

## Секция «Биоинженерия и биоинформатика»

**Изучение роли тиоловых редокс-систем при комбинированном действии температурных стрессов и ципрофлоксацина у бактерий *Escherichia coli*.**

**Лепехина Елена Владимировна**

Аспирант

Пермский государственный технический университет, Химико-технологический факультет, Пермь, Россия

E-mail: alenshick@mail.ru

Широкое распространение штаммов патогенных микроорганизмов, устойчивых к лечебным препаратам, привело к резкому снижению эффективности терапии инфекционных болезней. Это объясняет актуальность изучения генетических и биохимических механизмов антибиотикорезистентности, а также закономерностей ее формирования и распространения. Все большее внимание уделяется не только поиску новых антибактериальных веществ, но и исследованию условий, модифицирующих их действие [1]. В этой связи, представляют интерес исследования комбинированного воздействия антибиотиков и температурных стрессов на бактерии.

Ранее было показано, что в клетках бактерий *E. coli*, подвергнутых воздействию температурных стрессов, наблюдается повышение активности генов и, соответствующих ферментов, участвующих в адаптации к окислительному стрессу как результата образования активных форм кислорода (АФК) [2]. С другой стороны, обработка антибиотиками, подавляющими трансляцию, индуцирует экспрессию генов холодового шока. Известно также, что внутриклеточные тиоловые редокс-системы могут играть важную роль в адаптации бактерий к стрессам [3].

Целью настоящей работы являлось изучение устойчивости бактерий *E. coli* к совместному действию температурных стрессов и ципрофлоксацина (ЦП) и роли тиоловых редокс-систем в этих условиях. Использовали следующие штаммы: RI89, wt; RI336, gsh (мутант по синтезу глутатиона); RI363, trxA (мутант по синтезу тиоредоксина А) и RI 319, trxB (мутант по синтезу тиоредоксинредуктазы).

Бактерии, находящиеся в экспоненциальной фазе аэробного роста, подвергали холодному (37 о 20°C) или тепловому шоку (37 о 42°C или 37 о 46°C) и через час после температурного стресса в культуру добавляли ЦП в концентрации 3 мкг/мл.

Эксперименты показали, что через час после добавления антибиотика как при 37°C, так и при 42°C наблюдали снижение выживаемости клеток *E. coli* на два порядка. Спустя два часа после добавления ЦП выживаемость падала еще на порядок. Обработка клеток той же дозой ципрофлоксацина при температурах 20°C и 46°C вызывала снижение выживаемости у всех штаммов примерно в три раза. Спустя два часа после добавления ЦП, наблюдали падение выживаемости еще на 10%. Таким образом, культивирование бактерий при экстремальных температурах значительно повышало их устойчивость к действию антибиотика (Таблица 1).

Сравнение поведения различных штаммов показало, что температурные стрессы в наибольшей степени модифицировали действие ЦП в штаммах *E. coli*, мутантных по синтезу глутатиона и тиоредоксина, и в наименьшей – у мутантов по тиоредоксинредуктазе. В целом, проведенные исследования свидетельствуют о влиянии температурных

стрессов на устойчивость бактерий к ципрофлоксацину и о существенной роли тиоловых редокс-систем в этих условиях.

### Литература

1. Сидоренко С.В. Молекулярные основы резистентности к антибиотикам/ С.В. Сидоренко, В.И. Тишков // Успехи биологической химии. 2004. Т. 44, С. 263-306.
2. Смирнова Г.В. Роль антиоксидантных систем в отклике бактерий *E. coli* на тепловой шок/ Смирнова Г.В., Закирова О.Н., Октябрьский О.Н. // Микробиология. 2001. Т.70, 5, С. 595-601.
3. Октябрьский О.Н. Редокс-регуляция клеточных функций/ О.Н. Октябрьский, Г.В. Смирнова // Биохимия. 2007. Т.72, С. 158-174.

### Слова благодарности

Работа выполнена при поддержке грантом Президента РФ МК1763.2012.4, а также грантом Президиума УрО РАН для молодых ученых 11-4-ИП-181.

### Иллюстрации

Выживаемость клеток *E. coli* R189 при комбинированном стрессе

| Температура       | Контроль, % | Выживаемость через час после добавления ЦП, % | Выживаемость через два часа после добавления ЦП, % |
|-------------------|-------------|---|--|
| 20 <sup>0</sup> С | 100         | 34.8  | 20.0   |
| 37 <sup>0</sup> С | 100         | 1.3   | 0.15   |
| 42 <sup>0</sup> С | 100         | 1.6   | 0.16   |
| 46 <sup>0</sup> С | 100         | 33.2  | 18.5   |

Рис. 1: Таблица 1