

И. И. ГИТЕЛЬЗОН, С. Е. МЕДВЕДЕВА, Р. И. ЧУМАКОВА

ОСМИОФИЛЬНЫЕ ОБРАЗОВАНИЯ В КЛЕТКАХ СВЕЯЩИХСЯ БАКТЕРИЙ

(Представлено академиком М. Х. Чайлахяном 6 XI 1974)

Если химическая основа свечения хорошо изучена (¹⁻⁵), то совершенно неизвестными остаются молекулярные структуры, ответственные за генерацию бактериального излучения. При исследовании нескольких штаммов светящихся бактерий рода *Photobacterium* электронно-микроскопическими методами в их цитоплазме обнаружены осмиофильные образования, не встречающиеся у других бактерий (⁶).

Для выявления возможной связи осмиофильных образований, обнаруженных у фотобактерий, со свечением в настоящей работе проведено сравнительное изучение ультраструктуры светящихся бактерий и их мутантов, потерявших способность к люминесценции. Обнаруженная ранее способность фотобактерий интенсифицировать свечение при непрерывном культивировании (⁷) была использована для определения количественных соотношений между свечением и числом и размером гранул.

Объектом исследования служили светящиеся бактерии, найденные в Тихом океане и отнесенные к роду *Photobacterium*: штамм № 44 и его темновой мутант, спонтанно возникший в процессе культивирования на твердой питательной среде; штамм № 5 и его темновой мутант, полученный при облучении светящегося штамма ультрафиолетовым светом с λ 370 нм.

Бактерии фиксировали по методу Ритера и Келленбергера в модификациях Тихоненко (⁸) 1% раствором четырехоксида осмия в фосфатном буфере Миллонига и 1,5% водным раствором перманганата калия с дофиксацией 1% четырехокисью осмия, заливали в метакрилат, срезы окрашивали ацетатом свинца по Миллонигу (⁹) или цитратом свинца по Ванейблду (¹⁰), просматривали на электронном микроскопе УЭВМ-100В при ускоряющем напряжении 75 кВ и JEM-7A при ускоряющем напряжении 80 кВ. Количественный анализ осмиофильных образований осуществляли с помощью некоторых морфометрических методов (¹¹). Исследовали 18-часовую культуру штаммов № 44, № 5 и их темновых мутантов.

Для определения количественных соотношений между свечением и числом и размером гранул был взят штамм, определенный нами как вид *Ph. belozerskii* (¹²). Непрерывное культивирование бактерий *Ph. belozerskii* осуществлялось на специально сконструированной установке (¹³). Интенсивность свечения бактерий регистрировалась непрерывно.

В цитоплазме светящихся штаммов № 44 и № 5 обнаружены осмиофильные образования, отличающиеся от известных у бактерий внутриклеточных структур. Эти образования представляют собой электронноплотные гранулы без четко очерченных границ, диаметром 220–1100 Å. В среднем на 1 клетку приходится 5–10 таких гранул. В клетках возникшего спонтанно мутанта штамма № 44 в логарифмической фазе роста обнаруживаются электронноплотные образования типа гранул, но размеры их значительно меньше, чем у гранул, найденных в цитоплазме светящихся бактерий, к тому же в среднем на 1 клетку приходится 2,5 таких структур.

туры. В цитоплазме темного мутанта штамма № 5 никаких осмиофильных образований, аналогичных гранулам в клетках светящихся бактерий, не обнаружено. Эти результаты позволили предположить существование прямой связи между наличием осмиофильных образований в клетке и ее способностью к фотопродукции. Такая связь была установлена при изучении свечения бактерий и их ультраструктуры при непрерывном культивировании. Свечение бактерий при непрерывном культивировании описы-

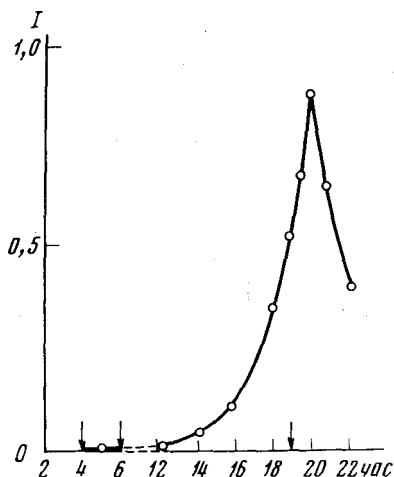


Рис. 1. Свечение *Rh. belozerskii* при непрерывном культивировании. *I* — интенсивность свечения в относительных единицах

вается кривой, представленной на рис. 1. Пробы для электронно-микроскопических исследований взяты в моменты, отмеченные на рисунке стрелками.

В начальный момент непрерывного культивирования светящихся бактерий, для которого характерно отсутствие свечения, в цитоплазме клеток не обнаруживается каких-либо осмиофильных образований (рис. 2а*). В конце адаптационного периода (свечение по-прежнему не регистрируется) в клетках появляются единичные осмиофильные образования — в среднем 3 на площадь среза клетки, что соответствует относительному объему 3,8%. Число этих образований растет с увеличением интенсивности люминесценции. В момент максимального свечения число этих гранул возрастает до 24 на площадь среза клетки или до 18% от общего объема клетки, в этот период осмиофильные образования нередко образуют скопления (рис. 2б). Обнаруженная корреляция между количеством осмиофильных образований и интенсивностью свечения позволяет связать наличие этих структур в клетке со способностью бактерий к фотопродукции. Можно предположить, что осмиофильные гранулы в цитоплазме бактерий являются местом локализации либо самой люминесцентной реакции, либо одного из ее компонентов. Присутствие немногочисленных осмиофильных гранул в цитоплазме темного мутанта штамма № 44 не противоречит такому предположению. Возможно, что свечение возникает лишь при накоплении достаточного количества компонентов реакции, что и проявляется в увеличении числа и размера гранул в цитоплазме светящихся бактерий по сравнению с цитоплазмой темного мутанта.

В цитоплазме многих бактерий обнаружены гранулярные включения, содержащие волютин⁽¹⁴⁾, полисахариды, капельки жира⁽¹⁵⁾, полифосфаты⁽¹⁶⁾. Однако гранулы, обнаруженные в клетках светящихся бактерий, по размеру, форме, электронной плотности не соответствуют ни одному из этих типов цитоплазматических включений. Поэтому вопрос о хи-

* Рис. 2. см. вклейку к стр. 983.

мической природе обнаруженных нами осмнфильных гранул в цитоплазме светящихся бактерий является предметом специальных исследований.

Институт физики им. Л. В. Киренского
Сибирского отделения Академии наук СССР
Красноярск

Поступило
31 X 1974

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ J. W. Hastings, *Ann. Rev. Biochem.*, v. 37, 597 (1968). ² M. J. Cormier, M. Eley et al., *Photochem. and Photobiol.*, v. 9, 351 (1969). ³ Р. И. Чумакова, А. А. Егорова, *Микробиология*, т. 33, 423 (1964). ⁴ T. Watanabe, T. Nakamura, *J. Biochem.*, v. 72, 647 (1972). ⁵ J. Lee, *Biochemistry*, v. 11, 3350 (1972). ⁶ И. И. Гигельзон, Р. И. Чумакова и др., *Микробиология и научно-технический прогресс*, Минск, 1971. ⁷ А. М. Фиш, Р. И. Чумакова, *Микробиология*, т. 37, 825 (1968). ⁸ А. С. Тихоненко, *Ультраструктура вирусов бактерий*, «Наука», 1968. ⁹ G. Millonig, *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, v. 11, 736 (1961). ¹⁰ J. H. Venable, R. Coggeshal, *J. Cell. Biol.*, v. 25, 407 (1965). ¹¹ E. R. Weibel, *Intern. Rev. Cytol.*, v. 26, 235 (1969). ¹² Р. И. Чумакова, Б. Ф. Ваниюшин и др., *Микробиология*, т. 41, 613 (1972). ¹³ И. И. Гигельзон, А. М. Фиш, Р. И. Чумакова, *Микробиология*, т. 34, 1086 (1965). ¹⁴ R. C. Tilton, A. B. Cobet, G. E. Jones, *Canad. J. Microbiol.*, v. 13, 1521 (1967). ¹⁵ A. M. Glauert, *Brit. Med. Bull.*, v. 18, 245 (1962). ¹⁶ I. Friedberg, G. Avigad, *J. Bacteriol.*, v. 96, 544 (1968). ¹⁷ Э. Пурс, *Гистохимия*, ИЛ, 1952.