

ИЗУЧЕНИЕ АВТОАГРЕГАЦИИ У МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ

Уразова М.С.¹, Шайхин С.М.², Бекенова Э.Е.², Молдагулова А.К.², Абдыкадырова А.Б.²,
Кушугулова А.Р.¹, Кажыбаев А.К.¹

¹*National Laboratory Astana, Назарбаев Университет (Астана, Казахстан)*
²*РГП «Республиканская коллекция микроорганизмов» (Астана, Казахстан)*
maira.urazova@nu.edu.kz

Ключевые слова: автоагрегация, лактобациллы, протеазы, буфер.

Введение: Автоагрегация бактерий относится к адаптационным механизмам. Как и адгезия для пробиотических микроорганизмов, высокое значение автоагрегации желательно, поскольку кооперируясь они способны создавать барьер, препятствующий колонизации патогенов. Молекулярная природа как бактериальной адгезии, так и автоагрегации схожа и объясняется наличием на клеточной стенке бактерий поверхностных белков. Изучение способности молочнокислых бактерий к автоагрегации, а также природы данного явления, важно для поиска и отбора новых пробиотиков.

Методы: Молочнокислые бактерии находящиеся на криоконсервации реактивировали дважды пересевом на МРС-1, после чего клетки собирали на центрифуге при 5000 g в течение 15 мин, дважды промывали и повторно ресуспендировали в фосфатно-солевом буфере (PBS: NaCl-137mM, KCl-2,7mM, Na₂HPO₄-10mM, KH₂PO₄ 1,8mM; pH-7,4). Далее клеточные суспензии (4 мл) перемешивали на вортексе в течение 10 с, автоагрегация определялась в течение 5 ч инкубации при комнатной температуре. По истечению каждого часа 0,1 мл верхней части пробирки переносили в пробирку с 3,9 мл PBS и измеряли оптическую плотность (А) при 600 нм. Процент автоагрегирования МКБ вычисляли по формуле:

$$1-(At/A0) \times 100,$$

где At представляет собой оптическую плотность в момент T =1, 2, 3, 4 или 5 ч, а A0 плотность при T = 0.

Доказательство белковой природы автоагрегации производили с применением протеолитических ферментов. Для чего после ресуспендирования в PBS добавляли протеолитические ферменты протеиназу К (0,9мг/мл) и пепсин (0,5мг/ мл) и ставили в термостат (37 °C) на час. Промывали и повторно ресуспендировали в фосфатно-солевом буфере (PBS: NaCl-137mM, KCl-2,7mM, Na₂HPO₄-10mM, KH₂PO₄ 1,8mM; pH-7,4). Затем измеряли процент автоагрегации методом описанным выше.

Результаты: Был проведен скрининг молочнокислых бактерий на автоагрегационную активность и проведена группировка штаммов с фенотипами 3-х уровней. В первую группу с максимальным автоагрегационным потенциалом от 45% автоагрегации и выше вошли 9 штаммов (6 штаммов составили *Lactobacillus sakei*). В третью группу с минимальными % автоагрегации (ниже 25 %) вошли 3 штамма: *Lactobacillus delbrückii sub.lactis*, *L. pentosus*, *L. plantarum*. Остальные 13 штаммов с автоагрегацией от 25 до 45% составили вторую группу. После обработки протеолитическими ферментами автоагрегация у всех штаммов не регистрировалась.

Выводы: Исследование позволило отобрать штаммы с максимальным показателем автоагрегации, доказана белковая природа автоагрегации с применением протеолитических ферментов (протеиназа К и пепсин), дальнейшее исследование предполагает выделение и изучение белков – адгезинов.