

ЛОКАЛИЗАЦИЯ БЕЛКА ДЕЛЕНИЯ FTSZ В КЛЕТКАХ МИКОПЛАЗМЫ

© И. Е. Вишняков,¹ С. Н. Борхсениус,^{1,*} Ю. И. Басовский,² С. А. Левицкий,² В. Н. Лазарев,²
Е. С. Снигиревская,¹ Я. Ю. Комиссарчик¹

¹ Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург,
и ² Институт физико-химической медицины Федерального агентства по здравоохранению
и социальному развитию, Москва;
* электронный адрес: borch@mail.cytspb.rssi.ru

Проведено электронно-микроскопическое исследование локализации белка FtsZ в клетках микоплазмы *Mycoplasma hominis* методом непрямой иммуноцитохимической обработки материала, залитого в акриловую смолу. Ультратонкие срезы обрабатывали кроличьими поликлональными антителами против FtsZ *M. hominis*; вместо вторых антител в качестве специфической метки использовали коньюгат протеина A с электронно-плотными частицами коллоидного золота. На электронно-микроскопических изображениях *M. hominis* виден значительный, характерный для микоплазм полиморфизм клеток. Среди всего разнообразия клеточных форм нами были выделены гантелеобразные делящиеся клетки, а также клетки, соединенные между собой тонкими мембранными трубочками (бывшими перетяжками). Преимущественное распределение золотой метки наблюдали на перетяжках делящихся клеток *M. hominis* и в области тонких трубочек. Впервые в клетках *M. hominis* была обнаружена поперечная септа, на которой также располагалась метка. Кроме того, на некоторых округлых и овальных срезах отчетливо видно, как частицы коллоидного золота метят плазматическую мембрану по всему ее периметру. Возможно, метка в данных случаях маркирует подмембранные кольца сжатия (Z-кольца). В связи с этим представляется, что белок FtsZ *M. hominis* играет активную роль в цитокинезе микоплазмы. В ряде случаев наблюдали спиралевидное распределение метки. Это указывает на то, чтоprotoфиламенты FtsZ *M. hominis* способны формировать спиральные структуры, аналогичные Z-спиралям *Bacillus subtilis* и *Escherichia coli*. Их наличие в клетках микоплазмы можно считать важным аргументом в пользу модели сборки Z-кольца посредством реорганизации Z-спиралей. Полимеры FtsZ как одного из белков бактериального цитоскелета, будучи связаны с мембранный напрямую или через посредство каких-либо белков, могут участвовать и в поддержании формы клеток *M. hominis*.

Ключевые слова: FtsZ, микоплазмы, *M. hominis*, иммуноцитохимия, Z-кольцо, Z-спираль.

Принятые сокращения: IPTG — изопропил-β-D -1-тиогалактопиранозид, ДДС — додецилсульфат натрия, ПАА — полиакриламид, PPLO — «Pleuro-Pneumonia Like Organism» — устаревшее обозначение микоплазм как организмов, подобных вызывающим плевропневмонию крупного рогатого скота.

Одним из важнейших элементов бактериального цитоскелета является белок FtsZ, структурный и функциональный гомолог тубулина эукариот (Erickson, 1995; Löwe, Amos, 1998). Основная функция FtsZ в клетке — участие в цитокинезе (Bi, Lutkenhaus, 1991). Предполагают, что кольцо сжатия (Z-кольцо) в делящихся клетках бактерий формируется за счет полимеризации FtsZ и взаимодействия его со «вспомогательными белками» (FtsA, FtsH, FtsI, FtsK, FtsN, FtsW и др.), которые обеспечивают сшивку protoфиламентов FtsZ между собой, прикрепление Z-кольца к мемbrane, а также координацию в пространстве и времени инвагинации мембранны и клеточной стенки (Erington et al., 2003). В литературе обсуждается и альтернативная возможность пассивного сжатия Z-кольца в процессе инвагинации стенки септы, которая обеспечивается транспептидазой FtsI, связанной с FtsZ и другими белками, участвующими в образовании септы (Margolin, 2005). В этом случае FtsZ следовало бы рассматривать в качестве не ключевого белка деления, а лишь маркерного белка,

определяющего борозду деления клетки и «вовлекающего» остальные белки деления в процесс цитокинеза. Однако наличие белка FtsZ у большинства представителей класса Mollicutes (микоплазмы), организмов, у которых клеточная стенка отсутствует и не найдено большинства «вспомогательных» белков деления (кроме FtsH и FtsK), может служить аргументом в пользу представления о первичной, активной, роли FtsZ в делении бактерий (Вишняков, Борхсениус, 2007).

Для клеток *Escherichia coli* при помощи флуоресцентного анализа показано, что значительное количество молекул FtsZ входит в состав длинных изогнутых protoфиламентов, локализованных под цитоплазматической мембраной. Существует предположение о том, что эти так называемые Z-спирали участвуют в поддержании формы бактериальной клетки; они быстро и волнообразно перемещаются от полюса к полюсу, огибая клетку по спиральному маршруту (Thanedar, Margolin, 2004). Недавно была предложена модель сборки Z-кольца посредством реорга-

низации спиральных протофилааментов FtsZ (Michie et al., 2006).

Несмотря на большое количество работ, посвященных исследованию белков FtsZ и их роли в бактериальной клетке, в предполагаемом механизме формирования Z-кольца до сих пор много неясного. В связи с этим представляется интересным выяснить, какие структуры формируют белки FtsZ в клетках микоплазм, которые лишены клеточной стенки.

Микоплазмы относят к клострдиальной ветви грам-положительных эубактерий и предполагают, что они утеряли в процессе эволюции большую часть метаболических путей и материала генома (Woese, 1987; Razin et al., 1998). Белки клеточной стенки, ответственных за формирование сайта деления и сжатие цитокинетического кольца (Z-кольца) в клетках большинства прокариот, у микоплазм нет. Поэтому считается, что микоплазмы обладают простейшим механизмом септации среди эубактерий.

Недавно было обнаружено наличие гомолога бактериального *ftsZ* в геноме *Mycoplasma hominis*, ген *ftsZ* был клонирован и секвенирован (Momynaliev et al., 2002). На нескольких штаммах *E. coli*, трансформированных рекомбинантными плазмидами с *ftsZ M. hominis*, была продемонстрирована возможность экспрессии микоплазменного гена и показан эффект комплементации между собственным белком FtsZ *E. coli* и FtsZ *M. hominis*, экспрессируемым с рекомбинантной плазмиды. Несмотря на значительные различия в аминокислотной последовательности, в функциональном смысле эти белки оказались взаимозаменяемыми. Было также показано, что белок FtsZ *M. hominis* распознается моноклональными антителами против FtsZ *E. coli* (Момыналиев и др., 2003). Мы предполагаем, что полимерные структуры, состоящие из молекул белка FtsZ *M. hominis*, могут быть аналогичны таковым у *E. coli*.

В данной работе мы исследовали локализацию белка FtsZ в клетках *M. hominis* с целью выяснить, формирует ли белок FtsZ микоплазмы структуры, подобные тем, что известны для других бактерий.

Материал и методика

Лабораторный штамм *M. hominis* H34 (Коллекция клеточных культур Института цитологии РАН) культивировали на модифицированной среде PPLO (Freundt, 1983). Исходный штамм *E. coli* B834 (Коллекция клеточных культур НИИ ФХМ Росздрава) и рекомбинантный штамм *E. coli* pET15bftsZ выращивали на жидкой питательной среде 2 × YT.

Белок FtsZ *M. hominis* экспрессировали в штамме-продуценте *E. coli* B834, трансформированном рекомбинантной плазмидой pET15bftsZ (Momynaliev et al., 2002), содержащий полноразмерный ген *ftsZ* этой микоплазмы под индуцируемым промотором. Индуктор (IPTG) добавляли в питательную среду при достижении культурой *E. coli* pET15bftsZ OD₆₀₀ = 1.2. Клеточный лизат как исходного, так и рекомбинантного штаммов *E. coli* получали обработкой ночной культуры клеток ультразвуком (22 кГц). Рекомбинантный FtsZ выделяли на колонке с Ni-сефарозой (GE Healthcare); экстракцию белка с колонки проводили повышением концентрации имидазола с 20 до 300 мМ. Полученный раствор белка освобождали от имидазола путем диализа против PBS (1×).

Электрофорез белковых препаратов проводили в 12%-ном ДДС-ПАА-геле. Гель окрашивали Zn/имидаэзолом: помещали на 15 мин в 0.2 М раствор имидазола таким образом, чтобы смачивался весь гель. Раствор сливали. Затем гель выдерживали 2—3 мин в 0.3 М растворе ZnSO₄. Растворы готовили на деионизированной воде. После проявления белковых полос гель быстро промывали деионизированной водой.

Иммунизацию кроликов проводили по методике, разработанной в Институте цитологии РАН (Ivanov, Fel, 1984).

Полученную поликлональную сыворотку пропускали через колонку с протеин A-сефарозой (GE Healthcare). Известно, что стафилококковый протеин A имеет высокое сродство к иммуноглобулинам крови кролика. На нитропцеплюлозный фильтр (Hybond-C Extra, Amersham) сорбировали белки клеточного лизата *E. coli* B834 в течение ночи при концентрации суммарного белка 2 мг/мл. Затем фильтр промывали и дополнительно инкубировали с 3%-ным обезжиренным сухим молоком (Amersham) на PBS (1×) в течение 45 мин. С целью обеднения очищенную на колонке фракцию IgG в объеме 10 мл (разведение в PBS) добавляли к полученному таким образом фильтру и инкубировали в течение 90 мин. Обедненную фракцию IgG (поликлональные антитела против FtsZ *M. hominis*) собирали и тестировали методом иммуноблотинга. В качестве вторых антител использовали моноклональные антитела mouse anti-rabbit, конъюгированные с пероксидазой хрина.

Клетки *M. hominis* фиксировали добавлением в жидкую культуру раствора PBS, содержащего формальдегид (конечная концентрация 2 %) и малые концентрации глутаральдегида (конечная концентрация 0.1—0.2 %), которые не дают неспецифического связывания антител с аминными группами белков. Фиксацию материала производили при комнатной температуре в течение нескольких часов; затем клетки собирали центрифугированием (10 000 об/мин, 10 мин при 4 °C), осадки быстро дегидратировали этанолом с повышающейся концентрацией и заливали в акриловую смолу LR-White (Polyscience, INC, США). Полимеризацию LR-White проводили при 50—52 °C.

Иммуноцитохимическую реакцию проводили на ультратонких срезах материала, залитого в LR-White, в соответствии со стандартным протоколом непрямой иммуноцитохимической реакции (Миронов и др., 1994). Антитела против FtsZ разбавляли раствором PBS (1×), содержащим 0.1 % BSA, в соотношении 1 : 10. Вместо вторых антител использовали коньюгат протеина A с электронно-плотными частицами коллоидного золота диаметром 10 нм (EY Laboratories, INC, США). Срезы контрастировали уранил-ацетатом и цитратом свинца и просматривали на электронных микроскопах JEM-100U и JEM-1200. Были сделаны два контроля: в одном случае поликлональные антитела не добавляли в реакцию, в другом их заменяли кроличьей неиммунной сывороткой.

Результаты

Получение рекомбинантного белка FtsZ *M. hominis*. На рис. 1 представлена фотография ПАА-геля, где на электрофоретическом спектре белков ночной культуры *E. coli* pET15bftsZ после добавления индуктора IPTG (дорожка 1) видна полоса, соответствующая поли-

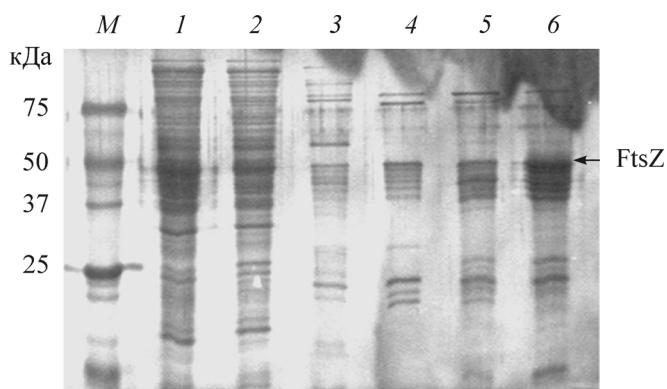


Рис. 1. Электрофорез в 12%-ном ПАА-геле, окраска Zn/имида-золом.

M — маркер молекулярной массы; 1 — ночная культура *E. coli* pET15bftsZ; 2 — белки клеточного лизата ночной культуры *E. coli* pET15bftsZ, не связавшиеся с Ni-сепарозой на колонке; 3—6 — четыре фракции рекомбинантного белка FtsZ *M. hominis*, последовательно элюированные с Ni-сепарозы.

пептиду с приблизительной мол. массой 45—48 кДа. Масса этого полипептида коррелирует с теоретически рассчитанной мол. массой рекомбинантного белка FtsZ *M. hominis* (43 кДа).

Кроме полосы, соответствующей рекомбинантному FtsZ, на электрофоретических спектрах белковых фракций после освобождения с колонки и диализа (дорожки 3—6 соответственно) виден еще ряд полос, соответствующих полипептидам с меньшей молекулярной массой. Подобное явление наблюдали и ранее при попытках выделения и очистки рекомбинантного белка FtsZ *M. hominis* из трансформированных клеток *E. coli* pET15bftsZ (см.: Motynaliev et al., 2002). Мы предполагаем, что в процессе выделения происходит частичная деградация полипептида FtsZ. Но, как видно из результатов иммуноблотинга (рис. 2), использование подобного препарата рекомбинантного белка не повлияло на специфичность вырабатываемой кроличьей поликлональной сыворотки по отношению к белку FtsZ *M. hominis*.

Иммуноблотинг. Для иммунизации кролика использовали фракцию рекомбинантного белка (рис. 1, дорожка 6), в которой содержание материала было максимальным (судя по интенсивности полосы, соответствующей FtsZ *M. hominis*). Антитела после очистки поликлональной сыворотки на колонке с протеин A-сепарозой тестировали методом иммуноблотинга (разведение 1 : 500).

На фотографии Вестерн-блота (рис. 2) видно, что полученные нами поликлональные антитела специфически связываются с рекомбинантным белком FtsZ *M. hominis* (рис. 2, а, дорожка 1), распознают белковую фракцию, соответствующую мол. массе FtsZ *M. hominis* (~43 кДа), содержащегося в клеточном лизате *E. coli* pET15bftsZ в больших количествах (рис. 2, а, дорожка 2; б, дорожка 6), а также реагируют с клеточным лизатом *M. hominis* H34 (рис. 2, б, дорожки 4, 5); причем в случае с микоплазмой видна четкая полоса, мигрирующая как полипептид с приблизительной мол. массой 40—42 кДа. Масса полипептида коррелирует с теоретически рассчитанной мол. массой (43 кДа) исследуемого белка. Таким образом, присутствие белка FtsZ в тотальных белковых спектрах *M. hominis* и рекомбинантного штамма *E. coli* pET15bftsZ, а также специфичность поликлональных анти-FtsZ-антител были подтверждены.

Морфология клеток микоплазм. На электронно-микроскопических изображениях *M. hominis* (рис. 3) виден значительный полиморфизм клеток, характерный для большинства изученных видов микоплазм.

На срезах клеток *M. hominis*, собранных и зафиксированных в экспоненциальной фазе роста культуры, преобладают палочковидные и гантелиобразные формы (рис. 3, а), небольшие сферы, а также клетки часто различной формы и морфологии, соединенные друг с другом тонкими трубочками (рис. 3, б, в). Толщина трубочек около 20 нм. Они представляют собой почти прилегающие друг к другу плазматические мембранны (в редких случаях с промежутком между ними, заполненным цитоплазмой).

Цитоплазма клеток заполнена электронно-плотным содергимым и ограничена цитоплазматической мембраной, состоящей из двух электронно-плотных слоев, разделенных электронно-прозрачным слоем. Самые маленькие клетки имеют толщину около 80 нм, тогда как крупные клетки достигают иногда 1 мкм в диаметре. Иногда встречаются розетки из нескольких клеток (рис. 3, г, д). В конце экспоненциальной фазы роста округлые и овальные формы клеток преобладают над палочковидными. Цитоплазма крупных клеток поделена на две области — электронно-плотную, по краям клетки, с мелкими гранулами, вероятно рибосомами, и центральную, прозрачную, в пределах которой находится множество тонких фибрилл ДНК нуклеоида (рис. 3, е—з). Некоторые клетки *M. hominis* содержат вакуоли, которые чаще всего расположены на одном из концов клетки (рис. 3, и, к).

FtsZ является основным белком деления у большинства прокариот (Margolin, 2005) и в процессе цитокинеза обнаруживается на передней кромке формирующейся септы, а также в области перетяжки между дочерними клетками (Bi, Lutkenhaus, 1991). Исходя из этого среди всего разнообразия клеточных форм на срезах наибольший интерес для нас представляли гантелиобразные клетки, а также клетки, соединенные друг с другом тонкими трубочками. Возможно, эти трубочки образуются в результате расхождения делящихся клеток.

Локализация FtsZ в области перетяжки между дочерними клетками *M. hominis*. Распре-

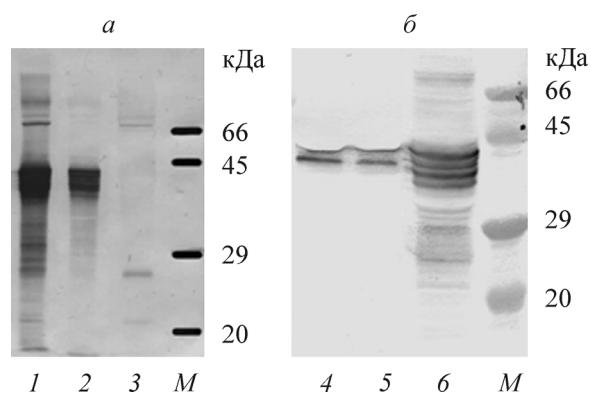
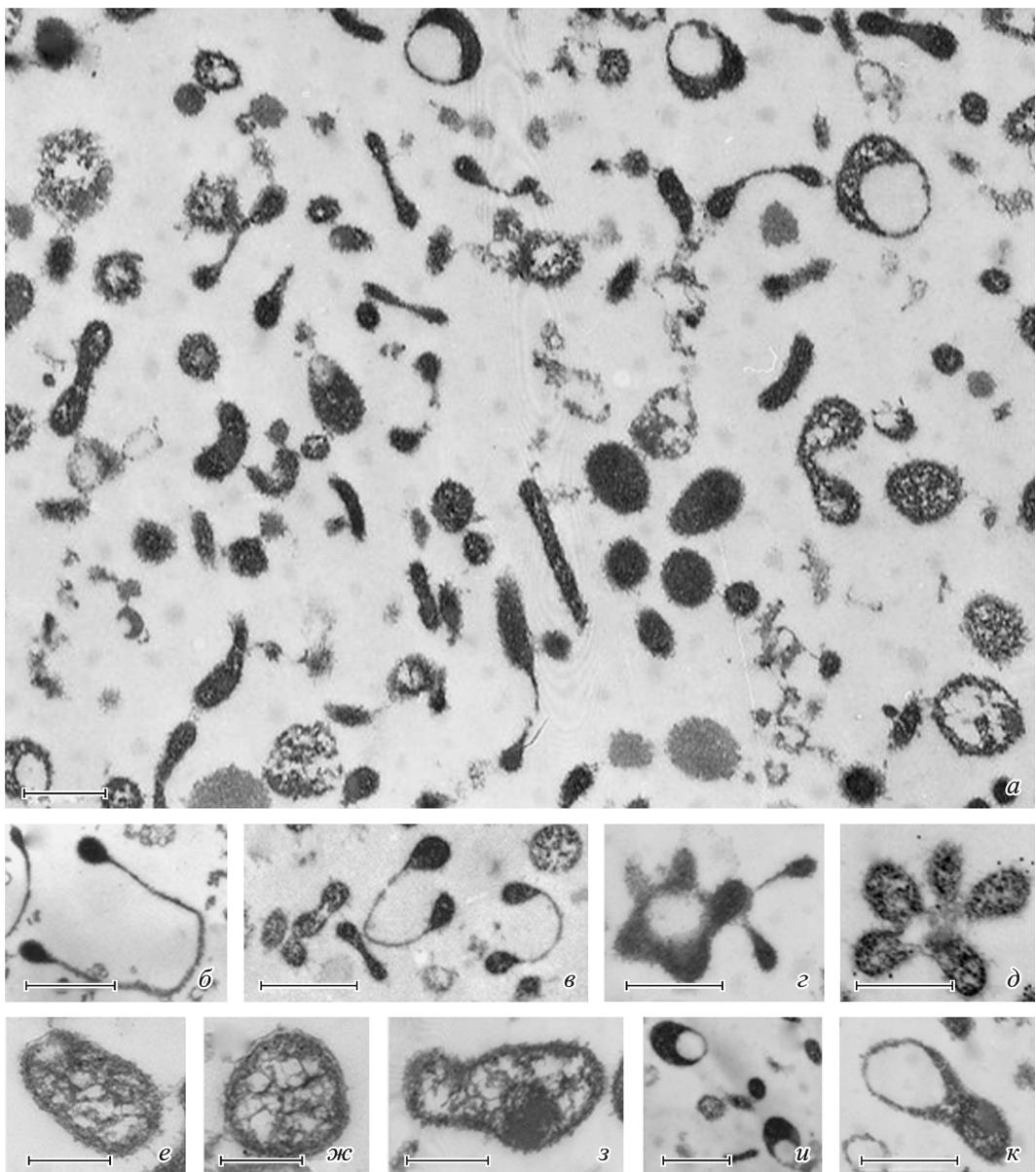


Рис. 2. Иммуноблотинг.

а — реакция специфических поликлональных антител с рекомбинантным белком FtsZ *M. hominis*: 1 — фракция FtsZ (рис. 1, дорожка 6); 2 — клеточный лизат рекомбинантного штамма *E. coli* pET15bftsZ; 3 — клеточный лизат исходного штамма *E. coli* B834. б — реакция антител с белком FtsZ *M. hominis*: 4 — клеточный лизат лабораторного штамма *M. hominis* H34 (5 мкл); 5 — клеточный лизат *M. hominis* H34 (1 мкл); 6 — клеточный лизат *E. coli* pET15bftsZ. М — маркер молекулярной массы.

Рис. 3. Морфология клеток *M. hominis*.

a — срез клеток *M. hominis*, собранных и зафиксированных в экспоненциальной фазе роста культуры; *б*, *в* — клетки, соединенные друг с другом тонкими трубочками; *г*, *д* — розетки из нескольких клеток, соединенных между собой; *е*—*з* — крупные овальные клетки *M. hominis* с выраженным внутренними структурами; *и*, *к* — клетки микоплазмы, содержащие вакуоль. Масштабные линейки — 400 нм.

деление метки на делящихся клетках *M. hominis* представляло для нас особенный интерес, в связи с тем что белок FtsZ является ключевым белком деления у большинства бактерий.

На срезах клеток *M. hominis*, собранных и зафиксированных в экспоненциальной фазе роста культуры, гантелиобразные формы и формы, представляющие собой две или несколько клеток, соединенных друг с другом тонкими трубочками, составляли значительную долю среди всех типов клеточных форм (рис. 4). Предполагается, что клетки *M. hominis* делятся бинарно (Maniloff, 1969). При этом дочерние клетки микоплазмы часто бывают неодинакового размера. Как видно на рис. 4, *а*—*л*, на большом количестве ультратонких срезов делящихся клеток *M. hominis* частицы коллоидного золота располагаются преимущественно в области перетяжки между двумя дочерними клетками независимо от морфологии и размеров этих

клеток. Метку находили также и на тонких трубочках, соединяющих клетки между собой (рис. 4, *б*, *д*, *ж*, *л*). На рис. 4, *ж* показан вариант розетки, состоящей из трех клеток, соединенных тонкими трубочками.

Во-первых, подобная локализация белка FtsZ свидетельствует о его непосредственном участии в делении клеток *M. hominis*. Во-вторых, местоположение гомолога ключевого белка деления FtsZ в области тонких трубочек, связывающих между собой клетки *M. hominis*, подтверждает предположение о том, что подобные трубочки являются не результатом полиморфизма клеток микоплазм, а остаточными структурами на завершающем процессе цитокинеза. Это бывшие перетяжки между двумя дочерними клетками, которые поделились, но связь между ними окончательно не прервалась.

Мембранный локализация FtsZ. На фотографии (рис. 5, *а*) представлен срез крупной (около 1 мкм в

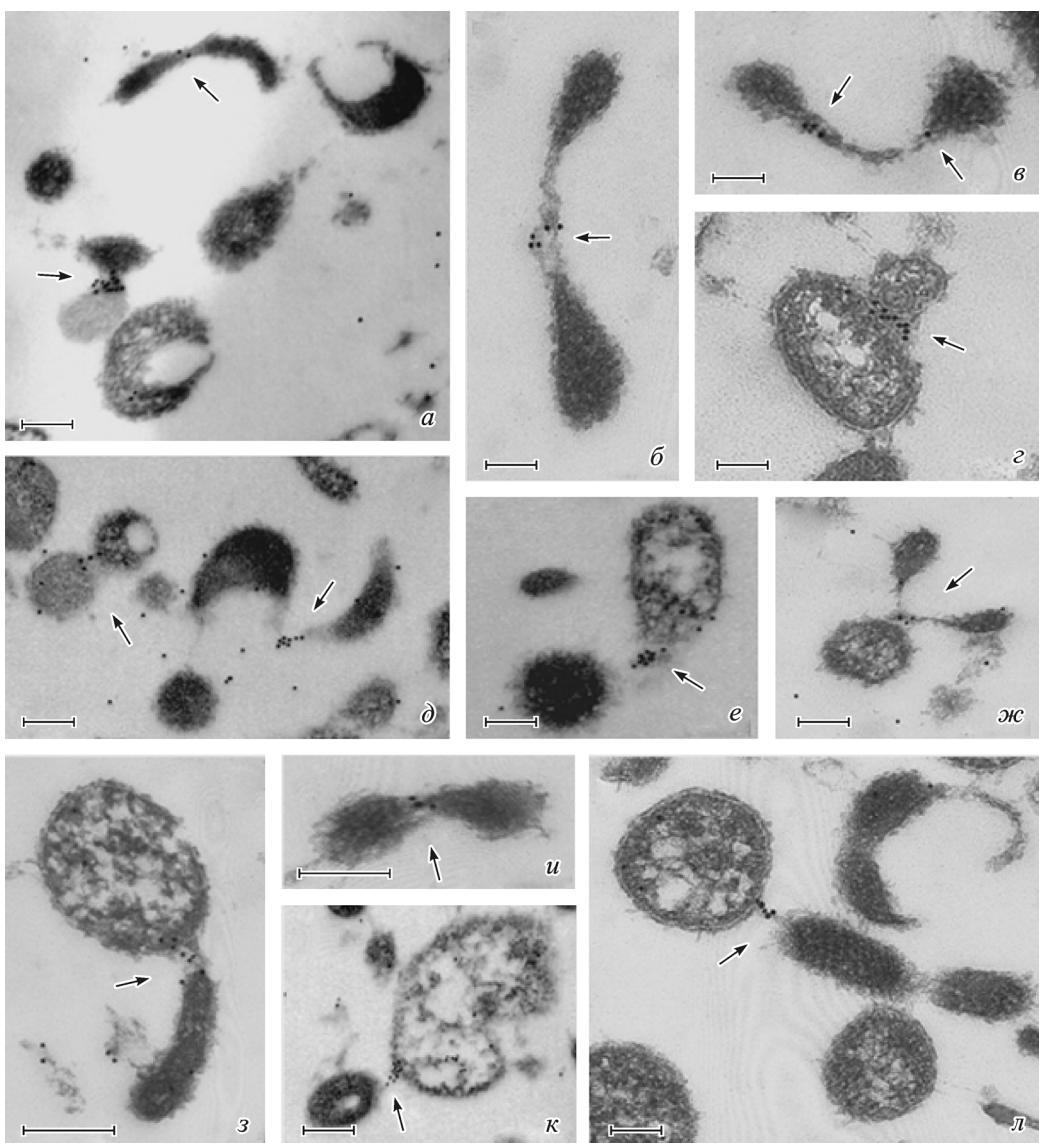


Рис. 4. Локализация белка FtsZ в делящихся клетках *M. hominis*.

a, u — частицы коллоидного золота (стрелки) выявляются в узкой области (сайт деления) по центру клеток гантелеобразной формы. *б* — метка располагается по середине тонкой трубочки между двумя дочерними клетками одинакового размера. *в* — метка видна в области перетяжки и формирующейся тонкой трубочки между делящимися клетками одинакового размера. *г, е, з, к* — антитела к FtsZ метят белок в перетяжках между клетками неравного размера. *д* (стрелка слева) — метка видна на перетяжке между двумя клетками одинакового размера, но различной морфологии; *д* (стрелка справа); *ж, л* — частицы коллоидного золота располагаются на тонких трубочках между клетками неравного размера; *ж* — метка располагается на тонких трубочках, соединяющих три клетки между собой. Масштабные линейки — 200 нм.

диаметре) клетки *M. hominis* с четко выраженной поперечной септой. До этого в работах по исследованию морфологии клеток *M. hominis* септу не наблюдали (Furness et al., 1976). Таким образом, существование поперечной септы в клетках микоплазмы показано нами впервые. Частицы коллоидного золота локализованы по всей мемbrane клетки. Метка также сконцентрирована и на септе, что указывает на роль белка FtsZ в формировании поперечной септы в клетках *M. hominis*. На фотографии среза другой крупной клетки (рис. 5, б) видно, что метка аналогично опоясывает клетку по мемbrane, однако поперечная септа здесь не выявлена. На срезе небольшой клетки (рис. 5, в) частицы коллоидного золота не только образуют подобие кольца с внутренней стороны мембранны, но и маленько колечко в центральной области клетки.

Локализацию метки в виде кольца, опоясывающего клетку по мемbrane, мы встречали довольно редко. Это

можно объяснить тем, что плоскость среза в данных случаях (за исключением клетки с четко выраженной поперечной септой) проходит как раз через центральную область клетки, где на ранних стадиях цитокинеза располагается подмембранные кольцо сжатия, сформированное из протофиламентов FtsZ. При этом метка может маркировать именно Z-кольцо.

Z-спирали. В некотором количестве неделящихся клеток *M. hominis* небольшого размера наблюдали расположение частиц золота по спирали (рис. 6, а—г). Если предположить, что в данных случаях плоскость среза проходит близко к поверхности микоплазменных клеток, то можно думать, что частицы коллоидного золота маркируют в клетках *M. hominis* протофиламенты FtsZ, обладающие спиральной структурой.

Сpirальная локализация полимеров FtsZ согласуется с данными экспериментов по местоположению FtsZ в

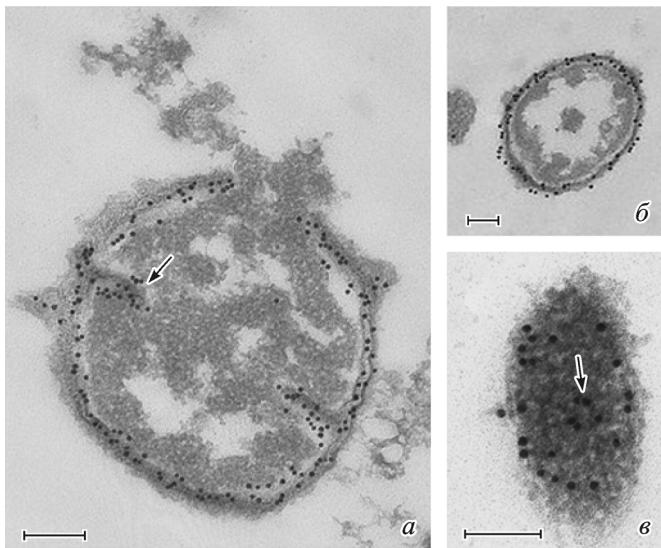


Рис. 5. Локализация белка FtsZ в клетках *M. hominis*.

a — метка к FtsZ видна на плазматической мемbrane и поперечной септе (стрелка); *b, c* — частицы коллоидного золота кольцеобразно опоясывают клетку по мемbrane; *c* — маленькое колечко из золотых частиц по центру клетки (стрелка). Масштабные линейки — 200 нм.

клетках бактерий в периоды между двумя событиями клеточного деления (Chauhan et al., 2006; Peters et al., 2007). Обнаруженные нами спирали FtsZ можно считать важным аргументом в пользу модели сборки Z-кольца посредством реорганизации длинных спиральных протофилааментов FtsZ — Z-спиралей (Michie et al., 2006).

Контрольные эксперименты. Специфичность распределения изучаемого белка FtsZ в клетках *M. hominis* подтверждается серией проведенных нами контролей (без поликлональных антител против FtsZ в иммуноцитохимической реакции). Специфическую метку на тонких срезах клеток *M. hominis* не наблюдали вовсе при замене первых антител чистым раствором PBS (1×), содержащим 0.1 % BSA. В случае же, когда препараты вместо по-

ликлональных антител обрабатывали кроличьей неиммунной сывороткой, на некоторых срезах клеток встречались лишь единичные частицы коллоидного золота.

Обсуждение

Морфология клеток *M. hominis*. В отношении морфологии клеток *M. hominis* мы наблюдали картины, напоминающие описанные ранее другими авторами, и совершенно согласны с их интерпретацией. Так, каждая клетка микоплазмы сначала имеет маленький размер и форму кокка, затем она растет, удлиняется и делится бинарно (Maniloff, 1969). Делящиеся клетки *M. hominis* на срезах легко распознать по гантелеобразной форме их сечений (рис. 3, *a*). Хотя обычными являются делящиеся формы с эквивалентным размером долей, иногда встречаются фрагментированные тяжи и «почки» (Robertson et al., 1983). На незаконченной фазе деления клетки расходятся, но остаются соединенными трубочкой, состоящей из цитоплазмы, ограниченной мембраной (рис. 3, *b, c*). Трубочка становится длиннее и тоньше и перед разделением клеток выглядит как две прилегающие друг к другу мембранны, ее толщина при этом составляет от 17 до 19 нм, и в конечном итоге она рвется (Maniloff, 1969). Таким образом, тонкие трубочки между клетками, вероятно, являются остаточными образованиями (бывшими перетяжками) завершающей фазы цитокинеза. На некоторых срезах мы наблюдали группы клеток, собранных в розетки (рис. 3, *г, д*). Не исключено, что наличие такой формы связано с множественным делением клеток, до сих пор не описанным у микоплазм. Для крупных клеток *M. hominis* характерно наличие разнообразных внутренних структур (рис. 3, *е—з*). Центральная область таких клеток более электронно-прозрачна и содержит тонкие фибриллы, образующие подобие сети. Авторы, детально исследовавшие морфологию клеток микоплазм, идентифицируют их как нити ДНК нуклеоида (Anderson, Barile, 1965; Robertson et al., 1975).

FtsZ *M. hominis* и деление клеток микоплазм. Сборка протофилааментов, состоящих из FtsZ, в области, прилегающей к цитоплазматической мемbrane, является самым ранним этапом в процессе цитокинеза бактерий (Bi, Lutkenhaus, 1991). Белок FtsZ *E. coli* и большинство других прокариот во время деления формируют структуру цитоскелета, именуемую Z-кольцом, или кольцом сжатия, на внутренней стороне цитоплазматической мембраны посередине клетки (Addinall, Lutkenhaus, 1996). Впервые локализация FtsZ в области перетяжки между двумя дочерними клетками, а также формирование подмембранныго Z-кольца во время цитокинеза были визуализированы с использованием методов иммуноцитохимии и просвечивающей электронной микроскопии в клетках *E. coli* (Bi, Lutkenhaus, 1991). Формирование белком FtsZ кольцевой структуры в клетках других бактерий было подтверждено при помощи иммунофлуоресцентной/световой микроскопии с GFP-меткой (Ma et al., 1996; Anderson et al., 2004). Совсем недавно существование подмембранныго Z-кольца было показано при помощи иммуноцитохимических экспериментов на ультратонких срезах клеток цианобактерий *Nostoc/Anabaena* (Klint et al., 2007).

Нам впервые удалось получить данные по локализации белка деления FtsZ в клетках микоплазмы *M. hominis* разной морфологии. На большом количестве срезов деля-

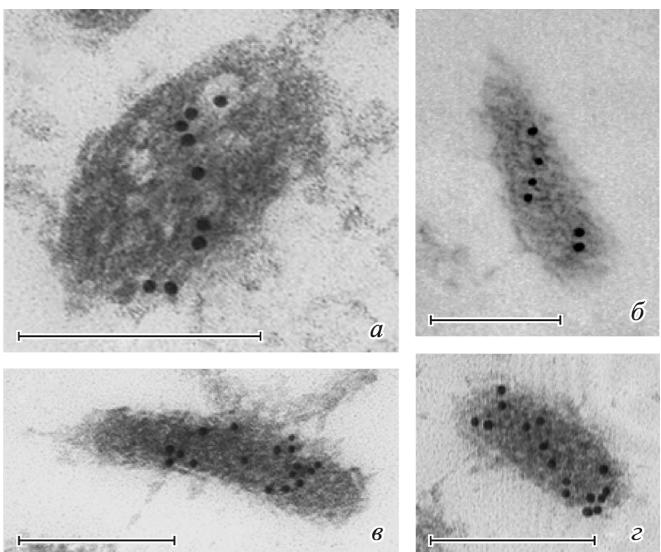


Рис. 6. Локализация белка FtsZ в клетках *M. hominis*.

a—c — спиральная локализация протофилааментов FtsZ в клетках *M. hominis*. *d* — более диффузная локализация FtsZ. Масштабные линейки — 200 нм.

ящихся клеток *M. hominis* частицы коллоидного золота обнаруживали преимущественно в области перетяжки между двумя дочерними клетками независимо от морфологии и размеров этих клеток (рис. 4, а—л). Вместе с предыдущими экспериментами по клонированию и секвенированию гена *ftsZ* *M. hominis*, установлению структуры кодируемого им белка и влиянию экспрессии рекомбинантного FtsZ в клетках *E. coli* на процесс цитокинеза (Momyanliev et al., 2002; Момыналиев и др., 2003) результаты наших иммуноцитохимических опытов служат доказательством первостепенной роли FtsZ *M. hominis* в делении клеток микоплазмы. В связи с этим нам представляются также важными примеры локализации метки на поперечной септе (рис. 5, а) и в виде кольца, опоясывающего клетку под мембраной (рис. 5, а—б). Вероятно, частицы коллоидного золота в данных случаях маркируют подмембранные Z-кольца.

Известно, что в клетках микоплазм, характеризующихся минимальным набором генов и метаболических путей, отсутствуют практически все «вспомогательные» белки деления. Кроме гена *ftsZ*, кодирующего ключевой белок деления прокариот FtsZ, в клетках *M. genitalium*, *M. pneumoniae* и *M. pulmonis* были найдены лишь *ftsY* и *ftsH*, причем роль белковых продуктов этих генов в цитокинезе не установлена (Momyanliev et al., 2002). FtsZ *M. hominis*, скорее всего, является основным белком деления микоплазм, управляющим процессом цитокинеза без участия обычных для бактерий «вспомогательных» белков. Данный факт является важным свидетельством в пользу того, что белки семейства FtsZ играют активную роль в цитокинезе прокариот, а не являются пассивными маркерами сайта деления.

Клетки микоплазм, возможно, делятся бинарно, как и клетки других грамположительных бактерий, к которым относятся представители класса Mollicutes. При этом и ранее было показано, что в результате цитокинеза у микоплазм зачастую образуются неравные по размеру дочерние клетки (Anderson, Barile, 1965; Maniloff, 1969; Robertson et al., 1975, 1983). Кроме того, мы наблюдали группы клеток, собранных не в цепочки, а в розетки, соединенные между собой (рис. 3, г, д; 4, ж), что может указывать на множественное деление клеток *M. hominis*. Как в таком случае узнается сайт деления, остается неясным. Нет свидетельств о существовании белков, которые локализуются на ранней стадии цитокинеза посередине клетки до FtsZ (Margolin, 2005). Однако нельзя исключить, что определенные факторы могут играть вспомогательную роль в локализации Z-кольца. Например, некоторые плазмида *E. coli* (F и P1), локализующиеся в позициях $\frac{1}{4}$ и $\frac{3}{4}$ клетки перед цитокинезом, вероятно, способны оставлять след, который помогает Z-кольцу занять правильную позицию в клетке в следующем раунде клеточного цикла (Janakiraman, Goldberg, 2004). Кроме того, на основании ряда наблюдений было сделано предположение о том, что ГТФ-индуцированная полимеризация FtsZ связана с ассоциацией протофилааментов FtsZ с поверхностями определенных липидных доменов (Mileykovskaya, Dowhan, 2000; Lafontaine et al., 2007). Альтернативные факторы, влияющие на расположение Z-кольца в клетке, могут играть важную роль у видов, не имеющих системы Min, среди которых все известные виды микоплазм (Miyagishi-ma et al., 2005; Ramos et al., 2005).

Z-спирали. Было установлено, что 70 % молекул белка FtsZ в клетках грамположительной бактерии *Bacillus subtilis* находится в примембранных областях (Michie

et al., 2006) и только 30 % клеточного FtsZ входит в состав кольца сжатия (Stricker et al., 2002). Таким образом, значительная часть молекул бактериального FtsZ, не входящих в состав Z-кольца, тем не менее образует регулярные контакты с мембраной, вероятно с помощью белка FtsA (Pichoff, Lutkenhaus, 2005), формируя упорядоченные структуры.

В клетках штаммов дикого типа *E. coli* (Sun, Margolin, 1998) и *B. subtilis* (Thanedar, Margolin, 2004) недавно были обнаружены длинные спиральные протофилааменты FtsZ, названные Z-спиралями. В вегетативных клетках *B. subtilis*, как и в клетках *E. coli*, Z-спирали выявлены по всей поверхности клетки, они располагаются и над нуклеоном (Michie et al., 2006). Z-спирали были выявлены также на поверхности клеток *Mycobacterium tuberculosis* в условиях, когда септация была подавлена, и только в делящихся клетках эти спирали собирались посередине клетки и формировали обычное Z-кольцо (Chauhan et al., 2006). Было показано, что в вегетативных растущих клетках *B. subtilis* протофилааменты FtsZ быстро перемещаются, огибая клетку по спирали, от полюса к полюсу (Peters et al., 2007). Более того, Z-спирали преобладают непосредственно перед цитокинезом в клетках, в которых еще не разглядеть четкого Z-кольца посередине клетки. Во время споруляции у *Streptomyces coelicolor* (Grantcharova et al., 2005), по-видимому, происходит регулируемая реконструкция протофилааментов FtsZ из цитоскелетных структур спиральной формы в Z-кольцо.

Недавно была предложена новая модель сборки Z-кольца на примере *B. subtilis* (Michie et al., 2006): сначала FtsZ локализуется по спиральному типу с внутренней стороны цитоплазматической мембраны; протофилааменты FtsZ быстро перемещаются в пределах этой динамичной структуры, огибая клетку, от полюса к полюсу. В последующем движение FtsZ по спиральному маршруту ограничивается центральной областью клетки. И в заключение Z-кольцо формируется строго посередине клетки в результате реорганизации длинных цитоскелетных спиральных форм FtsZ. Если образование кольца сжатия *in vivo* происходит подобным путем, то Z-кольцо должно представлять собой туго скрученную Z-спираль, а не замкнутую кольцевую структуру.

Сpirальная локализация протофилааментов FtsZ в клетках *M. hominis* (рис. 6, а—г) подтверждает данные экспериментов по установлению местоположения FtsZ в клетках бактерий в разные периоды клеточного цикла (Chauhan et al., 2006; Michie et al., 2006; Peters et al., 2007). Пока неясно, особенности сборки белка FtsZ определяют спиралевидную форму протофилааментов или протофилааменты FtsZ локализуются по спиральному треку, образованному какими-либо иными внутренними молекулярными структурами или компонентами клеточной оболочки (Margolin, 2005). Возможно, локализация протофилааментов FtsZ по спирали зависит от взаимодействия ключевого белка деления с такими компонентами бактериальной клетки, вовлеченными в регуляцию цитокинеза и образующими спиральные структуры, как система Min (Shin et al., 2003) и белок FtsA (Peters et al., 2007), однако генов, кодирующих подобные белки у микоплазм, обнаружено не было. В таком случае белковые полимеры FtsZ должны самостоятельно формировать подобные цитоскелетные структуры в клетках *M. hominis* исходя из собственных свойств. Z-спирали могут играть роль как в поддержании формы микоплазменной клетки, так и в образовании Z-кольца, претерпевая реорганизацию во время цитокинеза.

Сpirальная локализация была показана для других белков бактериального цитоскелета — гомологов актина MreB и Mbl *B. subtilis* (Jones et al., 2001), MreB и MreC *Caulobacter crescentus* (Dye et al., 2005). MreB и MreC формируют в клетках *C. crescentus* пространственно различные и независимо друг от друга локализующиеся спирали, вместе обеспечивая спиральную локализацию белка Pbp2, необходимого для поддержания правильной формы клетки (Dye et al., 2005).

Однако способность внутриклеточных белков к организации в упорядоченные структуры не принадлежит исключительно элементам цитоскелета бактерий. Белки MinC, MinD и MinE организованы в виде вытянутых спиралей, опоясывающих клетку (Shin et al., 2003). Вероятно, все три белка системы Min являются частью одной высокуюпорядоченной структуры, и их осцилляции отражают скорее перераспределение субъединиц в каркасе белков Min, чем de novo сборку и разборку Min-структур в каждом цикле. Это открытие, выдающееся в своем роде, может означать существование биологической системы, которая способна к самоорганизации (Gitai, Shapiro, 2003). Спиральной формой в клетках прокариот обладают также жгутики и пили (Li et al., 2000; Hahn et al., 2002). Таким образом, спиральная форма полимерных структур в бактериальной клетке может являться общим принципом организации для прокариот.

Другие примеры локализации белка FtsZ в клетках *M. hominis*. В некотором количестве крупных клеток *M. hominis* с отчетливо выраженным внутренними структурами метку наблюдали вблизи фибрилл нуклеоида. Иногда частицы коллоидного золота образовывали кластерные скопления в цитоплазме и весьма редко — маленькие колечки. Данные факты встречались нечасто и не представлены на рисунках. Чтобы их правильно интерпретировать, требуются дополнительные исследования.

Локализация белка FtsZ в неделяющихся клетках *M. hominis* различной морфологии представляет интерес с точки зрения функций (помимо участия в цитокинезе), приписываемых прокариотическому FtsZ как гомологу тубулина эукариот. Присутствие метки на фибриллах ДНК можно рассматривать как следствие прямого или косвенного участия FtsZ в сегрегации нуклеоида *M. hominis*. Для *E. coli* показано взаимодействие белка сегрегации MukB и FtsZ (Lockhart, Kendrick-Jones, 1998). Кластерные скопления метки могут маркировать области в цитоплазме, где на рибосомах происходит интенсивный синтез FtsZ. Что касается маленьких колец, то в литературе указывается на возможную роль FtsZ в сегрегации бактериальных плазмид (Margolin, 2005). Возможно, FtsZ в клетках бактерий образует структуры, аналогичные цитоскелетным сетям хлоропластов (Reski, 2002). По крайней мере часть элементов цитоскелета в клетках микоплазмы *M. hominis* может быть сформирована при участии белка FtsZ.

Заключение

Установлена локализация белка FtsZ в клетках микоплазмы *M. hominis*. В многочисленных опытах специфичная метка преимущественно располагалась в области перетяжек между двумя делящимися клетками. Кроме того, частицы коллоидного золота выявлены на мемbrane некоторых клеток, на поперечной септе, а также на предполагаемых спиральных полимерных структурах FtsZ. Основываясь на результатах данной работы, а также на

предыдущих исследованиях структуры и функций FtsZ *M. hominis*, можно заключить, что этот белок принимает участие в цитокинезе микоплазм, причем в процессе деления, вероятно, формирует подмембранные кольца сжатия (Z-кольца). В таком случае сборка протофилаентов FtsZ в кольцеобразную структуру в клетках *M. hominis* должна происходить без участия «вспомогательных» белков, которые отсутствуют у микоплазм, характеризующихся набором генов, близким к их минимальному количеству, необходимому для поддержания жизнедеятельности клетки. Подобное предположение, основанное на полученных нами данных, говорит в пользу активной роли FtsZ в делении клеток прокариот. Кроме того, протофилаенты FtsZ *M. hominis*, по-видимому, находятся в клетках микоплазм в форме Z-спиралей, на что указывает спиральное распределение метки на сечениях некоторых клеток. Этот факт является дополнительным аргументом в поддержку модели образования Z-кольца путем реорганизации длинных спиральных протофилаентов FtsZ (Michie et al., 2006). Помимо основной роли белка FtsZ в цитокинезе, возможно, он участвует в поддержании формы клеток *M. hominis* посредством связи с плазматической мембраной, о чем свидетельствует подмембранные распределение метки. Примеры локализации метки в виде мини-колец, кластерных скоплений в цитоплазме, а также на нитях нуклеоида были довольно редки и требуют дополнительных исследований; вопрос об иных функциях FtsZ в клетках микоплазм остается пока нерешенным.

Авторы благодарят д. б. н. В. А. Иванова (Институт цитологии РАН) за помощь в получении кроличьей поликлональной сыворотки; с. н. с. Г. К. Юррова (ВИЭВ им. Я. Р. Коваленко) за любезно предоставленные моно克лональные антитела mouse anti-rabbit, коньюгированные с пероксидазой хрена; к. б. н. В. Г. Ладыгину (НИИ ФХМ Росздрава) за помощь в культивировании клеток микоплазм; д. б. н. В. М. Чернова и д. б. н. В. В. Сальникова (КИББ КазНЦ РАН) за предоставленную возможность работы на JEM-1200.

Список литературы

- Вишняков И. Е., Борхсениус С. Н. 2007. Белок FtsZ и цитокинез у бактерий. Цитология. 49 (5) : 421—429.
- Миронов А. А., Комиссарчик Я. Ю., Миронов В. А. 1994. Методы электронной микроскопии в биологии и медицине. СПб.: Наука. 400 с.
- Момыналиев К. Т., Смирнова О. В., Лазарев В. Н., Акопян Т. А., Чельшева В. В., Говорун В. М., Айала Х. А., Симанкова А. Н., Борхсениус С. Н. 2003. Клонирование и экспрессия гена, кодирующего белок деления микоплазмы (*ftsZ*, *Mycoplasma hominis*). Генетика. 39 (3) : 318—325.
- Addinall S. G., Lutkenhaus J. 1996. FtsZ-spirals and -arcs determine the shape of the invaginating septa in some mutants of *Escherichia coli*. Mol. Microbiol. 22 : 231—237.
- Anderson D. A., Gueiros-Filho F. J., Erickson H. P. 2004. Assembly dynamics of FtsZ rings in *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* and effects on FtsZ-regulating proteins. J. Bacteriol. 186 : 5775—5781.
- Anderson D. E., Barile M. F. 1965. Ultrastructure of *Mycoplasma hominis*. J. Bacteriol. 90 : 180—192.
- Bi E., Lutkenhaus J. 1991. FtsZ ring structure associated with division in *Escherichia coli*. Nature. 354 : 161—164.
- Chauhan A., Madiraju M. V., Fol M., Lofton H., Maloney E., Reynolds R., Rajagopalan M. 2006. *Mycobacterium tuberculosis* cells growing in macrophage are filamentous and deficient in FtsZ rings. J. Bacteriol. 188 : 1856—1865.

- Dye N. A., Pincus Z., Theriot J. A., Shapiro L., Gitai Z. 2005. Two independent spiral structures control cell shape in Caulobacter. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 102 : 18 608—18 613.
- Erickson H. P. 1995. FtsZ, a prokaryotic homolog of tubulin? Cell. 80 : 367—370.
- Errington J., Daniel R. A., Scheffers D.-J. 2003. Cytokinesis in bacteria. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 67 : 52—65.
- Freundt E. 1983. Culture media for classical mycoplasmas. In: Methods in mycoplasmatology. New York: Acad. Press. 1 : 127—136.
- Furness G., Whitescarver J., Trocola M., DeMaggio M. 1976. Morphology, ultrastructure, and mode of division of *Mycoplasma fermentans*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma orale*, and *Mycoplasma salivarium*. J. Infect Dis. 134 : 224—229.
- Gitai Z., Shapiro L. 2003. Bacterial cell division spirals into control. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 100 : 7423—7424.
- Grantcharova N., Lustig U., Flärdh K. 2005. Dynamics of FtsZ assembly during sporulation in *Streptomyces coelicolor* A3(2). J. Bacteriol. 187 : 3227—3237.
- Hahn E., Wild P., Hermanns U., Sebbel P., Glockshuber R., Haner M., Taschner N., Burkhard P., Aebi U., Müller S. A. 2002. Exploring the 3D molecular architecture of *Escherichia coli* type 1 pili. J. Mol. Biol. 323 : 845—857.
- Ivanov V. A., Fel V. J. 1984. On some similarity between membrane antigens of the cell of Zajdela hepatoma and liver of rats subjected to a single 4-dimethylaminoazobenzene injection. Neoplasma. 27 : 745—750.
- Janakiraman A., Goldberg M. B. 2004. Evidence for polar positional information independent of cell division and nucleoid occlusion. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 101 : 835—840.
- Jones L. J., Carballido-Lopez R., Errington J. 2001. Control of cell shape in bacteria: helical, actin-like filaments in *Bacillus subtilis*. Cell. 104 : 913—922.
- Klint J., Rasmussen U., Bergman B. 2007. FtsZ may have dual roles in the filamentous cyanobacterium *Nostoc/Anabaena* sp. strain in PCC 7120. J. Plant Physiol. 164 : 11—18.
- Lafontaine C., Valleton J. M., Orange N., Norris V., Mileykovskaya E., Alexandre S. 2007. Behaviour of bacterial division protein FtsZ under a monolayer with phospholipid domains. Biochem. biophys. acta. 1768 : 2812—2821.
- Li C., Corum L., Morgan D., Rosey E. L., Stanton T. B., Charron N. W. 2000. The spirochete FlaA periplasmic flagellar sheath protein impacts flagellar helicity. J. Bacteriol. 182 : 6698—6706.
- Lockhart A., Kendrick-Jones J. 1998. Interaction of the N-terminal domain of MukB with the bacterial tubulin homologue FtsZ. FEBS Lett. 430 : 278—282.
- Löwe J., Amos L. A. 1998. Crystal structure of the bacterial cell division protein FtsZ. Nature. 391 : 203—206.
- Ma X., Ehrhardt D. W., Margolin W. 1996. Colocalization of cell division proteins FtsZ and FtsA to cytoskeletal structures in living *Escherichia coli* cells by using green fluorescent protein. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 93 : 12 998—13 003.
- Maniloff J. 1969. Electron microscopy of small cells: *Mycoplasma hominis*. J. Bacteriol. 100 : 1402—1408.
- Margolin W. 2005. FtsZ and the division of prokaryotic cells and organelles. Nature Rev. Mol. Cell Biol. 6 : 862—871.
- Michie K. A., Monahan L. G., Beech P. L., Harry E. J. 2006. Trapping of a spiral-like intermediate of the bacterial cytokinetic protein FtsZ. J. Bacteriol. 188 : 1680—1690.
- Mileykovskaya E., Dowhan W. 2000. Visualization of phospholipid domains in *Escherichia coli* by using the cardiolipin-specific fluorescent dye 10-N-nonyl acridine orange. J. Bacteriol. 182 : 1172—1175.
- Miyagishima S. Y., Wolk C. P., Osteryoung K. W. 2005. Identification of cyanobacterial cell division genes by comparative and mutational analyses. Mol. Microbiol. 56 : 126—143.
- Momynaliev K. T., Smirnova O. V., Lazarev V. N., Akopian T. A., Chelysheva V. V., Ayala J. A., Simankova A. N., Borchsenius S. N., Govorun V. M. 2002. Characterization of the *Mycoplasma hominis ftsZ* gene and its sequence variability in *Mycoplasma* clinical isolates. BBRC. 293 : 155—162.
- Peters P. C., Migocki M. D., Thoni C., Harry E. J. 2007. A new assembly pathway for the cytokinetic Z ring from a dynamic helical structure in vegetatively growing cells of *Bacillus subtilis*. Mol. Microbiol. 64 : 487—499.
- Pichoff S., Lutkenhaus J. 2005. Tethering the Z ring to the membrane through a conserved membrane targeting sequence in FtsA. Mol. Microbiol. 55 : 1722—1734.
- Ramos A., Letek M., Campelo A. B., Vaquera J., Mateos L. M., Gil J. A. 2005. Altered morphology produced by *ftsZ* expression in *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13869. Microbiology. 151 : 2563—2572.
- Razin S., Yoge D., Naot Y. 1998. Molecular biology and pathogenicity of mycoplasmas. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 64 : 1094—1156.
- Reski R. 2002. Rings and networks: the amazing complexity of FtsZ in chloroplasts. Trends Plant Sci. 7 : 103—105.
- Robertson J. A., Alfa M., Boatman E. S. 1983. Morphology of the cells and colonies of *Mycoplasma hominis*. Sex Transm. Dis. 10 : 232—239.
- Robertson J., Gomersall M., Gill P. 1975. *Mycoplasma hominis*: growth, reproduction, and isolation of small viable cells. J. Bacteriol. 124 : 1007—1018.
- Shih Y.-L., Le T., Rothfield L. 2003. Division site selection in *Escherichia coli* involves dynamic redistribution of Min proteins within coiled structures that extend between the two cell poles. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 100 : 7865—7870.
- Stricker J., Maddox P., Salmon E. D., Erickson H. P. 2002. Rapid assembly dynamics of the *Escherichia coli* FtsZ-ring demonstrated by fluorescence recovery after photobleaching. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 99 : 3171—3175.
- Sun Q., Margolin W. 1998. FtsZ dynamics during the division cycle of live *Escherichia coli* cells. J. Bacteriol. 180 : 2050—2056.
- Thanedar S., Margolin W. 2004. FtsZ exhibits rapid movement and oscillation waves in helix-like patterns in *Escherichia coli*. Curr. Biol. 14 : 1167—1173.
- Woese C. R. 1987. Bacterial evolution. Microbiol. Rev. 51 : 221—271.

Поступила 8 IX 2008

LOCALIZATION OF THE DIVISION PROTEIN FTSZ IN MYCOPLASMA CELLS MYCOPLASMA HOMINIS

I. E. Vishnyakov,¹ S. N. Borchsenius,^{1,*} Yu. I. Basovskii,² S. A. Levitskii,² V. N. Lazarev,²
E. S. Snigirevskaya,¹ Ya. Yu. Komissarchik¹

¹ Institute of Cytology, RAS, St. Petersburg
and ² Institute of Physical-Chemical Medicine, Federal Agency of Public Health and Social Development, Moscow;
* e-mail: borch@mail.cytspb.rssi.ru

Localization of the protein FtsZ in *Mycoplasma hominis* cells was determined. Ultra thin sections were treated by rabbit polyclonal antibodies against FtsZ *M. hominis*: a conjugate of protein A with colloidal gold particles was used instead of secondary antibodies. Considerable polymorphism of cells was seen on electron micro-

copy pictures of *M. hominis* cells, which is typical for mycoplasmas. Among a wide variety of cell shapes we distinguished dumbbell-shaped dividing cells, and the cells connected with each other with the aid of thin membrane tubules (former constrictions). Dominants distribution of the label in the constriction area of dividing *M. hominis* cells and in the area of the thin membrane tubules was observed. We revealed the cross septum in the mycoplasma cells for the first time, as well as the gold labeling of this structure. Furthermore, in some rounded and oval cells colloidal gold particles labeled the whole plasma membrane in ring-shaped manner. Probably, the label in these cases marks a submembrane contractile ring (Z-ring). The facts mentioned above confirm that FtsZ of *M. hominis* plays an active role in the mycoplasma cytokinesis. In a series of cases spiral-like distribution of gold particles was observed. Probably, FtsZ protofilaments in *M. hominis* cells can form spiral structures similar to Z-spirals of *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli*. Its presence in mycoplasma cells may be considered as an important argument in favour of model of Z-ring assembling through reorganization of Z-spirals. FtsZ also may participate in maintenance of mycoplasma cell shape (membrane localization).

Key words: FtsZ, mycoplasmas, *M. hominis*, immunocytochemistry, Z-ring, Z-spiral.