

**Флуоресцентная микроскопия в экстремальных условиях: нелетальное
окрашивание галофильных микроорганизмов**

Научный руководитель – Борщевский Валентин Иванович

Маслов Иван Владимирович

Студент (бакалавр)

Московский физико-технический институт, Москва, Россия

E-mail: ivan.v.maslov@phystech.edu

Уникальные биомеханизмы, позволяющие галофильным микроорганизмам выживать в средах с высоким содержанием солей, делают их важным объектом исследования как для биотехнологии, так и с точки зрения фундаментальной биологии. Их применение позволяет снизить требования к стерильности на производстве, поскольку для традиционных микроорганизмов, которые могли бы вызвать контаминацию, осмотическое давление в ростовой среде оказывается летальным. Галобактерии являются продуцентами бактериородопсинов - фотоактивных мембранных белков, наиболее изученных из-за высокой термостабильности и зачастую выступающих в роли модельного объекта в исследованиях мембранных белков. Кроме того, из-за способности к сохранению жизни (консервации) в соляных отложениях в течение сотен миллионов лет, подтвержденной исследованиями геологических образцов, и устойчивости к широкому спектру внешних воздействий галофильные микроорганизмы являются модельными в исследованиях, посвященных возможности внеземной жизни и ее поискам (в т.ч. на Марсе и Европе) .

Применение ставшего основным в микроскопии живых объектов метода, а именно флуоресцентной микроскопии, к исследованиям галофильных микроорганизмов затруднено, поскольку традиционно применяемые методы мечения оказываются непригодными при высоких концентрациях соли в среде. Так, спектр техник, применяемых для окрашивания галобактерий, в данный момент ограничивается несколькими красителями, в основном интеркалирующими в ДНК микроорганизма, что препятствует нормальной транскрипции и работе репликативного аппарата и вызывает цитотоксический эффект, ограничивающий возможности культивации клеток после покраски.

В данной работе предлагается ранее неизвестный метод флуоресцентного мечения галофильных микроорганизмов в естественных условиях (в среде с молярными солями). Показано отсутствие цитотоксического эффекта, а также сохранение окрашивания в свободной от красителя среде от поколения к поколению на протяжении, как минимум, пяти циклов удвоения. Для валидации метода наблюдался процесс трансформации клеток *Halobacterium Salinarum* в сферопласты. Кроме того, были успешно проведены измерения с тремя штаммами (бактерий и архей), выделенными из полевых образцов воды соленых озер России, Греции и Туниса.