

Сохранность плазмид в криоконсервированных клетках *Escherichia coli*

Ю.В. ПАНАСЕНКО¹, В.Л. ПОНОМАРЕВА²

¹Харьковская медицинская академия последипломного образования

²Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Integrity of Plasmids in Cryopreserved *Escherichia coli* Cells

YU.V.PANASENKO¹, V.L.PONOMARYOVA²

¹Kharkov Medical Academy of Post-Diploma Education

²Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

Значительную роль в патогенности и вирулентности бактерий играют плазмиды. Являясь внехромосомными факторами наследственности, они детерминируют ферменты агрессии, адгезины, токсины, β-лактамазу и другие факторы патогенности.

При разработке новых антимикробных препаратов, диагностических тест-систем, рациональных схем антибиотикотерапии, вакцин нового поколения учитывают наличие плазмид в патогенных и условно-патогенных бактериях.

Плазмиды и плазмидные штаммы бактерий также широко используются в генной инженерии для получения промышленных штаммов – продуцентов биологически активных веществ. Обязательное депонирование таких штаммов предусмотрено законодательством некоторых стран, в том числе и Украины.

Было показано, что криоконсервирование – надежный метод длительного хранения плазмидных штаммов бактерий семейства *Enterobacteriaceae* в жизнеспособном состоянии. Замораживание этих бактерий в различных защитных средах с различными скоростями охлаждения, а также последующее хранение при температуре жидкого азота обеспечивают высокую сохранность их пролиферативных свойств.

Непременным условием хранения плазмидных штаммов бактерий в коллекциях микроорганизмов является сохранность генетического материала в бактериальных клетках.

Цель исследования – изучение сохранности плазмид в клетках плазмидных штаммов бактерий *E. coli*.

Жизнеспособность бактериальных клеток оценивали “чашечным” методом Коха по способности к колониеобразованию. Сохранность плазмид определяли двумя методами: по фенотипическим маркерам бактериальных клеток на селективных средах и по сохранности структуры и количества плазмид (с помощью электрофореза).

Было установлено, что замораживание клеток в мясо-пептонном бульоне (МПБ) и в МПБ с добавлением одного из криопротекторов (ДМСО, сахароза, глицерин, сыворотка крови КРС) обеспечивало сохранность жизнеспособности не только бактериальных клеток, но и плазмидного профиля.

Полученные данные позволяют использовать криоконсервирование для долгосрочного хранения плазмидных штаммов бактериальных клеток в коллекциях микроорганизмов.

Significant role in pathogenesis and virulence of bacteria is played by plasmids. Being extra-chromosome factors of inheritance they determine the enzymes of aggression, adhesions, toxins, beta-lactamase and other pathogeneity factors.

When developing the new anti-microbe formulations, diagnostic test systems, reasonable protocols of antibiotic therapy, vaccines of new generation the presence of plasmids in pathogenic and conditionally pathogenic bacteria is taken into consideration.

Plasmids and plasmid bacteria strains are widely used in gene engineering for obtaining the industrial strains, producers of biologically active substances. Mandatory deposit of these strains is foreseen with the legislation of some countries, including Ukraine.

We have shown the cryopreservation as the reliable method of long-term storage of plasmid strains of *Enterobacteriaceae* bacteria in a viable state. Freezing of these bacteria using various protective media with different cooling rates, as well as following storage at the liquid nitrogen temperature provide a high integrity of their proliferative properties.

The precondition for the storage of plasmid bacteria strains in collections of microorganisms is the integrity of genetic material in bacterial cells.

The research aim was to study the integrity of plasmids in cells of plasmid strains of *E. coli* bacteria.

Viability of bacterial cells was assessed by means of Koch's plate method on the ability to colony formation. The integrity of plasmids was found with two methods: on phenotype markers of bacterial cells in selective media and on the integrity of structure and number of plasmids by means of electrophoresis.

It has been established that freezing of cells in meat peptone broth (MPB) and in MPB with adding one of cryoprotectants (DMSO, sucrose, glycerol, bovine blood serum) provided the integrity of viability not only bacterial cells, but also plasmid profile.

The obtained data enable to use cryopreservation for long-term storage of plasmid strains of bacterial cells in collections of microorganisms.