СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Волкова О.В., Елецкий Ю.К.* Основы гистологии с гистологической техникой. М.: Медицина; 1982.
2. *Ильина Т.С., Смирнов Г.Б., Смирнова Н.И.* и др. Рекомбинантная плазмидная ДНК, кодирующая синтез В-субъединицы холерного токсина, способ ее конструирования и штамм бактерий *Vibrio cholerae* продуцент В-субъединицы холерного токсина. АС № 1505022 от 18.09.87.
3. *Ломов Ю.М., Москвитина Э.А., Безсмертный В.Е.* и др. Холера в мире, странах СНГ и России: эпидемиологическая обстановка (1998–2007 г.) Холера и патогенные для человека вибрионы. Сб. матер. пробл. комиссии. Ростов н/Д, 2008; 21:13–6.
4. *Онищенко Г.Г., Ломов Ю.М., Москвитина Э.А., Федоров Ю.М., Подосинникова Л.С., Горобец А.В.* Холера в начале XXI века. Прогноз. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 2005; 3:44–8.
5. *Осин А.В., Ливанова Л.Ф., Ерошенко Г.А., Заднова С.П., Смирнова Н.И.* Изучение особенностей наследования и экспрессии рекомбинантной плазмиды с клонированными генами холерного токсина в авирулентном штамме. Холера и патогенные для человека вибрионы. Сб. матер. пробл. комиссии. Ростов н/Дону, 2002; 15:103–6.
6. *Alam M., Hasan N.A., Sadique A., Bhuiyan N.A., Ahmed K.U., Nusrin S. et al.* Seasonal cholerae caused by *Vibrio cholerae* serogroups O1 and O139 in the coastal aquatic environment of Bangladesh. Appl. Environ. Microbiol. 2006; 72(6):4096–104.
7. *Albert M.J., Siddique A.K., Islam M.S.* Large outbreak of clinical cholerae due to *Vibrio cholerae* non-O1 in Bangladesh. Lancet. 1993; 341:704.
8. *Cray W.C., Tokunaga E., Pierse N.F.* Successful colonization and immunization of adult rabbits by oral inoculation with *Vibrio cholerae* O1. Infect. Immun. 1983; 41(20):735–41.
9. *Faruque S.M., Chowdhury N., Kamruzzaman M., Shafi Ahmad Q., Faruque A.S.G., Salam M.A. et al.* Emerg. Infect. Dis. 2003; 9(9):1116–22.
10. *Evans D.G., Evans D.J., Clegg S., Pauley J.A.* Purification and characterization of the CFA1 antigen of enterotoxigenic *Escherichia coli*. Infect. Immun. 1979; 25(2):738–48.
11. *Ledon T., Valle E., Valmaseda T., Faruque A.S.G., Ansaruzzaman M., Faruque S.M. et al.* Construction and characterization of O139 cholera vaccine candidates. Vaccine 2003; 21(11–12):1282–91.
12. Outbreak verification list. 27. WHO. Geneva, Switzerland 2005.
13. *Spira W.M., Sack R.B., Froelich J.F.* Simple adult rabbit model for *Vibrio cholerae* and enterotoxigenic *Esherichia coli* deiarrhea. Infect. Immun. 1981; 32:739–47.

I.M.Krepostnova, L.F.Livanova, S.A.Bugorkova, N.I.Smirnova

Investigation of Protective Properties of the Constructed Recombinant Biplasmid Strain of *Vibrio cholerae* O139 Serogroup Producing Cholera Toxin B Subunit and *Escherichia coli* Colonization Factor CFA/1

Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov

The constructed avirulent biplasmid *Vibrio cholerae* strain KM182 producing cholera toxin B subunit and *Escherichia coli* colonization factor CFA/1 (providing for antitoxic and anti-colonization immunity formation, correspondently) was demonstrated to protect immunized model laboratory animals from experimental cholera caused by the virulent Vibrio cholerae O139 strain. The optimal doses for immunization and challenging were determined.

Key words: *Vibrio cholerae* O139 Serogroup, plasmid, RITARD method, cholera toxin B subunit, colonization factor CFA/1.

Поступила 10.07.08.

УДК 616.981.452:575

Л.М.Куклева, Г.А.Ерошенко, В.Е.Куклев, Я.М.Краснов, Н.П.Гусева, Г.Н.Одиноков, В.В.Кутырев

СРАВНЕНИЕ ПОЛНОЙ НУКЛЕОТИДНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ГЕНА *RHAS* У ШТАММОВ ВОЗБУДИТЕЛЯ ЧУМЫ ОСНОВНОГО И НЕОСНОВНЫХ ПОДВИДОВ

ФГУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов

Определена полная нуклеотидная последовательность гена *rhaS* – регуляторного гена *rha* локуса хромосомы у штаммов *Yersinia pestis* основного и неосновных подвидов, а также у *Y. pseudotuberculosis* I–III сероваров. Установлено наличие в гене *rhaS* значимых и несущественных нуклеотидных замен, которые, по-видимому, являются причиной различной способности к ферментации рамнозы у штаммов возбудителя чумы (основного и неосновных подвидов) и псевдотуберкулеза.

Ключевые слова: возбудитель чумы, основной и неосновные подвиды *Y. pestis*, ферментация рамнозы, нуклеотидная последовательность.

Ферментация рамнозы является одним из важнейших диагностических признаков, позволяющих дифференцировать возбудителей чумы и псевдотуберкулеза. *Yersinia pseudotuberculosis* активно использует этот углевод в качестве источника углерода и энергии, тогда как штаммы основного подвида *Y. pestis* не способны к ферментации рамнозы [1, 5]. Штаммы неосновных подвидов чумного микроба, занимающие промежуточное положение между основным подвидом *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis*, способны ферментировать рамнозу, хотя выраженность этого признака у разных подвидов варьирует. Так, штаммы кавказского и алтайского подвидов активно ферментируют рамнозу в первые 24–48 ч от начала культивирования, а штаммы улэгейского подвида – в более поздние сроки через (48–96 ч) [3]. Для штаммов гиссарского подвида отмечена изменчивость сроков проявления этого признака (от 1–2 сут до ее полного отсутствия) [4]. Причины столь существенных различий в проявлении способности к ферментации рамнозы у штаммов основного и неосновных подвидов остаются к настоящему моменту невыясненными. Устойчивое отсутствие этого признака у штаммов основного подвида *Y. pestis* свидетельствует о наличии генетического дефекта в генах локуса *rha*, кодирующего ферменты утилизации рамнозы.

L-рамноза (метилпентоза) утилизируется бактериальными клетками с помощью группы ферментов, синтез которых детерминируется генами, расположенными в *rha* локусе. Строение рамнозного регулона подробно изучено на модели кишечной палочки.

Установлено наличие четырех структурных генов: *rhaA*, кодирующего рамнозоизомеразу, *rhaB* – рамнулокиназу, *rhaD* – рамнулозо-1-фосфат-альдолазу [8] и *rhaT*, детерминирующий транспортный белок для рамнозы [7]. Регуляцию функционирования *rha* локуса осуществляют продукты генов *rhaR* и *rhaS*. Продукт гена *rhaR* при наличии в среде рамнозы активирует транскрипцию оперона *rhaSR*, далее RhaS активирует транскрипцию генов *rhaBAD*, кодирующих ферменты катаболизма L-рамнозы и *rhaT* – транспортного белка для L-рамнозы – RhaT [6]. Аминокислотные последовательности белков RhaS и RhaR совпадают на 30 %, и оба этих фермента являются членами семейства активаторов транскрипции – AraC/XylS [10].

Проведенный нами математический анализ генов *rha* локуса возбудителей чумы и псевдотуберкулеза на основе полных нуклеотидных последовательностей геномов 6 штаммов возбудителя чумы и 2 штаммов псевдотуберкулезного микроба, представленных в базе данных NCBI GenBank, показал полное совпадение строения *rha* локуса у возбудителя чумы и кишечной палочки и выявил наличие у чумного микроба генов *rhaA, B, D, R, S* и *T*.

По результатам математического анализа наибольшей вариабельностью структуры у возбудителя чумы по сравнению с псевдотуберкулезным микробом обладает ген *rhaS*, что позволяет предположить, что изменение нуклеотидной последовательности именно этого гена является причиной различного отношения к рамнозе у штаммов основного и неосновных подвидов *Y. pestis*. Результаты математического анализа, а также предварительные собственные экспериментальные данные свидетельствуют об отсутствии различий в нуклеотидной последовательности генов *rhaA*, *rhaB* и *rhaR* у изученных нами штаммов чумного микроба (основного и неосновных подвидов), а также возбудителя псевдотуберкулеза (данные готовятся к публикации). В структурном гене пермеазы – *rhaT* математический анализ отличий не выявил.

Для выяснения причин различной ферментативной активности в отношении рамнозы нами было проведено секвенирование гена *rhaS* у штаммов *Y. pestis* основного и неосновных подвидов, а также изучена возможность использования выявленных различий в нуклеотидной последовательности гена *rhaS* для генетической дифференциации этих подвидов.

Материалы и методы

Бактериальные штаммы. В работе использовано 15 типичных штаммов *Y. pestis* основного, алтайского, кавказского, улэгейского и гиссарского подвидов, таласской группы, выделенных в различных природных очагах России и сопредельных государств, а также 3 штамма возбудителя псевдотуберкулеза I–III сероваров (табл. 1). Штаммы по-

Таблица 1

Характеристика использованных штаммов *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis*

Штаммы	Подвид/серовар	Время и место выделения (природный очаг)	Источник выделения	Ферментация рамнозы, сут
Yersinia pestis				
М-231	Основной	1947, Аксайский	Серый сурок	-
А-161	"	1962, Устюртский	Блохи большой песчанки	-
А-1836	"	1988, Сарыджасский	Серый сурок	-
М-519	"	1977, Копетдагский	Большая песчанка	-
А-1793	"	1978, Зауральский	Малый суслик	-
1146	Кавказский	1962, Зангезуро-Карабахский	Обыкновенная полевка	1
818	"	1968, Приараксинский	Блохи гнезда обыкновенной полевки	1
А-1728	Гиссарский	1972, Гиссарский	Арчовая полевка	2
А-1249	"	1970, Гиссарский	Арчовая полевка	2
И-2998	Алтайский	1982, Алтайский горный	Монгольская пищуха	1
И-2359	"	1973, Алтайский горный	Блохи гнезда монгольской пищухи	1
И-3069	Улэгейский	1982, МНР, Убурхангай	Полевка Брандта	2
И-3131	"	1984, МНР, Южно-Гобийский аймак	Монгольская пищуха	2
А-1802	Таласский	1980, Таласский хребет, Киргизия	Блохи	2
А-1815	"	1980, Таласский хребет, Киргизия	Блохи мыши-полевки	2
Y. pseudotuberculosis				
I	I	Получен из института Пастера (Франция)	Коллекция Г.Моляре	1
III	III	Получен из института Пастера (Франция)	Коллекция Г.Моляре	1
312	I	1973, Владивосток	Больной дальневосточной скарлатиноподобной лихорадкой	1

лучены из Государственной коллекции патогенных бактерий «Микроб», где они хранились в лиофильно высушенном состоянии. Культивирование штаммов и изучение их биохимической активности проводили в соответствии с рекомендациями, изложенными в Руководстве по профилактике чумы [2].

Сравнительный анализ нуклеотидной последовательности регуляторного гена *rhaS* проводили с использованием баз данных NCBI GenBank у штаммов *Y. pestis* KIM (биовар medievalis), CO92 (биовар orientalis), Nepal156 и Antiqua (биовар antiqua), Pestoides F (по отечественной классификации – кавказский подвид) и *Y. pseudotuberculosis* IP32953 и IP31758.

Конструирование праймеров и условия проведения полимеразной цепной реакции. Для определения нуклеотидной последовательности гена *rhaS* с помощью программы Primer Express были рассчитаны праймеры, фланкирующие полную нуклеотидную последовательность указанного гена [(rhaSc-s (GGT TTA GTC ATC ACT GCT GC) и rhaSc-a (GTT CAC GCC CTT TCT TGC)]. ПЦР проводили на амплификаторе БИС-110 (ООО «БИС-Н», Россия). Реакционная смесь имела состав: 10 мМ Tris-HCl (pH 8,0); 2,5 мМ $MgCl_2$; по 0,2 мМ каждого из нуклеотидов dATP, dCTP, dGTP, dTTP; по 0,6 мМ каждого праймера; 5 ед. Taq ДНК-полимеразы (Бионем, Москва) и 10 нг ДНК. Температурный профиль амплификации: 1 цикл 95 °С в течение 5 мин, затем 30 циклов (95 °С – 30 с, 58 °С – 30 с, 72 °С – 1 мин) и завершающий цикл при 72 °С в течение 5 мин. В качестве матрицы в ПЦР использовали препараты тотальной ДНК штаммов *Y. pestis*. Синтез олигонуклеотидных праймеров осуществляли на автоматическом синтезаторе ДНК АСМ-800 (Биоссет, Россия) в РосНИПЧИ «Микроб». Электрофоретический анализ ПЦР-продуктов проводили в 2 % агарозном геле (Bio-Rad, США) и регистрировали в УФ-свете. Для контроля молекулярной массы использовали коммерческие маркеры GenRuler TM 50 bp DNA Ladder (MBI Fermentas, Литва).

Определение нуклеотидной последовательности гена rhaS исследуемых штаммов проводили с помощью ферментативного секвенирования методом «терминаторов» [9].

Для первичной обработки данных использовали программы: «3100 Data Collection Software 1.1» и «DNA Sequencing Analyis Software 3.7». Выравнивание и сравнение полученных последовательностей проводили в программе MEGA 4. Для сравнения секвенированных нами нуклеотидных помледовательностей с представленными в базе данных NCBI GenBank использовали алгоритм BLAST.

Результаты и обсуждение

На первом этапе исследования проведен сравнительный анализ нуклеотидной последовательности регуляторного гена *rhaS* штаммов *Y. pestis* KIM, CO92, Antiqua, Nepal 156, Pestoides F и *Y. pseudotuberculosis* IP32953 и IP31758, представленных в базе данных NCBI GenBank.

Представленные в международной базе данных штаммы возбудителя чумы относятся к различным биоварам основного подвида *Y. pestis* и не ферментируют рамнозу, тогда как штаммы *Y. pseudotuberculosis* способны катаболизировать этот углевод. Штаммы возбудителя псевдотуберкулеза были использованы для сравнения с возбудителем чумы, поскольку, по современным представлениям, этот микроорганизм является непосредственным предшественником чумного микроба и целый ряд генов, продукты которых участвуют в метаболических процессах, у чумного микроба повреждены в процессе эволюционного перехода к новому способу существования.

Результаты, полученные при анализе нуклеотидных последовательностей гена *rhaS* у *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis,* свидетельствуют о наличии ряда нуклеотидных замен в изучаемом гене у штаммов возбудителя чумы по сравнению с псевдотуберкулезным микробом, некоторые из которых, возможно, являются причиной различной способности этих возбудителей ферментировать рамнозу.

Для выяснения причин неодинаковой ферментативной активности в отношении рамнозы у штаммов возбудителя чумы, циркулирующих на территории России и ближнего зарубежья, нами была определена полная нуклеотидная последовательность регуляторного гена *rhaS* у 5 штаммов основного подвида *Y. pestis* (Зауральский степной, Устюртский, Копетдагский пустынные, Сарыджасский и Аксайский высокогорные очаги чумы) и 10 штаммов неосновных подвидов: по 2 изолята кавказского (Зангезуро-Карабахский и Приараксинский горные), алтайского (Алтайский горный), гиссарского (Гиссарский высокогорный), улэгейского (Монголия) подвидов чумного микроба, а также 2 штамма из Таласского высокогорного очага чумы. Были изучены также 3 штамма *Y. pseudotuberculosis* I–III сероваров (табл. 1).

Результаты анализа структуры гена *rhaS*, размер которого составляет 822 п.н., свидетельствуют о том, что штаммы *Y. pseudotuberculosis* I, III, 312 (секвенированы нами), как и *Y. pseudotuberculosis* IP31758 (NCBI GenBank), содержат в позициях 416 и 495 п.н. – аденин, в отличие от штамма *Y. pseudotuberculosis* IP32953 (GenBank), у которого в этих положениях находится гуанин. В штаммах *Y. pseudotuberculosis* I и III в позициях 183 п.н. и 702 п.н. содержится тимин, тогда как в геноме штамма *Y. pseudotuberculosis* 312 и представленных в базе данных NCBI GenBank *Y. pseudotuberculosis* IP32953 и IP31758 – цитозин. Нами выявлены также уникальные нуклеотидные замены у штаммов *Y. pseudotuberculosis* 312 в позиции 789 п.н. (гуанин вместо аденина у остальных штаммов) и *Y. pseudotuberculosis* IP31758 в позиции 790 п.н. (гуанин вместо цитозина у остальных изолятов). Однако выявленные нами единичные нуклеотидные замены, очевидно, не имеют значения для проявления изучаемого свойства у возбудителя

псевдотуберкулеза, поскольку все штаммы возбудителя способны к ферментации рамнозы и, следовательно, способность катаболизировать этот углевод является видоспецифическим признаком для *Y. pseudotuberculosis*.

На следующем этапе исследования проведен сравнительный анализ нуклеотидной последовательности гена *rhaS* штаммов чумного микроба основного подвида (не ферментируют рамнозу) и неосновных подвидов (ферментируют рамнозу). Было установлено, что штаммы кавказского, алтайского, гиссарского, улэгейского подвидов и таласские изоляты в позиции 671 п.н. гена *rhaS* содержат гуанин. Этот же нуклеотид выявлен и у штаммов *Y. pseudotuberculosis* как представленных в базе данных NCBI GenBank, так и секвенированных нами (табл. 2). В отличие от них, у всех изученных нами штаммов основного подвида *Y. pestis* – А-1836, А-161, М-519, М-231, А-1793 (не ферментируют рамнозу), выделенных на территории России и приграничных государств, как и у штаммов, представленных в базе данных NCBI GenBank (KIM, CO92, Nepal156, Antiqua), в позиции 671 п.н. находится аденин (табл. 2). Поскольку это единственное общее отличие между штаммами основного подвида возбудителя чумы и штаммами неосновных подвидов, а также псевдотуберкулезным микробом, то, вероятно, наличие именно этой нуклеотидной замены является причиной отсутствия способности к ферментации рамнозы у штаммов основного подвида.

Для обработки полученных результатов мы использовали программное обеспечение Mega 4, с помощью которого установлено, что выявленная нами нуклеотидная замена в положении 671 п.н. приводит к смене триплета CGC, кодирующего аминокислоту аргинин (*Y. pseudotuberculosis*, неосновные подвиды *Y. pestis*) на триплет CAC, детерминирующий синтез гистидина (основной подвид *Y. pestis*). Эти аминокислоты различаются между собой по строению боковых цепей: в состав аргинина входит гидроксильная группа, тогда как молекула гистидина содержит

Таблица 2

Вариабельность гена RhaS (822 н.п.) у штаммов *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis*

Штамм	Подвид, серовар	Положение единичных замен									
		789	790	780	702	671	494	495	482	416	183
Yersinia pestis											
А 1836	Основной	A	C	C	C	A	T	A	G	A	C
М 519	"	A	C	C	C	A	T	A	G	A	C
А 161	"	A	C	C	C	A	T	A	G	A	C
231	"	A	C	C	C	A	T	A	G	A	C
А1793	"	A	C	C	C	A	T	A	G	A	C
А-1728	Гиссарский	A	C	C	C	G	T	A	A	A	C
А-1249	Гиссарский	A	C	C	C	G	T	A	A	A	C
818	Кавказский	A	C	C	C	G	C	A	G	A	C
1146	Кавказский	A	C	C	C	G	C	A	G	A	C
И-2359	Алтайский	A	C	C	C	G	T	A	G	A	C
И-2998	Алтайский	A	C	C	C	G	T	A	G	A	C
И-3069	Улэгейский	A	C	C	C	G	T	A	G	A	C
И-3131	Улэгейский	A	C	C	C	G	T	A	G	A	C
А-1802	Таласский	A	C	C	C	G	T	A	G	A	C
А-1815	Таласский	A	C	C	C	G	T	A	G	A	C
Pestoides F*	Кавказский	A	C	C	C	G	C	A	G	A	C
CO92*	Orientalis	A	C	C	C	A	T	A	G	A	C
KIM*	Medievalis	A	C	C	C	A	T	A	G	A	C
Antiqua, Nepal 516*	Antiqua	A	C	C	C	A	T	A	G	A	C
Yersinia pseudotuberculosis											
III	III	A	C	C	T	G	C	A	G	A	T
I	I	A	C	C	T	G	C	A	G	A	T
312	I	G	C	A	C	G	C	A	G	A	C
IP 31758**		A	G	A	C	G	C	A	G	A	C
IP 32953**		A	C	C	C	G	C	G	G	G	C

*Штаммы *Y. pestis* KIM, CO92, Nepal156, Antiqua биоваров antiqua, medievalis, orientalis, и Pestoides F. **Штаммы *Y. pseudotuberculosis* IP32953 и IP31758 представлены в базе данных NCBI GenBank.

имидазольное кольцо. Возможно, что такое изменение первичной структуры молекулы регуляторного белка RhaS способно видоизменять его вторичную или третичную структуру и затруднять контакт фермента с молекулой-мишенью.

При анализе структуры гена *rhaS* у штаммов кавказского подвида (818 и 1146), ферментирующих рамнозу на 1-е сутки, выявлена идентичность с нуклеотидной последовательностью секвенированного нами гена *rhaS* штаммам *Y. pseudotuberculosis*, что свидетельствует о наличии у штаммов кавказского подвида гена *rhaS* «дикого» типа и, в конечном итоге, об эволюционной древности этого подвида.

У штаммов гиссарского подвида выявлена уникальная нуклеотидная замена в позиции 482 п.н. (аденин), отсутствующая у штаммов других подвидов (гуанин). По данным математического анализа с использованием программы Mega 4, эта замена приводит к изменению аминокислотной последовательности регуляторного белка RhaS у штаммов гиссарского подвида – появление тирозина вместо цистеина. Возможно, что эта нуклеотидная замена является причиной неустойчивого фенотипического проявления признака ферментации рамнозы у штаммов гиссарского подвида и может рассматриваться как генетическая особенность этих штаммов (табл. 2).

У штаммов гиссарского, алтайского, улэгейского подвидов и штаммов из Таласского природного очага чумы, в отличие от кавказского подвида, обнаружена нуклеотидная замена в позиции 494 п.н. (тимин вместо цитозина у *Y. pseudotuberculosis*), что приводит к появлению в составе регуляторного белка RhaS аминокислоты валин вместо аланина. По-видимому, эта замена не является значимой, поскольку штаммы алтайского подвида, несущие эту замену, ферментируют рамнозу в короткие сроки.

Таким образом, секвенирование полной нуклеотидной последовательности регуляторного гена *rhaS* свидетельствуют о наличии в этом гене синонимических и несинонимических нуклеотидных замен в геноме чумного микроба основного и неосновных подвидов по сравнению с возбудителем псевдотуберкулеза, которые, по-видимому, являются причиной различной способности основного и неосновных подвидов ферментировать рамнозу. Выявленные единичные нуклеотидные замены позволяют дифференцировать штаммы возбудителя псевдотуберкулеза и кавказского подвида *Y. pestis* от остальных подвидов чумного микроба, основной подвид от неосновных подвидов возбудителя чумы, а также, благодаря наличию уникальных нуклеотидных замен, дифференцировать штаммы гиссарского подвида.

Работа поддержана грантами РФФИ 06-04-08152 ОФИ, 07-04-00100а, 08-04-00731а.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Кутырев В.В., Проценко О.А.* Классификация и молекулярно-генетические исследования *Yersinia pestis*. Пробл. особо опасных инф. 1998; 78:11–22.
2. *Наумов А.В., Самойлова Л.В.*, редакторы. Руководство по профилактике чумы. Саратов; 1992.
3. *Онищенко Г.Г., Федоров Ю.М., Кутырев В.В., Попов Н.В.* и др. Природные очаги чумы Кавказа, Прикаспия, Средней Азии и Сибири. М.: Медицина; 2004. 192 с.
4. *Слудский А.А., Дерлятко К.И., Головко Э.Н., Агеев В.С.* Гиссарский природный очаг чумы. Саратов: Изд-во Сарат. ун-та; 2003. 248 с.
5. *Шурыгина И.А., Чеснокова М.В., Климов В.Т.* и др. Псевдотуберкулез. Новосибирск: Наука; 2003.
6. *Holcroft C., Egan S.* Interdependence of activation at rhaRS by cyclic AMP receptor protein, the RNA polymerase alpha subunit C-terminal domain, and RhaR. J. Bacteriol. 2000; 182(23):6774–82.
7. *Moralejo P., Egan S., Hidalgo E. et al.* Sequencing and characterization of a gene cluster encoding the enzymes for L-rhamnose metabolism in *Escherichia coli*. J. Bacteriol. 1993; 175(17):5585–94.
8. *Power J.* L-rhamnose genetic system in *Escherichia coli*. Genetics. 1967; 55:557–68.
9. *Sanger F., Nicklen L., Coulson A.* DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. Proc. Natl. Acad. Sci USA. 1977; 74(12):5463–67.
10. *Wicktrum J., Santangela T., Egan S.* Cyclic AMP receptor protein and RhaR synergistically activate transcription from the L-rhamnose-responsive rhaSR promoter in *Escherichia coli*. J. Bacteriol. 2005; 187(19):6708–18.

L.M.Koukleva, G.A.Yeroshenko, V.E.Kouklev, Ya.M.Krasnov, N.P.Guseva, G.N.Odinokov, V.V.Kutyrev

Comparison of Complete Nucleotide Sequence of *rhaS* Gene in the Strains of Plague Etiological Agent of Main and Minor Subspecies

Russian Anti-Plague Research Institute "Microbe", Saratov

Determined was complete nucleotide sequence of *rhaS* gene, the regulatory gene of *rha* locus of chromosome in *Yersinia pestis* strains of main and minor subspecies and in *Y. pseudotuberculosis* of I–III serovariants. The presence of significant and inessential nucleotide replacements in *rhaS* gene was shown. Evidently, these replacements are the cause of different abilities for rhamnose fermentation in the strains of plague etiological agent (main and minor subspecies) and those of pseudotuberculosis agent.

Key words: etiological agent of plague, *Y. pestis* main and minor subspecies, rhamnose fermentation, nucleotide sequence.

Поступила 26.02.08.