

Изучение сохранности плазмидных штаммов *Escherichia coli* после инкубации с криопротекторами и охлаждения до -196°C

Ю.В. ПАНАСЕНКО, И.П. ВЫСЕКАНЦЕВ, С.В. БИРЮКОВА

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Коллекции плазмидных штаммов бактерий имеют большое значение для промышленной микробиологии, генной инженерии, медицинских исследований эпидемиологии, патогенеза инфекционных заболеваний и разработки стандартов их этиотропной терапии и профилактики

Основными способами консервирования микроорганизмов в практике коллекций и банков являются лиофилизация, хранение при различных отрицательных температурах, пересевы. Показано, что при лиофилизации и пересевах возможны потеря плазмид и изменения генетически обусловленных фенотипических маркеров, используемых для таксономической идентификации штаммов микроорганизмов. Сохранность плазмид и биохимических свойств плазмидных штаммов бактерий при низкотемпературном хранении изучена мало.

Целью исследования являлось изучение сохранности плазмид и биохимических свойств после инкубирования плазмидных штаммов *E. coli* в растворах криопротекторов и замораживания до -196°C .

Объектом исследования являлись 14 клинических изолятов *E. coli*, имеющих Ну-плазмиду и плазмиды, несущие гены резистентности к антибиотикам: ампициллину, цефалотину, канамицину.

Бактерии инкубировали при температуре $18-20^{\circ}\text{C}$ в течение 60 минут в 5, 10, 15%-ных водных растворах глицерина, сахарозы, ДМСО, ПЭО-400. Замораживали образцы после 30 минутной инкубации с растворами криопротекторов по двум программам: охлаждение со скоростью $2^{\circ}\text{C}/\text{мин}$ от 18° до -70°C с последующим погружением в жидкий азот; погружение криопробирок "Nunc" объемом 1,8 мл в жидкий азот. После хранения в течение двух недель отогревали замороженные образцы на водяной бане при температуре 37°C .

Было установлено, что инкубация в растворах криопротекторов и кратковременное замораживание с указанными выше скоростями до температуры -196°C не вызывали потери бактериями плазмид и изменения спектра биохимических свойств штаммов (ферментация глюкозы, лактозы, мочевины, сорбита; способность к образованию

индола и к декарбоксилированию лизина и орнитина, а также образование ацетилметилкарбинола и 2,3-бутиленгликоля в реакциях Фогеса-Проскауэра и с метиловым красным).

Адрес для корреспонденции: Высеканцев И.П., Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, ул. Переяславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.: +38 (057) 373-31-26, факс: +38 (057) 373-30-84, e-mail: cryo@online.kharkov.ua