

УДК 577.21

М.О.Саакян

Рентгенографическое исследование структуры клеточных стенок штаммов *Escherichia coli*

(Представлено академиком К.Г. Карагезяном 12/VI 2002)

Известно, что клетки *E.coli* играют важную роль в жизнедеятельности организма человека [1]. На основе антибиотикочувствительности и влияния кислотности среды на рост и размножение штаммов *E.coli* G35 нами выявлены некоторые особенности этих клеток, влияющие на состояние кишечной микрофлоры при ряде патологических состояний организма [2,3]. С другой стороны, до сих пор нет данных относительно структурной организации клеточных стенок штаммов *E.coli* G35.

Целью настоящих исследований было изучение структуры клеточных стенок штаммов *E.coli* G35 с помощью рентгенографического метода.

Выделение мембран из клеток *E.coli* G35 проводилось по методу Айноэ [4]. Основным экспериментальным методом для изучения структуры мембранных суспензий являлся метод дифракции рентгеновских лучей. Образцы были изготовлены и исследованы по методу, описанному в работе [5]. Мембранную суспензию соответствующей концентрации вводили в капилляр или ячейку типа "сэндвич" и оставляли в герметически закрытом виде при комнатной температуре ($t^{\circ} = 25^{\circ}\text{C}$). Образцы были цилиндрическими или плоскими, с диаметром или толщиной 0.4 - 1.0 мм.

Съемки проводили на рентгеновских аппаратах УРС-60, УРС-2 с модифицированными камерами типа КРОН, РКСО, предназначенных для исследования малоуглового рассеяния и дающих возможность проводить съемки на плоскую пленку. Расстояние образец-пленка 100 - 150 мм. В исследованиях были использованы рентгеновские трубки БСВ - 23, БСВ - 24В, дающие излучение в области длины волны 1.54 Э с напряжением на аноде 40 кВ при анодном токе 20 мА. Время экспозиции 10 - 14 ч. Для приготовления образца использовались кварцевые тонкостенные капилляры (производства ФРГ) с толщиной стенок 0.01 мм и диаметром 0.4 - 1 мм. Фон от капилляров и ячеек практически отсутствует. В указанной области волн они не поглощают. Измерение рентгенограмм проводилось на измерительном приборе ИЗА-2, а для более точного измерения использовался фотометр Ф-2. Приведенная точность касается только измерений.

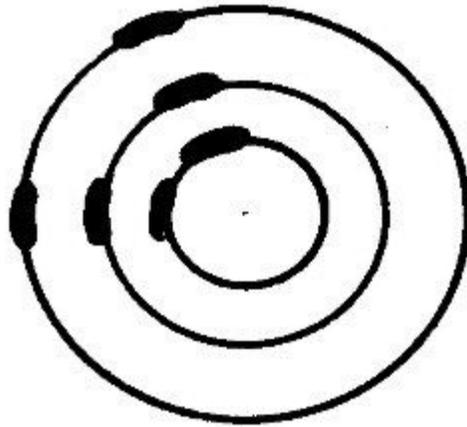


Рис.1. Лауэграммы (рефлексы под большими и малыми углами) 15%-ной водной суспензии клеточных стенок *E. coli*

При рентгенографических исследованиях появление на рентгенограммах системы параллельно расположенных мембран сопровождается возникновением рефлексов при дифракции рентгеновских лучей под малыми углами, в то время как структура внутри мембран определяется возникновением рефлексов под большими углами.

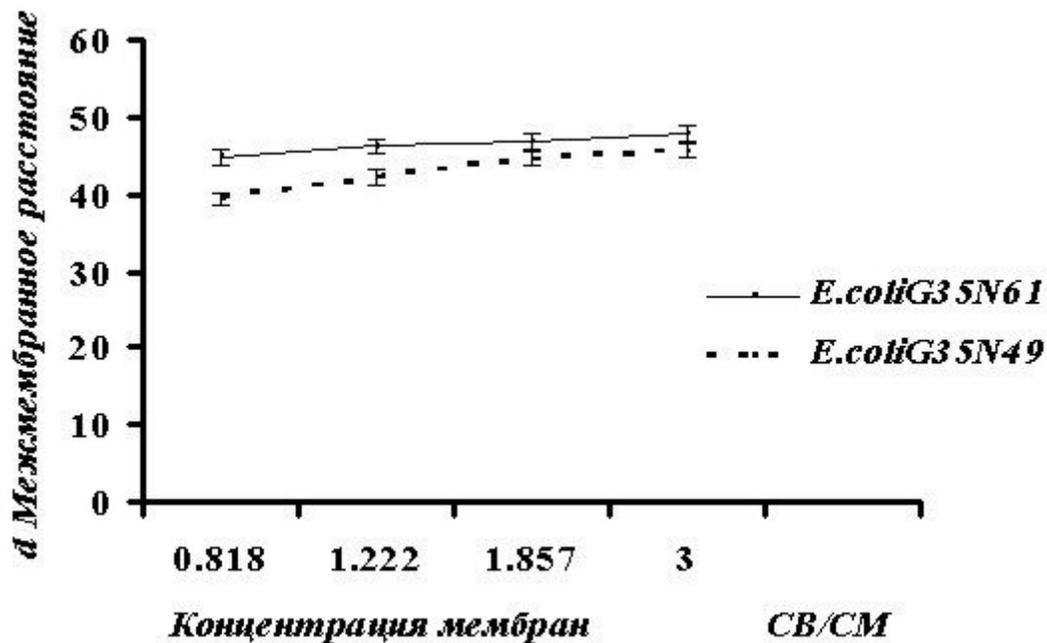


Рис. 2. Зависимость межплоскостного расстояния от концентрации мембран клеток *E. coli* G35 N61 и *E. coli* G35 N49 в системе мембрана-вода

Изучение мембран бактериальных клеток *E. coli* показало наличие рефлексов на

рентгенограммах под малыми углами (рис.1), что указывает на возникновение системы с чередующимися регулярно расположенными мембранами с водными прослойками. Полученные рефлексы на рентгенограммах позволяют сделать вывод о жидкокристаллической структуре мембран изученных клеток *E.coli*. В то же время нечеткость этих рефлексов не дала возможности охарактеризовать толщину каждого слоя клеточных стенок бактерий. Рефлексы, полученные на рентгенограммах из водных суспензий природных и искусственных мембран с межплоскостным расстоянием 4.3 Å, характеризуют состояние углеводородных цепочек молекул фосфолипидов в мембране. Отсутствие дифракции при 4.3 Å указывает на аморфное состояние, окружности свидетельствуют о взаимном параллельном эквидистантном расположении молекул фосфолипидов в мембране. Отсутствие рефлекса на рентгенограммах клеток *E.coli* указывает на "жидкое" состояние мембран этих клеток.

Важное значение в поддержании структуры мембраны играют мембраносвязанные и межбислойные фракции воды, которые контролируют латеральную диффузию гидратированных полярных групп липидов и белков, ионную проницаемость и работу мембраносвязанных ферментов.

С целью выяснения закономерностей изменения межплоскостных расстояний малоугловых рефлексов и определения межмембранных расстояний для наиболее выраженных рефлексов были получены зависимости межплоскостных расстояний от отношения концентрации воды и мембран $C_{\text{В}}/C_{\text{М}}$ (в гр/гр) для 25 - 55% мембранных суспензий изученных штаммов (рис. 2). Установлено, что межплоскостное расстояние почти не меняется в зависимости от концентрации мембраны в системе мембрана-вода в случае клеток *E.coli* G35 N61, в то время как для клеток *E.coli* G35 N49 по мере увеличения количества воды наблюдается его увеличение. По всей вероятности, при увеличении количества воды она полностью накапливается в межмембранном пространстве, приводя к линейному росту межмембранного расстояния.

Институт молекулярной биологии НАН РА

Литература

1. *Бурд.* В кн.: Молекулярные основы генетических процессов. М. Наука. 1990. 477 с.
2. *Саакян М.О., Шагинян А.А., Пепоян А.З., Карагезян К.Г.* - ДНАН Армении. 2001. Т.101. N 2. С. 171-176.
3. *Пепоян А.З.* - ДНАН Армении. 2001. Т.101. N 3. С. 273-278.
4. *Иное О.Н., Pardce М.В.* - J. Biol. Chem. 1973. V. 245. P. 58/3.
5. *Balayan M.A., Vardevanyan P.O., Pepoyan A.Z. et. al.* - Memb. Cell. Biol. 1998. V. 11 N 5. P. 623-629.

Մ.Օ. Սահակյան

Escherichia coli շտամների բջջապատերի կառուցվածքի ռենտգենագրաֆիկ ուսումնասիրություն

Escherichia coli բջիջների բջջապատերի կարգավորվածությունը ուսումնասիրվել է ռենտգենյան ճառագայթների մեծ և փոքր անկյունների տակ դիֆրակցիայի միջոցով: Բացահայտվել է ուսումնասիրվող E.coli բջջապատերի հեղուկ-բյուրեղական կառուցվածքը:

Մտացվել է բակտերիալ բջջապատերի և միջբջջապատային գումարային հեռավորության կախվածությունը սուսպենզիաներում բջջապատերի խտությունից: Ցույց է տրվել, որ այդ կախվածությունը տարբեր է E.coli G35 N61 և E.coli G35 N49 շտամների համար: Ուսումնասիրությունները հիմք են տվել գնահատելու նաև բակտերիաների բջջապատերի հիդրոֆոբությունը: