

Электро-оптический мониторинг получения бактериальных теней *Yersinia pestis*

Е.А. Бурмистров / E.A. Burmistrov

А. Г. Волошин, И. А. Дунайцев, С. В. Дентовская, М. В. Клыкова, Р. Х. Жумакаев, Л. В. Коломбет, В. Д. Бунин, И. А. Дятлов, А. П. Анисимов / A. G. Voloshin , I. A. Dunaytsev, S. V. Dentovskaya, M. V. Klykova, R. H. Zhumakaev, L. V. Kolombet, V. D. Bunin, I. A. Dyatlov, A. P. Anisimov

ФБУН «ГНЦ ПМБ» Роспотребнадзора, Оболенск / State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk

Введение

Бактериальные тени (БТ) грамотрицательных патогенов, используемые сами по себе или в сочетании с хорошо изученными **иммунодоминантными бактериальными антигенами**, вызывают все больший интерес. **БТ** могут быть использованы в качестве **средства доставки** лекарственных препаратов и антигенов. Неденатурированные компоненты бактериальных вакцин на основе теней **вызывают защитный иммунный ответ, аналогичный по силе** ответу при использовании **аттенуированных вакцин**.

Отсутствие живых бактерий в таких препаратах **гарантирует их безопасность для детей, пожилых людей и лиц с ослабленным иммунитетом**. На представленном постере описывается успешное использование **электрооптического метода** для мониторинга лизиса бактерий **в режиме реального времени** в процессе культивирования и получения теней из рекомбинантного штамма *Yersinia pestis*.

Цель

Исследовать в динамике электро-оптические свойства растущей популяции штамма-продуцента **БТ** и **оценить возможность прямого электрооптического контроля процесса** культивирования с целью получения **БТ**.

Материалы и методы

Препараты БТ и растущие в логарифмической фазе клетки рекомбинантного штамма *Y. pestis* KM260(12)ΔlpxM/pEYR'-E-Y-K анализировали **методом электро-оптического анализа (ЭОА)** с использованием электрооптического анализатора EloTrace и **микробиологическим методом** посева на агаризованные плотные питательные среды Хоттингера.

Культивирование проводили **периодическим методом** с регулируемыми параметрами температуры, перемешивания, аэрации и pH. Бактерии **выращивали при температуре от 28° С** до середины логарифмической фазы, а затем переключали на **42° С для индукции лизиса**.

Время роста, часы	11	13,5	15,5	17,5
Время индукции, часы	3	3	3	3
OD540, ед.	3,36	5,28	7,2	8,8
Титр до индукции, КОЕ/мл	1,68 × 10 ⁸	5,7 × 10 ⁸	6,3 × 10 ⁸	8,3 × 10 ⁸
Титр после индукции, КОЕ/мл	2,8 × 10 ⁶	2,5 × 10 ⁵	4,75 × 10 ⁶	1 × 10 ⁶
Эффективность индукции (титр), %	98,3	99,9	99,2	99,9
ЭОС (1МГц) до индукции, ед.	522	336	549	1113
ЭОС (1МГц) после индукции, %	49	0	4	44
Эффективность индукции (ЭОС), %	91,3	99,3	99,1	96,4

Табл. 1. Оценка эффективности индукции тенеобразования на разных стадиях роста культуры.

Результаты

В таблице 1 представлены данные параметров индукции тенеобразования на разных стадиях роста культуры.

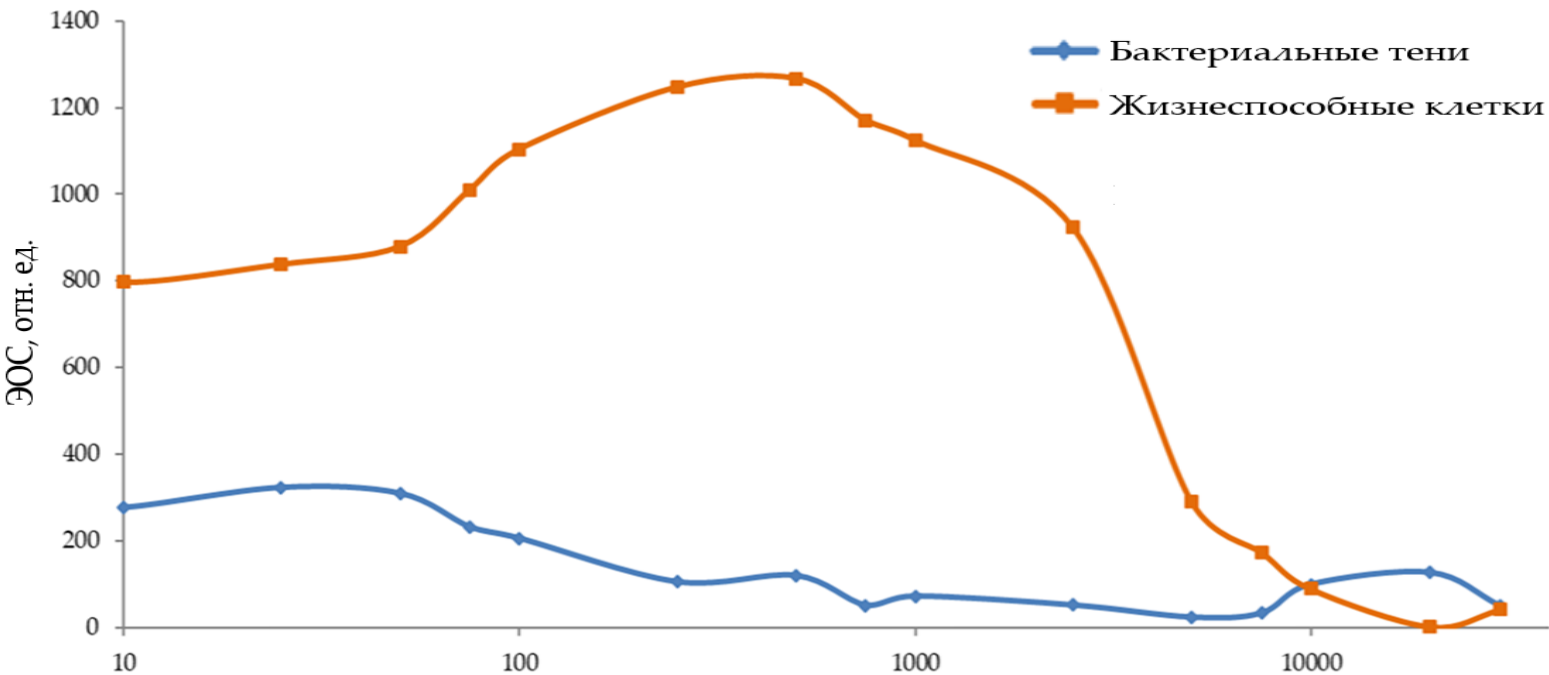


Рис. 1. Сравнительный ЭО анализ живых клеток и БТ *Y. pestis*. По сравнению с растущими клетками, **бактериальные тени явно демонстрировали меньшую частотную дисперсию анизотропии поляризуемости (FDPA)**. Обе популяции можно было отличить по фоновым сигналам и друг от друга.

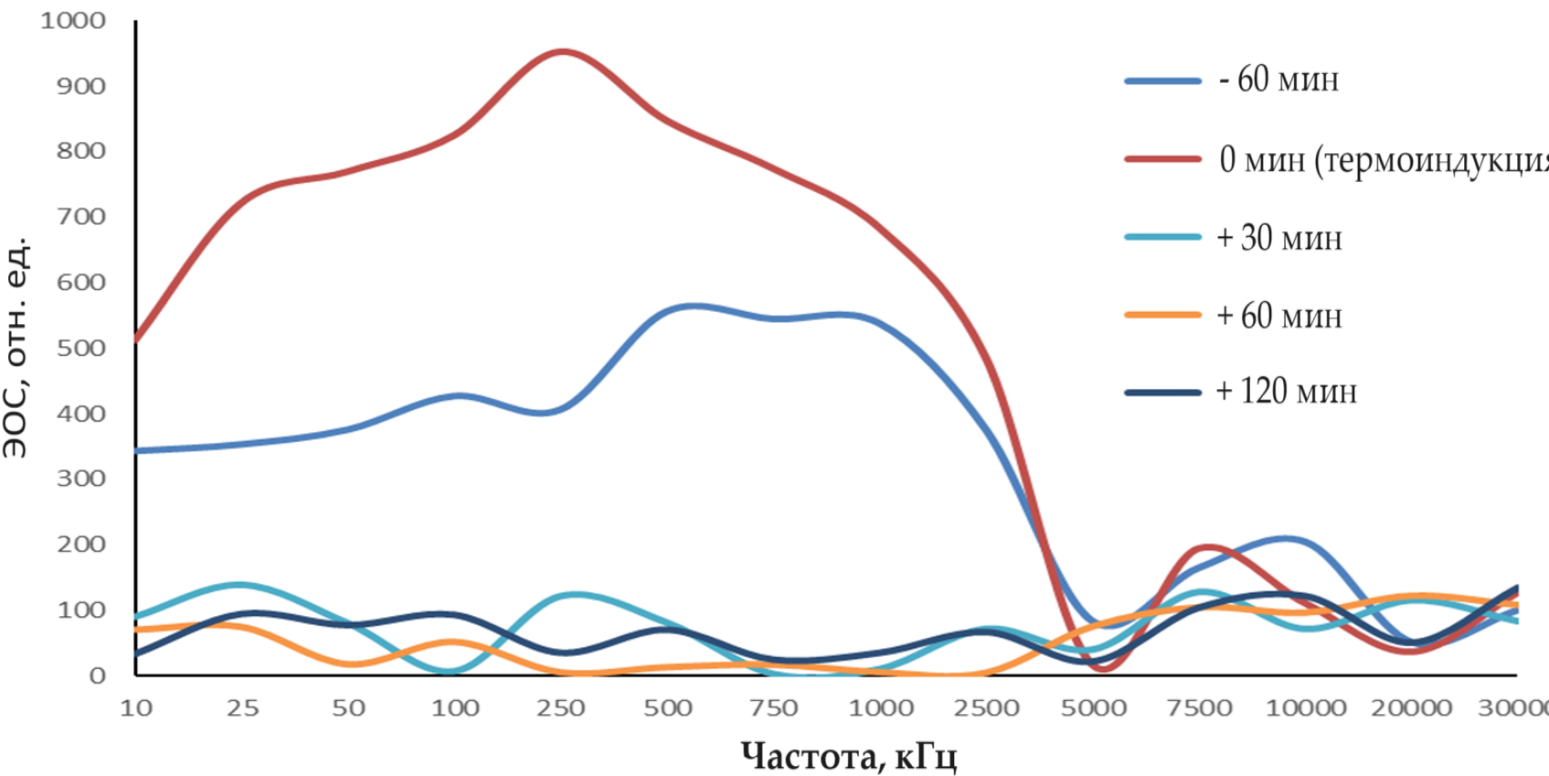


Рис. 2. Изменения **ЭО спектра** перед термоиндукцией и в ходе формирования БТ *Y. pestis*. В течение **2 часов** были собраны и проанализированы различные образцы. Частота **1 МГц** была признана оптимальной.

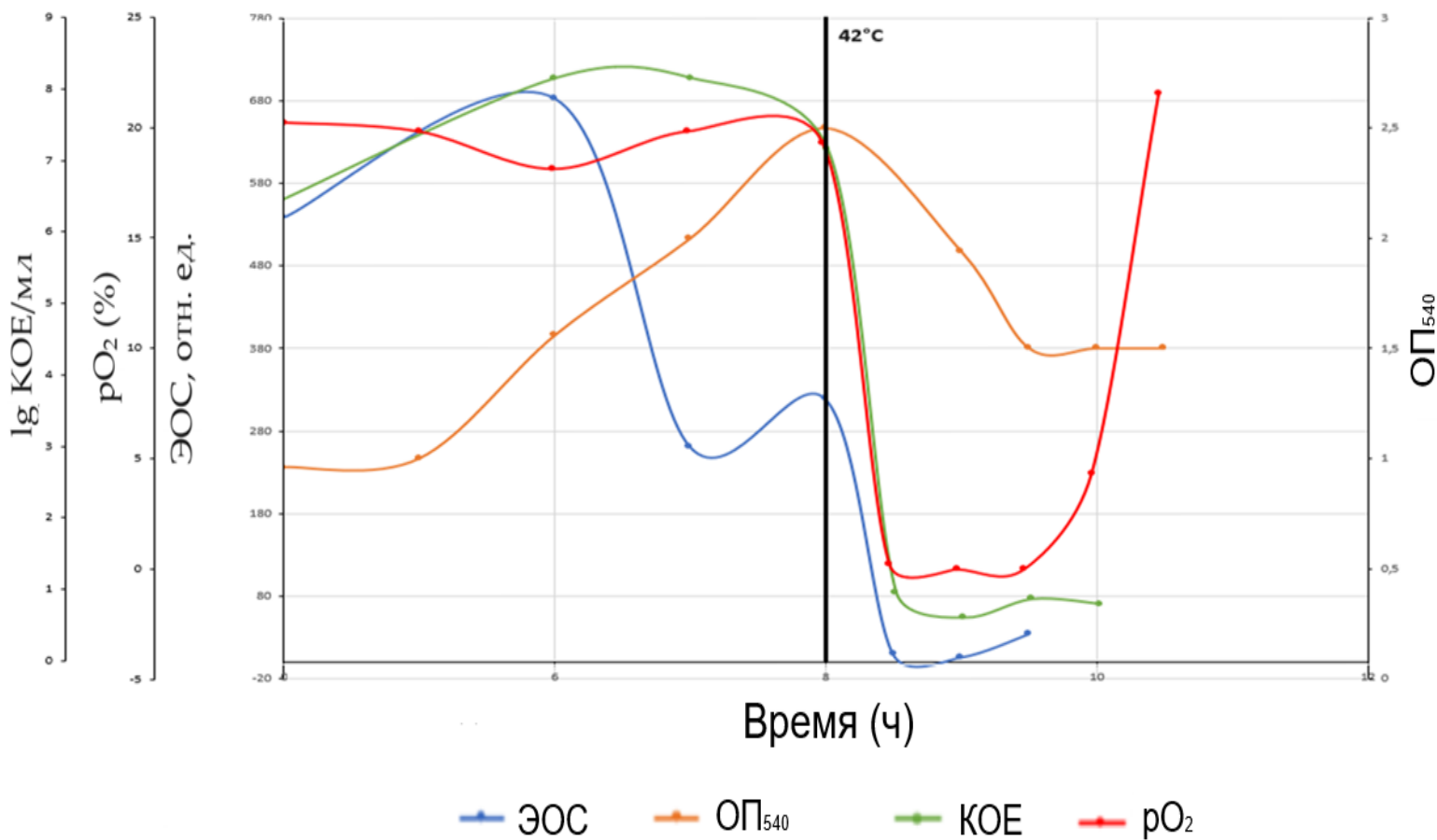


Рис. 3. Динамика изменений параметров роста в ходе культивирования и формирования БТ *Y. pestis*. Время переключения **Т** до **42°С** для индукции лизиса указано чертой.

Выводы

Данные свидетельствуют о том, что **ЭОА предоставляет достоверную информацию о физиологическом состоянии клеток и характере роста культуры** во время периодической ферментации, а также **об эффективности лизиса в режиме реального времени**, что позволяет **сократить временные затраты** и демонстрирует **привлекательность метода в сравнении с классическими микробиологическими методами анализа**. Таким образом, **ЭОА можно использовать для оценки эффективности образования теней** в процессе промышленного производства.

Библиография

- Batah AM, Ahmad TA (2020) The development of ghost vaccines trials. Expert Rev Vaccines 19: 549-562.
- Bunin VD, Voloshin AG (1996) Determination of cell structures, electrophysical parameters, and cell population heterogenety. J Colloid Interface Sci 180: 122-126.
- Dentovskaya SV, Vagaiskaya AS, Platonov ME, Trunyakova AS, Kotov SA, Krasil'nikova EA, Titareva GM, Mazurina EM, Gapel'chenkova TV, Shaikhutdinova RZ, Ivanov SA, Kombarova TI, Gerasimov VN, Uversky VN, Anisimov AP (2022) Peptidoglycan-Free Bacterial Ghosts Confer Enhanced Protection against Yersinia pestis Infection. Vaccines 10: 51

