

Л.М.Куклева

АДГЕЗИНЫ ВОЗБУДИТЕЛЯ ЧУМЫ

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

Возбудитель чумы обладает комплексом адгезинов, обеспечивающих прикрепление возбудителя к клеткам-мишеням в организме хозяина и во многом определяющих начало, характер и течение болезни. Наличие адгезинов обеспечивает транслокацию эффекторных белков в клетки-мишени млекопитающих. В обзоре представлены литературные данные как о наиболее изученных адгезинах *Yersinia pestis* (белках Ail и рН6 антиген), так и о недавно выявленных аутотранспортных белках различных классов, участвующих в процессах адгезии (YadBC, Yaps, IpP). Описано их значение для патогенеза чумы, генетическая детерминированность, структура и локализация в клетке. Отмечено, что адгезины возбудителя чумы действуют на разных стадиях инфекционного процесса, выполняют множественные функции, участвуют не только в процессах прикрепления к клеткам хозяина, но также обеспечивают устойчивость к действию иммунных механизмов хозяина.

Ключевые слова: возбудитель чумы, адгезины, патогенность.

Корреспондирующий автор: Куклева Любовь Михайловна, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Куклева Л.М. Адгезины возбудителя чумы. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 2:14–22. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-2-14-22

L.M.Kukleva

Adhesines of the Plague Agent

Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russian Federation

Plague agent has a complex of adhesines providing for anchoring of the pathogen to target cells in a host organism and in many ways defining the onset, character, and development of the disease. The presence of adhesines ensures translocation of effector proteins into target cells of mammals. The review covers the literature data, both on the most studied *Yersinia pestis* adhesines (Ail proteins and рН6 antigen), and on recently identified auto transporting proteins of various classes, involved in adhesion processes (YadBC, Yaps, IpP). Their significance for plague pathogenesis, genetic determinacy, structure and localization in a cell are also described in the paper. It is noted that plague agent adhesines work at different phases of infection process, have multiple functions and take part not only in anchoring to host cells, but provide for resistance to influence of immune mechanisms of a host too.

Key words: plague agent, adhesines, and pathogenicity.

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

Funding: The authors received no specific funding for this work.

Corresponding author: Lubov M. Kukleva, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Kukleva L.M. Adhesines of the Plague Agent. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; 2:14–22. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2018-2-14-22

В развитии любого инфекционного процесса ключевую роль играет адгезия возбудителя к клеткам-мишеням, которая во многом определяет начало, характер и течение болезни. В бактериальной клетке функции распознавания и связывания с клетками-мишенями обусловлены наличием специализированных структур – адгезинов, которые могут быть представлены белками наружной мембраны или специализированными органеллами – пилиями.

Три вида *Yersinia* являются патогенными для человека и животных. Энтеропатогенные *Y. enterocolitica* и *Y. pseudotuberculosis* попадают в организм с зараженной пищей и водой и вызывают заболевания различной степени тяжести (от легкой диареи до реактивных артритов). *Y. pestis* вызывает особо опасную болезнь – чуму, которая является эндемичной для ряда стран Африки, Азии и Латинской Америки. Ежегодно ВОЗ сообщает о случаях чумы у людей. Так, в 2010–2015 гг. во всем мире зарегистрировано

3248 случаев заболевания чумой, в том числе 584 летальных [8].

Все три патогенных вида иерсиний несут важные детерминанты вирулентности, в том числе кодируемую плазмидой вирулентности рCD1 (рCad) систему секреции III типа (ССЗТ). Внедрение внутрь клеток-мишеней белков-эффекторов (YOPs) ССЗТ, которые блокируют бактериальный фагоцитоз и подавляют выработку цитокинов, зависит от наличия клеточного контакта. Специфичность взаимодействия иерсиний с клетками хозяина во многом определяется бактериальными адгезинами.

Энтеропатогенные иерсинии экспрессируют два основных адгезина/инвазина (YadA и Inv), которые необходимы для эффективного прикрепления клеток и последующего внедрения YOPs [10].

В процессе эволюции *Y. pestis* утратил значительное число генов: его геном содержит около 200 псевдогенов [13]. Так, были нарушены гены, кодиру-

ющие инвазин и адгезин (Inv и YadA). Инактивация инвазина обусловлена вставкой *IS200* в ген *inv*; функция гена *yadA* утрачена вследствие делеции одной пары нуклеотидов, что привело к сдвигу рамки считывания [40]. Взамен утраченных в клетках *Y. pestis* функционирует целый ряд собственных белков с адгезивными функциями (рисунок) [37]. Адгезивные свойства активатора плазминогена достаточно полно описаны в ряде литературных обзоров [2, 4, 35]. Сведения о других адгезинах возбудителя чумы представлены далее.

Адгезин возбудителя чумы – белок Ail (от англ. attachment-invasion locus). Основным адгезином возбудителя чумы считают белок Ail. Он принадлежит к семейству белков наружной мембраны (Ail/Lom/OmpX), выявленному у целого ряда бактерий, в том числе и у патогенных иерсиний (*Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis*, *Y. enterocolitica*) [22]. Представители этого семейства ответственны за устойчивость к литическому действию комплемента сыворотки крови, выживание в макрофагах, адгезию и инвазию клеток хозяина [15, 37].

Значение для патогенеза. Установлено, что Ail является важным фактором вирулентности при развитии бубонной и легочной чумы [19, 21]. Экспериментально доказано, что утрата Ail приводила к снижению вирулентности для крыс штамма *Y. pestis* CO92 при легочной инфекции – показатель LD₅₀ возрастал более, чем в 10000 раз [19, 21]. На модели мышей при интраназальном заражении отмечали снижение продолжительности жизни при неизменном значении LD₅₀ [21]. При внутрикожном и внутривенном заражении отмечали 100-кратное увеличение значения LD₅₀ [15, 19]. При внутривенном заражении также выявили снижение способности мутантного штамма колонизовать ткани организма хозяина [15].

Показано, что Ail участвует в независимом от образования биопленки киллинге *Caenorhabditis elegans*, поскольку его утрата приводила к увеличению выживаемости взрослых червей, зараженных *Y. pestis* KIM5 [6]. Белок Ail не участвовал в независимом от биопленки киллинге нематоды [6]. Не выявлено и влияния утраты Ail на способность к блокообразованию блох *X. cheopsis*, которая повышает эффективность трансмиссии возбудителя от переносчика к млекопитающему [6].

Основными функциями Ail в клетках *Y. pestis* являются участие в проявлении адгезивной активности бактерий, введении эффекторных белков в клетки-мишени, способности к аутоагрегации и устойчивости к действию сыворотки [6, 15, 22].

Генетическая детерминированность и структура белка Ail. Геномный анализ штаммов *Y. pestis* выявил четыре локуса, кодирующие гомологи белка Ail. Один из этих генов – *y1324*, кодирует белок с молекулярной массой 17,46 кДа (без сигнальной последовательности), на 99 % идентичный Ail *Y. pseudotuberculosis* и на 70 % – *Y. enterocolitica* [41].

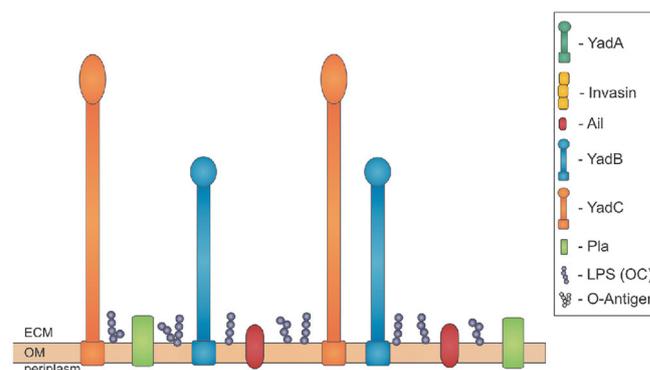


Схема белков, экспрессируемых в наружной мембране клетками *Yersinia pestis* при развитии инфекции [37]:

OM – наружная мембрана, ECM – экстраклеточный матрикс, periplasm – периплазматическое пространство клетки, LPS (OC) – выступающие части ЛПС, Pla – активатор плазминогена, YadBC – аутоотрапортные белки типа Vc. Все молекулы изображены в одном масштабе

Graphic pattern of proteins expressed by *Yersinia pestis* cells in the outer membrane in the development of infection [37]:

OM – outer membrane, ECM – extracellular matrix; periplasm – periplasmatic space of a cell, LPS (OC) – extensions of LPSs, Pla – plasminogen activator, YadBC – auto transporting proteins of Vc type. All the molecules are depicted at the same scale

Анализ нуклеотидной последовательности гена *ail* *Y. pestis* выявил штаммовые различия, которые отражаются в вариациях аминокислот в полипептидной цепи белка [3]. Идентифицированы два варибельных сайта в гене *ail*. У штаммов основного и улэгейского подвидов присутствует миссенс-мутация в позиции 376 (смена кодона GTT на TTT), приводящая к включению аминокислоты Phe вместо Val в 138 положении белка Ail. У штаммов кавказского подвида в гене *ail* выявлена вставка триплета AGT в позиции 408, следствием которой является включение остатка серина в 148 позицию полипептидной цепи белка [3].

Ail является одним из наиболее активно транскрибируемых генов *Y. pestis* [12]. Температура 37 °C является оптимальной для его экспрессии, при этом он составляет 20–30 % общей массы белков наружной мембраны. Уровень белка существенно ниже при температуре 28 °C и минимален при 6 °C [22]. Тот факт, что активность адгезина Ail выявляли при 28 и 37 °C, отличает его от других адгезинов – рН6 антигена и активатора плазминогена Pla [15].

Ail представляет собой мономерный белок с молекулярной массой 17,6 кДа, встроенный в наружную мембрану бактериальной клетки [48]. Он имеет β-баррельную структуру, причем часть белковой молекулы расположена внутри клетки, часть имеет внеклеточную локализацию и определяет адгезивную активность [41]. Внеклеточные петли обеспечивают взаимодействие с компонентами экстраклеточного матрикса (ЭКМ) – фибронектином, ламинином и гепаран-сульфат-протеогликанами, а также с системой комплемента – C4b-связывающим белком [44, 48]. β-полосы различаются по длине на 10–18 аминокислотных остатков, при этом размер всей структу-

ры белка колеблется от 30 до 53 Å. Аминокислотные остатки, определяющие устойчивость к сыворотке, расположены в петлях 2 (С-конец) и 3 (N-конец), а участвующее в обеспечении адгезии – в середине петли 2 и на С-конце петли 3 [44].

Участие Ail в адгезии к клеткам млекопитающих. Утрата Ail существенно снижает присоединение бактерий к эпителиальным (HEp-2) и моноцитарным (THP-1) клеткам, что подтверждает адгезивную функцию Ail у *Y. pestis* [15, 22]. Как и устойчивость к сыворотке, способность к адгезии зависит от структуры ЛПС [21].

Активность Ail, обеспечивающего правильную ориентацию бактериальной инъектосомы, способствует проникновению эффекторных белков в клетки-мишени системы секреции III типа [15, 44, 45, 48]. Штаммы *Y. pestis*, лишенные Ail, проявляют сниженную способность к транслокации YOPs белков [15]. Предварительная обработка клеток линии HEp-2 анти-Ail сывороткой и делеция Ail в штамме KIM5 нарушает транслокацию YOPs [15, 48].

Взаимодействие Ail с компонентами экстраклеточного матрикса (ЭКМ). Многочисленными исследованиями установлено, что точкой приложения действия Ail являются компоненты экстраклеточного матрикса (ЭКМ) [15, 22, 44, 48]. Установлено специфичное взаимодействие Ail с фибронектином и ламинином (преимущественно, фрагментом LG4-5), но не с коллагенами I и IV типов [44, 48]. В молекуле Ail выявлено два сайта связывания ламинина во внеклеточных петлях [48]. Связывание *Y. pestis* с фибронектином происходит в области центрального фрагмента (120 кДа) [44]. Взаимодействие Ail с фибронектином более слабое, чем с ламинином, однако, именно связывание с фибронектином необходимо для проникновения YOPs в клетки хозяина [22]. Показано, что в обусловленном белком Ail взаимодействии *Y. pestis* с эпителиальными клетками участвует протеогликан гепаринсульфат и вибронектин, который также участвует в фибринолизе, клеточном взаимодействии и действии системы комплемента [7]. В результате связывания с Ail вибронектин становится доступным для протеолитического действия активатора плазминогена Pla [7].

Обеспечение устойчивости к действию сыворотки. Устойчивость к действию комплемента сыворотки является существенным фактором выживания возбудителя чумы в крови. Трансмиссия возбудителя чумы от блох млекопитающим становится возможной лишь в том случае, если бактерии способны выжить после контакта с компонентами крови [40]. Способностью противостоять действию сыворотки обладают клетки *Y. pestis*, выращенные при 28 и 37 °С, но не при 6 °С [5]. Ген *ail* придает устойчивость не только к сыворотке человека, но также к действию сывороток кроликов, козлов, овец, крыс и морских свинок, а его делеция приводит к быстрой и полной утрате резистентности к сыворотке [6, 22].

Показано, что устойчивость к сыворотке за-

висит от структуры коровой части ЛПС бактерий, обладающих адгезином Ail. Так, штаммы *Y. pestis*, имеющие укороченную коровую часть ЛПС, увеличивают чувствительность к сыворотке человека [5, 21]. Наблюдаемые вариации аминокислот в полипептидной цепи Ail в различных штаммах *Y. pestis*, по-видимому, несущественны для обеспечения резистентности к сыворотке, поскольку все изученные штаммы обладали одинаковой резистентностью к нормальной кроличьей сыворотке [3].

Механизм устойчивости возбудителя чумы к сыворотке, обусловленной Ail, пока неясен. Высказано предположение, что Ail связывает негативные регуляторы альтернативного (фактор Н), классического и лектинового (С4b-связывающий белок С4BP) путей активатора комплемента, что приводит к снижению действия комплемента [22].

Таким образом, белок Ail выполняет в клетке множество функций, участвует в адгезии возбудителя к клеткам-мишеням и внедрение в них эффекторных белков YOPs, проявлении устойчивости к комплементу сыворотки, ингибировании иммунного ответа.

pH6 антиген – антифагоцитарный адгезин.

Пили (фимбрии) – длинные линейные структуры, выступающие за поверхность бактериальной клетки и сформированные из нескольких субъединиц. Пили могут участвовать во многих процессах, в том числе адгезии, формировании биопленки, некоторых формах подвижности, конъюгации. Сборка многих фимбрий происходит при участии шаперон-ашерной системы. К числу таких структур относится pH6 антиген (от англ. pH six antigen) возбудителя чумы [50]. Свое название этот антиген получил вследствие того, что его максимальная экспрессия происходит при pH между 5 и 6,7 и температуре 37 °С, но функциональный антиген синтезируется при pH от 4 до 10 [31, 32]. На поверхности бактериальной клетки pH6 антиген формирует структуры, получившие название пилей или фимбрий адгезии. pH6 антиген может существовать в виде тонких индивидуальных нитей, формировать пучки фимбрий, соединенные по всей длине или бесструктурные агрегаты [32].

Значение для патогенеза. По мнению ряда исследователей, pH6 антиген является фактором вирулентности *Y. pestis* [11, 31]. Клетки *Y. pestis*, неспособные синтезировать pH6 антиген, утрачивают способность распространяться из начальных сайтов инфекции при подкожном заражении, что приводит к увеличению LD₅₀ до 400 раз по сравнению со штаммом «дикого» типа [50]. Отмечено участие этого антигена в патогенезе легочной чумы [34]. Однако, после интраназального заражения изменение LD₅₀ выражено гораздо слабее, что свидетельствует о различной роли pH6 антигена для бубонной и легочной чумы [50]. При размножении возбудителя чумы в плазме крови происходит активирование образования pH6 антигена, что подтверждает его значение в развитии септической чумы [11].

Генетическая детерминированность и структура PsaA. Синтез рН6 антигена кодирует *psa* оперон, сходный по структуре с другими оперонами, кодирующими пили адгезии, секреция которых происходит при участии шаперон-ашерных (*shaperonusher*) систем [16].

Оперон *psa* состоит из структурного гена *psaA* субъединицы рН6 антигена, генов *psaB* и *psaC*, кодирующих, соответственно, периплазматический шаперон и молекулярный ашер, а также двух регуляторных генов *psaE* и *psaF*, ответственных за регуляцию транскрипции температурой (37 °С) и рН (5,8–6,0) [31]. Экспрессию *psa* оперона позитивно регулирует глобальный фактор транскрипции RovA, воздействующий на промоторные участки генов *psaE* и *psaA*. В качестве репрессора *psa* генов выступает белок Fur [9].

После экспрессии PsaA происходит его секреция в периплазматическое пространство. Далее он транспортируется через периплазму с помощью шаперона PsaB, функция которого состоит в предотвращении полимеризации и обеспечении транспорта белка во внешнюю мембрану [16], где молекулы PsaA присоединяются к мембранному ашеру PsaC. Сборка зрелого белка происходит на поверхности бактериальной клетки. рН6 антиген – это гомополимерный макромолекулярный комплекс, состоящий из субъединиц белка PsaA, имеющих массу 15 кДа [31]. Толщина пилей или фимбрий адгезии, образованных рН6 антигеном, составляет 4 нм [1, 31].

Значение рН6 антигена для бактериальной клетки определяется участием его в осуществлении целого ряда функций, таких как адгезия, антифагоцитарная активность и воздействие на иммунную систему [20, 36].

Адгезивная активность. рН6 антиген обладает адгезивной активностью в отношении эритроцитов и эпителиальных клеток млекопитающих вследствие связывания с фосфатидилхолином или гликофинголипидами этих клеток [18, 33, 39]. Установлено, что делеция гена *psaA* снижает адгезию и способность к формированию биопленки [16]. Подобно другим адгезинам возбудителя чумы (*Ail* и активатор плазминогена *Pla*), рН6 антиген участвует в транслокации эффекторных белков YOPs системы секреции третьего типа, хотя он не столь важен для этого процесса, как два предыдущие компонента [15]. Экспериментально показано, что Psa антиген обуславливает присоединение к эпителиальным клеткам респираторного тракта человека и к легочному сурфактанту, выстилающему поверхность альвеол [18, 33].

Защита от фагоцитоза. рН6 антиген участвует в процессах защиты бактерий от фагоцитоза, причем его функционирование не зависит от эффекторных YOPs белков и фракции 1 [20]. По-видимому, основная функция рН6 антигена как антифагоцитарного фактора состоит в препятствовании интернализации бактерий. Известно, что его синтезу благоприятству-

ют условия фаголизосом, что может обеспечивать устойчивость бактерий к последующему фагоцитозу [32, 36]. По данным Е.Маковеичук *et al.* [36], рН6 антиген специфически связывается с липопротеинами плазмы человека, что может предотвращать распознавание возбудителя системой защиты организма хозяина. Возможно, действие PsaA *Y. pestis* направлено на предотвращение адгезин-рецепторного взаимодействия, аналогично действию антигена Fra1 [20].

Защита от иммунологического распознавания. Одной из функций рН6 антигена является защита *Y. pestis* от иммунологического распознавания организмом хозяина, путем связывания Fc фрагмента иммуноглобулина G и формирования псевдоиммунного комплекса с IgG1, IgG2, and IgG3 [20, 50]. Этот процесс предотвращает распознавание возбудителя иммунной системой хозяина [36]. Установлено, что рН6 антиген запускает синтез TNF- α (фактор некроза опухолей – противовоспалительный лимфокин), а также способствует развитию септического шока в результате противовоспалительного ответа макроорганизма [50].

рН6 антиген обладает цитотоксичностью в отношении перитонеальных и альвеолярных макрофагов, приводит к снижению количества антителообразующих клеток, ингибирует реакцию митогензависимой бласттрансформации клеток селезенки, подавляет рост клеток в системе интерлейкин 2-зависимой пролиферации Т-бластов.

Таким образом, рН6 антиген выполняет в макроорганизме различные функции, участвуя в адгезии и внедрении эффекторных белков в клетки-мишени. Однако наиболее важными функциями этого антигена являются, по-видимому, обеспечение защиты от фагоцитоза и иммунологического распознавания.

Аутотранспортные белки. Аутотранспортные белки (аутотранспортеры, АТ-белки) – это большое семейство белков грамотрицательных бактерий, секреция которых происходит по V типу [28].

В состав каждого АТ-белка входят три обязательных домена: переменный функциональный домен, который фланкирован двумя консервативными – N-терминальной сигнальной последовательностью, необходимой для транспорта белка в периплазму, и C-терминальным β -доменом, обеспечивающим транспортный канал для секреции функционального домена через наружную мембрану [28]. Функциональный домен после экспорта через наружную мембрану может выделяться во внеклеточное пространство или оставаться нековалентно связанным с наружной мембраной. Некоторые АТ-белки остаются ковалентно связанными с транслокаторным доменом на наружной поверхности клетки [28]. Вариативность функционального домена позволяет системе секреции V типа экспортировать белки, обладающие различными функциями, в том числе адгезивной, протеолитической и цитотоксической [28].

Существует пять типов АТ-белков, обозначен-

ных Va–Ve [28]. Патогенные *Yersinia* содержат аутотранспортные белки типов Va, Vc и Ve. АТ-белки типа Va (классические) состоят из трех вышеописанных доменов [23]. АТ-белки типа Vc обладают сходной структурой, но функционируют только в виде тримеров [28]. Белки типа Ve обладают инвертированным порядком доменов, то есть β -баррельный транслокаторный домен является N-терминальным для функционального домена [29].

Аутотранспортные (АТ) белки типа Va. В геноме штаммов *Y. pestis* экспериментами *in silico* идентифицирован целый ряд белков, предположительно являющихся аутотранспортными белками, получивших обозначение Yaps (от англ. *Yersinia pestis* autotransporter proteins) [26, 49].

Геномный анализ показал, что все аутотранспортные белки приобретены возбудителем псевдотуберкулеза до дивергенции *Y. pestis*, но только YapE является специфичным для рода *Yersinia* белком и имеет слабое сходство с белками других бактерий [25]. Подавляющее большинство АТ-белков *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis* идентичны более чем на 96 %. Исключение составляют YapA (80,7 %) и YapN (54,8 %).

После секреции функциональные домены ряда АТ-белков *Y. pestis* остаются связанными с наружной мембраной бактериальной клетки, другие секретируются в межклеточное пространство [24, 26]. Процессинг АТ-белков, выделяющихся во внешнюю среду, происходит при участии активатора плазмидогена Pla [25].

В штаммах *Y. pestis* CO92, KIM и *Microtus* выявлено 10 открытых рамок считывания (*yaps*), кодирующих функциональные аутотранспортные белки [26, 49]. Внутри этой группы генов отмечено незначительное сходство нуклеотидной последовательности, за исключением генов *yapJ* и *yapK*, которые имеют 98 % гомологии. Ген *yapE* – единственный, для которого найден гомологичный ген в геноме *Y. enterocolitica*, а ген *yapM*, по-видимому, имеет гомологи вне рода *Yersinia*.

Выявленные гены аутотранспортных белков *Y. pestis* (*yapC*, *yapE*, *yapF*, *yapG*, *yapH*, *yapK*, *yapL* и *yapM*) имеют хромосомную локализацию и расположены на участке хромосомы размером 0,5 мпн. Показано, что ген *yapF* является третьим и последним геном в опероне, кодирующем гипотетические белки [26]. Ген *yapM*, по-видимому, входит в состав оперона из четырех генов, продукты трех из них участвуют во взаимодействии с гликанами, входящими в состав экстраклеточного матрикса [26]. Кроме того, в клетках *Y. pestis* в виде псевдогена присутствует ген *yapX*, который функционально активен у возбудителя псевдотуберкулеза [38].

Дальнейший анализ генов позволил установить, что в штаммах CO92 и KIM ген *yapB* содержит мутацию со сдвигом рамки считывания, а в штамме *Microtus* разрушен внедрением IS285. Ген *yapA* имеет различную структуру в штаммах разных биоваров.

Так, в штаммах средневекового и античного биоваров присутствует сигнальная последовательность, тогда как у восточного биовара в гене *yapA* выявлена точечная мутация, которая лишает белок YapA функциональной активности [26]. Два гена *yapC* и *yapH* расположены на островах патогенности, причем *yapH* локализован вблизи генов, ответственных за формирование биопленки, «чувства кворума» (quorum sensing) и синтеза адгезинов и фимбрий [13].

Профиль транскрипции *yaps* показал низкий уровень их экспрессии в условиях *in vitro* и его возрастание во время развития чумной инфекции у млекопитающих [26].

Характеристика отдельных аутотранспортных белков *Y. pestis*. YapE. Белок YapE является уникальным в том отношении, что это единственный АТ-белок, выявленный также у *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica*. Установлена 97 % идентичность белка возбудителя чумы с *Y. pseudotuberculosis* и 65 % – с *Y. enterocolitica* [24]. Ортологичные белки выявлены у всех биоваров *Y. pestis*, *microtus* и *pestoides* (100 % идентичности аминокислотного состава).

В составе YapE присутствуют все три домена, характерные для АТ-белков типа Va. Часть функционального домена YapE после транслокации остается ассоциированной с бактерией, но часть полипептида подвергается процессингу и высвобождается в межклеточное пространство. Протеолитическое расщепление (процессинг) необходимо для проявления адгезивной функции YapE *Y. pestis*, поскольку N-терминальный фрагмент функционального домена YapE экранирует или блокирует адгезивный домен в нерасщепленном белке [25]. После воздействия протеазы Pla происходит либо высвобождение адгезивного домена, либо его активация за счет произошедших конформационных изменений. В экспериментах на мышах показано, что штаммы, лишенные YapE, обладали пониженной способностью размножаться и выживать в проксимальном лимфатическом узле, селезенке и легких при бубонной чуме. Значительно меньшее участие принимает белок YapE в развитии легочной чумы [25].

YapC. Аутотранспортный белок YapC является типичным АТ-белком типа Va. Он присутствует в штаммах KIM и CO92 и обладает высоким сходством с белками YapA и YapL [38, 49]. Клонированный в штамме *E. coli* белок YapC имел размер 65 кД и локализовался на поверхности бактериальной клетки [49]. Наличие YapC придавало клеткам способность к аутоагрегации, характерной особенностью клеток, образующих биопленку, и обладающих гемагглютинацией, что позволяет рассматривать этот белок как адгезин [49]. Показано, что присутствие YapC в клетках *E. coli* обеспечивает образование ими биопленки при 37 и 28 °С. Полученные данные позволили предположить участие YapC в формировании биопленки возбудителем чумы. По данным S.Felek *et al.* [14], адгезивные свойства YapC обеспечивают прикрепление бактериальных клеток к макрофагам

линии RAW264.7, клеткам HEp-2 и эпителиальным клеткам легких линии A549, что позволяет предположить важность аутотранспортного белка YarpC для развития инфекционного процесса при чуме.

Другие АТ белки типа Va. Имеются немногочисленные данные о других АТ белках. Так установлено, что при бубонной и легочной видах чумы существенно возрастает экспрессия ряда АТ-белков, в том числе YarpV и YarpK, [14, 24, 26, 27]. При изучении адгезивных свойств этих белков показано, что клетки *E. coli*, экспрессирующие белки YarpV и YarpK, эффективно связывались с альвеолярными (линия A549) и эпителиальными (линия W126VA4) клетками, а также компонентами экстраклеточного матрикса, что позволило предположить участие этих АТ-белков в развитии легочной чумы и обеспечении контакта бактерий с эпителиальными клетками респираторного тракта [38]. YarpG не имеет значения для вирулентности ни при бубонной, ни при легочной видах чумы, его функцию еще предстоит расшифровать [23].

Следует отметить, что штаммы восточного био-вара из Северной Америки и Африки утратили ген *yarpV*, тогда как штаммы из Азии и Южной Америки сохранили [43]. В то же время, все штаммы возбудителя чумы, в отличие от *Y. pseudotuberculosis*, несут ген *yarpJ* [38].

Аутотранспортные (АТ) белки типа Vc. Типичным белком этого семейства является адгезин YadA энтеропатогенных иерсиний. В клетках возбудителя чумы выявлены два белка – YadB и YadC, принадлежащие к семейству тримерных аутотранспортных белков, гомологичные адгезину YadA, выявленному у *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* [17].

Данные о значении YadBC для патогенеза чумы довольно противоречивы. Отмечено, что отсутствие YadB и YadC в 2000 раз увеличивает LD₅₀ при моделировании легочной чумы у мышей [17]. Отсутствие этих белков приводило к снижению в 2–4 раза высеваемости возбудителя из места введения, свидетельствуя о значении их для обеспечения выживания бактерий на начальных стадиях инфекции [47]. Кроме того, эти белки снижали уровень хемоаттрактанта CXCL-1 [47]. Установленная высокая экспрессия *yadBC* в блохах послужила основанием для гипотезы, согласно которой белки YadB и YadC являются факторами трансмиссии [47].

Гены *yadB* и *yadC* организованы в бицистронный оперон, в котором терминирующий кодон одного гена перекрывается с иницирующим кодоном другого гена. Такое необычное расположение генов может свидетельствовать об их функциональной взаимосвязи в создании комплекса на бактериальной поверхности [17]. Установлена идентичность генов, кодирующих YadB и YadC, в штаммах *Y. pestis* био-варов *medievalis*, *microtus*, *antiqua* и *orientalis*, тогда как штамм *Angola* содержит измененную последовательность белка YadC [17]. Экспрессия YadB и YadC максимальна при 37 °С в стационарной фазе роста,

что может служить подтверждением функционирования этого оперона при развитии чумной инфекции в организме млекопитающих [17]. Показано, что наличие белков YadB и YadC не является необходимым для адгезии, хотя отсутствие их значительно снижает способность бактерий проникать в эпителиальные клетки HeLa и пневмоциты I типа [17, 47].

YadB и YadC обладают сходной структурой с белком YadA энтеропатогенных иерсиний, но это сходство наблюдается только на С-конце: из 264 аминокислотных остатков 14 % идентичны и 20 % имеют сходство [17]. Молекула YadB представлена тремя мономерами по 35 кДа каждый, а в молекуле YadC масса каждого мономера составляет 61,6 кДа [17]. Отмечено также, что YadB и YadC, аналогично YadA, могут образовывать олигомеры, способствующие агрегации [17].

Аутотранспортные (АТ) белки типа Ve (инвертированные АТ-белки). К этой группе аутотранспортных белков относят инвазин энтеропатогенных бактерий *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* [46]. В клетках возбудителя чумы ген *inv* инактивирован вставкой IS200, но присутствует его гомолог [30]. Экспериментами R.Seo *et al.* [42] в клетках возбудителя чумы выявлен белок, принадлежащий к семейству интиминов и получивший обозначение Ipr (от англ. *intimin/invasin-like protein*) из-за исключительно плотного контакта бактерий с клетками-мишенями. В молекуле белка Ipr выявлен дополнительный домен (LysM) между сигнальным пептидом и β-доменом, который локализован в периплазме, связывает пептидогликан и обеспечивает тесный контакт бактерий с клеткой-мишенью.

Показано, что наличие этого белка необходимо для проявления вирулентности *Y. pestis*, в частности, для системного распространения возбудителя в макроорганизме. Клетки *Y. pestis*, мутантные по гену *ilp*, обладают сниженной способности к адгезии и проникновению в клетки HEp-2 [42]. Между тем, отсутствие белка Ipr не влияет на блокообразование и колонизацию блох *X. cheopis*.

В хромосоме *Y. pestis* выявлен участок размером 9042 п.н., кодирующий белок Ipr, состоящий из 3013 аминокислотных остатков [42]. Установлено, что экспрессия гена *ilp* при 37 °С существенно выше, чем при 26 °С [42].

Уникальным является механизм адгезии, который осуществляют бактерии при участии белков-интиминов, получивший название механизма «прикрепления-сглаживания» (от англ. *attaching-effacing*) [29]. Взаимодействие с адгезином Ipr происходит через рецептор Tir (от англ. *translocated intimin receptor*). Белок Tir синтезируется бактериями и инъецируется в клетки-мишени с помощью системы секреции III типа. Далее этот белок встраивается в мембрану клетки макроорганизма. Прочная адгезия приводит к сглаживанию поверхности клетки из-за аккумуляции филаментозного актина в зоне цитоплазмы, прилегающей к месту первичной адгезии бактерий.

Адгезия возбудителя чумы является важным фактором в развитии болезни. В процессе эволюционного развития *Y. pestis* утратил адгезины YadA и Inv, присутствующие у энтеропатогенных иерсиний. В то же время представленные литературные данные свидетельствуют о том, что возбудитель чумы обладает комплексом белков, обеспечивающим ему адгезию к клеткам-мишеням в организме млекопитающих. К наиболее изученным адгезинам *Y. pestis* относятся белки Ail и рН6 антиген. Установлена их генетическая детерминированность, структура, участие на разных этапах патогенетического процесса. В последние годы выявлен ряд новых факторов адгезии возбудителя, к которым относятся, в первую очередь, аутотранспортные белки различных классов. Влияние их на патогенез изучено недостаточно. Развитие современных технологий, доступность нуклеотидных последовательностей большого числа штаммов *Y. pestis* в международных банках данных позволит выявить новые факторы патогенности, обладающих адгезивной функцией.

Конфликт интересов. Автор подтверждает отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

Список литературы

1. Водопьянов С.О., Мишанькин Б.Н. Пили адгезии у *Yersinia pestis*. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 1985; 6:13–7.
2. Евсеева В.В., Платонов М.Е., Копылов П.Х., Дентовская С.В., Анисимов А.П. Активатор плазминогена чумного микроба. Инфекция и иммунитет. 2015; 5(1):27–36. DOI: 10.15789/2220-7619-2015-1-27-36.
3. Ерошенко Г.А., Одинокоев Г.Н., Куклева Л.М., Краснов Я.М., Кутырев В.В. Сравнительный анализ нуклеотидной последовательности генов *yadA*, *inv* и *ail* и их экспрессия в штаммах *Yersinia pestis* основного и неосновных подвидов и *Yersinia pseudotuberculosis*. Генетика. 2010; 46(6):734–41.
4. Куклева Л.М., Бойко А.В. Активатор плазминогена – многофункциональный белок возбудителя чумы. Проблемы особо опасных инфекций. 2016; 3:13–20. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-3-13-20.
5. Anisimov A.V., Dentovskaya S.V., Titareva G.M., Bakhteeva I.V., Shaikhutdinova R.Z., Balakhonov S.V., Lindner B., Kocharova N.A., Senchenkova S.N., Holst O., Pier G.B., Knirel Yu.A. Intraspecies and Temperature-Dependent Variations in Susceptibility of *Yersinia pestis* to the Bactericidal Action of Serum and to Polymyxin B. Infect. Immun. 2005; 73(11):7324–31 DOI:10.1128/IAI.73.11.7324-7331.2005.
6. Bartra S.S., Styer K.L., O'Bryant D.M., Nilles M.L., Hinnebusch B.J., Aballay A., Plano G. Resistance of *Yersinia pestis* to complement-dependent killing is mediated by the Ail outer membrane protein. Infect. Immun. 2008; 76(2):612–22. DOI:10.1128/IAI.01125-07.
7. Bartra S.S., Ding Y., Miya Fujimoto L., Ring J.G., Jain V., Ram S., Marassi F.M., Plano G.V. *Yersinia pestis* uses the Ail outer membrane protein to recruit vitronectin. Microbiology. 2015; 161(11):2174–83. DOI: 10.1099/mic.0.000179.
8. Bertherat E., Plague around the world, 2010–2015. Weekly epidemiological record. 2016; 91(8):89–104.
9. Cathelyn, J.S., Crosby S.D., Latham W.W., Goldman W.E., Miller V.L. RovA, a global regulator of *Yersinia pestis*, specifically required for bubonic plague. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2006; 103(36):13514–9. DOI:10.1073/pnas.0603456103.
10. Chauhan N., Wrobel A., Skurnik M., Leo J.C. *Yersinia* adhesins: an arsenal for infection. Proteomics Clin. Appl. 2016; 10(9–10):949–963. DOI: 10.1002/prca.201600012.
11. Chauvaux S., Rosso M.L., Frangeul L., Lacroix C., Labarre L., Schiavo A., Marceau M., Dillies M.A., Foulon J., Coppée J.Y., Médigue C., Simonet M., Carniel E. Transcriptome analysis of *Yersinia pestis* in human plasma: an approach for discovering bacterial genes involved in septicemic plague. Microbiology. 2007; 153(Pt.9):3112–24. DOI: 10.1099/mic.0.2007/006213-0.
12. Chauvaux S., Dillies M.A., Marceau M., Rosso M.L., Rousseau S., Moszer I., Simonet M., Carniel E. In silico comparison of *Yersinia pestis* and *Yersinia pseudotuberculosis* transcriptomes reveals a higher expression level of crucial virulence determinants in the plague bacillus. Intern. J. Med. Microbiol. 2011; 301(2):105–16. DOI:10.1016/j.ijmm.2010.08.013.
13. Deng W., Burland V., Plunkett G., Boutin A., Mayhew G.F., Liss P., Perna N.T., Rose D.J., Mau B., Zhou S., Schwartz D.C., Fetherston J.D., Lindler L.E., Brubaker R.R., Plano G.V., Straley S.C., McDonough K.A., Nilles M.L., Matson J.S., Blattner F.R., Perry R.D. Genome sequence of *Yersinia pestis* KIM. J. Bacteriol. 2002; 184(16):4601–11. DOI: 10.1128/JB.184.16.4601-4611.2002.
14. Felek S., Lawrenz M.B., Krukons E.S. The *Yersinia pestis* autotransporter YapC mediates host cell binding, autoaggregation and biofilm formation. Microbiology. 2008; 154(Pt.6):1802–12. DOI: 10.1099/mic.0.2007/010918-0.
15. Felek S., Tsang T.M., Krukons E.S. Three *Yersinia pestis* adhesins facilitate Yop delivery to eukaryotic cells and contribute to plague virulence. Infect. Immun. 2010; 78(10):4134–50. DOI:10.1128/IAI.00167-10.
16. Felek S., Jeong J.J., Runco L.M., Murray S., Thanassi D.G., Krukons E.S. Contributions of chaperone/usher systems to cell binding, biofilm formation, and *Yersinia pestis* virulence. Microbiology. 2011; 157(Pt.3):805–18. DOI: 10.1099/mic.0.044826-0.
17. Forman S., Wulff C.R., Myers-Morales T., Cowan C., Perry R.D., Straley S.C. *yadBC* of *Yersinia pestis*, a new virulence determinant for bubonic plague. Infect. Immun. 2008; 76(2):578–87 DOI:10.1128/IAI.00219-07.
18. Galvan E.M., Chen H., Schifferli D.M. The Psa fimbriae of *Yersinia pestis* interact with phosphatidylcholine on alveolar epithelial cells and pulmonary surfactant. Infect. Immun. 2007; 75(3):1272–79. DOI:10.1128/IAI.01153-06.
19. Hinnebusch B.J., Jarrett C.O., Callison J.A., Gardner D., Buchanan S.K., Plano G.V. Role of the *Yersinia pestis* Ail protein in preventing a protective polymorphonuclear leukocyte response during bubonic plague. Infect. Immun. 2011; 79(12):4984–89. DOI:10.1128/IAI.05307-11.
20. Huang X.Z., Lindler L.E. The pH6 antigen is an antiphagocytic factor produced by *Yersinia pestis* independent of *Yersinia* outer proteins and capsule antigen. Infect. Immun. 2004; 72(12):7212–19. DOI:10.1128/IAI.72.12.7212-7219.2004.
21. Kolodziejek A.M., Schnider D.R., Rohde H.N., Wojtowicz A.J., Bohach G.A., Minnich S.A., Hovde C.J. Outer membrane protein X (Ail) contributes to *Yersinia pestis* virulence in pneumonic plague and its activity is dependent on the lipopolysaccharide core length. Infect. Immun. 2010; 78(12):5233–43. DOI:10.1128/IAI.00783-10.
22. Kolodziejek A.M., Hovde C.J., Minnich S.A., *Yersinia pestis* Ail: multiple roles of a single protein. Front. Cell. Infect. Microbiol. 2012; 2(103):1–10. DOI: 10.3389/fcimb.2012.00103.
23. Lane M., Lenz J.D., Miller V.L. Proteolytic processing of the *Yersinia pestis* YapG autotransporter by the omptin protease Pla and the contribution of YapG to murine plague pathogenesis. J. Med. Microbiol. 2013; 62(Pt8):1124–34. DOI: 10.1099/jmm.0.056275-0.
24. Lawrenz M.B., Lenz J.D., Miller V.L. A Novel Autotransporter Adhesin is Required for Efficient Colonization during Bubonic Plague. Infect. Immun. 2009; 77(1):317–26. DOI:10.1128/IAI.01206-08.
25. Lawrenz M.B., Pennington J., Miller V.L. Acquisition of omptin reveals cryptic virulence function of autotransporter YapE in *Yersinia pestis*. Mol. Microbiol. 2013; 89(2):276–87. DOI:10.1111/mmi.12273.
26. Lenz J.D., Lawrenz M.B., Cotter D.G., Lane M.C., Gonzalez R.J., Palacios M., Miller V.L. Expression during host infection and localization of *Yersinia pestis* autotransporter proteins. J. Bacteriol. 2011; 193(21):5936–49. DOI:10.1128/JB.05877-11.
27. Lenz J.D., Temple B., Miller V.L. Evolution and virulence contributions of the autotransporter proteins YapJ and YapK of *Yersinia pestis* CO92 and their homologs in *Y. pseudotuberculosis* IP32953. Infect. Immun. 2012; 80(10):3693–705. DOI:10.1128/IAI.00529-12.
28. Leo J.C., Grin I., Linke D. Type V secretion: mechanism(s) of autotransport through the bacterial outer membrane. Phil. Trans. R. Soc. B. Biol. Sci. 2012; 367(1592):1088–101. DOI:10.1098/rstb.2011.0208.
29. Leo J.C., Oberhettinger P., Schütz M., Linke D. The inverse autotransporter family: intimin, invasins and related proteins. Int. J. Med. Microbiol. 2015; 305(2):276–82. DOI: 10.1016/j.ijmm.2014.12.011.
30. Leo J.C., Oberhettinger P., Chaubey M., Schütz M., Kühner D., Bertsche U., Schwarz H., Götz F., Autenrieth I.B., Coles M., Linke D. The intimin periplasmic domain mediates dimerisation and binding to peptidoglycan. Mol. Microbiol. 2015; 95(1):80–100. DOI: 10.1111/mmi.12840.
31. Lindler L.E., Klempner M.S., Straley S.C. *Yersinia pestis* pH6 antigen: genetic, biochemical, and virulence characterization of a protein involved in the pathogenesis of bubonic plague. Infect. Immun. 1990; 58(8):2569–77.
32. Lindler L., Tall B. *Yersinia pestis* pH6 antigen forms fimbriae and is induced by intracellular association with macrophages.

Mol. Microbiol. 1993; 8(2):311–24.

33. Liu F., Chen H., Galvan E.M., Lasaro M.A., Schifferli D.M. Effects of Psa and Fl on the adhesive and invasive interactions of *Yersinia pestis* with human respiratory tract epithelial cells. *Infect. Immun.* 2006; 74(10):5636–44. DOI: 10.1128/IAI.00612-06.

34. Liu H., Wang H., Qiu J., Wang X., Guo Z., Qiu Y., Zhou D., Han Y., Du Z., Li C., Song Y., Yang R. Transcriptional profiling of a mice plague model: insights into interaction between *Yersinia pestis* and its host. *J. Basic. Microbiol.* 2009; 49(1):92–9. DOI: 10.1002/jobm.200800027.

35. Lobo L.A. Adhesive properties of the purified plasminogen activator Pla of *Yersinia pestis*. *FEMS Microbiol. Lett.* 2006; 262(2):158–62. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2006.00382.x.

36. Makoveichuk E., Cherepanov P., Lundberg S., Forsberg A., Olivecrona G. pH6 antigen of *Yersinia pestis* interacts with plasma lipoproteins and cell membranes. *J. Lipid. Res.* 2003; 44(2):320–30. DOI: 10.1194/jlr.M200182-JLR200.

37. Mikula K.M., Kolodziejczyk R., Goldman A. *Yersinia* infection tools – characterization of structure and function of adhesions. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2013; 2(169):1–14. DOI: 10.3389/fcimb.2012.00169.

38. Nair M.K., De Masi L., Yue M., Galván E.M., Chen H., Wang F., Schifferli D.M. Adhesive properties of YapV and paralogous autotransporter proteins of *Yersinia pestis*. *Infect. Immun.* 2015; 83(5):1809–19. DOI: 10.1128/IAI.00094-15.

39. Payne D., Tatham D., Williamson D.E., Titball R.W. The pH6 antigen of *Yersinia pestis* binds to b1-linked galactosyl residues in glycosphingolipids. *Infect. Immun.* 1998; 66(9):4545–8.

40. Perry R.D., Fetherston J.D. *Yersinia pestis* – etiologic agent of plague. *Clin. Microbiol. Rev.* 1997; 10(1):35–66.

41. Plesniak L.A., Mahalakshmi R., Rypien C., Yang Y., Racic J., Marassi F.M. Expression, refolding, and initial structural characterization of the *Y. pestis* Ail outer membrane protein in lipids. *Biochim. Biophys. Acta.* 2011; 1808(1):482–9. DOI: 10.1016/j.bbmem.2010.09.017.

42. Seo S.K., Kim J.W., Park J.Y., Viall A.K., Minnich S.S., Rohde H.N., Schneider D.R., Lim S.Y., Hong J.B., Hinnebusch B.J., O’Loughlin J.L., Deobald C.F., Bohach G.A., Hovde C.J., Minnich S.A. Role of a new intimin/invasin-like protein in *Yersinia pestis* virulence. *Infect. Immun.* 2012; 80(10):3559–69. DOI:10.1128/IAI.00294-12.

43. Touchman J.W., Wagner D.M., Hao J., Mastrian S.D., Shah M.K., Vogler A.J., Allender C.J., Clark E.A., Benitez D.S., Youngkin D.J., Girard D.J., Auerbach R.K., Beckstrom-Sternberg S.M., Keim P. A North American *Yersinia pestis* draft genome sequence: SNPs and phylogenetic analysis. *PLoS One.* 2007; 2(2):e220. DOI: 10.1371/journal.pone.0000220.

44. Tsang T.M., Annis D.S., Kronshage M., Fenno J.T., Usselman L.D., Mosher D.F., Krukonsis E.S. Ail protein binds ninth type III fibronectin repeat (9FNIII) within central 120-kDa region of fibronectin to facilitate cell binding by *Yersinia pestis*. *J. Biol. Chem.* 2012; 287(20):16759–67. DOI: 10.1074/jbc.M112.358978.

45. Tsang T.M., Wiese J.S., Felek S., Kronshage M., Krukonsis E.S. Ail proteins of *Yersinia pestis* and *Y. pseudotuberculosis* have different cell binding and invasion activities. *PLoS One.* 2013; 8(12):e83621. DOI: 10.1371/journal.pone.0083621.

46. Tsai J.C., Yen M.R., Castillo R., Leyton D.L., Henderson I.R., Saier M.H. Jr. The bacterial intimins and invasins: a large and novel family of secreted proteins. *PLoS One.* 2010; 5(12):e14403. DOI: 10.1371/journal.pone.0014403.

47. Uittenbogaard A.M., Myers-Morales T., Gorman A.A., Welsh E., Wulff C., Hinnebusch B.J., Korhonen T.K., Straley S.C. Temperature-dependence of yadBC phenotypes in *Yersinia pestis*. *Microbiology* 2014; 160(Pt.2):396–405. DOI: 10.1099/mic.0.073205-0.

48. Yamashita S., Lukacic P., Barnard T.J., Noinaj N., Felek S., Tsang T.M., Krukonsis E.S., Hinnebusch B.J., Buchanan S. Structural insights into Ail-mediated adhesion in *Yersinia pestis*. *Structure.* 2011; 19(11):1672–82. DOI: 10.1016/j.str.2011.08.010.

49. Yen Y.T., Karkal A., Bhattacharya M., Fernandez R.C., Stathopoulos C. Identification and characterization of autotransporter proteins of *Yersinia pestis* KIM. *Mol. Membr. Biol.*, 2007; 24(1): 28–40. DOI: 10.1080/09687860600927626.

50. Zav’yalov V.P. Fimbrial polyadhesins: anti-immune armament of *Yersinia*. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2012; 954:183–201. DOI: 10.1007/978-1-4614-3561-7_24.

References

1. Vodop’yanov S.O., Mishan’kin B.N. [Pilus of adhesion in *Yersinia pestis*]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii.* 1985; 6:13–7.

2. Evseeva V.V., Platonov M.E., Kopylov P.Kh., Dentovskaya S.V., Anisimov A.P. [Plasminogen activator of plague agent]. *Infektsiya i Immunitet.* 2015; 5(1):27–36. DOI: 10.15789/2220-7619-201501-27-36.

3. Eroshenko G.A., Odinokov G.N., Kukleva L.M., Krasnov

Ya. M., Kuttyrev V.V. [Comparative analysis of the nucleotide sequence of yadA, inv, and ail genes and their expression in *Yersinia pestis* strains of the main and non-main subspecies and *Yersinia pseudotuberculosis*]. *Genetika.* 2010; 46(6):734–41.

4. Kukleva L.M., Boiko A.V. [Plasminogen activator – multifunctional protein of plague pathogen]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections].* 2016; 3:13–20. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-3-13-20.

5. Anisimov A.V., Dentovskaya S.V., Titareva G.M., Bakhteeva I.V., Shaikhutdinova R.Z., Balakhonov S.V., Lindner B., Kocharova N.A., Senchenkova S.N., Holst O., Pier G.B., Knirel Yu.A. Intraspecies and Temperature-Dependent Variations in Susceptibility of *Yersinia pestis* to the Bactericidal Action of Serum and to Polymyxin B. *Infect. Immun.* 2005; 73(11):7324–31 DOI:10.1128/IAI.73.11.7324–7331.2005.

6. Bartra S.S., Styer K.L., O’Byrant D.M., Nilles M.L., Hinnebusch B.J., Aballay A., Plano G. Resistance of *Yersinia pestis* to complement-dependent killing is mediated by the Ail outer membrane protein. *Infect. Immun.* 2008; 76(2):612–22. DOI:10.1128/IAI.01125-07.

7. Bartra S.S., Ding Y., Miya Fujimoto L., Ring J.G., Jain V., Ram S., Marassi F.M., Plano G.V. *Yersinia pestis* uses the Ail outer membrane protein to recruit vitronectin. *Microbiology.* 2015; 161(11):2174–83. DOI: 10.1099/mic.0.000179.

8. Bertherat E., Plague around the world, 2010–2015. *Weekly epidemiological record.* 2016; 91(8):89–104.

9. Cathelyn J.S., Crosby S.D., Latham W.W., Goldman W.E., Miller V.L. RovA, a global regulator of *Yersinia pestis*, specifically required for bubonic plague. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006; 103(36):13514–9. DOI:10.1073/pnas.0603456103.

10. Chauhan N., Wrobel A., Skurnik M., Leo J.C. *Yersinia* adhesins: an arsenal for infection. *Proteomics Clin. Appl.* 2016; 10(9–10):949–963. DOI: 10.1002/prca.201600012.

11. Chauvaux S., Rosso M.L., Frangeul L., Lacroix C., Labarre L., Schiavo A., Marceau M., Dillies M.A., Foulon J., Coppée J.Y., Médigue C., Simonet M., Carniel E. Transcriptome analysis of *Yersinia pestis* in human plasma: an approach for discovering bacterial genes involved in septicemic plague. *Microbiology.* 2007; 153(Pt.9):3112–24. DOI: 10.1099/mic.0.2007/006213-0.

12. Chauvaux S., Dillies M.A., Marceau M., Rosso M.L., Rousseau S., Moszer I., Simonet M., Carniel E. In silico comparison of *Yersinia pestis* and *Yersinia pseudotuberculosis* transcriptomes reveals a higher expression level of crucial virulence determinants in the plague bacillus. *Intern. J. Med. Microbiol.* 2011; 301(2):105–16. DOI:10.1016/j.ijmm.2010.08.013.

13. Deng W., Burland V., Plunkett G., Boutin A., Mayhew G.F., Liss P., Perna N.T., Rose D.J., Mau B., Zhou S., Schwartz D.C., Fetherston J.D., Lindler L.E., Brubaker R.R., Plano G.V., Straley S.C., McDonough K.A., Nilles M.L., Matson J.S., Blattner F.R., Perry R.D. Genome sequence of *Yersinia pestis* KIM. *J. Bacteriol.* 2002; 184(16):4601–11. DOI: 10.1128/JB.184.16.4601-4611.2002.

14. Felek S., Lawrenz M.B., Krukonsis E.S. The *Yersinia pestis* autotransporter YapC mediates host cell binding, autoaggregation and biofilm formation. *Microbiology.* 2008; 154(Pt.6):1802–12. DOI: 10.1099/mic.0.2007/010918-0.

15. Felek S., Tsang T.M., Krukonsis E.S. Three *Yersinia pestis* adhesins facilitate Yop delivery to eukaryotic cells and contribute to plague virulence. *Infect. Immun.* 2010; 78(10):4134–50. DOI:10.1128/IAI.00167-10.

16. Felek S., Jeong J.J., Runco L.M., Murray S., Thanassi D.G., Krukonsis E.S. Contributions of chaperone/usher systems to cell binding, biofilm formation, and *Yersinia pestis* virulence. *Microbiology.* 2011; 157(Pt.3):805–18. DOI: 10.1099/mic.0.044826-0.

17. Forman S., Wulff C.R., Myers-Morales T., Cowan C., Perry R.D., Straley S.C. yadBC of *Yersinia pestis*, a new virulence determinant for bubonic plague. *Infect. Immun.* 2008; 76(2):578–87 DOI:10.1128/IAI.00219-07.

18. Galvan E.M., Chen H., Schifferli D.M. The Psa fimbriae of *Yersinia pestis* interact with phosphatidylcholine on alveolar epithelial cells and pulmonary surfactant. *Infect. Immun.* 2007; 75(3):1272–79. DOI:10.1128/IAI.01153-06.

19. Hinnebusch B.J., Jarrett C.O., Callison J.A., Gardner D., Buchanan S.K., Plano G.V. Role of the *Yersinia pestis* Ail protein in preventing a protective polymorphonuclear leukocyte response during bubonic plague. *Infect. Immun.* 2011; 79(12):4984–89. DOI:10.1128/IAI.05307-11.

20. Huang X.Z., Lindler L.E. The pH6 antigen is an antiphagocytic factor produced by *Yersinia pestis* independent of *Yersinia* outer proteins and capsule antigen. *Infect. Immun.* 2004; 72(12):7212–19. DOI: 10.1128/IAI.72.12.7212-7219.2004.

21. Kolodziejek A.M., Schneider D.R., Rohde H.N., Wojtowicz A.J., Bohach G.A., Minnich S.A., Hovde C.J. Outer membrane protein X (Ail) contributes to *Yersinia pestis* virulence in pneumonic plague and its activity is dependent on the lipopolysaccharide core length. *Infect. Immun.* 2010; 78(12):5233–43. DOI:10.1128/IAI.00783-10.

22. Kolodziejek A.M., Hovde C.J., Minnich S.A., *Yersinia pestis* Ail: multiple roles of a single protein. *Front. Cell. Infect.*

- Microbiol.* 2012; 2(103):1–10. DOI: 10.3389/fcimb.2012.00103.
23. Lane M., Lenz J.D., Miller V.L. Proteolytic processing of the *Yersinia pestis* YapG autotransporter by the optmin protease Pla and the contribution of YapG to murine plague pathogenesis. *J. Med. Microbiol.* 2013; 62(Pt8):1124–34. DOI: 10.1099/jmm.0.056275-0.
24. Lawrenz M.B., Lenz J.D., Miller V.L. A Novel Autotransporter Adhesin is Required for Efficient Colonization during Bubonic Plague. *Infect. Immun.* 2009; 77(1):317–26. DOI:10.1128/IAI.01206-08.
25. Lawrenz M.B., Pennington J., Miller V.L. Acquisition of optmin reveals cryptic virulence function of autotransporter YapE in *Yersinia pestis*. *Mol. Microbiol.* 2013; 89(2):276–87. DOI:10.1111/mmi.12273.
26. Lenz J.D., Lawrenz M.B., Cotter D.G., Lane M.C., Gonzalez R.J., Palacios M., Miller V.L. Expression during host infection and localization of *Yersinia pestis* autotransporter proteins. *J. Bacteriol.* 2011; 193(21):5936–49. DOI:10.1128/JB.05877-11.
27. Lenz J.D., Temple B., Miller V.L. Evolution and virulence contributions of the autotransporter proteins YapJ and YapK of *Yersinia pestis* CO92 and their homologs in *Y. pseudotuberculosis* IP32953. *Infect. Immun.* 2012; 80(10):3693–705. DOI:10.1128/IAI.00529-12.
28. Leo J.C., Grin I., Linke D. Type V secretion: mechanism(s) of autotransport through the bacterial outer membrane. *Phil. Trans. R. Soc. B. Biol. Sci.* 2012; 367(1592):1088–101. DOI:10.1098/rstb.2011.0208.
29. Leo J.C., Oberhettinger P., Schütz M., Linke D. The inverse autotransporter family: intimin, invasins and related proteins. *Int. J. Med. Microbiol.* 2015; 305(2):276–82. DOI: 10.1016/j.ijmm.2014.12.011.
30. Leo J.C., Oberhettinger P., Chaubey M., Schütz M., Kühner D., Bertsche U., Schwarz H., Götz F., Autenrieth I.B., Coles M., Linke D. The intimin periplasmic domain mediates dimerisation and binding to peptidoglycan. *Mol. Microbiol.* 2015; 95(1):80–100. DOI: 10.1111/mmi.12840.
31. Lindler L.E., Klempner M.S., Straley S.C. *Yersinia pestis* pH6 antigen: genetic, biochemical, and virulence characterization of a protein involved in the pathogenesis of bubonic plague. *Infect. Immun.* 1990; 58(8):2569–77.
32. Lindler L., Tall B. *Yersinia pestis* pH6 antigen forms fimbriae and is induced by intracellular association with macrophages. *Mol. Microbiol.* 1993; 8(2):311–24.
33. Liu F., Chen H., Galvan E.M., Lasaro M.A., Schifferli D.M. Effects of Psa and F1 on the adhesive and invasive interactions of *Yersinia pestis* with human respiratory tract epithelial cells. *Infect. Immun.* 2006; 74(10):5636–44. DOI: 10.1128/IAI.00612-06.
34. Liu H., Wang H., Qiu J., Wang X., Guo Z., Qiu Y., Zhou D., Han Y., Du Z., Li C., Song Y., Yang R. Transcriptional profiling of a mice plague model: insights into interaction between *Yersinia pestis* and its host. *J. Basic. Microbiol.* 2009; 49(1):92–9. DOI: 10.1002/jobm.200800027.
35. Lobo L.A. Adhesive properties of the purified plasminogen activator Pla of *Yersinia pestis*. *FEMS Microbiol. Lett.* 2006; 262(2):158–62. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2006.00382.x.
36. Makoveichuk E., Cherepanov P., Lundberg S., Forsberg A., Olivecrona G. pH6 antigen of *Yersinia pestis* interacts with plasma lipoproteins and cell membranes. *J. Lipid. Res.* 2003; 44(2):320–30. DOI: 10.1194/jlr.M200182-JLR200.
37. Mikula K.M., Kolodziejczyk R., Goldman A. *Yersinia* infection tools – characterization of structure and function of adhesions. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2013; 2(169):1–14. DOI: 10.3389/fcimb.2012.00169.
38. Nair M.K., De Masi L., Yue M., Galván E.M., Chen H., Wang F., Schifferli D.M. Adhesive properties of YapV and paralogous autotransporter proteins of *Yersinia pestis*. *Infect. Immun.* 2015; 83(5):1809–19. DOI: 10.1128/IAI.00094-15.
39. Payne D., Tatham D., Williamson D.E., Titball R.W. The pH6 antigen of *Yersinia pestis* binds to b1-linked galactosyl residues in glycosphingolipids. *Infect. Immun.* 1998; 66(9):4545–8.
40. Perry R.D., Fetherston J.D. *Yersinia pestis* – etiologic agent of plague. *Clin. Microbiol. Rev.* 1997; 10(1):35–66.
41. Plesniak L.A., Mahalakshmi R., Rypien C., Yang Y., Racic J., Marassi F.M. Expression, refolding, and initial structural characterization of the *Y. pestis* Ail outer membrane protein in lipids. *Biochim. Biophys. Acta.* 2011; 1808(1):482–9. DOI: 10.1016/j.bbmem.2010.09.017.
42. Seo S.K., Kim J.W., Park J.Y., Viall A.K., Minnich S.S., Rohde H.N., Schneider D.R., Lim S.Y., Hong J.B., Hinnebusch B.J., O’Loughlin J.L., Deobald C.F., Bohach G.A., Hovde C.J., Minnich S.A. Role of a new intimin/invasin-like protein in *Yersinia pestis* virulence. *Infect. Immun.* 2012; 80(10):3559–69. DOI:10.1128/IAI.00294-12.
43. Touchman J.W., Wagner D.M., Hao J., Mastrian S.D., Shah M.K., Vogler A.J., Allender C.J., Clark E.A., Benitez D.S., Youngkin D.J., Girard D.J., Auerbach R.K., Beckstrom-Sternberg S.M., Keim P. A North American *Yersinia pestis* draft genome sequence: SNPs and phylogenetic analysis. *PLoS One.* 2007; 2(2):e220. DOI: 10.1371/journal.pone.0000220.
44. Tsang T.M., Annis D.S., Kronshage M., Fenno J.T., Usselman L.D., Mosher D.F., Krukoni E.S. Ail protein binds ninth type III fibronectin repeat (9FNIII) within central 120-kDa region of fibronectin to facilitate cell binding by *Yersinia pestis*. *J. Biol. Chem.* 2012; 287(20):16759–67. DOI: 10.1074/jbc.M112.358978.
45. Tsang T.M., Wiese J.S., Felek S., Kronshage M., Krukoni E.S. Ail proteins of *Yersinia pestis* and *Y. pseudotuberculosis* have different cell binding and invasion activities. *PLoS One.* 2013; 8(12):e83621. DOI: 10.1371/journal.pone.0083621.
46. Tsai J.C., Yen M.R., Castillo R., Leyton D.L., Henderson I.R., Saier M.H. Jr. The bacterial intimins and invasins: a large and novel family of secreted proteins. *PLoS One.* 2010; 5(12):e14403. DOI: 10.1371/journal.pone.0014403.
47. Uittenbogaard A.M., Myers-Morales T., Gorman A.A., Welsh E., Wulff C., Hinnebusch B.J., Korhonen T.K., Straley S.C. Temperature-dependence of vadBC phenotypes in *Yersinia pestis*. *Microbiology* 2014; 160(Pt.2):396–405. DOI: 10.1099/mic.0.073205-0.
48. Yamashita S., Lukacik P., Barnard T.J., Noinaj N., Felek S., Tsang T.M., Krukoni E.S., Hinnebusch B.J., Buchanan S. Structural insights into Ail-mediated adhesion in *Yersinia pestis*. *Structure.* 2011; 19(11):1672–82. DOI: 10.1016/j.str.2011.08.010.
49. Yen Y.T., Karkal A., Bhattacharya M., Fernandez R.C., Stathopoulos C. Identification and characterization of autotransporter proteins of *Yersinia pestis* KIM. *Mol. Membr. Biol.* 2007; 24(1):28–40. DOI: 10.1080/09687860600927626.
50. Zav’yalov V.P. Fimbrial polyadhesins: anti-immune armament of *Yersinia*. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2012; 954:183–201. DOI: 10.1007/978-1-4614-3561-7_24.

Authors:

Kukleva L.M. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrap@microbe.ru.

Об авторах:

Куклева Л.М. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrap@microbe.ru.

Поступила 18.04.18.

Отправлена на доработку 26.04.18.

Принята к публ. 16.05.18.