

УДК: 579.842.1.2

КИШЕЧНАЯ ПАЛОЧКА КАК МОДЕЛЬНЫЙ ОБЪЕКТ В БИОЛОГИИ

Вильд О.А¹, Гордин Г.В¹, Антипова Д.В¹

¹ВолгГМУ-Волгоградский государственный медицинский университет, Россия, Волгоград, e-mail:

olesyavild2208@mail.ru

Все объекты генетических исследований, служащие моделями для изучения основных закономерностей наследственности и изменчивости, должны отвечать определённым требованиям: доступность; простота культивирования; высокая интенсивность роста клеточной культуры; короткий репродуктивный период. В настоящее время кишечная палочка является одним из наиболее часто используемых биообъектов научных и клинических исследований, так как именно она среди прокариотов отвечает всем требованиям. Будучи излюбленным объектом молекулярно-генетических и микробиологических исследований, кишечная палочка является полно изученным организмом на молекулярном уровне. Одним из первых применений технологии рекомбинантной ДНК была манипуляция с кишечной палочкой для производства человеческого инсулина. Модифицированные кишечные палочки так же были использованы для получения вакцин и для производства иммобилизованных ферментов. Так же на примере кишечной палочки изучалась эволюция. Учёные доказали, что процесс эволюции не прекращается даже после полной адаптации вида к условиям окружающей среды. С помощью кишечной палочки были выращены бактерии-гиганты, которые по своим размерам во много раз превосходят нормальных микроорганизмов. Кишечные палочки-гиганты облегчают проведение лабораторных исследований. *Escherichia coli* может приносить много пользы человечеству, так как она является очень удобным биологическим объектом для проведения различных исследований.

Ключевые слова: модельный объект, кишечная палочка, биологический эксперимент, бактерии-гиганты, биоинженерия

ESCHERICHIA COLI AS A MODEL OBJECT IN BIOLOGY

Vild O.A¹, Gordin G.V¹, Antipova D.V¹

¹ Volgograd State Medical University, Russia, Volgograd, e-mail: olesyavild2208@mail.ru

All objects of genetic research, serving as models for studying the basic laws of heredity and variability, must meet certain requirements: accessibility; ease of cultivation; high cell culture growth rate; short reproductive period. Currently, *Escherichia coli* is one of the most commonly used biological objects of scientific and clinical research, since it is among prokaryotes that meets all the requirements. Being a favorite subject of molecular genetic and microbiological research, *E. coli* is a fully studied organism at the molecular level. One of the first uses of recombinant DNA technology was the manipulation of *E. coli* for the production of human insulin. Modified *E. coli* were also used to produce vaccines and to produce immobilized enzymes. Evolution was also studied using *Escherichia coli* as an example. Scientists have proved that the process of evolution does not stop even after the species has completely adapted to environmental conditions. Using *Escherichia coli*, giant bacteria were grown that are many times larger than normal microorganisms. *Escherichia coli* giants facilitate laboratory tests. *Escherichia coli* can bring many benefits to humanity, as it is a very convenient biological object for various studies.

Keywords: model object, *escherichia coli*, biological experiment, giant bacteria, bioengineering

Введение

Модельные организмы — организмы, используемые для изучения тех или иных свойств, процессов или явлений живой природы. Модельные организмы изучаются, одна из причин этого — возможность открытия закономерностей свойственных и другим организмам, в том числе и человеку. Модельные организмы используются тогда, когда проведение соответствующих исследований на человеке невозможно по техническим или этическим причинам. Использование модельных организмов основано на общем происхождении, а также механизмах хранения и реализации наследственной информации, метаболизме и других свойствах всех живых организмов.

Большой интерес к *Escherichia coli* как к модельному объекту поддерживается в настоящее время по причине широкого спектра исследования на данном объекте. На сегодняшний день *Escherichia coli* является одним из наиболее часто используемых биологических объектов научных и клинических исследований. Модифицированные штаммы *Escherichia coli* используются при разработке вакцин, синтеза биологически активных веществ, и решения других задач.

Основная часть

Кишечная палочка (*Escherichia coli*) – это бактерия, которая обитает в кишечнике человека и животных. Это палочковидный организм 2 мкм длиной и 0,8-1 мкм толщиной. Снаружи клетка *Escherichia coli* одета жесткой оболочкой, сохраняющей свою форму даже в том случае, если в силу тех или иных причин утрачивается ее содержимое. Под клеточной оболочкой находится эластичная тонкая цитоплазматическая мембрана. Если удалить клеточную оболочку действием на нее фермента, то клетка вместе со своим содержимым принимает форму протопласта. Содержимое клетки представлено протоплазмой, состоящей из цитоплазмы и включенных в нее молекул ДНК. Клетка гаплоидна и содержит одну хромосому, которая представляет собой длинную кольцевую нить ДНК. Ее длина около 1 300 мкм, т. е. она более чем в 600 раз длиннее самой бактериальной клетки. Но в клетке ДНК многократно свернута и плотно «упакована». По меньшей мере в одной точке хромосома фиксирована на образованиях, отходящих от цитоплазматической мембраны в глубь клетки и называемых мезосомами.

Кишечная палочка является факультативным анаэробом. Стандартными условиями роста *E.coli* в суспензии являются следующие параметры: питательная среда LB-broth, температура 37°C, интенсивное перемешивание (не менее 150 об/мин) и аэрация.

E. coli достаточно устойчивы. При 55°C они погибают в течение часа, при 60° С погибают за 15 мин. В почве и воде сохраняются до 2-3 мес, в молоке сохраняются, и даже размножаются. Растворы

дезинфицирующих веществ убивают их за 20-30 мин. Особенно чувствительны *E. coli* к действию бриллиантового зеленого.

Метод обнаружения кишечной палочки основан на ее способности сбраживать углеводы (в том числе глюкозу и лактозу) с образованием кислоты и углекислого газа.

Будучи излюбленным объектом молекулярно-генетических и микробиологических исследований, кишечная палочка является организмом, наиболее полно изученным на молекулярном уровне. Таким образом, составлена генетическая карта хромосомы кишечной палочки, изучены закономерности мутирования и основные пути обмена веществ этого микроорганизма.

Бактерии удобны для исследователей тем, что достаточно быстро размножаются и просты в манипулировании.

Кишечная палочка также важна в современной биологической инженерии и промышленной микробиологии. Работа Стэнли Нормана Коэна и Герберта Бойера в *E. coli*, с использованием плазмид и ферментов рестрикции, чтобы создать рекомбинантную ДНК, стала основой биотехнологии.

Одним из первых применений технологии рекомбинантной ДНК была манипуляция с кишечной палочкой для производства человеческого инсулина. Модифицированные *E. coli*, были использованы в вакцины и производство иммобилизованных ферментов. Модель организма *E. coli*, часто используются в качестве модельного организма в микробиологических исследованиях. Культивируемые штаммы (например, *E. coli* K-12), хорошо адаптированы к лабораторным условиям, в отличие от дикого типа штаммов, которые утратили способность процветать в кишечнике.

В 1946 году Джошуа Ледерберг и Эдвард Татум впервые описали явление, известное как бактериальная конъюгация с использованием *E. coli*, в качестве модельной бактерии, и она остается основной моделью для изучения конъюгации. *E. coli* является неотъемлемой частью первых экспериментов.

Чтобы понять фагов генетики и ранние исследователи, такие как Сеймур Бензери, использовали *E. coli* и фаг T4, чтобы понять топографию генной структуры. До начала исследований Сеймура Бензера это не было известно, был ли ген линейной структуры, или у него были ветвления. *E. coli* был одним из первых организмов, геном которого секвенировали; полный геном кишечной палочки K-12 была опубликована в 1997 году.

Ученые доказали «бесконечность» эволюции на примере кишечной палочки. Международная группа ученых во главе с Ричардом Ленски из Мичиганского университета последние 30 лет изучала эволюцию на примере кишечной палочки. Исследователи доказали, что процесс эволюции не прекращается даже после полного приспособления вида к условиям окружающей среды.

Ричард Ленски начал эксперимент в 1988 году. Он взял 12 колб, добавил в каждую кишечную палочку и раствор на основе глюкозы для питания. Ленски оставил колбы на ночь при температуре 37°C. Бактерии получили столько пищи, сколько нужно для того, чтобы выжить до следующего утра. Температура должна была стимулировать естественный отбор, чтобы выжили не все палочки.

На следующий день Ричард Ленски взял образцы и поместил их в новые колбы с идентичными условиями. Учёный повторял эксперимент следующие 30 лет. За это время исследователь создал собственную бактериальную вселенную, которая насчитывала около 68 тысяч поколений бактерий – эквивалент миллиона лет эволюции для человека.

Каждые 75 дней (500 поколений кишечной палочки) Ричард Ленски перемещал некоторые колбы в морозильник с температурой –80°C. Исследователь делал это для того, чтобы сохранить данные предыдущих поколений для изучения в будущем. После многолетних экспериментов Ричард Ленски и его коллеги решили сравнить генетические мутации. Выяснилось, что бактериальные клетки увеличились в размерах по сравнению с образцами 1988 года. Так же кишечные палочки стали эффективнее усваивать питательные вещества. 12 *E.coli* популяций подвергались мутациям в одних и тех же генах, но сами мутации были различны. Каждая из популяций находила уникальный путь к адаптации к условиям среды.

Данное исследование показало, что эволюция видов может продолжаться бесконечно. Ранее считалось, что процесс может замедлиться или вовсе прекратиться, если вид достигнет максимального уровня приспособленности к окружающей среде. По словам профессора Майка Макдональда из университета Монаша в Мельбурне, исследуемые популяции кишечной палочки специально поместили в очень простую среду на долгое время, чтобы они в кратчайшие сроки смогли адаптироваться к среде. «Однако это не заставило бактерии прекратить эволюцию», – говорит Макдональд.

Микробиологи вырастили бактерий-гигантов

Ученые научились выращивать бактерий-гигантов, которые по своим размерам в сотни раз превосходят нормальных микроорганизмов. Выращенные гигантские кишечные палочки облегчат проведение лабораторных исследований.

Кишечная палочка *E. coli* служит излюбленным модельным объектом для биохимиков, генетиков и других ученых. В норме длина ее клеток составляет всего 1-2 мкм, однако исследователям удалось получить штамм экстремально длинных *E. coli*. По размерам они превосходят нормальных кишечных палочек в 750 раз, достигая в длину трех четвертей миллиметра. Такое увеличение связано с нарушением процессов клеточного деления: мутантные *Escherichia coli* растут, но при этом не разделяются надвое. Ранее исследователи получали аналогичные штаммы, но все бактерии-гиганты погибали через пару часов, так как мутация, нарушающая клеточное деление, влияла на метаболические реакции ее носителей.

У мутации, которую несут гигантские бактерии из нового штамма, нет таких побочных эффектов. Она снижает только концентрацию белка FtsZ, который намечает место будущей перегородки между двумя делящимися клетками. Как отмечают учёные, у полученных бактерий-гигантов нет перетяжек, они лишь образуют многоклеточные петли.

Таковыми кишечными палочками-переростками удобнее манипулировать в лабораторных условиях, заявляют авторы работы. Так, при помощи микроскопической иглы из них можно отсасывать цитоплазму, не примешивая к ней фрагментов клеточной мембраны. В случае обычных *E. coli* этого сделать нельзя.

Заключение

Результат проведения анализа литературных данных показал, что кишечная палочка на сегодняшний день является одним из наиболее часто используемых биообъектов при решении различных задач экспериментальной биологии и медицины. Кишечная палочка может приносить много пользы человечеству, а её вредные влияния можно существенно ограничить надлежащими санитарно-гигиеническими мероприятиями и правильным лечением. Она является очень удобным объектом для приведения генно-инженерных и других исследований, призванных в будущем помочь в лечении пациентов с различными заболеваниями. Модифицированные штаммы *E. coli* используются при разработке вакцин, синтеза биологически активных веществ, и решения других задач.

Список литературы

- 1) Гусев М.В., Минеева Л.А., Микробиология, 4-е изд., стер. - М.: Академия, 2003. — 464 с.
- 2) Кони́чев А.С., Севастьянова Г.А., Молекулярная биология, М.: Издательский центр "Академия", 2-е изд., 2005. - 400 с.
- 3) Тимошенко Л.В., Чубик М.В., Основы микробиологии и биотехнологии: учебное пособие Томск: Изд-во Томского политехнического университета, 2009. – 194 с.
- 4) Бирюков В.В., Основы промышленной биотехнологии, Издательство: «КолосС», 2004.- 296 с.
- 5) Медицинская микробиология, вирусология и иммунология, под ред. Л.Б. Борисова и А.М. Смирновой, с. 269-273, М., Медицина, 1994.
- 6) Поздеев О.К. Медицинская микробиология, с. 351-357, М., Гэотар-мед, 2002.