

Целью настоящего исследования явилось изучение возможности синтеза микробных осмопротекторов и фосфатсолубилизирующей активности у галотолерантных азотфиксирующих и метилотрофных бактерий, выделенных из филлосферы и ризосферы растений засоленных почв. Из образцов растений, произрастающих в зоне техногенного засоления г. Соликамска, были выделены штаммы метилотрофных (M1K, M7) бактерий и азотфиксаторов (A1, A7, A15), способных синтезировать микробный ауксин на среде с L-триптофаном. Методами классической филогении была определена таксономическая принадлежность выделенных культур микроорганизмов (*Pantoea vagans* A1, *Brucella* sp. A7, *Pantoea vagans* A15, *Methylophaga nitratreducens* M1K, *Paracoccus* sp. M7). Фосфатсолубилизирующая активность, определявшаяся на агаризованной среде (при 0% и 1% NaCl) с метиловым красным, 40 mM CaCl₂ и 17 mM K₂HPO₄ по покраснению и просветлению агара, была обнаружена только у культур азотфиксаторов A1, A7, A15. При этом наибольшая интенсивность фосфатсолубилизации была у культуры A1 при 0% NaCl. МАЛДИ-методом выявлена способность изолята M7 синтезировать полиаминокислоту с молекулярной массой мономера близкой к массам глутамин и лизина. Известно, что ряд аминокислот, включая глутамин, являются предшественниками осмопротекторов. В экспериментах с проростками пшеницы, при повышенном содержании соли, исследуемые культуры метилотрофов и азотфиксаторов оказали значительное положительное влияние на морфометрические параметры и содержание пигментов по сравнению с контролем. Таким образом, выделенные культуры микроорганизмов перспективно использовать в качестве естественного стимулятора жизнестойкости и выносливости растений в стрессовых условиях.

ПРОТЕАЗА HTRA ИЗ *BACILLUS SUBTILIS* ПОДАВЛЯЕТ ОБРАЗОВАНИЕ БИОПЛЕНОК *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* И *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS*

**Шарафутдинов И.С.¹, Клингер-Штробель М.², Чернова Л.С.¹,
Гайнутдинова З.Р.¹, Каюмов А.Р.¹**

¹ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия;

²Университетская клиника г. Йена, Германия

irwad@yandex.ru

Нормальная микрофлора кожи человека в некоторых случаях может являться причиной воспаления при кожных повреждениях, снижении иммунитета, низком уровне гигиены. Основными возбудителями эпидермальных инфекций человека выступают бактерии видов *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus epidermidis*, которые образуют биопленку на поверхности раны и замедляют процесс заживления. Одним из подходов к решению данной проблемы является включение протеиназ в состав средств обработки ран и перевязок для разрушения биопленки. Одним из успешных решений этих задач может являться использование протеиназ семейства HtrA – высокоспецифичных ферментов, протеолитическая активность которых модулируется температурой. Использование данного фермента в качестве ранозаживляющего агента потенциально позволит получить низкую токсичность препарата за счет специфичности к денатурированным белкам, а также позволит получить препарат, проявляющий максимум активности при повышенных температурах, наблюдаемых при воспалительных процессах.

Для очистки белка был получен штамм, обеспечивающий гиперпродукцию рекомбинантного белка HtrA, несущего Гис-таг на N-конце белка. Для этого ген *htrA* получали с помощью ПЦР с геномной ДНК *B.subtilis* 168 и клонировали в экспрессионный вектор pET15b. Полученной генетической конструкцией трансформировали штамм *E.coli* BL21. Очистку рекомбинантного белка HtrA с Гис-таг меткой проводили на Ni-NTA сефарозе. Белок был очищен в препаративных количествах до электрофоретической гомогенности.

Исследовали влияние белка HtrA-His6 на процесс образования биопленок бактериями *S.aureus* и *S.epidermidis*. Культуры клеток MSSA (Methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*) и *S.epidermidis* инкубировались с белком HtrA в течении суток, затем с помощью конфокального лазерного сканирующего микроскопа (Zeiss LSM 710, Germany) исследовали интенсивность и толщину образовавшейся бактериальной биопленки. В присутствии белка HtrA-His6 в концентрации 100мМ уровень роста биопленок обоих штаммов оказался значительно ниже по