bacillus subtilis* обладает наиболее высокой активностью внеклеточных лектинов и способна вызывать агглютинацию клеток *Escherichia coli* (титр RA = 4 ед.), *Pseudomonas fluorescens* (титр RA = 2 ед.), р. *Acinetobacter* (титр RA = 4 ед.), р. *Chlorella* (титр RA = 2 ед.).

Культуральная жидкость (нативный раствор) *Pseudomonas fluorescens* проявляла высокую лектиновую активность (титр RA = 4 ед.), однако лишь в случае агглютинации клеток р. *Acinetobacter*. Лектины *Escherichia coli* показали слабую способность вызывать агглютинацию (титр RA = 2 ед.) бактериальных клеток *Pseudomonas fluorescens* и р. *Acinetobacter*. Способность к агглютинации у лектинов р. *Acinetobacter* наблюдалась для клеток *Pseudomonas fluorescens* (титр RA = 2 ед.) и р. *Chlorella* (титр RA = 4 ед.).

Культуральная жидкость (нативный раствор) нитрификаторов I и II фазы была исследована на способность к агглютинации бактериальных клеток, обладающих наибольшей способностью к агглютинации – р. *Acinetobacter* и *Pseudomonas fluorescens*. Полученные результаты свидетельствуют о том, что внеклеточные лектины нитрификаторов I и II фазы способны агглютинировать лишь бактериальные клетки р. *Acinetobacter* (титр RA= 4 и 2 ед.), соответственно.

Кроме того, в ходе экспериментальных исследований выявлено, что ни одна из исследуемых культуральных жидкостей, как источник внеклеточных лектинов, не была способна агглютинировать клетки дрожжей.