

А. А. АВАКЯН, И. Х. ТОРДЖЯН, академик А. И. ОПАРИН

### СУБМИКРОСКОПИЧЕСКАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ОБЛИГАТНО АНАЭРОБНЫХ БАКТЕРИЙ В СВЕТЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЙ ОБ ЭВОЛЮЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ

Ультраструктура облигатно анаэробных бактерий (<sup>1-5</sup>), в отличие от факультативно анаэробных и аэробных, изучена недостаточно. Вместе с тем, изучение тонкого строения этой группы микроорганизмов представляет теоретический интерес.

Так, согласно теории происхождения жизни на Земле, первичными организмами нашей планеты были анаэробы (<sup>7-9</sup>). Предполагаемые пути эволюции от аэробных форм жизни к анаэробным указаны в работах ряда авторов (<sup>10-12</sup>).

При изучении ультраструктуры облигатно анаэробных бактерий мы уделили особое внимание системе мембран, так как они непосредственно связаны с дыханием бактериальной клетки. Именно поэтому следовало ожидать недоразвития мембранных структур у анаэробных бактерий или предполагать иную субмикроскопическую организацию их по сравнению с мембранными структурами аэробов.

Таким образом, можно было надеяться, что изучение мембранного аппарата анаэробных бактерий поможет проследить основные пути эволюции от анаэробных к аэробным формам современных бактерий, а в дальнейшем, возможно, и к митохондриальным организмам.

Среди большого количества штаммов *Clostridium sporogenes* и *Cl. oedematiens* были отобраны два облигатно анаэробных штамма — № 324 *Cl. sporogenes* и № 198 *Cl. oedematiens* тип С. Последний быстро погибает на воздухе и, следовательно, отличается резко выраженной чувствительностью к кислороду. Обе культуры выращивали на среде Китт-Тароцци pH 8—8,2 с 0,05% глюкозы при 37° в микроанаэроstate.

Для электронномикроскопического исследования клетки из суточной культуры фиксировали 1% раствором глутарового альдегида на фосфатном буфере pH 6,0, дофиксировали по методу Ритер и Келленбергера (стандартная пропись), заключали в водорастворимый дюркупан (Fluka) или обезвоживали в спиртах и заключали в метакрилат. Ультратонкие срезы получали на ультратоме LKB-Produkter. Микроскопирование проводили на микроскопе JEM-7 при инструментальном увеличении 30 000 X.

На ультратонких срезах клетки из суточной культуры *Cl. sporogenes* имеют гомогенную стенку без уплотненного внутреннего слоя. Цитоплазматическая мембрана, при использованном методе фиксации, почти на всем протяжении, имеет трехслойную структуру (рис. 1А). В цитоплазме, в участках расположенных непосредственно под цитоплазматической мембраной, обнаружены обширные зоны мелкозернистого электроннооптически-плотного материала. Последний не имеет ограничивающей мембраны и не содержит рибосом (рис. 1А).

Внутрицитоплазматические мембранные структуры хорошо развиты и сложно устроены. Так же, как и у аэробных бактерий, они расположены в зоне нуклеоида, в области формирования перегородки и на периферии цитоплазмы. На большинстве микрофотографий четко прослеживается связь между цитоплазматической мембраной и мембранными структурами. Мембранные структуры могут иметь как ламеллярное, так и трубчато-везикулярное строение, независимо от места их локализации в клетке (рис. 1Б).

Трубчато-везикулярные мембранные структуры представляют собой скопление трубочек и везикул, как бы заключенных в карман, образованный цитоплазматической мембраной так, что везикулы располагаются в пространстве между цитоплазматической мембраной и клеточной стенкой. Наряду с типичными ламеллярными и трубчато-везикулярными мембранными структурами у *Cl. sporogenes* встречаются также мембранные структуры комбинированного типа (рис. 1А). В них спирально закрученная мембрана обычно располагается в большой вакуоли. Благодаря этому уда-

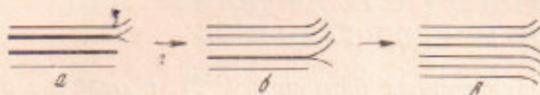


Рис. 2. Схема упаковки элементарной мембраны. Объяснение в тексте

ется проследить как способ укладки мембран в структуре, так и способ образования везикул (рис. 1А). В таких структурах элементарная мембрана может быть упакована следующим образом (см. рис. 2): 1) оба осмиофильных профиля трехслойной мембраны прилегают к осмиофильным профилям смежных мембран, образуя миелиноподобные структуры (рис. 2а); 2) только один из осмиофильных профилей трехслойной мембраны образует со смежным миелиноподобную структуру, — другой профиль свободен (рис. 2б); 3) оба осмиофильных профиля мембраны лежат свободно, не соприкасаясь со смежными профилями (рис. 2в).

Обычно описанные способы укладки можно наблюдать одновременно в одной и той же мембранной структуре. Это обстоятельство позволяет предполагать, что укладка мембран в структуре меняется в процессе жизнедеятельности клетки. Этим, по-видимому, можно объяснить часто наблюдаемое расщепление плотного осмиофильного контура на два тонких, составляющих смежные профили элементарных мембран (рис. 1А). Можно думать, что таким образом происходит раскручивание тугой спирали мембранной структуры, сопровождающееся освобождением поверхностей элементарной мембраны (рис. 2а—в).

Клетки из суточной культуры *Cl. oedematiens*, еще более чувствительного к следам кислорода по сравнению с *Cl. sporogenes*, имеют пятислойную стенку. Последняя состоит из двух наружных электроннооптически плотных слоев толщиной 90—100 Å, расположенных по обе стороны от внутреннего, менее плотного слоя толщиной 100—200 Å (рис. 1В). На большем протяжении клетки выявляется трехслойная цитоплазматическая мембрана (рис. 1В). Непосредственно под ней расположены обширные зоны мелкозернистого осмиофильного материала, аналогичные тем, которые были описаны выше у *Cl. sporogenes*.

В цитоплазме имеется система хорошо развитых и сложно устроенных внутрицитоплазматических мембранных структур. Они расположены в зоне нуклеоида, в области формирования перегородки и на периферии цитоплазмы. В цитоплазме *Cl. oedematiens* мы обнаружили мембранные органоиды, представленные несколькими слоями концентрически расположенных мембран, ограничивающих осмиофобное пространство, в котором сосредоточен гранулярный материал, имеющий такую же электроннооптическую плотность, как и рибосомы. Между гранулярным компонентом располагаются образования округлой или овальной формы средней плотности (рис. 1Г).

Однако помимо морфологически оформленных мембранных органоидов, которые описаны для многих других аэробных и анаэробных бактерий, у *Cl. oedematiens* имеется сложно развитая система мембран, густо пронизывающая цитоплазму и напоминающая сеть каналов или цистерн эндоплазматического ретикулума высших организмов (рис. 1В).

К морфологически не оформленным можно отнести также систему мембран, компактно расположенных в цитоплазме, но не выявляющих определенной упорядоченности в укладке (рис. 1Д).

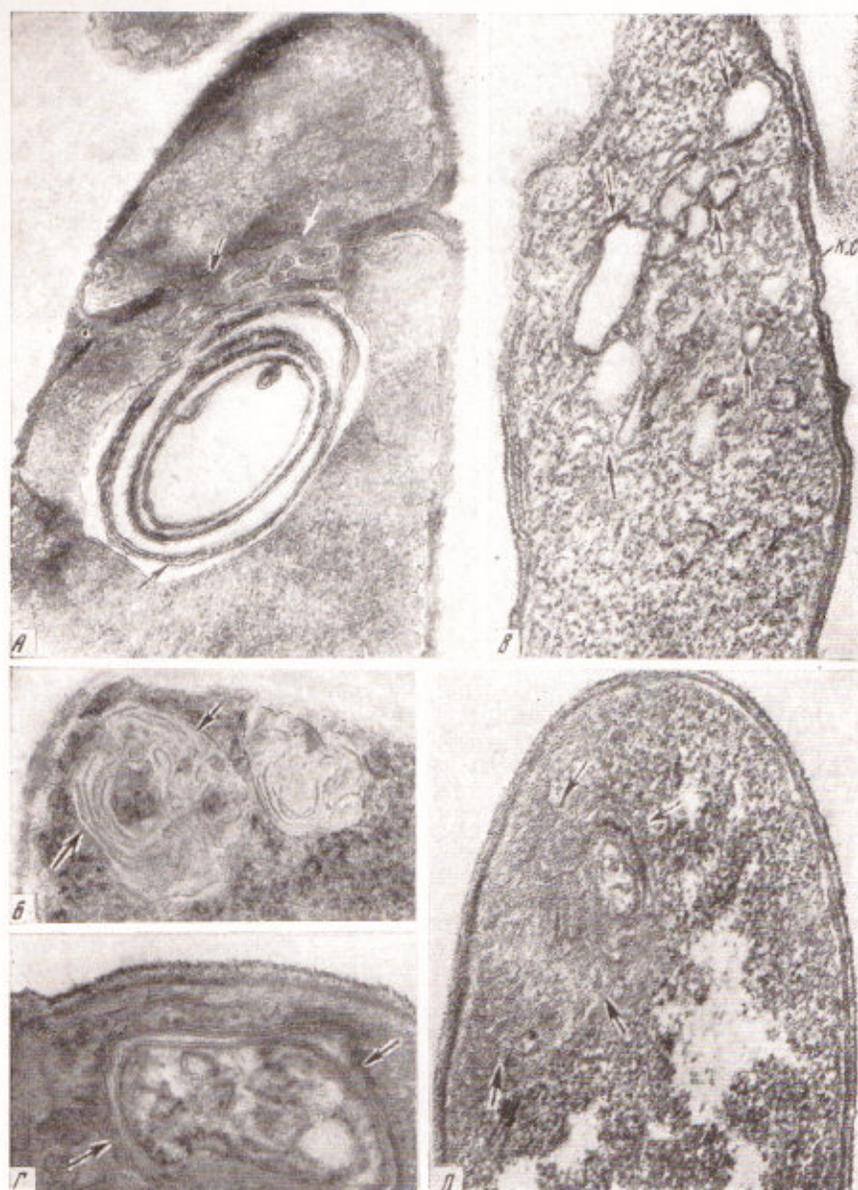


Рис. 1. А — фрагмент клетки *Cl. sporogenes* с мембранной структурой «комбинированного типа»; видны способы укладки мембран в структуре; стрелкой указано расщепление плотного осмиофильного контура на два смежных профиля элементарных мембран (70 000 ×). Б — фрагмент клетки *Cl. sporogenes* с мембранной структурой, в которой профили смежных мембран не соприкасаются (60 000 ×). В — фрагмент клетки *Cl. oedematiens*; видны пятислойная клеточная стенка (к.с.) и система мембран, напоминающая эндоплазматический ретикулум высших организмов (60 000 ×). Г — фрагмент клетки *Cl. oedematiens*; видна система концентрически расположенных мембран, ограничивающих осмиофобное пространство (60 000 ×). Д — фрагмент клетки *Cl. oedematiens* с системой мембран, занимающей обширную зону цитоплазмы и не имеющей упорядоченной укладки (60 000 ×)

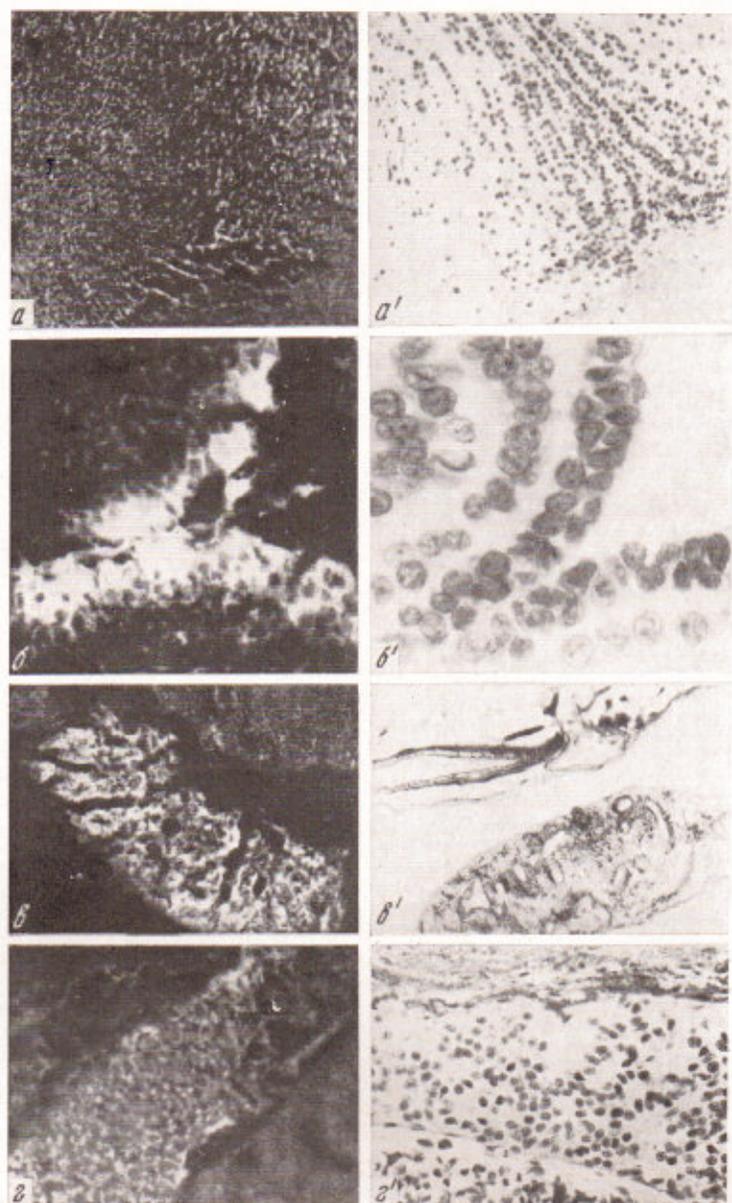


Рис. 1. Распределение катехоламинов и нейросекреторного материала в нейросекреторной системе лягушки. *a* — *z* — флуоресцентные микрофото: *a* — ок. 1,7, об. 10 ×; *e* — *z* — ок. 1,7, об. 20 ×. *a'*, *e'* — хромгематоксилин; *b'*, *z'* — параллельдегид-фуксин; *a'*, *b'* — ок. 10, об. 9 ×; *e'* — ок. 10, об. 20 ×, *z'* — ок. 10, об. 60 ×, *a*, *a'* — сравнительное распределение катехоламинов и нейросекреторных клеток в области преоптического ядра; *b* — моноамины в телах эпендимных клеток, *b'* — область преоптической бухты, *e* — адренергические волокна по ходу капилляров в срединном возвышении, где оканчиваются нейросекреторные волокна (*e'*); *z* — сеть адренергических волокон в области промежуточной доли гипофиза, вокруг клеток промежуточной доли (*z'*)

Таким образом, облигатно анаэробные бактерии, так же как и аэробные, имеют хорошо развитую и сложно устроенную систему внутрицитоплазматических мембран. Последние, подобно аэробным бактериям, могут иметь ламеллярное или трубчато-везикулярное строение.

Наряду с указанными чертами сходства есть и некоторые различия в структуре мембранного аппарата аэробных и анаэробных бактерий. Так, у облигатно анаэробной бактерии *Cl. oedematiens* мы наблюдали систему мембран, не оформленную в виде мембранных органоидов и напоминающую собой эндоплазматический ретикулум высших организмов. Однако в целом, по-видимому, в ряду современных бактерий, от анаэробных форм к аэробным, ультраструктура мембранных образований подвергалась незначительным изменениям. Последние, очевидно, коснулись в основном механизмов переноса электрона. Так, облигатно анаэробные бактерии лишены цитохромов и убихинонов и используют растворимые флавиновые ферменты для переноса в ряду субстрат — субстрат<sup>(14, 15)</sup>. Облигатным же аэробам свойственна дыхательная цепь, имеющая полный набор необходимых компонентов, как в клетках высших организмов<sup>(14)</sup>.

Институт эпидемиологии и микробиологии  
им. Н. Ф. Гамалеи  
Академии медицинских наук СССР

Поступило  
8 IV 1970

Институт биохимии им. А. Н. Баха  
Академии наук СССР  
Москва

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> A. Propst, I. Möse, Zbl. Bakt., Abt. I, Orig., 201, 373 (1966). <sup>2</sup> W. Hodgkiss, Z. J. Ordal, D. C. Cann, Canad. J. Microbiol., 12, 1283 (1966). <sup>3</sup> J. E. M. Hoeniger, P. F. Stuart, S. C. Holt, J. Bacteriol., 96, 1818 (1968). <sup>4</sup> U. Sleytr, H. Adam, H. Klaushofer, Arch. Microbiol., 66, 40 (1969). <sup>5</sup> В. М. Кушнарев, Т. А. Смирнова, Н. М. Михайлова, Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол., 5, 19 (1969). <sup>6</sup> И. Б. Павлова, Т. И. Сергеева, там же, 4, 12 (1969). <sup>7</sup> А. И. Опарин, Возникновение жизни на Земле, Изд. АН СССР, 1957. <sup>8</sup> А. И. Опарин, Жизнь, ее природа, происхождение и развитие, Изд. АН СССР, 1960. <sup>9</sup> А. И. Опарин, В кн.: Эволюционная биохимия, Тр. V Международн. биохимич. конгр., симпозиум III, Изд. АН СССР, 1962, стр. 74. <sup>10</sup> Б. Хорекер, там же, стр. 91. <sup>11</sup> А. А. Имшенецкий, там же, стр. 141. <sup>12</sup> Г. Гаффрил, В кн.: Горизонты биохимии, М., 1964, стр. 49. <sup>13</sup> Т. Yamanaoka, Nature, 204, 253 (1964). <sup>14</sup> М. Долин, В кн.: Метаболизм бактерий, ИЛ, 1963, стр. 316. <sup>15</sup> А. И. Опарин, Н. С. Гельман, Е. Ф. Хартьян, ДАН, 157, 211 (1964).