

УДК 579.24+544.032.5+57.043

ВЛИЯНИЕ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ И МАГНИТНОГО ИЗОТОПА ^{25}Mg НА ОБРАЗОВАНИЕ БИОПЛЁНОК БАКТЕРИЯМИ *E. coli*

У. Г. Летута*, Т. А. Тихонова

Представлено академиком РАН А.Л. Бучаченко 17.09.2018 г.

Поступило 08.10.2018 г.

Установили, что формирование биоплёнок бактериями *E. coli* — магниточувствительный процесс. Совместное влияние магнитного изотопа ^{25}Mg и постоянного магнитного поля диапазона 20–35 мТл стимулировало образование биоплёнок бактериями *E. coli* в отличие от немагнитных изотопов $^{24,26}\text{Mg}$. Магнитно-полевые эффекты в диапазоне 2–10 мТл, зарегистрированные для всех бактерий независимо от магний-изотопного обогащения среды, свидетельствуют о чувствительности внутриклеточных процессов к слабым магнитным полям.

Ключевые слова: магнитная чувствительность, изотопы магния, магнитное поле, *E. coli*, биоплёнки.

DOI: <https://doi.org/10.31857/S0869-56524846768-771>

Способность живых организмов реагировать на магнитно-полевое воздействие неоднократно доказана экспериментально [1]. Например, для бактерий, включая *E. coli*, была обнаружена интересная корреляция между напряжённостью постоянного магнитного поля и скоростью роста: рост бактериальной культуры подавлялся пропорционально увеличению магнитного поля при 30, 60, 80 и 100 мТл [1].

Для объяснения эффектов магнетизма в биологических системах уже предложено несколько физико-химических механизмов [2–5]. Один из наиболее вероятных — это ферментативные спинзависимые ион-радикальные реакции [3–5]. Впервые они были описаны для процесса ферментного фосфорилирования с участием магнитного изотопа ^{25}Mg [3, 4]. Обнаруженный магнитно-изотопный эффект (МИЭ) при ферментативном синтезе АТФ объясняется магнитным взаимодействием ядра ^{25}Mg с неспаренным электронным спином и индуцированием синглет-триплетной конверсии ион-радикальной пары в активном сайте фосфорилирующего фермента. Когда увеличивается вероятность прямой реакции синтеза АТФ, то соответственно растёт выход продукта. Аналогичные МИЭ были обнаружены при синтезе АТФ для магнитных изотопов цинка ^{67}Zn и кальция ^{43}Ca , а также при синтезе ДНК в экспериментах *in vitro* [3, 4, 6, 7].

Теория биологической магниточувствительности обосновывает чувствительность внутриклеточных процессов к внешнему магнитному полю и к маг-

нитным моментам атомных ядер изотопов [5]. Последовательность внутриклеточных биохимических реакций, при которых имеет место процесс с участием магнитных изотопов, будет приводить к физиологическому ответу организма, доступному для экспериментальной регистрации. Так, добавление магнитного изотопа магния в питательную среду роста бактерий *E. coli* способствовало увеличению скорости роста и колониеобразующей способности [5]. Совместное влияние постоянного магнитного поля и магнитных изотопов магния и цинка позволило нам изменить ростовые и биохимические показатели бактерий *E. coli* [8, 9]. Подобные эффекты открывают новые возможности управления ферментативными процессами и, как следствие, основными физиологическими свойствами бактерий.

Одно из таких свойств, представляющее особый интерес, — это образование биоплёнок. Сообщества микроорганизмов, объединённые в биоплёнки, представляют собой сложную структуру, состоящую из самих микробов и синтезируемого ими полимерного матрикса (белки, полисахариды и нуклеиновые кислоты). Биоплёнки защищают бактерии от воздействия внешних физико-химических факторов: антибиотиков, ультрафиолетового облучения, механического воздействия и т.п. [10]. Удалить и инактивировать развитые и зрелые биоплёнки достаточно трудно [10], что приводит к нежелательным проблемам, особенно в медицине и промышленности. Возможность контроля образования биоплёнок — это междисциплинарная научная задача, изучаемая давно и активно [10]. Обнаружено [11], что у микро-

Оренбургский государственный университет
*E-mail: shevulyana@yandex.ru

организма *Pseudomonas aeruginosa* образование биоплёнок подавляется воздействием переменного магнитного поля.

Цель настоящей работы — исследовать влияние внешнего постоянного магнитного поля и магнитных моментов ядра изотопа магния на процесс образования биоплёнок бактериями *E. coli*.

Использовали культуру клеток *Escherichia coli*, штамм K12TG1. Бактерии *E. coli* выращивали в минимальных синтетических питательных средах М9, отличающихся только изотопной формой содержащегося в сульфате магния — немагнитные ^{24}Mg , ^{26}Mg , магнитный ^{25}Mg и природный изотоп магния (ФГУП “Электрохимприбор”, Россия) [8].

Клетки *E. coli* предварительно инкубировали в бульоне Lb (“Sigma-Aldrich”, США) в течение 7 ч при температуре 37°C . Затем клетки пересеивали в среды М9, содержащие изотопы ^{24}Mg , ^{25}Mg , ^{26}Mg , Mg. Плотность стартовой культуры составила $3 \cdot 10^6$ клеток/мл. Далее образцы в 24-луночных полистироловых планшетах помещали в термостат, находящийся в поле электромагнита. В термостате одновременно создавали области магнитных полей в диапазоне 2–82 мТл с помощью электромагнита производства “Takeda Richen Ltd.” (Япония). Экспериментальная установка подробно описана в работе [8]. Бактерии инкубировали в термостате в течение 48 ч при постоянной температуре 37°C . Бактерии культивировали одновременно в 96 контрольных точках, соответствующих 15 стационарным магнитным полям. Магнитное поле в этих точках измеряли с помощью миллитесламетра ТП2–2У (“Фела-контроль”, Россия). Контрольные образцы помещали в термостат и инкубировали при 37°C без дополнительного постоянного магнитного поля.

Способность к биоплёнкообразованию оценивали стандартным фотометрическим методом по степени связывания кристаллического фиолетового [12]. Через 48 ч инкубации в постоянном магнитном поле бульонную культуру осторожно удаляли и вносили в лунки 1,5 мл 0,005%-го водного раствора кристаллического фиолетового для окрашивания сформированных биоплёнок. Окрашивание проводили в течение 60 мин. Далее, полностью удалив из пробирок раствор кристаллического фиолетового, проводили экстракцию красителя из биоплёнки в 1 мл 96%-го этанола в течение 45 мин при комнатной температуре. После этого проводили осаждение остатков биоплёнок и бактерий с помощью центрифугирования в течение 7 мин при 9000 об./мин на центрифуге СМ-50М (“ELMI”, Латвия). Затем образцы вносили в объёме 200 мкл в лунки 96-лу-

ночного планшета. Измерение концентраций кристаллического фиолетового проводили с помощью иммуноферментного анализа (прибор АИФР-01 УНИПЛАН, “Пикон”, Россия, длина волны 530 нм).

Результаты обрабатывали с помощью прикладного программного пакета Origin 8.0 с применением критерия *t* Стьюдента. Различия между средними значениями оптической плотности считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

В результате проведения 10 экспериментальных серий были получены магнитно-полевые зависимости оптической плотности, характеризующие способность к биоплёнкообразованию бактериями *E. coli*, культивируемыми на средах с изотопами магния. Результаты представлены на рис. 2. На рис. 1 приведены данные для контрольных образцов.

Бактерии *E. coli*, культивируемые без внешнего постоянного магнитного поля, образовывали биоплёнки лучше при культивировании на среде с магнитным изотопом ^{25}Mg , чем при таковом с немагнитными формами $^{24,26}\text{Mg}$ (рис. 2). Величина МИЭ магния составила 7–8% и достоверно отличалась от контроля. Подобные закономерности были обнаружены нами ранее [8] при исследовании скорости роста бактерий *E. coli*, обогащённых магнитным изотопом магния.

Анализ полученной магнитно-полевой зависимости оптической плотности позволил выделить два диапазона магнитных полей, в которых происходили значимые изменения формирования биоплёнок микроорганизмами: 2–10 и 20–35 мТл (рис. 1). В первом диапазоне мы наблюдали выраженные изменения оптической плотности — увеличение или

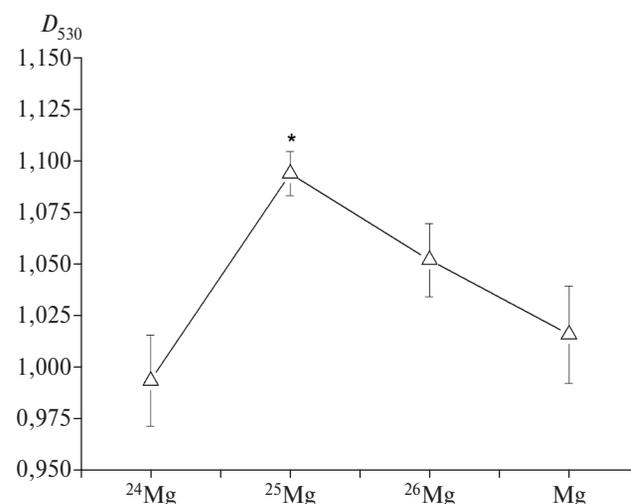


Рис. 1. Формирование биоплёнок бактериями *E. coli*, культивируемых на средах М9 с изотопами ^{24}Mg , ^{25}Mg , ^{26}Mg , Mg. Здесь и на рис. 2 $M \pm m$, $n = 10$, $*p < 0,05$ при сравнении с контролем.

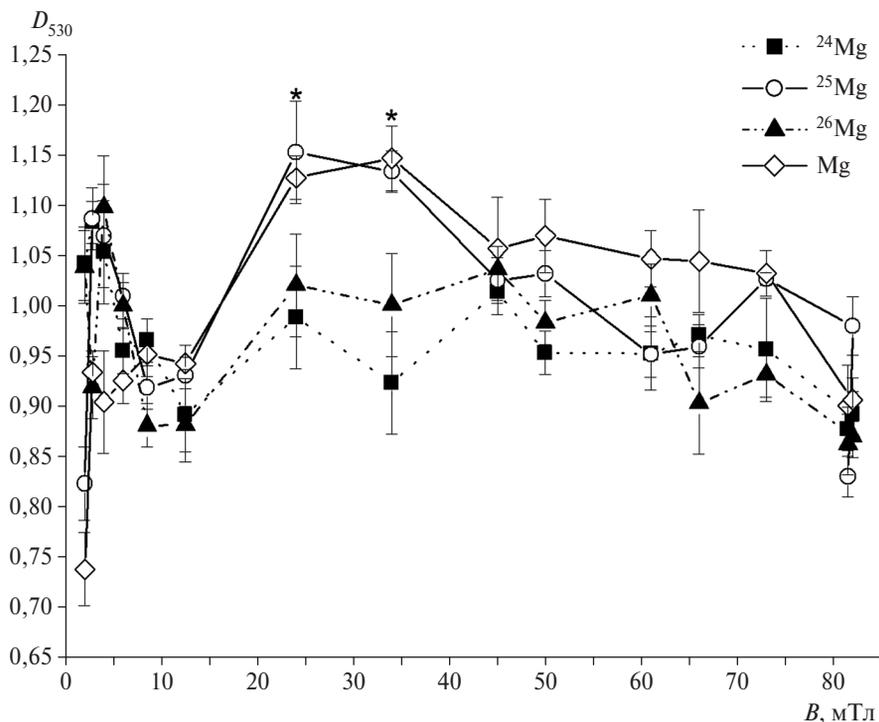


Рис. 2. Зависимость от величины магнитного поля процесса формирования биоплёнок бактериями *E. coli*, культивируемых на средах М9 с изотопами ^{24}Mg , ^{25}Mg , ^{26}Mg , Mg.

уменьшение. Это свидетельствовало о чувствительности процесса биоплёнкообразования к слабым постоянным магнитным полям независимо от типа изотопа магния, находившегося в питательной среде роста. Обнаружение магнитно-полевых эффектов именно в этом диапазоне было ранее предсказано теоретически [5]. Этот диапазон является оптимальным для регистрации физиологического отклика живых организмов в ответ на действие магнитных полей. Значения констант сверхтонкого взаимодействия органических радикалов, содержащих стабильные магнитные изотопы, всегда присутствующие в клетках, например ^{13}C , ^{31}P , ^1H , лежат в диапазоне 0,1–10 мТл [13]. Внутриклеточная концентрация таких магнитных изотопов примерно одинакова для всех бактериальных культур ввиду идентичности условий роста. Поэтому наблюдаемые изменения образования плёнок бактериями в диапазоне 2–10 мТл не зависят от изотопа магния, содержащегося в питательной среде.

В диапазоне 20–35 мТл происходило незначительное повышение оптической плотности для двух исследуемых групп — бактерий, культивируемых в присутствии магнитного изотопа ^{25}Mg и природного магния (содержащего 10% магнитного магния). В этих условиях микроорганизмы лучше формировали биоплёнку. Совместное влияние магнитного

поля этого диапазона и магнитных моментов атомных ядер на ростовые показатели бактерий *E. coli* было также нами обнаружено для стабильного магнитного изотопа цинка ^{67}Zn [9]. В цитируемой работе мы наблюдали увеличение скорости роста бактерий и колониеобразующей способности. Обнаруженные тогда магнитно-полевые и магнитно-изотопные эффекты цинка не были связаны с процессами ферментативного синтеза АТФ [8]. С большой вероятностью можно сказать, что магнитные поля 20–35 мТл и магнитные моменты ядер ^{25}Mg влияют на процессы ферментативного синтеза белка, а также репликации ДНК [14]. Естественным образом это приводит к стимуляции биоплёнкообразования бактериями *E. coli*, так как синтезируемый бактериями внеклеточный матрикс состоит в основном из белков и полисахаридов [10]. При дальнейшем увеличении постоянного магнитного поля до 80 мТл происходит незначительное подавление образования плёнок микроорганизмами всех исследуемых групп.

Итак, процесс формирования биоплёнок бактериями *E. coli* является магниточувствительным. Обнаруженное влияние внешнего постоянного магнитного поля и магнитного изотопа ^{25}Mg на процесс биоплёнкообразования согласуется с теорией магниточувствительности живых организмов [5].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Albuquerque W.W., Costa R.M., Fernandes Tde S., Porto A.L.* // Prog. Biophys. Mol. Biol. 2016. № 121. P. 16–28.
2. *Binhi V.N.* Magnetobiology Underlying Physical Problems. Tokyo: Acad. Press, 2009. P. 473.
3. *Buchachenko A.* // Bioelectromagnetics. 2016. V. 37. P. 1–13.
4. *Buchachenko A.* Magneto-Biology and Medicine. N.Y.: Nova Sci. Publ., 2014. 144 p.
5. *Letuta U.G., Berdinskiy V.L., Udagawa Ch., Tanimoto Y.* // Bioelectromagnetics. 2017. V. 38. № 7. P. 511–521.
6. *Buchachenko A.L., Chekhonin V.P., Orlov A.P., Kuznetsov D.A.* // Int. J. Mol. Med. Adv. Sci. 2010. V. 6. P. 34–37.
7. *Buchachenko A.L., Orlov A.P., Kuznetsov D.A., Bre-slavskaya N.N.* // Nucl. Acids Res. 2013. V. 41. P. 8300–8307.
8. *Letuta U.G., Berdinskiy V.L.* // Bioelectromagnetics. 2017. V. 38. № 8. P. 581–591.
9. *Летута У.Г., Шайлуна Д.М.* // ДАН. 2018. Т. 479. № 5. С. 585–588.
10. *Zhou G., Li L., Shi Q., Ouyang Y., Chen Y., Hu Can W.* // J. Microbiol. 2014. V. 60. P. 5–14.
11. *Bandaraa H.M.H.N., Nguyena D., Mogaralaa S., Osiñskib M., Smyth H.D.C.* // Biofouling. 2015. V. 31. № 5. P. 443–457.
12. *Merritt J.H., Kadouri D.E., O'Toole G.A.* // Curr. Protoc. Microbiol. 2005. № 1.
13. *Бучаченко А.Л., Вассерман А.М.* Стабильные радикалы. Электронное строение, реакционная способность и применение. М.: Химия, 1973. 408 с.
14. *Baltaci A.K., Yuce K., Mogulkoc R.* // Biol. Trace Elem. Res. 2017. V. 183. № 1. P. 22–31.

MAGNETIC FIELDS AND MAGNETIC ISOTOPE ^{25}Mg EFFECTS ON BIOFILMS FORMATION BY BACTERIA *E. coli*

U. G. Letuta, T. A. Tikhonova

Presented by Academician of the RAS A.L. Buchachenko September 17, 2018

Received October 8, 2018

The biofilm formation by bacteria *E. coli* is a magnetosensitive process. The combined effects of a magnetic magnesium isotope ^{25}Mg and a static magnetic field in the range of 20–35 mT stimulate biofilm formation by bacteria *E. coli* compared to non-magnetic magnesium isotopes $^{24,26}\text{Mg}$. Magnetic field effects in the range of 2–10 mT, registered for all bacteria regardless of magnesium-isotope enrichment of nutrient medium, indicate the sensitivity of intracellular processes to weak magnetic fields.

Keywords: magnetic sensitivity, magnesium isotopes, magnetic field, *E. coli*, biofilms.