

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЫШИНОЙ МОДЕЛИ ДЛЯ АНАЛИЗА ИММУННОГО ОТВЕТА К ИНФЕКЦИЯМ МЕТОДАМИ КЛАССИЧЕСКОЙ ГЕНЕТИКИ

А. Полторак

Tufts University, Бостон, США

Резюме. Установление и изучение многочисленных функций всех генов человека является одной из главных задач современной биологической науки. Вследствие высокой степени гомологии между мышинным и человеческим геномами, важная роль в решении этой задачи принадлежит мышинной модели, использование которой в классической генетике особенно возросло в связи с выведением различных инбредных мышинных линий. Так, например, различия в иммунном ответе к инфекциям в разных мышинных линиях были неоднократно использованы для нахождения иммунологически компетентных генов. Именно поэтому трудно переоценить вклад мышинной модели в понимание механизмов иммунного ответа к инфекциям. В данном обзоре приведены некоторые из наиболее успешных и известных примеров использования мышей в изучении противоинфекционного ответа.

Ключевые слова: геном человека, мышинная модель, иммунный ответ, инфекции.

USING OF MOUSE MODEL TO ANALYZE IMMUNE RESPONSE TO INFECTIOUS PATHOGENS BY THE METHODS OF CLASSICAL GENETICS

Poltorak A.

Abstract. Identification and studying of numerous functions of all genes of the human beings is one of the main objects of modern biological science. Due to high level of homology between mouse and human genomes the important role to reach above mentioned goal belongs to the mouse model which using in the classical genetics increase in connection with appearance of different inbred mouse lines. For instance, the differences in immune response to infectious pathogens in various mouse lines were used many times to determine immunologically competent genes. That is why the contribution of mouse model in understanding of the mechanisms of immune response to infectious pathogens is difficult to overestimate. In the current review some of the most successful and well known examples of mouse using in studies of anti-infectious response are described. (*Infekc. immun.*, 2011, vol. 1, N 4, p. 293–302)

Key words: human genome, mouse model, immune response, infections.

Введение

Генетическое разнообразие человека осложняет диагностику и лечение различных болезней у пациентов. Так, например, известно, что предрасположенность к сепсису в ходе иммунного ответа к инфекции находится под строгим генетическим контролем [61]. Более того, хорошо изучена роль полиморфизма в генах, кодирующих белки острой фазы септического шока,

таких как TNF (фактор некроза опухоли), IL-1, IL-6 [47]. Тем не менее, наличия мутантной аллели по одному из этих генов далеко недостаточно для предрасположенности к сепсису, которая значительно зависит от окружения, расовой и этнической принадлежности [60].

Осознавая проблему индивидуального разнообразия человека, основоположники мышинной генетики использовали инбридинг для выведения генетически однородных линий мы-

поступила в редакцию 15.06.2011
принята к печати 28.06.2011

© Полторак А., 2011

Адрес для переписки:

Полторак Александр Николаевич
(Alexander Poltorak), Assistant Professor
of Pathology, Graduate Program
in Immunology, Graduate Program
in Genetics, Tufts University

150 Harrison Avenue, J-512,
Boston MA USA 02111.
Tel.: (617) 636-35-96. Fax: (617) 636-29-90.
E-mail: alexander.poltorak@tufts.edu

шей, что позволило изучать экспериментальную инфекцию на строго определенном генетическом фоне [20, 45]. В то же время, наличие отличающихся друг от друга инбредных линий позволяет использовать их в генетическом анализе [50]. В результате почти вековой работы было выведено около 200 инбредных линий мышей, различающихся между собой фенотипическими характеристиками [52]. Различия в фенотипе между двумя инбредными линиями могут быть использованы в классическом генетическом анализе. В дополнение к этому, наличие полностью сивенированного и аннотированного мышинного генома, полиморфных маркеров и других информативных ресурсов способствуют развитию классической генетики в мышинной модели. В течение последних десятилетий было установлено, что многие из инбредных линий различаются по предрасположенности к бактериальным, вирусным и паразитным инфекциям и, следовательно, могут быть использованы в классическом генетическом анализе [27].

Классический генетический подход исторически определяется как прямая генетика [5]. Такой подход основан на знании фенотипа, нахождении двух инбредных линий (в случае мышинной модели), различающихся по этому фенотипу, и определении (с помощью картирования) геномного локуса, отвечающего за фенотип. На последней стадии проводят скрещивание родительских линий с целью определения ассоциации (корреляции) между фенотипом и генотипом в полученном потомстве. Альтернативными прямой генетике является метод так называемой обратной генетики [2], в соответствии с которыми сначала производится делеция (нокаут) гена с последующим изучением фенотипов, которые могли измениться в животном с нокаутным геном [16]. Таким образом, в прямой генетике по функциональному тесту (фенотип) находят ген, в то время как в обратной генетике посредством нокаута проверяют предположение о функции гена. Обратная генетика эффективна, если очевидна функция гена; в противном случае предсказать функцию сложно, особенно в отсутствие ярко проявляемого фенотипа [7]. Практическая невозможность предсказания функции многих генов накладывает серьезные ограничения на обратную генетику [67]. Более того, учитывая то, что функциональное разнообразие (число фенотипов) в природе значительно превышает число генов в млекопитающих (25 тысяч), можно заключить, что подавляющее большинство генов имеет не одну, а несколько функций, которые чрезвычайно трудно определить с помощью обратной генетики. Таким образом, поскольку определить все функции с помощью обратной генетики невозможно, классическая

генетика представляется единственным и наиболее перспективным подходом для нахождения функций генов [8]. Поэтому в этом обзоре мы ограничимся рассмотрением наиболее удачных примеров использования методов классической генетики для клонирования генов, ответственных за иммунный ответ к инфекциям.

Основные элементы картирования и позиционного клонирования

Картирование (генов) — это определение местоположения гена на участке хромосомы; в «золотые годы» молекулярного клонирования генов (80-е — 90-е гг. прошлого века), картирование широко использовалось для определения хромосомной локации генов [11, 29]. Классическая генетика не ограничивается знанием хромосомы, на которой содержится ген [72], но идет дальше по пути максимального сужения геномного интервала, пока (в идеале) там не остается только искомым ген [54]. В соответствии с принципами этого подхода сначала определяется интересующий исследователя фенотип, а также находятся две родительские (инбредные) линии, которые различаются по этому фенотипу (рис.). Затем из двух родительских линий получают гибриды первого поколения F1, которые являются 100% гетерозиготными, и по которым определяют тип наследования (рецессивный или доминантный) фенотипа. F1 гибриды скрещиваются назад по принципу бэкресс (N2) — с той родительской линией, по которой фенотип наследуется рецессивно. Вследствие мейотической рекомбинации, любой ген (включая искомым ген) в N2 животных может быть гетерозиготным или гомозиготным по одному из родителей. Полученные таким образом потомки N2 мыши фенотипируются и генотипируются по всем хромосомам с помощью полиморфных маркеров, позволяющих различать гетерозиготность от гомозиготности. Если искомым ген отвечает за фенотипическую разницу между двумя линиями, то тогда можно предположить, что гетерозиготные по этому гену N2 животные будут фенотипически близки к F1 гибридам, в то время как гомозиготные по гену животные будут похожи на родителей, к которым производился бэкресс. Если наблюдается указанная корреляция, то возможно также обнаружить корреляцию между генотипом маркера наиболее близким по позиции к гену с наблюдаемым фенотипом в N2 животных. Ассоциация между генотипом в каждой точке генома и фенотипом N2 рассчитывается с помощью компьютерной программы [44], в результате чего определяется участок на конкретной хромосоме ассоциированный с фенотипом. Сужение геномного интервала достигается за

счет увеличения количества анализируемых мышей N2 и проводится до тех пор, пока количество находящихся в интервале генов не будет минимальным. Участок генома, содержащий искомый ген и отвечающий за фенотип, называется критической областью [57, 69]. После этого проводится проверка оставшихся генов-кандидатов на функциональный тест, в результате которого определяется ген, отвечающий за фенотип. Описанный метод называется часто позиционным клонированием, потому что ген, отвечающий за функцию, находится по его местоположению (позиции) на хромосоме.

Таким образом, основными элементами классического генетического анализа является а) нахождение фенотипа, по которому две инбредные линии мышей существенно различаются; б) доказательство того, что данный фенотип

наследуется генетически; с) анализ наследуемости фенотипа (рецессивный/доминантный или кодоминантный). Исходя из фенотипа в F1 гибридах, производится представительная группа мышей и проводится картирование с целью нахождения минимального геномного интервала, содержащего искомый ген.

Клонирование ЛПС-гена

В течение долгого времени считалось что ЛПС (липополисахарид) — это составная часть бактериального эндотоксина, который был впервые изолирован из грамотрицательных бактерий и идентифицирован К. Пфайфером в начале прошлого века [59]. Он же в 1947 г. доказал, что ЛПС и эндотоксин идентичны, после чего оба термина используются как синонимы. Чувствительность к ЛПС варьирует в широком

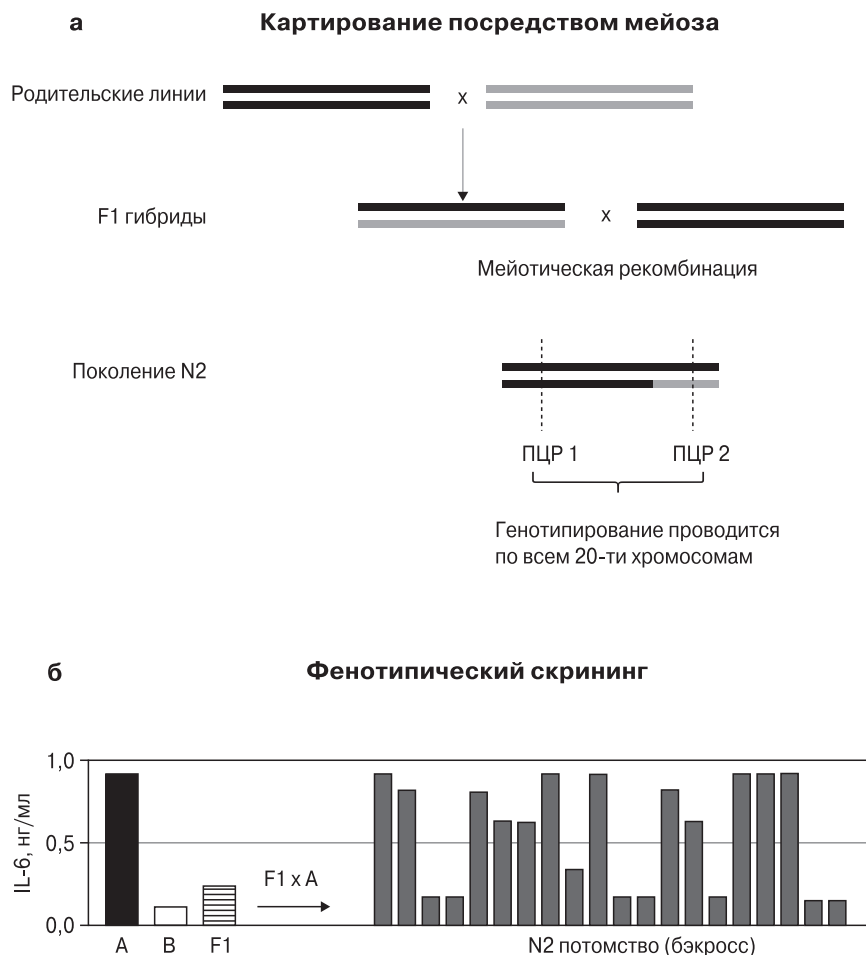


Рисунок. Пример генетического картирования

Используя родительские линии А и В, чьи клетки производят разное количество IL-6 в ответ на стимуляцию ЛПС (рис. 1б) сравнивают продукцию в F1 гибридах и определяют, с каким из родителей нужно скрестить F1, чтобы получить разный уровень IL-6 в N2 потомстве. Соответствующая этому кроссу рекомбинация изображена на рис. 1а: каждая хромосома (показана одна из 20) у каждой мыши может остаться гетерозиготной или претерпеть рекомбинацию и стать гомозиготной. Поскольку рекомбинация — это случайный процесс, затрагивающий часть хромосомы, каждая хромосома генотируется в нескольких местах (3–4) и полученные данные генотипирования сравниваются с фенотипированием на предмет ассоциации генотипа с фенотипом.

диапазоне в различных видах [3]. Так, птицы, рептилии и амфибии почти нечувствительны к ЛПС. В тоже время инъекция ЛПС способна вызывать лихорадку, шок и повреждение органов у многих млекопитающих [9]. Тем не менее, некоторые из них, например, мыши, крысы, павианы, относительно нечувствительны к ЛПС, в то время как другие виды (человек, кролик) обладают наибольшей чувствительностью к ЛПС. Например, смертельная доза ЛПС для мыши и кролика различается на четыре порядка (10^4) и позволяет предположить, что чувствительность к ЛПС генетически обусловлена [71]. Гипотеза о гене, определяющем чувствительность к ЛПС, получила подтверждение в 1968 г. после обнаружения ЛПС-резистентной линии мышей (СЗН/HeJ), происходившей из одной линии с ЛПС-чувствительными мышами линии СЗН/HeN [66], которые были разделены на две независимые линии после спонтанной мутации в ЛПС-рецепторе, получившем название ЛПС-ген (LPS-gene или *Lps*). Наличие двух конгенных инбредных линий, отличающихся между собой только чувствительностью к ЛПС, позволило постулировать наличие специфического рецептора к ЛПС. Мутантный фенотип в СЗН/HeJ линии был описан в 1968 году, а в 1978 году была охарактеризована другая линия ЛПС-резистентных мышей — С57BL10/ScCR [15], и был установлен аллельный характер мутации в СЗН/HeJ и С57BL/10ScCR мышах (две разные мутантные аллели одного и того же гена ответственны за резистентность к ЛПС). Кроме того, было показано, что мутация в ЛПС гене напрямую связана со способностью распознавания грамотрицательных бактерий, так как СЗН/HeJ мыши были не чувствительны к ЛПС, но чрезвычайно чувствительны к *Salmonella Typhimurium* инфекции и умирали от инфекционной дозы, которую ЛПС-чувствительные СЗН/HeN мыши переносили легко [48]. Таким образом, наличие функционального ЛПС-гена было критично для распознавания ЛПС и борьбы хозяина с патогенными микроорганизмами и, в конечном счете, его выживания.

Первые данные по картированию ЛПС-гена на 4-й мышиной хромосоме были опубликованы еще в 1978 году [72], но потребовалось еще 15 лет для начала работ по позиционному клонированию. За это время были накоплены данные о полиморфных маркерах, необходимых для картирования генов, а также были разработаны методы клонирования больших фрагментов ДНК — YAC (Yeast Artificial Chromosome) и BAC (Bacterial Artificial Chromosome), необходимых для установления геномной последовательности (в отсутствие сиквенса мышиного генома). Работы по позиционному клонированию ЛПС-гена начались в 1993 году независимо в трех лабораториях (Beutler [56], Malo [57] и Shwartz)

и успешно завершились в 1998 году публикацией статьи [54], в которой В. Beutler с коллегами охарактеризовали мутацию в мышином TLR4 (Toll-Like Receptor) гене, состоящую в замене эволюционно консервативного пролина на гистидин (Pro714His) в цитоплазматическом домене рецептора. Важную роль в идентификации TLR4 как ЛПС-рецептора имели генетические исследования Toll-рецептора у дрозофил, где он важен не только для эмбрионального развития [30], но и для защиты от грибковой инфекции [40]. Последнее обстоятельство поддерживало идею об иммунной функции мышиного гомолога Toll-рецептора. Как и ожидалось, TLR4 оказался трансмембранным рецептором, содержащим цитоплазматический домен, способный передавать сигнал от ЛПС внутрь клетки, активируя таким образом транскрипционные факторы, отвечающие за продукцию воспалительных цитокинов и выработку защитных механизмов. Обнаруженная мутация P714H препятствовала правильной димеризации рецептора и его активации [75]. Последующие кристаллографические и биохимические исследования подтвердили, что пролин важен для сохранения конформации цитоплазматического домена, участвующего в димеризации рецептора. Рецептор присутствует на мембране в пре-собранном состоянии, и добавление ЛПС индуцирует сближение и димеризацию двух соседних молекул рецептора [37]. Важная роль цитоплазматического домена, также называемого TIR доменом (Toll Interleukin-1 Receptor), состоит в передаче клеточного сигнала, который активирует транскрипционные факторы, участвующие в экспрессии и синтезе воспалительных цитокинов [35]. Замена пролина на гистидин препятствует димеризации TIR домена и его взаимодействию с другими молекулами, такими как MyD88, TIRAP и TRIF, участвующими в транскрипционной активации клетки [36]. И, наконец, в подтверждение гипотезы об аллельном характере дефекта в СЗН/HeJ и С57BL10/ScCR мышах было показано, что С57BL10/ScCR мыши не синтезируют TLR4 из-за делеции в ЛПС-локусе размером примерно 75 kb [55]. Таким образом завершилась тридцатилетняя история поиска гена, который стал одним из первых членов хорошо известного теперь семейства Toll-подобных рецепторов, каждый из которых отвечает за узнавание разных компонентов бактерий (грамположительных и грамотрицательных) и вирусов.

После идентификации TLR4 как рецептора к бактериальному эндотоксину стало понятно, что остальные Toll-подобные рецепторы могут тоже узнавать различные микробные компоненты. Действительно, функции остальных членов семейства были охарактеризованы с помощью обратной генетики (нокаут генов). Так,

TLR2 в комбинации с TLR1 или TLR6 участвует в узнавании липопептидов, пептидогликана, липотейхоевой кислоты и других бактериальных компонентов [21], таких как TLR3 [4], TLR7 [17], TLR8, TLR9 [31] и локализованы преимущественно в эндосоме, где они распознают нуклеиновые кислоты микробного происхождения [14]. Нокаут каждого из указанных рецепторов приводил к потере защиты мышей от различных бактериальных и вирусных инфекций [32]. Генетические открытия в области мышиных Toll-подобных рецепторов способствовали исследованиям в области полиморфизма гомологичных генов у человека. Хотя ассоциация между полиморфизмами в TLR4 человека и предрасположенностью к бактериальным инфекциям была опубликована, в этой области много противоречий. Тем не менее, генетические исследования врожденного иммунитета на мышинной модели стимулировали аналогичные работы в человеческой популяции. Так, например, предрасположенность к бактериальным инфекциям в детском возрасте в некоторых случаях объясняется мутациями в IRAK4 [53] и MYD88 [12], а некоторые больные вирусным энцефалитом имеют нефункциональные UNC93B1 [13] и TLR3 [76] из-за мутаций в этих генах.

Контроль резистентности к внутриклеточным инфекциям — клонирование *Vcg*

Идентификация так называемого *BCG*-гена является одним из первых примеров использования прямой генетики для позиционного клонирования генов [65]. Результаты этой работы были опубликованы в 1993 году, задолго до секвенса мышинного генома и до появления интернета, что затрудняло биоинформатический анализ результатов генетического картирования. До появления этой публикации было показано, что *Vcg* отвечает за защиту от таких микроорганизмов как *S. Typhimurium* и *Mycobacterium bovis* (*BCG*) [10]. Было также известно, что различные инбредные линии мышей сильно отличаются по своей чувствительности к инфекции *in vivo* и *in vitro* [26, 68]. В ходе предварительного генетического анализа было показано, что защита от внутриклеточной инфекции находится под контролем одного гена, который получил название *Vcg*. Поскольку клонировать *Vcg*-ген приходилось в отсутствие достаточной информации о мышинном геноме и детальной карты генома, группе под руководством Е. Скамене потребовалось самостоятельно клонировать генетические маркеры, строить геномный контиг из искусственных хромосом, заниматься обогащением локус-специфических кДНК и использовать другие молекулярно-биологические ме-

тоды. Содержащийся в критической геномной области ген получил название *Nramp1* (*Natural Resistance-Associated Macrophage Protein 1*) и кодировал мембранный гликопротеин, содержащий 12 трансмембранных доменов [69]. Один из нескольких идентифицированных при сравнении различных мышинных линий полиморфизмов, *Gly169Asp* (*G169D*), полностью коррелировал с устойчивостью к вышеуказанным инфекциям *in vivo* и *in vitro* [70]. Результаты позиционного клонирования *Vcg* подтвердились с помощью его геномного нокаута, который привел к резкому повышению чувствительности мышей 129SV линии к инфекциям *S. Typhimurium*, *L. donovani*, *M. bovis* (*BCG*). Кроме того, перенос резистентной *Nramp1G169* аллели на чувствительную линию мышей *C57BL/6J* (*NrampD169*) приводил к увеличению устойчивости этих мышей к инфекции [28]. Было также показано, что замена *G169D* нарушает конформацию белка и его посттрансляционный процессинг, что приводит к отсутствию зрелого пептида на клеточной мембране [24]. Мутации в человеческом гене *NRAMP1* в человеке ассоциируются с повышенной чувствительностью к туберкулезу в популяции из Африки и Азии, но не из Европы.

Локус *Flv* и контроль иммунного ответа к вирусам

Использование мышинной модели в изучении генетики иммунного ответа к вирусным инфекциям привело к открытию гена, участвующего в защите от различных флавивирусов, — 2,5-олигоаденилатциклазы *1b* (*Oasl1b*) [51]. Кроме этого, эти исследования выявили важный интерферон-зависимый механизм защиты организма хозяина от вирусной инфекции. Устойчивые к этому вирусу мышинные линии содержат полноразмерную копию *Oasl1b*. В отличие от них, чувствительные к вирусу мышинные линии содержат мутацию, приводящую к трансляции неполноразмерного *OAS1* полипептида [46]. *OAS1* активируется интерфероном и отвечает за синтез олигоаденилатов, активирующих РНКазу, которая деградирует вирусную и клеточную РНК. Анализ человеческой ДНК выявил ряд полиморфизмов, которые коррелируют с активностью этого фермента, а также с уровнем ответа на вакцинацию против вируса желтой лихорадки. Таким образом, позиционное клонирование *Oasl1b* стимулировало изучение полиморфизма у людей, больных желтой лихорадкой, и в конечном счете улучшило диагностику этого вирусного заболевания.

В Западном полушарии вирус лихорадки Западного Нила последний раз был обнаружен в 1999 г., когда он вызвал эпидемию вирусного энцефалита в Нью-Йорке [43]. Однако этот

и другие флавивirusы, включая вирус желтой лихорадки, лихорадки Денге и японского энцефалита, представляют значительно большую проблему на всей территории Африки и Ближнего Востока, где эти вирусы являются постоянными возбудителями заболеваний. Большинство флавивirusов имеют РНК-содержащий геном размером примерно 10 kb, и реплицируются в клетке через двухцепочечные РНК-интермедиаты преимущественно в антиген-презентирующих клетках. Хотя большинство инфекционных случаев протекает без осложнений, около 20 процентов заболевших имеют риск попадания инфекции в нервную систему, что может привести к менингиту, энцефалиту и даже параличу. Нейроны являются главной мишенью вируса, от репликации и распространения которого защищает интерферон. Было обнаружено, что инбредные линии мышей значительно различаются по своей чувствительности к экспериментальной вирусной инфекции. Большинство лабораторных линий мышей, таких как C57BL/6, C3H/HeJ, BALB/C, CBA, PERA, принадлежащие в основном к подвиду *Mus musculus domesticus*, очень чувствительны к экспериментальной флавивirusной инфекции, в то время как так называемые «дикие» мыши подвита *Mus musculus musculus* чрезвычайно устойчивы к инфекции [62]. Было также показано, что иммунный ответ к вирусной инфекции находится под контролем одного локуса, получившего название Flv (Flavivirus). Когда устойчивую к инфекции аллель Flv перенесли на чувствительную к вирусу линию C3H.PR1, мыши полученной конгенной мышью линии C3H.PR1-flvR приобрели резистентность к инфекции и были использованы для точного картирования Flv локуса на 5-й мышью хромосоме с разрешением до 0,5 cM [63]. Последующий скрининг генов-кандидатов идентифицировал семейство генов, кодирующих 2,5-олигонуклеотидсинтетазы (Oas), из которых только Oas1b играл важную роль в иммунном ответе к WNV infection. Все чувствительные к WNV линии мышей содержали замену T на C, что приводило к замене аргинина на стоп-кодон и потере ферментативной активности. Было также показано, что активированная OAS участвует в синтезе олигонуклеотидов, которые активируют Rnase L, которая в свою очередь разрушает вирусную и клеточную RNAs. Важная роль этого фермента в деградации вирусной РНК подтверждается тем, что мыши, дефектные по PKR и Rnase L, демонстрируют повышенную летальность к инфекции WNV и имеют более высокий титр вируса в периферийных тканях в первые часы инфекции. Недавние генетические исследования пациентов, больных вирусом лихорадки Западного Нила, показали ассоциацию между T210C полиморфизмом и предрасположенностью к бо-

лезни. Эти исследования также показали, что T210C замена приводит к альтернативному сплайсингу транскрипта OAS и образованию доминант-негативной изоформы фермента.

Роль Lgn в распознавании *Legionella pneumophila*

Фагоцитоз является одним из наиболее эффективных методов устранения патогена хозийской клеткой, которая использует низкое рН фагосом и лизосом для разрушения и расщепления микроорганизмов с помощью протеаз и активных радикалов. Поэтому среди разнообразных механизмов адаптации к хозийской клетке некоторые микроорганизмы эволюционировали с целью избегания фагосом или даже изменения свойств самих фагосом. Так, например, упоминавшийся ранее NRAMF является одним из компонентов фагосомы, используемой клеткой для разрушения микроорганизмов. NRAMF локализован на мембране поздних эндосом/лизосом и быстро рекрутируется к мембране фагосом с содержащимися в них микробами. NRAMF способствует оттоку ионов кальция из фагосомы, что приводит к снижению уровня этого важного иона, обедняя микробное окружение и затрудняя микробную жизнедеятельность [22]. Таким образом, NRAMF конкурирует с бактериями за возможность модулировать функции фагосом.

Другим примером воздействия бактерий на клеточный аппарат является инфекция внутриклеточной бактерией *Legionella pneumophila*, к которой человеческие макрофаги обычно не чувствительны, а мышьиные макрофаги чувствительны и быстро умирают. Исключение составляет линия мышей A/J, которая поддерживает развитие бактериальной инфекции. Ген, определяющий подобный вариант иммунного ответа, был идентифицирован в 13 хромосоме [18], а именно в локусе, содержащем несколько полноразмерных и неполных копий генов семейства Naip [6, 64]. Функциональная комплементация с использованием трансгенных мышей подтвердила, что ген, отвечающий за фенотип, является NAIP5 [19, 73]. То обстоятельство, что ген принадлежит к NLR (Nod-Like Receptor) семейству, отвечающему за узнавание бактериальных компонентов, позволил предположить, что ген может распознавать компоненты *Legionella* [25]. Оказалось, что NAIP5 взаимодействует с бактериальным флагеллином, попадающим в клетку через секреторную систему 4-го типа [58]. После распознавания флагеллина NAIP5 активирует CASP1 каспазу, участвующую в синтезе IL-1 и клеточной смерти посредством пироптозиса. Недавние исследования с использованием CASP1-/- и IPAF-/- нокаутных мышей позволяют предположить,

что после распознавания компонентов *Legionella* NAIP5 активирует IPAF-зависимую инфламماسому, что приводит к антибактериальной активности и клеточной смерти [74]. Более того, бактериальные мутанты флагеллина, но не дикие штаммы *Legionella*, растут нормально в макрофагах линии C57BL/6, подтверждая таким образом критическую роль флагеллина в иммунном ответе к *Legionella* [58]. Исследования NAIP5^{-/-} макрофагов пролили свет на механизм действия NAIP5. Наличие функционального NAIP5 ассоциируется с даун-регуляцией маркеров шероховатого ретикулуума и ап-регуляцией лизосомных маркеров, таких как LAMP-1 и катепсин, что свидетельствует о созревании фагосомы [42]. Эти изменения протекают очень быстро, в течение нескольких часов после инфекции, что позволяет предположить, что, в дополнение к активации CASP1, узнавание бактериальных продуктов NAIP5 приводит к активации дополнительных внутриклеточных компонентов, способных бороться с бактерией. Идентификация этих компонентов представляет значительный интерес.

Роль *Ipr1* в предрасположенности к экспериментальной туберкулезной инфекции

Предыдущий пример с NAIP5 демонстрирует, что апоптоз как результат отношений между хозяином и патогеном является предпочтительным, выигрышным для хозяина и потому ассоциируется с устойчивостью к инфекции. Несмотря на то, что клетка умирает, на уровне организма происходит освобождение от патогена. Похожая стратегия имеет место при туберкулезной инфекции [33]. Важность проблемы туберкулеза трудно переоценить, учитывая глобальный характер заболевания. Согласно современным данным около 32% населения инфицировано *Mycobacterium tuberculosis* [41]. Инбредные мышинные линии используются для изучения туберкулеза в течение последних 60 лет. Экспериментальная инфекция резистентных мышей, таких как C57BL/6, C57BL/10 и BALB, приводит к низким титрам инфекции, в то время как чувствительность к туберкулезу в линиях SWA, DBA, C3H ассоциируется со значительными инфекционными титрами в легких, воспалительной реакцией приводящей к разрушению легочной ткани и, в конечном счете, смерти [1]. Действительно, макрофаги резистентных мышей в ходе инфекции более предрасположены к апоптозу, чем макрофаги чувствительных животных [34]. Эти исследования показали, что инфекция находится под контролем нескольких генов, из которых удалось идентифицировать только один локус, на 1-й хромосоме. Генетический контроль ответа

на *Mycobacterium tuberculosis* подтверждается данными полученными от людей, больных туберкулезом, а именно: 1) семейной предрасположенностью к болезни; 2) фенотипическим анализом в моно- и дизиготными двойниками; 3) половыми и расовыми различиями в чувствительности к болезни [23]. Несмотря на то, что генетические исследования велись исключительно на людях, первый ген был идентифицирован в мышах И. Крамником и сотрудниками, определившими ген чувствительности к туберкулезу *Sst1* в центральном участке 1-й хромосомы [39]. Исследования конгенных C3HeB/FeJ животных с резистентной B6sst1R аллелью показали, что *Sst1* определяет разнообразие иммунного ответа к различным инфекциям, включая инфекцию *Listeria monocytogenes*. Более того, экспрессия нормальной аллели этого гена в дефектных C3HeB/FeJ мышах восстанавливала резистентность к туберкулезной инфекции и к устойчивости макрофагов *in vitro*. В результате многолетней работы был позиционно клонирован ген под названием *Ipr1*, функциональная копия которого присутствовала в резистентной к инфекции линии, но не в чувствительной линии мышей [49]. мРНК IPR1 активируется в ответ на интерферон, а продукт трансляции содержит сигнал ядерной локализации и транскрипционной активности. Человеческий гомолог IPR1 способен взаимодействовать с белками вируса гепатита С и вируса Эпштейна–Барр. Все это позволяет предположить, что IPR1 участвует в транскрипционной активации макрофагов в ответ на инфекцию [38].

Заключение

Приведенные примеры картирования генов позволяют сделать следующие выводы.

Во-первых, научное познание с точки зрения классической (формальной) генетики начинается с фенотипа и заканчивается «генетическим» объяснением фенотипа. В этом обзоре была рассмотрена лишь небольшая часть примеров таких фенотипов, основанных на феномене взаимодействия между хозяином и патогеном. Почти все они в течение десятилетий представляли загадку не только для генетиков, но и для инфекционистов, эпидемиологов и, что не менее важно, лечащих врачей. В этой связи инбредные линии мышей как лабораторная модель инфекционного процесса, способствовали значительному прогрессу в нашем понимании механизма иммунного ответа на инфекцию. Поэтому трудно переоценить значение мышинной модели, которая нуждается в дальнейшей популяризации в биологических науках.

Во-вторых, несмотря на то, что большинство описанных примеров фенотипов привели к раскрытию функции одного гена, в действительности взаимодействие хозяина с микроорганиз-

мом — это многостадийный процесс, в котором участвует множество клеточных и вирусных компонентов. Поэтому выявленные гены были специфичны именно для выбранного фенотипического скрининга, например степени бактериальной инфицированности макрофагов. Можно предположить, что при другой модели скрининга разница в фенотипе позволила бы идентифицировать другие гены. Все это расширяет возможности использования мышиной модели.

И наконец, фенотипическая разница между инбредными линиями зачастую может объясняться не одним (моноклассная характеристика), а несколькими генами (полигенная характеристика). В таком случае картирование привело бы к идентификации нескольких генов, хотя в реальности картирование комплексных фенотипов бывает затруднено. Можно надеяться, что совершенствование методов картирования, прогресс биоинформационного обеспечения и появление новых мышиных моделей, особенно на основе уже упоминавшихся диких линий мышей, поможет решить эту и другие проблемы методами генетического анализа.

Список литературы

- Abel B., Thieblemont N., Quesniaux V.J., Brown N., Mpagi J., Miyake K., Bihl F., Ryffel B. Toll-like receptor 4 expression is required to control chronic Mycobacterium tuberculosis infection in mice // *J. Immunol.* — 2002. — Vol. 169. — P. 3155–3162.
- Akira S., Takeda K. Functions of toll-like receptors: lessons from KO mice // *C. R. Biol.* — 2004. — Vol. 327. — P. 581–589.
- Alexander C., Rietschel E.T. Bacterial lipopolysaccharides and innate immunity // *J. Endotoxin Res.* — 2001. — Vol. 7. — P. 167–202.
- Alexopoulos L., Holt A.C., Medzhitov R., Flavell R.A. Recognition of double-stranded RNA and activation of NF- κ B by Toll-like receptor 3 // *Nature.* — 2001. — Vol. 413. — P. 732–738.
- Appleby M.W., Ramsdell F. A forward-genetic approach for analysis of the immune system // *Nat. Rev. Immunol.* — 2003. — Vol. 3. — P. 463–471.
- Beckers M.C., Yoshida S., Morgan K., Skamene E., Gros P. Natural resistance to infection with *Legionella pneumophila*: chromosomal localization of the *Lgn1* susceptibility gene // *Mamm. Genome.* — 1995. — Vol. 6. — P. 540–545.
- Benfey P.N., Mitchell-Olds T. From genotype to phenotype: systems biology meets natural variation // *Science.* — 2008. — Vol. 320. — P. 495–497.
- Beutler B., Hoebe K., Shamel L. Forward genetic dissection of afferent immunity: the role of TIR adapter proteins in innate and adaptive immune responses // *C. R. Biol.* — 2004. — Vol. 327. — P. 571–580.
- Beutler B., Poltorak A. Sepsis and evolution of the innate immune response // *Crit. Care Med.* — 2001. — Vol. 29. — P. S2–S6.
- Blackwell J.M., Barton C.H., White J.K., Roach T.I., Shaw M.A., Whitehead S.H., Mock B.A., Searle S., Williams H., Baker A.M. Genetic regulation of leishmanial and mycobacterial infections: the *Lsh/Ity/Bcg* gene story continues // *Immunol. Lett.* — 1994. — Vol. 43. — P. 99–107.
- Boyd Y., Goodchild M., Morroll S., Bumstead N. Mapping of the chicken and mouse genes for toll-like receptor 2 (TLR2) to an evolutionarily conserved chromosomal segment // *Immunogenetics.* — 2001. — Vol. 52. — P. 294–298.
- Casanova J.L., Abel L. The human model: a genetic dissection of immunity to infection in natural conditions // *Nat. Rev. Immunol.* — 2004. — Vol. 4. — P. 55–66.
- Casrouge A., Zhang S.Y., Eidenschenk C., Jouanguy E., Puel A., Yang K., Alcais A., Picard C., Mahfoufi N., Nicolas N., Lorenzo L., Plancoulaine S., Senechal B., Geissmann F., Tabeta K., Hoebe K., Du X., Miller R.L., Heron B., Mignot C., Villemeur T.B. de, Lebon P., Dulac O., Rozenberg F., Beutler B., Tardieu M., Abel L., Casanova J.L. Herpes simplex virus encephalitis in human UNC-93B deficiency // *Science.* — 2006. — Vol. 314. — P. 308–312.
- Chuang T.H., Ulevitch R.J. Cloning and characterization of a sub-family of human toll-like receptors: hTLR7, hTLR8 and hTLR9 // *Eur. Cytokine Netw.* — 2000. — Vol. 11. — P. 372–378.
- Coutinho A., Meo T. Genetic basis for unresponsiveness to lipopolysaccharide in C57BL/10Cr mice // *Immunogenetics.* — 1978. — Vol. 7. — P. 17–24.
- Curtis D.J. Modifier screens in the mouse: time to move forward with reverse genetics // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2004. — Vol. 101. — P. 7209–7210.
- Diebold S.S., Kaisho T., Hemmi H., Akira S., Sousa R.E. Innate antiviral responses by means of TLR7-mediated recognition of single-stranded RNA // *Science.* — 2004. — Vol. 303. — P. 1529–1531.
- Dietrich W.F., Damron D.M., Isberg R.R., Lander E.S., Swanson M.S. *Lgn1*, a gene that determines susceptibility to *Legionella pneumophila*, maps to mouse chromosome 13 // *Genomics.* — 1995. — Vol. 26. — P. 443–450.
- Diez E., Lee S.H., Gauthier S., Yaraghi Z., Tremblay M., Vidal S., Gros P. *Bircle* is the gene within the *Lgn1* locus associated with resistance to *Legionella pneumophila* // *Nat. Genet.* — 2003. — Vol. 33. — P. 55–60.
- Dyson A., Singer M. Animal models of sepsis: why does preclinical efficacy fail to translate to the clinical setting? // *Crit. Care Med.* — 2009. — Vol. 37. — P. S30–S37.
- Farhat K., Riekenberg S., Heine H., Debarry J., Lang R., Mages J., Buwitt-Beckmann U., Roschmann K., Jung G., Wiesmuller K.H., Ulmer A.J. Heterodimerization of TLR2 with TLR1 or TLR6 expands the ligand spectrum but does not lead to differential signaling // *J. Leukoc. Biol.* — 2008. — Vol. 83. — P. 692–701.
- Forbes J.R., Gros P. Iron, manganese, cobalt transport by *Nramp1* (*Slc11a1*) and *Nramp2* (*Slc11a2*) expressed at the plasma membrane // *Blood.* — 2003. — Vol. 102. — P. 1884–1892.
- Fortin A., Abel L., Casanova J.L., Gros P. Host genetics of mycobacterial diseases in mice and men: forward ge-

- netic studies of BCG-osis and tuberculosis // *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* — 2007. — Vol. 8. — P. 163–192.
24. Frehel C., Canonne-Hergaux F., Gros P., Chastellier C. de. Effect of Nrampl on bacterial replication and on maturation of Mycobacterium avium-containing phagosomes in bone marrow-derived mouse macrophages // *Cell Microbiol.* — 2002. — Vol. 4. — P. 541–556.
 25. Girardin S.E., Sansonetti P.J., Philpott D.J. Intracellular vs extracellular recognition of pathogens — common concepts in mammals and flies // *Trends Microbiol.* — 2002. — Vol. 10. — P. 193–199.
 26. Govoni G., Canonne-Hergaux F., Pfeifer C.G., Marcus S.L., Mills S.D., Hackam D.J., Grinstein S., Malo D., Finlay B.B., Gros P. Functional expression of Nrampl in vitro in the murine macrophage line RAW264.7 // *Infect. Immun.* — 1999. — Vol. 67. — P. 2225–2232.
 27. Gruenheid S., Gros P. Forward genetic dissection of innate response to infection in inbred mouse strains: selected success stories // *Clin. Exp. Immunol.* — 2010. — Vol. 162. — P. 393–401.
 28. Gruenheid S., Pinner E., Desjardins M., Gros P. Natural resistance to infection with intracellular pathogens: the Nrampl protein is recruited to the membrane of the phagosome // *J. Exp. Med.* — 1997. — Vol. 185. — P. 717–730.
 29. Hardiman G., Jenkins N.A., Copeland N.G., Gilbert D.J., Garcia D.K., Naylor S.L., Kastelein R.A., Bazan J.F. Genetic structure and chromosomal mapping of MyD88 // *Genomics.* — 1997. — Vol. 45. — P. 332–339.
 30. Hashimoto C., Hudson K.L., Anderson K.V. The Toll gene of Drosophila, required for dorsal-ventral embryonic polarity, appears to encode a transmembrane protein // *Cell.* — 1988. — Vol. 52. — P. 269–279.
 31. Hemmi H., Takeuchi O., Kawai T., Kaisho T., Sato S., Sanjo H., Matsumoto M., Hoshino K., Wagner H., Takeda K., Akira S. A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA // *Nature.* — 2000. — Vol. 408. — P. 740–745.
 32. Iversen A.C., Steinkjer B., Nilsen N., Bohnhorst J., Moen S.H., Vik R., Stephens P., Thomas D.W., Benedict C.A., Espevik T. A proviral role for CpG in cytomegalovirus infection // *J. Immunol.* — 2009. — Vol. 182. — P. 5672–5681.
 33. Kaufmann S.H. How can immunology contribute to the control of tuberculosis? // *Nat. Rev. Immunol.* — 2001. — Vol. 1. — P. 20–30.
 34. Kaufmann S.H. Immune response to tuberculosis: experimental animal models // *Tuberculosis (Edinb).* — 2003. — Vol. 83. — P. 107–111.
 35. Kawai T., Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors // *Nat. Immunol.* — Vol. 11. — P. 373–384.
 36. Kenny E.F., O'Neill L.A. Signalling adaptors used by Toll-like receptors: an update // *Cytokine.* — 2008. — Vol. 43. — P. 342–349.
 37. Kim H.M., Park B.S., Kim J.I., Kim S.E., Lee J., Oh S.C., Enkhbayar P., Matsushima N., Lee H., Yoo O.J., Lee J.O. Crystal structure of the TLR4-MD-2 complex with bound endotoxin antagonist Eritoran // *Cell* — 2007. — Vol. 130. — P. 906–917.
 38. Kramnik I. Genetic dissection of host resistance to Mycobacterium tuberculosis: the sst1 locus and the Ipr1 gene // *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* — 2008. — Vol. 321. — P. 123–148.
 39. Kramnik I., Dietrich W.F., Demant P., Bloom B.R. Genetic control of resistance to experimental infection with virulent Mycobacterium tuberculosis // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2000. — Vol. 97. — P. 8560–8565.
 40. Lemaitre B., Nicolas E., Michaut L., Reichhart J.M., Hoffmann J.A. The dorsoventral regulatory gene cassette spatzle/Toll/cactus controls the potent antifungal response in Drosophila adults // *Cell.* — 1996. — Vol. 86. — P. 973–983.
 41. Ling D.I., Zwerling A.A., Steingart K.R., Pai M. Immune-based diagnostics for TB in children: what is the evidence? // *Paediatr. Respir. Rev.* — 2011. — Vol. 12. — P. 9–15.
 42. Losick V.P., Stephan K., Smirnova I.I., Isberg R.R., Poltorak A. A hemidominant Naip5 allele in mouse strain MOLF/Ei-derived macrophages restricts Legionella pneumophila intracellular growth // *Infect. Immun.* — 2009. — Vol. 77. — P. 196–204.
 43. Mackenzie J.S., Gubler D.J., Petersen L.R. Emerging flaviviruses: the spread and resurgence of Japanese encephalitis, West Nile and dengue viruses // *Nat. Med.* — 2004. — Vol. 10. — P. S98–109.
 44. Manly K.F., Cudmore R.H. Jr., Meer J.M. Map Manager QTX, cross-platform software for genetic mapping // *Mamm. Genome.* — 2001. — Vol. 12. — P. 930–932.
 45. Mannel D.N. Advances in sepsis research derived from animal models // *Int. J. Med. Microbiol.* — 2007. — Vol. 297. — P. 393–400.
 46. Mashimo T., Lucas M., Simon-Chazottes D., Frenkiel M.P., Montagutelli X., Ceccaldi P.E., Deubel V., Guenet J.L., Despres P. A nonsense mutation in the gene encoding 2'-5'-oligoadenylate synthetase/L1 isoform is associated with West Nile virus susceptibility in laboratory mice // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2002. — Vol. 99. — P. 11311–11316.
 47. Netea M.G., Meer J.W. van der, Kullberg B.J. Sepsis — theory and therapies // *N. Engl. J. Med.* — 2003. — Vol. 348. — P. 1600–1602.
 48. O'Brien A.D., Rosenstreich D.L., Scher I., Campbell G.H., MacDermott R.P., Formal S.B. Genetic control of susceptibility to Salmonella typhimurium in mice: role of the LPS gene // *J. Immunol.* — 1980. — Vol. 124. — P. 20–24.
 49. Pan H., Yan B.S., Rojas M., Shebzukhov Y.V., Zhou H., Kobzik L., Higgins D.E., Daly M.J., Bloom B.R., Kramnik I. Ipr1 gene mediates innate immunity to tuberculosis // *Nature.* — 2005. — Vol. 434. — P. 767–772.
 50. Payseur B.A., Place M. Prospects for association mapping in classical inbred mouse strains // *Genetics.* — 2007. — Vol. 175. — P. 1999–2008.
 51. Perelygin A.A., Scherbik S.V., Zhulin I.B., Stockman B.M., Li Y., Brinton M.A. Positional cloning of the murine flavivirus resistance gene // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2002. — Vol. 99. — P. 9322–9327.
 52. Peters L.L., Robledo R.F., Bult C.J., Churchill G.A., Paigen B.J., Svenson K.L. The mouse as a model for hu-

- man biology: a resource guide for complex trait analysis // *Nat. Rev. Genet.* — 2007. — Vol. 8. — P. 58–69.
53. Picard C., Puel A., Bonnet M., Ku C.L., Bustamante J., Yang K., Soudais C., Dupuis S., Feinberg J., Fieschi C., Elbim C., Hitchcock R., Lammas D., Davies G., Al-Ghonaïm A., Al-Rayes H., Al-Jumaah S., Al-Hajjar S., Al-Mohsen I.Z., Frayha H.H., Rucker R., Hawn T.R., Aderem A., Tufenkeji H., Haraguchi S., Day N.K., Good R.A., Gougerot-Pocidalo M.A., Ozinsky A., Casanova J.L. Pyogenic bacterial infections in humans with IRAK-4 deficiency // *Science.* — 2003. — Vol. 299. — P. 2076–2079.
 54. Poltorak A., He X., Smirnova I., Liu M.Y., Huffel C.V., Du X., Birdwell D., Alejos E., Silva M., Galanos C., Freudenberg M., Ricciardi-Castagnoli P., Layton B., Beutler B. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in Tlr4 gene // *Science.* — 1998. — Vol. 282. — P. 2085–2088.
 55. Poltorak A., Smirnova I., Clisch R., Beutler B. Limits of a deletion spanning Tlr4 in C57BL/10ScCr mice // *J. Endotoxin Res.* — 2000. — Vol. 6. — P. 51–56.
 56. Poltorak A., Smirnova I., He X., Liu M.Y., Huffel C. van, McNally O., Birdwell D., Alejos E., Silva M., Du X., Thompson P., Chan E.K., Ledesma J., Roe B., Clifton S., Vogel S.N., Beutler B. Genetic and physical mapping of the Lps locus: identification of the toll-4 receptor as a candidate gene in the critical region // *Science.* — 1998. — Vol. 24. — P. 340–355.
 57. Qureshi S.T., Lariviere L., Sebastiani G., Clermont S., Skamene E., Gros P., Malo D. A high-resolution map in the chromosomal region surrounding the Lps locus // *Genomics.* — 1996. — Vol. 31. — P. 283–294.
 58. Ren T., Zamboni D.S., Roy C.R., Dietrich W.F., Vance R.E. Flagellin-deficient Legionella mutants evade caspase-1- and Naip5-mediated macrophage immunity // *PLoS Pathog.* — 2006. — Vol. 2. — P. e18.
 59. Rietschel E.T., Cavaiillon J.M. Richard Pfeiffer and Alexandre Besredka: creators of the concept of endotoxin and anti-endotoxin // *Microbes Infect.* — 2003. — Vol. 5. — P. 1407–1414.
 60. Rittirsch D., Flierl M.A., Ward P.A. Harmful molecular mechanisms in sepsis // *Nat. Rev. Immunol.* — 2008. — Vol. 8. — P. 776–787.
 61. Russell J.A. Management of sepsis // *N. Engl. J. Med.* — 2006. — Vol. 355. — P. 1699–1713.
 62. Sangster M.Y., Heliams D.B., MacKenzie J.S., Shellam G.R. Genetic studies of flavivirus resistance in inbred strains derived from wild mice: evidence for a new resistance allele at the flavivirus resistance locus (Flv) // *J. Virol.* — 1993. — Vol. 67. — P. 340–347.
 63. Sangster M.Y., Urošević N., Mansfield J.P., Mackenzie J.S., Shellam G.R. Mapping the Flv locus controlling resistance to flaviviruses on mouse chromosome 5 // *J. Virol.* — 1994. — Vol. 68. — P. 448–452.
 64. Scharf J.M., Damron D., Frisella A., Bruno S., Beggs A.H., Kunkel L.M., Dietrich W.F. The mouse region syntenic for human spinal muscular atrophy lies within the Lgn1 critical interval and contains multiple copies of Naip exon 5 // *Genomics.* — 1996. — Vol. 38. — P. 405–417.
 65. Skamene E. The Bcg gene story // *Immunobiology.* — 1994. — Vol. 191. — P. 451–460.
 66. Sultzer B.M. Genetic control of leucocyte responses to endotoxin // *Nature.* — 1968. — Vol. 219. — P. 1253–1254.
 67. Suzuki Y., Roth F.P. Systematic genetics swims forward elegantly // *Mol. Syst. Biol.* — 2006. — Vol. 2. — P. 48.
 68. Turcotte K., Loredó-Ostí J.C., Fortin P., Schurr E., Morgan K., Gros P. Complex genetic control of susceptibility to Mycobacterium bovis (Bacille Calmette-Guérin) infection in wild-derived Mus spretus mice // *Genes. Immun.* — 2006. — Vol. 7. — P. 684–687.
 69. Vidal S.M., Malo D., Vogan K., Skamene E., Gros P. Natural resistance to infection with intracellular parasites: isolation of a candidate for Bcg // *Cell.* — 1993. — Vol. 73. — P. 469–485.
 70. Vidal S.M., Pinner E., Lepage P., Gauthier S., Gros P. Natural resistance to intracellular infections: Nramp1 encodes a membrane phosphoglycoprotein absent in macrophages from susceptible (Nramp1 D169) mouse strains // *J. Immunol.* — 1996. — Vol. 157. — P. 3559–3568.
 71. Warren H.S. Editorial: Mouse models to study sepsis syndrome in humans // *J. Leukoc. Biol.* — 2009. — Vol. 86. — P. 199–201.
 72. Watson J., Kelly K., Largen M., Taylor B.A. The genetic mapping of a defective LPS response gene in C3H/HeJ mice // *J. Immunol.* — 1978. — Vol. 120. — P. 422–424.
 73. Wright E.K., Goodart S.A., Growney J.D., Hadinoto V., Endrizzi M.G., Long E.M., Sadigh K., Abney A.L., Bernstein-Hanley I., Dietrich W.F. Naip5 affects host susceptibility to the intracellular pathogen Legionella pneumophila // *Curr. Biol.* — 2003. — Vol. 13. — P. 27–36.
 74. Wright E.K., Goodart S.A., Growney J.D., Hadinoto V., Endrizzi M.G., Long E.M., Sadigh K., Abney A.L., Bernstein-Hanley I., Dietrich W.F. Naip5 affects host susceptibility to the intracellular pathogen Legionella pneumophila // *Curr. Biol.* — 2003. — Vol. 13. — P. 27–36.
 75. Xu Y., Tao X., Shen B., Horng T., Medzhitov R., Manley J.L., Tong L. Structural basis for signal transduction by the Toll/interleukin-1 receptor domains // *Nature.* — 2000. — Vol. 408. — P. 111–115.
 76. Zhang S.Y., Jouanguy E., Ugolini S., Smahi A., Elain G., Romero P., Segal D., Sancho-Shimizu V., Lorenzo L., Puel A., Picard C., Chagnier A., Plancoulaine S., Titeux M., Cognet C., Bernuth H. von, Ku C.L., Casrouge A., Zhang X.X., Barreiro L., Leonard J., Hamilton C., Lebon P., Heron B., Vallerie L., Quintana-Murci L., Hovnanian A., Rozenberg F., Vivier E., Geissmann F., Tardieu M., Abel L., Casanova J.L. TLR3 deficiency in patients with herpes simplex encephalitis // *Science.* — 2007. — Vol. 317. — P. 1522–1527.