

DOI: 10.21055/0370-1069-2025-2-189-194

УДК 579.2(092)

Vladimir L. Motin¹, Vladimir V. Kuttyrev²

In Tribute to Robert Robinson Brubaker (1933–2025)

¹University of Texas Medical Branch, Galveston, TX, USA;

²Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation

Abstract. The article is dedicated to the famous scientist-plague specialist Robert Robinson Brubaker. The contribution of R. Brubaker to the study of the plague microbe, his main scientific achievements, as well as his merits as a researcher, teacher, mentor are noted.

Key words: R.R. Brubaker, plague microbe, research, biological properties, genetics, virulence

Corresponding author: Vladimir L. Motin, e-mail: vmotin@utmb.edu.

Citation: Motin V.L., Kuttyrev V.V. In Tribute to Robert Robinson Brubaker (1933–2025). *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2025; 2:189–194. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2025-2-189-194

Received 10.06.2025. Accepted 20.06.2025.

В.Л. Мотин¹, В.В. Кутырев²

В память о Роберте Робинсоне Брубейкере (1933–2025)

¹Медицинское отделение Техасского университета, Галвестон, Техас, США;

²ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация

Статья посвящена известному ученому-чумологу Роберту Робинсону Брубейкеру. Отмечены вклад Р.Р. Брубейкера в изучение чумного микроба, его основные научные достижения, а также заслуги как исследователя, педагога, наставника.

Ключевые слова: Р.Р. Брубейкер, чумной микроб, исследования, биологические свойства, генетика, вирулентность.

Корреспондирующий автор: Кутырев Владимир Викторович, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Мотин В.Л., Кутырев В.В. В память о Роберте Робинсоне Брубейкере (1933–2025). *Проблемы особо опасных инфекций*. 2025; 2:189–194. DOI: 10.21055/0370-1069-2025-2-189-194

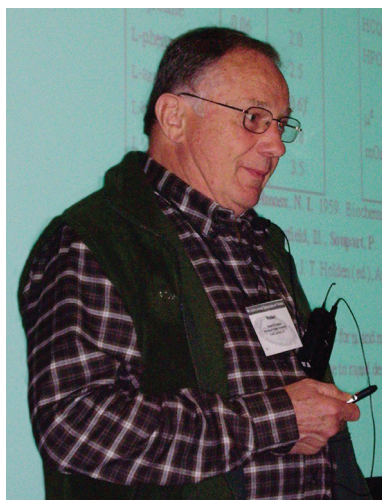
Поступила 10.06.2025. Принята к публикации 20.06.2025.

Motin V.L., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4762-457X>

Kuttyrev V.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3788-3452>

For scientists who work in the *Yersinia* field, when you mention Bob, you are talking about Bob Brubaker. He spent his entire academic career working mostly with *Yersinia pestis*, the agent of plague. He remembered many researchers of the past and their contributions to the field, and he was a very tough reviewer of the manuscripts, as he always demanded references to the original work. Because of him, many significant research studies of the previous generations of scientists have not been forgotten, and we should be grateful to him for that and follow this example. Needless to say that he significantly contributed to the training of new generations of scientists as a mentor of numerous Ph.D. students and postdoctoral fellows during his tenure at Michigan State University (MSU), where he held a faculty position for a few decades.

He graduated from the Quaker Friends School in Wilmington, Delaware, and then received his B.A. de-



Когда среди ученых, работающих в области исследования *Yersinia*, вы упоминаете Боба, все понимают, что речь идет о Бобе Брубейкере. Почти всю свою академическую карьеру он посвятил изучению *Yersinia pestis*, возбудителя чумы. Он помнил многих исследователей прошлого и их вклад в эту область и был очень жестким рецензентом рукописей, поскольку всегда требовал ссылаться на оригинальные работы. Благодаря ему многие значимые исследования предыдущих поколений ученых не были забыты, и мы должны быть признательны ему за это и следовать этому примеру. Излишне говорить, что он

внес значительный вклад в подготовку новых поколений ученых в качестве наставника многочисленных аспирантов и постдокторантов во время своей работы в Мичиганском государственном университете (MSU), где занимал должность преподавателя в течение нескольких десятилетий.

gree from the University of Delaware in 1956. After his time in the military, he received a Master's degree from George Washington University in 1959, followed by a Ph.D. degree from the University of Chicago in 1966.

He began his scientific journey when little molecular tools were available, which scientists enjoy today, so the experiments were lengthy and relied on an interpretation of phenotypes. On the other hand, studying the behavior of *Yersinia* spp. under different conditions could reveal unexpected characteristics, which were not obvious to today's scientists relying a lot on studying the genetic makeup of the pathogen. Nevertheless, at the end of his scientific career, he had a chance to combine the "old school" science with the modern approaches, when he participated in the interpretation of the whole-genome sequencing, which was done for the first time for *Y. pseudotuberculosis* [1]. Direct comparison of a single genome of *Y. pestis* CO92, known at that time with the plague microbe progenitor, *Y. pseudotuberculosis* allowed researchers to confirm many phenotypes known for plague researchers, some of which were originally described by Bob Brubaker. Using the modern definitions, he was an expert in the field, which is called nutritional virulence nowadays, studying how pathogens evolved to adapt to efficiently utilize host nutrients. This allows the pathogen not only to compete with the host for resources, but potentially change its regulatory network for the expression of virulence factors and biological pathways directly by the nutrient preferences or their metabolites. This might be particularly important for *Y. pestis*, which alternates its life cycle between two nutritionally rich environments in the flea midgut and the mammalian host. The results of such adaptation were an accumulation of the pseudogenes during the specialization of *Y. pestis* as a highly lethal pathogen. The appearance of most of such pseudogenes was a result of the depletion of the non-essential functions which were not used anymore during the conversion of the saprophytic lifestyle of *Y. pseudotuberculosis* to a mainly two-niche *Y. pestis* pathogen. Nevertheless, some pseudogenes were likely evolved to strengthen the impairment of certain pathways to optimize the pathogen survival in the host and ensure the increase of virulence. Generally, it should be a balance between the virulence and host resistance to the infection; otherwise, the pathogen quickly kills the host, preventing the further spread of the microbe. As emphasized by Bob Brubaker, this rule does not apply to *Y. pestis* as infected fleas can find a new host after the death of the firstly infected animal. It is in the interest of *Y. pestis* to promote a high bacteremia that will ease the colonization of fleas after the blood meal is taken. This promotes *Y. pestis* to maintain its high virulence status, and even enhance it, as it might be needed to infect a more resistant host to cause a high bacteremia there as well. All these thoughts we beautifully articulated in his excellent review [2]. In conclusion, inactivation of certain regulatory and biological pathways in *Y. pestis* in comparison with *Y. pseudotuberculosis*, including even virulence factors (host cell invasin Inv impairment is a good example), by insertion of IS element, indel, or

Р.Р. Брубейкер окончил школу «Друзья квакеров» в Уилмингтоне, штат Делавэр, а затем получил степень бакалавра в Университете Делавэра в 1956 г. После службы в армии получил степень магистра в Университете Джорджа Вашингтона в 1959 г., а затем степень доктора философии в Чикагском университете в 1966 г.

Р.Р. Брубейкер начал свой научный путь, когда доступно было лишь небольшое количество тех молекулярных инструментов, которыми пользуются ученые сегодня, поэтому эксперименты были длительными и основывались на интерпретации фенотипов. С другой стороны, изучение поведения *Yersinia* spp. в разных условиях могло выявить неожиданные характеристики, которые не были бы очевидными для современных ученых, во многом полагающихся на изучение генетического состава патогена. Тем не менее в конце научной карьеры у него появилась возможность объединить науку «старой школы» с современными подходами, когда он участвовал в интерпретации данных полногеномного секвенирования, впервые проведенного для *Y. pseudotuberculosis* [1]. Прямое сравнение единственного известного в то время генома *Y. pestis* CO92 с предшественником чумного микроба – *Y. pseudotuberculosis* позволило обосновать многие известные исследователям чумы фенотипы, некоторые из которых были первоначально описаны Робертом Брубейкером. Говоря современным языком, он был экспертом в области, которая в настоящее время называется «пищевой» вирулентностью, изучая, как патогены эволюционировали, чтобы адаптироваться к эффективному использованию питательных веществ хозяина. Это позволяет патогену не только конкурировать с хозяином за ресурсы, но и потенциально изменять свою регуляторную сеть для экспрессии факторов вирулентности и биологических путей непосредственно через предпочтения питательных веществ или их метаболитов. Это может быть особенно важно для *Y. pestis*, жизненный цикл которого чередует две богатые питательными веществами среды – среднюю кишку блохи и организм хозяина-млекопитающего. Результатом такой адаптации стало накопление псевдогенов во время эволюции *Y. pestis* как высоклетального патогена. Появление большинства таких псевдогенов стало результатом потери значения несущественных функций, которые больше не использовались в процессе перехода от сапрофитного образа жизни *Y. pseudotuberculosis* к существованию в двух нишах у патогена *Y. pestis*. Тем не менее некоторые псевдогены, вероятно, эволюционировали в направлении усиления нарушения определенных путей в целях оптимизации выживания патогена в хозяине и обеспечения повышения вирулентности. Как правило, должен соблюдаться баланс между вирулентностью и устойчивостью хозяина к инфекции; в противном случае патоген быстро убивает хозяина, предотвращая дальнейшее распространение микроба. Как подчеркивал Р.Р. Брубейкер, это правило не распространяется на *Y. pestis*, поскольку инфици-

a frameshift single base mutation was the likely way of the enhancement of the virulence of *Y. pestis*. Will the opposite be true, and restoration of the lost function can lead to a reduction in the virulence of *Y. pestis*? There is at least one instance of such restoration of lost function, when the defective *lpxL* gene of *Y. pestis* was complemented by the *lpxL* gene from *Escherichia coli*, resulting in the production of potent TLR4-activating hexaacylated LPS and consequent reduction in virulence [3]. Nevertheless, this was not about nutritional virulence, but rather about exploiting the immunomodulatory properties of *Y. pestis*. Bob Brubaker proposed a list of the metabolic lesions, candidates for restoration, which may reduce the virulence of *Y. pestis* [2]. To test his hypotheses, further work is necessary. The only thing to remember is that a restoration of a single defective gene in the pathway may not be enough to return the lost function, as other genes in this and adjacent pathways may accumulate further mutations due to non-usage. The example is the restoration of glycerol utilization in *Y. pestis* strains of the *Orientalis* biovars, where two genes had to be repaired to provide the glycerol-positive phenotype [4].

Another area where Bob Brubaker contributed significantly was the study of the phenomenon of low-calcium response. The shift of temperature from ambient 26 °C to the host 37 °C in a Ca^{2+} deficient media results in a fast cessation of the growth of *Y. pestis* (growth restriction, bacteriostasis) accompanied by a massive secretion of the virulence proteins Yops and V-antigen (LcrV) encoded by the type 3 secretion system (T3SS) of the virulence plasmid pCD1. The addition of Ca^{2+} in the medium allows a full-scale growth with the repression of the Yop proteins production. The importance of this *in vitro* phenomenon comes from the fact that the calcium-enriched blood permits vegetative growth of *Y. pestis* important for the high-level bacteremia in the flea transmission cycle. In the organs, *Y. pestis* grows primarily within necrotic focal lesions similar to the intracellular fluid of the host cell cytoplasm (low calcium). The Brubaker's work showed that the restriction of growth and Yop production could be separated, and he created the synthetic media, which he called "based case scenario (BCS)" that allowed a full-scale growth of *Y. pestis* in calcium-deficient medium at 37 °C while producing Yops. The BSC media contained K^+ and L-aspartate but lacked Ca^{2+} and Na^+ , efficiently preventing a sodium toxicity that he attributed to the restriction growth phenomenon. The BCS medium was very useful in the study of temporal whole-genome transcription analysis upon the temperature transition from 26 °C to 37 °C, as *Y. pestis* continued both proliferation and gene expression, including T3SS [5]. The complete story of the investigation of the low calcium response under different physiological conditions and the mechanisms underlying this phenomenon was described in detail in his review [6].

The study of how the mammalian host responds to *Y. pestis* invasion was the major interest of Bob Brubaker, where he pioneered the studies leading to the discovery of immunosuppression of proinflammatory cytokines

рванные блохи могут найти нового хозяина после смерти первоначально инфицированного животного. Для *Y. pestis* важно вызвать высокую бактериемию, с тем чтобы обеспечить колонизацию блохи после приема кровяной пищи. Это способствует тому, что *Y. pestis* сохраняет свой статус высокой вирулентности и даже усиливает ее, поскольку она может потребоваться для заражения более резистентного хозяина, чтобы вызвать и у него высокую бактериемию. Все эти мысли прекрасно изложены в его превосходном обзоре [2].

В заключение следует отметить, что инактивация определенных регуляторных и биологических путей у *Y. pestis* по сравнению с *Y. pseudotuberculosis*, включая даже факторы вирулентности (хорошим примером является нарушение инвазина *Inv*), путем вставки IS-элемента, индел-мутации или мутации со сдвигом рамки считывания одного основания была вероятным способом усиления вирулентности *Y. pestis*. Будет ли верным обратное, и может ли привести восстановление утраченной функции к снижению вирулентности *Y. pestis*? Существует по крайней мере один пример такого восстановления утраченной функции, когда дефектный ген *lpxL* *Y. pestis* был комплементирован геном *lpxL* из *Escherichia coli*, что привело к образованию мощного активирующего TLR4 гексаацилированного ЛПС и последующему снижению вирулентности [3]. Тем не менее речь шла не о «пищевой» вирулентности, а, скорее, об использовании иммуномодулирующих свойств *Y. pestis*. Р.Р. Брубейкер предложил список метаболических повреждений, кандидатов на восстановление, которые могут снизить вирулентность *Y. pestis* [2]. Для проверки его гипотез необходима дальнейшая работа. Единственное, что следует помнить, – это то, что восстановление одного дефектного гена в метаболическом пути может быть недостаточным для возвращения утраченной функции, поскольку другие гены в этом и смежных путях могут накапливать дальнейшие мутации из-за их неиспользования. Примером является восстановление утилизации глицерина в штаммах *Y. pestis* биоваров *Orientalis*, где два гена должны быть восстановлены для проявления глицерин-положительного фенотипа [4].

Другой областью, в которую Роберт Брубейкер внес значительный вклад, было изучение феномена реакции на низкий уровень кальция. Изменение температуры от окружающей среды (26 °C) до организма хозяина (37 °C) в среде с дефицитом Ca^{2+} приводит к быстрому прекращению роста *Y. pestis* (ограничение роста, бактериостаз), сопровождающемуся массивной секрецией белков вирулентности Yops и V-антигена (LcrV), кодируемых системой секреции 3-го типа (T3SS) плазмиды вирулентности pCD1. Добавление Ca^{2+} в среду обеспечивает полномасштабный рост с подавлением продукции белков Yop. Важность этого наблюдаемого *in vitro* феномена обусловлена тем, что обогащенная кальцием кровь обеспечивает вегетативный рост *Y. pestis*, не-

at the initial stage of plague infection. Moreover, simultaneously priming the mice with IFN-gamma and TNF-alpha before infection with *Y. pestis* resulted in an animal survival [7]. The effect of immunosuppression depended on the functionality of the T3SS and secretion of LcrV, which was in good correspondence with Brubaker's previous observation that the expression of LcrV promoted plague infection by preventing the formation of protective granulomas [8]. Later, it was shown in his lab that injection of pure recombinant LcrV suppressed TNF-alpha and IFN-gamma in mice and promoted survival of avirulent pCD1 plasmid-free *Y. pestis*, as well as heterologous bacteria, such as *Salmonella* and *Listeria monocytogenes*; the infection with the latter was lethal [9]. The effect of innate immunity early in *Y. pestis* infection was attributed to the induction of IL-10 by LcrV [10, 11]. In line with the investigation of immunomodulatory properties of LcrV, it is necessary to refer to a sort of forgotten Brubaker's paper on suppression of mouse skin allograft rejection by recombinant LcrV. This was a good example of repurposing a major virulence factor of pathogenic bacteria for something potentially useful for the treatment of certain conditions [12].

Burrows & Bacon described in 1958 that the immunization with the crude preparation of LcrV from *Y. pestis* protected against plague [13]. However, the later discovery of massive synthesis of Yop proteins under conditions used for the induction of LcrV at that preparation doubted the LcrV protective properties, attributing the protection to the Yop contamination. Moreover, in 1991, two well-known laboratories reported that LcrV is a regulatory protein of the low calcium response, further questioning the protective potential of LcrV [14, 15]. Nevertheless, thereafter using highly pure recombinant LcrV, Brubaker's lab for the first time provided a formal proof that LcrV can provide both passive and active protection against challenge with *Y. pestis*. The immunization with the LcrV restored the innate immune response to *Y. pestis* infection and led to the formation of protective granulomas [9, 16]. Since that time, the LcrV became a principal component of plague subunit vaccines, proving alone a high level of protection in different animal models when used as a purified protein, expressed in different carrier platforms, encapsulated in the particles, and recently in mRNA vaccines. Bob Brubaker, with colleagues, was awarded the U.S. patent in 1994 for the use of LcrV in the plague vaccine issued via the MSU.

R. Brubaker was one of the first to study, back in 1969, the relationship between the ability of *Pasteurella pestis* cells to absorb exogenous hemin on solid synthetic media at a temperature of 26 °C and sensitivity to bacteriocin-pesticin [17]. The predecessors – S. Jackson and T.W. Burrows (1956) showed the pigmentation of *Pasteurella pestis* on a defined medium containing haemin [18]. The term 'pigmentation' referred to the ability to absorb certain small planar molecules, especially hemin, by colonies of the plague pathogen growing on the surface of agar. Non-pigmented (Pgm⁻) mutants lost virulence, but iron injection restored complete viru-

обходимый для высокого уровня бактериемии в цикле трансмиссии с участием блох. В органах *Y. pestis* растет в основном в очагах некроза, где так же, как в цитоплазме клетки хозяина, содержание кальция находится на низком уровне. Работа Брубейкера показала, что ограничение роста и продукция Yop могут быть разделены, и он создал синтетическую среду, которую назвал «базовым сценарием (BCS)», обеспечивающую полномасштабный рост *Y. pestis* в среде с дефицитом кальция при 37 °C с образованием Yops. Среда BSC содержала K⁺ и L-аспартат, но не содержала Ca²⁺ и Na⁺, что эффективно предотвращало токсичность натрия, которую он связывал с феноменом ограничения роста. Среда BCS оказалась очень полезной при изучении временного анализа транскрипции всего генома при переходе температуры от 26 до 37 °C, поскольку *Y. pestis* продолжала как пролиферацию, так и экспрессию генов, включая T3SS [5]. Полная история исследования реакции на низкий уровень кальция в различных физиологических условиях и механизмов, лежащих в основе этого явления, подробно описана в его обзоре [6].

Изучение того, как млекопитающий хозяин реагирует на вторжение *Y. pestis*, было основным интересом Роберта Брубейкера. Он был пионером в исследованиях, приведших к открытию иммуносупрессии провоспалительных цитокинов на начальной стадии заражения чумой. Более того, одновременное введение мышам IFN-гамма и TNF-альфа перед заражением *Y. pestis* приводило к выживанию животных [7]. Эффект иммуносупрессии зависел от функциональности T3SS и секреции LcrV, что хорошо соответствовало предыдущему наблюдению Брубейкера о том, что экспрессия LcrV способствовала заражению чумой, предотвращая образование защитных гранул [8]. Позднее в его лаборатории было показано, что инъекция чистого рекомбинантного LcrV подавляла действие TNF-альфа и IFN-гамма у мышей и способствовала выживанию авирулентных, свободных от плазмиды pCD1 *Y. pestis*, а также гетерологичных бактерий, таких как *Salmonella* и *Listeria monocytogenes*; заражение последними было летальным [9]. Эффект врожденного иммунитета на ранней стадии заражения *Y. pestis* был приписан индукции IL-10 с помощью LcrV [10, 11]. В вопросе исследования иммуномодулирующих свойств LcrV необходимо сослаться на отчасти забытую статью Брубейкера о подавлении отторжения аллотрансплантата кожи у мышей рекомбинантным LcrV. Это был хороший пример иного использования основного фактора вирулентности патогенных бактерий для чего-то потенциально полезного для лечения определенных состояний [12].

T.W. Burrows и G.A. Bacon описали в 1958 г., что иммунизация сырым препаратом LcrV из *Y. pestis* защищает от чумы [13]. Однако позднее открытие массового синтеза белков Yop в условиях, используемых для индукции LcrV в этом препарате, поставило под сомнение защитные свойства LcrV, приписав защиту контаминации Yop. Более того, в 1991 г. две

lence of Pgm⁻ mutants in mice infected through peripheral routes (Jackson, Burrows, 1956) [19]. Interestingly, Pgm⁻ mutants exhibited complete virulence in normal mice when administered intravenously [20].

R. Brubaker found the mutation rate from Pgm⁺ to Pgm⁻ to be 10⁻⁵ per generation and suggested that this event also leads to loss of the pesticin receptor. Brubaker concluded that the correlation between pesticin sensitivity and the Pgm⁺/Pgm⁻ phenotype indicates a close relationship between these traits. It was later established that the genetic determination of those factors is linked to the chromosomal region of pigmentation (*pgm* region). The *hms* (hemin storage locus) locus is responsible for the ability to absorb hemin on the surface of *Y. pestis* cells, and the *psn* gene of the pesticin receptor, which is also a receptor for the siderophore yersiniabactin Ybt and is part of the high pathogenicity island (HPI), is responsible for sensitivity to pesticin. It was established that the 102 kb *pgm* region can be completely lost as a result of reciprocal recombination between the two copies of the IS100 element flanking this region [21]. This leads to complete avirulence of the cells, loss of the ability to adsorb hemin on the cell surface, to form a plague block in the flea midgut and a simultaneous loss of pesticin receptor biosynthesis and loss of sensitivity to pesticin. Long before this, Bob Brubaker showed that the pigmentation and pesticin absorption site are not necessarily identical as there are Pgm⁺ strains that are not sensitive to pesticin. Brubaker and other researchers obtained rare mutants, Pgm⁺Pst^r and Pgm⁻Pst^s [22, 23], which were used to study the structural and functional organization of the *pgm* region. In 1989, D.J. Sikkema and R.R. Brubaker found that Pgm⁻ mutants unable to grow on iron-deficient medium lacked detectable levels of six iron-repressible peptides expressed by the parental Pgm⁺ strain [22]. In 1996, study involving Bob Brubaker showed the existence of another, 26 °C temperature-dependent iron uptake system [24]. Together with Russian scientists, Brubaker studied the expression of one of the most important virulence factors of the plague pathogen – the plasminogen activator in *Y. pseudotuberculosis* and *E. coli* [25].

The entire his career, Bob Brubaker was loyal to Michigan State University, where he started as a young faculty member, retired, and became Professor Emeritus. This is what was written at the MSU site in the obituary: “In memory of Robert ‘Bob’ Brubaker: A legacy of scientific discovery and mentorship: Bob enjoyed sharing his unique perspectives on both science and life, which were always enlightening and enriching. His was a life of consequence, and his memory will forever be a blessing to all who knew him. Rest in peace, Professor Brubaker. Your legacy inspires and guides us”. You can not say better than that. In his honor, the MSU has established an endowment to be used to support the Robert R. Brubaker lectureship.

References / Список литературы

1. Chain P.S., Carniel E., Larimer F.W., Lamerdin J., Stoutland P.O., Regala W.M., Georgescu A.M., Vergez L.M., Land M.L., Motin V.L., Brubaker R.R., Fowler J., Hinnebusch J., Marceau M., Medigue C., Simonet

известные лаборатории сообщили, что LcrV является регуляторным белком ответа на низкий уровень кальция, что еще больше поставило под вопрос защитный потенциал LcrV [14, 15]. Тем не менее впоследствии, используя высокоочищенный рекомбинантный LcrV, лаборатория Брубейкера впервые предоставила формальное доказательство того, что LcrV может обеспечивать как пассивную, так и активную защиту от заражения *Y. pestis*. Иммунизация LcrV восстановила врожденный иммунный ответ на инфекцию *Y. pestis* и привела к образованию защитных гранул [9, 16]. С тех пор LcrV стал основным компонентом субъединичных вакцин против чумы, доказав высокий уровень защиты в различных моделях животных при использовании в качестве очищенного белка, экспрессированного на различных платформах-носителях, инкапсулированного в частицы, а недавно и в мРНК-вакцинах. Брубейкер с коллегами получили в 1994 г. патент США на использование LcrV в вакцине против чумы, выданный через Мичиганский университет.

Р. Брубейкер одним из первых еще в 1969 г. исследовал связь между способностью клеток *Y. pestis* абсорбировать экзогенный гемин на плотных синтетических средах при температуре 26 °C и чувствительностью к бактериоцину-пестицину [17]. Предшественниками – S. Jackson и T.W. Burrows (1956) – была показана способность к пигментации у возбудителя на средах с гемом [18]. Термин «пигментация» означал способность абсорбировать некоторые малые плоские молекулы, особенно гемин, колониями возбудителя чумы, растущими на поверхности агара. Беспигментные (Pgm⁻) мутанты утрачивали вирулентность, однако инъекция железа восстанавливала полную вирулентность Pgm⁻ мутантов для мышей, инфицированных периферическими путями [19]. Любопытно, что Pgm⁻ мутанты проявили полную вирулентность у нормальных мышей при введении внутривенным путем [20].

Р. Брубейкер обнаружил, что частота мутаций от Pgm⁺ к Pgm⁻ составляет 10⁻⁵ на поколение, и предположил, что это событие также приводит к потере рецептора пестицина. Брубейкер сделал вывод о том, что корреляция между чувствительностью к пестицину и Pgm⁺/Pgm⁻ фенотипом свидетельствует о тесной взаимосвязи этих признаков. Позже было установлено, что генетическая детерминированность этих факторов связана с хромосомной областью пигментации (*pgm*-область). За способность абсорбировать гемин на поверхности клеток *Y. pestis* отвечает локус *hms* (hemin storage locus), а за чувствительность к пестицину – ген рецептора пестицина, который одновременно является и рецептором сидерофора иерсиниабактина Ybt и входит в состав острова высокой патогенности HPI (high pathogenicity island). Установлено, что *pgm*-область размером в 102 т.п.н. может целиком утрачиваться в результате реципрокной рекомбинации по двум фланкирующим эту область копиям IS100-элемента [21]. Это приводит к полной авирулентности клеток, потере

- M., Chenal-Francisque V., Souza B., Dacheux D., Elliott J.M., Derbise A., Hauser L.J., Garcia E. Insights into the evolution of *Yersinia pestis* through whole-genome comparison with *Yersinia pseudotuberculosis*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2004; 101(38):13826–31. DOI: 10.1073/pnas.0404012101.
2. Brubaker R.R. *Yersinia pestis* and bubonic plague. In: Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schleifer K.-H., Stackelbrandt E., editors. *The Prokaryotes, an Evolving Electronic Resource for the Microbiological Community*. Springer Verlag, New York; 2000.
3. Montminy S.W., Khan N., McGrath S., Walkowicz M.J., Sharp F., Conlon J.E., Fukase K., Kusumoto S., Charles Sweet C., Miyake K., Akira S., Cotter R.J., Goguen J.D., Lien E. Virulence factors of *Yersinia pestis* are overcome by a strong lipopolysaccharide response. *Nat. Immunol.* 2006; 7(10):1066–73. DOI: 10.1038/nri1386.
4. Willis S.P., Chauhan S., Motin V.L. Functional characterization of *Yersinia pestis* aerobic glycerol metabolism. *Microb. Pathog.* 2014; 76:33–43. DOI: 10.1016/j.micpath.2014.08.010.
5. Motin V.L., Georgescu A.M., Fitch J.P., Gu P.P., Nelson D.O., Mabery S.L., Garnham J.B., Sokhansanj B.A., Ott L.L., Coleman M.A., Elliott J.M., Kegelmeyer L.M., Wyrobek A.J., Slezak T.R., Brubaker R.R., Garcia E. Temporal global changes in gene expression during temperature transition in *Yersinia pestis*. *J. Bacteriol.* 2004; 186(18):6298–305. DOI: 10.1128/JB.186.18.6298-6305.2004.
6. Brubaker R.R. Intermediary metabolism, Na⁺, the low calcium-response, and acute disease. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2007; 603:116–29. DOI: 10.1007/978-0-387-72124-8_10.
7. Nakajima R., Brubaker R.R. Association between virulence of *Yersinia pestis* and suppression of gamma interferon and tumor necrosis factor alpha. *Infect. Immun.* 1993; 61(1):23–31. DOI: 10.1128/iai.61.1.23-31.1993.
8. Une T., Brubaker R.R. Roles of V antigen in promoting virulence and immunity in yersiniae. *J. Immunol.* 1984; 133(4):2226–30.
9. Nakajima R., Motin V.L., Brubaker R.R. Suppression of cytokines in mice by protein A-V antigen fusion peptide and restoration of synthesis by active immunization. *Infect. Immun.* 1995; 63(8):3021–9. DOI: 10.1128/iai.63.8.3021-3029.1995.
10. Nedialkov Y.A., Motin V.L., Brubaker R.R. Resistance to lipopolysaccharide mediated by the *Yersinia pestis* V antigen-polyhistidine fusion peptide: amplification of interleukin-10. *Infect. Immun.* 1997; 65(4):1196–203. DOI: 10.1128/iai.65.4.1196-1203.1997.
11. Brubaker R.R. Interleukin-10 and inhibition of innate immunity to *Yersiniae*: roles of Yops and LcrV (V antigen). *Infect. Immun.* 2003; 71(7):3673–81. DOI: 10.1128/IAI.71.7.3673-3681.2003.
12. Motin V.L., Kutas S.M., Brubaker R.R. Suppression of mouse skin allograft rejection by protein A-Yersiniae V antigen fusion peptide. *Transplantation.* 1997; 63(7):1040–2. DOI: 10.1097/00007890-199704150-00027.
13. Burrows T.W., Bacon G.A. The effects of loss of different virulence determinants on the virulence and immunogenicity of strains of *Pasteurella pestis*. *Brit. J. Exp. Pathol.* 1958; 39(3):278–91.
14. Bergman T., Håkansson S., Forsberg Å., Norlander L., Macellaro A., Bäckman A., Bölin I., Wolf-Watz H. Analysis of the V antigen lcrGVH-yopBD operon of *Yersinia pseudotuberculosis*: evidence for a regulatory role of LcrH and LcrV. *J. Bacteriol.* 1991; 173(5):1607–16. DOI: 10.1128/jb.173.5.1607-1616.1991.
15. Price S.B., Cowan C., Perry R.D., Straley S.C. The *Yersinia pestis* V antigen is a regulator protein necessary for the Ca²⁺-dependent growth and maximal expression of low-Ca²⁺ response virulence genes. *J. Bacteriol.* 1991; 173(8):2649–57. DOI: 10.1128/jb.173.8.2649-2657.1991.
16. Motin V.L., Nedialkov Y.A., Brubaker R.R. V antigen-polyhistidine fusion peptide: binding to LcrH and active immunity against plague. *Infect. Immun.* 1996; 64(10):4313–8. DOI: 10.1128/iai.64.10.4313-4318.1996.
17. Brubaker R.R. Mutation rate to nonpigmentation in *Pasteurella pestis*. *J. Bacteriol.* 1969; 98(3):1404–6. DOI: 10.1128/jb.98.3.1404-1406.1969.
18. Burrows T.W., Jackson S. The pigmentation of *Pasteurella pestis* on a defined medium containing haemin. *Br. J. Exp. Pathol.* 1956; 37(6):570–6.
19. Burrows T.W., Jackson S. The virulence enhancing effect of iron on nonpigmented mutants of virulent strains of *Pasteurella pestis*. *Br. J. Exp. Pathol.* 1956; 37(6):577–83.
20. Une T., Brubaker R.R. *In vivo* comparison of avirulent Vwa- and Pgm- or Pstr phenotypes of yersiniae. *Infect. Immun.* 1984; 43(3):895–900. DOI: 10.1128/iai.43.3.895-900.1984.
21. Fetherston J.D., Schuetze P., Perry R.D. Loss of the pigmentation phenotype in *Yersinia pestis* is due to the spontaneous deletion of 10 kb of chromosomal DNA which is flanked by a repetitive element. *Mol. Microbiol.* 1992; 6(18):2693–704. DOI: 10.1111/j.1365-2958.1992.tb01446.x.
22. Sikkema D.J., Brubaker R.R. Outer membrane peptides of *Yersinia pestis* mediating siderophore-independent assimilation of iron. *Biol. Met.* 1989; 2(3):174–84. DOI: 10.1007/BF01142557.
23. Kuttyrev V.V., Filippov A.A., Oparina O.S., Protchenko O.A. Analysis of *Yersinia pestis* chromosomal determinants Pgm⁺ and Psts associated with virulence. *Microb. Pathog.* 1992; 12(3):177–86. DOI: 10.1016/0882-4010(92)90051-o.
24. Lucier T.S., Fetherston J.D., Brubaker R.R., Perry R.D. Iron uptake and iron-repressible polypeptides in *Yersinia pestis*. *Infect. Immun.* 1996; 64(8):3023–31. DOI: 10.1128/iai.64.8.3023-3031.1996.
25. Kuttyrev V., Mehig R.J., Motin V.L., Pokrovskaya M.S., Smirnov G.B., Brubaker R.R. Expression of the plague plasminogen activator in *Yersinia pseudotuberculosis* and *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* 1999; 67(3):1359–67. DOI: 10.1128/IAI.67.3.1359-1367.1999.

способности адсорбировать гемин на поверхности клеток, образовывать чумной блок в преджелудке блохи и к одновременной утрате биосинтеза рецептора пестицина и потере чувствительности к пестицину. Еще задолго до этого Брубейкер показал, что сайты пигментации и абсорбции пестицина не обязательно идентичны, поскольку существуют штаммы Pgm⁺, которые нечувствительны к пестицину. Р. Брубейкером и другими исследователями получены редкие мутанты – Pgm⁺Pst⁺ и Pgm⁺Pst⁺ [22, 23], которые были использованы для изучения структурно-функциональной организации *pgm*-области. В 1989 г. D.J. Sikkema и R.R. Brubaker установили, что Pgm⁺ мутанты, неспособные расти на среде с дефицитом железа, не имели обнаруживаемых уровней шести железо-репрессируемых пептидов, экспрессируемых родительским Pgm⁺ штаммом [22]. В 1996 г. в работе с участием Р. Брубейкера показано существование еще одной, зависящей от температуры 26 °С системы потребления железа [24]. Совместно с российскими учеными Брубейкером изучена экспрессия одного из важнейших факторов вирулентности возбудителя чумы – активатора плазминогена в *Y. pseudotuberculosis* и *E. coli* [25].

Всю свою карьеру Роберт Брубейкер был верен Мичиганскому государственному университету, где он начал молодым преподавателем, вышел на пенсию и стал почетным профессором. Вот что было написано на сайте MSU в некрологе: «В память о Роберте «Бобе» Брубейкере. Наследие научного открытия и наставничества: Боб с удовольствием делился своими уникальными взглядами на науку и жизнь, которые всегда были просветляющими и обогащающими. В его жизни было много достижений, и память о нем навсегда останется благословением для всех, кто его знал. Покойтесь с миром, профессор Брубейкер. Ваше наследие вдохновляет и направляет нас». Лучше и не скажешь. В его честь Мичиганский университет учредил фонд, который будет использоваться для поддержки наследия лекторской деятельности Роберта Р. Брубейкера.

Authors:

Motin V.L., The University of Texas Medical Branch, Galveston, Texas, USA. E-mail: vlmotin@utmb.edu.

Kuttyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Об авторах:

Мотин В.Л. Медицинское отделение Техасского университета. США, Техас, Галвестон. E-mail: vlmotin@utmb.edu.

Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.