

Е.П.Соколова, В.П.Зюзина, Г.В.Демидова, О.Н.Подладчикова, В.А.Рыкова, В.И.Тынянова

РОЛЬ РЕЗИДЕНТНЫХ ПЛАЗМИД pMT1, pCD1 И pPCP1 *YERSINIA PESTIS* В ОБРАЗОВАНИИ ЭКСТРАЦЕЛЛЮЛЯРНОЙ ФОРМЫ ЛИПОПОЛИСАХАРИДА

ФКУЗ «Ростовский-на Дону научно-исследовательский противочумный институт», Ростов-на-Дону, Российская Федерация

Целью работы является изучение роли резидентных плазмид pMT1, pCD1 и pPCP1 в образовании экстрацеллюлярной формы липополисахарида (ЛПС) *Yersinia pestis*. **Материалы и методы.** Работа выполнена на штамме *Y. pestis* EV76 (pMT1, pCD1 и pPCP1), содержащем полный набор плазмид, бесплазмидном варианте *Y. pestis* EV76 (pMT1⁻, pCD1⁻, pPCP1⁻) и изогенных клонах, содержащих одну плазмиду: *Y. pestis* EV76 (pMT1), *Y. pestis* EV76 (pCD1), *Y. pestis* EV76 (pPCP1). О присутствии внеклеточной формы ЛПС в среде икубации клеток *Y. pestis* EV76 судили по токсичности супернатантов для биопробных животных и по реакции LAL-теста. **Результаты и выводы.** Установлено, что экстрацеллюлярную форму ЛПС образуют 37-градусные культуры *Y. pestis* EV76 полноценного штамма и вариантов, содержащих pMT1 или pCD1 плазмиды. Культуры, лишённые плазмид, и вариант, содержащий плазмиду pPCP1, такой способностью не обладают. По результатам LAL-теста процесс отделения ЛПС от мембраны клеточной стенки во внешнюю среду сопряжен с транслокацией белков, кодируемых плазмидами pMT1 и pCD1, и является естественной формой жизнедеятельности клеток чумного микроба. Участие плазмиды pCD1 в реализации токсического потенциала ЛПС *Y. pestis* установлено впервые.

Ключевые слова: *Yersinia pestis*, плазмиды, экстрацеллюлярная форма липополисахарида, токсигенность.

Корреспондирующий автор: Соколова Елена Павловна, e-mail: plague@aaanet.ru.

E.P.Sokolova, V.P.Zyuzina, G.V.Demidova, O.N.Podladchikova, V.A.Rykova, V.I.Tynyanova

The Role of *Yersinia pestis* Resident Plasmids pMT1, pCD1, and pPCP1 in the Production of Lipopolysaccharide Extracellular Form

Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation

Objective of the study is to investigate the role of resident plasmids pMT1, pCD1, and pPCP1 in the production of extracellular form of *Yersinia pestis* lipopolysaccharide (LPS). **Materials and methods.** The experiments have been performed using *Y. pestis* strain EV76 (pMT1, pCD1, pPCP1), carrying the whole plasmid set, as well as plasmid-free *Y. pestis* variant EV76 (pMT1⁻, pCD1⁻, pPCP1⁻), and isogenic clones, harbouring only one plasmid: *Y. pestis* EV76 (pMT1); *Y. pestis* EV76 (pCD1); *Y. pestis* EV76 (pPCP1). The presence of extracellular LPS in the incubation medium of *Y. pestis* EV76 cells has been confirmed by supernatant toxicity for laboratory animals and also by LAL-test reaction. **Results and conclusions.** It has been established that LPS extracellular form is produced by 37 °C *Y. pestis* EV76 cultures of the initial strain and its variants, carrying pMT1 or pPCP1 plasmid. Plasmid-free cultures and variant harbouring pPCP1 plasmid are deprived of such ability. The results of LAL-test has shown that the process of LPS separation from cell wall membrane into the environment is associated with translocation of proteins encoded by pMT1 and pCD1 plasmids and constitutes a natural form of existence of *Y. pestis* cells. The involvement of pCD1 plasmid in realization of the toxic potential of *Y. pestis* LPS has been established for the first time ever.

Key words: *Yersinia pestis*, plasmids, LPS extracellular form, toxigenicity.

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

Corresponding author: Elena P. Sokolova, e-mail: plague@aaanet.ru.

Citation: Sokolova E.P., Zyuzina V.P., Demidova G.V., Podladchikova O.N., Rykova V.A., Tynyanova V.I. The Role of *Yersinia pestis* Resident Plasmids pMT1, pCD1, and pPCP1 in the Production of Lipopolysaccharide Extracellular Form. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2017; 3:85–89. (In Russ.). DOI: 10.21055/0370-1069-2017-3-85-89.

Известно, что структурный компонент клеточной стенки грамотрицательных бактерий – липополисахарид (ЛПС) – является основным патогенетическим фактором чумного микроба [1, 11, 12]. ЛПС относится к биологически активным веществам опосредованного действия. Для проявления его токсических свойств необходимо отделение ЛПС от внешней мембраны бактерий и представление рецепторам иммунокомпетентных клеток макроорганизма в свободной функционально-активной форме [11]. По современным представлениям источником свободной формы ЛПС в условиях макроорганизма являются не разрушенные, а живые бактерии, способные выделять ЛПС во внешнюю среду, подобно секре-

ции экзотоксинов белковой природы. Примером может служить возбудитель *Klebsiella pneumoniae* [13]. Вирулентные штаммы этого патогена продуцируют экстрацеллюлярный комплекс капсульного вещества, в состав которого входит токсический компонент – ЛПС. Формирование этого комплекса происходит на всех фазах роста бактерий и является естественным продуктом их жизнедеятельности. Что касается возбудителя чумы, известно, что большинство факторов, определяющих его вирулентные свойства, кодируется тремя резидентными плазмидами – pMT1, pCD1 и pPCP1 [2, 4, 9]. Как правило, это белки, которые экспонируются на поверхности мембраны бактерий или же секретируются за ее пределы. Так, плазмиды pCD1

кодирует белки системы секреции III типа (T3SS) и эффекторные белки – Yops [9]. Плазмида пестициногенности рPCP1 уникальна для чумного микроба, содержит *pla* и *pst* гены. Бактериоцинопестицин секретируется во внешнюю среду, а протеаза Pla локализуется на внешней мембране клеток чумного микроба, и ее активность регулируется высоко-температурным ЛПС [4]. Плазмида рMT1 кодирует два важных видоспецифических белка – фракцию I (Caf1) и мышинный токсин (Ymt, MT). Фракция I формирует на поверхности микроба капсулу, которая не имеет жесткой связи с поверхностными структурами клетки, легко отделяется от них и диффундирует во внешнюю среду [2, 5]. Примечательно, что в состав капсульного вещества входят две токсические субстанции *Y. pestis* – Ymt и ЛПС [8]. Логично было предположить, что токсигенность вирулентных штаммов *Y. pestis*, как и способность клетки вырабатывать и выделять за ее пределы эндотоксин, может быть связана с активностью резидентных плазмид чумного микроба.

Для проверки этого предположения мы сравнили токсические свойства полноценного штамма *Y. pestis* EV76, содержащего весь набор плазмид (рMT1, рCD1, рPCP1), с его бесплазмидным вариантом. О присутствии функционально активной формы ЛПС судили по токсичности для биопробных животных супернатантов клеток, полученных в условиях, описанных нами ранее [3]. Выбор *Y. pestis* EV76 для проведения исследования объясняется биологическими особенностями этого штамма. Клетки *Y. pestis* EV76 не вызывают гибели животных при внутрибрюшинном введении их белым мышам в количестве $1 \cdot 10^8$ м.к. на мыш. В то же время, при внутривенном введении или же под воздействием биологически активного вещества (БАВ), присутствующего в эритроцитах крови и паренхиматозных органах млекопитающих, бактерии штамма *Y. pestis* EV76 способны вызывать инфекционный процесс, подобно вирулентным штаммам чумного микроба [6, 14, 15]. В дальнейших исследованиях выяснили, что БАВ изменяет конформацию молекул ЛПС, входящих в состав капсульной субстанции бактерий, и способствует переводу ЛПС из биологически инертной в токсически активную форму [8]. Процесс трансформации токсических свойств ЛПС чумного микроба в этих условиях валиден процессу, происходящему *in vivo* при инфекционно-токсическом шоке. Эту модель мы использовали для детекции ЛПС в среде инкубации бактерий *Y. pestis* EV76. Экспериментально установлено, что клетки *Y. pestis* EV76, содержащие полноценный набор плазмид, образуют экстрацеллюлярную форму ЛПС, а бесплазмидные варианты такой способностью не обладают. Функциональная взаимосвязь между плазмидами и активностью эндотоксина чумного микроба описана впервые [3].

Данная работа является продолжением ранее начатых исследований. Цель ее заключается в изучении роли резидентных плазмид в образовании экстрацел-

люлярной формы ЛПС *Y. pestis*. Для тестирования свободной формы ЛПС в среде инкубации бактерий использован LAL-тест, который широко применяется для выявления эндотоксина грамотрицательных бактерий в лекарственных препаратах и биологических жидкостях [7]. Он характеризуется высокой чувствительностью и специфичностью. Минимальное количество ЛПС, катализирующее переход белков гемолимфы *Limulus polyphemus* в гелеобразное состояние, составляет 0,125 EU/ml. Впервые LAL-тест был включен в фармакопею США в 1985 г.

Материалы и методы

Объектом исследования служил штамм *Y. pestis* EV76 (рMT1, рCD1, рPCP1). Из него получены бесплазмидный вариант (рMT1⁻, рCD1⁻, рPCP1⁻), а также клоны с одной плазмидой: *Y. pestis* EV76 (рMT1), *Y. pestis* EV76 (рCD1), *Y. pestis* EV76 (рPCP1). Отсутствие интеграции плазмид с хромосомной ДНК подтверждено методом ПЦР с праймерами, комплементарными плазмидным генам *caf1* (плазмида рMT1), *lcrV* (плазмида рCD1) и *pla* (плазмида рPCP1). Бесплазмидный вариант штамма *Y. pestis* EV76 депонирован в Государственной коллекции патогенных бактерий под № КМ1279 (ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», Саратов).

Для тестирования ЛПС в исследуемых препаратах использовали два методических приема – модель инфекционно-токсического шока (биопробные животные) и LAL-тест. При использовании модели биопробных животных бактерии штамма *Y. pestis* EV76 и его изогенных вариантов с различным набором плазмид выращивали на питательной среде LB (Difco, США) в течение 18 ч при 37 °С. Для перевода ЛПС в токсически активную форму в гемолизованные эритроциты крови человека вносили взвесь бактерий *Y. pestis* EV76 до конечной концентрации $1-5 \cdot 10^{10}$ м.к./мл и инкубировали 3 ч при 37 °С. Затем клетки осаждали центрифугированием (10 мин при 8000 об./мин), а супернатант вводили внутрибрюшинно белым мышам в объеме 0,1 мл. О присутствии ЛПС в супернатантах судили по гибели животных в течение первых двух суток наблюдения. Каждая группа содержала 10 мышей. Количество погибших животных выражали в процентах. В тексте приведены крайние значения количества павших животных в процентах из 4–6 независимых определений. Эксперименты на животных проводили в соответствии с «Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986 г.), согласно «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ МЗ СССР № 755 от 12.08.1987 г.), Федеральному закону о защите животных от жестокого обращения от 01.01.1997 г. и приказу МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 г.

В экспериментах с LAL-тестом (набор E-TOXATE Sigma, США) культуры штамма *Y. pestis* EV76 и его изогенных вариантов с различным набором

ром плазмид также выращивали на питательной среде LB (Difco, США) в течение 18 ч при 37 °С. Взвесь бактерий концентрацией $1-5 \cdot 10^{10}$ м.к./мл готовили на апиrogenном (фармакопейном) физиологическом растворе NaCl и инкубировали 3 ч при 37 °С. Затем клетки осаждали центрифугированием в течение 10 мин при 8000 об./мин. В полученных супернатантах тестировали ЛПС с помощью LAL-теста в соответствии с прилагаемой инструкцией.

Результаты и обсуждение

Результаты сравнительного исследования токсических свойств *Y. pestis* EV76, содержащих и не содержащих плазмиды pMT1, pCD1 и pPCP1, представлены в табл. 1. Как следует из приведенных данных, оба теста регистрируют ЛПС в супернатантах клеток *Y. pestis*, имеющих полноценный набор плазмид. О присутствии ЛПС на модели инфекционно-токсического шока свидетельствует 80–100 % гибель биопробных животных в течение первых двух суток наблюдения. Ферментативный LAL-тест регистрирует в супернатантах активность ЛПС, равную 32,05 EU/ml. В то же время супернатанты бесплазмидного варианта *Y. pestis* EV76 не токсичны для белых мышей и в LAL-тесте с этими пробами они также дают отрицательный результат. На модели биопробных животных столь же четкие различия токсических свойств выявлены между живыми и убитыми кипячением в течение 30 мин клетками полноценного штамма *Y. pestis* EV76. Среда инкубации живых бактерий токсична для белых мышей, а супернатанты, полученные после инкубации убитых клеток, токсическим эффектом не обладают. В этих же условиях при использовании LAL-теста получены неожиданные результаты: супернатанты как живых, так и убитых клеток *Y. pestis* EV76 давали положительную реакцию на ЛПС. Причин нивелирова-

ния различий могло быть несколько. Возможно, при кипячении взвеси бактерий часть микробных клеток разрушается, а ЛПС в доступной для действия фермента форме выделяется в окружающую среду, что и регистрирует LAL-тест. Вторая причина положительной реакции могла быть связана с присутствием незначительного количества микробных клеток в супернатантах, которые всегда остаются после центрифугирования микробной взвеси. В опытах на животных присутствие $1 \cdot 10^2-1 \cdot 10^3$ м.к./мл штамма *Y. pestis* EV76 не искажает результаты экспериментов. Однако нельзя исключить, что LAL-тест, в отличие от модели инфекционно-токсического шока, реагирует не только со свободной формой ЛПС, но и со связанным с поверхностью клеточной стенки бактерий ЛПС. С целью проверки этого предположения выполнены следующие эксперименты. Прежде всего, из супернатантов, содержащих свободную форму ЛПС, были удалены клетки *Y. pestis* EV76. Для этого пробы фильтровали через стерильные мембранные фильтры Millex GR (0,22 μ m, «Merck» Millipore Ltd), с контрольным высевом на наличие живых клеток, а в полученных фильтратах определяли наличие ЛПС LAL-тестом и опытах на биопробных животных. Оба метода подтвердили присутствие ЛПС в бесклеточных фильтратах полноценного штамма *Y. pestis* EV76.

Для того чтобы исключить влияние разрушенных клеток, условия постановки опытов были изменены следующим образом. Взвесь клеток *Y. pestis* EV76, приготовленную на физиологическом растворе ($1 \cdot 10^{10}$ м.к./мл), осаждали центрифугированием, клетки ресуспендировали в свежем физиологическом растворе, а затем убивали кипячением в течение 30 мин, после этого инкубировали 3 ч при 37 °С, снова осаждали центрифугированием и оценивали полученный супернатант с помощью LAL-теста. Параллельно такую же схему получения супернатанта применили для живой культуры *Y. pestis* EV76. Реакция LAL-теста была положительной в обоих случаях. Можно предположить, что супернатанты живых и убитых клеток отличаются по количественному содержанию ЛПС. Однако титрование проб для определения концентрации ЛПС выявило в обоих супернатантах одинаковое количество ЛПС, равное 32,05 EU/ml.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что LAL-тест вступает в реакцию как со свободной формой ЛПС, так и с ЛПС, связанным с поверхностью клеточной стенки бактерий чумы. Результаты опытов, описанные выше, справедливы для культур, имеющих полноценный набор плазмид. В бесплазмидном варианте *Y. pestis* EV76 ЛПС не тестируется ни в свободной, ни в связанной форме. Факт различий, установленный нами в реакциях с LAL-тестом, свидетельствует о разной молекулярной организации внешней мембраны клеток полноценного и бесплазмидного вариантов *Y. pestis* EV76 не только по количественно-качественному составу белков, но и, видимо, по пространственной

Таблица 1

Тестирование экстрацеллюлярной формы ЛПС в супернатантах полноценного и бесплазмидного вариантов штамма *Y. pestis* EV76

Препараты	Методы исследования	
	LAL-тест, EU/ml	Модель инфекционно-токсического шока, %*
Супернатант <i>Y. pestis</i> EV76 (живые клетки)	32,05	80–100
Супернатант <i>Y. pestis</i> EV76 (убитые клетки)	32,05	0
Супернатант живых клеток <i>Y. pestis</i> EV76 (дважды отмытых физиологическим раствором)	32,05	80–100
Супернатант убитых клеток <i>Y. pestis</i> EV76 (дважды отмытых физиологическим раствором)	32,05	0
Фильтрат супернатанта <i>Y. pestis</i> EV76 (живые клетки)	32,05	80–100
Супернатант бесплазмидного варианта <i>Y. pestis</i> EV76 (живые клетки)	0	0
Супернатант бесплазмидного варианта <i>Y. pestis</i> EV76 (убитые клетки)	0	0

*Приведены крайние значения количества погибших животных в процентах из шести независимых определений

ориентации молекул ЛПС.

Как известно, переход белков лизата амебоцитов в гелеобразное состояние в системе LAL-теста инициируется липидом А ЛПС грамотрицательных бактерий. В клетках *Y. pestis* EV76, лишенных плазмид, стерическое расположение молекул ЛПС типично для грамотрицательных бактерий. Цепи ЛПС формируют упорядоченную структуру со строгой ориентацией полярных/неполярных полюсов полимера. При этом полисахаридная часть направлена на внешнюю сторону бактериальной клетки, а базальная зона и гликолипидная область ЛПС максимально удалены от наружной поверхности и связаны как с цитоплазматической мембраной, так и пептидогликаном клеточной стенки. При такой ориентации молекул ЛПС доступность липида А (даже в случае R-хемотипа ЛПС) для взаимодействия с белками-ферментами, расположенными за пределами бактериальной клетки, весьма ограничена.

У бактерий *Y. pestis*, имеющих стандартный набор плазмид, архитектура клеточной стенки определяется белками, кодируемыми плазмидами рMT1, рCD1 и рPCP1. В настоящее время установлено, что процесс транслокации белков на поверхность клеточной мембраны представляет собой сложную цепь последовательных реакций взаимодействия белковых и липидных молекул. Видимо, при образовании ЛПС-белкового комплекса в силу стереохимических особенностей полимеров происходит изменение пространственной ориентации молекулы ЛПС. В результате инверсии полярных/неполярных полюсов гликолипидная область ЛПС экспонируется на внешней мембране клеток и стерически становится доступной для взаимодействия с ферментативной системой LAL-теста.

Вопрос о механизме конформационной трансформации ЛПС чумного микроба при взаимодействии с белками, продуцируемыми плазмидами рMT1, рCD1 и рPCP1, может быть предметом специальных исследований. В рамках настоящей работы предпринята попытка оценить роль каждой из плазмид в реализации токсигенных свойств чумного микроба. Результаты экспериментов представлены в табл. 2. Как видно из данных, токсичность супернатантов изогенных вариантов культур *Y. pestis* EV76, содержащих различный набор плазмид, отличается друг от друга и варьирует в пределах от 0 до 100 %. Так, супернатант полноценного штамма *Y. pestis* EV76 вызывает 80–100 % гибель животных в течение первых двух суток наблюдения. После введения белым мышам супернатанта *Y. pestis* EV76 (рCD1), содержащего плазмиду кальцийзависимости, погибло от 40 до 60 % животных, вариант *Y. pestis* EV76 (рMT1) вызывал гибель 10–20 % животных. При введении супернатанта *Y. pestis* EV76 (рPCP1), содержащего только плазмиду пестициногенности, гибели животных вообще не наблюдалось. Супернатант бесплазмидного варианта *Y. pestis* EV76 (рMT1⁻, рCD1⁻, рPCP1⁻) в аналогичных условиях также не обладает

токсическими свойствами.

Данные, полученные на модели инфекционно-токсического шока, полностью совпадают с результатами экспериментов с использованием LAL-теста. Супернатанты клеток *Y. pestis* EV76, содержащих полный набор плазмид, и изогенных вариантов штамма *Y. pestis* EV76, имеющих по одной плазмиде – рCD1 или же рMT1, в LAL-тесте дают положительный результат. В супернатантах клеток штаммов *Y. pestis* EV76 с плазмидой рPCP1 и бесплазмидного варианта ЛПС не выявляется.

Установлено, что отделение ЛПС от клеточной мембраны бактерий во внешнюю среду происходит под влиянием белков, кодируемых плазмидами *Y. pestis* EV76. При этом процесс ЛПС-белковых взаимодействий является основополагающим. В зависимости от химической структуры биополимеров их соединение может изменять функциональную активность как ЛПС, так и белковой молекулы. Наиболее изучен в настоящее время комплекс высокотемпературного ЛПС с Pla белком плазмиды пестициногенности рPCP1, ассоциация которых приводит к ЛПС-зависимому фолдингу Pla. Результаты наших опытов предполагают, что химическая связь между белком Pla и ЛПС в этом комплексе осуществляется через липид А, что блокирует его функционально-активные группы.

Возможность ассоциации ЛПС с MT установлена нами ранее. В этом комплексе, в отличие от ЛПС-Pla, связь осуществляется через коровую область ЛПС, в результате чего высокотемпературный ЛПС трансформируется из неактивной в токсически активную форму [8].

Участие белков, кодируемых плазмидой рCD1, в реализации токсического потенциала ЛПС установлено нами впервые. Плазмиды кальцийзависимости рCD1, как известно, определяет синтез более 25 белков различного функционального действия (структурные белки аппарата секреции T3SS, эффекторные Yops и регуляторные) [9]. На основании имеющихся данных не представляется возможным сказать, какие

Таблица 2

Тестирование экстрацеллюлярной формы ЛПС в супернатантах изогенных вариантов штамма *Y. pestis* EV76, содержащих одну плазмиду

Препараты	Методы исследования	
	LAL-тест, EU/ml	Модель инфекционно-токсического шока*, %
Супернатант <i>Y. pestis</i> EV76 (рMT1, рCD1, рPCP1)	32,05	80–100
Супернатант <i>Y. pestis</i> EV76 (рCD1)	16,02	40–60
Супернатант <i>Y. pestis</i> EV76 (рMT1)	8,00	10–20
Супернатант <i>Y. pestis</i> EV76 (рPCP1)	0	0
Супернатант бесплазмидного варианта <i>Y. pestis</i> EV76 (рMT1 ⁻ , рCD1 ⁻ , рPCP1 ⁻)	0	0

*Приведены крайние значения количества погибших животных в процентах из четырех независимых определений

из белков взаимодействуют с ЛПС. В настоящий момент можно лишь констатировать тот факт, что белки, кодируемые рCD1, вносят максимальный вклад в активацию высокотемпературного ЛПС чумного микроба и способствуют переводу его в экстрацеллюлярную форму.

Таким образом, результаты проведенного исследования свидетельствует о том, что процесс образования экстрацеллюлярной формы ЛПС строго зависит от экспрессии генов двух плазмид *Y. pestis* – рMT1, рCD1. Полагаем, что переход ЛПС от связанного состояния к свободной форме сопряжен с транслокацией белков, кодируемых этими плазмидами, на поверхность клеточной мембраны или же во внешнюю среду. Существенная роль в реализации токсических свойств ЛПС *Y. pestis* принадлежит, на наш взгляд, капсульной субстанции чумного микроба. Как известно, капсула не имеет жесткой связи с поверхностными структурами клетки, легко отделяется от них и диффундирует во внешнюю среду. Предполагаем, что при отделении капсульного вещества от клеток все биомолекулы, находящиеся на поверхности внешней мембраны и не имеющие ковалентной связи с близлежащими полимерами, включая молекулы ЛПС, «стягиваются» вместе с капсулой в среду инкубации бактерий. Накопление ЛПС в составе капсульной субстанции происходит пропорционально росту и размножению бактерий в организме инфицированного хозяина и является центральным моментом патогенетического действия эндотоксина чумного микроба.

Дальнейшее изучение токсигенности чумного микроба позволит понять молекулярные механизмы этого процесса и степень участия в нем плазмид *Y. pestis*.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анисимов А.П. Факторы *Yersinia pestis*, обеспечивающие циркуляцию и сохранение возбудителя чумы в экосистемах природных очагов. Сообщение 1. *Мол. генет., микробиол. и вирусол.* 2002; (3):3–23.
2. Бывалов А.А., Оводов Ю.С. Иммунобиологические свойства антигенов *Yersinia pestis*. *Биоорганическая химия.* 2011; 37(4):452–63.
3. Демидова Г.В., Соколова Е.П., Зюзина В.П., Рыкова В.А., Морозова И.В., Подладчикова О.Н., Тынянова В.И. Влияние внехромосомных элементов наследственности на токсические свойства *Yersinia pestis*. *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.* 2017; 2:28–33.
4. Евсеева В.В., Платонов М.Е., Копылов П.Х., Дентовская С.В., Анисимов А.П. Активатор плазминогена чумного микроба. *Инф. и иммунитет.* 2015; 5(1):27–36.
5. Кадникова Л.А., Копылов П.Х., Дентовская С.В., Анисимов А.П. Капсульный антиген чумного микроба. *Инф. и иммунитет.* 2015; 5(3):201–18.
6. Кравцов А.Н., Тынянова В.И., Зюзина В. Повышение вирулентности бактерий *Yersinia pestis* при инкубации клеток в гемолизированных эритроцитах крови человека. *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.* 1993; 4:3–6.
7. Ситников А.Г., Травина Л.А., Багирова В.Л. ЛАЛ-тест. Современные подходы к определению пирогенности. М.; 1997. 96 с.
8. Тынянова В.И., Зюзина В.П., Демидова Г.В., Соколова Е.П. Специфичность иммуномодулирующего действия эндотоксина чумного микроба. *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммуно-*

биол. 2016; 3:104–12.

9. Dewoody R.S., Merritt P.M., Marketon M.M. Regulation of the *Yersinia* type III secretion system: traffic control. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2013; 3:4. DOI: 10.3389/fcimb.2013.00004.

10. Huang X.Z., Nicolich M.P., Linder L.E. Current trends in plague research: from genomics to virulence. *Clin. Med. Res.* 2006; 4(3):189–99. DOI: 10.3121/cmr.4.3.189.

11. Matsuura M., Takahashi H., Watanabe H., Saito S., Kawahara K. Immunomodulatory effects of *Yersinia pestis* lipopolysaccharides on human macrophage. *Clin. Vaccine Immunol.* 2010; 17(1):49–55. DOI: 10.1128/CVI.00336-09.

12. Montminy S.W., Khan N., McGrath S., Walkowicz M.J., Sharp F., Conlon J.E., Fukase K., Kusumoto S., 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. *J. Nat. Immunol.* 2006; 7(10):1066–73. DOI: 10.1038/ni1386.

13. Straus D.C., Atkisson D.L., Garner C.W. Importance of a lipopolysaccharide-containing extracellular toxic complex in infections produced by *Klebsiella pneumoniae*. *Infect. Immun.* 1985; 50(3):787–95.

14. Ue T., Brubaker R.R. Roles of V antigen in promoting virulence and immunity in yersiniae. *J. Immunol.* 1984; 133(4):2226–30.

15. Yang H., Wang T., Tian G., Zhang Q., Wu X., Xin Y., Yan Y., Tan Y., Cao S., Liu W., Cui Y., Yang R., Du Z. Host transcriptomic responses to pneumonic plague reveal that *Yersinia pestis* inhibits both the initial adaptive and innate immune responses in mice. *Int. J. Med. Microbiol.* 2017; 307(1):64–74. DOI: 10.1016/j.ijmm.2016.11.002.

References

1. Anisimov A.P. [*Yersinia pestis* factors maintaining circulation and persistence of plague agent in ecosystems of natural foci. Communication 1]. *Mol. Genet., Mikrobiol. Virusol.* 2002; (3):3–23.
2. Byvalov A.A., Ovodov Yu.S. [Immunobiological properties of *Yersinia pestis* antigens]. *Bioorganich. Khim.* 2011; 37(4):452–63.
3. Demidova G.V., Sokolova E.P., Zyuzina V.P., Rykova V.A., Morozova I.V., Podladchikova O.N., Tynyanova V.I. [The influence of extrachromosomal inheritance elements on *Yersinia pestis* toxicity]. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2017; 2:28–33.
4. Evseeva V.V., Platonov M.E., Kopylov P.Kh., Dentovskaya S.V., Anisimov A.P. [Plasminogen activator of *Yersinia pestis* microbe]. *Infek. i Immunitet.* 2015; 5(1):27–36.
5. Kadnikova L.A., Kopylov P.Kh., Dentovskaya S.V., Anisimov A.P. [Capsular antigen of *Yersinia pestis* microbe]. *Infek. i Immunitet.* 2015; 5(3):201–218.
6. Kravtsov A.N., Tynyanova V.I., Zyuzina V.P. [Increase in the virulence of *Yersinia pestis* after their incubation in hemolyzed human red blood cells]. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 1993; 4:3–6.
7. Sitnikov A.G., Travina L.A., Bagirova B.L. [LAL-test. Current approaches to determination of pyrogenicity]. М.; 1997. 96 p.
8. Tynyanova V.I., Zyuzina V.P., Demidova G.V., Sokolova E.P. [Specificity of immune-modulating effect of *Yersinia pestis* endotoxin]. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2016; 3:104–12.
9. Dewoody R.S., Merritt P.M., Marketon M.M. Regulation of the *Yersinia* type III secretion system: traffic control. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2013; 3:4. DOI: 10.3389/fcimb.2013.00004.
10. Huang X.Z., Nicolich M.P., Linder L.E. Current trends in plague research: from genomics to virulence. *Clin. Med. Res.* 2006; 4(3):189–99. DOI: 10.3121/cmr.4.3.189.
11. Matsuura M., Takahashi H., Watanabe H., Saito S., Kawahara K. Immunomodulatory effects of *Yersinia pestis* lipopolysaccharides on human macrophage. *Clin. Vaccine Immunol.* 2010; 17(1):49–55. DOI: 10.1128/CVI.00336-09.
12. Montminy S.W., Khan N., McGrath S., Walkowicz M.J., Sharp F., Conlon J.E., Fukase K., Kusumoto S., 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. *J. Nat. Immunol.* 2006; 7(10):1066–73. DOI: 10.1038/ni1386.
13. Straus D.C., Atkisson D.L., Garner C.W. Importance of a lipopolysaccharide-containing extracellular toxic complex in infections produced by *Klebsiella pneumoniae*. *Infect. Immun.* 1985; 50(3):787–95.
14. Ue T., Brubaker R.R. Roles of V antigen in promoting virulence and immunity in yersiniae. *J. Immunol.* 1984; 133(4):2226–30.
15. Yang H., Wang T., Tian G., Zhang Q., Wu X., Xin Y., Yan Y., Tan Y., Cao S., Liu W., Cui Y., Yang R., Du Z. Host transcriptomic responses to pneumonic plague reveal that *Yersinia pestis* inhibits both the initial adaptive and innate immune responses in mice. *Int. J. Med. Microbiol.* 2017; 307(1):64–74. DOI: 10.1016/j.ijmm.2016.11.002.

Authors:

Sokolova E.P., Zyuzina V.P., Demidova G.V., Podladchikova O.N., Rykova V.A., Tynyanova V.I. Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute. 117/40, M.Gor'kogo St., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation. E-mail: plague@aaanet.ru.

Об авторах:

Соколова Е.П., Зюзина В.П., Демидова Г.В., Подладчикова О.Н., Рыкова В.А., Тынянова В.И. Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 344002, Ростов-на-Дону, ул. М.Горького, 117/40. E-mail: plague@aaanet.ru.

Поступила 14.06.17.