

УДК 576.3

ТРЕГАЛОЗА КАК СУБСТРАТ РОСТА КЛЕТОК
ACHOLEPLASMA LAIDLAWII PG8© 2008 г. Р. И. Рафиков, М. Н. Давыдова¹, Е. С. Медведева, О. В. Горшков, О. А. Чернова

Казанский Институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН

Поступила в редакцию 29.05.2007.

Ограниченные биосинтетические возможности микоплазм (класс *Mollicutes*) не являются препятствием для широкого распространения этих бактерий в биоценозах, преодоления разнообразных защитных систем организмов и персистенции у высших эукариот [1]. Уникальным видом, с точки зрения адаптивных способностей, представляется *Acholeplasma laidlawii* – вездесущая микоплазма. Адаптация *A. laidlawii* PG8 к неблагоприятным условиям роста, как показано в наших работах [2], связана с нанотрансформацией – превращением вегетативных клеток микоплазм в ультрамикроразмеры. При этом, как оказалось, глюкоза – основной энергетический субстрат для *A. laidlawii* PG8 – может быть регулятором этого процесса. В этой связи способность *A. laidlawii* использовать трегалозу – мультифункциональную молекулу, участвующую в адаптации микроорганизмов и растений к неблагоприятным условиям роста [3], представляется особенно интересной.

Способность использовать трегалозу в качестве источника углерода и энергии выявлена у ряда микроорганизмов [4, 5]. У некоторых микоплазм, геном которых расшифрован, обнаружены потенциальные гены белков, определяющих метаболизацию трегалозы [GenBank, № NC 006908, AE 015450]. Однако гены белков, определяющих метаболизацию трегалозы у *A. laidlawii*, не установлены, а ее способность к росту на средах, содержащих трегалозу, не исследована.

Цель нашей работы заключалась в сравнительном анализе роста *A. laidlawii* PG8 на средах, содержащих глюкозу и трегалозу.

Штамм факультативно анаэробной бактерии *A. laidlawii* PG8 был получен из коллекции НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи. Клетки культивировали при 37°C на модифицированной среде Эдварда. Для получения клеточного экстракта отмытые 0.25 М раствором NaCl клетки суспендировали в 50 мМ натрий-фосфатном буфере, рН 7.2 и дезинтегрировали ультразвуком при 22 кГц (мощность 100 Вт) 3 раза по 90 с с 3-минутным интервалом (выдерживание на льду). Затем неразрушенные клетки осаждали (12000 g, 20 мин). Трега-

лазную активность в клеточных экстрактах определяли по количеству глюкозы, образовавшейся из трегалозы, с использованием диагностического набора “ЭКОлаб” (ООО “Агат-Мед”). Содержание белка определяли по методу Лоури [6].

В наших исследованиях обнаружено, что клетки *A. laidlawii* PG8 наряду с глюкозой могут использовать в качестве субстрата роста трегалозу, при этом рост бактерии сохраняется при многократном пассировании. По данным электронной микрографии клетки *A. laidlawii* PG8, выращенные на среде с трегалозой, имеют выраженную сферическую форму, четко оформленную мембрану. Урожай клеток микоплазм при культивировании на среде с трегалозой в качестве источника энергии почти вдвое меньше урожая клеток, культивируемых на среде с глюкозой (рис. 1). Однако реверсия к росту ультрамикроразмерных клеток *A. laidlawii* PG8, образующихся в неблагоприятных условиях роста из вегетативных клеток микоплазмы [2], в присутствии трегалозы происходит быстрее: эффект дифференциальной амплификации генов снимается ко второму пассажу, тогда как

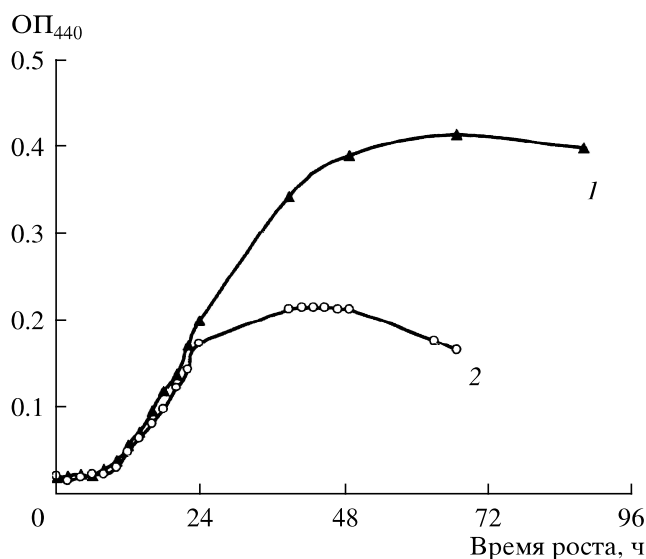


Рис. 1. Динамика роста *A. laidlawii* PG8 на средах с глюкозой (1) и трегалозой (2) в качестве энергетического субстрата.

¹Адресат для корреспонденции (e-mail: davydova@mail.knc.ru)