

Фуртат І. М., Михальський Л. О.

ЗМІНИ СКЛАДУ КЛІТИННОЇ СТІНКИ ТА БІОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ КОРИНЕБАКТЕРІЙ ПРИ ПЕРІОДИЧНОМУ КУЛЬТИВУВАННІ

*На прикладі 3 лізинсинтезуючих штамів роду Corynebacterium показано відмінні в якісному та кількісному складі поверхневих біополімерів, а також електрофоретичних спектрів білків клітинної стінки при переході культури від однієї фази до іншої. Розвиток культури *C. glutamicum* супроводжується зміною морфології клітин. Зміна морфології, метаболічного стану та експресії окремих біополімерів бактерій впливає на антигенні властивості їхніх клітин.*

У літературі зустрічаються розрізнені відомості про залежність синтезу окремих структурних компонентів бактеріальної клітини від фази розвитку культури. Це характерно для бактерій, віднесених до актиноміцетної лінії прокариот, життєвий цикл розвитку яких супроводжується складними процесами морфофізіологічних перебудов. Деяким представникам цієї групи на певній фазі росту властивий стан культури, який характеризується різною швидкістю росту, морфологією, метаболічним і економічним коефіцієнтом [1]. Відомо також, що антигенна структура бактерій обумовлюється хімічним складом біополімерів і є відносно стабільною ознакою. В той же час показано, що препарати клітинних стінок (КС) паличковидних форм *Arthrobacter globiformis* мали складнішу антигенну будову, ніж коковидні форми [2], а антигенна структура нитчатих, паличковидних та сферичних форм *Nocardia asteroides*, навпаки, залишалась незмінною [3].

Досліджувані лізинсинтезуючі штами *C. glutamicum* (22Л, E531 і ВНИИгенетика 90) є близькими до актиноміцетів і характеризуються певним циклом розвитку: кок—паличка—кок. Нами було вивчено склад структурних біополімерів КС цих бактерій та їхні серологічні властивості на різних етапах періодичної культури [4]. В одержаних препаратах КС визначали вміст білок- та вуглеводвмісних сполук, амінокислотний склад, електрофоретичний спектр біополімерів. Розрахунок молекулярних мас та визначення коефіцієнта подібності (КП) препаратів проводили за спеціально створеною програмою. Антигенні властивості вивчали, використовуючи одержані імунні сироватки, методами преци-

птації, імуноферментного аналізу та імуноелектроблотингу.

Показано, що досліджувані зразки містили білки та вуглеводвмісні сполуки. У препаратах КС штамів 22Л і ВНИИгенетика 90 на різних стадіях розвитку не було зафіксовано суттєвої різниці у вмісті білків, а у штаму E531 реєстрували їх поступове збільшення при старінні культури. Кількість вуглеводвмісних сполук залежала від віку культури. У всіх трьох штамів максимальну їх кількість реєстрували наприкінці логарифмічної фази, відзначали зменшення у фазі сповільненого розвитку та стаціонарній, а мінімальною вона була у лаг- та фазі відмирання. Від стадії розвитку культури залежало також співвідношення білки/вуглеводвмісні сполуки.

У досліджуваних препаратах КС бактерій переважали кислі амінокислоти: глютамін, аланін, аспарагін, треонін, серин, гліцин і пролін, їх вміст у середньому становив 68 %. Доля п'яти із цих амінокислот (аспарагін, треонін, серин, гліцин і пролін) складала 23—27 %. Досліджувані зразки містили нейтральні амінокислоти (валін, лейцин, ізoleyцин, тирозин) — 17—19 % та практично однакову кількість (7 %) основних амінокислот — лізину, гістидину та аргініну. Ароматичні амінокислоти (фенілаланін і тирозин) та сірковмісні амінокислоти (цистеїн і метіонін) містились у препаратах у мінімальній кількості (особливо метіонін), що є характерною ознакою практично всіх поверхневих білків як у архе-, так і еубактерій [5]. Вміст більшості амінокислот практично не залежав від стадії розвитку бактерій, а їхнє співвідношення у препаратах КС змінювалось. Кількість глютаміну та аспарагіну по відношенню до аланіну поступо-

во зменшувалась у всіх штамів. Співвідношення лізину, гліцину, треоніну, валіну та лейцину було приблизно однаковим у досліджуваних штамів і залишалось практично незмінним протягом всього життєвого циклу бактерій.

В результаті електрофоретичного дослідження було встановлено наявність фазо- та штамоспецифічних біополімерів. Препарати КС штамів 22J1 у лаг-фазі та E531 в логарифмічній фазі були практично ідентичними за своїми білковими профілями. КП препаратів за основними поліпептидами становив 82,8 %. Штам ВНИИгенетика 90 у логарифмічній фазі відрізнявся від попередніх двох за спектром основних білків. КП препаратів КС ВНИИгенетика 90 і 22J1 становив 68,2 %, а із E531 — 67,4 %. Таку саму тенденцію було зафіксовано для препаратів КС стаціонарної фази — за набором основних біополімерів більш спорідненими між собою виявились штами 22J1 і E531 (КП 80,0%) на відміну від ВНИИгенетика 90 (КП 66,0 %).

При порівнянні складу основних білків встановлено, що КП був найвищий для препаратів фази сповільненого росту: 84,8 % (для 22J1 і E531); 81,6% (для 22J1 і ВНИИгенетика 90) та 78,9 % (для E531 і ВНИИгенетика 90). Найсуттєвіші відміни у складі основних білків зафіксовано у препаратах фази відмирання та логарифмічній, тоді як у лаг-фазі вони були незначними. Можливо, що суттєва різниця у складі основних білків у препаратах КС бактерій логарифмічної фази пов'язана з активними біосинтетичними процесами: синтез L-лізину найінтенсивніше відбувається у цій фазі, завершується у фазі сповільненого росту, а у фазі відмирання відбувається лізис деякої частини клітин. Відміни у складі основних білків у цій фазі (середнє значення КП ~

~45,9 %) ймовірно пов'язані із автолізом бактерій. При порівнянні препаратів КС за сумарним спектром білків не було зафіксовано таких різних відмін, як при їх аналізі за основними білками. Це є своєрідним доказом того, що в процесі росту *S. glutamicum* відбуваються зміни не всіх без винятку поверхневих біополімерів, а лише окремих із них. Саме вони, очевидно, пов'язані із метаболічними процесами та морфологічними змінами, які відбуваються в клітині на тій чи іншій стадії розвитку. Про це свідчить залежність КП за основними білками КС від віку культури: він поступово зменшується залежно від старіння, починаючи з фази сповільненого росту, є найвищим між препаратами у тих фазах, які безпосередньо змінюють одна одну, а найбільше відрізняється у віддалених за часом фаз.

Антигенність клітин досліджуваних штамів була досить неоднорідною. Найменш імуногенною культура виявилась у лаг-фазі, тоді як у фазі сповільненого росту — найактивнішою. Для термолабільних антигенів усіх трьох досліджуваних штамів помічено високий ступінь серологічної спорідненості, тоді як за термостабільними антигенами вони відрізняються. Переважання окремих біополімерів тієї чи іншої природи у препаратах певних фаз періодичної культури відображається на антигенних властивостях бактерій.

Таким чином, аналіз вмісту біополімерів у препаратах КС досліджуваних штамів корінебактерій, їх амінокислотний склад, спектри поліпептидів та серологічні властивості свідчать про залежність цих ознак та властивостей від морфологічного, фізіологічного та метаболічного стану клітин.

1. Ландау Н. С., Егоров Н. С. Особенности накопления в среде и некоторые свойства протеолитических ферментов, образуемых *Nocardia minima* // Микробиология. — 1996. — 65, № 1. — С. 42—47.

2. Holland A. A., Gray T. R., Lascoumbe B. M. Immunodiffusion and fluorescent antibody methods to distinguish rod from coccoid forms of a species of *Arthrobacter* // *Antonie van Leeuwenhoek. I. Microbiol. and Serol.*, — 1972. — 32, N 2. — P. 169—176.

3. Emeruwa A. C. Immunological analysis of cells of *Nocardia atvarians* developmental stages during morphogenesis // *Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur)*, — 1980, — 131. — N 3. — P. 249—254.

4. Анците А. Ф., Межия Г. Р., Осе В. П. Продукенты L-лизина из рода *Brevibacterium*. — Рига: Зинатне, 1978. — 170 с.

5. Северина Л. О. Бактериальные S-слои // Микробиология. — 1995, — 64, № 6, — С. 725—733.

Furtat I. M., Myhal's'kyi L. O.

**ALTERATION IN STRUCTURE OF THE CELL
WALL AND BIOLOGICAL PROPERTY OF ROOT
BACTERIA UNDER PERIDICAL CULTIVATION**

The quantitative and quality differences of biopolymers of a cell wall and difference in electrophoresis spectrums of protein were shown for three strains *Corynebacterium*. It was strains, which synthesized a lysine and developed in periodic (batch) culture. The change of morphology of cells accompanies with development of periodic (batch) culture. By change of morphology, metabolism and composition of protein of a cell wall influences antigenic properties of cells.