



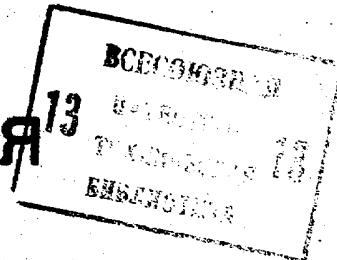
СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

(19) SU (11) 1131902 A

3 (5D) C 12 N 15/00 // C 12 Q 1/04

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР
ПО ДЕЛАМ ИЗОБРЕТЕНИЙ И ОТКРЫТИЙ

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ И АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ



- (21) 3664666/28-13
(22) 24.11.83
(46) 30.12.84. Бюл. № 48
(72) А.Л.Буланцев и В.Т.Кучеряева
(71) Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт
(53) 576.8.093.1(088.8)
(56) 1. Патент США № 4038143, кл. 195-100, опублик. 26.07.77.
2. Томов А.Ц., Цветкова Е., Милушева М. Лизогения у рода *Malleomycetes*. - "Микробиология", 1970, № 8, с. 102-105.

- (54) ШТАММ *PSEUDOMONAS PSEUDOMALLEI* СВБК 141 pur - УНИВЕРСАЛЬНЫЙ РЕЦИПИЕНТ ДЛЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ КУЛЬТУР *PSEUDOMONAS PSEUDOMALLEI* И *PSEUDOMONAS MALLEI*
(57) Штамм *Pseudomonas pseudomallei* СВБК 141 pur (Музей живых культур Института "Микроб") универсальный реципиент для генетической идентификации культур *Pseudomonas pseudomallei* и *Pseudomonas mallei*.

(19) SU (11) 1131902 A

Изобретение относится к микробиологии и может быть использовано для идентификации возбудителя мелииоза и сапа.

Известен комплект штаммов микроорганизмов для генетической индикации микроорганизмов [1].

Однако известный комплект штаммов не содержит индикаторного штамма на *Pseudomonas*.

Известен штамм *Pseudomonas pseudomallei* C141 - прототроф [2].

Однако данный штамм не может быть использован в трансформации в качестве реципиента ввиду отсутствия селективного маркера.

Целью изобретения является подбор штамма универсального реципиента для генетической идентификации культур *Pseudomonas pseudomallei* и *Pseudomonas mallei* от других видов бактерий.

Поставленная цель достигается с помощью штамма *Pseudomonas pseudomallei* СВБК 141 pur.

Штамм *Pseudomonas pseudomallei* СВБК 141 pur (коллекция Музея живых культур Института "Микроб", коллекционный номер СВБК 141 pur) получен методом селекционного отбора и характеризуется следующими признаками.

Культурально-морфологические признаки. Клетки прямые, палочковидные. Величина клеток двухсуточной культуры бактерий, выросших на мясопептонном глицериновом агаре (0,5-0,8) x (3,0-5,0) м.к. Подвижные, лофотрихи, спор и капсул не образуют, грамотрицательные.

На мясопептонном глицериновом бульоне через 1-2 суток растет диффузно, образуя придонный осадок и на поверхности нежную пленку.

Физиолого-биохимические признаки. Факультативный анаэроб. Оптимум роста при 32-34°C. На средах с глюкозой, лактозой, мальтозой, ксилозой осуществляет окисление без ферментации со сдвигом pH в кислую сторону. Лизин не декарбоксилирует, аргинин декарбоксилирует активно через 24 часа со сдвигом pH в щелочную сторону. Гидролизует желатин. Индол и сероводород не образует. Гемолизует эритроциты барана на четвертые сутки.

Штамм *Pseudomonas pseudomallei* СВБК 141 pur - ауксотрофен по гипоксантину. Обладает естественной

компенентностью. В тестах трансформации по маркеру ауксотрофности с хлороформированными бульонными культурами (хлороформенными лизатами) диких штаммов *Pseudomonas pseudomallei* и *Pseudomonas mallei* дает высокий уровень частоты трансформации авирулентен.

Пример. С целью проверки возможности генетической идентификации культур *P. pseudomallei* и *P. mallei* от других видов бактерий с помощью универсального реципиента *Pseudomonas pseudomallei* СВБК 141 pur испытаниям подвергают 15 видов *Pseudomonas* (по одному штамму каждого вида) 5 штаммов *E. coli*, 2 штамма *Pseudomonas*, 2 штамма *Shigella*, 1 штамм *Staphylococcus aureus*, 2 штамма *I. pestis*, 5 штаммов *P. mallei* и 5 штаммов *P. pseudomallei* (всего 37 штаммов-доноров), а также универсальный реципиент *Pseudomonas pseudomallei* СВБК 141 pur.

До проверки все испытываемые штаммы, кроме универсального реципиента, были зашифрованы произвольными цифровыми обозначениями. Кроме этого, были приготовлены и зашифрованы три культуральные смеси.

Исследуемые культуры бактерий высевают на Z-бульон (5 мл) и культивировали при 34°C в течение 48 ч. Затем бульонные двухсуточные культуры бактерий хлороформируют (т.е. эмульгируют с двумя мл хлороформа до получения жидкости молочного цвета). Хлороформированные культуры бактерий на 2 ч помещают в термостат, а затем переносят в холодильник (для удаления паров хлороформа и его полного осаждения). Хлороформенные лизаты проверяют на стерильность: высевают материал по 0,1 мл на поверхность Z-агара.

Идентификацию культур бактерий проводят следующим образом. Готовят смеси реципиантной культуры с исследуемым лизатом в равных объемах (обычно по 1 мл) и высевают их на минимальную среду по 0,1 мл.

Чашки с посевами инкубируют 4-5 суток. На чашках с посевами универсального реципиента просматривается фоновый рост, образованный ауксотрофными клетками и наблюдается появление колоний прототрофных клеток (рекомбинантов), которые появляются

ся в результате генетической трансформации при совпадении по гомологии донорного материала (ДНК в хлороформных лизатах) с реципиентными культурами.

Использование штамма СВБК 141 pur позволяет выявить 100% идентифицируемых культур бактерий.

Использование штамма *Pseudomonas pseudomallei* СВБК 141 pur универсального реципиента при применении метода генетической трансформации позволяет от дифференцировать культуры *Pseudomonas pseudomallei* и *Pseudomonas mallei* от других видов бактерий.

Составитель И.Красильников

Редактор А.Ревин Техред М.Пароцай

Корректор А.Обручар

Заказ 9719/21

Тираж 521

Подписное

ВНИИПИ Государственного комитета СССР

по делам изобретений и открытий

113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., д. 4/5

Филиал ИПИ "Патент", г. Ужгород, ул. Проектная, 4