
ВЛИЯНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКИХ ПОВЕРХНОСТНЫХ СТРУКТУР КЛЕТОК *ESCHERICHIA COLI* НА ПРОЦЕСС ОБРАЗОВАНИЯ ПОЛИЦЕЛЛЮЛЯРНЫХ ФОРМ В ЖИДКОЙ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ

А.В. Сыроешкин, Н.И. Буянова,
С.Л. Соколова, В.П. Щипков

Кафедра биологии и общей генетики
Медицинский факультет
Российский университет дружбы народов
ул. Миклухо-Маклая, 8, Москва, Россия, 117198
тел. +79114636467, эл. почта: somvoz@live.ru

Изучена способность бактерий штамма *Escherichia coli*, содержащих F-подобные плазмиды, образовывать полицеллюлярные формы. Показано влияние конъюгативных пилей, синтезируемых под генетическим контролем таких плазмид, на эффективность и характер образующихся клеточных ассоциатов.

Ключевые слова: *Escherichia coli*, полицеллюлярные формы, плазмиды, конъюгативные пили.

Способность образовывать полицеллюлярные (надклеточные) формы обнаружена у бактерий различных видов, включая представителей, имеющих патогенное значение для человека и животных [1, 3, 5, 6, 8, 9]. В жидкой среде такие бактерии образуют биопленки, которые обеспечивают им ряд адаптивных свойств (повышенная устойчивость к антибактериальным препаратам и факторам иммунной защиты макроорганизма, более эффективное использование питательных компонентов среды и др.) [8, 9, 10]. В ряде работ показано участие специфических поверхностных образований бактериальных клеток (жгутики, адгезивные фимбрии, конъюгативные пили и др.) в формировании полицеллюлярных ассоциатов [2, 4, 10]. Вместе с тем, остается неясной конкретная роль таких структурных образований на различных этапах этого процесса.

Задачей нашего исследования явилось изучение влияния «половых» пилей, синтезируемых на поверхности бактериальных клеток под генетическим контролем F-подобных плазмид, на ранние этапы формирования полицеллюлярных форм.

Материалы и методы исследования. Работа выполнена с использованием клеток штамма AP132 (nal), являющегося производным штамма *Escherichia coli* K12. Изучались как бесплазмидные бактерии этого штамма, так и варианты, содержащие F-подобные плазмиды pAP22-2 и pAP42. Эти плазмиды были идентифицированы ранее на нашей кафедре и маркированы путем включения в их структуру транспозонов Tn1 и Tn9, содержащих гены устойчивости бактерий к ампициллину и хлорамфениколу, соответственно [7]. Для обнаружения полицеллюлярных форм исследуемых бактерий, выращиваемых в мясопептонном бульоне, использовали лазерный дифракционный определитель размеров частиц «Malvern 3600 Ec» [5].

Результаты исследования и их обсуждение. Результаты численного и объемного распределения бактериальных клеток штаммов AP132F⁻, AP132pAP22-2::Tn1 и AP132pAP42::Tn9 приведены на рис. 1, 2, 3.

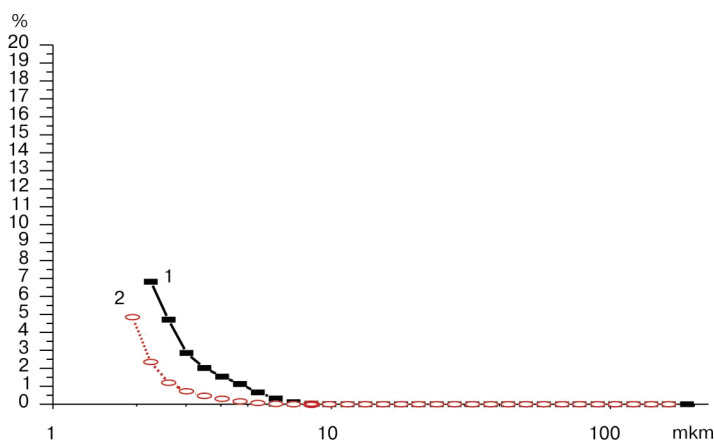


Рис. 1. Численное и объемное распределение клеток в культуре *E. coli* AP132:
1 — объемное распределение клеток, 2 — численное распределение (концентрация суспензий 10^8 клеток/мл)

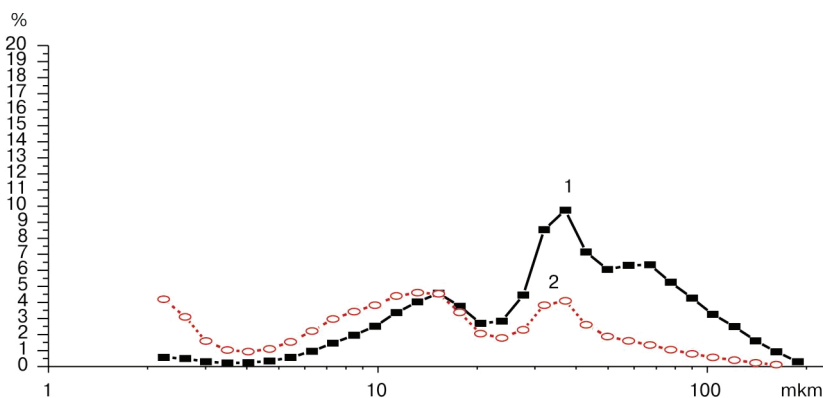


Рис. 2. Численное и объемное распределение клеток в культуре *E. coli* AP132pAP22-2::Tn1:
1 — объемное распределение клеток, 2 — численное распределение (концентрация суспензий 10^8 клеток/мл)

Графические данные для бесплазмидного штамма AP132 (рис. 1) представляют размерные группы от 1 до 100 мкм. При максимуме численного распределения клеток порядка 2 мкм объемное распределение имеет размеры менее 1 мкм, что соответствует наличию только единичных клеток. Объемная доля их мала (около 12%). Следовательно, в этом случае не наблюдается наличия клеточных ассоциатов.

Что касается изогенных вариантов штамма AP132, содержащих F-подобные плазмиды, то соответствующие графические данные (рис. 2 и 3) свидетельствуют о формировании в этих случаях полицеллюлярных форм различных размеров. На рис. 2 представлены численные и объемные доли клеток штамма AP132pAP22-2::Tn1.

При объемном распределении клеточных форм в интервале от 1 до 100 мкм выявлены три размерные группы с максимумом 15 мкм, 45 мкм и 60 мкм. При пике объемного распределения 15 мкм число клеток является значительным, тогда как их объем — маленький. Однако при пике 45 мкм и 60 мкм обнаруживаются очень крупные частицы в небольшом количестве.

На рис. 3 приведены данные о распределении численных и объемных соотношений клеток штамма AP132pAP42::Tn9.

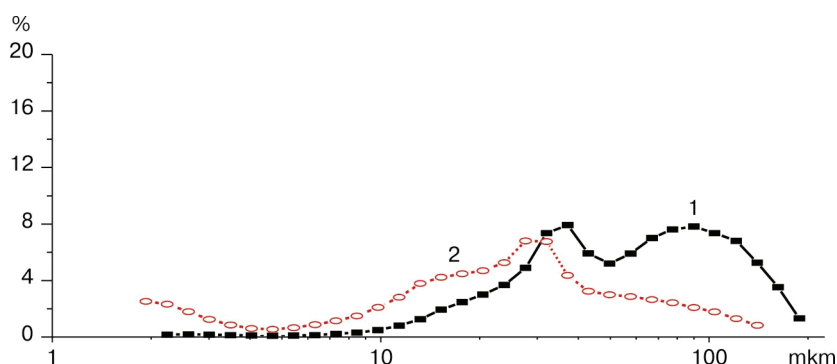


Рис. 3. Численное и объемное распределение клеток в культуре *E. coli* AP132pAP42::Tn9
1 — объемное распределение клеток, 2 — численное распределение (концентрация суспензий 10^8 клеток/мл)

При анализе численного и объемного распределения клеток штамма AP132pAP42::Tn9 в диапазоне от 3 до 100 мкм обнаружены две размерные группы с максимальными пиками 55 мкм и 85 мкм. При этом, с ростом объемной доли их численная доля уменьшается.

Таким образом, на основании характера распределения частиц клеточных популяций плазмидосодержащих бактерий по объемной доле можно сделать заключение о наличии клеточных ассоциатов различных размеров. Это заключение получило дополнительное подтверждение при микроскопическом исследовании мазков указанных бактерий, окрашенных по Граму.

Полученные нами данные свидетельствуют о значительном влиянии исследованных F-подобных плазмид на ранние этапы формирования бактериальных биопленок. Можно полагать, что выявленный эффект связан с генетическими особенностями этих плазмид и свойствами конъюгативных пилей, синтезируемых под их контролем на поверхности соответствующих клеток.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Березинская Т.Л., Шлеева М.О., Капрельяниц А.С. и др. Явление обратимости межпопуляционных клеточных переходов *Mycobacterium tuberculosis* как основа создания новых противотуберкулезных лекарственных препаратов // Вестник РУДН. — 2004. — № 4. — С. 262—267.
- [2] Буянова Н.И., Соколова С.Л., Успенская Е.В. и др. Полицеллюлярные формы *Escherichia coli* // IX Международный конгресс «Здоровье и образование в XXI веке»,

- «Влияние космической погоды на биологические системы в свете учения А.Л. Чижевского». — 2008. — М. — С. 617.
- [3] Волошин С.А., Шлеева М.О., Сыроешкин А.В. и др. Роль межклеточных контактов для инициации роста и образование «некультивируемого» состояния культуры *Rhodococcus rhodochrous* при развитии на бедных средах // Микробиология. — 2005. — Т. 74. — № 4. — С. 420—427.
- [4] Соколова С.Л., Буянова Н.И., Щипков В.П. и др. Роль бактериальных клеток в формировании адаптивных надклеточных ассоциатов специфических поверхностных структур // XIV Международный симпозиум «Эколого-физиологические проблемы адаптации». — М., 2009. — С. 380.
- [5] Сыроешкин А.В., Гребенникова Т.В., Березинская Т.Л. и др. Колониеобразование у прокариот как проблема инфекционной патологии // Вестник РУДН. — 2001. — № 3. — С. 17—24.
- [6] Шлеева М.О., Мукомолова Г.В., Телков М.В. и др. Образование «некультивируемых» клеток *Mycobacterium tuberculosis* и их оживление // Микробиология. — 2003. — 72. — № 1. — С. 1—8.
- [7] Щипков В.П., Пехов А.П. Плазмиды и патогенность бактерий // Аграрная Россия. — 2002. — № 2. — С. 36—42.
- [8] Burton E., Gawande P.V., Yakandawala N. et al. Antibiofilm activity of GlmU enzyme inhibitors against catheter-associated uropathogens // Antimicrob. Agents Chemother. — 2006. — V. 50. — P. 1835—1840.
- [9] Kapler J.B., Nataro J.P., Mobley H.L.T. Pathogenic *Escherichia coli* // Nat. Rev. Microbiol. — 2004. — V. 2. — P. 123—140.
- [10] Van Houdt R. Michiels Ch.W. Role of bacterial cell surface structures in *Escherichia coli* biofilm formation // Res. Microbiol. — 2005. — V. 156. — P. 626—633.

THE INFLUENCE OF ESCHERICHIA COLI SPECIFIC SURFACE CELL STRUCTURES ON THE PROCESS OF POLYCELLULAR FORMS CREATION IN LIQUID MEDIUM

A.V. Syroeshkin, N.I. Buyanova,
S.L. Sokolova, V.P. Shchipkov

Department of Biology and General Genetics
Medical faculty
Peoples' Friendship University of Russia
M-Maklaya str., 8, Moscow, Russia, 117198
tel. +79114636467, email: somvoz@live.ru

Capacity of *Escherichia coli* strain bacteria containing F-like plasmids to create polycellular forms was studied. The influence of conjugative pili produced under genetic control of such plasmids on the efficiency and character of creating cell associates was shown.

Key words: *Escherichia coli*, polycellular forms, plasmids, conjugative pili.