DOI: 10.21055/0370-1069-2022-4-57-62

УДК 616.98:579.842.23

П.А. Горюнова, Г.А. Ерошенко, Л.М. Куклева, Е.А. Нарышкина, З.Л. Девдариани, Н.С. Червякова, В.В. Кутырев

Вариабельность генов *pgm*-области штаммов *Yersinia pestis* из Прикаспийского песчаного и сопредельных очагов чумы

ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация

Цель работы – сравнение нуклеотидных последовательностей генов *pgm*-области штаммов *Yersinia pestis*, выделенных в 1925–2015 гг. на территории Прикаспийского песчаного и сопредельных очагов чумы. **Материалы и методы.** В работе использованы 65 штаммов *Y. pestis* из Прикаспийского песчаного и сопредельных очагов чумы. Выделение ДНК проводили с помощью набора PureLink Genomic DNA Mini Kit. Полногеномное секвенирование выполняли в Ion S5 XL System (Thermo Fischer Scientific). Обработку данных осуществляли с помощью Ion Torrent Suite software package 3.4.2 и NewblerGS Assembler 2.6. Для сравнения полученных последовательностей с генетическим банком данных GenBank NCBI использовали алгоритм Blast. Филогенетический анализ выполнен по данным полногеномного SNP-анализа на основе 1183 выявленных SNPs. Поиск маркерных SNPs выполняли с помощью программы Snippy 4.6. Построение филогенетического дерева осуществляли с использованием алгоритма Maximum Likelihood, модель нуклеотидных замен GTR. **Результаты и обсуждение.** Проанализированы нуклеотидные последовательности генов *pgm*-области 65 штаммов *Y. pestis* из Прикаспийского песчаного и сопредельных очагов чумы. Выявлены единичные нуклеотидные замены у штаммов *Y. pestis* из Прикаспийского песчаного и Кобыстанского равнинно-предгорного очагов в генах *hmsR*, *astB*, *ybtS*, *ypo1944*, *ypo1943*, *ypo1936*, а также делеция в 5 п.н. в гене *ypo1945*, которая характерна для штаммов одной из филогенетических линий *Y. pestis* из очагов Кавказа и Закавказья, выделенных в 1968–2001 гг. Полученные данные могут быть использованы для дифференциации штаммов *Y. pestis* из Прикаспийского песчаного очага, а также в установлении направлений микроэволюции возбудителя чумы в этом регионе Прикаспия и сопредельных очагах.

Ключевые слова: чума, *pgm*-область, *hms*-оперон, природные очаги.

Корреспондирующий автор: Горюнова Полина Александровна, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Горюнова П.А., Ерошенко Г.А., Куклева Л.М., Нарышкина Е.А., Девдариани З.Л., Червякова Н.С., Кутырев В.В. Вариабельность генов *pgm*-области штаммов *Yersinia pestis* из Прикаспийского песчаного и сопредельных очагов чумы. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2022; 4:57–62. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-4-57-62

Поступила 21.12.2022. *Принята к публ.* 22.12.2022.

P.A. Goryunova, G.A. Eroshenko, L.M. Kukleva, E.A. Naryshkina, Z.L. Devdariani, N.S. Chervyakova, V.V. Kutyrev

Variability of *pgm*-Region Genes in *Yersinia pestis* Strains from the Caspian Sandy and Adjacent Plague Foci

Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation

Abstract. **The aim** of the study was to compare the nucleotide sequences of *pgm*-region genes in *Yersinia pestis* strains isolated on the territory of the Caspian sandy and adjacent plague foci in 1925–2015. **Materials and methods.** 65 *Y. pestis* strains from the Caspian sandy and adjacent plague foci were used in the work. DNA isolation was performed using the PureLink Genomic DNA Mini Kit. Whole genome sequencing was conducted in Ion S5 XL System (Thermo Fischer Scientific). Data processing was carried out using Ion Torrent Suite software package 3.4.2 and NewblerGS Assembler 2.6. To compare the obtained sequences with the NCBI GenBank database, the Blast algorithm was used. The phylogenetic analysis was performed according to the data of whole genome SNP analysis based on 1183 identified SNPs. The search for marker SNPs was performed using the Snippy 4.6 program. The phylogenetic tree was constructed using the Maximum Likelihood algorithm, the GTR nucleotide substitution model. **Results and discussion.** The nucleotide sequences of *pgm*-region genes of 65 *Y. pestis* strains from the Caspian sandy and adjacent plague foci have been assessed. Single nucleotide substitutions have been identified in *Y. pestis* strains from the Caspian sandy and Kobystan plain-foothill foci in the *hmsR*, *astB*, *ybtS*, *ypo1944*, *ypo1943*, *ypo1936* genes, as well as a deletion of 5 bp in the *ypo1945* gene, which is characteristic of strains of one of the phylogenetic lines of *Y. pestis* from the foci of Caucasus and Transcaucasia, isolated in 1968–2001. The data obtained can be used to differentiate *Y. pestis* strains from the Caspian sandy focus, as well as to establish the directions of microevolution of the plague pathogen in this region and adjacent foci.

Key words: plague, *pgm*-region, *hms*-operon, natural foci.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Corresponding author: Polina A. Goryunova, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Goryunova P.A., Eroshenko G.A., Kukleva L.M., Naryshkina E.A., Devdariani Z.L., Chervyakova N.S., Kutyrev V.V. Variability of *pgm*-Region Genes in *Yersinia pestis* Strains from the Caspian Sandy and Adjacent Plague Foci. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections].* 2022; 4:57–62. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-4-57-62

Received 21.12.2022. *Accepted* 22.12.2022.

Goryunova P.A., ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6522-2606
Eroshenko G.A., ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5403-989X
Kukleva L.M., ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2438-8364
Naryshkina E.A., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9190-099X
Chervyakova N.S., ORCID: https://orcid.org/0000-0003-3133-3820
Kutyrev V.V., ORCID: https://orcid.org/0000-0003-3788-3452

Хромосомная *pgm*-область *Yersinia pestis* (рис. 1) имеет размер 102 т.п.н. и фланкирована двумя копиями IS100 элементов, гомологичная рекомбинация по которым может явиться причиной спонтанной потери (с частотой 10^{-5}) всей этой области [1]. Хромосомная область пигментации включает *hms*-оперон и остров высокой патогенности (HPI). В составе области пигментации C. Buchrieser *et al.* также идентифицировали ряд генов, принимающих участие в регуляторных и транспортных процессах, пилин-подобный локус и локус, вероятно, кодирующий двухкомпонентную регуляторную систему, аналогичную регуляторной системе *BvgAS* у *Bordetella pertussis* [2]. Оперон *hms* представлен генами *hmsH*, *hmsF*, *hmsR*, *hmsS* (от англ. hemin storage). Белки, детерминируемые генами *hms*-оперона, являются компонентами наружной (*hmsH* и *hmsF)* и внутренней (*hmsR* и *hmsS*) мембран клетки *Y. pestis* [3]. Гены *hms*-оперона отвечают за образование экзополисахарида, биосинтез которого необходим для проявления штаммами *Y. pestis* следующих признаков: способность образовывать биопленку, формирование «чумного» блока в преджелудке блохи, образование пигментированных колоний при выращивании на среде с добавлением гемина или красителя Конго красного [4, 5]. Продукция этого экзополисахарида регулируется генами дигуанилатциклазы *hmsT* и фосфодиэстеразы *hmsP*, расположенными на значительном расстоянии от оперона и действующими как положительный и отрицательный регуляторы соответственно [6]. Другой важный участок хромосомной *pgm*-области – остров высокой патогенности HPI – содержит *ybt*-регион с генами сидерофор-зависимой системы потребления железа, продукты которой необходимы для выживания возбудителя в кровяном русле хозяина в условиях дефицита ионов железа [7]. Мутации в генах *ybt*- и *hms*-оперонов приводят к утрате вирулентности и снижению жизнеспособности вне организма хозяина соответственно. Характеристика структурно-функционального состояния *pgm*-области важна для оценки вирулентного и эпидемического потенциала штаммов *Y. pestis*, выделенных от носителей/переносчиков или во время эпидемической вспышки. **Целью** данной работы является сравнение нуклеотидных последовательностей генов *pgm*-области штаммов *Y. pestis*, выделенных в 1925–2015 гг. на территории Прикаспийского песчаного и сопредельных очагов чумы.

Материалы и методы

В работе использованы 65 штаммов *Y. pestis*, выделенные в 1925–2015 гг. на территории Прикаспийского песчаного и сопредельных очагов чумы. Штаммы *Y. pestis* получены из Государственной коллекции патогенных бактерий на базе ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, где их хранили в лиофильно высушенном состоянии. Культуры чумного микроба выращивали на LB-агаре и LB-бульоне (pH 7,2) при температуре 28 °C на протяжении 1–2 суток. Выделение ДНК проводили с помощью набора PureLink Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen, США) согласно инструкции производителя. Полногеномное секвенирование проводили в Ion S5 XL System (Thermo Fischer Scientific). Обработку данных осуществляли с помощью Ion Torrent Suite software package 3.4.2 и NewblerGS Assembler 2.6. Для сравнения полученных последовательностей с генетическим банком данных GenBank NCBI использовали алгоритм Blast (http://blast.ncbi). SNPs выявляли путем выравнивания контигов штаммов на геноме CO92 (NCBI GenBank ID AL590842.1) при помощи программы Snippy 4.6, с последующим удалением 28 гомоплазий SNPs [8]. Полученный набор SNPs содержал только коровую область генома. Дендрограмму Maximum Likelihood строили с использованием программы PHYML-3.1. Подбор модели нуклеотидных замещений проводили в программе jModelTest 2.1.7 [9], в результате определена модель GTR (Bootstrap-500).

Результаты и обсуждение

Проведен анализ нуклеотидных последовательностей генов *pgm*-области 65 штаммов *Y. pestis* из Прикаспийского песчаного и сопредельных очагов чумы (таблица). При сравнении нуклеотидных последовательностей штаммов *Y. pestis* из Прикаспийского очага выявлен высокий консерватизм *hms*-оперона исследуемых штаммов. В гене *hmsR* у штамма 258

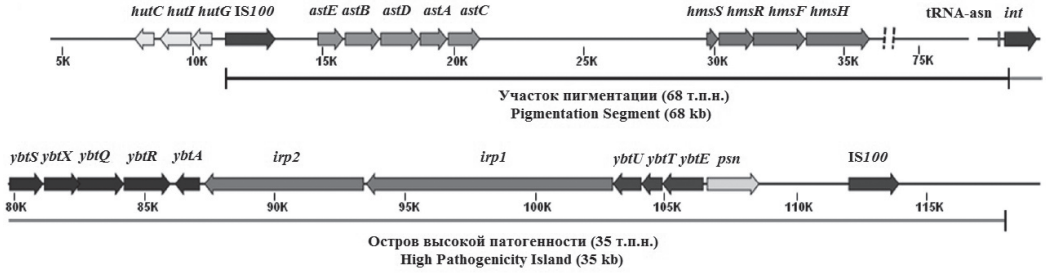

Рис. 1. Генетическая организация хромосомной *pgm*-области *Y. pestis*. Схематичное изображение, показывающее основные гены, расположенные в хромосомной *pgm*-области размером 102 т.п.н. [12]

Fig. 1. Genetic organization of the chromosomal *pgm*-region in *Y. pestis*. Schematic representation displaying major genes located within the 102-kb chromosomal *pgm*-region [12]

Выявленные мутации в генах хромосомной *pgm*-области штаммов *Y. pestis*, выделенных в 1925–2015 гг. на территории Прикаспийского песчаного и сопредельных очагов чумы

Identified mutations in the genes of the chromosomal *pgm*-region in *Y. pestis* strains isolated in the Caspian sandy and adjacent plague foci in 1925–2015

Ген Gene	Мутация Mutation	Замена аминокислоты Amino acid substitution	Позиция в гене* Position in the gene*	Кодируемый продукт Encoded product	Штаммы *Y. pestis*, у которых присутствует мутация *Y. pestis* strains possessing this mutation
hmsR	G → A	Глицин → Аспарагиновая кислота Glycine → Aspartic acid	425 п.н. 425 bp	Белок HmsR HmsR protein	Прикаспийский песчаный: 258, человек, 1930 Caspian sandy: 258, human, 1930
astB	C → T	Пролин (синонимичная) Proline (synonymous)	972 п.н. 972 bp	Аргинин N-сукцинилтрансфераза Arginine N-succinyltransferase	Прикаспийский песчаный: M-595, *C. sugveolus*, 1980 Caspian sandy: M-595, *C. sugveolus*, 1980
ybtS	A → G	Аспарагин → Аспарагиновая кислота Asparagine → Aspartic acid	481 п.н. 481 bp	Салицилатсинтетаза Salicylate synthetase	Кобыстанский равнинно-предгорный: 808, *X. conformis*, 1953 Kobystan plain-foothill: 808, *X. conformis*, 1953
ypo1945	Делеция 5 п.н. Deletion 5 bp	–	238 п.н. 238 bp	Предполагаемый мембранный белок Putative membrane protein	Терско-Сунженский низкогорный: 14-Д, *C. tesquorum*, 1970, 15-Д, *N. setosa*, 1970, 16-Д, *C. orientalis*, 1970, 25-Д, *C. tesquorum*, 1970, 1116-Д, *S. pygmaeus*, 1970 Terek-Sunzhian low-mountain: 14-Д, *C. tesquorum*, 1970, 15-Д, *N. setosa*, 1970, 16-Д, *C. orientalis*, 1970, 25-Д, *C. tesquorum*, 1970, 1116-Д, *S. pygmaeus*, 1970
ypo1944	C → T	Пролин → Лейцин Proline → Leucine	314 п.н. 314 bp	Предполагаемый мембранный белок Putative membrane protein	Прикаспийский песчаный: 258, человек, 1930 M-595, *C. sugveolus*, 1980 Caspian sandy: 258, human, 1930 M-595, *C. sugveolus*, 1980
ypo1943	C → T	Треонин (синонимичная) Threonine (synonymous)	381 п.н. 381 bp	Предполагаемый мембранный белок Putative membrane protein	Прикаспийский песчаный: 664, *S. pygmaeus*, 1946 Caspian sandy: 664, *S. pygmaeus*, 1946
ypo1936	C → T	Гистидин → Тирозин Histidine → Tyrosine	829 п.н. 829 bp	Предполагаемая аминотрансфераза Putative aminotransferase	Прикаспийский песчаный: 282, *S. pygmaeus*, 1935 Caspian sandy: 282, *S. pygmaeus*, 1935

Примечание: * позиция от начала гена по геному референсного штамма *Y. pestis* CO92 (NCBI GenBank ID AL590842.1).

Note: * the position from the beginning of the gene according to the genome of the reference *Y. pestis* CO92 strain (NCBI GenBank ID AL590842.1).

(человек, 1930) из Прикаспийского песчаного очага выявлена замена G → A в позиции 425 от начала гена (в соответствии с геномом штамма CO92), которая привела к замене аминокислоты глицин на аспарагиновую кислоту (Gly → Asp). Ранее Е.Г. Булгакова с соавт. [10] описали замену единичного нуклеотида T → C в позиции 661 от начала гена у штаммов CO92 биовара orientalis и Antiqua биовара antiqua, которая привела к замене аминокислоты валин на глицин (Val → Gly) в белке HmsR. По данным S. Forman *et al.* [11], способность сорбировать кислые красители и образовывать биопленку у штаммов *Y. pestis* утрачивается при изменении в доменах Hms-белков аминокислотных остатков на Ala: Asp 114, Trp 115, His 184 – в белке HmsF; Asp 176, Asp 269, Gln 305, Arg 308 – в белке HmsR; Trp 80, Tyr 83 – в белке HmsS. Снижение способности сорбировать кислые красители и образовывать биопленку происходит при замене аминокислотных остатков: Glu 281 в белке HmsH; Trp 143 в белке HmsF. Выявленная нами замена не расположена в пределах кодонов указанных аминокислотных остатков. Можно предположить, что найденная нуклеотидная замена не влияет на изменение стабильности и выраженности признака пигментации у штамма 258.

Оперон *ast* включает в себя гены *astE*, *astB*, *astD*, *astA*, *astC*, отвечающие за утилизацию аргинина [2]. Проведенный нами сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей *ast*-генов показал, что в гене *astB*, отвечающем за синтез N-сукциниларгинин

дигидролазы, у штамма М-595 (*Cricetulus sugveolus*, 1980) из Прикаспийского песчаного очага в позиции 972 от начала гена (в соответствии с геномом штамма CO92) присутствует замена C → T, которая не привела к смене аминокислоты пролин Pro. Вариабельность в нуклеотидных последовательностях генов *astE*, *astD*, *astC* отсутствует.

Остров высокой патогенности HPI включает *ybt*-регион с генами сидерофор-зависимой системы потребления железа и геном *psn*, кодирующим рецептор комплекса *Ybt*-Fe, а также чувствительность к видоспецифическому бактериоцину – пестицину. Наличие острова патогенности HPI, наряду с плазмидой кальцийзависимости pCad, кодирующей систему секреции III типа, является обязательным для проявления вирулентности возбудителем чумы. При сравнении нуклеотидных последовательностей штаммов *Y. pestis* из Прикаспийского очага выявлен высокий консерватизм *ybt*-региона исследуемых штаммов. В гене *ybtS* (салицилатсинтетаза) обнаружена единичная нуклеотидная замена A → G в позиции 481 от начала гена (в соответствии с геномом штамма CO92) в штамме 808 (*Xenopsylla conformis*, 1953) из Кобыстанского равнинно-предгорного очага, которая привела к замене аминокислоты аспарагин на аспарагиновую кислоту (Asn → Asp). Вариабельность в генах *ybtX*, *ybtQ*, *ybtP*, *ybtA, irp1*, *irp2*, *ybtU*, *ybtT*, *ybtE*, *psn* у исследованных нами штаммов отсутствует. Ранее К.А. Никифоров с соавт. [13] описали также замену единичного нуклеотида C → T в позиции 661 от начала гена у штаммов центральноазиатского подвида, которая привела к замене аминокислоты пролин на серин (Pro → Ser) в белке YbtS. Пока неясно, как влияет эта замена аминокислоты в белке YbtS на его функциональность, однако M.C. Miller *et al.* показали, что мутанты по гену *ybtS* не образуют молекулу иерсиниабактина [14].

Для штаммов 14-Д (*Ceratophilus tesquorum*, 1970), 15-Д (*Neopsilla setosa*, 1970), 16-Д (*Ctenophthalmus orientalis*, 1970), 25-Д (*C. tesquorum*, 1970), 1116-Д (*Spermophilus pygmaeus*, 1970) из Терско-Сунженского низкогорного очага в гене *ypo1945* (предполагаемый мембранный белок) выявлена делеция в 5 п.н. в позиции 238–242 от начала гена (в соответствии с геномом штамма CO92), вызвавшая сдвиг рамки считывания и нарушение кодируемого белка. При сравнении полученной последовательности с последовательностями базы данных GenBank NCBI установлено, что данная делеция характерна также для штаммов КМ-918 (*Ctenophillus orienthalis*, 1986), С-781 (*Spermophilus musicus*, 2001) из Центрально-Кавказского высокогорного, штамма 818 (*Ceratophillus caspius*, 1968) из Прираксинского низкогорного, а также штамма 1408 (блохи, 1972) из Прикаспийского Северо-Западного степного очагов.

В гене *ypo1944* (предполагаемый мембранный белок) обнаружена единичная нуклеотидная замена C → T в позиции 314 от начала гена (в соответствии с геномом штамма CO92) в штаммах 258 (человек, 1930), М-595 (*C. sugveolus*, 1980) из Прикаспийского песчаного очага, которая привела к смене аминокислоты пролин → лейцин (Pro → Leu). В гене *ypo1943* (предполагаемый мембранный белок) у штамма 664 (*S. pygmaeus*, 1946) из Прикаспийского песчаного очага присутствует синонимичная нуклеотидная замена C → T в позиции 381 от начала гена (в соответствии с геномом штамма CO92), которая не привела к смене аминокислоты треонин (Thr). В гене *ypo1936* (предполагаемая аминотрансфераза) у штамма 282 (*S. pygmaeus*, 1935) из Прикаспийского песчаного очага выявлена замена C → T в позиции 829 от начала гена (в соответствии с геномом штамма CO92), которая привела к замене аминокислоты гистидин → тирозин (His → Tyr).

Для установления степени родства штаммов *Y. pestis*, содержащих выявленную делецию 5 п.н. в гене *ypo1945*, нами проведен филогенетический анализ исследуемых штаммов. В филогенетическом анализе использованы нуклеотидные последовательности 10 штаммов *Y. pestis* из Прикаспийского песчаного очага, а также последовательности 20 штаммов из сопредельных очагов Северного Прикаспия, Кавказа, Закавказья и Северного Приаралья, включая 5 штаммов из Терского-Сунженского низкогорного, 3 – Центрально-Кавказского высокогорного, 3 – Кобыстанского равнинно-предгорного, 1 – Мильско-Карабахского равнинно-предгорного, 1 – Прираксинского низкогорного, 1 – Прикаспийского Северо-Западного степного, 1 – Северо-Приаральского пустынного, 1 – Урало-Эмбенского пустынного, 1 – Приаральско-Каракумского пустынного, 1 – Каракумского пустынного, 1 – Дагестанского равнинно-предгорного, 1 – Джейранчёльского равнинно-предгорного природных очагов чумы. В филогенетический анализ включены также штаммы других филогенетических линий из разных очагов мира, последовательности которых представлены в базе данных NCBI GenBank. К ним относятся следующие геномы: 620024 (NCBI GenBank ID NZ_ADPM00000000.1), Pestoides F (NCBI GenBank ID NC_009381.1), Pestoides A (NCBI GenBank ID NZ_ACNT00000000.1), C092 (NCBI GenBank ID AL590842.1), 351001 (NCBI GenBank ID NZ_ADPF00000000.1), CMCC125002 (NCBI GenBank ID ADQN00000000.1), KIM10 (NCBI GenBank ID AE009952.1). Дендрограмма построена на основе полногеномного SNP-анализа 37 штаммов *Y. pestis* (рис. 2).

Сравнительный филогенетический анализ на основе выявленных 1183 коровых SNPs показал, что штаммы *Y. pestis* из Терско-Сунженского низкогорного очага, содержащие делецию в 5 п.н. в гене *ypo1945*, составили отдельный кластер в кавказской ветви эволюции (рис. 2). В этот кластер II (1968–2001) также вошли штаммы: 818 (*C. caspius*, 1968) из Прираксинского низкогорного очага, 1408 (блохи, 1972) из Прикаспийского Северо-Западного

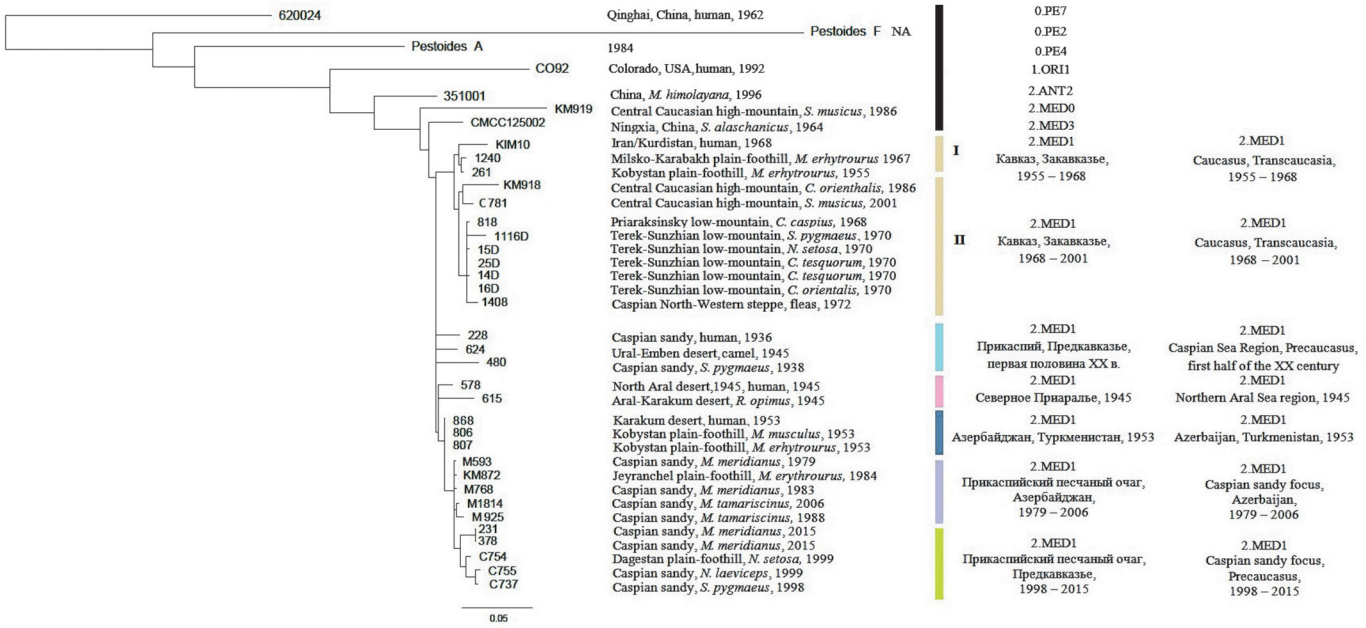

Рис. 2. Филогенетический анализ штаммов *Y. pestis* из Прикаспийского песчаного и сопредельных очагов чумы по данным полногеномного SNP-анализа. Дендрограмма Maximum likelihood на основе 1183 SNPs построена с помощью PHYML 3.1, модели GTR, 500 бутстрэп-реплик

Fig. 2. Phylogenetic analysis of *Y. pestis* strains from the Caspian sandy and adjacent plague foci according to the results of whole genome SNP-analysis. Maximum likelihood dendrogram is constructed based on 1183 SNPs using PHYML 3.1, GTR model, 500 bootstrap replicas

степного очага, KM918 (*C. orienthalis*, 1986) и C781 (*S. musicus*, 2001) из Центрально-Кавказского высокогорного очага. Анализ этих штаммов показал, что в их геноме также присутствует мутация в 5 п.н. в той же локализации, что и у штаммов из Терско-Сунженского низкогорного очага. Это означает, что выявленная мутация в гене *ypo1945* является маркерной для этой филогенетически родственной группы штаммов. Она может быть использована для реконструкции микроэволюции и распространения одной из линий *Y. pestis* на Кавказе. В другом кластере I (1955–1968) кавказской ветви, так же как и в других исследованных штаммах, эта маркерная делеция отсутствовала. В кластер I вошли штаммы из Кобыстанского равнинно-предгорного очага – 261 (*Meriones erhytrourus*, 1955), Мильско-Карабахского равнинно-предгорного очага – 1240 (*M. erhytrourus*, 1967) и штамм KIM10 (человек, 1968).

Таким образом, анализ нуклеотидных последовательностей генов *pgm*-области 65 штаммов *Y. pestis* из Прикаспийского песчаного и сопредельных очагов чумы выявил их высокий консерватизм. Обнаружены единичные нуклеотидные замены у штаммов *Y. pestis* из Прикаспийского песчаного и Кобыстанского равнинно-предгорного очагов в генах *hmsR*, *astB*, *ybtS*, *ypo1944*, *ypo1943*, *ypo1936*, а также делеция в 5 п.н. в гене *ypo1945*, которая характерна для штаммов одной из филогенетических линий *Y. pestis* из очагов Кавказа и Закавказья, выделенных в 1968–2001 гг. Остальные гены у всех изученных нами штаммов были идентичными. Дальнейшее исследование генотипических особенностей штаммов *Y. pestis* необходимо для оценки их вирулентного и эпидемического потенциала. Полученные данные могут быть использованы в лабораторной диагностике, а также в установлении направлений микроэволюции возбудителя чумы в этом регионе Прикаспия и сопредельных очагов.

Конфликт интересов. Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

Список литературы

1. Fetherston J.D., Schuetze P., Perry R.D. Loss of the pigmentation phenotype in *Yersinia pestis* is due to the spontaneous deletion of 102 kb of chromosomal DNA which is fanked by a repetitive element. *Mol. Microbiol.* 1992; 6(18):2693–704. DOI: 10.1111/j.1365-2958.1992.tb01446.x.

2. Buchrieser C., Rusniok C., Frangeul L., Couve E., Billault A., Kunst F., Carniel E., Glaser P. The 102-kilobase *pgm* locus of *Yersinia pestis*: sequence analysis and comparison of selected regions among different *Yersinia pestis* and *Yersinia pseudotuberculosis* strains. *Infect. Immun.* 1999; 67(9):4851–61. DOI: 10.1128/IAI.67.9.4851-4861.1999.

3. Perry R.D., Bobrov A.G., Kirillina O., Jones H.A., Pedersen L., Abney J., Fetherston J.D. Temperature regulation of the hemin storage (*Hms+*) phenotype of *Yersinia pestis* is posttranscriptional. *J. Bacteriol*. 2004; 186(6):1638–47. DOI: 10.1128/JB.186.6.1638-1647.2004.

4. Hinnebusch B.J., Perry R.D., Schwan T.G. Role of *Yersinia pestis* hemin storage (*hms*) locus in transmission of plague by fleas. *Science.* 1996; 273(5273):367–70. DOI: 10.1126/science.273.5273.367.

5. Ерошенко Г.А., Видяева Н.А., Куклева Л.М., Кошель Е.И., Одиноков Г.Н., Шавина Н.Ю., Князева Т.В., Мокроусова Т.В., Краснов Я.М., Анисимова Л.В., Новичкова Л.А., Ерохин П.С., Бойко А.В., Кутырев В.В. Изучение образования биопленки у беспигментных и бесплазмидных мутантов штамма *Yersinia pestis* на биотических поверхностях в условиях *in vitro* и *in vivo*. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2012; 3:45–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2012-3-45-49.

6. Bobrov A.G., Kirillina O., Forman S., Mack D., Perry R.D. Insights into *Yersinia pestis* biofilm development: topology and co-interaction of *Hms* inner membrane proteins involved in exopolysaccharide production. *Environ. Microbiol*. 2008; 10(6):1419–32. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2007.01554.x.

7. Perry R.D., Balbo P.B., Jones H.A., Fetherston J.D., DeMoll E. Yersiniabactin from *Yersinia pestis*: biochemical characterization of the siderophore and its role in iron transport and regulation. *Microbiology (Reading)*. 1999; 145(Pt. 5):1181–90. DOI: 10.1099/13500872-145-5-118.

8. Cui Y., Yu C., Yan Y., Li D., Li Y., Jombart T., Weinert L.A., Wang Z., Guo Z., Xu L., Zhang Y., Zheng H., Qin N., Xiao X., Wu M., Wang X., Zhou D., Qi Z., Du Z., Wu H., Yang X., Cao H., Wang H., Wang J., Yao S., Rakin A., Li Y., Falush D., Balloux F., Achtman M., Song Y., Wang J., Yang R. Historical variations in mutation rate in an epidemic pathogen, *Yersinia pestis*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2013; 110(2):577–82. DOI: 10.1073/pnas.1205750110.

9. Darriba D., Taboada G.L., Doallo R., Posada D. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nat. Methods*. 2012; 9(8):772. DOI: 10.1038/nmeth.2109.

10. Булгакова Е.Г., Краснов Я.М., Гаева А.В., Сухоносов И.Ю., Анисимова Л.В., Гусева Н.П., Новичкова Л.А., Кутырев В.В. Особенности проявления признака пигментации и структурные различия генов *hms*-оперона у штаммов *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis* разного происхождения. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2011; 2:30–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2011-2(108)-30-35.

11. Forman S., Bobrov A.G., Kirillina O., Craig S.K., Abney J., Fetherston J.D., Perry R.D. Identification of critical amino acid residues in the plague biofilm *Hms* proteins. *Microbiology (Reading)*. 2006; 152(Pt. 11):3399–410. DOI: 10.1099/mic.0.29224-0.

12. Gaddy C.E., Cuevas P.F., Hartman L.J., Howe G.B., Worsham P.L., Minogue T.D. Development of real-time PCR assays for specific detection of *hmsH*, *hmsF*, *hmsR*, and *irp2* located within the 102-kb *pgm* locus of *Yersinia pestis*. *Mol. Cell. Probes*. 2014; 28(5-6):288–95. DOI: 10.1016/j.mcp.2014.08.004.

13. Никифоров К.А., Морозов О.А., Носов Н.Ю., Куклева Л.М., Ерошенко Г.А., Кутырев В.В. Популяционная структура, таксономия и генетические особенности штаммов *Yersinia pestis* центральноазиатского подвида. *Генетика*. 2018; 54(10):1125–35. DOI: 10.1134/S0016675818100107.

14. Miller M.C., Fetherston J.D., Pickett C.L., Bobrov A.G., Weaver R.H., DeMoll E., Perry R.D. Reduced synthesis of the *Ybt* siderophore or production of aberrant *Ybt*-like molecules activates transcription of yersiniabactin genes in *Yersinia pestis*. *Microbiology (Reading)*. 2010; 156(Pt. 7):2226–38. DOI: 10.1099/mic.0.037945-0.

References

1. Fetherston J.D., Schuetze P., Perry R.D. Loss of the pigmentation phenotype in *Yersinia pestis* is due to the spontaneous deletion of 102 kb of chromosomal DNA which is fanked by a repetitive element. *Mol. Microbiol.* 1992; 6(18):2693–704. DOI: 10.1111/j.1365-2958.1992.tb01446.x.

2. Buchrieser C., Rusniok C., Frangeul L., Couve E., Billault A., Kunst F., Carniel E., Glaser P. The 102-kilobase *pgm* locus of *Yersinia pestis*: sequence analysis and comparison of selected regions among different *Yersinia pestis* and *Yersinia pseudotuberculosis* strains. *Infect. Immun.* 1999; 67(9):4851–61. DOI: 10.1128/IAI.67.9.4851-4861.1999.

3. Perry R.D., Bobrov A.G., Kirillina O., Jones H.A., Pedersen L., Abney J., Fetherston J.D. Temperature regulation of the hemin storage (*Hms+*) phenotype of *Yersinia pestis* is posttranscriptional. *J. Bacteriol*. 2004; 186(6):1638–47. DOI: 10.1128/JB.186.6.1638-1647.2004.

4. Hinnebusch B.J., Perry R.D., Schwan T.G. Role of *Yersinia pestis* hemin storage (*hms*) locus in transmission of plague by fleas. *Science*. 1996; 273(5273):367–70. DOI: 10.1126/science.273.5273.367.

5. Eroshenko G.A., Vidyaeva N.A., Kukleva L.M., Koshel' E.I., Odinokov G.N., Shavina N.Yu., Knyazeva T.V., Mokrousova T.V., Krasnov Y.M., Anisimova L.V., Novichkova L.A., Erokhin P.S., Boiko A.V., Kutyrev V.V. [Studies of biofilm formation in non-pigmented and plasmid-deprived mutants of *Yersinia pestis* on biotic surfaces, *in vivo* and *in vitro*]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2012; (3):45–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2012-3-45-49.

6. Bobrov A.G., Kirillina O., Forman S., Mack D., Perry R.D. Insights into *Yersinia pestis* biofilm development: topology and co-interaction of *Hms* inner membrane proteins involved in exopolysaccharide production. *Environ. Microbiol*. 2008; 10(6):1419–32. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2007.01554.x.

7. Perry R.D., Balbo P.B., Jones H.A., Fetherston J.D., DeMoll E. Yersiniabactin from *Yersinia pestis*: biochemical characterization of the siderophore and its role in iron transport and regulation. *Microbiology (Reading)*. 1999; 145(Pt. 5):1181–90. DOI: 10.1099/13500872-145-5-118.

8. Cui Y., Yu C., Yan Y., Li D., Li Y., Jombart T., Weinert L.A., Wang Z., Guo Z., Xu L., Zhang Y., Zheng H., Qin N., Xiao X., Wu M., Wang X., Zhou D., Qi Z., Du Z., Wu H., Yang X., Cao H., Wang H., Wang J., Yao S., Rakin A., Li Y., Falush D., Balloux F., Achtman M., Song Y., Wang J., Yang R. Historical variations in mutation rate in an epidemic pathogen, *Yersinia pestis*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2013; 110(2):577–82. DOI: 10.1073/pnas.1205750110.

9. Darriba D., Taboada G.L., Doallo R., Posada D. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nat. Methods*. 2012; 9(8):772. DOI: 10.1038/nmeth.2109.

10. Boolgakova E.G., Krasnov Y.M., Gaeva A.V., Sukhonosov I.Yu., Anisimova L.V., Guseva N.P., Novichkova L.A., Kutyrev V.V. [Peculiarities of Pigmentation Expression and Structural Differences of hms Operon Genes in *Y. pestis* and *Y. pseudotuberculosis* Strains of Diverse Origin]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2011; (2):30–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2011-2(108)-30-35.

11. Forman S., Bobrov A.G., Kirillina O., Craig S.K., Abney J., Fetherston J.D., Perry R.D. Identification of critical amino acid residues in the plague biofilm *Hms* proteins. *Microbiology (Reading)*. 2006; 152(Pt. 11):3399–410. DOI: 10.1099/mic.0.29224-0.

12. Gaddy C.E., Cuevas P.F., Hartman L.J., Howe G.B., Worsham P.L., Minogue T.D. Development of real-time PCR assays for specific detection of *hmsH*, *hmsF*, *hmsR*, and *irp2* located within the 102-kb *pgm* locus of *Yersinia pestis*. *Mol. Cell. Probes*. 2014; 28(5-6):288–95. DOI: 10.1016/j.mcp.2014.08.004.

13. Nikiforov K.A., Morozov O.A., Nosov N.Y., Kukleva L.M., Yeroshenko G.A., Kutyrev V.V. [Population structure, taxonomy, and genetic features of *Yersinia pestis* strains of the Central Asian subspecies]. *Genetika [Russian Journal of Genetics]*. 2018; 54(10):1125–35. DOI: 10.1134/S0016675818100107.

14. Miller M.C., Fetherston J.D., Pickett C.L., Bobrov A.G., Weaver R.H., DeMoll E., Perry R.D. Reduced synthesis of the *Ybt* siderophore or production of aberrant *Ybt*-like molecules activates transcription of yersiniabactin genes in *Yersinia pestis*. *Microbiology (Reading)*. 2010; 156(Pt. 7):2226–38. DOI: 10.1099/mic.0.037945-0.

Authors:

Goryunova P.A., Eroshenko G.A., Kukleva L.M., Naryshkina E.A., Devdariani Z.L., Chervyakova N.S., Kutyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Об авторах:

Горюнова П.А., Ерошенко Г.А., Куклева Л.М., Нарышкина Е.А., Девдариани З.Л., Червякова Н.С., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.