

МИКРОБИОЛОГИЯ

А. Е. КРИСС и А. С. ТИХОНЕНКО

**СТРОЕНИЕ КОРПУСКУЛА БАКТЕРИОФАГА**

(Представлено академиком А. И. Опариным 14 VII 1952)

В работе, вышедшей в 1948 г., один из нас (2) высказал убеждение, что опубликованные данные по электронной микроскопии бактериофага, характерные картины сперматозондоподобных фигур с головкой и хвостиком «на примере ассоциатов фага наглядно иллюстрируют изменения в пространственном состоянии молекул белка, различные стадии перехода из глобулярной формы бактериофага в фибриллярную» (стр. 347). К этому мнению присоединился Герчик (4), который также считает, что головка бактериофага представляет собою свернутую длинную макромолекулу.

Настоящее сообщение в краткой форме излагает результаты изучения свыше 500 электронно-микроскопических фотографий препаратов двух бактериофагов: бактериофага к спороносной палочке *Bac. typhimurium* и бактериофага к *Bact. lactis aerogenes*. Препараты этих фагов для электронной микроскопии приготавливались по методу капельного диализа (3) и видоизмененной методике выращивания культур бактерий на коллоидной пленке. В первом случае бульонные фаголизаты, титр которых был не ниже  $10^8$ — $10^{10}$ , наносились на опорную пленку для диализа при  $32^\circ$  на срок 18—20 часов, во втором случае фаголизис проводился на опорной пленке, покрывающей мембранный ультрафильтр, наложенный в свою очередь на поверхность мясоептонного агара, откуда и шел приток питательных веществ к пленке, необходимых для размножения бактерий. По пленке осторожно растиралось 0,05 мл смеси бактериофаг + бактерии (4 петли, диаметром в 1 мм, 24-часовой культуры бактерий с МПА суспензировались в 0,5 мл стерильной водопроводной воды; к этой суспензии добавлялись 3 петли бульонного фаголизата). Через 24 часа инкубации при температуре  $26^\circ$  (для фага к *Bac. typhimurium*) вырезался для электронной микроскопии участок пленки с *taches vierges*. Если применение метода капельного диализа могло вызвать сомнение в том, не подвергаются ли корпускулы бактериофага в процессе диализа структурным изменениям, то второй метод полностью исключал это сомнение. Он позволял рассматривать в электронном микроскопе *taches vierges* непосредственно без каких бы то ни было воздействий, в чем его выгодное преимущество перед методом отпечатков и перед другими методами приготовления препаратов фага для электронно-микроскопических исследований.

Рис. 1 дает примерное представление о разнообразии строения «головки» бактериофага, которое можно увидеть на электронно-микроскопических фотографиях препаратов бактериофага. «Головка» фага к спороносной палочке может быть очень крупной, бесструктурной (а), меньшего размера, но также гомогенной (б), сохранить тот же размер

однако, приобрести вид клеточного образования с оболочкой и характерными структурами внутри (в). Необходимо обратить внимание, что данные препараты напылялись различными металлами\*, и вполне очевидна обусловленность картин строения «головки» фага влиянием металла, примененного для напыления. Не только природа самого металла, но и расстояние его от объекта и угол, под которым проводится напыление, как известно, имеют существенное значение при контрастировании объекта методом напыления. Объект может быть недостаточно контрастным или, наоборот, настолько «запылен» металлом, что скрываются тонкие детали строения его. Следует иметь в виду, что неровность пленки и неодинаковое пространственное расположение объекта создают различия в степени подтененности даже рядом расположенных частиц, а следовательно, и в степени выявленности структурных особенностей их.

Нам довольно скоро удалось убедиться в том, что эти резко черные образования внутри «головки» фага отражают неровности в ней, обусловленные тем, что она представляет собою свернутую нить. На рис. 1 г показан участок препарата, где наблюдаются все переходы от картины, изображенной на рис 1 в, к спиралевидному строению «головки» фага.

В спиралевидном строении «головки» фага убеждают многочисленные фотографии бактериофага, полученные при оптимальных результатах напыления. Из-за недостатка места на рис. 2 а, 4 в, приведена лишь небольшая часть из того, что имеется в нашем распоряжении. На этих фотографиях видны свернутые спиралью нити, образующие «головку» бактериофага. Глобулярный вид бактериофага, круглая или овальная форма его, таким образом, создаются закрученной наподобие раковины улитки фибриллой.

О том, что «хвост» бактериофага является свободной частью спиралевиднозакрученной нити, показывают рис. 2 б, в и 4 г. По этим фотографиям легко заключить, что свободный конец нити может отходить в виде касательной к шару или перегибаться под прямым углом. В последнем случае отхождения свободного конца нити создается впечатление полной аналогии в строении фага и сперматозоида.

Более детальное изучение строения нити привело к открытию очень интересного факта: выяснилось, что нить представляет собою цепочку шариков. При оптимальных условиях напыления выявляются шаровидные структуры, расположенные нитевидно (рис. 3 а, б, 4 а, б). Они хорошо заметны, когда каждый шарик имеет свою «тень» или когда цепочка распадается. Как можно судить по рис. 3 в, не только свободный конец, но и спирально закрученная часть нити состоит из шариков. Итак, существенное значение проведенных электронно-микроскопических исследований заключается в установлении того факта, что корпускул фага является спиралевидно свернутой цепью шаровидных макромолекул белка.

Эта новая, надмолекулярная структура еще не известна в физико-химии белков. Она отличается от той структуры, которая называется линейной агрегацией молекул, например, линейного агрегата молекул мышечного белка-актина, представляющего собою линейную цепочку глобулярных белковых макромолекул,— тем, что цепь шаровидных макромолекул белка свернута спиралью. Корпускул бактериофага можно рассматривать как пример структурной организации белковых молекул, воспроизводящей в более сложном виде тип строения микромолекулы белка по теории С. Бресслера и Д. Талмуда (1). Если глобулярная микромолекула белка, согласно этой теории, является спиралевидно свернутой полипептидной цепью, то строение корпускула фага доказывает возможность свертывания в спираль цепи, состоящей из глобулярных макромолекул белка. Мы называем эту надмолекулярную структуру спира-

\* Напыление препаратов проводилось на расстоянии 8 см под углом 19°.

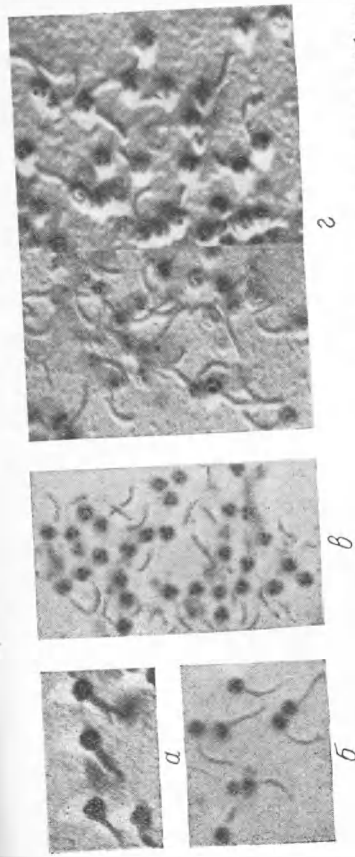


Рис. 1. Разнообразие строения «головок» бактериофага к *Vac. tuscoides*: а — крупные бесструктурные «головки» — напыление 3 мг хрома; б — мелкие бесструктурные «головки» — напыление 2,5 мг никрома; в — структурные «головки» — напыление 3 мг никрома; г — неодинаковая подтененность корпускул фага на отдельных участках препарата — напыление 3 мг хрома. Видны все переходы от бесструктурных «головок» к спиралевидному строению их.  $\times 28\,000$

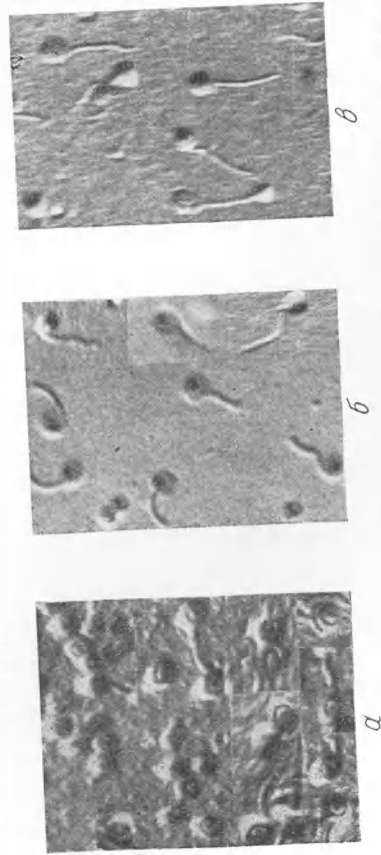


Рис. 2. Нитевидное строение корпускула бактериофага к *Vac. tuscoides*: а — спиралевидно свернутые нити, образующие «головку» фага; б, в — образование «хвоста» фага из свободного конца спиралевидно закрученной нити. Напыление 3 мг хрома.  $\times 28\,000$

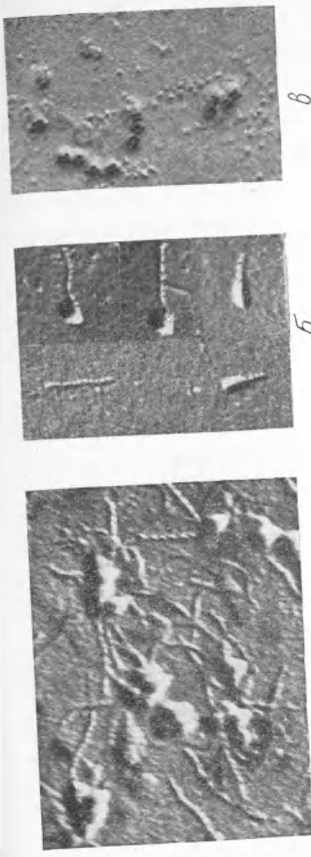


Рис. 3. Детали сравнения нити, образующей корпускул бактериофага. а, б — цепочка шариков, составляющая «хвост» бактериофага к *Vac. tuscoides*; в, г — образование «головки» фага из спиралевидно закрученной цепи шариков (в — фаг к *Vac. tuscoides*, г — фаг к *Vac. lactis aetogenes*). Напыление 3 мг хрома.  $\times 28\,000$

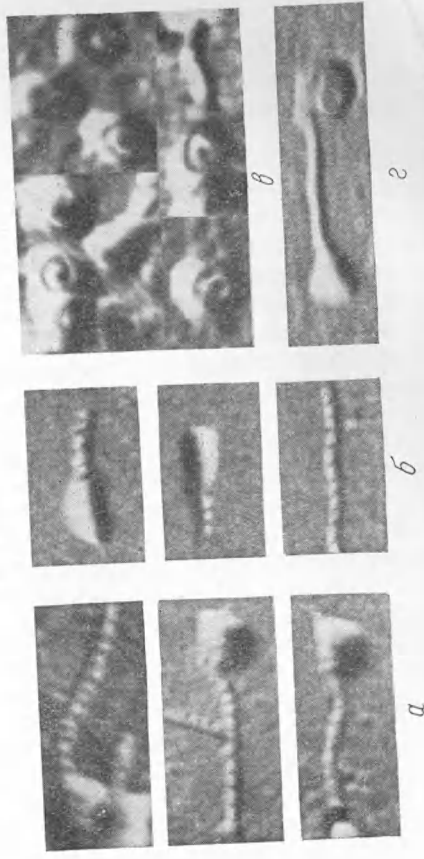


Рис. 4. Характер агрегации шаровидных макромолекул бактериофага к *Vac. tuscoides*: а, б — линейная агрегация шаровидных макромолекул в «хвосте» фага; в, г — спиралевидный тип агрегации шаровидных макромолекул, обуславливающий образование «головки» бактериофага. Напыление 3 мг хрома.  $\times 70\,000$

левидным типом агрегации глобулярных белковых макромолекул. Возможно, что свертывание цепочки глобул белка обусловлено нуклеиновыми остатками, но это предположение еще не имеет никаких фактических оснований.

Шаровидные макромолекулы белка, из которых составлен корпускул бактериофага, имеют в поперечнике 15—25 м $\mu$ . Это сравнительно крупная величина (необходимо учитывать, однако, увеличение размера глобулы белка за счет напыления металлом), соответствующая молекулярному весу в 100—300 тысяч. Представляет ли собою эта шаровидная белковая макромолекула элементарную частицу фага, обладающую его основными свойствами? На этот вопрос позволяют в определенной мере утвердительно ответить следующие наблюдения: препарат фага, который состоял преимущественно из разрозненных шаровидных макромолекул, имел высокую литическую активность, как и препарат с большим числом корпускул бактериофага обычного вида.

Наша гипотеза о строении комплексного корпускула бактериофага<sup>(2)</sup> уточняется данными электронной микроскопии: «Фигурой шара с вписанными в нее шариками меньших размеров (рис. 1)» (стр. 344) является «головка» бактериофага, образованная спиралевидно свернутой цепью шаровидных макромолекул белка.

В заключение укажем, что на электронно-оптических фотографиях можно обнаружить образования, имеющие вид дубинок. Они являются частью корпускул бактериофага, так как на некоторых фотографиях можно видеть, что эти дубинки составляют «хвост» корпускула бактериофага. Обращают на себя внимание также корпускулы фага с уплотненной и утонченной «головкой», слабо поглощающей и рассеивающей электроны. Вопрос о сущности этих образований будет рассмотрен в последующих сообщениях.

Поступило  
5 VII 1952

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

<sup>1</sup> С. Бресслер, Д. Талмуд, ДАН, 48, 326 (1944); 43, 367 (1944). <sup>2</sup> А. Крисс, Микробиология, 17, № 5, 340 (1948). <sup>3</sup> А. Крисс, В. Бирюзова, А. Золковер, Микробиология, 17, 484 (1948). <sup>4</sup> F. Herčík, Časopisu lékařů českých, 90, 925 (1951).