

11. Li Y.F., Zhulidov, A.V., Robarts, D.R., Korotova, L.G. Hexachlorocyclohexane Use in the Former Soviet Union. //Arch. Environ. Contam. Toxicol. – 2004. – 48.–P.10–15.
12. Mortelmans K, Zeiger E. The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay// Mutat.Res. –2000. –20, N 2.–P.29–60.
13. Piskac-Collier A.L, Smith M.A. Lindane-induced generation of reactive oxygen species and depletion of glutathione do not result in necrosis in renal distal tubule cells // J. Toxicol.Environ.Health . – 2009. –72, №19. – P.1160-1167.
14. Ronco A.M, Valdes K, Marcus D, Llanos M. The mechanism for lindane-induced inhibition of steroidogenesis in cultured rat Leydig cells // Toxicol. – 2001. – 159. – P.99–106.
15. Tanaka T, Ishii M., Nakano S, Mori Y, Yano Y, Iijima T, Takeda K., Kido Y. Microbial degradation of disinfectants: two new aromatic degradation products of chlorhexidine, chlorhexidine aromatic degradation products (CHADP)-4, CHADP-6 produced by *Pseudomonas sp.* strain № A-3 //J. Health Sci. –2006. –52, N1. – P.58-62.
16. Test Methods for Evaluating Solid Waste, Physical/Chemical Methods, 3rd Edition, U.S. EPA, Washington, DC, 1990. – EPA Method 8120 A. – 1990. – 456 p.
17. Walker K., Vallero D.A. and Lewsi R.G. Factors influencing the distribution of Lindane and other hexachlorocyclohexanes in the environment // Environ. Sci. and Techn. –1999. –33, N24. –P. 4373–4378.

Отримано 12.10.2010

УДК 578.26:579.842.1/2

Т.В. Іваница², Ф.І. Товкач^{1,2}

¹Інститут мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України,
ул. Академіка Заболотного, 154, Київ, ГСП, Д03680, Україна

²Одеський національний університет ім. І.І. Мечникова,
ул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна

ОБНАРУЖЕНИЕ БАКТЕРИОФАГОВ СЕМЕЙСТВА SIPHOVIRIDAE У *ERWINIA CAROTOVORA* SUBSP *CAROTOVORA*

Установлено, що фагова система полілізогенної культури *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* 91П включає: а) дефектні бактериофаги родини *Myoviridae*, які проявляються як макромолекулярні каротоворіцини; б) цінний крайню нестабільний помірний фаг, який можна віднести до родини *Myoviridae*, і який, можливо, представляє собою аналог фага ZF40 [6]; в) стійкий до осмотического шоку помірний фаг родини *Siphoviridae*. Цей фаг, названий TIR1, складається з ізометричної головки з діаметром 50 нм і ригідного хвостового отростка довжиною 203 нм. Характерною особливістю фагового отростка є чітко виражене наявність дисків, що показательно також для хвостового отростка дефектного помірного фага штаму 48А-7/4б. В цілому фагова система *E. carotovora* subsp. *carotovora* схожа на таку у *Pseudomonas aeruginosa* з її R- і F-бактеріоцинами, а також фагами родини *Myoviridae* і *Siphoviridae*.

Ключові слова: *Erwinia carotovora*, вірусоподібні частини, помірні бактериофаги, *Myoviridae*, *Siphoviridae*.

Бактеріофаги порядку *Caudovirales* розділені на три родини: *Myoviridae*, *Siphoviridae* і *Podoviridae*. Віруси цих родин мають принципово різне будову хвостового отростка. Родина *Myoviridae* включає фаги з складними скоротимими отростками, тоді як дві інші родини характеризують фаги, у яких хвостові отростки не здатні скоротитися. При цьому для *Siphoviridae* характерні довгі, ригідні отростки, а для *Podoviridae* – короткі, конусовидні.

Відомо, що життєспроможні бактериофаги фітопатогенної бактерії *Erwinia carotovora* зустрічаються в оточуючій середі не так часто, як помірні і вірулентні віруси інших ентеробактерій. Загалом, кількість ервініофагів обмежена одиницями, тому будь-яка інформація про ці віруси представляє значущий інтерес.

Однозначно встановлено, що полілізогенне станування *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (Есс) представлено дефектними профагами, експресія яких призводить до синтезу окремих компонентів віріонів – хвостових отростків, капсидів і базальних пластинок, які не здатні збиратися в цінні частини [7]. В подавляючій більшості

© Т.В. Іваница, Ф.І. Товкач, 2011

дефектные фаги этой бактерии относятся к семейству *Muoviridae*, так как их хвостовые отростки имеют характерное строение и способны к сокращению. С другой стороны, некоторые штаммы *Есс* несут профаги жизнеспособных вирусов, к которым, например, можно отнести умеренный эрвиниофаг ZF40 [6].

Однако, несмотря на интенсивные исследования, предпринятые в последние годы, открытым остается вопрос о наличии у *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* фагов двух других семейств, особенно фагов семейства *Siphoviridae*, которые наиболее распространены среди бактериальных вирусов с хвостовыми отростками [12].

В связи с этим, целью представленной работы было обнаружение умеренных бактериофагов семейства *Siphoviridae* у важного фитопатогена *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*.

Материалы и методы. В качестве продуцента фага и вирусоподобных частиц был использован штамм *E. carotovora* subsp. *carotovora* 91П [11].

Для тестирования МСТV и колициноподобных каротоворицинов применяли индикаторные культуры из отдела молекулярной генетики бактериофагов ИМВ: 48А, 48А-7/4б, 62А, ZM1, J2, RC5297, 68А, 50RI, RC5195, Ec153, uBR11, uBR13, B11, NCA2-1, B13, B15, Va1, B17, NGE6, 36, 37Б, 2М, 8946, 68, 48П, 91П, 8946, 47а, 741, 549, 8458, 8982, 75, 718, 23, 7А, 43А, М 2-4, 44А.

Выход вирусоподобных частиц под воздействием митомицина С проводили в среде А с глюкозой по следующей схеме. Ночную культуру *Есс* подрачивали при активной аэрации в экспоненциальной фазе роста клеток и добавляли митомицин С в концентрации 1 мкг/мл. Продолжали инкубирование еще в течение 1 часа, после этого культуру оставляли лизировать при комнатной температуре на 18 часов, без аэрации. Полученные лизаты осаждали в течение часа при 5000 оборотов, 4 °С. Супернатант центрифугировали снова при 25000 оборотов 3 часа, 10 °С. Полученный осадок ресуспендировали в 500 мкл буфера STMG или STMF. Полученную суспензию освобождали от остатков клеток и конгломератов фаговых частиц путем их осаждения на микроцентрифуге ELM1 при 11000 об/мин в течение 5 мин.

Киллерную активность бактериоцинов в препаратах оценивали по наличию прозрачности и зон лизиса на газонах индикаторных культур.

Плавучую плотность нативных фаговых частиц оценивали в преформированных градиентах. Двухступенчатые градиенты CsCl (1,42 г/см³ и 1,60 г/см³) готовили в центрифужных пробирках на 5 мл непосредственно перед центрифугированием. Суспензию фага наслаивали на градиент и центрифугировали в роторе SW55 при 35000 об/мин, 4 часа, при 10 °С. Плотность полученных фракций (объем – 200мкл) определяли по показателю преломления.

Фаговую ДНК выделяли, как описано в работе [8]. Для ее гидролиза использовали следующие эндонуклеазы рестрикции: *EcoRI*, *HindIII* и *BamHI*. В качестве маркера молекулярного веса использовали ДНК фага λ, обработанную рестриктазой *HindIII*. Электрофорез нативных фаговых частиц, их капсидов, выделенной ДНК, а также рестрикционных фрагментов проводили в 0,8-1,0 % гелях агарозы при напряженности электрического поля 6-8 В/см.

Полученную вирусную суспензию анализировали с помощью электронной микроскопии. Для электронномикроскопических исследований [9, 15] использовали препараты фаговых частиц, МСТV, VLP, полученных с помощью ультрацентрифугирования. Очищенную суспензию наносили на поддерживающие сетки со слоем нитроцеллюлозы, полученной с 1 % ее раствора в амилацетате. На этих сетках образцы выдерживали от 20 до 60 мин, а затем контрастировали 2%-ным уранил ацетатом. [13]. ЭМ-исследования проводили с использованием электронного микроскопа JEOL 1400 (Япония). VLP наблюдали при инструментальном увеличении 30000-40000. Максимальный диаметр капсида определяли по расстоянию между противоположными вершинами его гексагональной проекции. Полную длину хвостового отростка измеряли от портовой вершины до конца базальной пластинки включительно [6].

Результаты и их обсуждение. Как отмечалось ранее, на частоту обнаружения бактериофагов *E. carotovora* могут оказывать влияние несколько факторов [2]. Множественная дефектная лизогения у *Есс* является наиболее существенным из них. Массовый выход дефектных фаговых частиц маскирует проявление репродукции жизнеспособного бактериофага и затрудняет его идентификацию на индикаторном штамме, который является чувствительным к киллерному действию бактериоцинов типов фаговых хвостовых отростков. Кроме того, развитие фаговой инфекции в клетках чувствительной культуры часто является неадекватным. Например, показано, что фаг ZF40 вызывает abortивную инфекцию в клетках штамма *Есс* J2

[4], тогда как штамм *E. coli* RC5297 нормально поддерживает его репродукцию и лизогенизацию [5]. С другой стороны, у *E. carotovora* subsp. *carotovora* широко распространены системы рестрикции-модификации, которые существенно ограничивают развитие при первичной адаптации фага к новому хозяину [5].

Для преодоления указанных трудностей поиск фагов проводили с использованием недавно предложенного нами метода обнаружения вирусоподобных фаговых частиц (VLP) непосредственно в индуцированных лизатах клеток [10]

Как видно из электрофореграммы, представленной на рис. 1, которая была получена, как описано в [1], каждый из трех штаммов *E. coli* 37Б, 68 и 91П содержит вирусоподобные частицы, ассоциированные с молекулами ДНК (VLP-ДНК). Указанные частицы характерны также почти для всех штаммов *E. carotovora*, использованных в данном исследовании. Причем, самое большое количество этих частиц обнаруживается в лизатах, полученных при лизогенной индукции клеток митомицином С. При этом штамм *E. coli* 91П характеризовался повышенным содержанием VLP-ДНК, тогда как данные частицы в налидиксовых лизатах этого и других штаммов были представлены приблизительно в одинаковых количествах. VLP-ДНК *E. carotovora* subsp. *carotovora* 91П, обнаруженные в митомициновых лизатах, имели несколько необычных особенностей, по сравнению с таковыми других штаммов *E. coli*, описанных ранее [1]. Во-первых, эти частицы были менее подвижны, чем ДНК, изолированная при их разрушении 0,5 % SDS и повышенной температурой (60 °С) (рис. 1, дорожки 7 и 8). Во-вторых, концентрированные митомициновые лизаты клеток *E. coli* 91П содержали VLP-ДНК, которые характеризовались хорошо выраженной диффузной полосой (рис. 1, дорожка 7). И, наконец, ДНК, полученная из указанных VLP, в отличие от таковых из частиц, содержащихся в налидиксовых лизатах, была гетерогенной по размеру, что подтверждает трековая полоса на электрофореграмме (рис. 1, дорожка 8). Эти особенности на этапе проведения данных исследований объяснить достаточно трудно. Тем не менее, рестрикционный анализ ДНК, полученных детергент-фенольным методом из частиц как налидиксовых, так и митомициновых лизатов (рис. 2), показал, что они содержат уникальные последовательности.

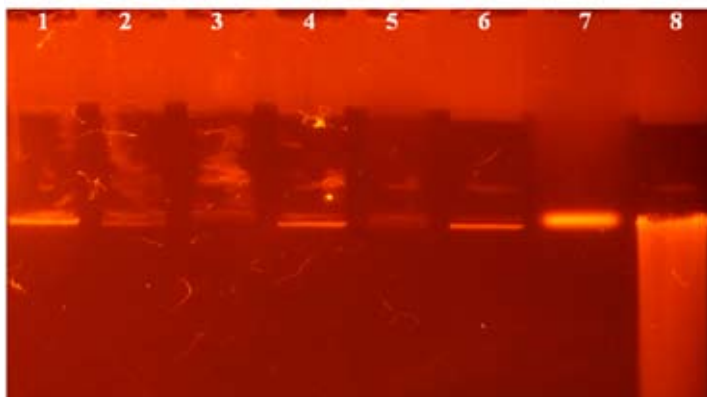


Рис. 1. Электрофореграмма вирусоподобных частиц, полученных из штаммов 37Б(1,2), 68 (3,4), 91П (5,6,7,8): контрольные образцы VLP: 1, 3, 5, 7; опытные, обработанный SDS и температурой: 2, 4, 6, 8; "*" - с 1 по 6 образцы были получены путем индукции налидиксовой кислотой; "***" - 7 и 8 образцы были получены путем индукции митомицином С

Именно такие последовательности ДНК, как правило, характерны для вирусных геномов, которые упакованы в VLP. С помощью эндонуклеаз рестрикции *EcoRI*, *HindIII*, *EcoRV* и *BamHI* удалось показать, что вирусные ДНК не всегда полностью гидролизуются ферментами. Наличие негидролизованной ДНК подтверждается присутствием *EcoRI*- *HindIII*- и *BamHI* фрагментов, размер которых значительно превышает таковой первого фрагмента *HindIII*/λ, ДНК фага λ, составляющего 23 кб. С другой стороны, продукты гидролиза ДНК эндонуклеазами, кроме таковых *EcoRV*, характеризуются субмолярными фрагментами ДНК, интенсивность и, соответственно, молярное количество которых является более низкой по сравнению с другими полосами на одной и той же электрофоретической полосе. Эти факты однозначно свидетельствуют о наличии в общей популяции VLP более чем одного набора

уникальной последовательности ДНК. Другими словами, митомциновые лизаты ДНК-VLP *E. carotovora* subsp. *carotovora* 91П содержат не менее двух уникальных типов частиц вирусной природы, возможно, двух типов фаговых частиц или разных размеров, или таких, которые относятся к различным вирусным семействам.

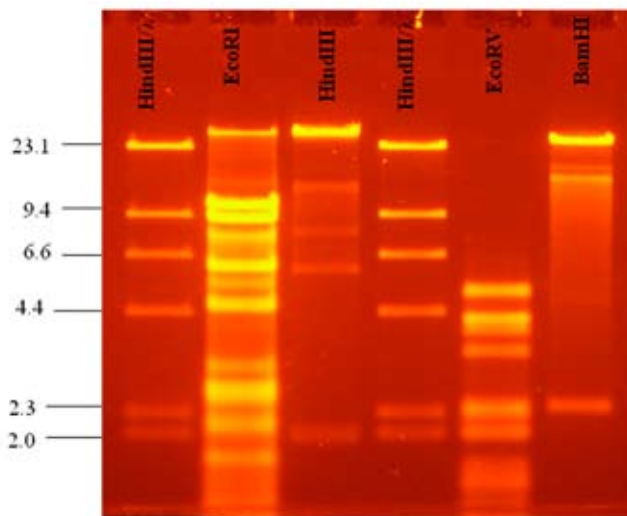


Рис. 2. Электрофореграмма рестриционных фрагментов ДНК, выделенных из VLP Эсс 91П: “*” – вверху указаны эндонуклеазы рестрикции; “**” – слева приведены размеры фрагментов маркера молекулярного веса *HindIII/λ*.

Для того, чтобы окончательно убедиться в многокомпонентности вирусоподобных частиц, митомцинового лизата Эсс 91П были проведены электронномикроскопические исследования их концентрированной суспензии. Как и ожидалось, в составе этой суспензии были обнаружены вирусные частицы типа фаговых хвостовых отростков и отдельных капсидных структур. Причем первые преобладали во всех электронномикроскопических препаратах. Кроме того, наличие частиц этого типа коррелировало с киллерной активностью индуцированных лизатов Эсс91П, которая проявлялась на индикаторных штаммах Эсс, M2-4/50RI, J2, RC5297, 66F, 13Б, NGE6, 36, 2М, 8946, 8458, 718, 7А, 43А. Таким образом, VLP типа фаговых хвостовых отростков, исследуемого штамма, представляют собой макромолекулярные каротоворицины или MCTV [7]. Кроме дефектных фаговых частиц индуцированные лизаты содержали полноценные фаговые вирионы семейства *Myoviridae* и *Siphoviridae*, которых по количеству было поровну, но меньше, чем MCTV и капсидных структур.

Так как фаги типа ZF40 *E. carotovora* являются достаточно нестабильными в окружающей среде за счет повышенной чувствительности к осмотическому шоку и температуре [3], и их изучение требует особых подходов, обнаруженный нами у Эсс 91П фаг семейства *Myoviridae* в последующем не использовался. Для того, чтобы избавиться от этого вируса и обогатить популяцию фаговых частиц *Siphoviridae*, их концентрированная суспензия была подвергнута скоростному центрифугированию в двухступенчатом градиенте хлористого цезия (1,42 и 1,60 г/см³). Ожидали, что частицы нестабильного фага с сократимыми хвостовыми отростками вместе с MCTV и отдельными капсидами в процессе центрифугирования будут собраны на вершине градиента как белковые структуры с плавучей плотностью 1,3 г/см³, тогда как вирионы стабильного сифофага сформируют отдельную полосу в центре пробирки. Действительно, после проведения эксперимента в центрифужной пробирке была получена единственная полоса незначительной интенсивности, которая соответствовала плавучей плотности около 1,5 г/см³, показательной для фаговых частиц, заполненных ДНК.

Тщательные электронномикроскопические исследования содержимого этой полосы показали наличие частиц исключительно морфотипа В1, т.е., вирионов с капсидами в виде правильного икосаэдра с длинными несократимыми отростками, характерными для фагов семейства *Siphoviridae* (рис. 3, А). В гексагональной проекции головка этого фага представляет собой правильный шестиугольник, расстояние между противоположными вершинами

которого составляет 50 нм. Эта величина была принята за максимальный диаметр фагового капсида.

Как видно из рис. 3, А, фаговый хвостовой отросток достаточно ригидная структура с хорошо выраженной поперечной исчерченностью и со средней длиной 203 нм. Несмотря на повышенную жесткость, отростки некоторых вирионов имеют изгиб или в середине, или в своей дистальной части. В редких случаях средняя часть отростка выглядит как более расширенная по сравнению с проксимальными и дистальными участками. По нашим подсчетам ширина отростка составляет около 10 нм. В последующих опытах мы попытались определить круг хозяев среди штаммов *E. carotovora* subsp. *carotovora* для выделенного нами бактериофага из семейства Siphoviridae. Все опыты по титрованию фаговых частиц, обогащенных и очищенных в градиенте CsCl, на разных штаммах *E. carotovora* subsp. *carotovora* оказались отрицательными.

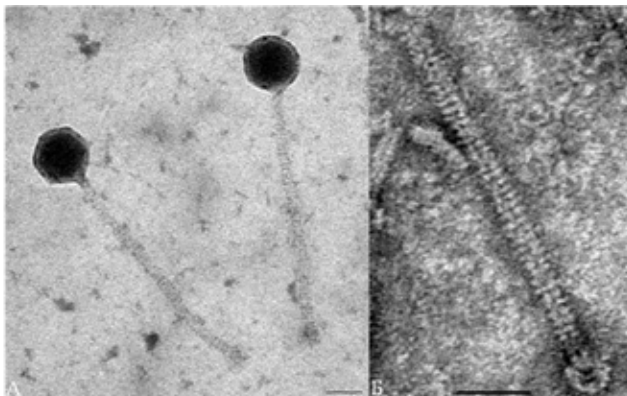


Рис. 3. Электроннограмма фаговых и VLP препаратов, которые были обнаружены после индукции митомицином С в штаммах Есс 91П и 48А-7/4b: А – фаги семейства Siphoviridae (бактериоцины F-типа), обнаруженные в штамме 91П; Б – хвостовые отростки, обнаруженные в штамме 7/4b.

Масштабные линии соответствуют 100нм

Полученные в этой работе результаты, а также данные предыдущих наших исследований однозначно подтверждают, что пектолитические эрвинии несут множество профагов различных типов. Это положение подтверждается также данными геномики. Штамм *E. carotovora* subsp. *carotovora* 91П несет не только полностью дефектные профаги, которые при лизогенной индукции экспрессируют дефектные частицы типа хвостовых отростков и капсидов, но, вероятно, и профаги полноценных умеренных фагов, способных собираться в целостные вирионы. Таким образом, обнаруженная система Есс 91П включает: а) дефектные бактериофаги семейства Myoviridae, которые проявляются как макромолекулярные каротоворицины; б) полноценный крайне нестабильный умеренный фаг, который можно отнести к семейству Myoviridae и который, возможно, представляет собой аналог фага ZF40 [6]; в) устойчивый к осмотическому шоку умеренный фаг семейства Siphoviridae.

Характерной особенностью последнего является очень длинный ригидный хвостовой отросток. Что касается поперечной исчерченности хвостового отростка, то она является показательной не только для обнаруженного фага, но и для хвостового отростка дефектного умеренного фага, недавно обнаруженного нами в штамме Есс 48А - 7/4b (рис. 3, Б). Дефектная лизогения с участием фагов семейства Siphoviridae, или бактериоцины F-типа – очень редкое явление в бактериальном мире. У *E. carotovora* указанный тип лизогенного состояния был обнаружен только при определенных искусственных условиях, при нарушении общей динамики бактериальной хромосомы и последующей индукции лизогенов [14].

В целом фаговая система *E. carotovora* subsp. *carotovora* очень похожа на такую у *Pseudomonas aeruginosa* с её R- и F-бактериоцинами, а также фагами семейства Myoviridae и Siphoviridae. Её изучение имеет перспективу для понимания таковых сложных явлений как полилизогения и её влияние на патогенность эрвиний.

Обнаруженный нами фаг назван TIR1.

ВИЯВЛЕННЯ БАКТЕРІОФАГІВ РОДИНИ SIPHOVIRIDAE У *ERWINIA CAROTOVORA* SUBSP *CAROTOVORA*

Резюме

Встановлено, що фагова система полілізогенної культури *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* 91П включає: а) дефектні бактеріофаги родини Myoviridae, які проявляються як макромолекулярні каротоворіцини; б) повноцінний вкрай нестабільний помірний фаг, який можна віднести до родини Myoviridae, і який, можливо, є аналогом фага ZF40 [6]; в) стійкий до осмотичного шоку помірний фаг родини Siphoviridae. Цей фаг названий TIR1, складається з ізометричної головки з діаметром 50 нм і ригідного хвостового відростка довжиною 203 нм. Характерною особливістю фагового відростка є добре виражена наявність дисків, що показово також для хвостового відростка дефектного помірного фага штаму 48A-7/4b. В цілому фагова система *E. carotovora* subsp. *carotovora* схожа на таку у *Pseudomonas aeruginosa* з її R-і F-бактеріоцинами, а також фагами родини Myoviridae і Siphoviridae.

Ключові слова: *Erwinia carotovora*, вірусоподібні частки, помірні бактеріофаги, Myoviridae, Siphoviridae.

T.V.Ivanytsia², F.I. Tovkach^{1,2}

¹Zabolotny Institute of Microbiology and Virology,

National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

²Odessa National Mechnikov University

DETECTION OF BACTERIOPHAGES OF SIPHOVIRIDAE FAMILY IN *ERWINIA CAROTOVORA* SUBSP.*CAROTOVORA*

S u m m a r y

It was established that the polylysogenic phage system of culture *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* 91P includes: a) defective bacteriophages of Myoviridae family, which are displayed as macromolecular carotovoricins b) valuable highly unstable temperate phage, which can be attributed to the family Myoviridae, and which, perhaps, is an analogue of phage ZF40 [6], and c) resistant to osmotic shock temperate phage of family Siphoviridae. This phage, called TIR1, consists of isometric head 50 nm in diameter and a rigid tail structure 203 nm long. A characteristic feature of the phage tail is an evident transverse striation, which is also indicative for the tail-like particle of the defective temperate phage of the strain 48A-7/4b. In general, the phage system of *E. carotovora* subsp. *carotovora* is similar to *Pseudomonas aeruginosa* with its R- and F-bacteriocins, and phages of the families Myoviridae and Siphoviridae.

The paper is presented in Russian.

Key words: *Erwinia carotovora*, virus-like particles, temperate phages, Myoviridae, Siphoviridae.

The author's address: Ivanytsia T.V., Odessa National Mechnikov University; 2 Dvoryanska St., Odessa, 65082, Ukraine.

1. Іваниця Т. В., Товкач Ф. І. Предварительная характеристика ДНК-содержащих вирусоподобных частиц *Erwinia carotovora* // Мікробіол. журн. – 2007. – **69**, № 3. – С. 19 –26.
2. Кушкіна А.І., Товкач Ф.І. Индикаторная система для изучения лизогенного развития умеренного бактериофага ZF40 *Erwinia carotovora* // Микробиол журн. – 2005. – **67**, № 3 – С. 50 – 60.
3. Паничина Г.І. Структурна організація геному помірного бактеріофага ZF40 *Erwinia carotovora*: автореф. дис. канд. біол. наук: спец. 03.00.06 “вірусологія” / Г.І. Паничина. – К., 2008. – 21 с.
4. Романюк Л.В., Товкач Ф.І., Іваниця Т.В., Кушкіна А.І., Остапчук А.Н., Горб Т.Е. Abortивная инфекция у *Erwinia carotovora* как источник наночастиц фаговой природы // Мікробіол. журн. – 2010. – **72**, №6. – С.51–57.
5. Товкач Ф.І. Изучение фагоустойчивости с помощью умеренного бактериофага ZF40 Мікробіол. журн. – 2002. – **71**, №1. – С. 82–88.
6. Товкач Ф.І. Структурная организация частиц и рестрикционный анализ ДНК умеренного бактериофага ZF40 *Erwinia carotovora*// Микробиология. – 2002. – **71**, №1. – С. 75 – 81.
7. Товкач Ф.І. Дефектная лизогения *Erwinia carotovora*// Микробиология. – 2002. – **71**, №3. – С. 359 – 367.

8. Товкач Ф.И. Рестрикционная карта пермутированной ДНК умеренного бактериофага 59 *Erwinia carotovora* / Товкач Ф.И., Григорян Ю.А., Рубан В.И., Данилейченко В.В., Кишко Я.Г. // Мол. генетика, микробиол., вирусол. – 1988. – №1. – С.20–24.
9. Товкач Ф.И. Полилизогения *Erwinia carotovora* 268 R / Товкач Ф.И., Григорян Ю.А., Рубан В.И., Кишко Я.Г. // Микробиол. журн. – 1984. – 46, № 3. – С.71 – 78.
10. Товкач Ф.И., Иваница Т.В., Кушкіна А.И. Характеристика дефектных частиц вирусной природы у бактерий рода *Erwinia* // Доповіді Національної Академії Наук України. – 2008. – №7. – С. 170 – 175.
11. Товкач Ф. И., Муквич Н. С. Изучение бактериоцинов *E. carotovora* с помощью бактериальных индикаторов, устойчивых к налидиксовой кислоте // Микробиология. – 2003. – 72, № 2. – С. 199 – 205.
12. Ackermann H.W. Frequency of morphological phage descriptions in 1995// Arch.Virology –1996. –141, N1. P. 209–219
13. Ackermann H.W. A catalogue of T4-type bacteriophages / H.-W. Ackermann, H.M. Krisch // Arch. Virol. – 1997. – 142, N12. – P. 2329 – 2345.
14. Ivanytsia T. Detection of flexible phage tail particles (F-type) in mitomycin C lysates of *Erwinia carotovora* // Ivanytsia T., Krylova K., Ostapchuck A., Sergeeva ZH., Tovkach F.// International conference: Viruses of Microbes. – Paris, June 21-25, 2010. –P.190
15. Kishko Y.G. Structure of *Erwinia carotovora* temperate bacteriophage 59 and its DNA / Y.G. Kishko, V.I. Ruban , F.I. Tovkach [et al.] // J.Virol. – 1983. – 46, N3. – P.1018 - 1021.

Отримано 06.12.2010

УДК 578.824+577.112.7 +.213.3

Н.Й. Пархоменко, Л.Ф. Діденко, Л.О. Максименко, Н.С. Дяченко

*Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України
вул. Академіка Д.К.Заболотного, 154, Київ, 03143, Україна*

ВПЛИВ СТРУКТУРНОГО Р-БІЛКА ВІРУСУ КУЧЕРЯВОЇ КАРЛИКОВОСТІ КАРТОПЛІ НА РЕПЛІКАЗНУ АКТИВНІСТЬ МРНП-КОМПЛЕКСІВ ІНФІКОВАНИХ РОСЛИН

*Всі представники рабдовірусів містять нуклеокапсидний фосфопротейн – Р-білок, який є субодиницею вірусного РНК-залежного РНК полімеразного комплексу. В результаті дослідження впливу нуклеокапсидного білка Р (NS) на репліказну активність в системі *in vitro* мРНП, ізольованих із уражених вірусом кучерявої карликовості картоплі рослин різної клітинної локалізації, було встановлено, що нуклеокапсидний Р-білок значно стимулює репліказну активність мембранозв'язаних полісомних мРНП. За наявності Р-білка в концентрації 15 мкг/мл в системі реплікації *in vitro*, репліказна активність мембранозв'язаних полісомних мРНП збільшилась в 11,7 разів. Меншою мірою ця властивість нуклеокапсидного Р-білка при цій же концентрації проявляється для вільних цитоплазматичних мРНП, а найменше регуляторні функції нуклеокапсидного Р-білка при тих же умовах виявились за наявності в системі *in vitro* вільних полісомних мРНП.*

*Отже, репліказна активність мРНП комплексів в системі реплікації *in vitro* залежить від наявності в системі нуклеокапсидного вірусного Р-білка. При збільшенні чи зменшенні його концентрації спостерігається зміна репліказної активності.*

Ключові слова: структурний Р-білок, вірус кучерявої карликовості картоплі (ВККК), мРНП, репліказна активність.

Як відомо із літературних джерел, геномна РНК вірусів завжди існує в комплексі з білками протягом всього свого біогенезу. Мінус сенсова односпіральна РНК рабдовірусів, зокрема і РНК досліджуваного нами вірусу кучерявої карликовості картоплі (ВККК), завжди знаходиться в комплексі з N, L, Р (NS) білками. Нерозривно зв'язаний N білок з РНК є матрицею для процесів вірусної транскрипції і реплікації в інфікованих рабдовірусом клітинах [17, 25], які каталізує РНК-залежна РНК полімераза [9]. У складі віріону ВККК нами була виявлена РНК-залежна РНК-полімераза, яка транскрибує вірусну геномну РНК з негативною полярністю в плюс-мРНК [5].

© Пархоменко Н.Й., Діденко Л.Ф., Максименко Л.О., Дяченко Н.С., 2011