

## Интенсивность синтеза полисахаридов у некоторых актиномицетов

Н. Г. Котия, З. Ш. Ломтатидзе

***Peculiarities of some Actinomyces polysaccharide metabolism*** : Peculiarities of polysaccharide metabolism of Actinomyces according to the phases of culture growth have been studied. It has been established that qualitative content of polysaccharides of actinomycetes is varied during the growth and development, the synthesis of polysaccharide begins in logarithmic phase of actinomycete growth, reaches its maximum in the stationary phase and in the phase of dying polysaccharide synthesis reduced. The qualitative content of polysaccharides is specific for different genus and monomeric content of these polymers is identical for different species inside of genus.

**Key words:** polysaccharide, cell wall, actinomycete.

### ВВЕДЕНИЕ

В актиномицетах изучен метаболизм полисахаридов в процессе роста и развития. Установлено, что в актиномицетах количественный состав полисахаридов вариabilен (изменяющаяся величина); синтез полисахаридов начинается в логарифмической фазе, в экспоненциальной фазе их количество возрастает, а в фазе отмирания наблюдается тенденция снижения. Качественный состав полисахаридов специфичен для родов, но моносахаридный состав полисахаридов для отдельных видов внутри рода идентичен.

Изучению микробных полисахаридов в настоящее время уделяется пристальное внимание. С полисахаридами связывают пирогенность прокариотов, серологическую специфичность, резистентность к фагоцитозу, стабильность клетки., по некоторым данным полисахариды, возможно являются информационными молекулами [3, 5, 7].

Целью данной работы являлось изучение особенности обмена полисахаридов в актиномицетах, в том числе в клеточной стенке.

### ВЫСТАВКИ

#### Методы и объекты исследования

Объектом исследования служили культуры микроорганизмов: ***Streptomyces albobriseolus***, ***Nocardia dassonvillei***, ***Actinosporangium violaceae***, ***Streptomyces violaceus*** полученные из музея культуры отдела микробиологии Тбилисского ботанического сада и Института ботаники.

Актиномицеты выращивали на среде Красильникова [2].

Клеточную стенку микроорганизмов получали по методу, предложенному Robson&Baddy [4].

Полисахариды клеточной стенки получали по методу Елинова [6].

Для получения клеточных полисахаридов использовали метод кислотного гидролиза Le Shevalie [1, 4, 5].

Анализ качественного состава полисахаридов проводили с помощью тонкослойной хроматографии. Количественный анализ моносахаридов проводили с помощью денситометра CHROMOSCAN 2000 [6].

#### Результаты и их обсуждения

Изучено количественное изменение полисахаридов в клеточной стенке в процессе роста актиномицетов. Результаты опытов приведены на рис. № 1.

Анализ результатов показал, что синтез полисахаридов в клеточной стенке происходит по всему жизненному циклу клетки, но различной интенсивностью. В логарифмической фазе синтез полисахаридов идет замедленной интенсивностью, тогда как в экспоненциальной фазе он увеличивается и максимума достигает в

стационарной фазе. В фазе отмирания интенсивность синтеза полисахаридов значительно замедляется.

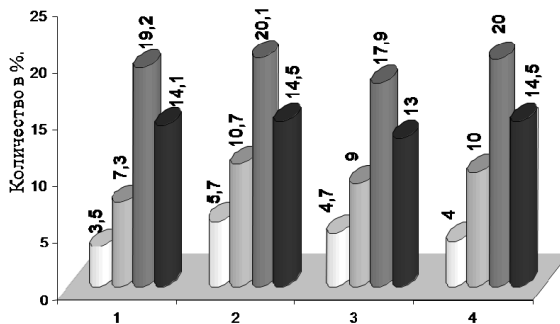


Рис. №1 Количество полисахаридов в 1г сухой клеточной стенке.

- |                              |                         |
|------------------------------|-------------------------|
| 1 - <i>Str.albogriseolus</i> | □ логарифмическая фаза  |
| 2 - <i>Str. violaceus</i>    | ▒ экспоненциальная фаза |
| 3 - <i>Noc. dassionvilei</i> | ■ стационарная фаза     |
| 4 - <i>Act. violaceae</i>    | ■ фаза отмирания        |

Синтез полисахаридов в исследуемых актиномицетах происходит с различной интенсивностью и он специфичен для отдельных родов и видов. Например, в клеточной стенке *Actinosporangium violaceae* количество полисахаридов составляет 4-20% от общей биомассы клеточной стенки (в процессе роста), в клеточной стенке *Nocardia dassionvilei* оно составляет 4.7- 17.9%, *Streptomyces violaceus* -5,7-20,1%, а в клеточной стенке *Streptomyces albogriseolus* оно составило -3,5-19,2%, одновременно отмечается и различие в качественном составе. К примеру, у *Actinosporangium violaceae* полисахариды клеточной стенки являются гетерополимерами, которые содержат мономеры: глюкозу, арабинозу и рибозу. Количественный состав моносахаридов в процессе роста меняется и составляет в логарифмической фазе(I) глюкоза-32,44%, экспоненциальной фазе(II) - 41,20%, стационарной фазе(III)- 32,41%, в фазе отмирания (IV)-27,80%, количество арабинозы меняется соответственно следующим образом- 36,65%(I); 29,62%(II); 24,06%(III); 30,34%(IV); Рибоза соответственно: 23,28%(I); 22,22%(II); 33,50%(III); 41,86%(IV). Полисахариды *Nocardia dassionvilei* также является гетерополисахаридом, в ее состав входит три моносахарида-Глюкоза-26,92%(I), 43,14%(II), 43,3%(III), 30,7%(IV) (по кривой роста), галактоза -42,67%(I), 20,26%(II), 25%(III), 42,6%(IV) и рибоза -30,41%(I), 36,6%(II), 31,7%(III), 26,6%(IV) соответственно.

Выявлено, что в актиномицетах рода *Streptomyces* полисахариды клеточной стенки содержат глюкозу, галактозу, фруктозу и арабинозу, количество которых изменяется в процессе роста. Полисахарид клеточной стенки *Streptomyces violaceus* содержит - глюкозу-47,59%(I), 60,75%(II), 23,24%(III), 23,90%(IV), галактозу- 53%(I); 28,48%(II); 40,54%(III); 17,52%(IV) и фруктозу - следовое количество(I); 10,7%(II); 36,21%(III); 58,56%(IV) (по кривой роста). Полисахарид клеточной стенки *Streptomyces albogriseolus* является гомополимером, который содержит один мономер –арабинозу, количество которого меняется по фазам роста(рис.№2). Анализ результатов показывает, что полисахариды клеточной стенки различных родов и видов исследуемых актиномицетов по количественному и качественному составу отличаются друг от друга.

Нами исследован количественный и качественный состав внутриклеточных полисахаридов исследуемых актиномицетов. Результаты опытов представлены на рис. №2

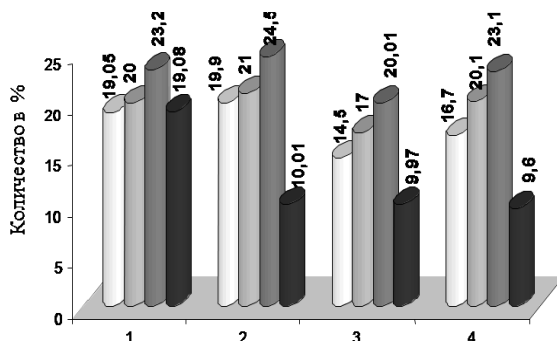


Рис .№ 2 Количество внутриклеточных полисахаридов в сухой биомассе актиномицетов

- |                               |                         |
|-------------------------------|-------------------------|
| 1 - <i>Str. albogriseolus</i> | □ логарифмическая фаза  |
| 2 - <i>Str. violaceus</i>     | ▒ экспоненциальная фаза |
| 3 - <i>Noc. dassonvillei</i>  | ■ стационарная фаза     |
| 4 - <i>Act. violaceae</i>     | ■ фаза отмирания        |

Установлено, что синтез внутриклеточных полисахаридов интенсифицируется в конце логарифмической фазы, в экспоненциальной фазе интенсивность нарастает и достигает максимума в начале стационарной фазы. В фазе отмирания количество полисахаридов заметно убывает. Отмечается также, что синтез и накопление полисахаридов для различных родов и видов происходит различной интенсивностью. Результаты предоставлены на рис. 2 Анализ результатов показал, что у *Actinosporangium violaceae* внутриклеточные полисахариды составляют в логарифмической фазе -16,7% от сухой биомассы, 20,14% в экспоненциальной фазе, 23,07% в стационарной фазе и в фазе отмирания-9,6%. Для *Nocardia dassonvillei* обнаружено, что количество полисахаридов сравнительно мало и оно составляет по фазам роста культуры соответственно: 14,58%(I), 17,07%(II), 20,03%(III), 9,97%(IV). Внутри рода *Streptomyces* наблюдается незначительное различие в количестве полисахаридов. Например в сухой биомассе *Streptomyces violaceus* (по фазам роста) количество полисахаридов составляет 19,97%(I), 21,08%(II), 24,51%(III), 10,01%(IV) а у *Streptomyces albogriseolus* – 19,05%(I), 20,07%(II), 23,21%(III), 9,08% (IV) соответственно (рис. 2).

Сопоставление результатов исследования внутриклеточных полисахаридов и полисахаридов клеточной стенки различных актиномицетов, показало, что качественный состав полисахаридов исследуемых культур не различается, наблюдается лишь различия в процентных соотношениях мономеров в отдельных видах и родах. Так, например внутриклеточные полисахариды *Actinosporangium violaceus* содержат три мономера в следующем соотношении глюкоза-25,17%(I), 20,21%(II), 25,2%(III), 25,64%(IV), арабиноза-36,6%(I), 62,23%(II), 35,2%(III), 42,05%(IV), и рибоза-38,12%(I), 23,74%(II), 39,6%(III), 27,17%(IV)(по фазам роста). *Nocardia dassonvillei* содержит - глюкозу в следующем соотношении - 39,89%(I), 43,64%(II), 37,01%(III), 47,05%(IV), галактозу – 34,58%(I), 34,32%(II), 41,82%(III), 26,05%(IV) и рибозу соответственно составляет- 25,53%(I), 22,03%(II), 21,15%(III), 26,89%(IV)(по фазам роста). Внутриклеточные полисахариды актиномицетов рода *Streptomyces* по качественному и количественному составу отличаются друг от друга и от других родов актиномицетов. Полисахариды *Streptomyces violaceus*

содержит моносахариды: глюкоза, галактоза и фруктоза соответственно в следующих соотношениях: глюкоза в логарифмической фазе 27,84%, экспоненциальной фазе-26,78%, стационарной фазе-20,22%, в фазе отмирания-22,68%, галактоза составляет-37,5%(I); 42,26%(II); 51,68%(III); 39,69%(IV), фруктоза-34,65%(I); 30,95%(II); 28,08%(III); 37,62%(IV). Полисахарид *Streptomyces albobrisesolus* является гомополисахаридом, который содержит мономер арабинозу. В процессе роста синтез мономера происходит различной интенсивностью: в логарифмической фазе-19,05%, в экспоненциальной фазе-19,9%, в стационарной фазе-14,5%, в фазе отмирания-16,7% (от веса сухой биомассы).

Таблица №1

Процентное соотношение мономеров в полисахаридах клеточной стенки и внутриклеточных полисахаридах по фазам роста актиномицетов (пс кс - полисахариды клеточной стенки, внпс - внутриклеточных полисахариды): I-Логарифмическая фаза; II-Экспоненциальная фаза; III-Стационарная фаза; IV-Фаза отмирания

культуры	фазы роста	Процентное соотношение мономеров в полисахаридах									
		глюкоза		арабиноза		рибоза		галактоза		фруктоза	
		пс кс	вн пс	пс кс	вн пс	пс кс	вн пс	пс кс	вн пс	пс кс	вн пс
Str. violaceus	I	47.59	27.84	-	-	-	-	53	37.5	следо вое количе ство	34.65
	II	60.75	26.78	-	-	-	-	28.48	42.26	10.7	30.95
	III	23.24	20.22	-	-	-	-	40.54	51.68	36.21	28.08
	IV	23.90	22.68	-	-	-	-	17.52	39.69	58.56	37.62
Noc. dassonvi	I	26.92	39.89	-	-	30.41	25.53	42.67	34.58	-	-
	II	43.14	43.64	-	-	36.6	22.03	20.26	34.32	-	-
	III	43.3	37.01	-	-	31.7	21.15	25	41.82	-	-
	IV	30.7	47.05	-	-	26.6	26.89	42.6	26.05	-	-
Ac. violacea	I	41.09	25.17	35.63	36.6	23.28	38.12	-	-	-	-
	II	41.97	20.21	29.62	62.23	22.22	23.74	-	-	-	-
	III	32.41	25.2	24.06	35.2	33.53	39.6	-	-	-	-
	IV	27.80	25.64	30.34	42.05	47.86	27.17	-	-	-	-

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализируя полученные результаты, внутри рода и внутри вида, установлено что у отдельных актиномицетов не наблюдается различие в качественном составе внутриклеточных полисахаридов и полисахаридов клеточной стенки, отмечается лишь отличие в процентном соотношении состава моносахаридов и общего количества полисахаридов.

Полисахариды отдельных родов и отдельных видов отличаются по качественному составу и интенсивностью синтеза в процессе роста.

## ЛИТЕРАТУРА

[1] Goodfellow M., O Donnell A.G. - Chemical methods in procaryotic systematics, New york Wiley, 1994, 25 p.

[2] Kotia N., Lomtavidze Z., Shengelia M. - Changes of Actinosporangium violaceae cell wall ultrastructure during culture development, Proceedings of the Georgian Academy of Sciences. Biological series B, №1, vol. 4, 2006, 66-71.

[3] Lomtavidze Z., Kotia N. - Microbic Polysaccharides, Tbilisi, 2005, 37-65

[4] Герхардт К.Ф. - Методы общей бактериологии, М., Мир, т. 2, 1984, с. 120.

[5] Ленгелер Й., Древе Г. - Современная микробиология, М., Мир, т. 2, 2002, с. 23-30.

[6] Елинов Н. П. - Практикум по биохимии, М., МГУ, 2001, с. 21.

[7] Тейлор Д., Грин Н., Стаут У. – Биология, М., Мир, 2002, с. 44,50,53.

**За контакти:**

Нана Гивиевна Котия-Phd, Erasmus Mundus ECW for Georgia, Armenia & Azerbaijan. тел. 0887725681, e-mail: nanakotia@yahoo.com

Заур Шалвович Ломтатидзе - дбн, проф. Сухумского государственного университета (Грузия), e-mail: zlomtavidze@mail.ru

**Докладът е рецензиран.**