

ВЫДЕЛЕНИЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ ВИРУСОВ БАКТЕРИЙ *BACILLUS ALTITUDINIS*

Гарифулина К.И., Шах Махмуд Р.

Институт Фундаментальной Медицины и Биологии, КФУ, Казань
katila.garifulina@mail.ru

В связи с резистентностью бактерий к существующим антибиотикам, возрос интерес к бактериофагам. Чтобы детально изучить противобактериальные механизмы вирусов все более интенсивно стали заниматься исследованием генетических материалов бактериофагов. Актуальной темой сейчас является получения нуклеиновых кислот и разрушение поверхностных оболочек вируса – капсида, что и явилось целью нашего исследования.

Материалы и методы исследования: В качестве индикаторных культур в работе использовался штамм *Bacillus altitudinis* из коллекции микроорганизмов кафедры микробиологии КФУ.

Получение фаговой культуры проводилось путем многократных пассажей морфологически однотипных негативных колоний на индикаторной культуре, определение титра происходило методом Грациа и модифицированным методом Фишера [1]. Очищение суспензии бактериофага от бактерий и питательных компонентов происходило при помощи трех способов. 1 способ: использовали обработку исследуемого материала хлороформом, затем прогревали при 58-60°C в течение 30 мин. 2 способ: после тщательного осаждения почвы и больших количеств бактерий путем 30 мин. центрифугирования, суспензию отфильтровали через бумажный фильтр. 3 способ: суспензию очищали фильтрацией через 0, 45 мкм фильтр (Millipore, США). Удаление клеточных Н.К. проводили при помощи ДЕАЕ целлюлозы, фермента неспецифической рибонуклеазы и ДНКазы, затем удаляли низкомолекулярные нуклеотиды. Концентрирование фагов проводили с помощью центрифужного концентратора 10кД (Millipore, США). Разрушение фаговых капсидов происходило модифицированным методом с использованием отдельно ЭДТА-Na, pH 8,0, и в комплексе с протеиназой К и додецилсульфатом натрия. Для выделения нуклеиновой кислоты и осаждения использовали фенол и хлороформный стандартный метод.

Результаты и обсуждение: Индикаторный штамм был заранее проверен на отсутствие профага в геноме. Контроль - посев бактериальной культуры без бактериофага. Этапы изменения количества вирусных частиц *Bacillus altitudinis* в ходе очистки вирусных нуклеиновых кислот показали ожидаемые результаты, а именно, что после концентрирования, количество вирусных частиц увеличилось в 20, 10 и 6 раз по отношению к предыдущим этапам. Известен факт, что после разрушения фаговых капсидов жизнеспособность вируса теряется, поэтому мы не наблюдали появление бляшкообразующих единиц. Снижение количество бактериальных нуклеиновых кислот (Н.К.) в растворе на двух первых последовательных этапах нет, а на третьем этапе происходит резкое уменьшение количества Н.К. После разрушения фага произошел активный выход фаговой Н.К., ее количество в растворе возросло, своего максимума достигло на этапе выделения и осаждения, что говорит о хорошем выходе Н.К. фага. Количество белка максимально на этапе концентрирования фагов, вследствие поглощения света капсидами.

1. Золотухин, С.Н. Молекулярно-генетические исследования по изучению генома новых бактериофагов / С.Н. Золотухин // Вестник УГСХА, 2010. – Т.11. – 65-68 с.