

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

УДК 577.12.577.151

М. О. Саакян, А. З. Пепоян, Л. А. Киракосян, А. Р. Епископосян,
О. Г. Карапетян, А. О. Карапетян, А. А. Шагинян,
академик НАН Армении К. Г. Карагезян

**Влияние кислотности среды на рост и размножение штаммов
*Escherichia coli***

(Представлено 21 / V 1999)

Известно, что состояние микробной экологии хозяина имеет важную, а возможно, и решающую роль в возникновении определенных форм спонтанных и индуцированных злокачественных новообразований человека и животных (1,2). Из организма здорового человека были выделены некоторые штаммы *E.coli*, обладающие канцеролитическими свойствами, в отличие от тех же микроорганизмов, выделенных из организма больных раком людей (3). Нами было установлено, что указанные штаммы, выделенные из организма здорового и больного раком человека, отличаются некоторыми физико-химическими параметрами клеток (4). Между тем практически отсутствуют работы, выявляющие механизмы их канцеролитического действия. Мало известно и о поведении этих микроорганизмов в ответ на их активность. Для решения указанной задачи в настоящей работе исследовано влияние кислотности среды на рост и размножение указанных штаммов *E.coli* in vitro.

В экспериментах использованы бактериальные клетки, зарегистрированные в Государственном научно-исследовательском институте стандартизации и контроля медицинских и биологических препаратов им. Л.А.Тарасевича (паспорт №01-07/89, 22.03.83 г.) (3).

Для получения непатогенной кишечной палочки от обследуемого лица в стерильных условиях брали 1 г кала, добавляли 10 мл физиологического раствора и спустя 15 мин производили посев на среду Эндо, затем помещали в термостат на 24 ч при 37°C. После этого со среды Эндо производили посев на 2% мясопептонный агар для выделения *E.coli*. Посевы помещали в термостат при той же температуре на 24 ч. Культуры проверяли по Граму, по биохимическим тестам и критериям соответственно требованиям определителя Берги (5).

Таблица 1

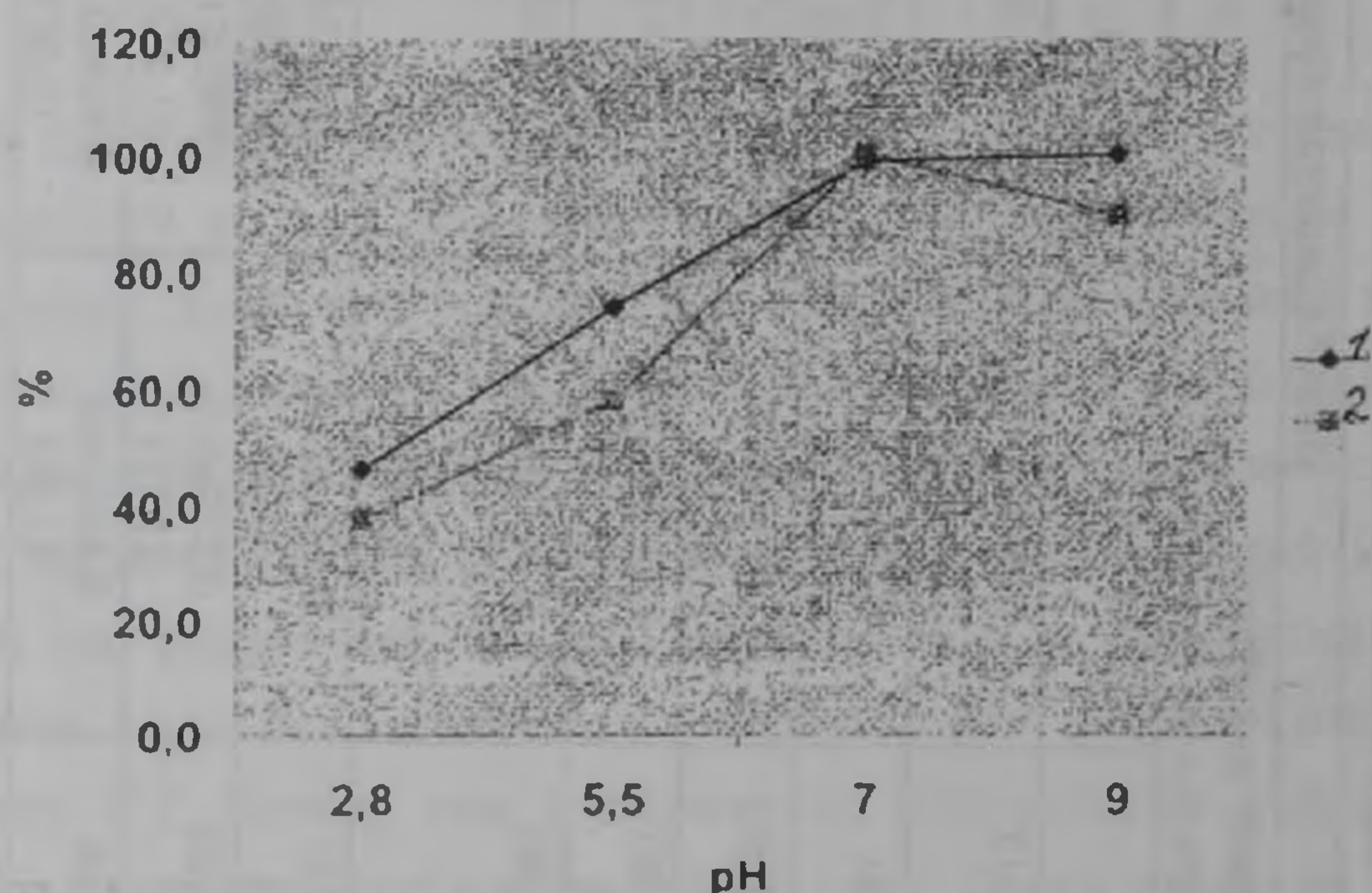
Влияние кислотности инкубационной среды на рост и размножение клеток E.coli

РН бактериальной суспензии	Инкубационная среда						
	Период инкубации в питательном бульоне				Период инкубации в минимальной среде М-9		
	Начало инкубации	2,5 ч	4 ч	16 ч	Начало инкубации	2,5 ч	16 ч
E.coli (G-35 №61) рН 2,8	0,011±0,02	0,011±0,017	0,09±0,018	0,091±0,021	0,03±0,041	0,03±0,068	0,03±0,05
рН 5,5	0,081±0,01	0,17±0,01 (2,1)	0,308±0,27 (1,81)	0,353±0,067 (1,15)	0,078±0,11	0,078±0,07 (1)	0,246±0,091 (3,15)
рН 7	0,018±0,004	0,292±0,065 (16,2)	0,614±0,124 (2,17)	0,614±0,707 (1)	0,109±0,008	0,143±0,043 (1,3)	0,253±0,066 (2,3)
рН 9	0,1±0,008	0,261±0,081 (2,61)	0,567±0,098 (2,17)	0,567±0,101 (1)	0,069±0,018	0,072±0,036 (1,04)	0,189±0,046 (2,7)
E.coli от больного раком человека рН 2,8	0,14±0,09	0,147±0,087	0,147±0,09	0,15±0,02	0,14±0,08	0,162±0,041 (1,06)	0,166±0,06 (1,02)
рН 5,5	0,191±0,02	0,237±0,07 (1,24)	0,281±0,08 (1,2)	0,298±0,071 (1,053)	0,202±0,09	0,237±0,06 (1,17)	0,184±0,047
рН 7	0,241±0,048	0,317±0,091 (1,32)	0,377±0,1 (1,19)	0,398±0,074 (1,056)	0,213±0,082	0,196±0,97	0,134±0,065
рН 9	0,221±0,011	0,32±0,08 (1,45)	0,4±0,096 (1,25)	0,428±0,08 (1,07)	0,1±0,067	0,17±0,067 (1,78)	0,28±0,071 (1,65)

Примечание. В таблице приведены абсолютные значения показания спектрофотометра СФ-46, в скобках даны относительные скорости роста бактериальных культур

В качестве питательных сред для изучения роста и размножения указанных штаммов *E.coli* были использованы питательный бульон и среда М-9 (переход от кислой среды к щелочной осуществляли при помощи HCl и NaOH) (6).

В табл.1 приведены данные по влиянию рН среды культивирования на рост и размножение бактериальных клеток *E.coli*. Как видно из табл.1, в зависимости от типа инкубационной среды наблюдается изменение скорости фазовых переходов роста изученных бактерий. Показано, что для обоих типов клеток *E.coli* переход от логарифмической в стационарную фазу завершается примерно через 2,5 ч после инкубации. Результаты экспериментов свидетельствуют также (табл.1), что изученные штаммы *E.coli* отличаются по своим кинетическим параметрам роста. Установлено, что если для клеток штамма *E.coli* G35 №61 наибольший рост в питательном бульоне наблюдается в нейтральной среде, то клетки *E.coli*, выделенные из больного раком организма, хорошо растут и в щелочной среде (рисунок).



Зависимость интенсивности роста от кислотности среды в течение лог фазы.

На оси ординат – относительная плотность клеточной суспензии по СФ от максимальной плотности при различных рН среды культивирования.

1 – *E.coli*, выделенные из больного раком организма; 2 – *E.coli* G35 №61

В табл.2 представлены данные по изменению рН среды культивирования при росте клеток в стационарной фазе роста в зависимости от типа инкубационной среды. Установлено, что в среде М-9 наблюдается четкий сдвиг рН среды (снижается значение рН среды) в процессе роста обоих типов бактериальных суспензий *E.coli*. При этом выявлено, что наибольший сдвиг в случае среды М-9 наблюдается при росте культур с первоначальными значениями рН 5,5 и рН 9. В то же время обнаружен переход рН из кислой в щелочную при росте бактерий в питательном бульоне, кроме случаев суспензии с первоначальными значениями рН 9.

Таблица 2

Изменение рН среды культивирования при росте клеток E.coli в зависимости от типа среды роста и размножения

Значение рН бактериальной суспензии в начале инкубации	Значение рН ночных культур	
	Минимальная среда М-9	Питательный бульон
E.coli (G-35 №61)		
рН 2,5	2,26±0,093 (1,106)	2,55±0,022 (0,98)
рН 5,5	4,2±0,05 (1,3)	7,2±0,041 (0,76)
рН 7	6,23±0,02 (1,124)	7,64±0,143 (0,92)
рН 9	6,9±0,032 (1,3)	8,4±0,08 (1,07)
E.coli от больного чел.		
рН 2,5	2,3±0,061 (1,09)	2,57±0,031 (0,97)
рН 5,5	4,5±0,009 (1,22)	8,05±0,104 (0,7)
рН 7	6,22±0,102 (1,125)	8,02±0,088 (0,87)
рН 9	6,95±0,161 (1,3)	8,53±0,073 (1,06)

Примечание. в скобках приведено относительное изменение рН среды ночных культур E.coli

Таким образом, данные табл.2 показывают, что при росте клеток E.coli, в результате метаболических процессов бактерий в зависимости от типа инкубационной среды, имеет место изменение рН среды. В обоих типах клеток E.coli направленность изменения рН как в питательном бульоне, так и в среде М-9 одинакова.

Все вышеуказанное дает возможность заключить, что клетки E.coli, выделенные из здоровых и больных раком организмов, отличаются характером роста и размножения, что в конечном счете должно отражаться на взаимодействии бактерия-опухоль in vitro.

Институт прикладных проблем физики Академии наук Республики Армения
Институт молекулярной биологии Академии наук Республики Армения
Агентство по лекарствам и медицинским технологиям Министерства здравоохранения Республики Армения

Մ. Օ. ՍԱՀԱԿՅԱՆ, Ա. Զ. ՓԵՓՈՅԱՆ, Լ. Հ. ԿԻՐԱԿՈՍՅԱՆ, Հ. Ռ. ԵՊԻՍԿՈՊՈՍՅԱՆ,
Օ. Գ. ԿԱՐԱՊԵՏՅԱՆ, Ա. Օ. ԿԱՐԱՊԵՏՅԱՆ, Ա. Ա. ՇԱՀԻՆՅԱՆ, Հայաստանի ԳԱԱ
ակադեմիկոս Կ. Գ. ՂԱՐԱԳՅՈՉՅԱՆ

Միջավայրի թրվայնության ազդեցությունը Escherichia coli
շտամների աճման և բազմացման պրոցեսների վրա

Ուսումնասիրվել է արտաքին միջավայրի ազդեցությունը առողջ մարդկանցից և քաղցկեղով հիվանդներից անջատված E.coli շտամների վրա :

Պարզվել է, որ նշված բակտերիաների մոտ ֆազային անցումը լոգարիթմականից ստացիոնարի՝ անկախ բակտերիաների տիպից, ի հայտ է գալիս մոտավորապես 2.5 ժամից: Չնայած այդ, ցույց է տրվել, որ ուսումնասիրվող *E.coli*-ի շտամները տարբերվում են իրենց կինետիկական բնութագրերով՝ ածման արագություններով, օպտիմալ pH և այլն:

Բացահայտվել է, որ *E.coli*-ի բջիջների մոտ ածման և բազմացման պրոցեսի ընթացքում տեղի է ունենում միջավայրի pH-ի փոփոխություն, որի ուղղվածությունն այդ շտամների մոտ միաբնույթ է:

Վերոհիշյալ ուսումնասիրությունները վկայում են, որ հիվանդ և առողջ մարդկանցից անջատված շտամները տարբերվում են իրենց ածման և բազմացման պրոցեսներով, որոնք ակնհայտորեն կարող են անդրադառնալ ինկուբացիոն ժամանակահատվածում *in vitro* պայմաններում բակտերիա-ուտուցք փոխադրեցության վրա:

ЛИТЕРАТУРА – ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

- ¹ S.Morinaga, K.Sakamoto, K.Konishi, Jpn J.Cancer Res., v.79, p.117-124 (1988).
² S.Kaji, Fukuoka Ogaku Zasshi, v.85. p.294-308 (1994). ³ А.О.Каранетян, Автореф. канд. дис., М., (1987). ⁴ Peroyan et al., ABST, ISFOS, Redox, 1999. ⁵ Р.Досон, Д.Эллиот, У.Эллиот и др., Справочник биохимика, М., Мир, 1991. ⁶ Краткий определитель бактерий Берги, Под ред. Дж. Хоулта, М., Мир, 1980.