

ПОДБОР НОВЫХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МИШЕНЕЙ ДЛЯ ОПТИМИЗАЦИИ ВАКЦИНОПРОФИЛАКТИКИ И ТЕРАПИИ ЧУМЫ

Е.А. Красильникова, А.С. Трунякова, А.С. Вагайская, Т.Э. Светоч,
Р.З. Шайхутдинова, С.В. Дентовская

ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, п. Оболенск, Московская область, Россия

Резюме. Возбудитель чумы, *Yersinia pestis*, — особо опасный бактериальный патоген и потенциальный агент биотерроризма. Преобладающими клиническими формами инфекции являются бубонная и легочная чума, отличающиеся путем инфицирования. При отсутствии лечения смертность при бубонной форме чумы составляет 40–60%, в то время как легочная чума без лечения летальна всегда. Развитие инфекционного процесса в организме восприимчивого хозяина обеспечивается наличием у чумного микроба комплекса факторов патогенности различной функциональной направленности, экспрессирующихся в зависимости от стадии инфекционного процесса. Нокаутные мутации генов, кодирующих эти факторы, могут не влиять на вирулентность микроба или приводить к его аттенуации. Поиск новых факторов патогенности *Y. pestis* и разработка на их основе высокоэффективных субъединичных и живых чумных вакцин, индуцирующих развитие выраженных клеточных и гуморальных иммунных реакций, и/или оценка потенциального использования этих факторов в качестве молекулярных мишеней для химиотерапии чумы остаются по-прежнему актуальными, так как обе лицензированные на настоящий день чумные вакцины не соответствуют требованиям ВОЗ, а на Мадагаскаре выделены штаммы чумного микроба, устойчивые ко всем лекарственным препаратам, рекомендованным для антибактериальной терапии чумы. В настоящей статье обобщены сведения относительно вклада известных и вновь открытых факторов патогенности в вирулентность штаммов *Y. pestis* и протективную активность в отношении чумы. Описано также влияние утраты генов регуляторных белков и мутаций в генах различных транспортных систем *Y. pestis* на аттенуацию вирулентных штаммов. Проведена оценка перспективности включения охарактеризованных антигенов в состав прототипов субъединичных вакцин и тех или иных полученных мутантов в состав прототипов живых аттенуированных вакцин. Использование антибиотиков постулируется комитетом экспертов Всемирной организации здравоохранения по чуме как «золотой стандарт» лечения чумы. Однако появление устойчивых к антибиотикам штаммов *Y. pestis* привело к необходимости поиска альтернативных способов терапии. В обзоре обобщены предварительные результаты попыток лечения чумы ингибиторами фактора патогенности. Препараты, нацеленные на ключевые факторы патогенности, предоставляют новые перспективные возможности в борьбе с устойчивыми к антибиотикам бактериями.

Ключевые слова: чума, *Yersinia pestis*, фактор патогенности, молекулярная мишень, вакцинопрофилактика.

Адрес для переписки:

Дентовская Светлана Владимировна
142279, Россия, Московская область, Серпуховский р-н,
п. Оболенск, ФБУН ГНЦ ПМБ.
Тел.: 8 (4967) 36-01-17.
E-mail: dentovskaya@obolensk.org

Contacts:

Svetlana V. Dentovskaya
142279, Russian Federation, Moscow Region, Serpukhov District,
Obolensk, State Research Center for Applied Microbiology and
Biotechnology.
Phone: +7 (4967) 36-01-17.
E-mail: dentovskaya@obolensk.org

Для цитирования:

Красильникова Е.А., Трунякова А.С., Вагайская А.С., Светоч Т.Э.,
Шайхутдинова Р.З., Дентовская С.В. Подбор новых молекулярных
мишеней для оптимизации вакцинопрофилактики и терапии чумы //
Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, № 2. С. 265–282. doi: 10.15789/2220-
7619-SNM-1254

Citation:

Krasil'nikova E.A., Trunyakova A.S., Vagaiskaya A.S., Svetoch T.E.,
Shaikhutdinova R.Z., Dentovskaya S.V. A search for new molecular targets
for optimizing plague preventive vaccination and therapy // Russian Journal
of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2021, vol. 11, no. 2,
pp. 265–282. doi: 10.15789/2220-7619-SNM-1254

A SEARCH FOR NEW MOLECULAR TARGETS FOR OPTIMIZING PLAGUE PREVENTIVE VACCINATION AND THERAPY

Krasil'nikova E.A., Trunyakova A.S., Vagaiskaya A.S., Svetoch T.E., Shaikhutdinova R.Z., Dentovskaya S.V.

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation

Abstract. The causative agent of plague, *Yersinia pestis*, is a highly virulent bacterial pathogen and a potential bioweapon. Depending on the route of infection, two prevalent forms of the disease — bubonic and pneumonic, are known. The latter is featured by a high fatality rate. Mortality in untreated bubonic plague patients reaches up to 40–60%, whereas untreated pneumonic plague is always lethal. The development of the infectious process in susceptible host is accounted for by a whole set of pathogenicity factors in plague pathogen displaying various functional modalities being expressed depending on stage of infectious process, providing their coordinated expression. Knocking out any of such factors, in turn, may not either affect microbe virulence or lead to its attenuation. A search for new *Yersinia pestis* pathogenicity factors and subsequent development of highly effective subunit and live attenuated plague vaccines inducing development of pronounced cellular and humoral immune reactions, and/or assessment of their potential use as molecular targets for plague therapy still remain a pressing issue, as both currently licensed plague vaccines do not meet the WHO requirements, whereas strains of plague microbe isolated in Madagascar are resistant to all drugs recommended for plague antibacterial therapy. Here we summarize an impact of described and newly discovered pathogenicity factors into the virulence of *Y. pestis* strains and their protective anti-plague activity. An effect of loss of genes encoding regulatory proteins as well as mutations in the genes for various transport systems of *Y. pestis* on attenuation of virulent strains is described as well. Perspectives for introducing characterized antigens into prototype subunit vaccine as well as some other obtained mutants into prototypes of living attenuating vaccines were assessed. The use of antibiotics for plague treatment has been embraced by the World Health Organization Expert Committee on Plague as the “gold standard” treatment. However, concerns regarding development of antibiotic-resistant *Y. pestis* strains accounted for further exploring alternatives to plague therapy. Several research groups continue to seek for other alternative approaches, e. g. treatment with inhibitors of pathogenicity factors. Preliminary data attempting to treat plague patients with pathogenicity factor inhibitors are summarized. Antivirulence drugs targeting key microbial factors represent new promising therapeutic options in the fight against antibiotic-resistant bacteria.

Key words: plague, *Yersinia pestis*, pathogenicity factor, molecular target, vaccine prevention.

Чума — острое инфекционное природно-очаговое трансмиссивное заболевание, сопровождающееся лихорадкой, тяжелой интоксикацией, серозно-геморрагическим воспалением в лимфатических узлах, легких и других органах, а также сепсисом. Высокая летальность необходима для переноса возбудителя чумы — *Yersinia pestis* — инфицированными блохами, вынужденными покинуть мертвого грызуна в поисках нового хозяина-прокормителя. Два других представителя рода *Yersinia* — энтеропатогенные *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* — вызывают у людей чаще всего склонные к затяжному течению заболевания желудочно-кишечного тракта средней тяжести, обеспечивающие длительное выделение патогенов в окружающую среду и последующее алиментарное заражение новых хозяев. Одного из них — *Y. pseudotuberculosis* — принято считать прародителем *Y. pestis*. Дивергенция этих бактерий произошла 5000–20 000 лет назад [5].

Особенности патогенеза инфекционных заболеваний и вирулентность вызывающих их микробов определяются имеющимися у последних вируломами — «наборами» факторов патогенности. При этом каждая из биомолекул (факторов патогенности) может обладать несколькими активностями, направленными на преодоление различных звеньев системы за-

щиты макроорганизма. Развитие инфекционного процесса в организме восприимчивого хозяина требует присутствия у возбудителя чумы целого набора факторов патогенности различной функциональной направленности и систем регуляции, обеспечивающих их координированную экспрессию. «Выключение» любого из этих факторов, в свою очередь, может либо не влиять на вирулентность микроба, либо приводить к его аттенуации.

В середине прошлого века Burrows T.W. [33] определил набор признаков, присутствующий у всех изученных им вирулентных штаммов *Y. pestis*, — классические «детерминанты вирулентности». К их числу он относил способность клеток сорбировать экзогенные красители и гемин (Pgm⁺), зависимость роста при температуре 37°C от наличия в среде ионов Ca²⁺, синтез V- (а позднее — LcrV) и W-антигенов, «мышинного» токсина (Tox⁺), капсульного антигена FI (Fra⁺ или F1⁺, а позднее — CafI⁺), сочетанный синтез пестицина (Pst⁺), фибринолизина (Fb⁺) и плазмокоагулазы (Cg⁺), пуринонезависимость, или способность синтезировать эндогенные пурины (Pur⁺). После шести десятилетий исследований и дискуссий, прошедших с момента постулирования детерминант вирулентности, некоторые из них, такие как синтез W-антигена, пестицина и способность к синтезу эндогенных

пуринов, уже не рассматривают как факторы патогенности [1, 14, 41], но выявлен целый ряд новых кандидатов на роль факторов патогенности чумного микроба.

До настоящего времени поиск новых антигенов для разработки субъединичных и живых аттенуированных чумных вакцин, а также совершенствование препаратов для лабораторной диагностики и лечения чумы сохраняют свою актуальность, так как в природных очагах ежегодно заболевает до 3000 человек [57], что, с учетом высокой контагиозности легочной формы заболевания, представляет серьезную опасность возникновения эпидемических осложнений.

Отбор потенциальных генов-мишеней для аттенуации вирулентных штаммов проводят с помощью произвольного мутагенеза индивидуально мечеными транспозонами, используя методики обратной (реверсивной) вакцинологии или исследуя аналоги генов других бактериальных патогенов, мутации в которых ведут к снижению вирулентности [41].

Аналоги генов других бактериальных патогенов, мутации в которых ведут к снижению вирулентности

Полифункциональные белки наружной мембраны, кодируемые хромосомой

Наружная мембрана грамотрицательных бактерий содержит множество белков, помогающих поддерживать структурную целостность клеточной оболочки бактерий. Белок SurA (Survival protein A) впервые идентифицировали как фактор, играющий важную роль в выживании клеток *Escherichia coli* в стационарной фазе роста [163]. Показано, что парвулин-подобный домен белка обладает пептидил-пролил изомеразной активностью [90, 138], а N-концевой домен — шаперонной активностью [23]. Установлено, что именно шаперонная функция связана с ролью SurA в патогенезе инфекций, вызываемых некоторыми видами бактерий [22]. Например, делеция гена *surA* оказывает плейотропный эффект на бактериальную клетку *Y. pseudotuberculosis*, ведущий к аттенуации штамма при мышинной модели инфекции [112, 113], что отчасти может быть связано с ролью белка в биогенезе наружной мембраны, а именно утратой Inv, необходимого возбудителю псевдотуберкулеза для процесса инвазии [112]. Делеционный мутант вирулентного штамма *Y. pestis* оказался более чувствителен к мембранопроницающим агентам и не вызывал гибели мышей при подкожном введении $2,1 \times 10^5$ КОЕ культуры [153]. Таким образом, SurA можно рассматривать как мишень для антимикробных агентов, а широ-

кое распространение этого белка среди грамотрицательных патогенов делает перспективным его использование для разработки ингибиторов с широким спектром действия.

Липопротеин Брауна (Lpp) локализован в наружной мембране бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, связывает слой пептидогликанов с наружной бактериальной мембраной [63]. Структурно Lpp выступает в качестве спейсера между внутренней и наружной мембраной, поддерживая открытость периплазматического пространства и целостность наружной мембраны [159]. В процессе созревания липопротеина Брауна происходит модификация липидного домена, катализируемая глицеролтрансферазой, O-ацилтрансферазой, сигнальной трансферазой II и N-ацилтрансферазой [64]. Показано, что вместе с липополисахаридом Lpp индуцирует развитие септического шока, продукцию цитокинов TNF α , IFN α , IL-1 β , IL-6 [179], активирует комплемент и систему свертывания крови [71, 110]. Установлено, что сигнал от Lpp, приводящий к индукции цитокинов, идет через рецептор TLR-2 (Toll-Like Receptor — Toll-подобный рецептор) [7]. У возбудителя чумы Lpp имеет размер 8,3 kDa. Sha J. и соавт. [145, 146] получили одинарный делеционный мутант по гену *lpp* и двойной делеционный мутант по генам *lpp* и *msbB* на модели вирулентного штамма *Y. pestis* CO92 и аттенуированного штамма K1MD27(Pgm⁻). Иммунизация полученными мутантными штаммами защищала от гибели мышей и крыс при заражении высоковирулентными штаммами дикого типа в модельных экспериментах бубонной и легочной чумы. Van Lier C.J. и соавт. [170] показали, что штамм *Y. pestis* CO92 Δ *lpp* Δ *pla*, авирулентный для мышей при подкожном и аэрогенном введении, индуцирует гуморальный и клеточно-опосредованный иммунный ответ, обеспечивая защиту животных от заражения летальными дозами *Y. pestis* CO92. Исследователи впервые продемонстрировали, что полученный ими двойной мутант не способен эффективно переживать в макрофагах мыши и человека в отличие от штамма дикого типа. Galindo C.L. и соавт. [58] исследовали влияние мутации по гену *lpp* на экспрессию ряда генов стресс-ответа и вирулентности при температурах культивирования чумного микроба 26°C и 37°C. Если при температуре 26°C у мутанта в основном обнаруживали изменение экспрессии генов, отвечающих за метаболизм, то при 37°C уменьшалась экспрессия генов стресс-ответа и вирулентности (*htpN*, *degQ*, *htrA*, *lcrQ/yscM*, *iscR*, *nifS* и др.). Результаты эксперимента подтвердили роль Lpp в адаптации *Y. pestis* к условиям организма хозяина. Таким образом, Lpp обладает еще и регуляторной функцией.

NlpD (novel lipoprotein D) — липопротеин наружной мембраны чумного микроба, содержащий 379 аминокислотных остатков и типичную для липидов консенсусную последовательность на N-конце. Ген *nlpD* вместе с генами *surE*, *pcm*, *rpoS* входит в состав хромосомного *pcm*-локуса, обнаруживаемого у микроорганизмов различных видов семейства *Enterobacteriaceae*. Lange R. и соавт. [70, 85] и Tidhar A. и соавт. [161] показали, что гены *nlpD* и *rpoS* образуют оперон. Используя набор изогенных мутантов штамма *Y. pestis* Kimberly 53, Tidhar A. и соавт. [161] изучили экспрессию и роль продуктов генов *pcm*-локуса в патогенезе чумы. Авторы обнаружили, что только NlpD существенен для вирулентности чумного микроба. Мутация по гену *nlpD* приводила к полной аттенуации *Y. pestis*, а сконструированный *nlpD*-мутант превосходил вакцинный штамм EV76 по защите мышей от гибели при их последующем заражении бубонной или легочной формой чумы [161]. Дентовская С.В. и соавт. [42] сконструировали *ΔnlpD*-мутанты на основе других родительских штаммов *Y. pestis*, включая непатогенные для морских свинок и человека штаммы подвида *microti*. Сравнительная оценка подтвердила, что при подкожной иммунизации мышей *ΔnlpD*-мутанты индуцировали иммунитет, превосходящий по напряженности в 10^5 раз таковой в ответ на введение вакцинного штамма EV. В то же время NlpD⁻ варианты бактерий практически не защищали морских свинок при подкожном заражении возбудителем чумы, уступая штамму EV по напряженности формируемого иммунитета в 10^6 раз.

OmpA (Outer membrane protein A — белок наружной мембраны A) является представителем порообразующих белков наружной мембраны грамотрицательных бактерий, или поринов. Неспецифические порины доминируют среди белков наружной мембраны бактерий и предназначены для пассивной диффузии гидрофильных молекул с молекулярной массой не более 600 Да [40]. Порины чрезвычайно устойчивы к действию протеаз, повышенной температуре и другим денатурирующим факторам, что обусловлено особенностью их структуры. По физико-химическим свойствам порины — это слабобелковые белки, содержащие необычно большое для интегральных белков количество полярных аминокислотных остатков [4]. Регуляция транспорта различных молекул через наружную мембрану, поддержание структурной целостности клетки, связывание различных веществ и адгезия — основные функции поринов. Было показано, что OmpA обладает пороформирующей активностью [155], опосредует резистентность к комплементу и антибактериальным пептидам, играет важную роль в инвазии и внутри-

клеточном переживании патогена [56, 102, 128]. Chen Y. и соавт. подтвердили высокую степень гомологии нуклеотидной и аминокислотной последовательностей OmpA у всех трех патогенных видов *Yersinia*: *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica*. Анализ последовательностей OmpA 262 штаммов *Y. pestis*, 134 штаммов *Y. pseudotuberculosis* и 219 штаммов *Y. enterocolitica* выявил 100, 98,8 и 97,7%-ную гомологию [38]. Для идентификации генов, продукты которых участвуют в реализации функции переживания *Y. pestis* в макрофагах, Bartra S.S. и соавт. [17] использовали подход, основанный на гибридизации по местам встраивания транспозонов (TraSH — transposon site hybridization). Авторы провели скрининг пула транспозоновых мутантов на модели культуры клеток. Результаты исследования подтвердили необходимость OmpA для переживания *Y. pestis* и родственного патогена *Y. pseudotuberculosis* в макрофагах. Таким образом, порины как белки, играющие важную роль во взаимоотношениях патогена с организмом хозяина, способные индуцировать образование протективных антител, привлекательны с точки зрения использования при конструировании вакцинных и диагностических препаратов.

По данным Erova T. и соавт. [46], введение рекомбинантного OmpA *Y. pestis* мышам вызывало развитие протективного иммунного ответа против бубонной, но не легочной формы чумы при заражении Caf1⁻ мутантом штамма CO92. Однако титры протективных антител в сыворотке вакцинированных мышей оказались намного ниже титров анти-Ail и анти-F1-V-антител. Тем не менее полученные экспериментальные данные позволяют рассматривать рекомбинантный OmpA, а также Pla и Ail в качестве дополнительных антигенов в составе субъединичных вакцин к традиционно используемым Caf1 и LcrV для повышения протективности последних [46].

Факторы адгезии и колонизации

В процесс адгезии и колонизации вовлечены различные поверхностные молекулы *Y. pestis*. Кроме ранее идентифицированных фимбрий с известными или потенциальными функциями адгезинов [47, 99, 139], адгезивные и инвазивные свойства обнаружены у некоторых белков наружной мембраны возбудителя чумы нефимбриальной природы.

Белок Ail/OmpX (Attachment invasion locus — Ail) принадлежит к Ail/Lom семейству белков наружной мембраны и обеспечивает защиту *Y. pestis* от комплемент-опосредованного киллинга [18]. Более того, Ail является доминантной молекулой адгезии и играет важную роль в доставке эффекторов системы секреции III типа к клеткам-мишеням хозяина в ходе ин-

фекционного процесса [48]. Белок Ail *Y. pestis* идентифицировали в качестве одного из главных адгезинов *Y. pestis* [18, 48, 50, 83]. Мутанты *Y. pestis* с делецией *Δail* обладают сниженной способностью к системному распространению и той или иной степенью аттенуации, более выраженной на модели крыс, чем мышей. Однако показано, что адаптивный иммунный ответ у крыс формировался после введения высоких доз мутантного штамма (3×10^4 КОЕ), о чем свидетельствовали высокие титры антител к *Y. pestis* Caf1-антигену [68]. Более того, Kolodziejek A.M. и соавт. сообщили, что делеция гена *ail* у штамма *Y. pestis* CO92 приводила к высокой степени аттенуации на крысиной модели легочной чумы [82]. На модели штамма *Y. pestis* KIM5 с делецией *pgm*-локуса показано, что Ail более важен для связывания клеток хозяина и индукции цитотоксичности и для вирулентности на мышинной модели инфекции при внутривенном введении, чем Pla, и что опосредованная Pla секреция Yop не зависит от его протеазной активности [50]. Ail связывает фибронектин, белок внеклеточного матрикса, который, возможно, выступает в качестве связывающего рецептора между Ail и хозяйскими клетками [169]. Антитела к фибронектину подавляют KIM5-опосредованную цитотоксичность клеток хозяина в Ail-зависимой манере, показывая необходимость этого взаимодействия для доставки Yop [169].

Кроме того, адгезивные свойства описаны для нескольких белков автотранспортеров чумного микроба [176], таких как YарС [49], YарЕ [88, 89] и YадА-подобных олигомерных белков-автотранспортеров [55, 108]. К настоящему времени показана уникальная роль YарЕ, YарJ и YарK в патогенезе чумы. YарЕ необходим для полного проявления вирулентности штаммов при бубонной, но не легочной форме инфекции [88]. Продукты генов *yарK* и *yарJ* играют важную роль при развитии системной (не бубонной) чумной инфекции, при этом мутанты *Y. pestis*, лишенные обоих генов *yарK* и *yарJ*, проявляют более аттенуированный фенотип, чем индивидуальные мутанты [93]. YадВ и YадС *Y. pestis*, два новых белка семейства олигомерных адгезинов [6, 137], способные к формированию тримеров, наличие которых коррелирует с инвазивностью *Y. pestis* для эпителиоидных клеток [49, 55]. Установлено, что YадС при экспрессии в *E. coli* опосредует агрегацию бактерий и прилипание к мышинным макрофагоподобным клеткам и эпителиальным клеткам человека. Утрата *yadBC* ведет к незначительному снижению инвазивности для эпителиоидных клеток и понижению вирулентности мутантов при бубонной, но не легочной чуме у мышей [55]. Иммунизация мышей слитым

белком GST-YадС₁₃₇₋₄₀₉, содержащим аминокислотные остатки YадС с 137 по 409, присоединенные к С-концу глутатион-S-трансферазы (glutathione S-transferase — GST), обеспечивала частичную защиту против заражения Caf1-штаммом *Y. pestis* и стимулировала смешанный Th1/Th2 иммунный ответ [108]. Данные находят выводят YадС в число перспективных компонентов кандидатных вакцин.

Факторы инвазии

В конце прошлого века большинство исследователей рассматривали возбудителя чумы как внеклеточный патоген вследствие обнаружения мутаций в двух генах, кодирующих главные гомологи инвазина (Inv) и адгезина (YадА) *Y. pseudotuberculosis* [119, 148]. Однако позднее было установлено, что *Y. pestis* может проникать внутрь нефагоцитирующих эукариотических клеток, и данная способность опосредуется рядом факторов патогенности, а именно активатором плазминогена (Pla), белком наружной мембраны OmpX (Ail) и рН6-антигеном (Psa) [12, 35, 83, 86]. Причем ни один из данных факторов в одиночку не может полностью обеспечить процесс инвазии. Seo J. и соавт. [144] идентифицировали один из добавочных поверхностных белков *Y. pestis*, интимин/инвазин-подобный белок (intimin/invasin-like protein — Iip), кодируемый хромосомным геном YPO3944 и сходный с поверхностными белками семейства интиминов/инвазинов грамотрицательных бактерий. Авторы показали, что Iip не участвует в колонизации блох, но необходим для адгезии к клеткам млекопитающего и регулирует системное распространение и вирулентность возбудителя чумы на мышинной модели инфекции, о чем свидетельствует 55-кратное увеличение LD₅₀ для *Δilp*-мутанта при интраназальном введении. Учитывая, что Iip играет важную роль в развитии легочной формы чумы, он может быть перспективен в качестве кандидата для конструирования вакцинных препаратов.

Эффекторные Yop-белки

Для секреции и транслокации эффекторных Yop-белков в клетки млекопитающих *Y. pestis* использует систему секреции белков третьего типа (type III secretion system — T3SS). Белок YopR (19 kDa) — фактор патогенности, секретиремый *Y. pestis* на ранних стадиях развития инфекции, причем транслоцируется он не в цитозоль клеток хозяина, а во внеклеточное пространство. На мышинной модели инфекции показано, что делеция гена *yopR* приводит к 10–30-кратному снижению вирулентности *Y. pestis* [92]. Schubot F.D. и соавт. [142] исследовали кристаллическую структуру резистентного к протеа-

зам домена кора YopR (38–149 аминокислотные остатки) и обнаружили в этой области пять альфа-спиралей. Структура рассматриваемой области оказалась подобна структуре одного из доменов центрального регулятора T3SS *Y. pestis* YopN. По мнению авторов, YopR, возможно, также участвует в регуляции T3SS. У *DyopR*-мутантов *Y. pestis* нарушался процесс сборки «иглы» аппарата секреции T3SS. При этом YscF не поступал к месту сборки, а секретировался в среду. Предположительно, YopR способен регулировать секрецию YscF. Альтернативным вариантом может являться непосредственное его участие в полимеризации белка YscF, что менее вероятно, так как YopR не обнаруживали в ассоциации с очищенными «иглами» [26].

YrkA — один из эффекторных Yop-белков возбудителя чумы, доставляемых в клетки хозяина посредством системы секреции белков третьего типа, локализующийся на внутренней поверхности плазматической мембраны. YrkA — мультидоменный эффектор, состоящий из N-концевого секреторного сигнального пептида, который узнается T3SS-аппаратом, подобного эукариотическому серин/треонин- (Ser/Thr) киназного домена, GDI-домена (Guanosine Dissociation Inhibitors — GDI) и C-концевого актин-связывающего домена [109, 129]. YrkA у бактерий является неактивной киназой, активация фермента проходит внутри цитозоля клетки хозяина путем связывания с коактиватором актином, которым богаты эукариотические клетки [168]. После активации YrkA подвергается автофосфорилированию и фосфорилирует целый набор внутриклеточных субстратов, включая Gαq (α-субъединица гетеротримерных G-белков), фосфопротеин, стимулированный вазодилататором (VASP — vasodilator-stimulated phosphoprotein), убиквитин тиоэстеразу (otubain-1) и актин. Цитотоксические эффекты YrkA проявляются преимущественно в виде нарушения актинового цитоскелета, исчезновения стрессовых волокон и округления клеток, которое, по-видимому, зависит от киназной активности и GDI-домена [45, 76, 94, 109, 129]. Показано, что мембранно-локализованный домен, расположенный в N-концевом регионе, направляет YrkA к внутренней поверхности клеточной мембраны, где ГТФазы выполняют их функции [60]. GDI-домен YrkA связывается ГТФ- или ГДФ-связывающими ГТФазами, мимикрируя под белки GDI хозяина, для подавления обмена нуклеотидами при участии RhoA и Rac1 [129]. YrkA прерывает Gαq-опосредованный сигнальный путь, фосфорилируя Gαq в положении Ser47 [109]. VASP фосфорилируется YrkA преимущественно в положении Ser157, что ведет к подавлению VASP-опосредованной полимеризации актина,

прерыванию образования стресс-волокон и фагоцитоза макрофагов. VASP играет основную роль в регуляции актинового цитоскелета, который, как было показано, является мишенью при развитии инфекций, вызванных *Helicobacter pylori* и *Listeria monocytogenes* [16, 19, 25]. Киназный и GDI домены YrkA совместно ремоделируют цитоскелет клеток хозяина и прерывают хозяйские клеточные процессы, вызывающие перестройки цитоскелета, такие как фагоцитоз, подвижность и слияние клеток. Помимо эффектов, направленных на цитоскелет, YrkA инициирует гибель клеток хозяина, так как показано, что N-концевые аминокислотные остатки 133–262 ответственны за индукцию апоптоза [117]. На мышинной модели инфекции установлено значительное снижение вирулетности YrkA-дефицитного мутанта *Y. pseudotuberculosis* [174]. Сведения о протективности YrkA *Y. pestis* ограничены. Установлено, что вакцинация YrkA *Y. pestis* стимулирует у мышей образование значительных уровней антител, достоверно удлиняет среднюю продолжительность жизни, но не влияет на выживаемость при подкожном заражении бескапсульным вариантом вирулентного штамма возбудителя чумы [10]. Wang S. и соавт. [171] попытались использовать ДНК-иммунизацию как подход для определения протективной эффективности YrkA при интразальном заражении. Однако даже после модификаций генетической последовательности *yrkA* авторам удалось добиться лишь частичной защиты при заражении вирулентным штаммом *Y. pestis* KIM1001.

Факторы, обеспечивающие репликацию в макрофагах

Y. pestis — факультативный внутриклеточный патоген, способный реплицироваться на ранней стадии инфицирования макрофагов [36, 37, 72, 154]. Pujol C. и соавт. [130] показали, что локус *pgm*, локализованный на хромосоме возбудителя чумы и ранее ассоциированный с системой транспорта железа, важен и для репликации клеток *Y. pestis* в макрофагах. Репликация Pgm⁺ бактерий *Y. pestis* в активированных макрофагах коррелирует с уменьшением содержания в них NO, при этом репликация Δ*pgm* бактерий *Y. pestis* возможна только в iNOS-макрофагах (iNOS — индуцибельная NO синтаза), в отсутствие NO. Было показано, что в составе *pgm*-локуса находится оперон, названный *rip* (required for intracellular proliferation), состоящий из трех генов *ripA*, *ripB*, *ripC* и необходимый для пролиферации бактериальных клеток внутри макрофагов. Показано, что мутантные штаммы с делецией любого из генов *ripA* и *ripB* неспособны снижать уровень NO и реплици-

роваться в активированных макрофагах [61, 130, 141, 147]. Белок RipA, кодируемый геном *ripA*, принадлежит семейству структурно гомологичных CoA трансфераз I, ответственных за перенос CoAS⁻ аниона от донора CoA тиоэфира к акцептору — свободной кислоте [166]. RipA, представляющий собой тетрамер, функционирует как бутирил-CoA-трансфераза [164]. Предполагаемая функция белка RipB — еноил-гидролаза. Анализ последовательности гена *ripC* и соответствующего ему белка, аннотированного ранее как субъединица белка цитратлиазы, а также отсутствие в геноме *Y. pestis* генов, кодирующих цитратлиазу, позволили Torres R. и соавт. [165] выдвинуть предположение о принадлежности белка RipC к производному CoA. Таким образом, возможный сценарий действия оперона — синтез ацетил-CoA, являющегося метаболическим предшественником в биосинтезе жирных кислот, необходимых для строительства клеточной стенки и, возможно, являющихся причиной падения содержания NO [107, 135, 136]. Авторы допустили, что конечным продуктом *rip*-оперона является бутират, который косвенно обладает способностью подавлять IFN-опосредованную индукцию макрофагами продукции NO, предотвращая гибель бактериальных клеток [81, 118]. BLAST анализ доступных геномов прокариот показал, что *rip*-оперон присутствует у микроорганизмов различных видов, в том числе *Salmonella* и *Burkholderia*, что свидетельствует о его роли в эволюции вирулентных микроорганизмов.

Регуляторные белки

Рецептор циклического аденозинмонофосфата (Cyclic AMP receptor protein — Crp) является регулятором вирулентности многих патогенов [114, 124, 133, 149, 177]. Crp контролирует экспрессию множества генов бактерий, ассоциированных с вирулентностью и отвечающих за приспособление к изменяющимся условиям окружающей среды [34]. Crp активен только в присутствии малой молекулы индуктора сАМР. Образовавшийся комплекс сАМР-Crp связывается с промоторными областями целевых генов, чтобы активировать или репрессировать их транскрипцию [34]. Комплекс сАМР-Crp модулирует экспрессию более 6% генов *Y. pestis*, продукты которых обладают большим разнообразием функций [177]. Crp необходим для развития бубонной и легочной чумы, в основе которых лежит Crp-зависимая экспрессия *pla* и оперона *sucO-ypkA-yopJ* системы секреции III типа Yop-Ysc *Y. pestis* [80, 99, 178]. В то же время экспрессия Crp положительно регулируется PhoP на уровне транскрипции и Hfq (главный посттранскрипционный регулятор, который контролирует образование

био пленки и вирулентность у штаммов *Y. pestis*) на посттранскрипционном уровне [87, 180], что указывает на значимость роли Crp в регуляции генов, кодирующих факторы патогенности *Y. pestis*. Crp или его гомологи регулируют контроль образования био пленок у многих патогенов: *Listeria monocytogenes* [140], *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* [104], *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* [167], *Vibrio cholerae* [53] и *Serratia marcescens* [77]. Установлено, что потеря Crp ведет к значительному снижению образования био пленки возбудителем чумы [175]. Причем показано, что Crp оказывает прямое влияние на транскрипцию *gmhA* и опосредованно активирует транскрипцию *waaAE-coaD* путем прямого влияния на *phoPQ*-YPO1632, но не оказывает регуляторного влияния на гены *hms* на уровне транскрипции [100].

Ингибиторы лизоцима

Возбудитель чумы обладает гомологами периплазматического ингибитора лизоцима Iyu и мембраносвязанного ингибитора лизоцима MliC. Показано, что MliC не требуется чумному микробу для устойчивости к лизоциму и развития инфекции. Делеция гена *iyu* снижала способность вирулентного штамма *Y. pestis* CO92 противостоять лизоциму и полиморфноядерным нейтрофилам, но не влияла на способность бактерии к росту в сыворотке или устойчивости к макрофагам. Штамм *Y. pestis*, лишенный Iyu, обладал сниженной вирулентностью для мышей при подкожном или интраназальном введении. При введении лизоцим-М-дефицитным мышам линии FVB, неспособным продуцировать лизоцим LysM, «дикий» штамм *Y. pestis* и его *Divu*-мутант обладали одинаковой вирулентностью [43].

Белки, участвующие в формировании био пленок

Важным процессом, обеспечивающим передачу возбудителя чумы новым теплокровным хозяевам, является размножение *Y. pestis* в организме блохи в виде бактериальных био пленок, заполняющих ее преджелудок и блокирующих прохождение пищи [1, 11, 32, 66, 67, 74, 75, 103, 122, 123]. Формирование био пленок у *Y. pestis* активируется циклическим дигуанилатмонофосфатом (ц-ди-ГМФ, c-di-GMP) [29] и подавляется двухкомпонентной регуляторной системой Rcs (regulation of capsular synthesis). Rcs состоит из двух мембранных белков — RcsD и RcsC, ДНК-связывающего регулятора — RcsB и вспомогательного белка — RcsA. После стимуляции RcsC сенсор автофосфорилируется и переносит фосфатную группу к RcsD и затем к RcsB. Фосфорилированный RcsB формирует RcsB гомополимер или RcsB/

RcsA гетеродимер. Гетерополимер RcsB/RcsA подавляет экспрессию HmsT, фермента дигуанилатциклазы, которая синтезирует с-di-GMP, что в итоге приводит к ингибированию продукции биопленок [156]. Наличие регулятора RcsB/RcsA в клетках *Y. pseudotuberculosis* приводит к невозможности формирования бактериями данного вида биопленок в организме насекомых [157, 158]. В штаммах *Y. pestis* ген *rcaA* инактивирован, замена данного гена на функциональный ген из возбудителя псевдотуберкулеза ведет к подавлению способности штаммов *Y. pestis* образовывать биопленки в преджелудке блох, что свидетельствует о необходимости этой стадии в эволюционном изменении механизма распространения микроорганизма.

Факторынутриционной вирулентности

Утрата вирулентности и/или снижение внутриклеточной выживаемости, вызванные мутациями в транспортных системах марганца (Mn), были продемонстрированы для различных патогенов, включая *Borrelia burgdorferi*, *Brucella abortus*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Porphyromonas gingivalis*, *Salmonella* spp., разные виды стрептококков и *Yersinia pseudotuberculosis* [8, 15, 24, 30, 44, 65, 73, 79, 96, 105, 115, 116, 151]. У грамотрицательных бактерий известны две системы транспорта марганца: Yfe/Sit и/или MntH. Установлено, что система Yfe *Y. pestis* участвует в транспорте Fe и Mn [20, 21, 120]. Позднее было показано, что мутация в *yfe* или *mntH* существенно не влияла на рост чумного микроба в аэробных условиях *in vitro* при дефиците Mn. Двойной мутант *ΔyfeΔmntH* показал умеренный дефект роста, который компенсировался добавлением Mn. Наконец, двойной мутант *Y. pestis ΔyfeΔmntH* имел ~133-кратную потерю вирулентности на модели бубонной чумы у мышей, но сохранял вирулентность на модели легочной чумы. Это говорит о том, что доступность Mn, потребность бактерии в Mn или транспортеры Mn, используемые *Y. pestis*, отличаются в легких (легочная чума) по сравнению с другими органами и системами [121].

Организм млекопитающего с помощью целого ряда механизмов ограничивает для внедрившихся патогенов доступность Zn^{2+} . Уровень Zn^{2+} в сыворотке крови представляет собой микромолярные количества, металл часто хелатирован белками трансферрином, альбумином или α_2 -макроглобулином [54, 132, 134, 173]. В ходе инфекции организм млекопитающего снижает концентрацию Zn^{2+} на системном уровне и локально, пытаясь ограничить доступность этого необходимого для патогенов микроэлемента [39, 54, 69, 78, 101, 132, 134, 152, 173]. Поэтому микроорганизмам

необходимы высокоаффинные системы получения Zn^{2+} в ходе инфекционного процесса. Для преодоления низкой концентрации Zn^{2+} , наблюдаемой внутри эукариотических клеток, многие патогенные бактерии используют транспортер цинка ZnuABC [59, 62, 78, 125]. Vobrov A.G. и соавт. [27] показали, что помимо транспортера ZnuABC возбудитель чумы обладает вторичным транспортером Zn^{2+} , включающим компоненты иерсиниабактина (Ybt), сидерофорозависимой транспортной системы железа. Авторы установили, что критичным для функционирования вторичной транспортной системы Zn^{2+} возбудителя чумы является синтез сидерофора Ybt и белка внутренней мембраны YbtX. Наконец, авторы показали, что система ZnuABC и Ybt-синтаза HMWP2, предположительно через синтез Ybt, способствуют развитию летальной инфекции на модели септической чумы у мышей. В дальнейшем Vobrov A.G. и соавт. [28] продемонстрировали в эксперименте на модели бубонной и легочной чумы, что двойной мутант *ΔybtXΔznu* аттенуирован для мышей, тогда как одинарный мутант *ΔybtX* сохранил вирулентность на уровне исходного штамма. Избыток Zn^{2+} обладает антимикробной активностью, снижая внутриклеточное выживание бактерий. Установлено, что экспортер Zn^{2+} ZntA способствует устойчивости к токсическим эффектам Zn^{2+} *in vitro*, однако двойной мутант *ΔzntAΔzru* сохраняет высокую вирулентность на моделях легочной и бубонной чумы и высокую выживаемость в макрофагах. Данные авторов показывают, что Ybt или модифицированный Ybt принимают участие в цинк-связывающей активности или способствуют таковой в супернатантах культур и вовлечены в получение Zn^{2+} чумным микробом.

Использование методик обратной (реверсивной) вакцинологии

Одной из главных задач при создании субъединичных вакцинных препаратов против чумы является идентификация антигенов *Y. pestis*, способных стимулировать протективный T-клеточный ответ, уникальную возможность обнаружения которых предоставляют полногеномное секвенирование, биоинформатика и протеомный анализ. Для поиска антигенов, способных стимулировать протективный T-клеточный ответ, Li B. и соавт. [95] на основе биоинформационного анализа и предварительно опубликованных результатов выбрали 261 ген *Y. pestis* для экспрессии в *Escherichia coli* BL21(DE3). После выделения и очистки 101 белок использовали для оценки способности

индуцировать продукцию IFN γ у мышей, вакцинированных *Y. pestis* EV76 методом ELispot. Авторы обнаружили, что 34 белка обладают способностью стимулировать Т-клеточное звено иммунитета. Протективная эффективность 24 из них была предварительно оценена на модели бубонной чумы у мышей линии BALB/c. Кроме известного LcrV внутримышечная иммунизация девятью белками (YPO0606, YPO1914, YPO0612, YPO3119, YPO3047, YPO1377, YPCD1.05c, YPO0420 и YPO3720) предоставляла частичную защиту от гибели при заражении малыми дозами *Y. pestis* ($20 \times LD_{50}$), но только YPO0606 был способен частично защитить мышей при заражении высокой дозой *Y. pestis* ($200 \times LD_{50}$). По мнению авторов, данный белок может быть рекомендован в качестве компонента при конструировании субъединичной вакцины.

В дальнейшем Zvi A. и соавт. [181] использовали комбинацию высокопроизводительного компьютерного и экспериментального подходов для идентификации CD8⁺ Т-клеточных (CD8⁺ T-cell — CTL) эпитопов у белков *Y. pestis*. С помощью современных алгоритмов прогнозирования авторы проанализировали потенциальную способность продуктов 4067 открытых рамок считывания *Y. pestis* связываться с молекулами класса I главного комплекса гистосовместимости (ГКГС). После тестирования продукции IFN γ спленоцитами вакцинированных мышей, индуцированной введением 1532 синтезированных пептидов, впервые отобрали 178 (11,8%) эпитопов, охватывающих 113 белков *Y. pestis*, способных стимулировать специфический Т-клеточный ответ. Ни один из этих белков не совпал с 34 белками-индукторами Т-клеточного ответа, обнаруженными в предыдущем исследовании [95]. Выбор среди вновь выявленных пептидов наиболее иммуногенных, способных обеспечивать эффективную защиту животных от гибели при заражении чумой, может быть проведен с помощью различных подходов, в числе которых доставка нескольких повторяющихся эпитопов в виде ДНК-вакцин и/или иммунизация препаратами, состоящими из смесей синтетических пептидов, усиленных добавлением различных адъювантов, возможно, вместе с известными иммунодоминантными антигенами чумного микроба.

Произвольный мутагенез индивидуально меченными транспозонами

Используя высокопроизводительный мутагенез индивидуально меченными транспозонами, Ponnusamy D. и соавт. [127] создали библиотеку из 5088 мутантов штамма *Y. pestis* CO92

и провели скрининг на модели легочной чумы у мышей. На основании гибридизации входной и выходной ДНК из мутантных пулов с 53 уникальными сигнатурными тегами авторы отобрали 118 клонов, неспособных к распространению в селезенку при заражающей дозе, эквивалентной $5 \times LD_{50}$ штамма *Y. pestis* CO92. Остаточная вирулентность 20 из выявленных мутантов была снижена и на модели бубонной чумы у мышей при подкожном введении $8 \times LD_{50}$, причем заражение десятью из них привело к 40%-ной или более высокой выживаемости при инфицирующей дозе $40 \times LD_{50}$. При проведении фрагментного секвенирования авторы обнаружили, что шесть аттенуированных мутантов несут нарушения в генах, кодирующих гипотетические белки или белки с предполагаемыми функциями. Клоны с мутациями внутри открытых рамок считывания гена *rbsA*, кодирующего предполагаемый АТФ-связывающий белок транспортной системы рибозы, и гена *vasK*, кодирующего компонент системы секреции VI типа, продемонстрировали аттенуацию при введении 11 или 12 LD_{50} на модели легочной чумы у мышей. Среди остальных 18 мутантов с сигнатурными метками 9 также были аттенуированы (от 40 до 100%) на модели легочной чумы у мышей при введении 12 LD_{50} . Ранее авторы обнаружили, что делеции в генах, кодирующих липопропротеин Брауна (*Lpp*) и ацилтрансферазу (*MsbB*), снижают вирулентность штамма *Y. pestis* CO92 на моделях бубонной и легочной чумы [145, 146]. Удаление генов *rbsA* и *vasK* в штаммах, несущих одиночную Δlpp или двойную $\Delta lpp\Delta msbB$ мутации, дополняло аттенуированный фенотип и обеспечивало выживание от 90 до 100% мышей на модели легочной чумы при заражающей дозе от 20 до 50 LD_{50} . После введения тройного мутанта $\Delta lpp\Delta msbB\Delta rbsA$ в дозе 50 LD_{50} до 90% мышей были защищены от гибели при последующем заражении 12 LD_{50} штамма «дикого» типа *Y. pestis* CO92, подтверждая тем самым, по мнению авторов, что данный мутант или другие, несущие комбинацию делеций генов, могут быть дополнительно испытаны при создании кандидата в живую аттенуированную вакцину против чумы. Позднее авторы создали и охарактеризовали еще три штамма с мутациями внутри открытых рамок считывания *upo0815* (кодирует белок GspE системы секреции II типа), *upo2884* (продукт обладает гомологией к суперсемейству BG crystallin), *upo3614-3168* (*cyoABCDE* — оперон цитохром с-оксидазы) и *upo1119-1120* (кодируют систему Tol-Pal) [9]. Созданные делеционные мутантные штаммы демонстрировали различные уровни аттенуации (до 100%) на моделях бубонной или легочной инфекции у мышей. Снижение вирулентности мутантов могло быть дополнительно усилено за счет создания сочетанных делеций, а имен-

но $\Delta lpp\Deltaupo0815$, $\Delta lpp\Deltaupo2884$, $\Delta lpp\Delta cyoABCDE$, $\Delta vasK\Delta hcp6$ и $\Deltaupo2720-2733\Delta hcp3$. На модели легочной чумы мыши, пережившие заражение мутантами $\Delta lpp\Delta cyoABCDE$, $\Delta vasK\Delta hcp6$ и $\Deltaupo2720-2733\Delta hcp3$, были на 55–100% защищены от гибели при последующем введении штаммов «дикого» типа CO92. Кроме того, оценка *in vitro* аттенуированных штаммов с мутациями в генах T6SS выявила значительные изменения в фагоцитозе, внутриклеточной выживаемости в макрофагах мышей и способности оказывать цитотоксические эффекты на макрофаги. Представленные в работе результаты служат дополнительным доказательством целесообразности STM-скрининга для идентификации новых факторов патогенности.

Понимание механизмов, которые бактерия использует для адаптации к организму млекопитающего при температуре 37°C, является центральным звеном при разработке вакцин и лекарственных препаратов для профилактики или лечения чумы. Используя библиотеку, содержащую около 1 млн случайных Tn5-мутантов штамма *Y. pestis* CO92, для секвенирования сайтов встраивания транспозона, Senior N.J. и соавт. [143] идентифицировали 530 генов, необходимых бактерии для роста при температуре 28°C, и 19 генов — при температуре 37°C, но не 28°C, в том числе принимающих участие в функционировании системы секреции III типа, в репликации ДНК и т. д. Комбинированный компьютерно-экспериментальный подход позволил выявить 54 гена, продукты которых необходимы для роста микроба при температуре тела млекопитающего и могут быть потенциальными мишенями для разработки препаратов для профилактики и лечения чумы.

Использование молекулярных мишеней для терапии чумы

Появление штаммов *Y. pestis*, устойчивых к антибиотикам, обуславливает необходимость разработки альтернативных антимикробных препаратов, эффективных против чумного микроба. В последнее время популярным стало исследование «ингибиторов вирулентности», или «генов домашнего хозяйства». Наибольшее количество работ связано с системой секреции III типа, обеспечивающей доставку в цитоплазму клеток иммунной системы хозяина ряда цитотоксинов. В качестве молекулярной мишени чаще всего исследуют тирозинфосфатазу YopH, которая парализует лимфоциты и макрофаги, дефосфорилируя критические тирозинкиназы и молекулы сигнальной трансдукции [91, 111, 160].

Еще одной привлекательной мишенью является активатор плазминогена Pla [31]. Бактериальные протеазы — важные факторы патогенности, инактивирующие защитные белки хозяина и способствующие разрушению тканей и распространению бактерий. Протеазы наружной мембраны семейства омптинов, примером которых является активатор плазминогена Pla *Y. pestis*, обнаружены в некоторых грамотрицательных бактериях. Омпиты расщепляют множество субстратов на границе раздела «хозяин—патоген», включая плазминоген и антимикробные пептиды. Было выявлено несколько субстратов омпитина, имеющих отношение к инфекции; тем не менее эффективный ингибитор омпитина еще предстоит найти. К настоящему моменту показано, что ингибитор сериновой протеазы апротинин действует как конкурентный ингибитор активности Pla и препятствует расщеплению мышинового кателицидин-родственного антимикробного пептида, причем активность проявляется в микромолярном диапазоне.

Y. pestis обладает системой активного поглощения железа на основе сидерофоров — секретуемых, хелатирующих железо соединений с чрезвычайно высоким сродством к нему [52]. Сидерофоры играют основную роль в усвоении бактериями железа в организме человека, где концентрация свободного железа значительно ниже той, которая требуется для роста бактерий и проявления вирулентности. Последнее делает биосинтез сидерофора привлекательной мишенью при разработке новых антимикробных препаратов.

Известно, что метилирование аденина в ДНК регулирует многочисленные метаболические процессы в бактериях, а изменение экспрессии ДНК-аденин-метилтрансферазы (Dam) аттенуирует целый ряд патогенов, включая *Y. pestis*. Отсутствие же у человека функционально схожего фермента делает Dam подходящей молекулярной мишенью для разработки новых терапевтических средств против чумы [106]. Кандидатные препараты оценивали на их способность ингибировать активность Dam в скрининговом анализе. Идентифицировали серию арилстибоновых кислот, которые ингибируют Dam *in vitro*. Наиболее активная 4-стибонбензолсульфокислота демонстрирует конкурентный способ ингибирования в отношении ДНК и Ki, равный 6,46 нМ. Обработка бактериальных клеточных культур этими препаратами приводила к снижению метилирования ДНК. Высказано предположение о том, что эти ингибиторы могут ослаблять бактериальную инфекционность и со временем заменить антибиотики.

Заключение

В последние три десятилетия достигнут значительный прогресс в понимании патогенеза чумной инфекции. Но несмотря на значительное количество публикаций, посвященных оценке возможности использования вновь выявляемых факторов патогенности в качестве молекулярных мишеней для совершенствования вакцинопрофилактики и/или терапии чумы, «идеальная» вакцина или «идеальное» антибактериальное средство пока еще не созданы. Наибольшие усилия исследователей при создании чумных субъединичных вакцин сконцентрированы на разработке препаратов, содержащих два основных иммунодоминантных антигена *Y. pestis*, Caf1 и LcrV, выявленных еще до середины прошлого века [51, 131, 150, 162]. Что же касается других антигенов/факторов патогенности чумного микроба, то все не так однозначно. В целом ряде случаев различными группами были получены противоречивые данные о значимости отдельных факторов патогенности в пато- и иммуногенезе чумы [41], что может быть связано с использованием разных пород/линий лабораторных животных [172]. Однако целый ряд исследователей считает, что сосредотачиваться исключительно на Caf1 и LcrV как на единственных протективных белках, подходящих для создания кандидатных чумных вакцин, было бы недальновидным по причине обнаружения структурного и серологического полиморфизма LcrV *Y. pestis* [13] и Caf1 [84]. Определенное беспокойство вызывают и высоковирулентные природные штаммы возбудителя чумы, лишенные способности продуцировать Caf1 и благодаря этому преодолевающие иммунитет, индуцированный вакцинами на основе данного антигена [150, 162]. Кроме того, несмотря на то что субъединичные вакцины на основе Caf1 и LcrV обеспечивают выраженный протективный эффект на нескольких животных моделях, данные белки не являются доминантными антигенами, стимулирующими Т-клеточное звено иммунитета для продолжительной защиты человека. В нескольких исследованиях продемонстрировано, что введение живых аттенуированных штаммов *Y. pestis* праймирует CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоциты, что помогает макроорганизму распознать набор антигенов чумного микроба, отличных от Caf1 и LcrV, которые стимулируют гуморальное звено иммунитета [97, 126]. Следовательно, должны существовать другие белки, имеющие значение для стимуляции клеточного иммунного ответа. Найти такие антигены поможет использование омиксного подхода, включающего геномику, транскриптомику и метаболомику.

Аналогичная ситуация складывается и с выбором генов-мишеней для аттенуации вирулентных штаммов чумного микроба. Продолжается поиск мишеней, нокаут которых не только обеспечивает отсутствие остаточной вирулентности, но и сохраняет высокую иммуногенность штамма для всех видов лабораторных животных, используемых для оценки протективности чумных вакцин.

Каждый из рассмотренных в обзоре кандидатов на роль факторов патогенности чумного микроба обладает и достоинствами, и недостатками. В настоящее время уже не оспаривается тот факт, что живые аттенуированные штаммы патогенных микроорганизмов, по сравнению с химическими и субъединичными вакцинами, способны стимулировать гораздо более эффективный иммунитет, по напряженности приближающийся к постинфекционному и защищающий от заражения различными по антигенному составу вариантами патогена. Однако ревакцинацию живыми чумными вакцинами можно проводить не ранее чем через 12 месяцев [3]. В более ранние сроки сохраняется достаточно напряженный иммунитет, не позволяющий клеткам вакцинного штамма размножиться и персистировать в иммунизируемом организме ограниченное время, достаточное для ревакцинации. Очевидно, что для экстренной ревакцинации в ранние сроки после вакцинации живой вакциной оптимальной является схема иммунизации, предложенная Дальвадянцем С.М. [2], включающая иммунизацию живой вакциной, а затем ревакцинацию субъединичной.

Поиски оптимального способа аттенуации при конструировании вакцинного штамма или определение антигенного/эпитопного и адьювантного составов молекулярной вакцины против чумы, а также способов ее презентации продолжаются. На наш взгляд, наиболее перспективными мишенями для иммунопрофилактики и иммунотерапии чумы являются поверхностно расположенные белки внешней мембраны и/или адгезины *Y. pestis*, а в качестве мишеней для антимикробной терапии лучше выбирать факторы нутриционной вирулентности чумного микроба, что позволит повысить эффективность разнонаправленного бактерицидного и/или бактериостатического действия иммунобиологических и/или лекарственных препаратов.

Работа выполнена в рамках отраслевой научно-исследовательской программы Роспотребнадзора на 2016–2020 гг. «Проблемно-ориентированные научные исследования в области эпидемиологического надзора за инфекционными и паразитарными болезнями».

Список литературы/References

1. Анисимов А.П. Факторы *Yersinia pestis*, обеспечивающие циркуляцию и сохранение возбудителя чумы в экосистемах природных очагов. Сообщение 2 // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2002. № 3. С. 3–23. [Anisimov A.P. *Yersinia pestis* factors ensuring circulation and persistence of the plague pathogen in ecosystems of natural foci. Communication 2. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya = Molecular Genetics, Microbiology and Virology*, 2002, no. 3, pp. 3–23. (In Russ.)]
2. Дальвадянц С.М., Дятлов И.А., Еремин С.А., Шуковская Т.Н., Саяпина Л.В., Сергеева Г.М., Кутырев В.В. Исследования по иммунизации против чумы. Сообщение 4. Опыт ревакцинации волонтеров «химической» и живой чумной вакцинами // Проблемы особо опасных инфекций. 2006. № 91. С. 57–61 [Dalvadyants S.M., Dyatlov I.A., Yeremin S.A., Schukovskaya T.N., Sayapina L.V., Sergheyeva G.M., Kutyrer V.V. Plague immunization studies. Communication 4. An experience of volunteer revaccination with the “chemical” and live plague vaccines. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2006, vol. 91, pp. 57–61. (In Russ.)]
3. Наумов А.В., Ледванов М.Ю., Дроздов И.Г. Иммунология чумы. Саратов, 1992. 172 с. [Naumov A.V., Ledvanov M.Yu., Drozdov I.G. Immunology of plague. *Saratov*, 1992. 172 p. (In Russ.)]
4. Achouak W., Heulin T., Pagès J.M. Multiple facets of bacterial porins. *Protein Sci.*, 2001, vol. 199, no. 1, 7 p. doi: 10.1111/j.1574-6968.2001.tb10642.x
5. Achtman M., Zurth K., Morelli G., Torrea G., Guiyoule A., Carniel E. *Yersinia pestis*, the cause of plague, is a recently emerged clone of *Yersinia pseudotuberculosis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999, vol. 96, pp. 14043–14048. doi: 10.1073/pnas.96.24.14043
6. Ackermann N., Tiller M., Anding G., Roggenkamp A., Heesemann J. Contribution of trimeric autotransporter C-terminal domains of oligomeric coiled-coil adhesin (Oca) family members YadA, UspA1, EibA, and Hia to translocation of the YadA passenger domain and virulence of *Yersinia enterocolitica*. *J. Bacteriol.*, 2008, vol. 190, pp. 5031–5043. doi: 10.1128/JB.00161-08
7. Aliprantis A.O., Yang R.B., Mark M.R., Suggett S., Devaux B., Radolf J.D., Klimpel G.R., Godowski P., Zychlinsky A. Cell activation and apoptosis by bacterial lipoproteins through toll-like receptor-2. *Science*, 1999, vol. 285, pp. 736–739. doi: 10.1126/science.285.5428.736
8. Anderson E.S., Paulley J.T., Gaines J.M., Valderas M.W., Martin D.W., Menscher E., Brown T.D., Burns C.S., Roop R.M. The manganese transporter MntH is a critical virulence determinant for *Brucella abortus* 2308 in experimentally infected mice. *Infect. Immun.*, 2009, vol. 77, pp. 3466–3474. doi: 10.1128/IAI.00444-09
9. Andersson J.A., Sha J., Erova T.E., Fitts E.C., Ponnusamy D., Kozlova E.V., Kirtley M.L., Chopra A.K. Identification of new virulence factors and vaccine candidates for *Yersinia pestis*. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 2017, vol. 7: 448. doi: 10.3389/fcimb.2017.00448
10. Andrews G.P., Strachan S.T., Benner G.E. Protective efficacy of recombinant *Yersinia* outer proteins against bubonic plague caused by encapsulated and non-encapsulated *Yersinia pestis*. *Infect. Immun.*, 1999, vol. 67, pp. 1533–1537.
11. Anisimov A.P. Factors providing the blocking activity of *Yersinia pestis*. *Mol. Gen. Mikrobiol. Virusol.*, 1999, vol. 4, pp. 11–15.
12. Anisimov A.P., Amoako K.K. Treatment of plague: promising alternatives to antibiotics. *J. Med. Microbiol.*, 2006, vol. 55, pp. 1461–1475. doi: 10.1099/jmm.0.46697-0
13. Anisimov A.P., Dentovskaya S.V., Panfersev E.A., Svetoch T.E., Kopylov P.Kh., Segelke B.W., Zemla A., Telepnev M.V., Motin V.L. Amino acid and structural variability of *Yersinia pestis* LcrV protein. *Infect. Genet. Evol.*, 2010, vol. 10, pp. 137–145. doi: 10.1016/j.meegid.2009.10.003
14. Anisimov A.P., Lindler L.E., Pier G.B. Intraspecific diversity of *Yersinia pestis*. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2004, vol. 17, no. 2, pp. 434–464. doi: 10.1128/CMR.17.2.434-464.2004
15. Arirachakaran P., Benjavongkulchai E., Luengpailin S., Ajdić D., Banas J.A. Manganese affects *Streptococcus mutans* virulence gene expression. *Caries Res.*, 2007, vol. 41 (6), pp. 503–511. doi: 10.1159/000110883
16. Auerbuch V., Loureiro J.J., Gertler F.B., Theriot J.A., Portnoy D.A. Ena/VASP proteins contribute to *Listeria monocytogenes* pathogenesis by controlling temporal and spatial persistence of bacterial actin-based motility. *Mol. Microbiol.*, 2003, vol. 49, no. 5, pp. 1361–1375.
17. Bartra S.S., Gong X., Lorica C.D., Jain C., Nair M.K., Schifferli D., Qian L., Li Z., Plano G.V., Schesser K. The outer membrane protein A (OmpA) of *Yersinia pestis* promotes intracellular survival and virulence in mice. *Microb. Pathog.*, 2012, vol. 52, no. 1, pp. 41–46. doi: 10.1016/j.micpath.2011.09.009
18. Bartra S.S., Styer K.L., O’Byrant D.M., Nilles M.L., Hinnebusch B.J., Aballay A., Plano G.V. Resistance of *Yersinia pestis* to complement-dependent killing is mediated by the Ail outer membrane protein. *Infect. Immun.*, 2008, vol. 76, pp. 612–622. doi: 10.1128/IAI.01125-07
19. Bear J.E., Gertler F.B. Ena/VASP: towards resolving a pointed controversy at the barbed end. *J. Cell Sci.*, 2009, vol. 122, pp. 1947–1953. doi: 10.1242/jcs.038125
20. Bearden S.W., Staggs T.M., Perry R.D. An ABC transporter system of *Yersinia pestis* allows utilization of chelated iron by *Escherichia coli* SAB11. *J. Bacteriol.*, 1998, vol. 180, pp. 1135–1147. doi: 10.1128/JB.180.5.1135-1147.1998
21. Bearden S.W., Perry R.D. The Yfe system of *Yersinia pestis* transports iron and manganese and is required for full virulence of plague. *Mol. Microbiol.*, 1999, vol. 32, pp. 403–414. doi: 10.1046/j.1365-2958.1999.01360.x
22. Behrens S., Kneip S. The role of SurA factor in outer membrane protein transport and virulence. *Int. J. Med. Microbiol.*, 2010, vol. 300, pp. 421–428. doi: 10.1016/j.ijmm.2010.04.012
23. Behrens S., Maier R., de Cock H., Schmid F.X., Gross C.A. The SurA periplasmic PPIase lacking its parvulin domains functions in vivo and has chaperone activity. *EMBO J.*, 2001, vol. 15, pp. 285–294. doi: 10.1093/emboj/20.1.285
24. Berry A.M., Paton J.C. Sequence heterogeneity of PsaA, a 37-kilodalton putative adhesin essential for virulence of *Streptococcus pneumoniae*. *Infect. Immun.*, 1996, vol. 64, pp. 5255–5262. doi: 10.1128/IAI.64.12.5255-5262.1996
25. Bierne H., Miki H., Innocenti M., Scita G., Gertler F.B., Takenawa T. WASP-related proteins, Abi1 and Ena/VASP are required for *Listeria* invasion induced by the Met receptor. *J. Cell Sci.*, 2005, vol. 118, pp. 1537–1547. doi: 10.1242/jcs.02285

26. Blaylock B., Berube B.J., Schneewind O. YopR impacts type III needle polymerization in *Yersinia* species. *Mol. Microbiol.*, 2010, vol. 75, pp. 221–229. doi: 10.1111/j.1365-2958.2009.06988.x
27. Bobrov A.G., Kirillina O., Fetherston J.D., Miller M.C., Burlison J.A., Perry R.D. The *Yersinia pestis* siderophore, yersiniabactin, and the ZnuABC system both contribute to Zinc acquisition and the development of lethal septicemic plague in mice. *Mol. Microbiol.*, 2014, vol. 93, pp. 759–775. doi: 10.1111/mmi.12693
28. Bobrov A.G., Kirillina O., Fosso M.Y., Fetherston J.D., Miller M.C., van Cleave T.T. Zinc transporters YbtX and ZnuABC are required for the virulence of *Yersinia pestis* in bubonic and pneumonic plague in mice. *Metallomics*, 2017, vol. 21, pp. 757–772. doi: 10.1039/c7mt00126f
29. Bobrov A.G., Kirillina O., Ryjenkov D.A., Waters C.M., Price P.A., Fetherston J.D. Systematic analysis of cyclic di-GMP signaling enzymes and their role in biofilm formation and virulence in *Yersinia pestis*. *Mol. Microbiol.*, 2011, vol. 79, no. 2, pp. 533–551. doi: 10.1111/j.1365-2958.2010.07470.x
30. Boyer E., Bergevin I., Malo D., Gros P., Cellier M.F.M. Acquisition of Mn(II) in addition to Fe(II) is required for full virulence of *Salmonella enteric* serovar Typhimurium. *Infect. Immun.*, 2002, vol. 70, pp. 6032–6042. doi: 10.1128/IAI.70.11.6032-6042.2002
31. Brannon J.R., Burk D.L., Leclerc J.M., Thomassin J.L., Portt A., Berghuis A.M., Gruenheid S., Le Moual H. Inhibition of outer membrane proteases of the omptin family by aprotinin. *Infect. Immun.*, 2015, vol. 83, no. 6, pp. 2300–2311. doi: 10.1128/IAI.00136-15
32. Brubaker R.R. Factors promoting acute and chronic diseases caused by *Yersinia*. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1991, vol. 4, pp. 309–324. doi: 10.1128/CMR.4.3.309
33. Burrows T.W. Virulence of *Pasteurella pestis*. *Nature*, 1957, vol. 179, pp. 1246–1247.
34. Busby S., Ebright R.H. Transcription activation by catabolite activator protein (CAP). *J. Mol. Biol.*, 1999, vol. 293, pp. 99–213. doi: 10.1006/jmbi.1999.3161
35. Butler T., Fu Y.S., Furman L., Almeida C., Almeida A. Experimental *Yersinia pestis* infection in rodents after intragastric inoculation and ingestion of bacteria. *Infect. Immun.*, 1982, vol. 36, pp. 1160–1167.
36. Cavanaugh D.C., Randall R. The role of multiplication of *Pasteurella pestis* in mononuclear phagocytes in the pathogenesis of fleaborne plague. *J. Immunol.*, 1959, vol. 83, pp. 348–371.
37. Charnetzky W.T., Shuford W.W. Survival and growth of *Yersinia pestis* within macrophages and an effect of the loss of the 47-megadalton plasmid on growth in macrophages. *Infect. Immun.*, 1985, vol. 47, pp. 234–241.
38. Chen Y., Duan R., Li X., Li K., Liang J., Liu C., Qiu H., Xiao Y., Jing H., Wang X. Homology analysis and cross-immunogenicity of OmpA from pathogenic *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis* and *Yersinia pestis*. *Mol. Immunol.*, 2015, vol. 68, pp. 290–299. doi: 10.1016/j.molimm.2015.09.016
39. Corbin B.D., Seeley E.H., Raab A., Feldmann J., Miller M.R., Torres V.J. Metal chelation and inhibition of bacterial growth in tissue abscesses. *Science*, 2008, vol. 319, pp. 962–965. doi: 10.1126/science.1152449
40. Delcour A. Function and modulation of bacterial porins: insight from electrophysiology. *FEMS Microbiol. Lett.*, 1997, vol. 151, pp. 115–125. doi: 10.3390/ijms20030674
41. Dentovskaia S.V., Kopylov P.Kh., Ivanov S.A., Ageev S.A., Anisimov A.P. A molecular basis of the plague vaccine development. *Mol. Gen. Mikrobiol. Virusol.*, 2013, vol. 3, pp. 3–12.
42. Dentovskaya S.V., Ivanov S.A., Kopylov P.Kh., Shaikhutdinova R.Z., Platonov M.E., Kombarova T.I., Gapelchenkova T.V., Balakhonov S.V., Anisimov A.P. Selective protective potency of *Yersinia pestis* Δ nlpD mutants. *Acta Naturae*, 2015, vol. 7, no. 1, pp. 102–108.
43. Derbise A., Pierre F., Merchez M. Inheritance of the lysozyme inhibitor Ivy was an important evolutionary step by *Yersinia pestis* to avoid the host innate immune response. *J. Infect. Dis.*, 2013, vol. 207, no. 10, pp. 1535–1543. doi: 10.1093/infdis/jit057
44. Dintilhac A., Alloing G., Granadel C., Claverys J.P. Competence and virulence of *Streptococcus pneumoniae*: Adc and PsaA mutants exhibit a requirement for Zn and Mn resulting from inactivation of putative ABC metal permeases. *Mol. Microbiol.*, 1997, vol. 25, pp. 727–739. doi: 10.1046/j.1365-2958.1997.5111879.x
45. Dukuzumuremyi J.M., Rosqvist R., Hallberg B., Akerstrom B., Wolf-Watz H., Schesse K. The *Yersinia* protein kinase A is a host factor inducible RhoA/Rac-binding virulence factor. *J. Biol. Chem.*, 2000, vol. 275, no. 45, pp. 35281–35290. doi: 10.1074/jbc.M003009200
46. Erova T.E., Rosenzweig J.A., Sha J., Suarez G., Sierra J.C., Kirtley M.L., van Lier C.J., Telepnev M.V., Motin V.L., Chopra A.K. Evaluation of protective potential of *Yersinia pestis* outer membrane protein antigens as possible candidates for a new-generation recombinant plague vaccine. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2013, vol. 20, no. 2, pp. 227–238. doi: 10.1128/CAI.00597-12
47. Felek S., Jeong J.J., Runco L.M., Murray S., Thanassi D.G., Krukoni E.S. Contributions of chaperone/usher systems to cell binding, biofilm formation and *Yersinia pestis* virulence. *Microbiology*, 2011, vol. 157, pp. 805–818. doi: 10.1099/mic.0.044826-0
48. Felek S., Krukoni E.S. The *Yersinia pestis* Ail protein mediates binding and Yop delivery to host cells required for plague virulence. *Infect. Immun.*, 2009, vol. 77, pp. 825–836. doi: 10.1128/IAI.00913-08
49. Felek S., Lawrenz M.B., Krukoni E.S. The *Yersinia pestis* autotransporter YapC mediates host cell binding, autoaggregation and biofilm formation. *Microbiology*, 2008, vol. 154, pp. 1802–1812. doi: 10.1099/mic.0.2007/010918-0
50. Felek S., Tsang T.M., Krukoni E.S. Three *Yersinia pestis* adhesins facilitate Yop delivery to eukaryotic cells and contribute to plague virulence. *Infect. Immun.*, 2010, vol. 78, pp. 4134–4150. doi: 10.1128/IAI.00167-10
51. Feodorova V.A., Corbel M.J. Prospects for new plague vaccines. *Expert Rev. Vaccines*, 2009, vol. 8, pp. 1721–1738. doi: 10.1586/erv.09.129
52. Ferreras J.A., Ryu J.S., Di Lello F., Tan D.S., Quadri L.E. Small-molecule inhibition of siderophore biosynthesis in *Mycobacterium tuberculosis* and *Yersinia pestis*. *Nat. Chem. Biol.*, 2005, vol. 1, no. 1, pp. 29–32. doi: 10.1038/nchembio706
53. Fong J.C., Yildiz F.H. Interplay between cyclic AMP-cyclic AMP receptor protein and cyclic di-GMP signaling in *Vibrio cholerae* biofilm formation. *J. Bacteriol.*, 2008, vol. 190, pp. 6646–6659. doi: 10.1128/JB.00466-08
54. Foote J.W., Delves H.T. Albumin bound and α 2-macroglobulin bound zinc concentrations in the sera of healthy adults. *J. Clin. Pathol.*, 1984, vol. 37, pp. 1050–1054. doi: 10.1136/jcp.37.9.1050

55. 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, vol. 76, pp. 578–587. doi: 10.1128/IAI.00219-07
56. Fu H., Belaouaj A.A., Dahlgren C., Bylund J. Outer membrane protein A-deficient *Escherichia coli* activates neutrophils to produce superoxide and shows increased susceptibility to antibacterial peptides. *Microbes Infect.*, 2003, vol. 5, pp. 781–788. doi: 10.1016/s1286-4579(03)00145-x
57. Gage K.L., Kosoy M.Y. Natural history of plague: perspectives from more than a century of research. *Annu. Rev. Entomol.*, 2005, vol. 50, pp. 505–528. doi: 10.1146/annurev.ento.50.071803.130337
58. Galindo C.L., Sha J., Moen S.T., Agar S.L., Kirtley M.L., Foltz S.M., McIver L.J., Kozlova E.V., Garner H.R., Chopra A.K. Comparative global gene expression profiles of wild-type *Yersinia pestis* CO92 and its braun lipoprotein mutant at flea and human body temperatures. *Comp. Funct. Genomics.*, 2010. doi: 10.1155/2010/342168
59. Graham A.I., Hunt S., Stokes S.L., Bramall N., Bunch J., Cox A.G. Severe zinc depletion of *Escherichia coli*: roles for high-affinity zinc binding by ZinT, zinc transport and zinc-independent proteins. *J. Biol. Chem.*, 2009, vol. 284, pp. 18377–18389. doi: 10.1074/jbc.M109.001503
60. Hakansson S., Galyov E.E., Rosqvist R., Wolf-Watz H. The *Yersinia YpkA Ser/Thr* kinase is translocated and subsequently targeted to the inner surface of the HeLa cell plasma membrane. *Mol. Microbiol.*, 1996, vol. 20, no. 3, pp. 593–603. doi: 10.1046/j.1365-2958.1996.5251051.x
61. Haneda T., Ishii Y., Danbara H., Okada N. Genome-wide identification of novel genomic islands that contribute to *Salmonella* virulence in mouse systemic infection. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2009, vol. 297, pp. 241–249. doi: 10.1111/j.1574-6968.2009.01686.x
62. Hantke K. Bacterial zinc uptake and regulators. *Curr. Opin. Microbiol.*, 2005, vol. 8, pp. 196–202. doi: 10.1016/j.mib.2005.02.001
63. Hantke K., Braun V. Covalent binding of lipid to protein. Diglyceride and amide-linked fatty acid at the N-terminal end of the mureinlipoprotein of the *Escherichia coli* outer membrane. *Eur. J. Biochem.*, 1973, vol. 34, pp. 284–296. doi: 10.1111/j.14321033.1973.tb02757.x
64. Hayashi S., Wu H.C. Lipoproteins in bacteria. *J. Bioenerg. Biomembr.*, 1990, vol. 22, no. 3, pp. 451–471. doi: 10.1007/BF00763177
65. He J., Miyazaki H., Anaya C., Yu F., Yeudall W.A., Lewis J.P. Role of *Porphyromonas gingivalis* FeoB2 in metal uptake and oxidative stress protection. *Infect. Immun.*, 2006, vol. 74, pp. 4214–4223. doi: 10.1128/IAI.00014-06
66. Hinnebusch B.J. Biofilm-dependent and biofilm-independent mechanisms of transmission of *Yersinia pestis* by fleas. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2012, vol. 954, pp. 237–243. doi: 10.1007/978-1-4614-3561-7_30
67. Hinnebusch B.J. Transmission factors: *Yersinia pestis* genes required to infect the flea vector of plague. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2003, vol. 529, pp. 55–62. doi: 10.1007/0-306-48416-1_11
68. 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, vol. 79, pp. 4984–4989. doi: 10.1128/IAI.05307-11
69. Hood M.I., Skaar E.P. Nutritional immunity: transition metals at the pathogen-host interface. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2012, vol. 10, pp. 525–537. doi: 10.1038/nrmicro2836
70. Ichikawa J.K., Li C., Fu J., Clarke S. A gene at 59 minutes on the *Escherichia coli* chromosome encodes a lipoprotein with unusual amino acid repeat sequences. *J. Bacteriol.*, 1994, vol. 176, pp. 1630–1638. doi: 10.1128/jb.176.6.1630-1638.1994
71. Jacob A., Hensley L.K., Safratowich B.D., Quigg R.J., Alexander J.J. The role of the complement cascade in endotoxin-induced septic encephalopathy. *Lab. Invest.*, 2007, vol. 87, pp. 1186–1194. doi: 10.1038/labinvest.3700686
72. Janssen W.A., Surgalla M.J. Plague bacillus: survival within host phagocytes. *Science*, 1969, vol. 163, no. 3870, pp. 950–952. doi: 10.1126/science.163.3870.950
73. Janulczyk R., Ricci S., Björck L. MtsABC is important for manganese and iron transport, oxidative stress resistance, and virulence of *Streptococcus pyogenes*. *Infect. Immun.*, 2003, vol. 71, pp. 2656–2664. doi: 10.1128/IAI.71.5.2656-2664.2003
74. Jarrett C.O., Deak E., Isherwood K.E., Oyston P.C., Fischer E.R., Whitney A.R. Transmission of *Yersinia pestis* from an infectious biofilm in the flea vector. *J. Infect. Dis.*, 2004, vol. 190, no. 4, pp. 783–792. doi: 10.1086/422695
75. Jarrett C.O., Sebbane F., Adamovicz J.J., Andrews G.P., Hinnebusch B.J. Flea-borne transmission model to evaluate vaccine efficacy against naturally acquired bubonic plague. *Infect. Immun.*, 2004, vol. 72, no. 4, pp. 2052–2056. doi: 10.1128/iai.72.4.2052-2056.2004
76. Juris S.J., Rudolph A.E., Huddler D., Orth K., Dixon J.E. A distinctive role for the *Yersinia* protein kinase: actin binding, kinase activation, and cytoskeleton disruption. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2000, vol. 97, no. 17, pp. 9431–9436. doi: 10.1073/pnas.170281997
77. Kalivoda E.J., Stella N.A., O'Dee D.M., Nau G.J., Shanks R.M. The cyclic AMP-dependent catabolite repression system of *Serratia marcescens* mediates biofilm formation through regulation of type 1 fimbriae. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2008, vol. 74, pp. 3461–3470. doi: 10.1128/AEM.02733-07
78. Kehl-Fie T.E., Skaar E.P. Nutritional immunity beyond iron: a role for manganese and zinc. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2010, vol. 14, pp. 218–224. doi: 10.1016/j.cbpa.2009.11.008
79. Kehres D.G., Janakiraman A., Slauch J.M., Maguire M.E. SitABCD is the alkaline Mn²⁺ transporter of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *J. Bacteriol.*, 2002, vol. 184, pp. 3159–3166. doi: 10.1128/JB.184.12.3159-3166.2002
80. Kim T.J., Chauhan S., Motin V.L., Goh E.B., Igo M.M., Young G.M. Direct transcriptional control of the plasminogen activator gene of *Yersinia pestis* by the cyclic AMP receptor protein. *J. Bacteriol.*, 2007, vol. 189, pp. 8890–8900. doi: 10.1128/JB.00972-07
81. Kim W.K., Jang P.G., Woo M.S., Han I.O., Piao H.Z., Lee K., Lee H., Joh T.H., Kim H.S. A new anti-inflammatory agent KL-1037 represses proinflammatory cytokine and inducible nitric oxide synthase (iNOS) gene expression in activated microglia. *Neuropharmacology*, 2004, vol. 47, no. 2, pp. 243–252. doi: 10.1016/j.neuropharm.2004.03.019
82. 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, vol. 78, pp. 5233–5243. doi: 10.1128/IAI.00783-10
83. Kolodziejek A.M., Sinclair D.J., Seo K.S., Schnider D.R., Deobald C.F., Rohde H.N., Viall A.K., Minnich S.S., Hovde C.J., Minnich S.A., Bohach G.A. Phenotypic characterization of OmpX, an Ail homologue of *Yersinia pestis* KIM. *Microbiology*, 2007, vol. 153, pp. 2941–2951. doi: 10.1099/mic.0.2006/005694-0

84. Kopylov P.Kh., Platonov M.E., Ablamunits V.G., Kombarova T.I., Ivanov S.A., Kadnikova L.A., Somov A.N., Dentovskaya S.V., Uversky V.N., Anisimov A.P. Yersinia pestis CafI protein: effect of sequence polymorphism on intrinsic disorder propensity, serological cross-reactivity and cross-protectivity of isoforms. *PLoS One*, 2016, vol. 11, no. 9: e0162308. doi: 10.1371/journal.pone.0162308
85. Lange R., Hengge-Aronis R. The nlpD gene is located in an operon with rpoS on the Escherichia coli chromosome and encodes a novel lipoprotein with a potential function in cell wall formation. *Mol. Microbiol.*, 1994, vol. 13, no. 4, pp. 733–743. doi: 10.1111/j.1365-2958.1994.tb00466.x
86. Lathem W.W., Price P.A., Miller V.L., Goldman W.E. A plasminogen-activating protease specifically controls the development of primary pneumonic plague. *Science*, 2007, vol. 15, pp. 509–513. doi: 10.1126/science.1137195
87. Lathem W.W., Schroeder J.A., Bellows L.E., Ritzert J.T., Koo J.T., Price P.A. Posttranscriptional regulation of the Yersinia pestis cyclic AMP receptor protein Crp and impact on virulence. *M. Bio.*, 2014, vol. 5: e01038-13. doi: 10.1128/mBio.01038-13
88. Lawrenz M.B., Lenz J.D., Miller V.L. A novel autotransporter adhesin is required for efficient colonization during bubonic plague. *Infect. Immun.*, 2009, vol. 77, pp. 317–326. doi: 10.1128/IAI.01206-08
89. Lawrenz M.B., Pennington J., Miller V.L. Acquisition of OmpT in reveals cryptic virulence function of autotransporter YapE in Yersinia pestis. *Mol. Microbiol.*, 2013, vol. 89, pp. 276–287. doi: 10.1111/mmi.12273
90. Lazar S.W., Kolter R. SurA assists the folding of Escherichia coli outer membrane proteins. *J. Bacteriol.*, 1996, vol. 178, pp. 1770–1773. doi: 10.1128/jb.178.6.1770-1773.1996
91. Lee K., Gao Y., Yao Z.J., Phan J., Wu L., Liang J., Waugh D.S., Zhang Z.Y., Burke T.R. Jr. Tripeptide inhibitors of Yersinia protein-tyrosine phosphatase. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2003, vol. 13, no. 15, pp. 2577–2581. doi: 10.1016/S0960-894X(03)00481-5
92. Lee V.T., Schneewind O. Type III machines of pathogenic yersiniae secrete virulence factors into the extracellular milieu. *Mol. Microbiol.*, 1999, vol. 31, pp. 1619–1629. doi: 10.1046/j.1365-2958.1999.01270.x
93. Lenz J.D., Temple B.R., 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, vol. 80, pp. 3693–3705. doi: 10.1128/IAI.00529-12
94. Letzelter M., Sorg I., Mota L.J., Meyer S., Stalder J., Feldman M. The discovery of SycO highlights a new function for type III secretion effector chaperones. *EMBO J.*, 2006, vol. 25, no. 13, pp. 3223–3233. doi: 10.1038/sj.emboj.7601202
95. Li B., Guo J., Wang X., Ni B., Ke Y., Zhu Z., Guo Z., Yang R. High-throughput identification of new protective antigens from a Yersinia pestis live vaccine by enzyme-linked immunospot assay. *Infect. Immun.*, 2009, vol. 77, no. 10, pp. 4356–4361. doi: 10.1128/IAI.00242-09
96. Lim K.H.L., Jones C.E., vanden Hoven R.N., Edwards J.L., Falsetta M.L., Apicella M.A., Jennings M.P., McEwan A.G. Metal binding specificity of the MntABC permease of Neisseria gonorrhoeae and its influence on bacterial growth and interaction with cervical epithelial cells. *Infect. Immun.*, 2008, vol. 76, pp. 3569–3576. doi: 10.1128/IAI.01725-07
97. Lin J.S., Szaba F.M., Kummer L.W., Chromy B.A., Smiley S.T. Yersinia pestis YopE contains a dominant CD8 T cell epitope that confers protection in a mouse model of pneumonic plague. *J. Immunol.*, 2011, vol. 187, no. 2, pp. 897–904. doi: 10.4049/jimmunol.1100174
98. Liu F., Chen H., Galván 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, vol. 74, pp. 5636–5644. doi: 10.1128/IAI.00612-06
99. Liu H., Wang H., Qiu J., Wang X., Guo Z., Qiu Y. Transcriptional profiling of a mice plague model: insights into interaction between Yersinia pestis and its host. *J. Basic Microbiol.*, 2009, vol. 49, no. 1, pp. 4992–4999. doi: 10.1002/jobm.200800027
100. Liu L., Fang H., Yang H., Zhang Y., Han Y., Zhou D., Yang R. CRP is an activator of Yersinia pestis biofilm formation that operates via a mechanism involving gmhA and waaAE-coaD. *Front. Microbiol.*, 2016, vol. 7. doi: 10.3389/fmicb.2016.00295
101. Liuzzi J.P., Lichten L.A., Rivera S., Blanchard R.K., Aydemir T.B., Knutson M.D. Interleukin-6 regulates the zinc transporter Zip14 in liver and contributes to the hypozincemia of the acute-phase response. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005, vol. 102, pp. 6843–6848. doi: 10.1073/pnas.0502257102
102. Llobet E., March C., Giménez P., Bengoechea J.A. Klebsiella pneumoniae OmpA confers resistance to antimicrobial peptides. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2009, vol. 53, pp. 298–302. doi: 10.1128/AAC.00657-08
103. Lorange E.A., Race B.L., Sebbane F., Hinnebusch B.J. Poor vector competence of fleas and the evolution of hypervirulence in Yersinia pestis. *J. Infect. Dis.*, 2005, vol. 191, no. 11, pp. 1907–1912. doi: 10.1086/429931
104. Lu X.H., An S.Q., Tang D.J., McCarthy Y., Tang J.L., Dowetal J.M. RsmA regulates biofilm formation in Xanthomonas campestris through a regulatory network involving cyclic-di-GMP and the Clp transcription factor. *PLoS One*, 2012, vol. 7: e25646. doi: 10.1371/journal.pone.0052646
105. Marra A., Lawson S., Asundi J.S., Brigham D., Hromockyj A.E. In vivo characterization of the psa genes from Streptococcus pneumoniae in multiple models of infection. *Microbiology*, 2002, vol. 148, pp. 1483–1491. doi: 10.1099/00221287-148-5-1483
106. McKelvie J.C., Richards M., Harmer J.E., Milne T.S., Roach P.L., Oyston P.C. Inhibition of Yersinia pestis DNA adenine methyltransferase in vitro by a stibonic acid compound: identification of a potential novel class of antimicrobial agents. *Br. J. Pharmacol.*, 2013, vol. 168, no. 1, pp. 172–188. doi: 10.1111/j.1476-5381.2012.02134.x
107. Melching L., Vas S.I. Effects of serum components on gram-negative bacteria during bactericidal reactions. *Infect. Immun.*, 1971, vol. 3, pp. 107–115.
108. Murphy B.S., Wulff C.R., Garvy B.A., Straley S.C. Yersinia pestis YadC: a novel vaccine candidate against plague. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2007, vol. 603, pp. 400–414. doi: 10.1007/978-0-387-72124-8_37
109. Navarro L., Koller A., Nordfelth R., Wolf-Watz H., Taylor S., Dixon J.E. Identification of a molecular target for the Yersinia protein kinase A. *Mol. Cell.*, 2007, vol. 26, pp. 465–477. doi: 10.1016/j.molcel.2007.04.025
110. Neilsen P.O., Zimmerman G.A., McIntyre T.M. Escherichia coli Braun lipoprotein induces a lipopolysaccharide-like endotoxic response from primary human endothelial cells. *J. Immunol.*, 2001, vol. 167, pp. 5231–5239. doi: 10.4049/jimmunol.167.9.5231
111. Nordfelth R., Kauppi A.M., Norberg H.A., Wolf-Watz H., Elofsson M. Small-molecule inhibitors specifically targeting type III secretion. *Infect. Immun.*, 2005, vol. 73, no. 5, pp. 3104–3114. doi: 10.1128/IAI.73.5.3104-3114.2005

112. Obi I.R., Francis M.S. Demarcating SurA activities required for outer membrane targeting of *Yersinia pseudotuberculosis* adhesions. *Infect. Immun.*, 2013, vol. 81, pp. 2296–2308. doi: 10.1128/IAI.01208-12
113. Obi I.R., Nordfelth R., Francis M.S. Varying dependency of periplasmic peptidylprolyl cis-trans isomerases in promoting *Yersinia pseudotuberculosis* stress tolerance and pathogenicity. *Biochem. J.*, 2011, vol. 439, pp. 321–332. doi: 10.1042/BJ20110767
114. Oh M.H., Lee S.M., Lee D.H., Choi S.H. Regulation of the *Vibrio vulnificus* hupA gene by temperature alteration and cyclic AMP receptor protein and evaluation of its role in virulence. *Infect. Immun.*, 2009, vol. 77, pp. 1208–1215. doi: 10.1128/IAI.01006-08
115. Ouyang Z., He M., Oman T., Yang X.F., Norgard M.V. A manganese transporter, BB0219 (BmtA), is required for virulence by the Lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2009, vol. 106, pp. 3449–3454. doi: 10.1073/pnas.0812999106
116. Paik S., Brown A., Munro C.L., Cornelissen C.N., Kitten T. The sloABCR operon of *Streptococcus mutans* encodes an Mn and Fe transport system required for endocarditis virulence and its Mn-dependent repressor. *J. Bacteriol.*, 2003, vol. 185, pp. 5967–5975. doi: 10.1128/JB.185.20.5967-5975.2003
117. Park H., Teja K., O'Shea J.J., Siegel R.M. The *Yersinia* effector protein YpkA induces apoptosis independently of actin depolymerization. *J. Immunol.*, 2007, vol. 178, no. 10, pp. 6426–6434. doi: 10.4049/jimmunol.178.10.6426
118. Park J.S., Lee E.J., Lee J.C., Kim W.K., Kim H.S. Anti-inflammatory effects of short chain fatty acids in IFN-gamma-stimulated RAW 264.7 murine macrophage cells: involvement of NF-kappaB and ERK signaling pathways. *Int. Immunopharmacol.*, 2007, vol. 7, pp. 70–77. doi: 10.1016/j.intimp.2006.08.015
119. Parkhill J., Wren B.W., Thomson N.R. Genome sequence of *Yersinia pestis*, the causative agent of plague. *Nature*, 2001, vol. 413, pp. 523–527. doi: 10.1038/35097083
120. Perry R.D., Abney J., Mier I. Jr., Lee Y., Bearden S.W., Fetherston J.D. Regulation of the *Yersinia pestis* Yfe and Ybt iron transport systems. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2003, vol. 529, pp. 275–283. doi: 10.1007/0-306-48416-1_53
121. Perry R.D., Craig S.K., Abney J., Bobrov A.G., Kirillina O., Mier I. Jr., Truszczynska H., Fetherston J.D. Manganese transporters Yfe and MntH are Fur-regulated and important for the virulence of *Yersinia pestis*. *Fur. Microbiol.*, 2012, vol. 158, pp. 804–815. doi: 10.1099/mic.0.053710-0
122. Perry R.D., Fetherston J.D. *Yersinia pestis* — etiologic agent of plague. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1997, vol. 10, no. 1, pp. 35–66. doi: 10.1128/CMR.10.1.35
123. Perry R.D., Shah J., Bearden S.W., Thompson J.M., Fetherston J.D. *Yersinia pestis* TonB: role in iron, heme, and hemoprotein utilization. *Infect. Immun.*, 2003, vol. 71, no. 7, pp. 4159–4162. doi: 10.1128/iai.71.7.4159-4162.2003
124. Petersen S., Young G.M. Essential role for cyclic AMP and its receptor protein in *Yersinia enterocolitica* virulence. *Infect. Immun.*, 2002, vol. 70, pp. 3665–3672. doi: 10.1128/IAI.70.7.3665-3672.2002
125. Petrarca P., Ammendola S., Pasquali P., Battistoni A. The Zur-regulated ZinT protein is an auxiliary component of the high-affinity ZnuABC zinc transporter that facilitates metal recruitment during severe zinc shortage. *J. Bacteriol.*, 2010, vol. 192, pp. 1553–1564. doi: 10.1128/JB.01310-09
126. Philipovskiy A.V., Smiley S.T. Vaccination with live *Yersinia pestis* primes CD4 and CD8 T cells that synergistically protect against lethal pulmonary *Y. pestis* infection. *Infect. Immun.*, 2007, vol. 75, no. 2, pp. 878–885. doi: 10.1128/IAI.01529-06
127. Ponnusamy D., Fitts E.C., Sha J., Erova T.E., Kozlova E.V., Kirtley M.L. High-throughput, signature-tagged mutagenic approach to identify novel virulence factors of *Yersinia pestis* CO92 in a mouse model of infection. *Infect. Immun.*, 2015, vol. 83, pp. 2065–2081. doi: 10.1128/IAI.02913-14
128. Prasadarao N.V., Wass C.A., Weiser J.N., Stins M.F., Huang S.H., Kim K.S. Outer membrane protein A of *Escherichia coli* contributes to invasion of brain microvascular endothelial cells. *Infect. Immun.*, 1996, vol. 64, pp. 146–153. doi: 10.1128/IAI.64.1.146-153.1996
129. Prehna G., Ivanov M.I., Bliska J.B., Stebbins C.E. *Yersinia* virulence depends on mimicry of host Rho-family nucleotide dissociation inhibitors. *Cell*, 2006, vol. 126, no. 5, pp. 869–880. doi: 10.1016/j.cell.2006.06.056
130. Pujol C., Grabenstein J.P., Perry R.D., Bliska J.B. Replication of *Yersinia pestis* in interferon-γ-activated macrophages requires ripA, a gene encoded in the pigmentation locus. *PNAS*, 2005, vol. 102, no. 36, pp. 12909–12914. doi: 10.1073/pnas.0502849102
131. Quenee L.E., Schneewind O. Plague vaccines and the molecular basis of immunity against *Yersinia pestis*. *Hum. Vaccin.*, 2009, vol. 5, pp. 817–823. doi: 10.4161/hv.9866
132. Rahuel-Claremont S., Dunn M.F. The biological chemistry of zinc. In: Rainsford K.D., Milanino R., Sorenson R.J., Velo G.P. Copper and zinc in inflammatory and degenerative diseases. *Kluwer Academic Publisher*, 1998, pp. 47–59.
133. Rickman L., Scott C., Hunt D.M., Hutchinson T., Menendez M.C., Whalan R. A member of the cAMP receptor protein family of transcription regulators in *Mycobacterium tuberculosis* is required for virulence in mice and controls transcription of the rpfA gene coding for a resuscitation promoting factor. *Mol. Microbiol.*, 2005, vol. 56, pp. 1274–1286. doi: 10.1111/j.1365-2958.2005.04609.x
134. Rink L., Haase H. Zinc homeostasis and immunity. *Trends Immunol.*, 2007, vol. 28, pp. 1–4. doi: 10.1016/j.it.2006.11.005
135. Roediger W.E. Nitric oxide-dependent nitrosation of cellular CoA: a proposal for tissue responses. *Nitric. Oxide*, 2001, vol. 5, no. 2, pp. 83–87. doi: 10.1006/niox.2001.0336
136. Roediger W.E., Babidge W.J. Nitric oxide effect on colonocyte metabolism: co-action of sulfides and peroxide. *Mol. Cell Biochem.*, 2000, vol. 206, no. 1–2, pp. 159–167. doi: 10.1023/a:1007034417320
137. Roggenkamp A., Ackermann N., Jacobi C.A., Truelzsch K., Hoffmann H., Heesemann J. Molecular analysis of transport and oligomerization of the *Yersinia enterocolitica* adhesin YadA. *J. Bacteriol.*, 2003, vol. 185, pp. 3735–3744. doi: 10.1128/JB.185.13.3735-3744.2003
138. Rouviere P.E., Gross C.A. SurA, a periplasmic protein with peptidyl-prolyl isomerase activity, participates in the assembly of outer membrane porins. *Genes Dev.*, 1996, vol. 10, pp. 3170–3182. doi: 10.1101/gad.10.24.3170
139. Runco L.M., Myrczek S., Bliska J.B., Thanassi D.G. Biogenesis of the fraction 1 capsule and analysis of the ultrastructure of *Yersinia pestis*. *J. Bacteriol.*, 2008, vol. 190, pp. 3381–3385. doi: 10.1128/JB.01840-07
140. Salazar J.K., Wu Z., Yang W., Freitag N.E., Tortorello M.L., Wang H. Roles of a novel Crp/Fnr family transcription factor Lmo0753 in soil survival, biofilm production and surface attachment to fresh produce of *Listeria monocytogenes*. *PLoS One*, 2013, vol. 8: e75736. doi: 10.1371/journal.pone.0075736

141. Santiviago C.A., Reynolds M.M., Porwollik S., Choi S.H., Long F. Analysis of pools of targeted Salmonella deletion mutants identifies novel genes affecting fitness during competitive infection in mice. *PLoS Pathog.*, 2009, vol. 5: e1000477. doi: 10.1371/journal.ppat.1000477
142. Schubot F.D., Cherry S., Austin B.P., Tropea J.E., Waugh D.S. Crystal structure of the protease-resistant core domain of Yersinia pestis virulence factor YopR. *Protein Sci.*, 2005, vol. 14, pp. 1679–1683. doi: 10.1110/ps.051446405
143. Senior N.J., Sasidharan K., Saint R.J., Scott A.E., Sarkar-Tyson M., Ireland P.M., Bullifent H.L., Rong Yang Z., Moore K., Oyston P.C.F., Atkins T.P., Atkins H.S., Soyer O.S., Titball R.W. An integrated computational-experimental approach reveals Yersinia pestis genes essential across a narrow or a broad range of environmental conditions. *BMC Microbiol.*, 2017, vol. 17, no. 1: 163. doi: 10.1186/s12866-017-1073-8
144. Seo K.S., Kim J.W., Park J.Y., Viall A.K., Minnich S.S., Rohde H.N. Role of a new intimin/invasin-like protein in Yersinia pestis virulence. *Infect. Immun.*, 2012, vol. 80, pp. 3559–3569. doi: 10.1128/IAI.00294-12
145. Sha J., Agar L.S., Baze W.B., Olano J.P., Fad A.A., Erova T.E., Wang S., Foltz S.M., Suarez G., Motin V.L., Chauhan S., Klimpel G.R., Peterson J.W., Chopra A.K. Braun lipoprotein (Lpp) contributes to virulence of Yersinia: potential role of Lpp in inducing bubonic and pneumonic plague. *Infect. Immun.*, 2008, vol. 76, no. 4, pp. 1390–1409. doi: 10.1128/IAI.01529-07
146. Sha J., Kirtley L.M., van Lier C.J., Wang S., Erova T.E., Kozlova E.V., Cao A., Cong Y., Fitts E.C., Rosenzweig J.A., Chopra A.K. Deletion of the braun lipoprotein-encoding gene and altering the function of lipopolysaccharide attenuate the plague bacterium. *Infect. Immun.*, 2013, vol. 81, pp. 815–828. doi: 10.1128/IAI.01067-12
147. Shi L., Adkins J.N., Coleman J.R., Schepmoes A.A., Dohnkova A. Proteomic analysis of Salmonella enterica serovar typhimurium isolated from RAW 264.7 macrophages: identification of a novel protein that contributes to the replication of serovar typhimurium inside macrophages. *J. Biol. Chem.*, 2006, vol. 281, pp. 29131–29140. doi: 10.1074/jbc.M604640200
148. Simonet M., Riot B., Fortineau N., Berche P. Invasin production by Yersinia pestis is abolished by insertion of an IS200-like element within the inv gene. *Infect. Immun.*, 1996, vol. 64, pp. 375–379.
149. Skorupski K., Taylor R.K. Cyclic AMP and its receptor protein negatively regulate the coordinate expression of cholera toxin and toxin-coregulated pilus in Vibrio cholerae. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1997, vol. 94, pp. 265–270. doi: 10.1073/pnas.94.1.265
150. Smiley S.T. Immune defense against pneumonic plague. *Immunol. Rev.*, 2008, vol. 225, pp. 256–271. doi: 10.1111/j.1600-065X.2008.00674.x
151. Smith A.J., Ward P.N., Field T.R., Jones C.L., Lincoln R.A., Leigh J.A. MtuA, a lipoprotein receptor antigen from Streptococcus uberis, is responsible for acquisition of manganese during growth in milk and is essential for infection of the lactating bovine mammary gland. *Infect. Immun.*, 2003, vol. 71, pp. 4842–4849. doi: 10.1128/IAI.71.9.4842-4849.2003
152. Sohnle P.G., Hunter Michael J., Hahn B., Chazin Walter J. Zinc reversible antimicrobial activity of recombinant calprotectin (migration inhibitory factor-related proteins 8 and 14). *J. Infect. Dis.*, 2000, vol. 182, pp. 1272–1275. doi: 10.1086/315810
153. Southern S.J., Scott A.E., Jenner D.C., Ireland P.M., Norville H., Sarkar-Tyson M. Survival protein A is essential for virulence in Yersinia pestis. *Microb. Pathog.*, 2016, vol. 92, pp. 50–53. doi: 10.1016/j.micpath.2015.12.013
154. Straley S.C., Harmon P.A. Growth in mouse peritoneal macrophages of Yersinia pestis lacking established virulence determinants. *Infect. Immun.*, 1984, vol. 45, no. 3, pp. 649–654.
155. Sugawara E., Nikaido H. Pore-forming activity of OmpA protein of Escherichia coli. *J. Biol. Chem.*, 1992, vol. 267, pp. 2507–2511.
156. Sun Y.C., Guo X.P., Hinnebusch B.J., Darby C. The Yersinia pestis Rcs phosphorelay inhibits biofilm formation by repressing transcription of the diguanylate cyclase gene hmsT. *J. Bacteriol.*, 2012, vol. 194, no. 8, pp. 2020–2026. doi: 10.1128/JB.06243-11
157. Sun Y.C., Hinnebusch B.J., Darby C. Experimental evidence for negative selection in the evolution of Yersinia pestis pseudogene. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 2008, vol. 105, no. 23, pp. 8097–8101. doi: 10.1073/pnas.0803525105
158. Sun Y.C., Jarrett C.O., Bosio C.F., Hinnebusch B.J. Retracing the evolutionary path that led to flea-borne transmission of Yersinia pestis. *Cell Host Microbe*, 2014, vol. 15, no. 5, pp. 578–586. doi: 10.1016/j.chom.2014.04.003
159. Suzuki H., Nishimura Y., Yasuda S., Nishimura A., Yamada M., Hirota Y. Murein-lipoprotein of Escherichia coli: a protein involved in the stabilization of bacterial cell envelope. *Mol. Gen. Genet.*, 1978, vol. 167, no. 1, pp. 1–9. doi: 10.1007/BF00270315
160. Tautz L., Bruckner S., Sareth S., Alonso A., Bogetz J., Bottini N., Pellicchia M., Mustelin T. Inhibition of Yersinia tyrosine phosphatase by furanyl salicylate compounds. *J. Biol. Chem.*, 2005, vol. 280, no. 10, pp. 9400–9408. doi: 10.1074/jbc.M413122200
161. Tidhar A., Flashner Y., Cohen S., Levi Y., Zauberman A., Gur D., Aftallon M., Elhanany E., Zvi A., Shafferman A., Mamroud E. The NlpD lipoprotein is a novel Yersinia pestis virulence factor essential for the development of plague. *PLoS One*, 2009, vol. 4: e7023. doi: 10.1371/journal.pone.0007023
162. Titball R.W., Williamson E.D. Yersinia pestis (plague) vaccines. *Expert. Opin. Biol. Ther.*, 2004, vol. 4, pp. 965–973. doi: 10.1517/14712598.4.6.965
163. Tormo A., Almiron M., Kolter R. SurA, an Escherichia coli gene essential for survival in stationary phase. *J. Bacteriol.*, 1990, vol. 172, pp. 4339–4347. doi: 10.1128/jb.172.8.4339-4347.1990
164. Torres R., Chim N., Sankaran B., Pujol C., Bliska J., Goulding C.W. Structural insights into RipC, a putative citrate lyase b subunit from a Yersinia pestis virulence operon. *Acta. Cryst.*, 2012, vol. 68, pp. 2–7. doi: 10.1107/S1744309111048056
165. Torres R., Lan B., Latif Y., Chima N., Goulding C.W. Structural snapshots along the reaction pathway of Yersinia pestis RipA, a putative butyryl-CoA transferase. *Acta. Cryst.*, 2014, vol. 70, pp. 1074–1085. doi: 10.1107/S1399004714000911
166. Torres R., Swift R.V., Chim N., Wheatley N., Lan B., Atwood B.R., Pujol C., Sankaran B., Bliska J.B., Amaro R.E., Goulding C.W. Biochemical, structural and molecular dynamics analyses of the potential virulence factor RipA from Yersinia pestis. *PLoS One*, 2011, vol. 6, iss. 9: e25084. doi: 10.1371/journal.pone.0025084
167. Torres-Escobar A., Juarez-Rodriguez M.D., Lamont R.J., Demuth D.R. Transcriptional regulation of Aggregatibacter actinomycetemcomitans lsrACDBFG and lsrRK operons and their role in biofilm formation. *J. Bacteriol.*, 2013, vol. 195, pp. 56–65. doi: 10.1128/JB.01476-12
168. Trasak C., Zenner G., Vogel A., Yuksekdag G., Rost R., Haase I. Yersinia protein kinase YopO is activated by a novel G-actin binding process. *J. Biol. Chem.*, 2007, vol. 282, no. 4, pp. 2268–2277. doi: 10.1074/jbc.M610071200

169. Tsang T.M., Felek S., Krukonis E.S. Ail binding to fibronectin facilitates *Yersinia pestis* binding to host cells and Yop delivery. *Infect. Immun.*, 2010, vol. 78, pp. 3358–3368. doi: 10.1128/IAI.00238-10
170. Van Lier C.J., Tiner B.L., Chauhan S., Motin V.L., Fitts E.C., Huante M.B., Endsley J.J., Ponnusamy D., Sha J., Chopra A.K. Further characterization of a highly attenuated *Yersinia pestis* CO92 mutant deleted for the genes encoding Braun lipoprotein and plasminogen activator protease in murine alveolar and primary human macrophages. *Microb. Pathog.*, 2015, vol. 80, pp. 27–38. doi: 10.1016/j.micpath.2015.02.005
171. Wang S., Joshi S., Mboudjeka I., Liu F., Ling T., Goguen J.D., Lu S. Relative immunogenicity and protection potential of candidate *Yersinia pestis* antigens against lethal mucosal plague challenge in Balb/C mice. *Vaccine*, 2008, vol. 26, pp. 1664–1674. doi: 10.1016/j.vaccine.2008.01.024
172. Weening E.H., Cathelyn J.S., Kaufman G., Lawrenz M.B., Price P., Goldman W.E., Miller V.L. The dependence of the *Yersinia pestis* capsule on pathogenesis is influenced by the mouse background. *Infect. Immun.*, 2011, vol. 79, no. 2, pp. 644–652. doi: 10.1128/IAI.00981-10
173. Weinberg E.D. Infectious diseases influenced by trace element environment. *Ann. NY Acad. Sci.*, 1972, vol. 199, pp. 274–284. doi: 10.1111/j.1749-6632.1972.tb54344.x
174. Wiley D.J., Nordfeldt R., Rosenzweig J., DaFonseca C.J., Gustin R., Wolf-Watz H. The Ser/Thr kinase activity of the *Yersinia* protein kinase A (YpkA) is necessary for full virulence in the mouse, mollifying phagocytes, and disrupting the eukaryotic cytoskeleton. *Microb. Pathog.*, 2006, vol. 40, no. 5, pp. 234–243. doi: 10.1016/j.micpath.2006.02.001
175. Willias S.P., Chauhan S., Lo C.C., Chain P.S., Motin V.L. CRP-mediated carbon catabolite regulation of *Yersinia pestis* biofilm formation is enhanced by the carbon storage regulator protein, CsrA. *PLoS One*, 2015, vol. 10: e0135481. doi: 10.1371/journal.pone.0135481
176. 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, vol. 24, pp. 28–40. doi: 10.1080/09687860600927626
177. Zhan L., Han Y., Yang L., Geng J., Li Y., Gao H. The cyclic AMP receptor protein, CRP, is required for both virulence and expression of the minimal CRP regulon in *Yersinia pestis* biovar *Microtus*. *Infect. Immun.*, 2008, vol. 76, pp. 5028–5037. doi: 10.1128/IAI.00370-08
178. Zhan L., Yang L., Zhou L., Li Y., Gao H., Guo Z. Direct and negative regulation of the *sycO-ypkA-yopJ* operon by cyclic AMP receptor protein (CRP) in *Yersinia pestis*. *BMC Microbiol.*, 2009, vol. 9: 178. doi: 10.1186/1471-2180-9-178
179. Zhang H.J., Peterson J.W., Niesel D.W., Klimpel G.R. Bacterial lipoprotein and lipopolysaccharide act synergistically to induce lethal shock and proinflammatory cytokine production. *J. Immunol.*, 1997, vol. 159, pp. 4868–4878.
180. Zhang Y., Wang L., Han Y., Yan Y., Tan Y., Zhou L. Autoregulation of PhoP/PhoQ and positive regulation of the cyclic AMP receptor protein-cyclic AMP complex by PhoP in *Yersinia pestis*. *J. Bacteriol.*, 2013, vol. 195, pp. 1022–1030. doi: 10.1128/JB.01530-12
181. Zvi A., Rotem Sh., Zauberman A., Elia U., Aftalion M., Bar-Haim E., Mamroud E., Cohen O. Novel CTL epitopes identified through a *Y. pestis* proteome-wide analysis in the search for vaccine candidates against plague. *Vaccine*, 2017, vol. 35, no. 44, pp. 5995–6006. doi: 10.1016/j.vaccine.2017.05.092

Авторы:

Красильникова Е.А., младший научный сотрудник лаборатории микробиологии чумы отдела особо опасных инфекций ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии, п. Оболенск, Московская область, Россия;

Трунякова А.С., стажер-исследователь лаборатории микробиологии чумы отдела особо опасных инфекций ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии, п. Оболенск, Московская область, Россия;

Вагайская А.С., младший научный сотрудник лаборатории микробиологии чумы отдела особо опасных инфекций ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии, п. Оболенск, Московская область, Россия;

Светоч Т.Э., научный сотрудник лаборатории микробиологии чумы отдела особо опасных инфекций ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии, п. Оболенск, Московская область, Россия;

Шайхутдинова Р.З., старший научный сотрудник лаборатории микробиологии чумы отдела особо опасных инфекций ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии, п. Оболенск, Московская область, Россия;

Дентовская С.В., д.м.н., главный научный сотрудник лаборатории микробиологии чумы отдела особо опасных инфекций ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии, п. Оболенск, Московская область, Россия.

Authors:

Krasil'nikova E.A., Junior Researcher, Laboratory for Plague Microbiology, Department of Infectious Diseases, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation;

Trunyakova A.S., Research Assistant, Laboratory for Plague Microbiology, Department of Infectious Diseases, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation;

Vagaiskaya A.S., Junior Researcher, Laboratory for Plague Microbiology, Department of Infectious Diseases, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation;

Svetoch T.E., Researcher, Laboratory for Plague Microbiology, Department of Infectious Diseases, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation;

Shaikhutdinova R.Z., Senior Researcher, Laboratory for Plague Microbiology, Department of Infectious Diseases, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation;

Dentovskaya S.V., PhD, MD (Medicine), Head Researcher, Laboratory for Plague Microbiology, Department of Infectious Diseases, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation.

Поступила в редакцию 19.07.2019
Отправлена на доработку 11.11.2019
Принята к печати 26.11.2019

Received 19.07.2019
Revision received 11.11.2019
Accepted 26.11.2019