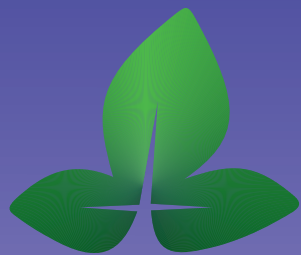


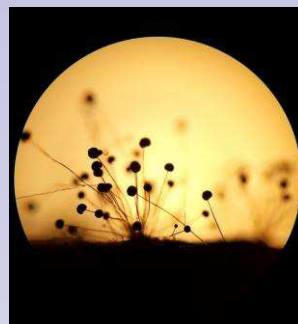
22-я Международная Пущинская школа-конференция молодых ученых



Биология

Наука XXI века

ТЕЗИСЫ КОНФЕРЕНЦИИ



Пущино, 23-27 апреля 2018



СЕКЦИЯ «МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ»

АНАЛИЗ ДИНАМИКИ ИЗМЕНЕНИЙ ГЕНОМА ВОЗБУДИТЕЛЯ ХОЛЕРЫ ЭЛЬ ТОР В СОВРЕМЕННЫЙ ПЕРИОД ЭВОЛЮЦИИ ЭТОГО ПАТОГЕНА

Агафонов Д. А.¹, Краснов Я. М.¹, Смирнова Н. И.¹

¹ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт "Микроб", Саратов,
Россия

rusrapi@microbe.ru

В связи с чрезвычайно высокой пластичностью генома, одним из уникальных модельных объектов изучения микроэволюционных преобразований является возбудитель холеры – бактерия *Vibrio cholerae*. Семь известных пандемий холеры были вызваны *V. cholerae* O1 серогруппы двух биоваров – классического и Эль Тор. Особый интерес представляют штаммы биовара Эль Тор, вытеснившие более 90 лет назад холерные вибрионы классического биовара в эндемичных по холере регионах и вызвавшие седьмую пандемию холеры, продолжающуюся с 1961 г. по настоящее время. При этом около 30 лет эпидемические осложнения по холере в мире были вызваны типичными штаммами этого биовара. В ходе микроэволюции в эндемичных по холере регионах в 1991-1994 гг. возникли новые измененные варианты этого патогена, или геноварианты, у которых структура и функция геномов отличаются от ранее известных типичных штаммов. Принято считать, что генетически измененные штаммы возникли в результате горизонтального переноса генов от *V. cholerae* классического биовара в клетки типичных штаммов *V. cholerae* биовара Эль Тор. К настоящему времени для геновариантов возбудителя холеры Эль Тор характерно глобальное распространение. Одно из основных отличий измененных штаммов состоит в более высоком уровне вирулентности, что выражается в тяжелых клинических формах болезни, нередко с летальным исходом. Выраженные различия в вирулентности между типичными и измененными штаммами связаны, прежде всего, с разным уровнем продукции ими холерного токсина – ключевого фактора вирулентности, вызывающего развитие острой диареи. При этом геном атипичных штаммов оказался весьма нестабильным. В результате в последнее десятилетие возникли высоковирулентные штаммы биовара Эль Тор с набором мутаций в мобильных генетических элементах, связанных с патогенностью (профаг СТХφ, остров патогенности VPI-1) или адаптацией к стрессовым воздействиям окружающей среды (остров пандемичности VSP-II). Геномные вариации были результатом небольших изменений в структуре ключевых генов вирулентности за счет точковых мутаций, а также делеции протяженного участка генома. Важно отметить высокую селективную ценность обнаруженных изменений генома, поскольку недавно сформированные атипичные штаммы вытеснили ранее возникшие варианты во многих эндемичных по холере регионах. Представленная динамика геномных вариаций приводит к функциональным изменениям генома и направлена на усиление вирулентности и эпидемического потенциала возбудителя.

ВЫДЕЛЕНИЕ ВИРУСА БАКТЕРИЙ ИЗ ЛЕСНОЙ ПОЧВЫ АЛЬМЕТЬЕВСКОГО РАЙОНА РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН

Аетдинова С.Э.¹, Миндубаева Л.Н.¹, Шах Махмуд Р.З.¹

¹ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

a.sevilya@mail.ru

Состав вирусов в почве косвенно определяет свойства почвы, пригодность почвы для различных сельскохозяйственных процедур и научных исследований, так как для каждой почвы характерно наличие экосистемы и таких ее представителей, возможность существования которых в данных условиях тесно связана со свойствами этой почвы, поэтому, зная примерный состав представителей почвы, можно примерно предсказать её свойства. Кроме того, вирусы играют важную роль в экосистемах. Бактериофаги влияют на численность почвенных бактерий, поэтому, изучив состав вирусов в почве и то, на какие бактерии они влияют, можно определить состав почвенных бактериальных видов и предсказать качество почв по содержанию полезных или вредных бактерий.



Целью нашей работы было выделение вируса из лесной почвы Альметьевского района Республики Татарстан (РТ). Альметьевский район, как и другие, богат разными видами почвы: чернозём, полевая, лесная, городская нефтезагрязнённая, городская незагрязнённая. В связи с этим нами были выбраны малоизученные учёными вирусы лесной почвы, из которой мы выделили вирусы.

В ходе исследования 200 мкг почвенного образца инкубировали вместе со штаммами бактерий *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus licheniformis* при температуре 37°C в течение 24 часов с аэрацией. Затем смесь центрифугировали в течение 30 минут при 10000g. Надосадочную жидкость отфильтровали через стерильные бумажные фильтры и поместили в микропробирку, затем прогрели в термостате при 65°C в течение 30 минут. Полученную суспензию, предположительно содержащую вирусы, хранили в холодильнике при 4°C. Наличие фагов подтвердили методом Фишера, а затем методом Грациа.

В работе было установлено, что в лесной почве имеется вирус бактерий рода *Bacillus*, который поражает *Bacillus pumilus* и *Bacillus licheniformis*, но не поражает *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*.

Таким образом, в лесной почве села Борискино Альметьевского района РТ имеется вирус, который избирательно поражает бактерии видов *Bacillus pumilus* и *Bacillus licheniformis*.

МЕТАЛЛОУСТОЙЧИВЫЕ БАКТЕРИИ ИЗ ХВОСТОХРАНИЛИЩА АРЦВАНИК: ИДЕНТИФИКАЦИЯ БАКТЕРИЙ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕНОВ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИХ ИХ МЕТАЛЛОУСТОЙЧИВОСТЬ

Айвазян И. С.¹, Маргарян А. А.¹, Грчунян А. А.¹

¹Ереванский государственный университет, Ереван, Армения

irina.ayvazyan@ysumail.am

Хвостохранилище Арцваник, эксплуатируемое Каджаранским медно-молибденовым комбинатом, является одним из наибольших среди отходных резервуаров Армении. Оно очень богато различными тяжелыми металлами и иными токсичными компонентами, чем и является уникальным экотопом для формирования сообществ металлоустойчивых микроорганизмов, состав которых мало изучен.

Целью данной работы является выделение и идентификация металлоустойчивых алкалофильных бактерий из образца, взятого из хвостохранилища Арцваник, а также исследование генов, обуславливающих их металлоустойчивость.

Были выделены три металлоустойчивые алкалофильные ($\text{pH}_{\text{оптimum}}$ 9-10), палочкообразные, аэробные, не образующие спор бактерии. На основании фенотипического анализа и секвенирования 16S рДНК изоляты были идентифицированы как штаммы *Rheinheimera soli* AI1, *Pseudomonas* sp. AI2 и *Algoriphagus aquaeductus* AI3. Они имели высокую гидролазную активность, благодаря чему могут рассматриваться как продуценты гидролитических ферментов.

Минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Cd^{2+} и Cr^{6+} для выделенных штаммов определяли методом серийных разведений в агаре. Установлено, что *R. soli* AI1 и *Pseudomonas* sp. AI2 более устойчивы к Cu^{2+} и Zn^{2+} (МИК составляет 4 мМ и 5 мМ, соответственно), тогда как *A. aquaeductus* AI3 был устойчив к Cu^{2+} и Ni^{2+} (МИК составляет 4 мМ и 2 мМ, соответственно). Гены, определяющие устойчивость к тяжелым металлам, идентифицировали с помощью ПЦР-амплификации с использованием специфических праймеров. Показано, что устойчивость к Cu^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Cr^{6+} и Hg^{2+} у *Pseudomonas* sp. AI2 обусловлена генами *copABC*, *nccA*, *chrB* и *merA*, тогда как у *R. soli* AI1 и *A. aquaeductus* AI3 резистентность обеспечивали гены *nccA* и *copC*.

Результаты показывают, что выделенные и идентифицированные металлоустойчивые алкалофильные бактерии перспективны для применения в биотехнологии как продуценты ферментов и в биоремедиации загрязненных участков окружающей среды.