

*Асхатова Н.А., Алимов А.М., Зиннатов Ф.Ф.*

**Электрофоретические профили полипептидов разных штаммов  
листерий**

ФГБОУВО «Казанская государственная академия ветеринарной  
медицины имени Н.Э. Баумана», г. Казань, Россия

Среди макромолекул клеток белки имеют наибольшее значение, поскольку с их помощью геном управляет всеми реакциями клеточного

метаболизма [1]. Поэтому сравнительное изучение полипептидного состава патогенных и вакцинных штаммов листерий представляет значительный научный интерес. Белковый состав возбудителя листериоза изучен недостаточно. Есть данные [2] о сравнительном изучении аминокислотного состава штаммов.

**Целью** исследований явилось выделение и определение электрофоретических профилей полипептидов разных штаммов листерий.

**Материалы и методы.** Для разрушения бактериальных клеток озвучивание ультразвуком (УЗ) проводили при поверхностном погружении излучателя в суспензию листерий с концентрацией 20 млрд. микробных клеток в 1 мл ультразвуковым дезинтегратором УЗДН-2Т2 с излучателем 35 кГц, при силе тока 0,3 А. В кожух стакана подавали водопроводную воду с температурой 20°C и озвучивали в течении 20, 40 и 60 минут. Степень разрушения клеток контролировали микроскопией мазков и по оптической плотности. Неразрушенные микробные клетки удаляли центрифугированием при 4000 об/мин. Надосадочную жидкость использовали для электрофореза.

В следующих сериях опытов лизис клеток проводили обработкой детергентной смесью, состоящей из додецилсульфат натрия (5%) и меркаптоэтанола (5%) в 0,125 м растворе трис-НСl буфере рН 5,8 при 100°C в течении 5 мин.

Разделение полипептидов проводили электрофорезом по Laemmli [3] в полиакриламидном геле с 0,1 % додецилсульфатом натрия с линейным градиентом 7-16% акриламида. На каждую лунку наносили лизаты с содержанием 100 мкг белка, определенного по методу Лоури [4]. Электрофореграммы фиксировали 50% этанолом и окрашивали раствором Кумасси R-250. В качестве маркерных белков использовали бычий сывороточный альбумин (М.м.=69 кДа), цитохром С (Мм = 12 кДа).

**Результаты.** При озвучивании суспензии листерий УЗ от 20 до 60 мин, оптическая плотность суспензии не изменялась, а при микроскопировании мазков, наблюдались единичные разрушенные клетки. При электрофорезе надосадочной жидкости после УЗ дезинтеграции в электрофореграммах фракции полипептидов не выявлялись, что свидетельствует об отсутствии лизиса клеток.

В составе лизатов штаммов выявлялись 51 фракция полипептидов с молекулярной массой от 10 до 73 кДа и существенных различий не выявлено. У всех штаммов выявлялась одна мажорная фракция с молекулярной массой 51-52 кДа. У вакцинного штамма листерий АУФ, в отличие от вирулентных, проявлялась более мажорная фракция с молекулярной массой около 18 кДа, хотя она присутствовала у всех исследуемых штаммов, но менее интенсивной.

**Заключение.** Клетки листерий проявляли высокую устойчивость при воздействии ультразвуком, и практически не разрушались при озвучивании УЗ в течение 60 мин. Обработка бактериальных клеток детергентной смесью, способствовало полному лизису и расщеплению клеточных структур с освобождением полипептидов с широким спектром молекулярных масс. Количество фракций полипептидов у исследуемых штаммов листерий было сходным. Выявлялись некоторые штаммовые особенности лишь по количественному содержанию отдельных фракций полипептидов.

#### **Литература**

1. Комов, В.П. Биохимия: учебник / В.П. Комов, В.Н. Шведова // М.: Дрофа – 2004. – 640 с.
2. Алимов, А.М. Изучение аминокислотного состава и иммунохимии различных штаммов листерий / А.М. Алимов, дис. к.б.н. // г. Казань. – 1974. – 201 с.
3. Laemli, N.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4/N.K. Laemli // Nature. – 1970. – v.227. - P.680 – 685.
4. Алимов, А.М. Определение белка по методу Лоури. Практикум по биохимии / А.М. Алимов, Н.З. Хазипов, Т.Р. Якупов, Г.П. Логинов // - Казань. – 2012. – С.75-76.