

**ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МИКОПЛАЗМ И РАСТЕНИЙ:
ЭКСТРАКЛЕТОЧНЫЕ МЕМБРАННЫЕ ВЕЗИКУЛЫ
И ФИТОПАТОГЕННОСТЬ *ACHOLEPLASMA LAIDLAWII* PG8**

© 2013 г. В. М. Чернов, О. А. Чернова, О. В. Горшков, Н. Б. Баранова,
А. А. Музыкантов, Т. Н. Нестерова, А. А. Пономарева

Представлено академиком И.А. Тарчевским 05.07.2012 г.

Поступило 10.07.2012 г.

DOI: 10.7868/S086956521316024X

Acholeplasma laidlawii является уникальным, принимая во внимание адаптивные способности, видом микоплазм (класс Mollicutes). Эта микоплазма широко распространена в природе, обнаруживается в почве и сточных водах, тканях высших эукариот, является одним из пяти основных контаминантов клеточных культур и возбудителем фитомикоплазмозов [1, 2]. Контроль микоплазменных инфекций представляет серьезную проблему, решение которой связывают с выяснением механизмов адаптации микоплазм к условиям среды, формирования системы “паразит–хозяин” и реализации вирулентности [2, 3]. Расшифровка генома *A. laidlawii* [4] обеспечила возможность применения постгеномных технологий для определения молекулярно-генетических основ выживания микоплазмы в разных условиях среды [2]. В результате протеомно-транскриптомного анализа, а также наноскопии были идентифицированы стресс-реактивные белки и гены *A. laidlawii* PG8 и показано, что адаптация микоплазмы к неблагоприятным факторам связана с секрецией экстраклеточных мембранных везикул (ЭКМВ) [2]. Было установлено, что ЭКМВ *A. laidlawii*, помимо компонентов мембраны, содержат нуклеотидные последовательности ряда генов, а также растворимые белки, участвующие в бактериальной вирулентности, и проявляют высокую мутагенность в отношении клеток высших эукариот [5]. ЭКМВ опосредуют у бактерий секрецию, участвуют в сигналинге, межклеточных взаимодействиях и патогенезе [6]. Предполагается, что ЭКМВ могут вносить существенный вклад и в фитопатогенность бактерий [7–9], в том числе микоплазм [2]. Так, фитопатогенность адаптированной к стрессовым условиям *A. laidlawii*, клетки которой в

отличие от неадаптированной бактерии не проникают через корневую систему *Oryza sativa* L, может быть опосредована ЭКМВ микоплазмы. Однако сведения об исследованиях фитопатогенности ЭКМВ бактерий в литературе пока отсутствуют. Задачей данной работы явилось выяснение особенностей взаимодействия экстраклеточных мембранных везикул *A. laidlawii* PG8 с растениями (*O. sativa* L.).

В работе использован штамм *A. laidlawii* PG8, полученный из коллекции микроорганизмов Института эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи (РАМН, Москва). Клетки *A. laidlawii* PG8 выращивали при 37°C в жидкой питательной среде Эдварда с модификациями [3]. ЭКМВ выделяли из культуры *A. laidlawii* PG8 (стабионарная фаза роста, 45 ч) согласно [5]. Выращивание растений *O. sativa* L. (рис посевной) на среде, содержащей мембранные везикулы *A. laidlawii* PG8, проводили согласно [2].

Трансмиссивную электронную микроскопию проводили согласно [10].

ДНК из клеток микоплазм и тканей растений выделяли согласно [11]. ДНК из ЭКМВ выделяли с использованием коммерческого набора ДНК-экспресс (“Литех”, Москва). До экстракции нуклеиновых кислот образцы мембранных везикул микоплазмы обрабатывали ДНКазой I (37°C, 30 мин). Выделение тотальной РНК из тканей листьев *O. sativa* L. проводили с использованием коммерческого набора SV Total RNA Isolation System (“Promega”, Германия) согласно инструкции производителя.

Для амплификации нуклеотидных последовательностей генов *tufB* (105 п.н.) и *ftsZ* (1133 п.н.) *A. laidlawii* PG8 использовали праймеры (*tufB*: AqF3, 5'-ccaggtcagcgtgactatgtt-3', AqR3, 5'-acgagtttgccattggac-3'; *ftsZ*: AlaF1, 5'-ggttttggatttaacgatg-3', AlaR1, 5'-gcttccgctcttttattt-3'), сконструированные на основе данных о нуклеотидных последовательностях