

**Новая модель не прикрепленных к поверхности бактериальных агрегатов,
основанная на явлении магнитной левитации**

Научный руководитель – Ермолаева Светлана Александровна

Домнин Павел Александрович

Аспирант

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биоинженерии, Москва, Россия

E-mail: paveldomnin6@gmail.com

Введение

В последнее время появляются данные о том, что возбудители хронических бактериальных инфекций существуют в организме не в виде прикрепленной к поверхностям биопленок, а в виде свободно плавающих бактериальных агрегатов [1]. Для моделирования таких агрегатов нами был использован магнитный биопринтер, в основе работы которого лежит концентрирование в точке максимального магнитного поля биологических объектов, находящихся в среде, обладающей парамагнитными свойствами.

Цель

Изучить свойства полученных в магнитном биопринтере и сравнить механизм их образования с механизмом образования стандартных биопленок.

Материалы и методы

Для создания условий магнитной левитации был использован магнитный биопринтер, разработанный лабораторией «3D Bioprinting Solutions» [2]. В исследовании использовались бактерии *Listeria monocytogenes* штамм EGDE, *Staphylococcus aureus* штамм ATCC25923, *Pseudomonas aeruginosa* штамм PA21, *Escherichia coli* штаммы M17, JM109, ATCC 43890. Структура полученных бактериальных агрегатов была изучена с помощью КЛСМ и СЭМ. Были изучены динамика образования бактериальных агрегатов в магнитном биопринтере и биопленок в 96-луночной планшете [3], подвижность бактерий методом укола в 0,5% агар и способность образовывать белки курли методом посева на агар с добавлением конго красного [4].

Результаты

Были получены агрегаты, образованные как грамположительными (*L.monocytogenes*, *S.aureus*), так и грамотрицательными (*E.coli*, *P.aeruginosa*) бактериями. На снимках, полученных методами КЛСМ и СЭМ, видно, что агрегаты образованы бактериальными клетками, погруженными во внеклеточный матрикс.

E.coli штамм ATCC 43890, плохо образующий биопленки на поверхности 96-луночного планшета, образовывал стабильный агрегат в биопринтере, в то время как агрегат, образованный штаммом JM109, оказался менее стабильным, несмотря на то, что в стандартных условиях успешно образовывал биопленки. Дальнейшее исследование показало, что штамм ATCC 43890 подвижен, но не образует белков курлей, в отличие от штамма JM109, способного образовывать курли, но неподвижного.

Заключение

Магнитный биопринтер является новой перспективной моделью изучения не прикрепленных к поверхности бактериальных агрегатов. В ходе исследования было установлено, что агрегаты состоят из бактерий и образованного ими внеклеточного матрикса, тем самым напоминая структуру биопленки. Полученные данные также позволяют предположить, что механизмы образования агрегатов отличаются от механизмов образования стандартных биопленок.

Источники и литература

- 1) Alhede, M. et al. Phenotypes of non-attached pseudomonas aeruginosa aggregates resemble surface attached biofilm. // PLoS One (2011).
- 2) Parfenov, V. A. et al. Scaffold-free, label-free and nozzle-free biofabrication technology using magnetic levitational assembly. // Biofabrication (2018)
- 3) Merritt, J. H., Kadouri, D. E. & O'Toole, G. A. Growing and analyzing static biofilms. Curr. Protoc. // Microbiol. (2011)
- 4) Reichhardt, C. et al. Congo red interactions with curli-producing E. coli and native curli amyloid fibers. // PLoS One (2015)

Иллюстрации

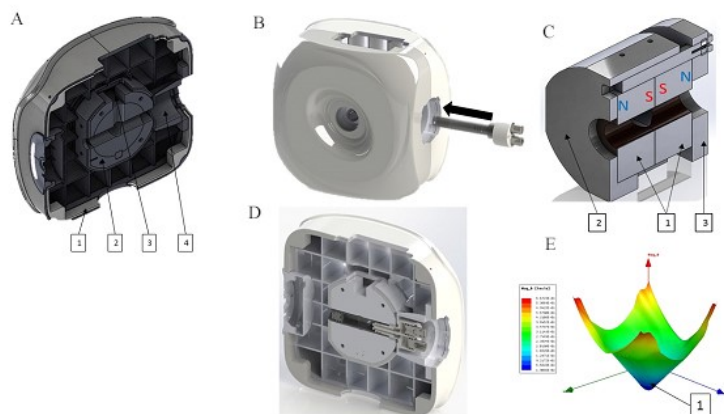


Рис. 1. Схема магнитного биопринтера

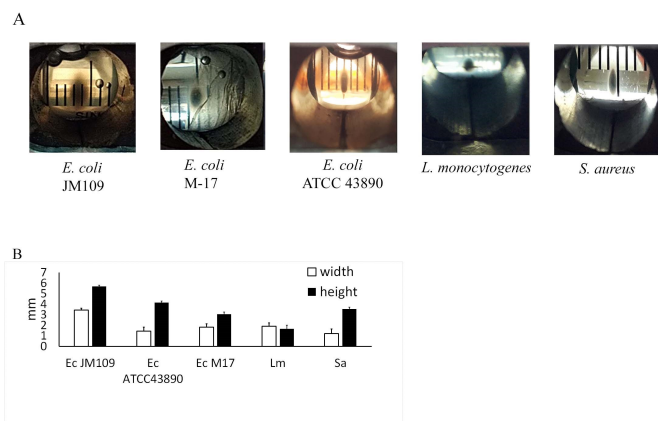


Рис. 2. Бактериальные агрегаты, выращенные в условиях магнитной левитации

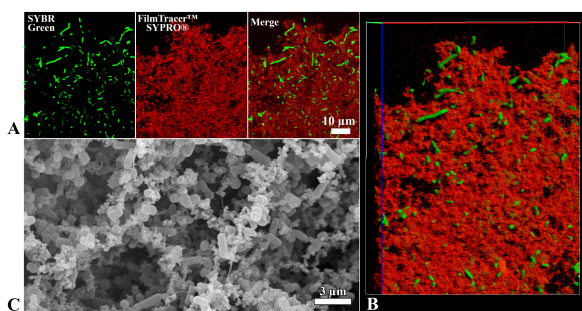


Рис. 3. Изображения агрегата, полученные с помощью КЛСМ и СЭМ

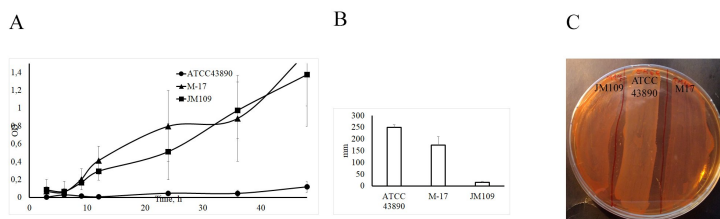


Рис. 4. Сравнение динамики образования биопленок, подвижности и образования курлей разными штаммами *E.coli*