

Real-time мониторинг Eh среды и продукции сульфида при осмотическом шоке у бактерий *Escherichia coli***Научный руководитель – Октябрьский Олег Николаевич**Габова А.О.¹, Тюленев А.В.²

1 - Пермский национальный исследовательский политехнический университет, Химико-технологический факультет, Пермский край, Россия, *E-mail: ms.anya.05@mail.ru*; 2 - Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения РАН, Пермь, Россия, *E-mail: Leksey333@yandex.ru*

Ранее было показано, что ингибирование роста бактерий *Escherichia coli*, при стрессе голода или действии некоторых антибиотиков, сопровождается увеличением уровня внутриклеточного цистеина, способного вступать в реакцию Фентона с образованием токсичных активных форм кислорода (АФК). Показано также, что для предотвращения окислительного стресса бактерии *E. coli* поддерживают гомеостаз цистеина: его избыток может включаться в глутатион (GSH), расщепляться с образованием сульфида, выделяемого в среду. Стресс-индуцированный выход сульфида в среду может вызывать значительное изменение редокс-потенциала культуры (Eh). При некоторых стрессах в среду выделяется также глутатион. Представляло интерес проследить за изменениями Eh и сульфида при осмотическом шоке растущих культур *E. coli*.

В работе использовались штаммы *E. coli* из коллекции Keio: BW25113 (родительский штамм), мутанты JW2663 и JW2414, дефектные по синтезу глутатиона (*gshA*) и синтетазе цистеина (*cysM*) соответственно. Бактерии выращивали на среде M9 с глюкозой в термостатируемом шейкере при 37°C. Концентрацию экстраклеточного сульфид-иона определяли с помощью сульфид-специфичного электрода XC-S²⁻-001 («Sensor Systems Company», РФ), редокс-потенциал (Eh) регистрировали платиновым электродом ЭРП-105 («ИТ», РФ). Потенциометрические данные синхронно обрабатывались рХ-метрами срХ-2 (ИБП, Пущино, РФ). Мониторинг проводили в режиме реального времени непосредственно в колбах с аэробно растущими культурами *E. coli*. Осмотический шок индуцировали добавлением в культуру 0,6 М NaCl в середине логарифмической фазы роста.

При индукции осмотического шока наблюдалось резкое снижение скорости роста у всех используемых штаммов, после чего культура возобновляла рост в течение последующих 15-ти минут. У родительского штамма остановка роста сопровождалась быстрым и обратимым скачком Eh в область отрицательных значений на $14,3 \pm 2,8$ мВ, продолжающегося в течение 15 мин. У *gshA*-мутантов такой же скачок Eh составлял $84,5 \pm 12,0$ мВ и продолжался 70 мин. Примечательно, что у мутантов *cysM* в ответ на осмотический шок наблюдалось повышение Eh.

В наших условиях синхронно с изменениями Eh, при осмотическом стрессе наблюдалось увеличение продукции эндогенного сульфида, о чем свидетельствовало изменение потенциала сенсора на $10,8 \pm 1,0$ мВ продолжительностью 15 мин в клетках родительского штамма и на $53,0 \pm 1,1$ мВ в течение 90 мин у *gshA*-мутанта. У мутантов *cysM* изменение уровня сульфида не наблюдалось.

Полученные результаты показывают, что осмотический шок является еще одним стрессом, при котором остановка роста бактерий *E. coli* сопровождается выбросом сульфида в среду. Подтверждена важная роль глутатиона в гомеостазе цистеина при стрессах. У *cysM*-мутантов, отсутствие скачков сульфида и Eh-потенциала может быть обусловлено нарушением расщепления цистеина, при котором образуется сульфид.

Работа выполнена в соответствии с государственным заданием АААА-А19-119112290009-1 и поддержана грантами РФФИ 19-04-00888, Президента РФ МК-420.2020.4.