

## БИОНАНОСКОПИЯ:

## БАКТЕРИАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ

**Б**актериальная клетка – практически минимальная форма живого организма. Ее размер не превышает нескольких микронов. Такая клетка во много раз меньше любого созданного человеком искусственного устройства, способного к перемещению в пространстве или организации химических реакций.

Бактерии можно считать практически идеальным объектом для зондовой микроскопии. Их микронные размеры позволяют легко наблюдать как бактериальные клетки и сформированные ими колонии целиком, так и детально изучать отдельные фрагменты клеток [1]. Бактериальные клетки имеют жесткий полимерный каркас, поэтому не претерпевают деформаций при сканировании их поверхности зондом микроскопа. Для наблюдения бактерий на воздухе процедура приготовления три-видально проста – выращенные на питательной среде клетки переносят в дистиллированную воду до достижения концентрации около  $10^9$ /мл. Каплю объемом в несколько микролитров помещают на поверхность свежесколотой слюды. Вода смачивает этот материал, образуя на нем тонкую пленку. После испарения воды или ее удаления с помощью промокательной бумаги на подложке осаждаются одиночные клетки или форми-

руются монослойные покрытия. (Экспериментально показано, что краткосрочное помещение бактерий в дистиллированную воду не приводит к их разрушению – лизису.)

Атомно-силовая микроскопия (ACM) позволяет получать трехмерные изображения бактериальных клеток (рис.1, 2), и ее данные могут служить дополнительным информативным критерием при составлении определителей бактерий.

При наблюдении в жидкости контраст получаемых изображений падает, что естественно и объясняется наличием подвижных полимерных цепей наружной мембранны. Изображение бактериальных клеток *E.coli* в буферном растворе приведено на рис.3 [1].

ACM позволяет надежно зарегистрировать структурные изменения, происходящие на поверхности наружной мембранны клеточной стенки. На рис.4а представлены изображения ро-

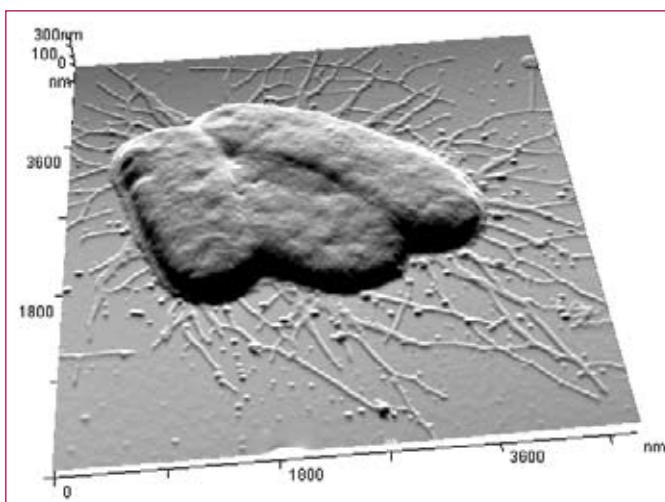


Рис.1 Трехмерное изображение бактерий *Escherichia coli* на поверхности слюды. Наблюдения проводились на воздухе

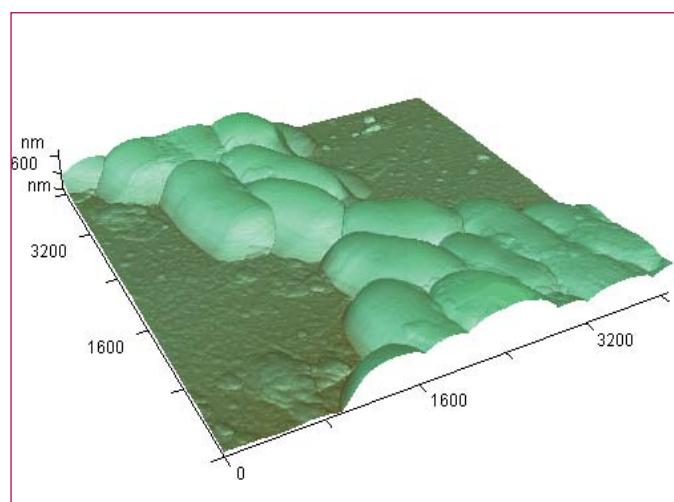


Рис.2 Изображение бактерий *Helicobacter pilory*



Рис.3 Изображения бактериальных клеток *Escherichia coli* JM109 в буферном растворе (клетки иммобилизованы на поверхности слюды с помощью полилизина)

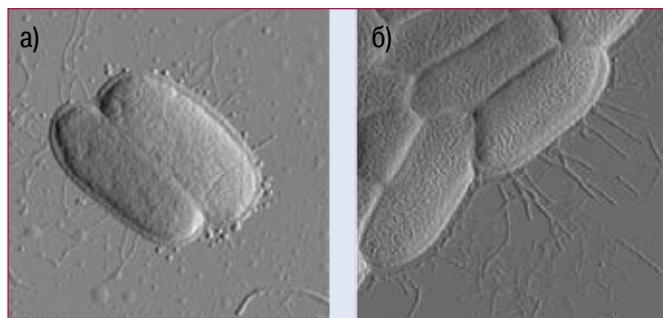


Рис.4 Структурные различия морфологии поверхности родительской и трансдуктантной бактерии, наследующей ген возбудителя дизентерии – бактерии *Shigella flexerery*, отвечающий за синтез боковых цепей липополисахаридов

дительской бактерии *Escherichia coli*, изображение (рис.4б) соответствует генно-модифицированной бактерии: в ДНК исходной бактерии был вставлен ген *rfb-a3,4*, отвечающий за синтез О-специфических боковых цепей липополисахаридов, которые на поверхности клетки создают ламеллярную структуру, по общей морфологии существенно отличную от структуры поверхности исходной родительской клетки [2].

Автор выражает благодарность за поддержку Рособразованию (П255) и Программе НАТО "Наука для мира" (CBN.NR.NRSFP 983204) и РФФИ (10-04-01574-а и 10-02-06030-г).

## ЛИТЕРАТУРА

1. Bolshakova A.V., Kiselyova O.I., Filonov A.S., Frolova O.Yu., Lyubchenko Yu.L. and Yaminsky I.V. Comparative studies of bacteria with atomic force microscopy operating in different modes – Ultramicroscopy, 2001, 68 (1-2), 121–128.
2. Yaminsky I.V., Demin V.V., Bondarenko V.V., The differences in cellular surface of hybrid bacteria *Escherichia coli* K12, inheriting *rfb-a3,4* gene of *Shigella flexerery* as revealed by atomic force microscopy. – J. microbiology, epidemiology, and immunology, 1997, № 6, 15–18.