

**Типы нанокристаллической упаковки нуклеоида в покоящихся клетках
*Escherichia coli***

Научный руководитель – Соколова Ольга Сергеевна

Данилова Яна Альбертовна

Аспирант

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биоинженерии, Москва, Россия

E-mail: klein.ya@yandex.ru

В граммотрицательных бактериях при переходе их в стационарную фазу или в ответ на стресс ДНК кристаллизуется в комплексе с белками стационарной фазы, основным из которых является белок Dps (Wolf et al., 1999; Minsky et al., 2002). Это явление, по-видимому, универсально в живой природе. Плотно упакованные нанокристаллы различной морфологии находили на ультратонких срезах покоящихся клеток *E. coli*, архей, эндоспор *B. thuringiensis* и *Br. laterosporus*, экзоспорах стрептомицетов, клеток артробактера и псевдомонад, а также выживающих клеток *in situ* (Loiko et al., 2017).

Цель данной работы – изучение морфологии конденсированного нуклеоида в покоящихся клетках *E. coli*.

Для исследования были использованы покоящиеся клетки *E. coli* штаммов K12; Top10, Top10/pBAD-DPS и BL21-Gold(DE3)/pET-DPS. Два последних штамма позволяют при активации получать в клетках сверхпродукцию белка Dps (Loiko et al., 2017). Покоящиеся формы получали с использованием сред M9 и LB и их модификаций, варьируя условия культивирования и время хранения клеток. Всего для исследований было получено 7 вариантов покоящихся клеток *E. coli*, возрастом от 2 до 15 месяцев, обладающих всеми свойствами анабиотических покоящихся форм граммотрицательных микроорганизмов.

Микрофотографии получали с помощью электронных микроскопов JEOL JEM1011 (рабочее ускоряющее напряжение - 80 кВ, вольфрамовый катод), камера Gatan Orius SC1000D и JEOL JEM 2100 (рабочее ускоряющее напряжение -200 кВ), камера Gatan Ultrascan 1000XP.

В ходе исследований были четко идентифицированы три отличающихся типа упаковки ДНК:

1) Нанокристаллы - тип упаковки ДНК в голодающих и покоящихся клетках прокариот, представляющий собой внутриклеточные участки кристаллизации ДНК при участии гистоновых белков и белка Dps (рис.1) (Loiko et al., 2017, Minsky et al., 2002). Размер таких обнаруженных нанокристаллов, а также их количество в анабиотических клетках зависели от типа исследуемых покоящихся форм *E. coli*. Была отмечена зависимость степени кристаллизации ДНК в покоящихся клетках от степени сверхэкспрессии белка Dps. С помощью аналитической ПЭМ в нанокристаллических областях была обнаружена сера, что предположительно свидетельствует о наличии Dps.

2) Капсулы. Участие в образовании этой формы принимает вся клетка, становясь как бы капсулой для концентрируемого в центральной части нуклеоида (рис. 2). При этом нити ДНК могут образовывать как сетчатые структуры (рис. 2), так и параллельно уложенные ламели, которые, однако не имеют четкую кристаллическую упаковку, как в случае с нанокристаллами.

3) Сферические частицы - структуры, диаметром от 24 до 53 нм (наиболее распространенный размер 34 ± 2 нм) были обнаружены в клетках штамма в клетках штамма Top10/pBAD-DPS с активацией в стационарной фазе роста с активацией в стационарной фазе роста (рис 3).

Источники и литература

- 1) Н.Г. Лойко, Н.Е. Сузина, В.С. Соина, Т.А. Смирнова, М.В. Зубашева, Р.Р. Азибекян, Д.О. Сеницын, К.Б. Терешина, Ю.А. Николаев, Ю.Ф. Крупянский, Г.И. Эль-Регистан Биокристаллические структуры в нуклеоидах стационарных и покоящихся клеток прокариот. //Микробиология. 2017. Том 86. No 6. С. 703-719.
- 2) Wolf S. G., Frenkiel D., Arad T., Finkel S. E., Kolter R., Minsky A. DNA protection by stressinduced biocrystallization //Nature. 1999. V. 400. P. 83–85.
- 3) Minsky A., Shimoni E., Frenkiel-Krispin D. Stress, order an survival // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2002. V. 3. P. 50–60.

Иллюстрации

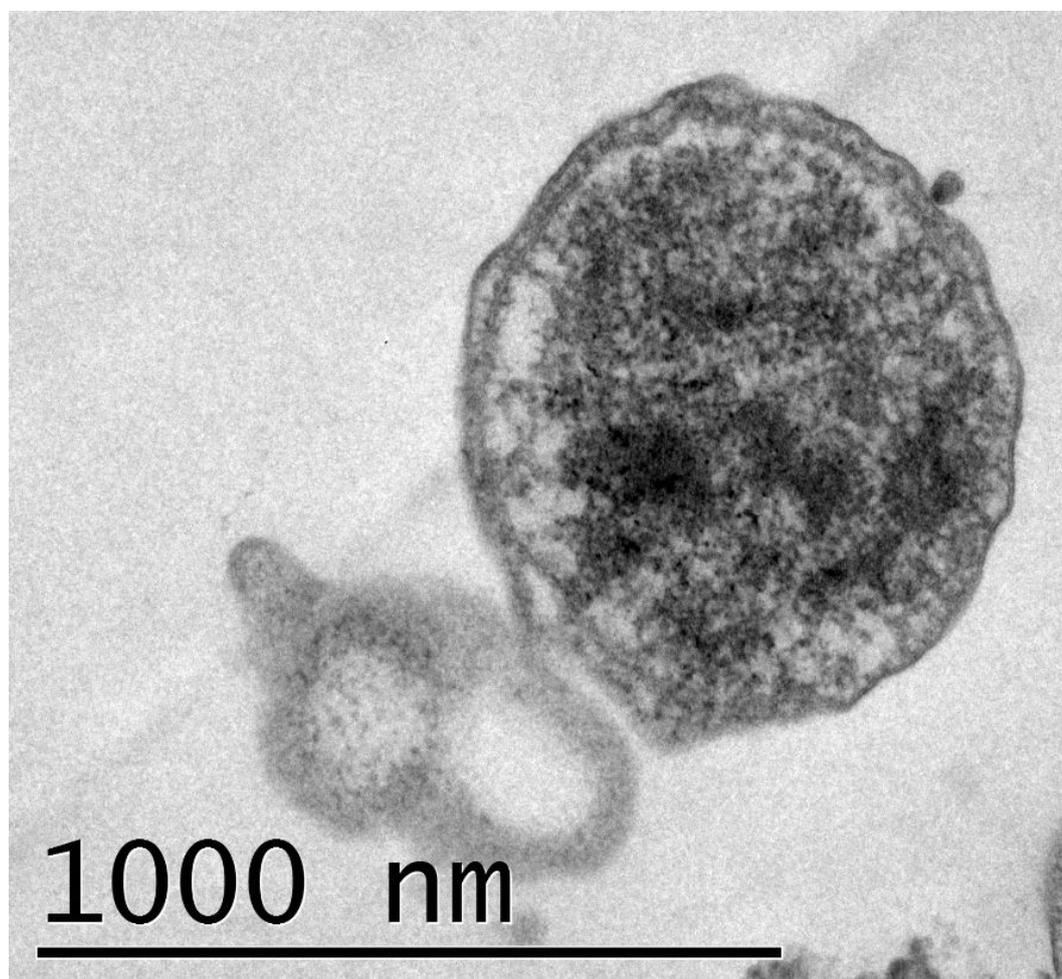


Рис. 1. Электронно-микроскопический снимок тонкого среза покоящихся форм *E. coli* штамм BL21-Gold(DE3)/pET-DPS

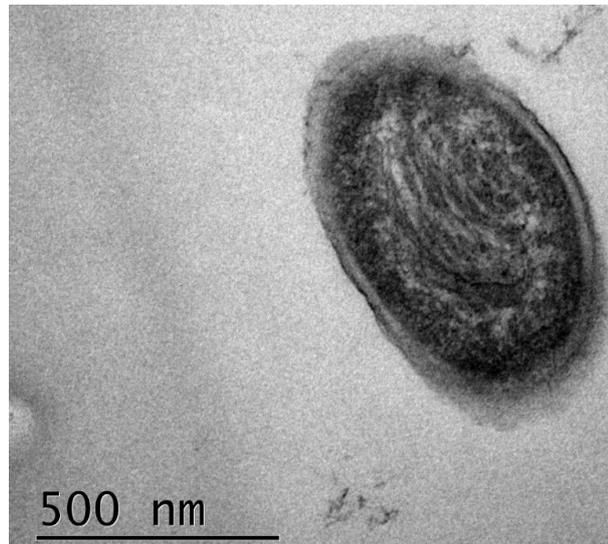


Рис. 2. Электронно-микроскопический снимок тонкого среза покоящихся форм *E. coli*, штамм Top10/pBAD-DPS, выращенных на среде M9. Капсульный тип упаковки ДНК.

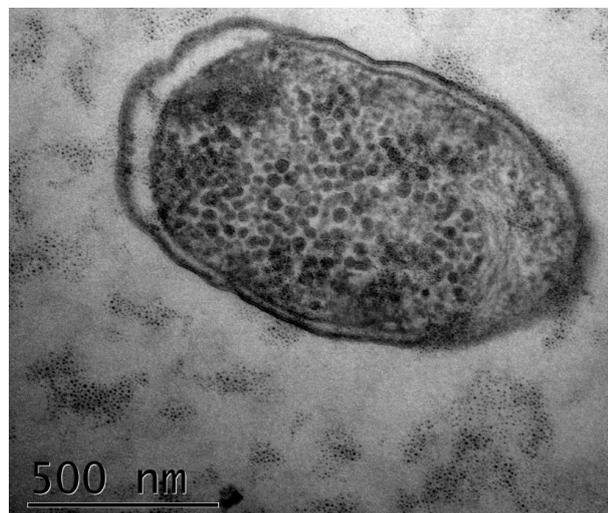


Рис. 3. Электронно-микроскопический снимок тонкого среза покоящихся форм *E. coli*, штамм Top10/pBAD-DPS, выращенных на среде M9. Сферические частицы.