

NO-индуцируемое диспергирование зрелых биопленок E.coli подавляется железом не за счет их непосредственного взаимодействия

Научный руководитель – Васильева Светлана Васильевна

Телегина Дарья Ивановна

Студент (бакалавр)

Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Факультет биотехнологии и промышленной экологии (БПЭ), Москва, Россия

E-mail: daryakinder62@gmail.com

Применение монооксида азота в качестве диспергирующего агента биопленок является крайне многообещающей стратегией борьбы с хроническими инфекциями, возбудителями которых они и являются. Существует множество работ, в которых доказана эффективность применения низких, наномолярных концентраций NO или его доноров в борьбе с пленкообразующими бактериями, в свою очередь высокие концентрации наоборот стимулируют процессы их формирования. Высокое сродство NO к Fe^{2+} приводит к удалению железа из [Fe-S] кластеров и образованию динитрозильных комплексов железа. С учетом определяющей роли железа в биологической активности оксида азота цель данной работы заключалась в исследовании корреляции влияния данных факторов с диспергированием биопленок и установлении фундаментальных механизмов данного процесса.

Для исследования был использован родительский штамм E.coli MC4100 [soxS:lacZ] wt/pTN1530 Amp^r и его изогенные мутанты с одиночной/двойной делециями внутри рамки считывания генов доставки: E.coli MC4100 Δ iscA, E.coli MC4100 Δ sufA, E.coli MC4100 Δ iscA/ Δ sufA. В качестве доноров NO использовали S-нитрозоглутатион (GSNO), не содержащий железо в своем составе, и динитрозильный комплекс железа с глутатионом, синтезированные по методу А.Ф.Ванина[1].

При одновременном воздействии донора оксида азота и $FeSO_4$ в различных концентрациях на зрелые биопленки в течении часа наблюдали подавление дисперсии дозозависимым образом, причем максимальный показатель дисперсии наблюдали при отсутствие экзогенного железа в среде. В случае, если в среду не вносили оксид азота, но при этом добавляли сульфат железа(II), наблюдали значительное увеличение биомассы биопленок. Чтобы опровергнуть гипотезу о том, что железо может мешать действию NO путем их непосредственного взаимодействия, был проведен опыт аналогичный ранее описанному, только сначала вносили донор оксида азота и только через 20 минут (заранее экспериментально установленное время достаточное для индукции рассеивания) добавляли Fe^{2+} , в результате чего регистрировали увеличение биомассы биопленок, что свидетельствует о процессе вторичного прикрепления ранее диспергированных клеток, или РТЮ для удаления свободного оксида азота, в результате чего повторного образования биопленок не наблюдали. В случае комбинированной обработки NO с хелатором железа наблюдалось значительное усиление дисперсии биопленок. Аналогичные результаты были получены и для Fe^{3+} .

Следовательно, исходя из полученных результатов, можно сделать вывод о том, что экзогенное железо, причем как Fe^{2+} , так и Fe^{3+} , подавляет реакцию рассеивания, вызванную NO, за счет влияния на процесс диспергирования ниже в регуляторном каскаде, чем ингибирование рассеивания путем прямого поглощения оксида азота железом.

Источники и литература

- 1) Васильева С.В., Ступакова М.В., Лобышева И.И. и др. // Биохимия. 2001. Т. 66. № 9. С. 1209–1214.