

ОСОБЛИВОСТІ СПЕКТРІВ ПОГЛИНАННЯ ЛІЗАТІВ ГАЛОФІЛЬНИХ БАКТЕРІЙ РІЗНИХ ШТАМІВ

Ю.В. Андрашко*, І.І. Трикур, І.І.Цьома ,
І.Й. Шаркань*, В.В. Ярош , Н.П.Фролова

НДІ ФХТТ Ужгородського національного університету,

*медичний факультет Ужгородського національного університету

Наводяться спектри поглинання різних штамів галобактерій, наявних у музеї штамів Ужгородського національного університету, а також галобактерій, взятих з різних глибин озера Кунігунда у Солотвині. Вони підтверджують, що у спектрах бактеріородопсиновмісних штамів пік поглинання розміщений в області 570 нм, а для штамів з каротиноїдами спостерігається поглинання в області 400 – 500 нм, що дозволяє використовувати дані особливості для ідентифікації цих мікроорганізмів за допомогою спектрофотометричного аналізу.

Вступ

В останній час спостерігається тенденція зростання використання органічних матеріалів у електроніці. Одним з найбільш перспективних органічних матеріалів у оптоелектроніці є фотохромний ретинальбілковий комплекс – бактеріородопсин (БР) [1,2]. Єдиними продуцентами БР є галофільні бактерії. Ці мікроорганізми живуть у водоймах з дуже великою концентрацією NaCl (не менше 4М), які розміщені у районах із значною сонячною радіацією і жарким кліматом. На даний час існує багато різних штамів галобактерій, які характеризуються різною продуктивністю стосовно вироблення БР [1]. Кількість молекул БР у мембрані бактерії залежить також і від умов вирощування (склад поживного середовища, інтенсивність аерації, освітлення, тощо). Відповідно постає питання вибору штаму та оптимізації технологічних умов вирощування галофілів. Для вирішення даного питання необхідне проведення широкого спектру досліджень, які можуть дати інформацію по продуктивності кожного штаму та її залежності від параметрів зовнішнього середовища та динаміки їх зміни. Останнє, в свою чергу, потребує наявності досконалої методики для проведення досліджень. Наявні мікробіологічні методики вимагають великих затрат часу та ресур-

сів, тому вони непрактичні для досліджень динамічних процесів [3,4]. Таким чином, проблема розробки експресного методу ідентифікації та досліджень мікроорганізмів є актуальною для мікробіології взагалі, і зокрема, для галофілів.

Нещодавно виявлено позитивний ефект дії галобактерій на шкіру людини у вигляді фотосенсибілізуючого впливу [5]. Наявний ефект дає підстави для використання галобактерій у фототерапії, коли енергетична адаптація сонячного та штучного ультрафіолетового випромінювання до фізіологічних та патологічних процесів, які відбуваються в шкірі хворих, особливо псоріазом, є необхідною передумовою забезпечення позитивних наслідків геліотерапії. Доведено цілощодо дію курортних факторів Солотвинського озера на хворих псоріазом, зокрема через позитивний фотосенсибілізуючий вплив галобактерій на шкіру та деякі патогенетичні механізми перебігу дерматозу (ліпідний обмін) [5]. Таким чином, актуальною є необхідність моніторингу біологічного стану Солотвинських озер [6,7].

Наявність різної кількості молекул БР у мембранах, а також особливості структури окремих мембран чітко відбиваються на оптичних спектрах лізатів галобактерій. Дані відмінності у оптичних спектрах поглинання лізатів різних штамів галобак-

терій лежать в основі експресної спектрофотометричної методики ідентифікації та досліджень галобактерій.

Підготовка зразків та методика досліджень

Дослідження проводились з допомогою установки на базі спектрофотометра СФ-26. У спектрофотометрі використовуються два джерела суцільного спектру випромінювання: дейтерієва лампа для роботи в області спектру від 186 до 350 нм і лампа розжарювання для роботи в області від 340 до 1100 нм. До стандартної установки СФ-26 було добавлено ряд додаткових блоків і вузлів, які полегшують проведення експерименту і значно спрощують обробку результатів.

Для зміни довжини хвилі випромінювання в даній установці використовується кроковий двигун, управління яким здійснюється за допомогою ЕОМ і пристрою керування двигуном згідно відповідної програми. За допомогою аналогово-цифрового перетворювача інформація з аналогового приладу в цифровому вигляді поступає на ЕОМ, де за допомогою спеціальної програми результати представляються у графічному вигляді.

Були проведені дослідження спектрів поглинання лізатів клітин різних штамів галобактерій, наявних у музеї штамів УжНУ. Підготовка проб суспензій лізатів для досліджень проводилась таким чином, щоб концентрація біомаси для всіх штамів була однаковою з розрахунку ($10 \pm 0,015$) мг біомаси на 4 мл дистилляту. Крім досліджень музейних штамів проводились також дослідження спектрів галобактерій Солотвинських соляних озер. Для цього проведені забори води з різних глибин озера з подальшим пересівом на поживне середовище (агарагар, пептон, NaCl, MgSO₄, KCl, цитрат натрію). Після проростання мікрофлори води за допомогою петлі проводився збір біомаси однакових колоній (ідентифікація колоній проводилась візуально по кольору і формі). Об'єктом досліджень була водна суспензія зібраної біомаси. Лізат галобактерій готувався аналогічно до попереднього випадку, тобто таким чином, щоб концент-

рація біомаси була ($10 \pm 0,015$) мг на 4 мл дистилляту для всіх проб.

Результати досліджень та їх аналіз

Особливістю спектрів поглинання бактеріородопсинвмісних галобактерій є наявність піку поглинання в області 570 нм, який відповідає максимуму смуги поглинання БР. Дана особливість спектру може бути використана для ідентифікації галобактерій, що містять БР. Крім того, достовірність ідентифікації може підтверджуватися наявністю піків поглинання, характерних для інших речовин, наявних у клітинах галофілів. Експресність даної методики дозволяє використовувати її для контролю за змінами оптичних параметрів біомаси галофільних бактерій у процесі вирощування і оптимізації технологічних параметрів процесу культивування. Крім того, по величині піку, яка залежить від концентрації БР в галофілах, можна проводити кількісні оцінки параметрів росту.

На рис 1 наведені результати досліджень оптичних спектрів поглинання лізатів різних штамів галофільних мікроорганізмів, наявних у музеї штамів УжНУ. По отриманим спектрам видно, що у кожного бактеріородопсинвмісного штаму спостерігається пік в області 570 нм. Різну величину піків можна пояснити тим, що мембрани бактерій різних штамів мають різну кількість молекул БР, тобто характеризуються різною продуктивністю по виробництву БР. Отримані результати добре узгоджуються з результатами, наведеними в літературі [1]. Так, штам 353-П високопродуктивний стосовно виробництва бактеріородопсину, в той же час він містить велику кількість каротиноїдів. На графіку залежності оптичної густини від довжини хвилі фіксується пік в області 570 нм, який відповідає смугі поглинання бактеріородопсину, і сильне поглинання в області 400-500 нм, де знаходяться лінії поглинання каротиноїдів. В той же час для малокаротиноїдного штаму R1M1 [1] поглинання в області 400-500 нм набагато менше. Крім цього, спектри поглинання для лізату клітин штаму 353-П добре узгоджуються з наявними у літературі [2].

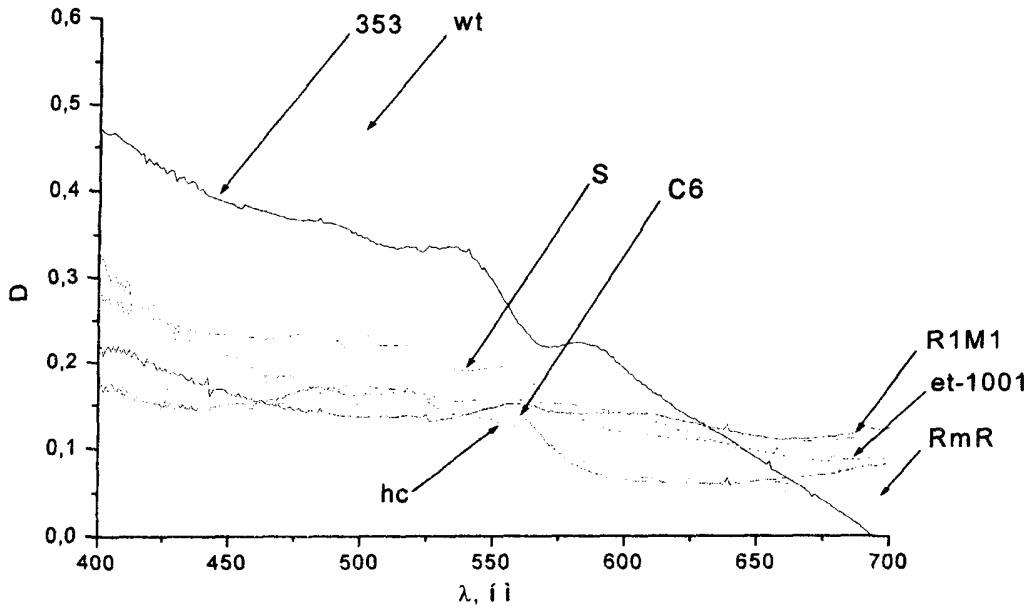


Рис 1. Оптичні спектри поглинання різних штамів галофільних бактерій.

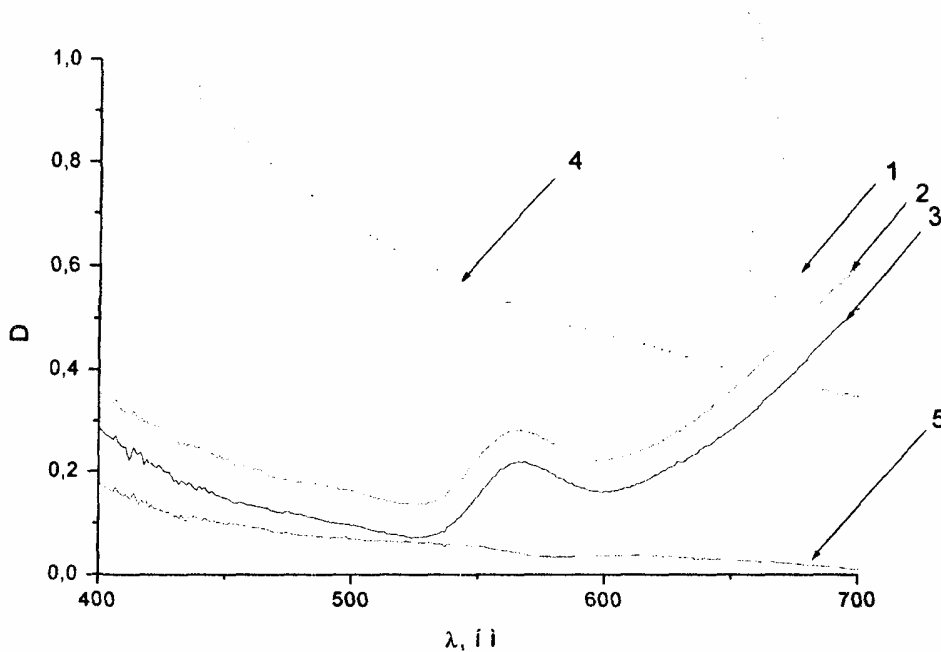


Рис 2. Спектри поглинання галофільних бактерій, взятих із різних глибин озера Кунігунда. 1 - 0.5 м; 2 – 3м; 3 – 3.5м; 4 – 4м; 5 – 5м.

Аналіз графіків залежності оптичної густини від довжини хвилі для інших штамів дозволяє відмітити:

-для штамів et-1001 і hc спостерігається поглинання в області 400-500 нм і невеликий пік в області 570 нм, що свідчить про наявність каротиноїдів і БР у даному штамі;

-для штамів RmR, S і C6 спостерігаєть-

ся досить значне поглинання в області 400-500 нм і чіткий пік в області 570 нм, що вказує на наявність великої кількості каротиноїдів і досить високу продуктивність даних штамів відносно БР;

-для штаму wt спостерігається дуже слабкий пік в області 570 нм і сильне поглинання в області 400-500 нм, тобто кількість БР в бактеріях даного штаму дуже

мала, а кількість каротиноїдів – велика.

Наведені результати і їх хороше узгодження з уже відомими даними дозволяють рекомендувати дану методику досліджень для ідентифікації різних штамів бактеріородопсинвісних галобактерій.

На рис 2. наведені спектри поглинання галобактерій, взятих із різних глибин Солотвинського озера. По наявності максимумів при 570 нм можна судити про наявність бактеріородопсину в даних бактеріях. Як видно зі спектрів, на глибинах 0,5 м і 3,5 м в області 570 нм спостерігається

чіткий пік. Це дозволяє зробити висновок, що кількість БР у мембранах молекул цього штаму велика порівняно з кількістю каротиноїдів, оскільки поглинання в області 400-500 нм менше. Враховуючи зміну амплітуди максимумів з глибиною можна відзначити, що на різних глибинах кількість бактерій на одиницю об'єму різна. Це пов'язано з тим, що на різних глибинах різні умови для життєдіяльності бактерій, що впливає на продуктивність бактерій по виробленню БР.

1. Всеволодов Н.Н. Биопигменты - фоторегистраторы. Фотоматериал на бактериородопсине.- М.: Наука, 1988.- 222 с.
2. Светочувствительные биологические комплексы и оптическая регистрация информации / под. ред. Г.Р. Иваницкого. Пушино, Отдел научно-технической информации Научного центра биологических исследований АН СССР в Пушкине, 1985. –207с.
3. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / под ред. М. О. Биргера. - М.: Медицина, 1982. – 445с.
4. Борисов Л. Б., Козьмин-Соколов Б. Н., Фрейдлин И. С., Федорова З. Ф. Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии. – М.: Медицина, 1979. – 285с.
5. Андрашко Ю. В. Використання природних факторів озера Кунігунда селища Солотвино Закарпатської області України при лікуванні хворих на псоріаз // Український бальнеологічний журнал. – 2001. №1. – С16-19.
6. Шаркань Й. П., Січка М. Ю. Лемко І. С., Чонка Я. В., Мучічка І. І., Корпош О. І. Особливості фізико-хімічних властивостей Солотвинських соляних озер. // Науковий вісник Ужгородського університету. – 2001.-серія Хімія, випуск 6. – С148-152.
7. Лемко І. С., Фролова Н. П., Цьома І. Й., Чонка Я. В., Шарга Б. М., Шаркань І.Й., Ярош В. В. Функціонування біоценозу Солотвинських озер. // Імунологія та алергологія.-2001.№2.-С50-51.

PECULARITIES OF THE ABSORPTION SPECTRUMS OF THE LYSATES OF THE HALOPHILE BACTERIA OF DIFFERENT STAMMS

**Andrashko Yu.V., Trikur I.I., Tsyoma I.J.,
Sharkany I.J., Yarosh V.V., Frolova N.P.**

Institute of solid state physics and chemistry of Uzhgorod National University.

*Medical faculty of Uzhgorod National University

The absorption spectrums of the cell lysate of different Stamms halobacteria available at the Stamms museum of the Uzhgorod National University are given and also the absorption spectrums of halobacteria taken from different of Cunigunda lake in Solotvino. It is noted that in spectrum of the bacteriorhodopsin-containing Stamms the peak is available in the region of 570 nm, as for the Stamms with carotinoides the absorption in the region of 400-500 nm is observed, what permits to identify these microorganisms with the help of spectrophotometric analysis.