

Изменение спектра внутриклеточных белков *Bacillus pumilus* GA-1 под действием 2,4,6-тринитротолуола

Научный руководитель – Яковлева Галина Юрьевна

Горбунова Анна Сергеевна

Студент (магистр)

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Кафедра микробиологии, Казань, Россия

E-mail: ankapulimetchitsa@yandex.ru

2,4,6-тринитротолуол (ТНТ) - нитроароматическое соединение, которое используется в качестве красителей, взрывчатых веществ и пестицидов, обладает токсическими и мутагенными свойствами, а также устойчивостью к биodeградации. Наиболее действенным и ненаносящим вреда окружающей среде является биологический метод трансформации ТНТ с помощью микроорганизмов, что объясняется наличием у них ферментных систем деградации ксенобиотиков. Известно, что токсический эффект на микроорганизмы-деструкторы проявляется в подавлении роста культуры, изменении морфологии клеток, подавлении дыхания, снижении трансмембранного потенциала и т.д. [1]. Однако, до конца остается невыясненным вопрос действия ксенобиотика на белковый профиль микроорганизма-деструктора.

В связи с этим, посредством двумерного гель-электрофореза и масс-спектрометрии нами был проведен анализ изменения протеомного профиля *Bacillus subtilis* SK 1 под действием ТНТ (20, 200 мг/л). С использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и ионообменной хроматографии (ИОХ) были идентифицированы продукты трансформации данного ксенобиотика.

Рост культуры наблюдался после полной элиминации ТНТ (20 мг/л) из среды культивирования на 4 час. При исходной концентрации ТНТ 200 мг/л к 24 часу из среды элиминировалось лишь 18% ксенобиотика. Посредством ВЭЖХ и ИОХ установлено, что трансформация нитроарила шла по пути восстановления нитрогрупп с образованием 4-амино-2,6-динитротолуола.

Сравнительный протеомный анализ продемонстрировал, что высокие концентрации ксенобиотика (200 мг/л) оказывали более выраженное токсическое действие в отношении *B. subtilis*. Так если при действии ТНТ в концентрации 20 мг/л мы визуально наблюдали подавление продукции лишь 3 белков, то ТНТ в концентрации 200 мг/л ингибировал экспрессию - 38. При действии высокой концентрации ксенобиотика, кроме ингибируемых белков, были протектированы 26 белков, которые индуцировались в присутствии ТНТ. Среди индуцируемых белков *B. subtilis* преобладали белки, ответственные за восстановительный путь трансформации ксенобиотика, снятие окислительного стресса и репарацию молекулы ДНК и клеточной стенки. В числе ингибируемых ТНТ белков отмечались белки характерные для клеток, находящихся на стадии активного роста.

В ходе протеомного анализа большинство белков *B. subtilis* было идентифицировано как белки *B. pumilus*. Поэтому для уточнения таксономического положения штамма *B. subtilis* был проведен генетический анализ с помощью сиквенса 16S рРНК. Согласно проведенному скринингу по базе данных GenBank, наиболее близкими к полученной последовательности гена 16S рРНК к штамму оказались штаммы вида *B. pumilus*.

Источники и литература

- 1) 1) Куриненко, Б. М. Особенности токсического действия 2,4,6-тринитротолуола в отношении *Escherichia coli* K12 / Б.М. Куриенко, Н.А. Дениварова, Р.Э. Давыдова, Г.Ю. Яковлева // Прикл. биохимия и микробиология. 2007. Т. 43.- № 1. С.59-64.