



ИЗУЧЕНИЕ БАКТЕРИЙ С ПОМОЩЬЮ СКАНИРУЮЩЕГО ЗОНДОВОГО МИКРОСКОПА

А.Большакова* / bolshakova@nanoscopy.ru

Одним из первых объектов, который автор статьи начал изучать с помощью СЗМ, были бактерии. Они имеют весьма "подходящий" размер для этого метода – около 1 мкм в диаметре и длину от одного до нескольких микрометров. Сканеры с большим полем до 100 мкм были дороги, а потому редки, и бактериальные клетки лучше других подходили для изучения на 14-мкм сканере, которым в МГУ был оборудован СЗМ.

Методика приготовления образца с бактериями для изучения методом СЗМ на воздухе совсем несложная и не требует специальной подготовки. Петля из металлической проволоки прокаливается на огне, остужается и аккуратно подцепляет колонию бактерий, предварительно выращенных микробиологами на твердой питательной среде. Часть колонии бактерий помещается в стерильную пробирку с дистиллированной или остывшей кипяченой водой. Концентрация микроорганизмов определялась "на глаз" по мутности полученной суспензии – примерно 10^9 клеток в миллилитре. Затем несколько микролитров препарата

наносилось на чистую подложку, как правило, на свежий скол слюды. При применении дистиллированной воды, чтобы клетки не успели разрушиться, важно быстро нанести суспензию на подложку. После высыхания образец готов к просмотру.

Изучение бактерий на воздухе – занятие весьма увлекательное. На микроскопе NanoscopeIIIa было просмотрено огромное количество различных бактерий [1-5], и даже составлен мини-атлас СЗМ-изображений. Однако наблюдения на воздухе были мало информативны, и автору хотелось выйти на следующий уровень, получить изображения бактерий в жидкости.

В этом случае появляется проблема закрепления клеток на подложке, поскольку уже через

* Химический факультет МГУ имени М.В.Ломоносова, ЗАО "Центр перспективных технологий".

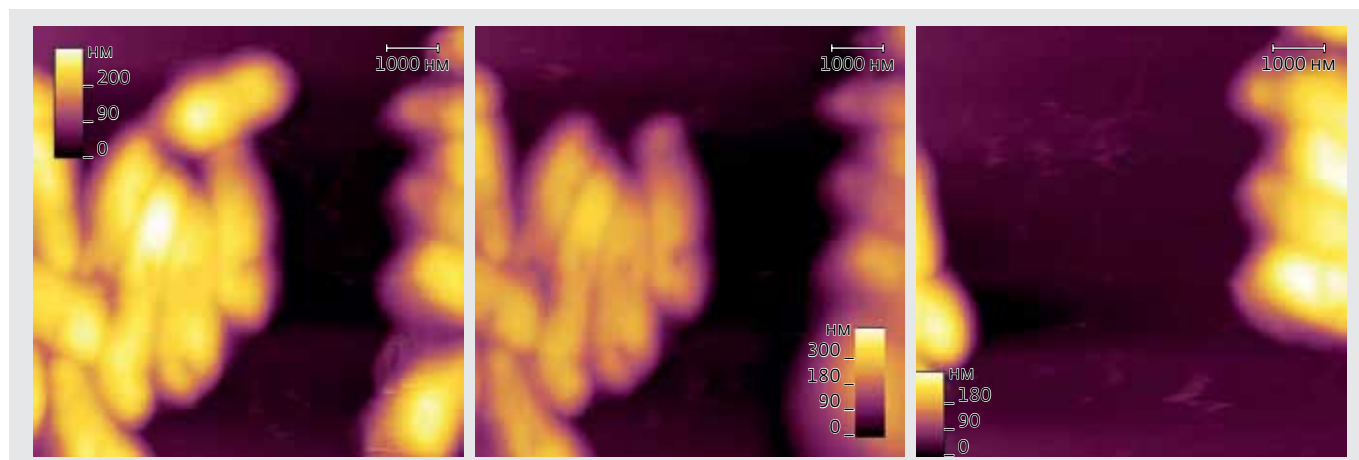


Рис.1. Изображение бактерий, полученное в жидкой среде на СЗМ NanoscopeIIIa

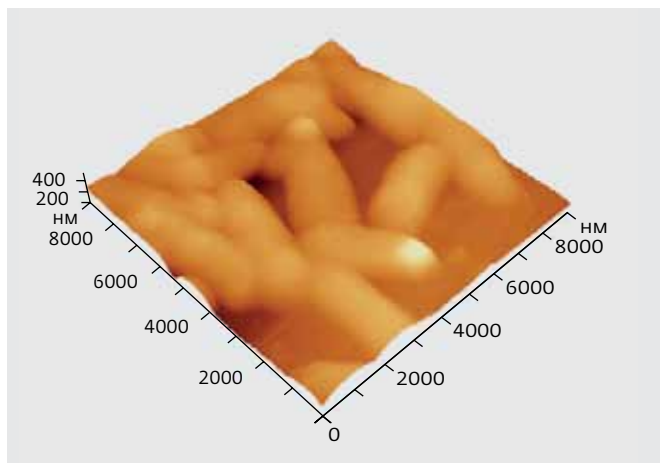


Рис.2. Бактерии E.coli в жидкости. Слюда модифицирована полилизинном. Изображение получено в контактном режиме на СЗМ NanoscopeIIIa

некоторое, весьма непродолжительное, время все клетки исчезают из области просмотра (сметаются сканирующей иглой) (рис.1).

Важно отметить, что новая палитра программы "ФемтоСкан Онлайн" обеспечивает дополнительные возможности по расположению

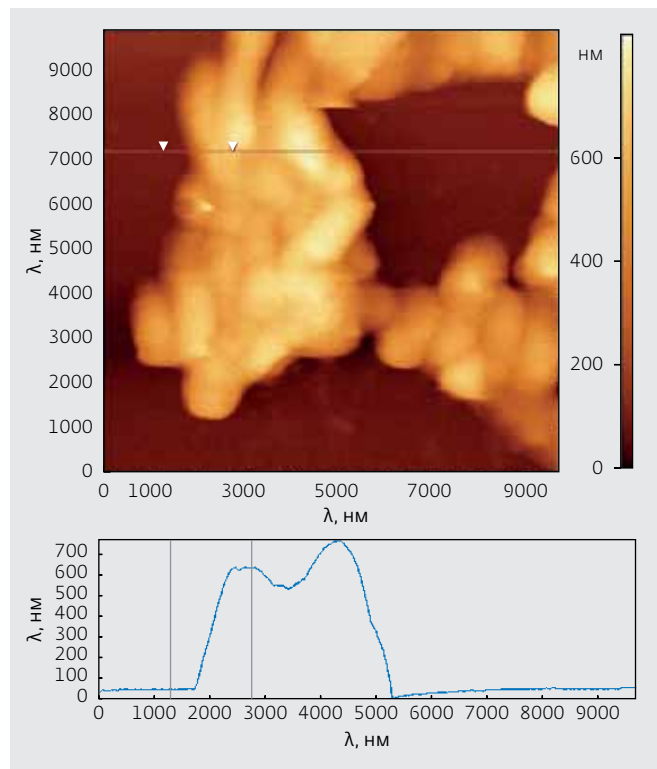


Рис.3. Бактерии E.coli в жидкости. Слюда модифицирована полилизинном

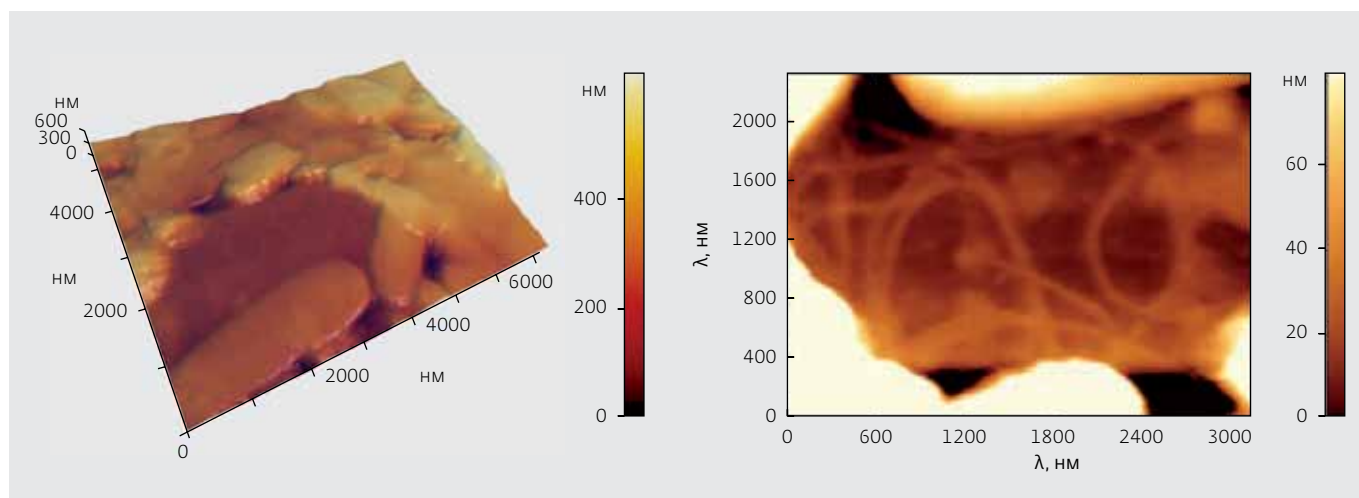


Рис.4 Бактерии E.coli на воздухе

масштабного отрезка в компактном режиме просмотра и выбор всей цветовой гаммы.

Универсальной методики закрепления клеток на поверхности подложки не существует, поэтому использовались различные варианты такого закрепления. После того, как поверхность слюды была модифицирована полилизинном, удалось получить вполне хорошее изображение кишечной палочки (рис.2).

На рис.3 показано изображение бактерии Escherichia coli JM 109, полученное в жидкой питательной среде в режиме МАС (Magnetic Alternative Current Mode) на приборе компании Molecular Imaging. Бактерии адсорбированы на поверхности слюды, модифицированной полилизинном.

На рис.4 представлены те же самые бактерии, но изображение получено на СЗМ Molecular Imaging в резонансном режиме сканирования на воздухе. По сравнению с изображением в жидкости бактериальные жгутики видны более отчетливо.

Итак, рассмотренные подходы имеют и чисто прикладное значение [6]. Для иллюстрации этого

готовились изображения бактерий в синей цветовой палитре (рис.5). Сообщалось об их использовании для окрашивания хлопка.

ЛИТЕРАТУРА

1. Vorobyova E.A., Soina V.S., Mamukelashvili A.G., Bolshakova A., Yaminsky I.V., Mulyukin A.L. Living Cells in Permafrost as Models for Astrobiology Research // Chapter 19 in book "Life in Ancient Ice" (edited by J.D. Castello and S.O. Rogers. Published by Princeton university press, 2005, p277-288.
2. Bolshakova A.V., Kiselyova O.I., Yaminsky I.V. Microbial Surfaces Investigated Using Atomic Force Microscopy. – Biotechnology progress, v.20 (№6) 2004, p.1615-1622.
3. Bolshakova A.V., Vorobyova E.A. and Yaminsky I.V. Indication of living bacterial cells in native soil and permafrost. – Phys. Low-Dim. Struct., 2003, v.3/4, p.105-112.
4. 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, v.86 (1-2), p.121-128.
5. Большакова А.В., Воробьева Е.А., Филонов А.С., Яминский И.В. Зондовая микроскопия почвенных бактерий *Arthro bacter globiformis*. – Поверхность. Рентгеновские, синхротронные и нейтронные исследования, 2000, №11, с.76-78.
6. Садовский А.С. Индиго нестареющий и невыцветающий... – Химия и жизнь. XXI век, 2003, №4, с.16-19.

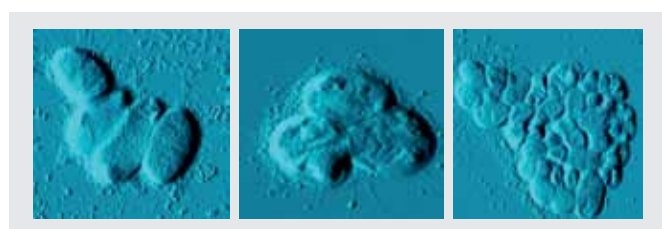


Рис.5. СЗМ-изображения различных штаммов бактерий в синей цветовой палитре