

ФИЗИОЛОГИЯ

УДК 57.022

НОВАЯ МОДЕЛЬНАЯ СИСТЕМА ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ИММУНИТЕТА ЖИВОТНЫХ К ГРИБНЫМ ИНФЕКЦИЯМ

Ю.М. Плотникова*, О.В. Камзолкина, Ф.М. Аусубел*

(кафедра микологии и альгологии; e-mail: o-kamzolkina@yandex.ru)

Взаимоотношения широко известного модельного организма *Caenorhabditis elegans* с грибом *Pleurotus ostreatus* предоставляет уникальную возможность исследования молекулярно-генетических механизмов начальных стадий взаимодействий животных с патогенными организмами в пространстве и во времени. Прослежены этапы проникновения мицелия *P. ostreatus* в живую нематоду через естественные отверстия и кутикулу и колонизации всего тела нематоды. Выявлены первичные контакты мицелия *P. ostreatus* и нематоды *C. elegans*. Показана возможность исследования локальных защитных реакций покровов нематоды *C. elegans* при поражении мицелием *P. ostreatus*.

Ключевые слова: *Caenorhabditis elegans*, *Pleurotus ostreatus*, модельная система для изучения иммунитета животных и человека.

Одним из наиболее известных модельных организмов для изучения молекулярных механизмов взаимоотношений животных с патогенными микроорганизмами является нематода *C. elegans* [1]. Главное достоинство *C. elegans* как модельного организма — ее относительно простая анатомия [2]. Длина нематоды 1 мм, она состоит из 959 клеток. Тело нематоды цилиндрическое, состоящее из головного отдела с ротовым отверстием и фаринксом, центральной части с пищеварительным трактом и гонадами и хвостового отдела с анусом. Кишечник *C. elegans* состоит из 20 эпителиальных клеток, формирующих 9 колец, 8 из которых образованы двумя клетками, одно (первое) кольцо образовано 4 клетками. Эти эпителиальные клетки имеют большое сходство с эпителием пищеварительного тракта млекопитающих [3].

Гиподермис (эпидермис) и мышцы стенок окружают пищеварительный тракт, гонады и заполненные жидкостью внутренние полости нематоды (псевдоцелом). Коллагеновая кутикула покрывает гиподерму снаружи. Характерные синусоидальные движения нематод являются результатом сокращения мышц. Они обеспечивают перемещение нематод и их поведение, координируемое нервной системой, воспринимающей внешние раздражители. Нематода *C. elegans* — один из простейших организмов с нервной системой, обеспечивающей передачу механических раздражений, хемо- и термотаксис [4]. Каждая взрослая особь *C. elegans* в течение трехдневного жизненного цикла производит 300 новых генетически идентичных животных. Это дает возможность быстро размножить не-

матод и поддерживать крупную популяцию [5]. В жизненном цикле *C. elegans* выделяют эмбриональную стадию, четыре личиночные стадии (L1—L4) и взрослые особи. В конце каждой стадии происходит линька и синтезируется новая кутикула. После этого старая кутикула сбрасывается. Скорость роста и развития нематод зависит в значительной степени от температуры. Нематоды *C. elegans* в основном гермафродиты, что дает преимущество при их генетическом анализе. Клетки нематод диплоидные. Все стадии развития, скорость и кинетику движения *C. elegans* можно наблюдать под световым микроскопом, так как эти нематоды совершенно прозрачны. *C. elegans* широко используется для изучения развития и функций живых организмов: обмена углеводов, процессов, происходящих в живом организме при диабете, старении, нарушениях жирового обмена. Прозрачность нематод дает возможность наблюдать характер экспрессии генов и развитие инфекции. Геном *C. elegans* известен: это был первый многоклеточный организм, который был секвенирован [6]. Экспрессия генов этих нематод может быть легко подавлена за счет интерференции РНК (RNAi) при кормлении нематод живыми *E. coli*, экспрессирующими двуцепочечную РНК (dsRNA), соответствующую генам *C. elegans*. У *C. elegans* были обнаружены функциональные эквиваленты большей части генов человека. Чтобы выявить функции генов *C. elegans* помимо использования делеций и мутаций, можно пометить ген флуоресцентным маркером и увидеть, когда и где этот ген включается. Методически очень легко активировать и ингибиро-

* Отдел молекулярной биологии ГМ и Отдел генетики Гарвардского университета, Бостон, США.

вать гены этой нематоды и проследить последствия этой операции. Изменения в экспрессии генов можно проследить, используя количественную полимеразную цепную реакцию (ПЦР, qRT-PCR).

У *C. elegans* отсутствуют система кровообращения, специализированные иммунные клетки и фагоциты. Как и у других беспозвоночных, у *C. elegans* нет антител, и их защита обеспечивается врожденным иммунитетом. *C. elegans* создает барьеры на пути патогенных микроорганизмов за счет регулирования транскрипции защитных генов после заражения [7]. В отличие от дрозофилы и млекопитающих иммунный ответ *C. elegans* не зависит от рецептора группы Toll [8]. Более того, отсутствие гомологичного ядерного фактора NF- κ B в геноме *C. elegans* привело к заключению, что защитные реакции регулируются факторами транскрипции, отличными от NF- κ B [8].

Нематода *C. elegans* обитает в почве, где постоянно сталкивается с болезнетворными организмами. Более того, эта нематода питается бактериями, которые могут вызывать инфекции у животных. И тем не менее *C. elegans* выживает в почве в условиях жесткой конкуренции за источники питания благодаря выработанным в процессе эволюции защитным барьерам. У *C. elegans* обнаружена система индуцированных защитных реакций, имеющая сходство с иммунитетом млекопитающих. Более всего исследованы кишечные инфекции нематоды, вызываемые бактериями *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus* и грибами *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *C. laurentii*, и выявлены защитные реакции, индуцируемые инфекцией в пищеварительном тракте [9, 10]. Нематодцидный гриб *Drechmeria coniospora* способен прикрепляться к кутикуле ряда нематод преимущественно вокруг ротового отверстия и других естественных отверстий, образовывать аппрессориеподобные структуры и проникать внутрь тела нематод. Обработка нематод протеолитическими ферментами снижала способность гриба к прикреплению от 40 до 60% [11]. Мицелий *D. coniospora* индуцирует транскрипцию защитных генов, кодирующих антимикробные пептиды и киназный каскад, регулирующий передачу сигналов в инфицированных клетках нематод [12].

Защитные реакции в местах внедрения патогенов, которые фактически определяют, осуществится ли заражение или патоген не сможет преодолеть барьеры хозяина и установить паразитические взаимоотношения, остаются слабо изученными.

Известно, что в природных экосистемах некоторые дереворазрушающие грибы захватывают и переваривают почвенные свободноживущие нематоды, используя их для восполнения дефицита азота. Соотношение углерода и азота в древесине близко к 100:1, поэтому дереворазрушающие грибы испытывают постоянный дефицит азота. Недостаток азотистых соединений в древесине лимитирует их рост и развитие [13]. В процессе эволюции, по-видимому, выжили

дереворазрушающие грибы, которые выработали механизмы использования других организмов (дрожжи, бактерии, водоросли и др.) в качестве источников азотного питания [14]. Было известно, что гриб *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr) Kumm. растет как сапротроф на валежнике преимущественно лиственных пород деревьев, но может паразитировать на живых ослабленных деревьях. В этом случае *P. ostreatus* вызывает белую гниль древесины, наращивая биомассу мицелия за счет разрушения полимеров древесины до мономеров и используя в качестве источника питания целлюлозу, гемицеллюлозу и лигнин. Секретами различных групп ферментов, главным образом лигно- и целлюлозолитических, позволяет *P. ostreatus* развиваться на широком спектре растительных субстратов [15]. Было показано, что при выращивании на агаризированной питательной среде *P. ostreatus* может использовать в качестве дополнительного источника питания разные виды и роды дрожжей: *Hanseniaspora uvarum*, *Rhodotorula minuta* и *Saccharomyces cerevisiae*, которые увеличивали выход плодовых тел [16]. Торн и Бэррон описали механизм, используемый мицелием *P. ostreatus* для быстрого обездвиживания нематод [13]. Нематотоксин, содержащийся в секреторных выростах мицелия, формирующихся в зрелых зонах грибной колонии, был выделен и идентифицирован как транс-2-деценедиоиксовая кислота [17].

Основываясь на этом, мы предположили возможность заражения грибом *P. ostreatus* широко используемой во многих лабораториях нематоды *Caenorhabditis elegans* и поставили своей целью проверить это экспериментально. Использование этой комбинации патогена и хозяина могло бы дать существенные преимущества при решении проблем иммунитета, в особенности на этапе установления паразитических взаимоотношений. Большим преимуществом этой системы является то, что геномы обоих компонентов этой системы — нематоды и гриба — известны. Геном *P. ostreatus* был секвенирован в Joint Genome Institute в 2010 г. (JGI, Walnut Creek, California, USA) [18].

Наши исследования были направлены на решение следующих задач: разработать методики заражения модельного организма (нематоды *C. elegans*) грибом *P. ostreatus*, выявить симптомы поражения, изучить их взаимоотношения в лабораторных условиях на всех этапах инфекционного процесса.

Материалы и методы

Объекты исследования — ксилотрофный базидиомицет *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr) Kumm. (Basidiomycota, Agaricomycotina, Agaricomycetes, Agaricales, Pleurotaceae, [19], штамм НК35 и свободноживущая почвенная нематода *Caenorhabditis elegans*, относящаяся к круглым червям, штамм N2 [5].

Выращивание нематод. Для поддержания культуры *C. elegans*, как правило, используется непатогенная кишечная палочка *Escherichia coli*. Мы выращивали *C. elegans* до стадии L3/L4 на агаризированной питательной среде для роста нематод (Nematode Growth Medium, NGM) с использованием непатогенного штамма *E. coli* OP50, ауксотрофа по урацилу, в качестве питательного субстрата [1]. При 20°C нематоды обычно достигали стадии L3/L4 через 34 ч [5].

Культивирование гриба *P. ostreatus* и постановка эксперимента с нематодами. Культуру гриба *P. ostreatus* поддерживали в чашках Петри на 2%-м стерильном мальт-агаре (Vacto Malt Extract, Vecton, Dickinson and Co, USA) при температуре $22 \pm 1^\circ\text{C}$. Взаимодействие гиф *P. ostreatus* и нематод исследовали на тонком мицелиальном слое гриба, выращенном на 2%-м водном агаре. С этой целью в центр чашки Петри диаметром 4 см помещали диск мицелия диаметром 0,5 см и инкубировали в термостате в течение 7 дней при температуре $22 \pm 1^\circ\text{C}$. При этом формировался тонкий слой гиф, растущих радиально от центрально расположенного диска мицелия. Гриб *P. ostreatus* также выращивали на поверхности целлофана в течение 7 дней при температуре 22°C таким образом, что вся поверхность целлофана была равномерно покрыта гифами гриба. Мицелий *P. ostreatus* НК35 прочно прикреплялся к поверхности целлофана и постепенно начинал усваивать целлюлозу. Живых нематод *C. elegans* N2 наносили непосредственно на мицелий по периферии колонии гриба. Анализ взаимодействия гиф гриба *P. ostreatus* с нематодами проводили через 24 ч после внесения нематод в стадии L3/L4.

Окрашивание. Для визуализации зон контакта гиф гриба и нематод использовали методику окрашивания 1%-м трипановым синим в лактофеноле в течение 1 мин с последующей промывкой в фосфатном буфере pH 7,2. Флуоресцентный краситель Калькофлор (Fluorescent Brightener 28, Sigma-Aldrich), дающий яркую флуоресценцию оболочек мицелия и септ при лазерном облучении длиной волны с максимумом эмиссии 405 нм, был использован для выявления гиф гриба внутри тканей нематоды.

Флуоресцентная и конфокальная лазерная сканирующая микроскопия. Контактные взаимодействия гриба *P. ostreatus* НК35 и нематод *C. elegans* N2 исследовали под флуоресцентным (Leica D 5000 B, Germany) и конфокальным (Leica SP1 and SP5, Germany) микроскопами. Предварительно на предметные стекла наносился тонкий слой 3%-й агарозы, чтобы предотвратить разрывы кутикулы живых нематод, находящихся под давлением между предметным и покровным стеклами. Для обездвиживания нематод использовался 25 мМ раствор левамизола (Levamisole hydrochloride, Sigma-Aldrich). На каждое предметное стекло наносился 1 мкл этого раствора.

Сканирующая электронная микроскопия. Для сканирующей электронной микроскопии мицелий *P. ost-*

reatus выращивали на круглых покровных стеклах диаметром 12 мм, покрытых 0,1%-м водным раствором полилизина (Poly-L-Lysine, Sigma-Aldrich) в течение 7 дней при 21°C. Покровные стекла помещали на тонкий слой 2%-го водного агара в чашки Петри диаметром 4 мм. На поверхность мицелия наносили суспензию нематод в стадии L3/L4 примерно по 20 шт на 1 покровное стекло. Через 24 ч после внесения нематод материал фиксировали в 2,5%-м растворе глутарового альдегида в фосфатном буфере при pH 7,2, в течение 12 ч при 4°C промывали фосфатным буфером, pH 7,2, проводили через восходящую серию спиртов 30%, 50, 70, 96, 100%, выдерживая в течение часа в каждом растворе. После трехкратной смены абсолютного спирта высушивали при критической точке в полуавтоматическом аппарате "Самдри" (Critical Point Dryer, Samdri-795, USA), монтировали на металлические держатели диаметром 12 мм и напыляли слоем хрома толщиной 60 нм в вакууме в аппарате "Гатан" (Gatan High Resolution Ion Beam Coater 681, USA) и исследовали под сканирующим электронным микроскопом Jeol-7401F.

Результаты и обсуждение

Гриб *P. ostreatus* проходит моно- и дикариотическую стадии в течение своего развития от прорастания спор до образования нового поколения спор. Плодовые тела гриба (рис. 1, 1), несущие базидии преимущественно с четырьмя гаплоидными базидиоспорами (рис. 1, 2), как показано на схеме жизненного цикла гриба, формируются на дикариотическом мицелии, который растет, как правило, на древесном субстрате. Гаплоидная базидиоспора прорастает в первичный (гомокариотический) мицелий, каждая клетка которого обычно содержит одно ядро (рис. 1, 3). Два первичных мицелия, совместимых по половым факторам, сливаются с образованием дикариотического мицелия, преобладающего в цикле развития (рис. 1, 4). В каждой клетке такого мицелия присутствуют два генетически разнородных ядра. Характерной морфологической особенностью дикариотического мицелия *P. ostreatus* являются пряжки [20]. Другой специфической особенностью дикариотического мицелия *P. ostreatus* являются секреторные выросты (токсоцисты), формирующиеся на гифах гриба и состоящие из тонкой ножки и округлой головки диаметром около 1 мкм, содержащей токсичный секрет, парализующий нематод (рис. 2, а, б, в; 4, а). В стадии дикариотического мицелия *P. ostreatus* в процессе эволюции приобрел способность к выработке паралитического яда для нематод и к паразитированию на них, используя нематод как источник азотистых соединений (рис. 1, 5).

Замечательной особенностью метаболизма *P. ostreatus* является его способность к питанию на растениях и животных одновременно, смещая питатель-

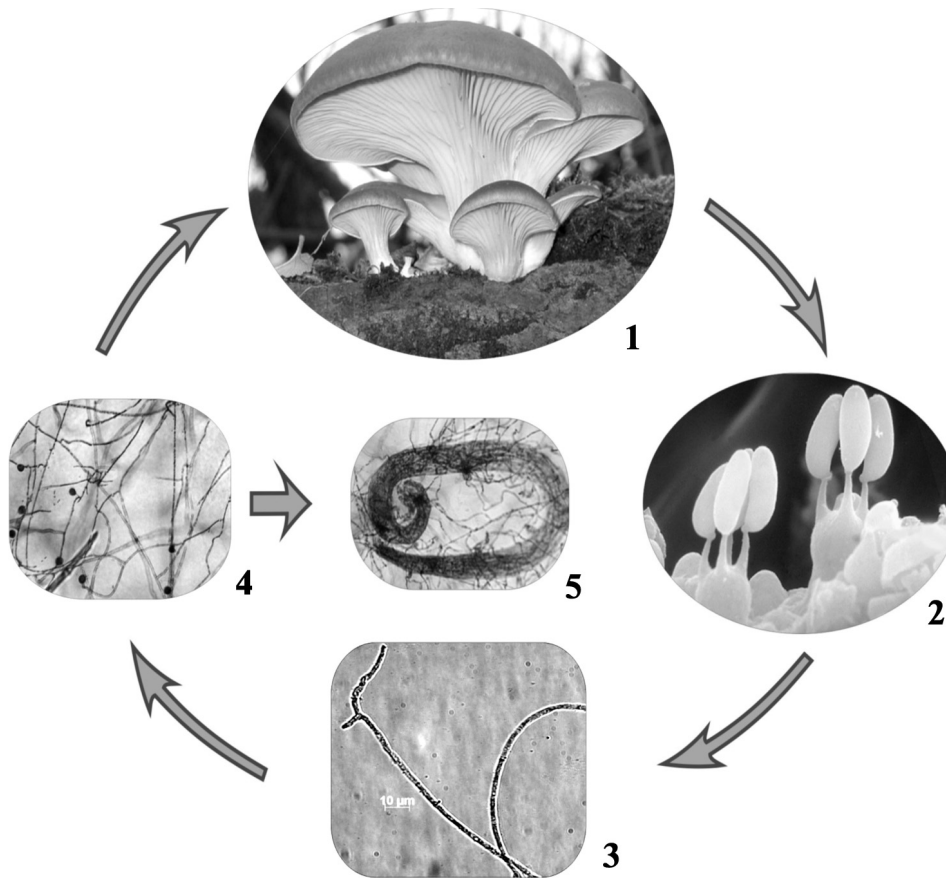


Рис. 1. Жизненный цикл *Pleurotus ostreatus*. На плодовых телах (1) формируются многочисленные базидии с базидиоспорами (2). Гаплоидные базидиоспоры дают начало гомокариотическим гифам (3), которые, сливаясь, образуют дикариотические гифы с секреторными выростами (4). Последние содержат токсин, парализующий нематод, и индуцируют направленный рост дикариотических гиф, пронизывающих все тело нематоды (5)

Под воздействием токсина, по-видимому, изменялась проницаемость покровов нематод и происходило выделение сигнальных молекул, что приводило к наблюдавшейся нами индукции роста боковых трофических гиф *P. ostreatus* в сторону парализованных нематод (рис. 2, а, б, в). Присутствие нематод стимулировало образование токсоцист. Трофические гифы преимущественно проникали через естественные отверстия нематоды: рот, анус, вульву (рис. 2, а, б, в; 3, в; 4, в) и покровы яйца (рис. 4, б). В местах контакта мицелия с поверхностью нематоды формировались аппрессориеподобные вздутия, тесно примыкавшие к кутикуле (рис. 3, б). Гифы, отходящие от основания аппрессориеподобного вздутия, пронизывали кутикулу (рис. 3, б). Уже через 12 ч парализованные нематоды были пронизаны гифами гриба (рис. 2, б, в; 3, а, в). Как видно на рис. 3, в, гифы *P. ostreatus*, проникнув в тело нематоды через ротовое отверстие, росли в продольном направлении в сторону хвостового отде-

ный баланс в сторону усвоения углеводов, когда доступна растительная пища, или в сторону усвоения белков, когда доступна животная пища. Это свидетельствует об огромных адаптационных возможностях этого гриба.

Наши наблюдения показали, что нематоды легко проползали по поверхности периферических частей гиф, не имеющих секреторных выростов. Если нематоды касались токсоцист на гифах мицелиальной колонии, то покров секреторной капли при касании прилипал к нематоду и лопался. Токсин быстро проникал через кутикулу и нематоды свертывались в кольца. Через 30 с они были парализованы. Удлиненная форма пищевода *C. elegans* менялась на округлую (рис. 3, г).

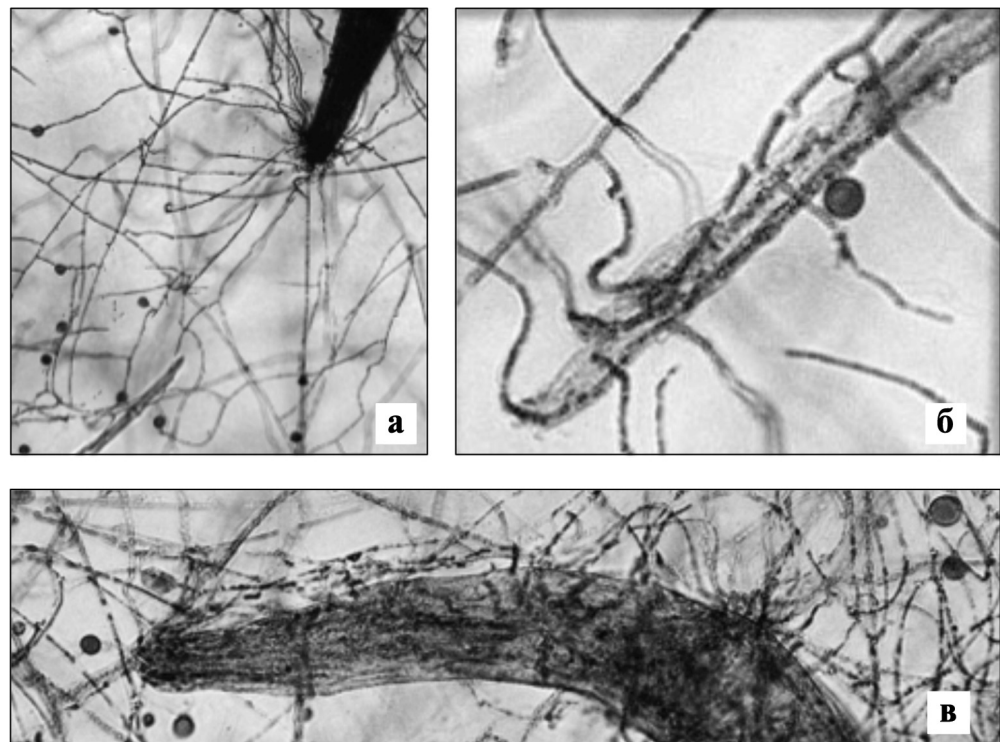


Рис. 2. Рост гиф *P. ostreatus* в сторону нематод (а), прорастание внутри их тела (б); проникновение через естественные отверстия (в)

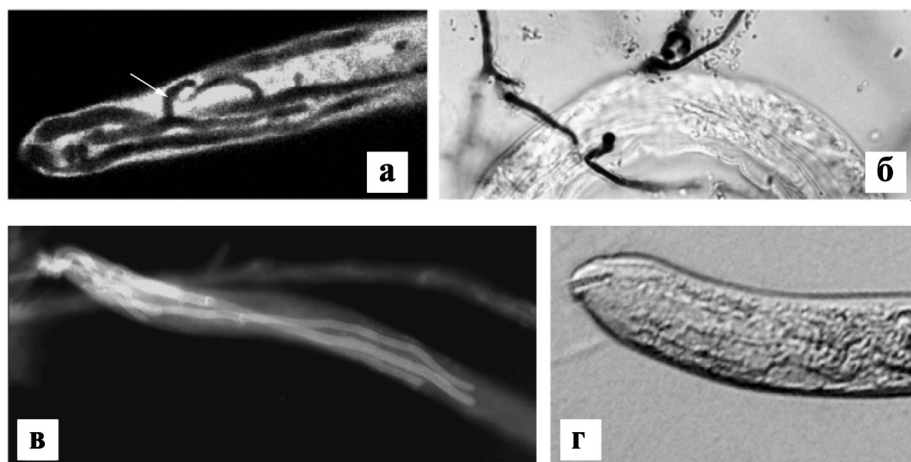


Рис. 3. Проникновение гиф *P. ostreatus* и их рост в теле нематоды *C. elegans* и распространение их от места проникновения через ротовое отверстие нематоды в сторону хвостового отдела. а — видно отхождение трофических гиф под прямым углом от магистральных гиф (стрелка); б — аппрессории *P. ostreatus* на кутикуле; в — гифы гриба *P. ostreatus* в теле нематоды: апексы растущих гиф направлены в сторону хвостового отдела (окрашивание калькофлором); г — деформация головного отдела нематоды после контакта с токсосоистой

ла, образуя короткие тонкие боковые отростки. Первоначально гифы росли вдоль тела нематоды в псевдоцеломе (рис. 3, в) не разрывая клеточных мембран, поэтому парализованные нематоды, пронизанные гифами гриба, оставались живыми и сохраняли способность к слабым движениям головы при кас-

нии. Многочисленные гифы начинали расти в сторону иммобилизованных нематод *C. elegans*, и через 24 ч они были оплетены гифами гриба, как показано на рис. 1, 5. Гифы прорастали через все тело нематоды, переваривая все их органы за счет секретируемых гидролитических ферментов и утилизирували все содержимое нематод за исключением кутикулы (рис. 4, з). Молодые особи в стадии L3 реагировали быстрее: воздействие токсина приводило к тому, что их энергичные плавательные движения заменялись медленными движениями головы в стороны и время от времени слабыми движениями парализованного тела. Крупные взрослые нематоды были менее восприимчивы к токсину и казались внешне нормальными в течение двух суток.

Мы обнаружили, что рост гиф *P. ostreatus* НК35 в чашках Петри стимулировался в присутствии нематод в результате усвоения их питательных веществ. Через 72 ч длина радиальных гиф на чашках Петри, в которые были внесены нематоды, превышала длину гиф в чашках Петри без нематод на 20%. При контакте гиф *P. ostreatus* с кутикулой *C. elegans* происходило втягивание поверхности кутикулы нематоды под прикрепившимися гифами. Тесный контакт гриба с кутикулой нематоды и ее деформация были видны на снимках после смещения гиф.

Заключение

Полученные данные открывают возможность использовать систему *P. ostreatus*—*C. elegans* для исследования локальных защитных реакций покровов нематод в отличие от ряда видов грибов и бактерий, проникающих через пищеварительный тракт и вызывающих индукцию генов в эпителиальных тканях кишечника. Гриб *P. ostreatus*, известный как съедобный гриб вешенка и как факультативный патоген ослабленных деревьев, хорошо растет в чашках Петри на агаризированной питательной среде. У него продолжительная биотрофная стадия при поражении нематод *C. elegans*: нематоды, в теле которых видны многочисленные гифы, проросшие от головного до хвостового отдела, были живыми и сохра-

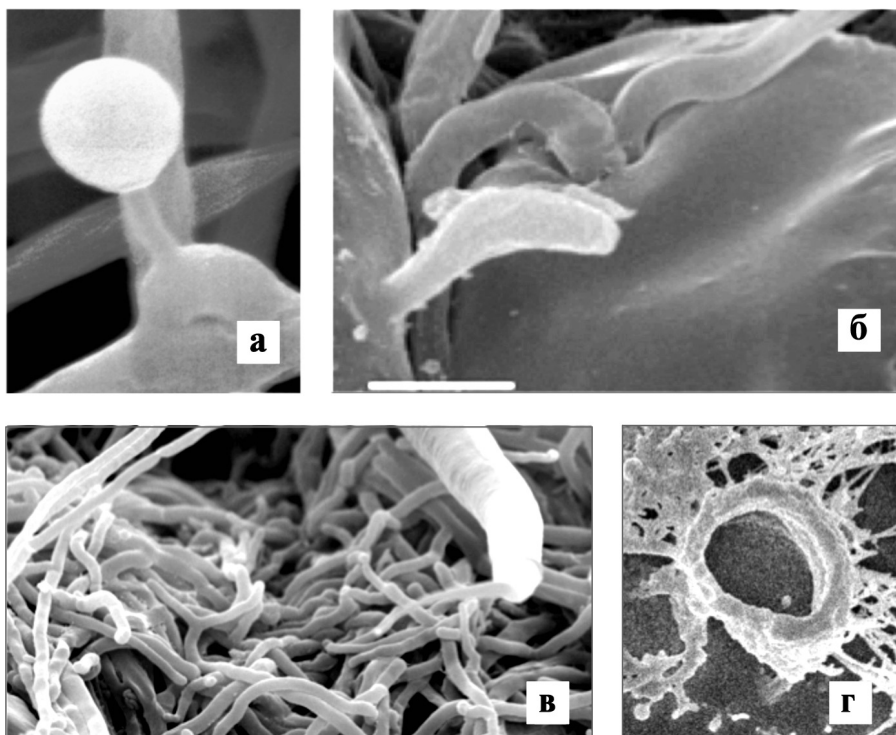


Рис. 4. Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ) гриба *P. ostreatus* и пораженных им нематод. а — секреторный вырост на пряжке мицелия *P. ostreatus*; б — проникновение гиф гриба в яйцо нематоды; в — внедрение гифы через ротовое отверстие нематоды; г — поперечный срез тела инфицированной нематоды: все внутренние органы утилизированы грибом, сохранилась только кутикула. Масштабный отрезок 1 мкм

няли способность двигаться. Проникнув внутрь, гифы *P. ostreatus* прорастали в псевдоцеломе и на начальных этапах инфекции вызывали минимальные повреждения внутренних органов нематод.

Нематода *C. elegans* способна распознавать патогены и средства их нападения, а также продуцировать антимикробные и репаративные (заживляющие) соединения. Нематода *C. elegans* обладает способностью отличать съедобные микроорганизмы, избегая тем самым интоксикаций и поражения патогенами.

Эта способность нематод обеспечивается функцией обонятельных нейронов. Защиту внутренних органов нематод обеспечивает хитино-коллагеновая кутикула. Большинство бактериальных и грибных патогенов, заражающих человека, поражают *C. elegans*. Таким образом, *P. ostreatus*—*C. elegans* — перспективная модельная система для исследования первичных защитных механизмов человека и животных против заражения патогенными грибами.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Brenner S. The genetics of *Caenorhabditis elegans* // Genetics. 1974. Vol. 77. N 1. P. 71—94.
2. Hall D., Altun Z.F. *C. elegans*. Atlas. N.Y.: Cold Spring Harbor, 2007. 348 p.
3. McGhee J.D. The *C. elegans* intestine. N.Y.: WormBook, 2007. P. 1—36.
4. Kosinski R.A., Zaremba M. Dynamics of the model of the *Caenorhabditis elegans* Neural Network // Acta Physica Polonica. 2007. Vol. B38. N 6. P. 2202.
5. Powell J.R., Ausubel F.M. Models of *Caenorhabditis elegans* infection by bacterial and fungal pathogens // Methods Mol. Biol. 2008. Vol. 415. P. 403—427.
6. The *C. elegans* sequencing consortium, consortium. Genome sequence of the nematode *C. elegans*: a platform for investigating biology // Science. 1998. Vol. 282. N 5396. P. 2012—2018.
7. Sifri C.D., Begun J., Ausubel F.M. The worm has turned — microbial virulence modeled in *Caenorhabditis elegans* // Trends in Microbiology. 2005. Vol. 13. P. 119—127.
8. Pujol N., Link E.M., Liu L.X., Kurz C.L., Alloing G., Tan M.W., Ray K.P., Solari R., Johnson C.D., Ewbank J.J. A reverse genetic analysis of components of the Toll signaling pathway in *Caenorhabditis elegans* // Curr. Biol. 2001. Vol. 11. P. 809—821.
9. Irazoqui J.E., Troemel E.R., Feinbaum R.L. et al. Distinct pathogenesis and host responses during infection of *C. elegans* by *P. aeruginosa* and *S. aureus* // PLoS Pathogens. 2008. Vol. 6. P. 7.
10. Irazoqui J.E., Ausubel F.M. *Caenorhabditis elegans* as a model to study tissues involved in host immunity and microbial pathogenesis // 99th Dahlem Conference on Infection, Inflammation and Clinic Inflammatory Disorders: Clinical and Exp. Immunology. 2010. Vol. 160. P. 48—57.
11. Hans-Borje J. Adhesion of conidia of *Drechmeria coniospora* to *Caenorhabditis elegans* Wild Type and Mutants // J. Nematol. 1994. Vol. 26. N 4. P. 430—435.
12. Pujol N., Cypowyj S., Ziegler K., Millet A., Astrain A., Goncharov A., Jin Y., Chisholm A., Ewbank J.J. Distinct innate immune responses to infection and wounding in the *C. elegans* epidermis // Curr Biol. 2008. Vol. 18. P. 481—489.
13. Thorn R.G., Barron G.L. Carnivorous fungi // Science. 1984. Vol. 224. N 4644. P. 76—78.
14. Barron G.L. Predatory fungi, wood decay, and the carbon cycle // Biodiversity. 2003. Vol. 4. P. 3—9.
15. Гарибова Л.В., Сидорова И.И. Грибы. Энциклопедия природы России. М., 1999. 352 с.
16. Новосёлова Д.Н., Камзолкина О.В. Культивирование *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. совместно с дрожжами // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биология. 2011. № 3. С. 25—28.
17. Kwok O.C.H., Plattner R., Weisleder D., Wicklow D.T. A Nematicidal toxin from *Pleurotus ostreatus* NRRL 35261 // J. Chem. Ecol. 1992. Vol. 18. N 2. P. 127—136.
18. http://genome.jgi-psf.org/PleosPC15_1/PleosPC15_1.home.html
19. <http://www.indexfungorum.org>
20. Курсанов Л.И. Микология. М.: Сельхозгиз, 1933. 36 с.

Поступила в редакцию
15.01.14

NEW MODEL SYSTEM FOR THE STUDY OF ANIMAL IMMUNITY TO FUNGAL INFECTIONS

J.M. Plotnikova, O.V. Kamzolkina, F.M. Ausubel

The association of the model organism *Caenorhabditis elegans* and fungus *Pleurotus ostreatus* gives the possibility to study the molecular and genetic mechanisms of the early stages of the spatial and temporal interactions of animals with fungal pathogens. We identified the initial contacts of *P. ostreatus* and the nematode *C. elegans*. We found that the fungus paralyzed *C. elegans*, penetrated into their alive bodies either through natural openings or directly by piercing the cuticle and colonized them. We offer the new model host-pathogen association to study further the local defense reactions of *C. elegans* against fungal infection.

Key words: *Pleurotus ostreatus*, *Caenorhabditis elegans*, model system for the study of the human and animal immunity.

Сведения об авторах

Плотникова Юлия Марковна — докт. биол. наук, отдел молекулярной биологии ГМ и Отдел генетики Гарвардского университета, Бостон, США. Тел.: 617-750-30—05; e-mail: molbio@yandex.ru

Камзолкина Ольга Владимировна — докт. биол. наук, проф. кафедры микологии и альгологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-54-82; e-mail: o-kamzolkina@yandex.ru

Аусубел Ф.М. — проф., отдел молекулярной биологии ГМ и Отдел генетики Гарвардского университета, Бостон, США; e-mail: ausubel@molbio. mgh.harvard.edu