

**ЭКСПОРТИРУЕМЫЕ БЕЛКИ МИКОПЛАЗМ:
ПРОТЕОМ ЭКСТРАКЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАННЫХ ВЕЗИКУЛ
ACHOLEPLASMA LAIDLAWII PG8**

© 2014 г. А. А. Музыкантов, Н. Б. Баранова, Е. С. Медведева,
Т. Ю. Григорьева, О. А. Чернова, В. М. Чернов

Представлено академиком И.А. Тарчевским 02.09.2013 г.

Поступило 07.10.2013 г.

DOI: 10.7868/S086956521407024X

Большой объем теоретических и экспериментальных данных, полученных за последнее время в отношении микоплазм, определил существенный прогресс в понимании молекулярной и клеточной биологии мельчайших прокариот [1]. В результате геномно-транскриптомно-протеомного профилирования, а также наноскопии были выявлены стресс-реактивные гены и белки ряда микоплазм и показано, что адаптация к условиям среды, межклеточные взаимодействия и патогенность этих микроорганизмов в значительной мере связаны с экстраклеточными мембранными везикулами бактерий [1, 2]. Экстраклеточные везикулы (ЭВ) представляют важнейшую часть бактериального секрета. Обнаруженные несколько десятилетий назад у грамотрицательных бактерий, недавно они были выявлены у грамположительных бактерий [3], архей [4], а также микоплазм [1, 2], и стали объектом пристального внимания исследователей. Оказалось, что экстраклеточные мембранные везикулы это сферические окруженные мембраной наноструктуры. Помимо мембранных компонентов они могут содержать цитоплазматические белки, токсины, а также нуклеотидные последовательности ДНК и РНК [1, 2, 5]. Эти органеллы опосредуют трафик широкого спектра компонентов, перенос детерминант вирулентности и формирование резистентности к антибактериальным препаратам. Они участвуют в сигналинге, межклеточных коммуникациях, патогенезе и представляют собой новый тип инфектогенов, изучение которого необходимо для анализа антагонистических отношений бактерий в сообществах, взаимодействия микрофлоры человека с

колонизированными ею клетками и коррекции стратегии контроля патогенов [6]. Для проведения соответствующих исследований нужна всесторонняя характеристика везикулярных структур с определением всех их компонентов, что предполагает применение комплексного подхода, основанного на современных физико-химических и молекулярных методах, включающих постгеномные технологии. Результаты протеомных исследований ЭВ ряда бактерий уже представлены в базах данных. Сведения в отношении ЭВ микоплазм в них отсутствуют. В этой связи глобальное протеомное профилирование экстраклеточных мембранных везикул *A. laidlawii* и инвентаризация белков, экспортируемых из клеток микоплазмы посредством везикулярных структур, явились задачей нашей работы.

В результате наших исследований впервые с помощью масс-спектрометрии (LC-ESI-MS/MS) в составе ЭВ *A. laidlawii* PG8 были идентифицированы 97 белков.

В работе использован штамм *Acholeplasma laidlawii* PG8, полученный из коллекции микроорганизмов Института эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи РАМН (Москва). Культуру клеток *A. laidlawii* PG8 после музейного хранения выращивали при 37°C в жидкой питательной среде Эдварда с модификациями [1]. Выделение ЭВ из культуры микоплазмы (логарифмическая фаза роста) и контроль чистоты препаратов (отсутствие в образцах клеток микоплазмы) осуществляли как описано [2]. Атомно-силовую микроскопию проводили согласно [2]. Трипсинолиз везикулярных белков проводили в растворе и анализировали с помощью хромато-масс-спектрометрии (LC-ESI-MS/MS) согласно [7]. Идентификацию белков осуществляли с помощью программы Mascot MS/MS Ions Search. Классификацию идентифицированных белков проводи-

*Казанский институт биохимии и биофизики
Казанского научного центра
Российской Академии наук
Казанский (Приволжский) федеральный университет*