

9. Raya R., Kleeman E. G., Luchansky J. B and Klaenhammer T. R. Characterization of the Temperate Bacteriophage fadh and Plasmid Transduction in *Lactobacillus acidophilus* ADHt // Applied and Environmental Microbiology, 1989, 55, 9, 2206-2213

10. Ventura M., Canchaya C., Bernini V., Altermann E., Barrangou R., McGrath S., Claesson M. J., Li Y., Leahy S., Walker C.D., Zink R., Neviani E., Steele J., Broadbent J., Klaenhammer T. R., Fitzgerald G.F., O'Toole P.W. and Sinderen D. Comparative genomics and transcriptional analysis of prophages identified in the genomes of *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus salivarius*, and *Lactobacillus casei*// Applied and Environmental Microbiology, 2006, 72, 5, 3130–3146.

## SEARCH FOR LYSOGENY AMONG VAGINAL LACTOBACILLI ISOLATES

*Isaeva A. S., Letarov A.V., Ilina E.N., Muravieva V. V., Ankirskaya A.S.*

**Key words:** *Lactobacilli*, bacteriophages, MALDI-TOF mass-spectrometry, induction of prophages.

*Lactobacilli* are the dominant bacteria of healthy womens' vagina. These bacteria can inhibit the growth of other potentially harmful microorganisms. However, during bacterial vaginosis, *lactobacilli* decrease for unknown reason. Phages are the natural inhibitors of bacteria. They can infect vaginal *lactobacilli*, that induce the reduction of *lactobacilli*, though, no attempts to detect free bacteriophages in vaginal swab gave positive results. Instead of this, the lysogenic strains of *lactobacilli* were found in human vagina.

УДК 619:616 -07

## ПОДБОР И УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ВЫДЕЛЕНИЯ БАКТЕРИОФАГОВ АНАЭРОБНЫХ БАКТЕРИЙ *DESULFOVIBRIO DESULFURICANS*

*Карамышева Н. Н., ассистент*

8(8422)55-95-47, [Natali – kar@inbox.ru](mailto:Natali-kar@inbox.ru)

*Васильев Д. А., доктор биологических наук, профессор*

8(8422)55-95-47, [dav ul@mail.ru](mailto:dav_ul@mail.ru)

*Золотухин С. Н., доктор биологических наук, профессор*

8(8422)55-95-47, [fym.zol@yandex.ru](mailto:fym.zol@yandex.ru)

ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина»

**Ключевые слова:** *Desulfovibrio desulfuricans*, биопрепарат, технологические параметры.

Работа посвящена подбору и усовершенствованию технологических параметров выделения бактериофагов анаэробных бактерий *Desulfovibrio desulfuricans*.

### Введение

Исследование биотехнологических процессов с участием *D. desulfuricans* приобретает большое значение в связи с развитием и усовершенствованием методов регулирования их жизнедеятельности.

Материалы и методы исследований

Штамм *Desulfovibrio desulfuricans subsp. desulfuricans* (Beijerinck 1895) Kluuyver et van Niel 1936 VKM B-1799 полученный из музея ИБФМ им. Г.К. Скрыбина РАН Московская обл., г. Пущино, а также 9 штаммов бактерий, выделенных из объектов окружающей среды, типирование которых позволило отнести их к роду *Desulfovibrio*, бактериофаги Ddr 57 – УГСХА и Ddu 48 – УГСХА.

Работа выполнена на базе научно-исследовательского инновационного центра микробиологии и биотехнологии УГСХА.

**Результаты исследований и их обсуждение**

Результаты исследования температурных показателей культивирования бактериофагов Ddr 57 – УГСХА и Ddu 48 – УГСХА показали, что диапазон оптимальных температур культивирования фага Ddr 57 – УГСХА составляет 30-36 °С. Наиболее оптимален режим инкубирования системы фага Ddr 57 – УГСХА с *D. desulfuricans* VKM B – 1799 при температуре 30-32 °С. Режим инкубирования системы фага Ddu 48 – УГСХА с *D. desulfuricans* VKM B –1799 при температуре 30 °С. Данные представлены в таблице 1.

**Таблица 1 – Температурные показатели культивирования бактериофагов Ddr 57 – УГСХА и Ddu 48 – УГСХА**

фаг	Температура культивирования фага								
	22,0 °С	22,2 °С	22,4 °С	22,6 °С	22,8 °С	33,0 °С	32,0 °С	34,0 °С	36, °С
Ddr 57--УГСХА	–	–	–	–	–	+	+	–	–
Ddu 48 -УГСХА	–	–	–	–	–	+	–	–	–

Примечание – «–» – отсутствие лизиса, «+» – наличие лизис.

При исследовании условий культивирования выделенного бактериофага Ddr 57 – УГСХА *D. desulfuricans* VKM B – 1799 необходимо выяснить оптимальное количественное соотношение фага и индикаторной культуры *D. desulfuricans* VKM B – 1799 для производства диагностического препарата. В опытную пробирку, содержащую стерильную среду Постгейта «В» в объеме 4,5 мл (рН 7,2), вносили 0,2 мл фага Ddr 57 – УГСХА, затем в пробирку вносили 24-х часовую культуру штамма *D. desulfuricans* VKM B – 1799 в количестве от 0,2 до 1 мл с шагом 0,2 мл. Параллельно ставился контроль. Для этого в пробирку, содержащую стерильную среду Постгейта «В» в объеме 4,5 мл (рН 7,2), вносили культуру штамма *D. desulfuricans* VKM B – 1799 по 0,2 мл. Пробирки помещали в термостат и культивировали при температуре 30 °С. Затем подсчитывали количество активных корпускул фага в 1 мл по методу Грациа. Результаты исследований приведены в таблице 2.

**Таблица 2 – Зависимость титра бактериофага от соотношения с количеством суточной бактериальной культуры.**

Объём культуры, мл на 0,2 мл фага	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0
Количество активных корпускул фага Ddr 57-УГСХА в 1 мл	8x10 <sup>8</sup>	6x10 <sup>7</sup>	3x10 <sup>7</sup>	2x10 <sup>7</sup>	–
Количество активных корпускул фага Ddu 48-УГСХА в 1 мл	9x10 <sup>7</sup>	8x10 <sup>6</sup>	4x10 <sup>6</sup>	3x10 <sup>5</sup>	–

В результате проведенных исследований было установлено, что для бактериофага Ddr 57 – УГСХА оптимальным соотношением бактериофага и культуры является 1:1, т.е. 0,2 мл фага х 0,2 мл индикаторной культуры.

Для выяснения оптимального соотношения между временем пассажа

и активностью фага в пробирку с 4,5 мл среды Постгейта «В» добавляли 0,2 мл индикаторной культуры штамма *D. desulfuricans* VKM В – 1799 и 0,2 мл фага Ddr 57 – УГСХА. Параллельно ставили контроль: среда Постгейта «В», засеянная индикаторной культурой без фага. Посевы инкубировали при температуре 30 °С в течение 12, 24, 36, 48 часов. После культивирования пробирки с фагом обрабатывали хлороформом в соотношении 1:10. Литическую активность полученных фаголизатов исследовали методами Аппельмана и Грациа (Таблица 3).

**Таблица 3 – Зависимость титра фага от времени пассажа**

Название фага	Вариант эксперимента с фагом	Время пассажа, часы	Литическая активность	
			по методу Аппельмана	по методу Грациа
Ddr 57-УГСХА	1	12	0	0
	2	24	10 <sup>-8</sup>	8 x 10 <sup>-7</sup>
	3	36	10 <sup>-8</sup>	5 x 10 <sup>-7</sup>
	4	48	10 <sup>-8</sup>	3 x 10 <sup>-7</sup>
Ddu 48-УГСХА	1	12	0	0
	2	24	10 <sup>-9</sup>	7 x 10 <sup>-8</sup>
	3	36	10 <sup>-9</sup>	4 x 10 <sup>-8</sup>
	4	48	10 <sup>-9</sup>	1 x 10 <sup>-8</sup>

Установлено, что оптимальное время пассажа при температуре 30 °С для фага Ddr 57 – УГСХА составляет 24 часа. Литическая активность фага составляет 10<sup>-8</sup> по методу Аппельмана и 8x10<sup>-7</sup> по методу Грациа. оптимальное время пассажа при температуре 30°С для фага Ddu 48 – УГСХА составляет 24 часа. Литическая активность фага составляет 10<sup>-9</sup> по методу Аппельмана и 7x10<sup>-8</sup> по методу Грациа.

**Заключение**

1. Проведённые исследования подбора оптимальных параметров показали, что диапазон оптимальных температур культивирования бактериофагов Ddr 57 – УГСХА и Ddu 48 – УГСХА составляет 30-36 °С.
2. Наиболее оптимальным соотношением бактериофага и культуры является 1:1, т.е. 0,2 мл фага x 0,2 мл индикаторной культуры.
3. Оптимальное время пассажа при температуре 30 °С для фага Ddr 57 – УГСХА и Ddu 48 – УГСХА составляет 24 часа. Литическая активность фагов составляет 10<sup>-8</sup> и 10<sup>-9</sup> по методу Аппельмана; 8x10<sup>-7</sup> и 7x10<sup>-8</sup> по методу Грациа.

**Библиографический список**

1. Габрилович И.М. Общая характеристика бактериофагов. Основы бактериофагии/ И.М.Габрилович // Минск. 1973. – 56 с.
2. Kamimura K. Isolation and Characterization of a Bacteriophage Lytic for *Desulfovibrio salexigens*, a Salt-Requiring, Sulfate-Reducing Bacterium/ K.Kamimura and M.Araki //Appl. Environ. Microbiol. 1989. – P. 645.
3. Oberhoter T.R. J.Clin Microbiol / T.R. Oberhoter // Microbiol.2008. V.7. P. – 312 – 313.

**SELECTION AND IMPROVEMENT OF TECHNOLOGICAL PARAMETERS  
OF ALLOCATION OF BACTERIOPHAGES OF ANAEROBIC BACTERIA  
*DESULFOVIBRIO DESULFURICANS***

*Karamysheva N.N. , Vasilev D.A., Zolotukhin S.N.*

**Key words:** *Desulfovibrio desulfuricans, biopreparation, technological parameters.*

*The work is devoted to the selection and improvement of the technological parameters of allocation of bacteriophages of anaerobic bacteria *Desulfovibrio desulfuricans*.*

УДК 616.316.5-002-053.2:616.8

**ЛЕКТИН-ГЛИКОКОНЬЮГАТНЫЕ ОТНОШЕНИЯ В СИСТЕМАХ  
«БАКТЕРИОФАГИ - БАКТЕРИИ»**

*Лахтин В.М., доктор биологических наук*

*Тел. 8(903)503-11-80, [lakhtinv@yandex.ru](mailto:lakhtinv@yandex.ru)*

*Алешкин А.В., доктор биологических наук*

*Тел. 8(964)646-43-79, [ava@gabri.ru](mailto:ava@gabri.ru)*

*Лахтин М.В., кандидат биологических наук*

*Тел. (007-495)452-18-16, [info@gabrich.com](mailto:info@gabrich.com)*

*Афанасьев С.С., доктор биологических наук, профессор,  
заслуженный деятель науки РФ*

*Алешкин В.А., доктор биологических наук, профессор,  
заслуженный деятель науки РФ*

*ФБУН «МНИИЭМ им. Г.Н.Габричевского» Роспотребнадзора*

**Ключевые слова:** *бактериофаги, бактерии, лектины, гликоконъюгаты, системы, узнавание*

*В обзоре рассмотрено применение лектин-гликоконъюгатных принципов организации и функционирования систем «Бактериофаги – Бактерии», что расширяет возможности конструирования и контроля таких макросистем.*

**Введение.** Исследование бактериофагов (БФ) открывает широкие перспективы [1-3]. Узнавание бактерий бактериофагами, их первые этапы взаимоотношений являются ключевыми - иницирующими последующие реакции. Нами сформулированы основные принципы организации и функционирования лектинов (Л), лектиновых систем и лектин-гликоконъюгатных (Л-ГК) отношений, вовлекающих организм человека и его биотопную микрофлору [4-10]. Целью является применить принципы взаимосвязей Л-ГК в системе «БФ - Бактерии».

**Структурно-функциональные взаимоотношения типа Л-ГК, наблюдаемые и в системе «БФ - Бактерии».** К Л относятся пептид/белок-содержащие структуры и комплексы, связывающие, чувствующие, распознающие углеводы и ГК. Л имеют пространственные участки узнавания ГК, часто являются олигомерами, не относятся к иммуноглобулинам (Ig) (могут иметь Ig-подобные домены) и ферментам углеводного обмена (есть исключения), участвуют в