

## СЕННАЯ ПАЛОЧКА(*BACILLUS SUBTILIS*)КАК МОДЕЛЬНЫЙ ОБЪЕКТ.

Салова В.В., Аветисова И.В., Балашова А.А.

ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава Российской Федерации, направление подготовки «Биология»,  
Россия, Волгоград, e-mail: [salova7852@outlook.com](mailto:salova7852@outlook.com)

**Аннотация:** В настоящее время использование микроорганизмов для производства химических веществ является глобальной тенденцией развития. Производство на основе биопрепаратов может быть использовано для преодоления проблем традиционных процессов химического синтеза, таких как высокая стоимость, высокое энергопотребление и трудно удаляемые побочные продукты и т.д. До сих пор некоторые микроорганизмы используются в качестве продуцентов для промышленного производства, при этом большинство исследований было сосредоточено на модельных штаммах, таких как *E. coli* и *Saccharomyces cerevisiae*. Тем не менее, у них есть некоторые недостатки. *B. subtilis* больше подходит в качестве продуцента из-за меньшего количества недостатков. *B. subtilis* является важным промышленным организмом, поскольку он непатогенен, выделяет множество ферментов и антибактериальных веществ и обладает хорошей ферментационной основой. Кроме того, он может образовывать компетентные клетки для поглощения экзогенных генов и обладает хорошей системой экспрессии и секреции. *Bacillus subtilis* является грамположительным наиболее изученным модельным организмом, который быстро растет и легко культивируется. Это важный промышленный организм, способный выделять белки и производить мелкие химические вещества, а также действовать как стимулятор роста растений. Наконец, он производит эндоспores, которые предоставили исключительно плодотворную систему для изучения различных центральных проблем клеточного развития.

**Ключевые слова:** *Bacillus subtilis*, грамположительная, антибиотик, пробиотик, спора

### BACILLUS SUBTILIS AS MODEL OBJECT

Salova V.V., Avetisova I.V., Balashova A.A.

FSBEI HE VolgSMU Of the Ministry of Healthcare of the Russian, direction of preparation  
«Biology», Russia, Volgograd, email: [salova7852@outlook.com](mailto:salova7852@outlook.com)

**Abstract:** Currently, the use of microorganisms for the production of chemicals is a global development trend. Biologics production can be used to overcome the problems of traditional chemical synthesis processes such as high cost, high power consumption and difficult to remove by-products, etc. Until now, some microorganisms are used as producers for industrial production, with most research focusing on model strains such as *E. coli* and *Saccharomyces cerevisiae*. Still, they have some downsides. *B. subtilis* is more suitable as a producer due to fewer drawbacks. *B. subtilis* is an important industrial organism because it is non-pathogenic, releases many enzymes and antibacterial substances, and has a good fermentation base. In addition, it can form competent cells to absorb exogenous genes and has a good and secretion system. *Bacillus subtilis* is the gram-positive most studied model organism that grows rapidly and is easily cultivated. It is an important industrial organism capable of secreting proteins and producing small chemicals, as well as acting as a plant growth stimulator. Finally, it produces endospores, which have provided an exceptionally fruitful system for studying various central problems of cellular development.

**Key words:** *Bacillus subtilis*, gram-positive, antibiotic, probiotic, spore

Описание данной бактерии впервые представил знаменитый немецкий естествоиспытатель Христиан Готфрид Эренберг в 1835 году, однако в его трактовке этот микроорганизм носил название *Vibrio subtilis*. А свое современное название *Bacillus subtilis* он получил благодаря Кону уже в 1872 году. Название «сенная палочка» вид получил из-за того, что накопительные культуры этого микроорганизма получают из сенового экстракта. На

сегодняшний день это один из наиболее известных и тщательно изученных представителей рода бацилл [4].

Для Бациллюса характерна форма прямой палочки, которая имеет прозрачную структуру. Бактериальная клетка имеет толстую клеточную стенку, состоящую из пептидогликана, известного как муреин. От поверхности клетки вытягиваются выпячивания, жгутики. Это способствует мобильности клетки. Приблизительная толщина *Bacillus subtilis* составляет 0,7 микрометра. А в длину такая бацилла может достигать от двух до восьми микрометров. Размножаются сенные палочки делением. В отдельных случаях после того, как произошло поперечное деление, бактерии продолжают оставаться соединенными в тоненькие нити. Средний размер колоний составляет от 2 до 4 мм в диаметре. Колонии сухие, мелкоморщинистые, бархатистые, бесцветные или розовые. Край колонии волнистый. Растёт на МПА, МПБ, а также на средах, содержащих растительные остатки, простых синтетических питательных средах для гетеротрофов. Хемоорганогетеротроф, аммонифицирует белки, расщепляет крахмал, гликоген. Развивается при температуре +5...+45 °С.

При неблагоприятных условиях, например, при нагревании, сенная бацилла способна образовывать споры. Спорообразование происходит в несколько этапов. Вначале внутри бактериальной клетки, в т.н. протопласте, формируется зернистость. В последующем из множества зерен выделяется одно, наиболее крупное. Это и есть будущая спора. Затем под влиянием неблагоприятных факторов бактериальная оболочка разрушается. Бактерия погибает, а спора выходит во внешнюю среду. Она имеет вид округлого или овоидного образования, окруженного оболочкой. В дальнейшем спора при оптимальных условиях трансформируется в бактерию. Правда, образовавшиеся непосредственно из спор бактерии не могут передвигаться. Но у их дочерних клеток такая способность возобновляется. Сенную палочку относят к почвенным микроорганизмам. Действительно, ее содержание в почве в виде бактериальных клеток и спор довольно велико. Из почвы бактерия контактным путем или с водой и пылью распространяется на растения, а с растениями в качестве корма попадает в организм животных. Возможно и прямое обсеменение палочкой продуктов растительного или животного происхождения [5].

Ключевая проблема в понимании развития спор заключается в различении событий, происходящих одновременно в развивающихся компартментах преспоры и материнской клетки, которые имеют идентичные хромосомы, но очень разные профили экспрессии генов. Эта проблема привела к адаптации цифровой флуоресцентной визуализации для

использования в бактериях, что в то время стало основным фактором, открывшим современную область бактериальной клеточной биологии. Позже эти методы были применены ко многим другим важным проблемам, особенно к центральным бактериальным клеточным процессам деления клеток, сегрегации хромосом, а также роста и морфогенеза клеток. Генетика *бацилл* и методы клеточной биологии также сделали организм популярным для более общих исследований клеточной физиологии и биохимии, а также альтернативных морфогенных процессов, таких как образование биопленки [3].

Что касается генома, у *Bacillus subtilis* штамма 168 представлен кольцевой двуцепочечной молекулой ДНК размером 4214814 п.н. и содержит 5279 генов, из которых 5163 кодируют белки, процент Г+Ц пар составляет 43,51 %, геном содержит по крайней мере два *ori* сайта. Изучено биологическое разнообразие штаммов *Bacillus subtilis* на уровне генома, гены, отвечающие за синтез антибиотиков, синтез клеточной стенки, споруляцию и прорастание спор являются высоковариабельными [1].

Питательные среды и условия культивирования бактерий.

В качестве питательной среды для наращивания биомассы используют L-бульон (г/л): дрожжевой экстракт – 5,0, пептон – 15,0, NaCl – 5,0, вода дистиллированная – 1,0 л. Для оценки чистоты культур и исследования морфологии колоний применяют твердую L-среду с добавлением к L-бульону 15 г/л агара. Помимо этого, также применяются готовые к применению МПА (мясо-пептонный агар) и МПБ (мясо-пептонный бульон). Культуру *B. subtilis* для наращивания бактериальной массы в жидкой питательной среде инкубируют в шейкер-инкубаторе температуре 37°C в течение 24-48 часов.

Методика выделения штаммов *B. subtilis* из коммерческих препаратов и их идентификация.

С целью выделения штаммов бактерий из коммерческих биопрепаратов придерживаются следующего алгоритма.

Первым делом производится отбор проб – в асептических условиях отбирают по  $1 \pm 0,01$  г каждого микробного препарата. Далее разводят навеску стерильным физиологическим раствором до объема в пробирках 10 мл и тщательно перемешивают содержимое пробирок до гомогенной суспензии. Для выделения спорообразующих бактерий пробы прогревают при 80°C в течение 20 минут. После этого из полученной взвеси готовят десятикратные разведения до  $10^{-4}$  и засевают их при помощи шпатель Дригальского на поверхности твердых питательных сред.

Культивирование посевов производят в термостате при 37°C в течение 48 часов. Далее отбирают изолированные колонии и культивировали их в шейкер-инкубаторе при 37°C в течение 48 часов на накопительных средах. Рост бактерий оценивают по образованию помутнения и осадка в жидкой культуре. После этого производят оценку чистоты полученной культуры при микроскопировании окрашенных по Граму мазков каждой из проб. Если в поле микроскопа встречаются только окрашенные в синий или фиолетовый цвет, палочки с закругленными концами, расположенные одиночно, парами, образуют споры овальной формы, расположенные в клетках центрально, то их перевивают и засевают истощающим штрихом на твердые питательные среды, после чего культивируют в течение 24ч при 37°C. В случае, когда культура была заражена посторонними микроорганизмами, эксперимент повторяют, каждый раз прогревая – при 80°C в течение 20 минут.

*B. subtilis* является часто используемым промышленным организмом, главным образом за счет его поразительной способности выделять различные важные гидролитические ферменты непосредственно в культуральную среду, а также в качестве производителя тонких химических веществ, таких как рибофлавин. Его привлекательности как безопасного источника для производства натуральных и искусственных продуктов способствовало его давнее использование в "натто", японском блюде, приготовленном из ферментированного соевого творога, а также в качестве пробиотика. Отсутствие патогенности у штаммов *Bacillus subtilis* и их метаболитов, которые позволяют считать их наиболее перспективными в качестве основы пробиотиков нового поколения. Среди самых важных биохимических свойств, присущих *Bacillus subtilis*, следует выделить способность закисления среды, а также продуцирования антибиотиков. *Bacillus subtilis* — это антагонист для дрожжевых грибов, сальмонеллы, протей, стрептококков, стафилококков. Уникальность бактерии заключается в том, что 4–5% ее генома кодируют синтез разнообразных противомикробных веществ, охватывая практически все патогены, которые могут вызывать кишечные инфекции. К другим важным свойствам *Bacillus subtilis* относятся: синтез витаминов, аминокислот и иммуноактивных факторов; активное продуцирование ферментов, способных удалять продукты гнилостного распада тканей.

*B. subtilis* приспособлен к жизни в ассоциации с растениями, либо в качестве эпифита, либо в ризосфере, и исторически его обычно выделяли из разлагающегося растительного вещества, такого как сено. Адаптация к этой экологической нише обеспечивает важное промышленное применение *B. subtilis* в качестве стимулятора роста растений посредством производства

специализированных метаболитов, исключения патогенов из ниши и других, вероятно, различных других факторов [2].

#### Список литературы:

1. Beranová J., Diego de Mendoza, Elhottová D., Konopásek I. Differences in Cold Adaptation of *Bacillus subtilis* under Anaerobic and Aerobic Conditions // *Journal of Bacteriology*. 2010. Т. 192. № 16. С. 4164–4171.
2. Errington J., Aart L. T. van der. Microbe Profile: *Bacillus subtilis*: model organism for cellular development, and industrial workhorse // *Microbiology (Reading)*. 2020. Т. 166. № 5. С. 425–427.
3. Xiang M., Kang Q., Zhang D. Advances on systems metabolic engineering of *Bacillus subtilis* as a chassis cell // *Synth Syst Biotechnol*. 2020. Т. 5. № 4. С. 245–251.
4. Бациллюс - сенная палочка: биохимические свойства, выращивание и применение [Электронный ресурс]. URL: <https://probakterii.ru/prokaryotes/species/bacillyus.html> (дата обращения: 14.01.2023).
5. Сенная палочка - это что такое сенная палочка [Электронный ресурс]. URL: <https://blotos.ru/sennaa-palocka-cto-eto-takoe-znachenie-dla-celoveka> (дата обращения: 14.01.2023).