

УДК 579.87

## ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ МИКОПЛАЗМ: ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ ГЕНОВ ЦИТОАДГЕЗИНОВ У КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ *Mycoplasma hominis*

© 2005 г. О. В. Горшков, В. М. Чернов, О. А. Чернова, Н. Б. Баранова, Т. А. Акопиан

Представлено академиком И.А. Тарчевским 17.02.2005 г.

Поступило 17.02.2005 г.

Отсутствие клеточной стенки, редукция генома и ограниченные биосинтетические возможности не являются для микоплазм (класс Mollicutes, домен Eubacteria) существенным препятствием в преодолении разнообразных защитных систем высших организмов. Адаптация к неблагоприятным условиям, персистенция в организме высших эукариот и циркуляция в природе микоплазм обеспечиваются генетической пластичностью этих тахителичных бактерий [1–4]. В связи с этим генетически опосредованная вариабельность поверхностных иммунодоминантных белков микоплазм, определяющая преодоление иммунного контроля и колонизацию микроорганизмами клеток хозяина, представляет особый интерес [5].

*Mycoplasma hominis* – оппортунистический патоген человека, способный колонизировать эпителиоциты человека и вызывать как урогенитальные, так и экстрагенитальные заболевания [2, 4]. Адгезия этих микроорганизмов к эпителиоцитам опосредуется поверхностным иммунодоминантным белком *Vaa* [4]. Вариабельность этого белка может способствовать персистенции микоплазм у разных индивидуумов. Выяснение особенностей первичной структуры генов иммунодоминантного белка *Vaa* у клинических изолятов *M. hominis* составило цель наших исследований.

В настоящей работе представлены данные об особенностях полиморфизма *vaa*-генов, выявленных у клинических изолятов *M. hominis*. Впервые установлена гипервариабельность иммунозначимой зоны *Vaa*, которая (наряду с различной модульной организацией *vaa*-генов) может определять разнообразие версий иммунодоминантного

белка *M. hominis*, существенное для персистенции этих микроорганизмов в организме человека.

В работе были использованы клинические изоляты *M. hominis*, выявленные в результате анализа клинического материала (соскобы эпителиальных клеток из цервикального канала и уретры) пациентов (клиники кафедры акушерства и гинекологии Казанской медицинской академии) на наличие микоплазм с помощью коммерческого набора реагентов, для обнаружения ДНК *M. hominis* методом полимеразной цепной реакции с праймерами на участок 16S рДНК (“Литех”, Россия).

Полученные изоляты *M. hominis* подрачивали на жидкой среде Эдварда, содержащей инфузат бычьего сердца, лошадиную сыворотку (15%), свежий дрожжевой экстракт (10%), аргинин (0.5%), бензилпенициллин (1000 ед/мл) и феноловый красный (0.1%) в качестве индикатора рН среды. Культивирование проводили в течение 3–7 дней при 37°C. ДНК из биопроб и изолятов выделяли с использованием коммерческого набора “ДНК-экспресс” (“Литех”, Россия) согласно инструкции фирмы-изготовителя. Амплификацию *vaa*-гена *M. hominis* осуществляли с использованием олигонуклеотидных праймеров, синтезированных в НПО “Литех” (Россия) на основе нуклеотидных последовательностей, фланкирующих ген: F1: 5'-CCC CGG AGA TTA TTA AGT CTC-3'; R1: 5'-GTG CCC ATT AGT AGC ACT ATT TTT TG-3', согласно [6]. ПЦР выполняли на программируемом термоциклере Терцик (“ДНК-технология”, Россия) в три этапа: 94°C – 30 с (1 цикл); 93°C – 20 с, 58°C – 40 с, 72°C – 1 мин (30 циклов); 72°C – 10 мин (1 цикл). Ферментативный гидролиз ДНК *vaa*-ампликонов проводили с использованием эндонуклеаз рестрикции HindIII и Hin61 (“Fermentas”, Литва) в соответствии с инструкцией фирмы-изготовителя. Электрофоретическое разделение фрагментов ДНК осуществляли в 2%-ном агарозном геле в трис-ацетатной буферной системе (рН 8.0–8.2). В качестве маркера молекулярных масс использовали фрагменты GeneRules DNA Ladder (“Fer-

Казанский институт биохимии и биофизики  
Казанского научного центра  
Российской Академии наук  
Научно-исследовательский институт  
физико-химической медицины,  
Москва