Диференціація плазмідних та хромосомних мутацій

стійкості бактерій до антибіотика

*Смірнов О.Ю.*

*СумДУ, кафедра фізіології і патофізіології*

Відомо, що стійкість бактерій до антибіотиків може бути зумовлена як плазмідними, так і хромосомними генами. Стійкість, що зумовлена мутаціями в хромосомних генах, звичайно не передається горизонтально (від бактерії до бактерії). Плазміди, що несуть ген (гени) стійкості до антибіотика (антибіотиків), тобто R-плазміди, здатні до незалежної ампліфікації й переносу до інших бактерій шляхом кон'югації. Є дані, що плазміди зумовлюють також стійкість до деяких дезінфектантів. Проблема появи нових штамів, стійких до різних хімічних сполук, особливо утворення мультирезистентних штамів (з множинною лікарською стійкістю), має велике медичне значення й активно досліджується. При цьому часто виникає необхідність виявити природу стійкості та яким геном вона зумовлена – плазмідним чи хромосомним, дослідити роль окремих генів.

У наших експериментах за допомогою нітрозогуанідину були отримані індуковані мутації стійкості до тетрацикліну (Tc) штамів *Escherichia coli,* що несли плазміду pBRH4, в якій був інактивований промотор *tet-*гена. На середовищі з концентрацією Tc 5 мкг/мл були відібрані колонії, стійкі до цього антибіотика. Щоб з'ясувати локалізацію мутацій, з них виділяли плазмідну ДНК, трансформували штам *E. coli* С600 і визначали рівень стійкості. Було з'ясовано, що всі мутації відбулися в плазміді й надавали клітинам стійкість до 20–30 мкг/мл Tc, але до 30–40 мкг/мл Tc трансформанти були чутливі. З метою отримання вторинної мутації в плазмідному гені, яка б підвищила рівень стійкості до Tc, штам, що містив плазміду з вихідною мутацією, висіяли на середовище із 70 мкг/мл Tc. З однієї з колоній, що виросли, виділили плазміду й перевірили на здатність надавати клітинам стійкість до антибіотика. Було з'ясовано, що плазміда забезпечувала попередній низький рівень стійкості. Коли ж цей штам вилікували від плазміди за допомогою антибіотика коумерміцину, виявилося, що, хоча сам він був чутливий до 5 мкг/мл Tc, після трансформації іншими плазмідами рівень його стійкості був значно вищий, ніж у контрольного штаму С600 (наприклад, під час висіву розведеної культури краплями на агар з антибіотиком мутантний штам із плазмідою pBR322 був стійкий до 200 мкг/мл Tc, а контрольний штам з цією плазмідою був стійкий до 150 мкг/мл Tc і чутливий до 200 мкг/мл). Таким чином, був отриманий штам з хромосомною мутацією, яка підсилювала дію плазмідного гена.

Висновки: 1) в експериментах по отриманню в плазмідних генах мутацій стійкості до лікарських препаратів можливе неочікуване отримання хромосомних мутацій стійкості; 2) для диференціації плазмідних мутацій від хромосомних використовується метод трансформації бактерій виділеним препаратом плазмідної ДНК; 3) для диференціації хромосомних мутацій від плазмідних ефективним є використання коумерміцину.