

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

УДК 579.842.14.579.252.5.577.352.33

А. М. Седракян, Г. А. Мнацаканян, А. С. Калачян, Ж. А. Кцоян,  
 А. А. Арутюнян, член-корреспондент АН Армении К. Г. Карагезян

Влияние R-плазмиды на белковый спектр клеток  
*Salmonella derby*

(Представлено 23.X 1991)

Фенотип клеток *Salmonella derby* К 89, несущих R-плазмиду, определяется взаимодействием продуктов, кодируемых хромосомными и плазмидными генами. Исследования штамма *S. derby* К89 и его бесплазмидного производного *S. derby* К82 выявили значительную роль R-фактора в молекулярных основах функционирования клеток *S. derby* (1,4). R-плазида влияет на форму бактериальных клеток, их размеры, толщину и ультраструктуру клеточных стенок, воздействует на состав липидов клеточной стенки, их антирадикальную активность (3,4). Данные рентгеноструктурного анализа выявили повышение степени внутримембранной неупорядоченности клеточных стенок *S. derby* К82. Бесплазмидный штамм отличают невосприимчивость к фагу dp8, повышенная устойчивость к воздействию УФ, резко пониженная активность ДНК-полимеразы I (5,6).

В связи с совокупностью приведенных данных представляет интерес изучение влияния R-плазмиды на белковый спектр *S. derby*.

Природный условно-патогенный штамм *Salmonella derby* К 89, изолированный из клинического материала (7), содержит конъюгативный R-фактор длиной около 100 т.п.н., обозначенный pGK101 (2). Бесплазмидный штамм *S. derby* К 82 получен из *S. derby* К 89 обработкой 2%-ным этилметансульфонатом (8). Клетки выращивали на 2%-ном мясопептонном агаре при 37°C в течение 20 ч. Собранные 3—4 г влажных клеток дважды центрифугировали в 10 мМ трис-буфере рН 7,4 при 5000 об/мин 30 мин.

Выделение мембран клеток проводили по методу Инойе (9).

SDS-электрофорез белков в 10%-ном полиакриламидном геле проводили по методу Леммли (10), загружая гель белковыми препаратами в количестве 0,1 мг белка на трек. Электрофореграммы сканировали на приборе Ultrascan XI (LKB) при 633 нм.

На рис. 1 показаны белковые спектры клеток *S. derby* К89, несущих R-плазмиду (II, IV), и бесплазмидных клеток *S. derby* К82, (I, III).

На рис. 2 изображены кривые сканирования электрофоретических мембранных (I, II) и цитоплазматических (III, IV) белков плазмидных (I, III) и бесплазмидных (II, IV) клеток *S. derby*.

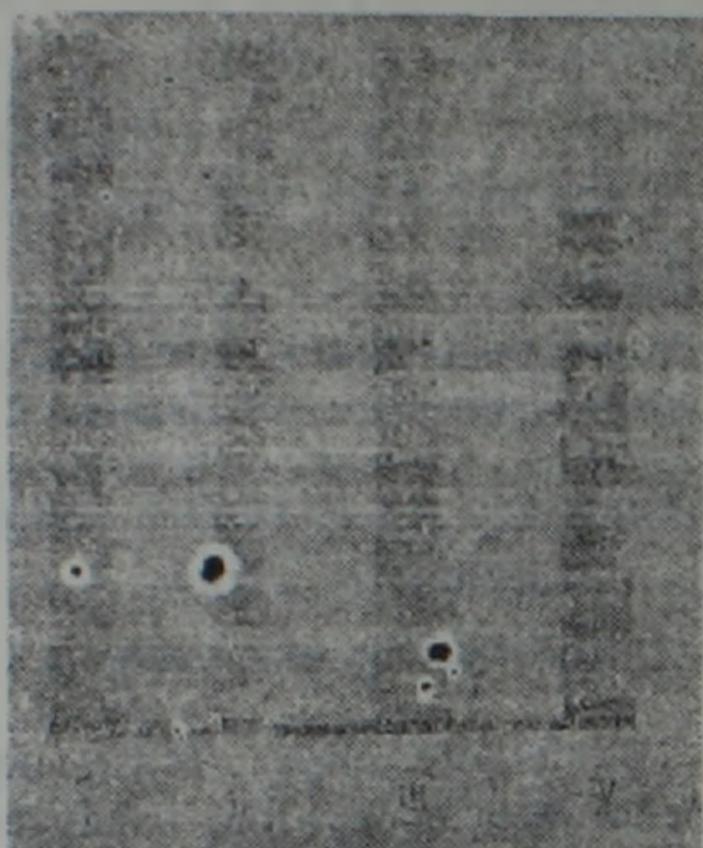


Рис. 1. SDS электрофорез белков клеток *S. derby* в 10%-ном полиакриламидном геле: I — мембранные белки *S. derby* K82; II — мембранные белки *S. derby* K89; III — цитоплазматические белки *S. derby* K82; IV — цитоплазматические белки *S. derby* K89.

Количество различных пиков на денситограммах колеблется от 35 до 40, при этом следует отметить, что в препаратах плазмидного штамма, как в мембране (I), так и в цитоплазме (III), наблюдается большее число пиков. Пики, соответствующие белкам, пронумерованы в порядке убывания молекулярного веса.

Полученные при сравнительном исследовании образцов сведения обобщены в таблице.

Сравнение кривых сканирования электрофоретических белковых спектров *Salmonella derby*

Образец	Количество белков	Специфические белки, №	Пики повышенных концентраций, №
I	40	1, 2, 4, 10, 14, 15, 16, 22, 25, 3, 36, 39, 40	8, 17, 19, 33, 37
II	35	4, 12, 14, 20, 24, 26, 34, 35	1
III	40	1, 3, 6, 9, 15, 23, 37, 39, 39	8, 13, 21, 25, 31, 35
IV	36	23, 33, 34, 35	7, 11, 12, 15

В белковых спектрах мембран клеток *S. derby* 27 пиков появляются постоянно. Вместе с тем 13 пиков на денситограмме I наблюдаются только в мембранах *S. derby* K89; идентичных по расположению пиков на денситограмме II мембранных белков бесплазмидного штамма

не обнаружено. Следует отметить, что два таких белка, которым соответствуют пики № 22, 40, являются основными компонентами мембран *S. derby* K89. Специфичные белки обнаружены и в мембранах бесплазмидного штамма (II), при этом белки № 12, 14 являются основными компонентами мембран *S. derby* K82. R-плазмида оказывает влияние на концентрации некоторых белков, наблюдаемых в мембранах обоих исследуемых штаммов. Концентрации белков, которым соответствуют пики № 8, 17, 19, 33, 37 на кривой сканирования I, выше в мембранах *S. derby* K89. Концентрация белка № 1 на денситограмме II выше в мембранах бесплазмидного штамма.

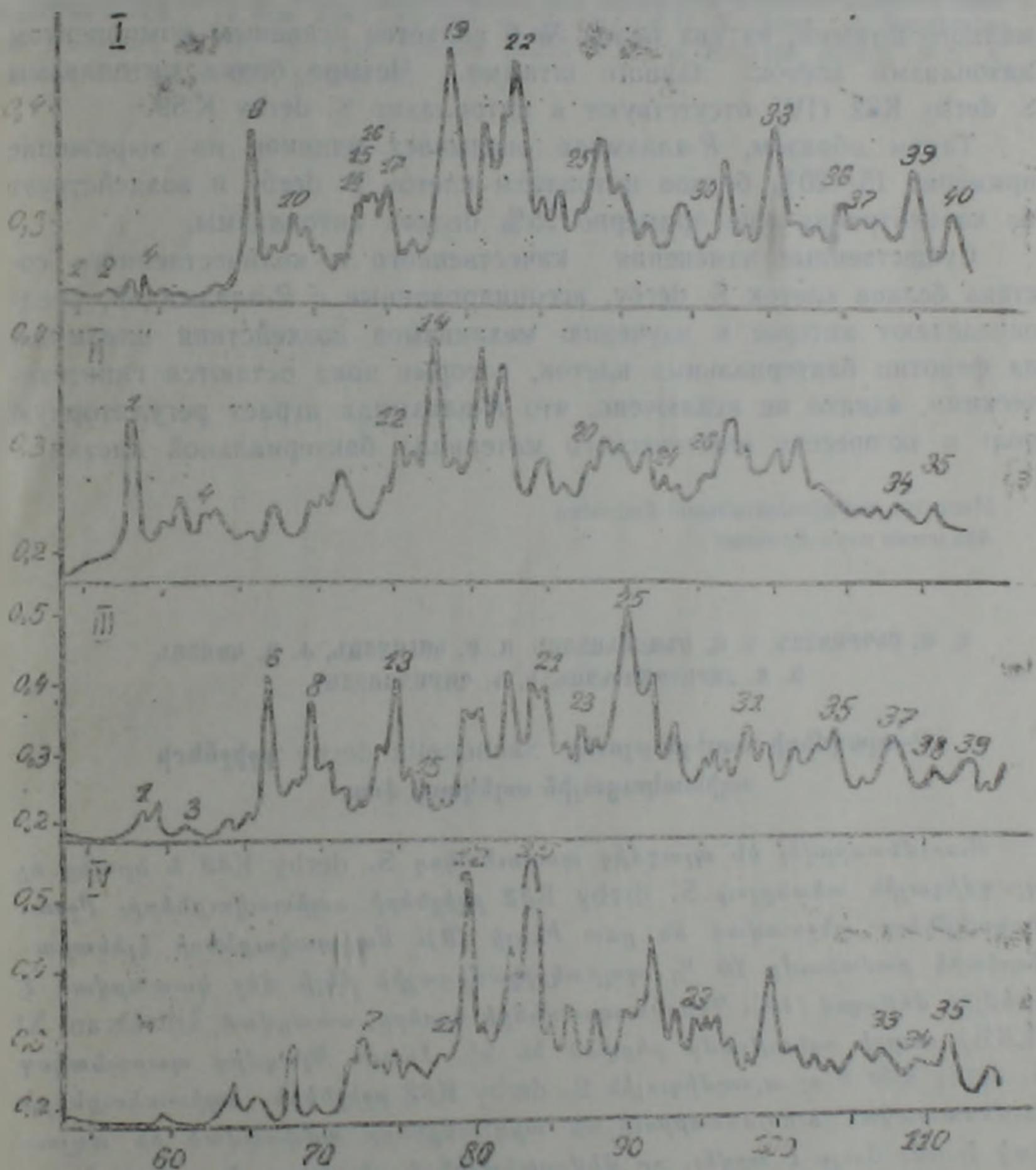


Рис. 2 Кривые сканирования электрофоретических гелей белков *Salmonella derby*: I — мембранные белки *S. derby* K89; II — мембранные белки *S. derby* K89; III — цитоплазматические белки *S. derby* K82. На оси абсцисс — расстояние от старта, мм, на оси ординат — плотность

Таким образом, отсутствие R-плазмиды сопряжено с существенными изменениями белкового спектра мембран *S. derby*. С плазмидой ассоциирована экспрессия приблизительно 25—35% белков клеточной стенки.

Сравнительное изучение белковых спектров цитоплазм клеток *S. derby* (III, IV) выявило наличие 32 идентичных по расположению белковых пиков, из которых 22 белка находятся в примерно равных концентрациях. Шесть белков имеют повышенные концентрации в цитоплазме плазмидного штамма (III). Концентрации четырех белков выше в цитоплазме бесплазмидного штамма (IV). Вместе с тем восемь белков образца III специфичны для цитоплазмы плазмидного штамма, из них белок № 6 является основным компонентом цитоплазмы клеток данного штамма. Четыре белка цитоплазмы *S. derby* K82 (IV) отсутствуют в цитоплазме *S. derby* K89.

Таким образом, R-плазида оказывает влияние на выражение примерно 15—20% белков цитоплазм клеток *S. derby* и воздействует на концентрации еще примерно 25% белков цитоплазмы.

Существенные изменения качественного и количественного состава белков клеток *S. derby*, ассоциированные с R-плазмидой, определяют интерес к изучению механизмов воздействия плазмиды на фенотип бактериальных клеток, которые пока остаются гипотетическими, однако не исключено, что R-плазида играет регуляторную роль в экспрессии генетического материала бактериальной клетки.

Институт экспериментальной биологии  
Академии наук Армении

Ա. Մ. ՍԵՒՐԱՎՅԱՆ, Գ. Ա. ՄՆԱՑԱԿԱՆՅԱՆ, Ա. Ս. ԿԱԼԱԶՅԱՆ, Ժ. Ա. ԿՄՈՅԱՆ,  
Ա. Ա. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ, Կ. Գ. ՂԱՐԱԳՅՈՂՅԱՆ

### R-պլազմիդի ազդեցությունը *Salmonella derby* բջիջների սպիտակուցային սպեկտրի վրա

Ուսումնասիրվել են պլազմիդ պարունակող *S. derby* K89 և նրանց ոչ պլազմիդային ածանցյալ *S. derby* K82 բջիջների սպիտակուցները: Բջջաթաղանթները անջատված են ըստ Ինոյի (9): Սպիտակուցների էլեկտրաֆորետիկ բաժանումը 10% պոլիակրիլամիդային հելի մեջ կատարված է Լաեմյիի մեթոդով (10): Դենսիտոգրամների կորերը, ստացված Ultrascan XI (LKB) սարքի օգնությամբ բերված են նկ. 1-ում: Պլազմիդ պարունակող *S. derby* K89 և ոչ պլազմիդային *S. derby* K82 բջիջների սպիտակուցների համեմատական ուսումնասիրության արդյունքները ամփոփված են աղյուսակ 1-ում: Ցույց է տրվել, որ մեմբրանային և ցիտոպլազմատիկ սպիտակուցների մեծամասնության կրկնելիության հետ միաժամանակ ինչպես *S. derby* K89, այնպես էլ *S. derby* K82-ը պարունակում են մի շարք սպեցիֆիկ սպիտակուցներ:

ЛИТЕРАТУРА — ЧԻՇՉԻՆՆԵՐՅՈՒՆ

- 1 Ж. А. Кцоян, Н. Н. Саркисян, В. И. Чернога и др., ДАН АрмССР, т. 88, с. 26–29 (1969). 2 Н. Н. Саркисян, Р. Г. Ачоян, М. П. Светлова и др., Биохимия, т. 50, с. 673–679 (1985). 3 А. З. Перочан, О. А. Кізюил, К. С. Karagezian, FEBS 20th Meeting of the Federation of European Bioch. Soc. Budapest 19–24, p. 503, 1970. 4 А. Э. Петлин, Влияние R-плазмиды *S. derby* на физикохимические свойства мембран клеток *S. derby*; канд. дис., Ереван, ИЭБ, 1991. 5 Ж. А. Кцоян, Л. М. Хлибекин, Н. Н. Саркисян и др., Генетика, т. 24, № 5, с. 953–955 (1988). 6 Р. Г. Ачоян, Н. Н. Саркисян, К. Г. Данагулян и др., ДАН АрмССР, т. 77, с. 132–136 (1983). 7 М. К. Вартмян, Б. П. Карабекян, в кн.: Вопросы молекулярно-клеточной биологии и иммунологии, Изд. АН АрмССР, Ереван, с. 45, 1974. 8 Ж. А. Кцоян, К. Г. Данагулян, Ш. К. Григорян, Юбилейная сессия Армянского общества ВСГи. Тезисы докл., Ереван, с. 13, 1977. 9 О. Н. Илюе, in: Membranes and Transport, A. N. N. York Plenum Press, v. 1, p. 289–298 (1982). 10 U. K. Laemmle, Nature, v. 227, p. 680–681 (1970).