

УДК 577.1:851

МИКРОБИОЛОГИЯ

Ж. А. Кцоян, Н. Н. Саркисян, В. И. Чернов, А. С. Минасян

Морфологическая гетерогенность клеток *Salmonella derby*

(Представлено чл.-корр. АН Армянской ССР К. Г. Карагесяном 22/III 1988)

Из литературы известно, что процесс приобретения бактериальной клеткой своей окончательной палочковидной формы зависит от участия ряда ферментных белков (¹). Так, показано, что бактериальные клетки *E. coli*, лишённые путем инактивации белка РВР-2 или мутантные по белку РВР-2, приобретают сферическую или овальную форму (²).

В процессе генетического исследования R-плазмиды *S. derby* К 89 были получены его бесплазмидные производные под действием этидиум бромид в концентрации действия (100 γ/мл). В бесплазмидных производных, лишённых антибиотикрезистентности, при электрофоретическом анализе не обнаружено плазмидных ДНК (³).

При высеве на твердую питательную среду бесплазмидные штаммы образовывали колонии, по морфологии отличные от колоний дикого типа *S. derby* К 89 малыми размерами и отсутствием флюоресцирующей поверхности. Клетки-эксконъюганты, полученные путем конъюгационных скрещиваний исходного штамма с бесплазмидным вариантом *S. derby*, и трансформанты, полученные при трансформации бесплазмидных клеток *S. derby* плазмидными ДНК, при росте на агаре образовывали колонии, типичные для исходных клеток *S. derby* К 89.

Подобная изменчивость морфологии колоний штаммов *S. derby* определила интерес к исследованию морфологии бактериальных клеток,

Проведено морфологическое исследование трех классов клеток методом световой микроскопии при окраске клеток по Грамму (⁴): 1) исходного штамма *S. derby* К 89, содержащего плазмиду; 2) его бесплазмидных производных; 3) конъюгантов и трансформантов, содержащих плазмидные ДНК

Морфологическое изучение всех исследуемых штаммов под световым микроскопом выявило существенные различия в морфологии клеток по форме и размерам. Все плазмидосодержащие штаммы — исходный штамм *S. derby* К 89, конъюганты и трансформанты — представляют собой грубые палочковидные клетки различных размеров, изредка в поле зрения можно встретить овоидные клетки меньших размеров. Однако все бесплазмидные клетки по размерам мелкие и имеют овоидную или округлую форму, в поле зрения попада-

ются лишь единичные короткие палочковидные клетки. Подобная гетерогенность клеток плазмидосодержащих и бесплазмидных штаммов, по размерам и форме клеток ассоциированная с наличием или отсутствием R-плазмиды *S. derby*, побудила нас провести эксперименты по проверке исследуемых штаммов на видовую специфичность в реакции иммунофлюоресценции.

Для проверки штаммов *S. derby* на видовую специфичность в реакции иммунофлюоресценции (5) использовались: поливалентная сальмонеллезная люминисцирующая сыворотка и моновалентная (0—4) *S. paratyphi* (см. таблицу). Использовали также непрямой метод реакции флюоресценции, основанный на обработке мазков моно-

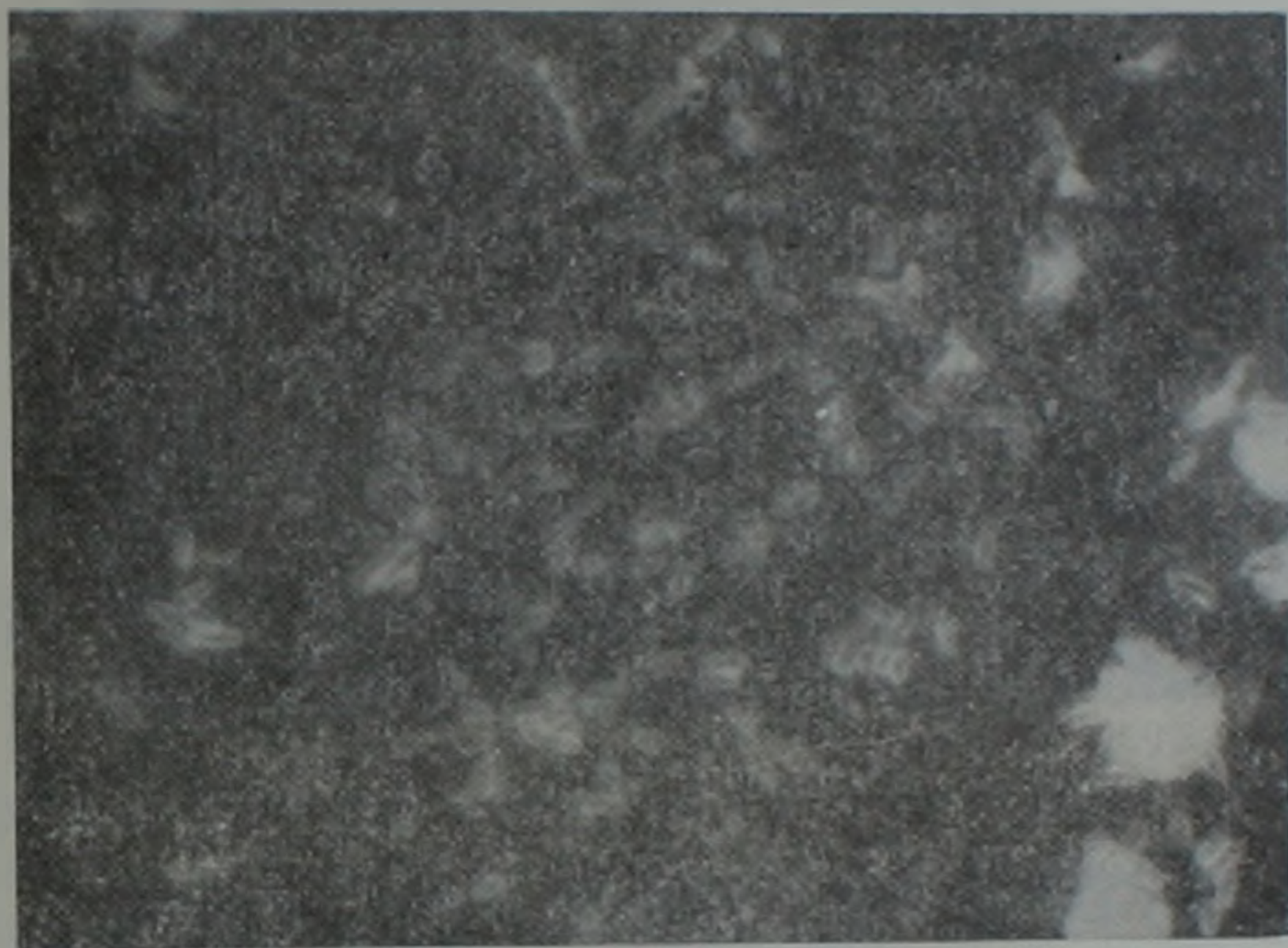


Рис. 1. Исходный штамм *S. derby* К 89. На всех рисунках представлены клетки в реакции иммунофлюоресценции по непрямому методу



Рис. 2. Бесплазмидный вариант *S. derby*

лентной (0—4) *S. paratyphi* сыпороткой, с последующим докрашиванием люминисцирующими иммуноглобулинами против сывороточных глобулинов. В качестве контроля использовались лошадиные сибирезавенные и антикроличьи люминисцирующие иммуноглобулины.

В исследованиях использовались люминисцирующие препараты производства НИИЭМ им. Гамалеи. Оценку люминисценции проводили по общепринятой четырехкрестовой системе. Результаты экспери-

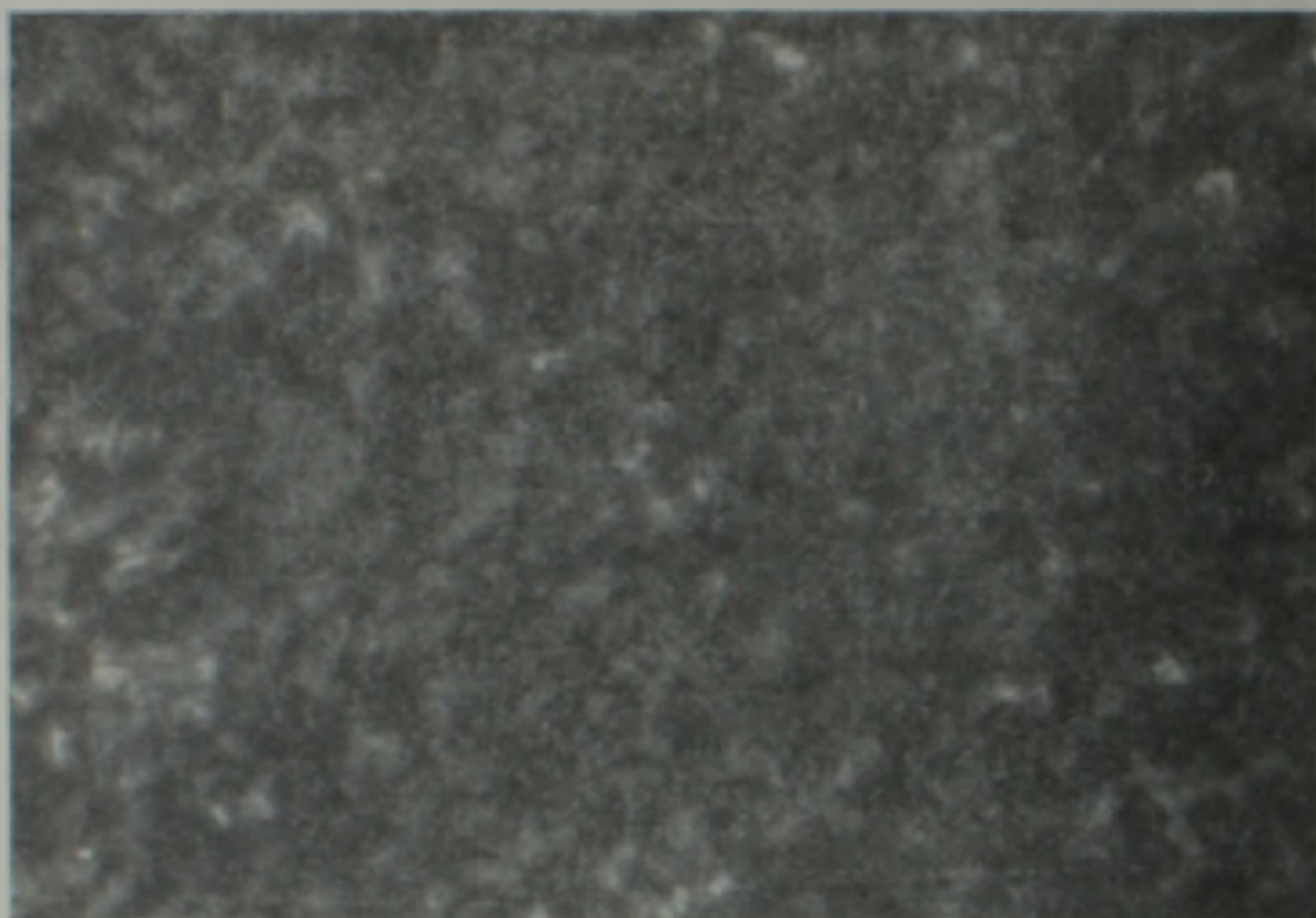


Рис. 3. Конъюгант *S. derby*, несущий плазмиду

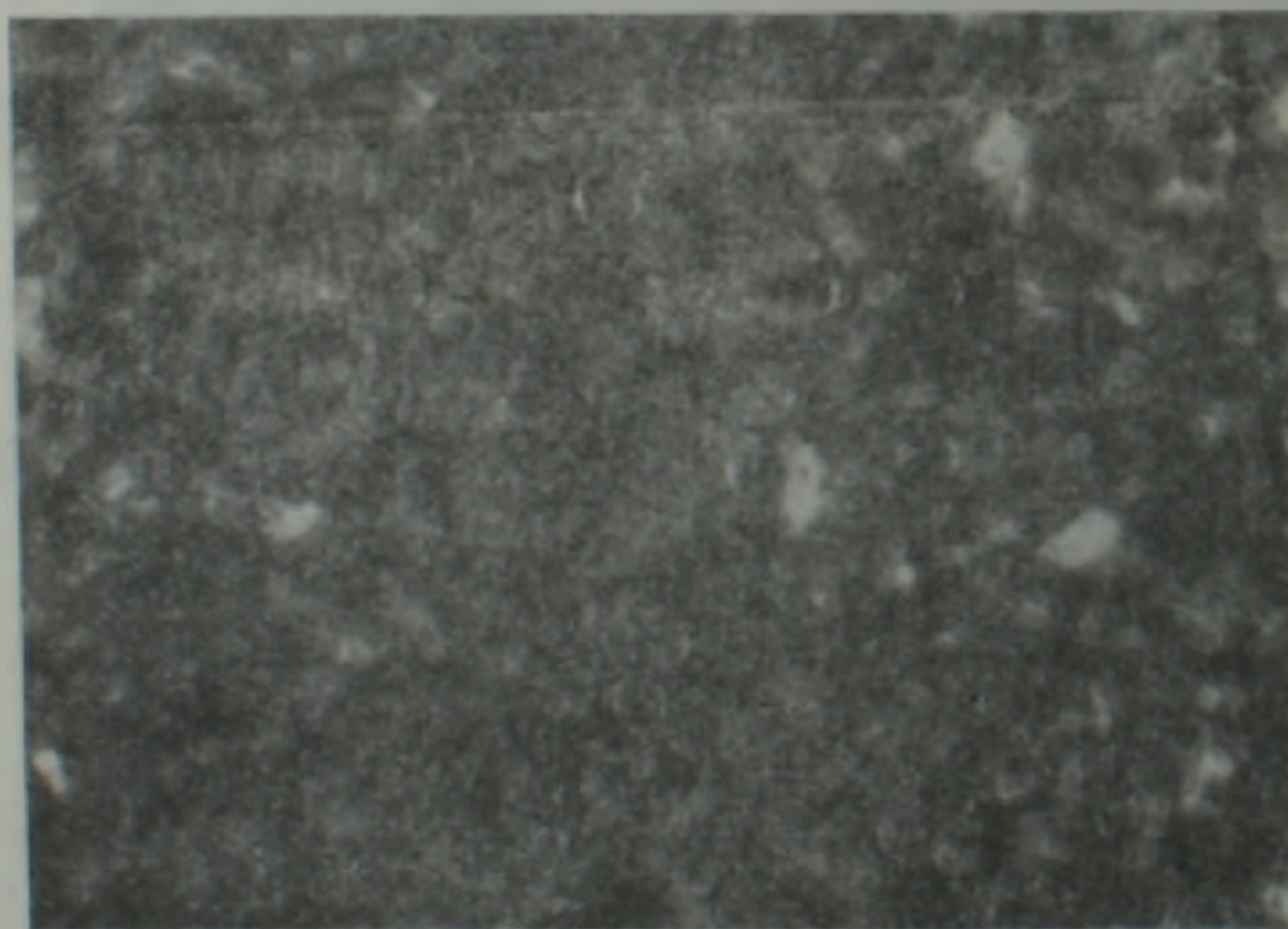


Рис. 4. Трансформант *S. derby*, содержащий плазмидные ДНК

ментов представлены в таблице и на рис. 1—4. Как видно из таблицы, интенсивность специфического свечения у различных штаммов была неодинакова. У ряда штаммов, имеющих овоидную форму (бесплазмидные варианты штамма *S. derby*) наблюдали слабо выраженное специфическое свечение клеток. Это, возможно, указывает на меньшее содержание антигенов в клеточной стенке, выявляемых дан-

**Интенсивность свечения различных штаммов
в реакции иммунофлуоресценции**

№ штамма	Морфология клеток	Подназв. на л. цирку- шая сыво- ро- ка	Моно (0-4) назв. на л. доминирующая сы- воротка	Непрямая иммунофлю- оресцентная разведения сы- воротки	Контроль	
					антикром- чья л. м. л. инцидирую- щие ИГ	кроличий ИГ к Зонне
Исходный плазмидный К 89	Грубые палочки	++++	++++	1/200 +++++	—	—
К 89 _а	Редко округлые	+++	++++	1/20 +++++	—	—
К 82	Округлые	++	++	1/20 +++++	—	—
К 89 ₄₅	Округлые	+++	+++	1/100 +++++	—	—
К 89 ₄₈	Овоидные	+++	+++	1/100 +++++	—	—
Трансфор- мант						
Т-4	Палочки	++++	+++	1/200 +++++	—	—
Т-82	Палочки	++++	+++	1/100 +++++	—	—
Конъюганты						
К 39 × К 82	Палочки	+++	+++	1/100 +++++	—	—
К 134 × К 82	Редко	+++	+++	1/200 +++++	—	—
К 118 × К 82	овоидные	+++	+++	1/100 +++++	—	—

ной реакцией. Применение непрямого метода реакции иммунофлю- оресценции подтвердило специфичность свечения всех исследуемых штаммов (см. таблицу).

Полученные результаты в реакции иммунофлуоресценции сви- детельствуют об общности видовой принадлежности всех исследуе- мых штаммов.

Выявленные морфологические различия плазмидосодержащих и бесплазмидных клеток *S. derby* указывают на то, что, вероятно, син- тез компонентов клеточной стенки, определяющих морфологию клет- ки, ассоциирован с R-плазмидой *S. derby*. В настоящее время накоп- лены данные о связи R-плазмид с синтезом компонентов клеточной стенки (6,7). Исследование того, синтез каких компонентов клеточной стенки опосредует R-плазида *S. derby*, каков путь ассоциации мор- фологических признаков клеток *S. derby* с настоящей плазмидой, является предметом дальнейших исследований.

Авторы выражают глубокую благодарность С. Т. Мнацаканову и П. П. Голубовичу за методическую помощь и обсуждение результа- тов.

Институт экспериментальной биологии
Академии наук Армянской ССР

S. derby-ի բջիջների մորֆոլոգիական հետերոգենությունը

Ներկա աշխատանքում բացահայտված է S. derby-ի բջիջների մորֆոլոգիական փոփոխունությունը ըստ ձևի և չափի, որը պայմանավորված է այդ բջիջների S. derby-ի R-պլազմիդային առկայության և բացակայության հետ: Սալմանելոզային իմունոգլոբուլինների հետ իմունոֆլուորեսցենցիայի ունակացում որոշվել է S. derby-ի մորֆոլոգիապես հետերոգեն (պլազմիդա պարունակող և չպարունակող) բոլոր բջիջների տեսակային ուրույնությունը:

S. derby-ի պլազմիդ պարունակող և չպարունակող բջիջների մորֆոլոգիական տարբերությունները, հավանորեն ցույց են տալիս, որ բջջաթաղանթի կոմպոնենտների սինթեզը, որոնք պայմանավորում են թաղանթի ձևը, մորֆոլոգիական առանձնահատկությունները, միջնորդավորված են S. derby-ի R-պլազմիդի հետ:

ЛИТЕРАТУРА—ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

- * Ю. О. Сазыкин, Итоги науки и техники. Сер. биол. химия, 20 Антибиотики как биохимические реагенты, М., 1984. ² F. Ishino, S. Tamak, B. J. Spratt e. a., Biochem. Biophys. Res. Commun., v. 109, p. 689—696 (1982). ³ Н. Н. Саркисян и др. Биохимия, т. 50, с. 673—679 (1985). ⁴ К. Д. Падкин, И. С. Маркова, И. Д. Трофимева, Руководство к практическим занятиям по медицинской микробиологии, Медицина, М., 1969. ⁵ Г. Фрамель, в кн.: Иммунологические методы, Медицина, М., с. 130—137, 1987. ⁶ M. Zaleska, K. Lounatma, M. Nurminen e. a., Natl. Public Affh. Inst. Maner helminite, v. 166, SF-00260, 1983. ⁷ В. Ф. Конюхов, М. Э. Лайман, Тез. докл. конф. Мемброидические плазмиды бактерий, Таллин, с. 62, 1982.