

10. Состояние и перспективы разработки микробиологических стандартов на пищевые продукты в Болгарии // Хиг. и здравеопозв.-1993.- 36, №3.- С.36-38.
11. Бабарин В.П. Справочник по стерилизации консервов.-М.: Агропромиздат, 1987.- 271 с.
12. Report of the 4th FAO/WHO Working Group on the Establishment and Application of Microbiological Criteria for Foods, Dried Milk and Natural Mineral Waters.- Washington, 1980.- P.4-11.

УДК 557.21.044.14

С. Ф. Смотрин, аспирант;
В. Н. Кибальник, студент;
Н. А. Беясова, доцент;
Н. В. Гриц, доцент

ПОДБОР УСЛОВИЙ РАЗРУШЕНИЯ КЛЕТОК ЛАКТОКОККОВ ДЛЯ ИЗВЛЕЧЕНИЯ ПЛАЗМИДНОЙ ДНК

The conditions of a cell wall destroying and formation of sphaeroplasts of *Lactococcus* for following extract of DNA were chosen.

В современном производстве биологически полноценных и экологически безопасных кисломолочных продуктов питания используют закваски и бактериальные концентраты, в состав которых входят штаммы рода *Lactococcus*. В мировой практике для получения высокопродуктивных штаммов лактококков используют генноинженерные методы селекции, основанные на глубоком генетическом исследовании природных штаммов [1].

Существенным препятствием при конструировании штаммов лактококков является как слабая изученность генетики этих бактерий, так и отсутствие систем переноса генов между штаммами.

В связи с этим представляются перспективными разработка и применение генетических методов селекции с целью получения культур, стабильно сохраняющих комплекс требуемых свойств.

Целью данного исследования являлся подбор условий разрушения клеточной стенки лактококков для последующего выделения ДНК.

Таблица

Оптическая плотность растворов, содержащих ДНК, в зависимости от факторов обработки и разрушения клеточной стенки

Концентрация лизоцима, мг/мл	время обработки лизоцимом, мин	Концентрация β-меркаптоэ-танола, %	время обработки β-меркаптоэ-танолом, мин	Оптическая плотность, A ₂₆₀
6	60	0,015	15	0,254
2	60	0,015	15	0,075
6	40	0,015	15	0,078
2	40	0,015	15	0,053
6	60	0,005	15	0,102
2	60	0,005	15	0,039
6	40	0,005	15	0,101
2	40	0,005	15	0,033
6	60	0,015	5	0,133
2	60	0,015	5	0,059
6	40	0,015	5	0,068
2	40	0,015	5	0,066
6	60	0,005	5	0,236
2	60	0,005	5	0,050
6	40	0,005	5	0,071
2	40	0,005	5	0,033
6	50	0,010	10	0,074
2	50	0,010	10	0,048
4	60	0,010	10	0,069
4	40	0,010	10	0,055
4	50	0,015	10	0,060
4	50	0,005	10	0,050
4	50	0,010	15	0,046
4	50	0,010	5	0,058

Обработка клеток производилась лизоцимом с предварительной обработкой разрыхляющим агентом β -меркаптоэтанолом. Оптическая плотность раствора, содержащего ДНК, определялась при длине волны 260 нм после лизиса образовавшихся сферопластов и осаждения клеточного дебриса. В качестве лизирующего агента использовали SDS [2].

В ходе эксперимента варьировались концентрации лизирующего и разрыхляющего агентов, а также время обработки данными агентами. Эксперимент проводился в основных узлах плана, полученного при разложении четырехфакторного эксперимента на поля Галуа [3,4].

Результаты измерений представлены в табл.

Анализируя экспериментальные данные, можно сделать вывод о том, что наиболее приемлемыми для лучшего выхода ДНК являются концентрация лизоцима 6 мг/мл, время обработки 60 минут и предобработка клеток β -меркаптоэтанолом в концентрации 0,01% продолжительностью 10 минут.

ЛИТЕРАТУРА

1. Klaenhammer T.R., McKay L.L., Baldwin K.A. Improved lysis of group N Streptococci for isolation and rapid characterization of plasmid deoxyribonucleic acid // *Appl. and Envir. Microbiol.* - 1978. - V. 35, №3. - P. 592-600.
2. Миллер Дж. Эксперименты в молекулярной генетике. М.: Мир, 1976.- 432 с.
3. Стоянова Л.Г., Егоров Н.С., Полин А.Н. Слияние протопластов молочнокислых стрептококков // *Антибиотики и медицинская биотехнология.* - 1987. - Т.32, № 2. - С.89-97.
4. Янковский Д.С. и др. Получение протопластов и регенерация клеток у некоторых заквасочных штаммов молочнокислых и уксуснокислых бактерий // *Прикладная биохимия и микробиология.* - 1993. - Т.29. - Вып.3. - С.751-756.