

наперстянки крупноцветковой (*Digitalis grandiflora* Mill.) с помощью RAPD- и ISSR-маркером // Генетика. – 2007. – Т.43, №5. – С. 653-659.

3. Morsy A.A. Molecular Variations of *Achillea fragrantissima* (Forssk.) SCH. Bip. Growing in Five Areas of South Sinai // Int. J. Agri. Biol. □ 2007. □ Vol. 9, No. 1 □ P. 11-17.

Резюме

За допомогою RAPD маркерів досліджено генетичний поліморфізм двох ендемічних видів деревію *Achillea glaberrima* Klok. та *Achillea leptophilla* Bieb. Рівень поліморфізму у *A. leptophilla* склав 75% і 46% - у *A. glaberrima*. В цілому отримані дані свідчать про значно більший рівень поліморфізму у *A. leptophilla*, який має більш широкий, хоча і диз'юнктивний ареал, у порівнянні з вузьколокальним ендеміком *A. glaberrima*.

При помощи RAPD маркером исследован генетический полиморфизм двух эндемичных видов тысячелистника *Achillea glaberrima* Klok. и *Achillea leptophilla* Bieb. Уровень полиморфизма у *A. leptophilla* составил 75% и 46% - у *A. glaberrima*. В целом, полученные данные свидетельствуют о значительно большем уровне полиморфизма *A. leptophilla*, который имеет более широкий, хотя и дизъюнктивный ареал, по сравнению с узколокальным эндемиком *A. glaberrima*.

Genetic polymorphism of the two endemic species *Achillea glaberrima* Klok. and *Achillea leptophilla* Bieb. have been studied using RAPD markers. The level of genetic polymorphism of *A. leptophilla* is 75% and *A. glaberrima* - 46%. Obtained data indicate that the endemic *A. leptophilla* with wide disjunctive area have much more level of genetic polymorphism than the narrow-local *A. glaberrima*.

ПОЛІЩУК Л.В.¹, ЛУКЯНЧУК В.В.¹, МАРІЄВСЬКИЙ В.Ф.², РУБАН Н.М.².

¹ Інститут мікробіології і вірусології НАН України,

Україна, Д03680, Київ, вул. акад. Заболотного, 154, e-mail: Polischuk@serv.imv.kiev.ua

² Інститут епідеміології та інфекційних хвороб АМН України,

Україна, 03038, Київ, вул. акад. Амосова, 5

ПЛАЗМІДИ ТРЬОХ КЛІНІЧНИХ ШТАМІВ ESCHERICHIA COLI

Як відомо, внутрішньо лікарняні інфекції (ВЛІ) стали однією з найбільш гострих проблем сучасної системи охорони здоров'я як в Україні, так і у всьому світі [1, 2, 7, 10]. Однією з характерних рис ВЛІ сьогодення є те, що її спалахи часто спричиняють умовно-патогенні мікроорганізми [1, 2, 7]. До 50% випадків ВЛІ її збудниками є бактерії родини *Enterobacteriaceae*, однак найбільш часто їх спричиняють штами *Escherichia coli*, деякі види родів *Kebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Providencia* та ряд інших [7, 8].

Встановлено, що плазмідні широко поширені серед представників цієї родини мікроорганізмів [8, 12]. Позахромосомна ДНК виявлена у 25-75% всіх досліджених штамів, в залежності від місця відбору зразка та родових особливостей бактерій [12]. Наявність плазмідних ДНК у патогенних та умовно патогенних мікроорганізмів має особливо велике значення через детермінацію ними стійкості до антибіотиків чи синтезу токсинів та можливість передачі цих властивостей патогенним мікроорганізмам [11].

У трьох клінічних штамів *Escherichia coli* було виявлено плазмідні ДНК. Метою роботи було визначення їх молекулярного розміру та рестрикційний аналіз.

Матеріали і методи

Об'єктами досліджень були штами *Escherichia coli* 345, 951 та 1257 з музею культур Інституту епідеміології та інфекційних хвороб ім. Громашевського.

В роботі використовували середовища МПБ та МПА.

Плазмідну ДНК з клітин *Escherichia coli* отримували методом, який запропонував Кізер [10].

Рестрикційний аналіз плазмідних ДНК проводили як запропоновано Маніатісом [5]. В роботі використовували рестриктази і ДНК фагу λ фірми "Ферментас"[4].

Електрофорез проводили в 0,8 % агарозі в ТБЕ буфері [5]. Як стандарт молекулярних розмірів фрагментів плазмідної ДНК використовували HindIII- та HindIII+EcoRI- фрагменти ДНК фагу λ [4, 5].

Результати та їх обговорення

Як повідомлялося вище, три штами *Escherichia coli*, які використовувалися в дослідженнях, було виділено при спалахах ВЛІ в різних лікарнях міста Києва. Наші дослідження виявили наявність плазмідних ДНК у всіх трьох штамів. Два штами *E. coli* (345 та 1257) містили по одній плазміді, а третій (*E. coli* 591) був багатоплазмідним.

В клітинах штаму *E. coli* 591 виявлено 3 плазмідних ДНК рЕС591-1 (50 тпн), рЕС591-2 (9,2 тпн) та рЕС591-3 (1,7 тпн). За даними літератури одночасне існування в клітині кількох плазмід є досить розповсюдженим явищем. Випадки мультиплазмідних штамів виявлені для представників різних родів (*Cyanobacteria*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Streptomyces* та багатьох інших) [9, 11-15]. Так, наприклад встановлено, що штам *E. coli* E24377A містить 6 плазмід з молекулярними розмірами 5,0 тпн, 6,2 тпн, 34,4 тпн, 70,1 тпн, 74,2 тпн та 79,2 тпн [3].

Раніше нами повідомлялося про виявлення плазмід рЕС1257 у штаму *Escherichia coli* 1257 [6]. За допомогою рестрикційного аналізу було встановлено, що на плазміді рЕС1257 є унікальні сайти рестрикції для 5 рестриктаз (Bsp120I, SalGI, Eco47I, BamHI та BglI), 2 сайти рестрикції для ферменту Bsp119I та жодного для 4 рестриктаз (PstI, EcoRI, XbaI та HindIII) та визначено її молекулярний розмір в 5,0 тпн. При гідролізі плазмід рЕС1257 ендонуклеазою рестрикції Bsp119I утворюються 2 фрагменти (2,0 тпн та 3,0 тпн) [6].

За допомогою лужно-фенольного методу Кізера у штаму *E. coli* 345 було виявлено плазмідну ДНК, яка отримала назву рЕС345. Дослідження фізичної будови виявленої коїційної плазмід рЕС345 проводилися з використанням 6 ендонуклеаз рестрикції II типу: PstI, Bsp119I, EcoRI, HindIII, BamHI та BglI. За даними рестрикційного аналізу цієї плазмідної ДНК встановлено, що плазмід має унікальні сайти рестрикції для 5 рестриктаз (Bsp119I, EcoRI, HindIII, BamHI та BglI) та 2 сайти рестрикції для ферменту PstI. При гідролізі плазмід рЕС345 ендонуклеазою рестрикції PstI утворюються 2 фрагменти (2,5 тпн та 2,65 тпн).

З даних літератури відомо, що однакова електрофоретична рухливість плазмід не означає тотожність їх первинної будови: так плазмід рAlvA (*Hafnia alvei*) та рBS512_5 (*Shigella boydii* CDC 3083-94) мають молекулярний розмір 5113 пн, але рестрикційний аналіз плазмідних ДНК виявив відмінності в їх нуклеотидних послідовностях [3, 13]. Аналогічні висновки по нетотожності 2 коїційних плазмід рKL1 та рO26-S1 з молекулярним розміром 1549 пн зроблено при дослідженні їх нуклеотидних послідовностей, які представлені в Інтернет-базі даних.[3, 11].

Порівняння даних рестрикційного аналізу плазмідних ДНК 2 штамів кишкової палички, представлених в таблиці дозволяють зробити висновок, що штами *Escherichia coli* 1257 та 345 містять неспоріднені плазмід рЕС1257 та рЕС345, що відрізняються нуклеотидною послідовністю їх молекул.

Рестрикційний аналіз плазмід рЕС345 та рЕС1257.

Ендонуклеази II типу	Кількість сайтів рестрикції на плазміді рЕС345	Кількість сайтів рестрикції на плазміді рЕС1257 [5].
Bsp119I	1	2 (2,0; 3,0 тпн)
EcoRI	1	0
BamHI	1	1
BglII	1	1
PstI	2 (2,5; 2,65 тпн)	0
HindIII	1	0
Середній молекулярний розмір плазмід	5,1 тпн	5,0 тпн

На початок 2009 року в Інтернет-базі даних представлено нуклеотидні послідовності 7 плазмід видів з родини *Enterobacteriaceae* з молекулярним розміром 5.0 – 5,1 тпн: рЕСО1 (*Enterobacter cloacae* IFO 3320), рІGJC156, рІGRWZ12, рЕТЕС_5 (*E.coli*), рAlvA (*Hafnia alvei*), рBS512_5 (*Shigella boydii* CDC 3083-94), рSS046_spB (*Shigella sonnei* 046_spB) [3, 13, 15].

Порівняльний аналіз інформації з Інтернет-баз даних про кількість сайтів рестрикції та розташування на цих 7 плазмідах та результатів, отриманих нами для плазмід рЕС1257 і рЕС345 дозволив зробити висновок про нетотожність фізичних карт виявлених нами двох плазмід *E. coli* рЕС345 та рЕС1257, з такими що представлені в базах даних [3].

Висновки

Таким чином, у всіх трьох штамів *Escherichia coli* довільно вибраних з великої колекції клінічних культур виявлено наявність позахромосомних ДНК. Один з них (штам 951) містив не менше трьох плазмід різного молекулярного розміру, в той час як два інших містять по одній плазміді.

Проведено рестрикційний аналіз плазмід рЕС345 та рЕС1257 та порівняльне дослідження отриманих результатів з інформацією Інтернет баз даних. Встановлено, що плазміди рЕС345 та рЕС1257 мають фізичні карти відмінні одна від одної та від ряду плазмід, представлених Інтернет-базах даних.

Література

1. Венцель Р.П. Внутрибольничные инфекции.- М.: Медицина, 1990.- 655 с.
2. Зуева Л.П., Раисовская Е.Н. Стратегия организации борьбы с внутрибольничными инфекциями в современных условиях // РЭТ-инфо.-2003, №2.-С.18-19.
3. Інтернет-база даних GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov)
4. Каталог фірми МВІ. Fermentas.- 2006-2007.
5. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбук Дж. Молекулярное клонирование. Методы генетической инженерии.-М.: Мир.- 1984.- 450 с.
6. Марієвський В.Ф., Рубан Н.М., Кролевецька Н.М., Лук'янчук В.В., Поліщук Л.В. Плазміда штаму *Escherichia coli* 1257 // Лабораторна діагностика.-2006.-Т.38, №4.-С.35-37.
7. Морозова Н.С. Дезинфектологические аспекты профилактики внутрибольничных инфекций // Матеріалі доповідей н-п. Конф. "Вчення Л.В. Громашевського в сучасних умовах боротьби з інфекційними хворобами".- К.-2006.-С.124-132.
8. Определитель бактерий Берджи, 9 издание. (под редакцией Дж.Чоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уилльямса).- М.:Мир, 1997.-т.1.-432 с.
9. Burian J., Guller L., Macor M., Kay W. W. Small cryptic plasmids of multiplasmid clinical *Escherichia coli*// Plasmid.-1997.-Vol.37,№1.-P.2-14

10. *Kieser T.* Factors affecting the isolation of CCC DNA from *Streptomyces lividans* and *Escherichia coli* // *Plasmid*.-1984, №12.- P.19-36.
11. *Russell A.D.* Plasmids and bacterial resistance to biocides// *J. Appl. Microbiol.*-1997.- Vol. 83, № 2.- P. 155-165.
12. *Su L.H., Chu C., Cloeckaert A., Chiu C.H.* An epidemic of plasmid? Dissemination of extended-spectrum cephalosporinases among *Salmonella* and other *Enterobacteriaceae* // *FEMS Immunol Med Microbiol.*-2008.-Vol.52, № 2.-P.155-166.
13. *Wertz J.E., Riley M.A.* Chimeric nature of two plasmid of *Hafnia alvei* encoding the bacteriocins alveicins A and B // *J. Bacteriol.*-2004.-Vol.186, №6.- P.1598-1605.
14. *Yang F., Yang J., Zhang X. et al.* Genome dynamics and diversity of *Shigella* species, the etiologic agents of bacillary dysentery // *Nucleic Acids Res.*-2005.-Vol.33, № 19.-P. 6445-6458.
15. *Zaleski P., Wolinowska R., Strzerek K., Lakomy A., Plucianniczak A.* The complete sequence and segregation stability analysis of a new cryptic plasmid pIGWZ12 from a clinical strain of *Escherichia coli* // *Plasmid*.-2006.-Vol.56, № 3.-P.228-232.

Резюме

Исследовано на наличие плазмидной ДНК 3 клинических штамма *Escherichia coli*. Штаммы 345 и 1257 содержат по 1 плазмиде - pEC345 (5,1 тпн) и pEC1257 (5,0 тпн) соответственно. Штамм 951 содержит 3 плазмиды: pEC951-1 (50 тпн), pEC591-2 (7,2 тпн) и pEC591-3 (1,7 тпн). С помощью рестрикционного анализа выявлено различное первичное строение плазмид pEC345 и pEC1257.

Three clinical strains of *Escherichia coli* were investigated on presence of plasmid DNA. Strains 345 and 1257 contained on only one plasmid - pEC345 (5,1 kb) and pEC1257 (5,0 kb) accordingly. Three plasmids were found in strain 951: pEC951-1 (50 kb), pEC591-2 (7,2 kb) and pEC591-3 (1,7 kb). Restrictional analysis has revealed different primary structure plasmids pEC345 and pEC1257.

Наявність плазмідних ДНК досліджувалася у трьох клінічних штамів *Escherichia coli*. Штами 345 та 1257 містили по одній плазміді - pEC345 (5,1 тпн) та pEC1257 (5,0 тпн). Штам 951 містив 3 плазмиди pEC951-1 (50 тпн), pEC591-2 (7,2 тпн) и pEC591-3 (1,7 тпн). За допомогою рестрикційного аналізу виявлено різну первинну будову плазмід pEC345 и pEC1257.

ПОТОПАЛЬСЬКИЙ А.І., ЮРКЕВИЧ Л.Н., КАЦАН В.А.

Інститут молекулярної біології та генетики НАН України,

Інститут оздоровлення й відродження народів України,

Україна, 03143, Київ, вул. Академіка Заболотного, 150, e-mail: potopalsky@imbg.org.ua

ГОМЕОБОКСНІ ГЕНИ, ЯК МОЖЛИВІ МІШЕНІ ДІЇ ЕКЗОГЕННИХ ДНК ПРИ ОТРИМАННІ НОВИХ ФОРМ ЖИТА.

2.ЗАКОНОМІРНОСТІ ДІЇ ЕКЗОГЕННИХ ДНК ПРИ СЕЛЕКЦІЇ КОРОТКОСТЕБЛОВИХ ФОРМ ДИПЛОЇДНОГО ЖИТА

В попередній нашій роботі повідомлялося про індукування за допомогою препаратів екзогенних ДНК (е-ДНК) та їх алкілованих тіофосфамідом аналогів (е-ДНК(т)) спадкових форм рослин з ярим типом розвитку в озимого диплоїдного жита сорту Житомирське, водночас зі змінами морфологічних ознак. Сприятливими для підвищення врожайності жита є збільшення кількості продуктивних стебел, довжини колосу, галузнення колосу [1]. Дуже важливими є також форми жита з потовщеним та вкороченим