

КАПСУЛЬНЫЙ АНТИГЕН ЧУМНОГО МИКРОБА

Л.А. Кадникова, П.Х. Копылов, С.В. Дентовская, А.П. Анисимов

ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, п. Оболensk, Московская область, Россия

Резюме. Чума — зоонозное заболевание, вызванное грамотрицательной бактерией *Yersinia pestis*, которая, как правило, передается человеку от зараженных грызунов через укус инфицированной блохи. Данный микроорганизм убил больше людей, чем все войны в истории человечества. Циркуляция *Y. pestis* в природных очагах чумы обеспечивается целым рядом факторов патогенности различной функциональной направленности. В обзоре рассматривается один из них — капсульный антиген чумного микроба (F1 или Caf1). Описаны история открытия, генетический контроль, условия биосинтеза, выделение, очистка и физико-химические свойства капсульного антигена, а также обсуждается его вклад в патогенез чумы и его использование в качестве основного компонента чумных вакцин. Визуально аморфная при световой микроскопии капсула *Y. pestis* при электронной микроскопии высокого разрешения представляет собой структуру, сформированную из отдельных фимбриеподобных тяжей длиной до 200 нм, расходящихся в разные стороны от поверхности бактерии. При температуре 37°C образуется в 800–1000 раз больше капсульного антигена, чем при 28°C. Гены, кодирующие белок Caf1 с молекулярной массой субъединицы 17,6 kDa, состоящей из 170 аминокислот, локализованы в *caf1* опероне на плазмиде pFra. На основе анализа первичной нуклеотидной последовательности *caf1* оперона было установлено его филогенетическое родство с кластерами генов, кодирующих секреторируемые с помощью шаперон/ашерных систем пилевые адгезины не только других энтеробактерий, но и еще шесть адгезинов чумного микроба. Размножение клеток *Y. pestis* внутри макрофагов является обязательным этапом патогенеза чумы, а вирулентность чумного микроба коррелирует не с устойчивостью к захвату фагоцитами, а со способностью выживать и размножаться в фаголизосомах фагоцитарных клеток за счет подавления антибактериальных функций фагоцитов. Капсула, образованная из агрегатов Caf1, защищает клетки *Y. pestis* от захвата интактными фагоцитами хозяина, препятствует инициации альтернативного пути активации комплемента. Молекулярный ашер Caf1A, ответственный за закрепление капсульного антигена на поверхности бактериальной клетки, имеет высокий аффинитет к человеческому интерлейкину 1β. Caf1 может вступать в конкуренцию с интерлейкинами 1α, 1β и 1γ за связывание с рецепторами на лимфоидных клетках, препятствуя развитию адекватного иммунного ответа. Иммунодиагностика чумы построена на выявлении Caf1 или анти-Caf1-антител, так как этот антиген *Y. pestis* видоспецифичен. Покрывающий поверхность микробных клеток капсульный антиген — важнейший составной элемент всех современных чумных вакцин. Показана его ведущая роль в создании напряженного иммунитета у белых мышей, крыс, приматов и человека. Однако в организме иммунного животного могут накапливаться бескапсульные (Caf1⁻) варианты *Y. pestis*, сохранившие вирулентность на уровне исходных штаммов «дикого типа». Это свидетельствует о недопустимости использования моноантигенных чумных вакцин и необходимости конструирования иммунопрофилактических препаратов, направленных на 2–3 молекулярные мишени.

Ключевые слова: *Yersinia pestis*, капсульный антиген, F1, Caf, фактор патогенности, патогенез, иммуногенез, чума.

Адрес для переписки:

Кадникова Лидия Александровна
142279, Россия, Московская область, п. Оболensk,
ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии
Роспотребнадзора.
Тел.: 8 (925) 848-70-29.
E-mail: kadnikova_lidiya@mail.ru

Contacts:

Lidiya A. Kadnikova
142279, Russian Federation, Moscow Region, Obolensk,
State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology.
Phone: +7 (925) 848-70-29.
E-mail: kadnikova_lidiya@mail.ru

Библиографическое описание:

Кадникова Л.А., Копылов П.Х., Дентовская С.В., Анисимов А.П.
Капсульный антиген чумного микроба // Инфекция и иммунитет. 2015.
Т. 5, № 3. С. 201–218. doi: 10.15789/2220-7619-2015-3-201-218

Citation:

Kadnikova L.A., Kopylov P.K., Dentovskaya S.V., Anisimov A.P. Capsular antigen of *Yersinia pestis* // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2015, vol. 5, no. 3, pp. 201–218. doi: 10.15789/2220-7619-2015-3-201-218

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 14-15-00599).

CAPSULAR ANTIGEN OF *YERSINIA PESTIS*

Kadnikova L.A., Kopylov P.K., Dentovskaya S.V., Anisimov A.P.

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

Abstract. Plague is a zoonosis caused by gram-negative bacteria *Yersinia pestis*, which, as a rule, is transmitted to humans from septicemic rodents by the bites of infected fleas. This microbe killed more people than all of the wars in the human history. *Y. pestis* circulation in the natural plague foci is ensured by the whole number of pathogenicity factors with differing functional orientation. This review is devoted to one of them, *Y. pestis* capsular antigen (F1 or Caf1). The history of its discovery and studying of its genetic control, biosynthesis, isolation and purification, and physicochemical properties are reviewed. Its roles in plague pathogenesis and its application as a main component of plague vaccines are also discussed. *Y. pestis* capsule under light microscopy is visually amorphous, while high-resolution electron microscopy displays the structure formed from separate fimbria-like cords up to 200 nm long, diverging from the bacterial surface in different directions. At 37°C *Y. pestis* produce 800–1000 times more capsular antigen than at 28°C. Genes coding for 17.6-kD Caf1 protein, which contains 170 amino acids, are located in *caf1* operon of pFra plasmid. Analysis of *caf1* operon nucleotide sequence testified its close phylogenetic relationship with the gene clusters coding for pilus adhesins that were secreted with the help of chaperone/usher systems in enterobacteria including six additional adhesins in *Y. pestis*. *Y. pestis* multiplication within macrophages is the obligatory stage of plague pathogenesis, and the plague pathogen virulence correlates not with resistance to phagocyte ingesting but with bacterial ability to survive and multiply within phagolysosomes of phagocytes due to neutralization of antibacterial functions of eukaryotic cells. The capsule formed out of the Caf1 aggregates protects *Y. pestis* from ingestion by naïve host's phagocytes and prevents from initiation of the alternative pathway of the complement system. Molecular usher Caf1A responsible for capsular antigen anchoring on the surface of bacterial cell has a high affinity to human interleukin 1β. Caf1 can compete with interleukins 1α, 1β, and 1ra in binding to receptors on lymphoid cells preventing development of adequate immune response. Immunodiagnosis of plague is based on detection of Caf1 or anti-Caf1 antibodies since this *Y. pestis* antigen is species specific. Covering bacterial surfaces capsular antigen is also the paramount component of all modern plague vaccines. Its leading role in induction of intense immunity in mice, rats, monkeys, and men was shown clearly. However, non-capsulated (Caf1⁻) variants of *Y. pestis* keeping their virulence at the level of the wild-type strains might be selected and accumulated in immune animals. This indicates inadmissibility of application of monoantigen plague vaccines and necessity for design of immunoprophylactic preparations aimed at two or three molecular targets.

Key words: *Yersinia pestis*, capsular antigen, F1, Caf1, pathogenicity factor, pathogenesis, immunogenesis, plague.

История открытия, условия биосинтеза, выделение, очистка и физико-химические свойства капсульного антигена

Наличие капсулы у возбудителя чумы было установлено еще А. Yersin [95]. Более детально феномен капсулообразования у *Y. pestis* описан S. Rowland [81] и Н. Schütze [85], которые наблюдали, что при росте на искусственных питательных средах при температуре 37°C и в организме теплокровных животных чумной микроб синтезирует желатиноподобное вещество, окружающее в виде капсулы бактериальные клетки и постепенно диффундирующее в окружающую среду. А.И. Желтенков [17] отмечал, что капсула состоит из «гомогенного вещества слизистой консистенции, плохо окрашивающегося анилиновыми красками. В некоторых случаях толщина оболочечной субстанции (капсулы) может в несколько раз превосходить толщину самой бактериальной клетки. Довольно часто оболочечная субстанция окружает не каждого микроба в отдельности, а целые группы их». Для выделения оболочечного антигена Н. Schütze [85]

выращивал культуру возбудителя чумы на агаре в течение 48 ч при температуре 37°C, затем суспендировал бактериальные клетки в физиологическом растворе и нагревал суспензию при температуре 60°C 90 мин. После центрифугирования супернатант состоял в большей своей массе из оболочечного антигена и в меньшей части — из соматического антигена.

Большинство последующих исследований по изучению физико-химических и иммунохимических свойств капсульного антигена были выполнены на основе препаратов фракции I (Ф1, FI, F1 или Caf1), выделенных из водно-солевого экстракта ацетонвысушенных клеток по способу, разработанному Baker E.E. и др. [45].

При температуре 37°C образуется в 800–1000 раз больше капсульного антигена, чем при 28°C [45]. При температуре 37°C в среду культивирования переходит 30–50% синтезируемого антигена [42]. Было принято считать, что в клетках, выращенных при температуре 28°C, капсула не образуется, а фракция I может быть выявлена после дезинтеграции клеток [58]. Однако использование высокочувствительных методов позволило обнаружить у клеток чумного микроба, выращенных при температуре 28°C, капсульный

антиген, расположенный на поверхности клетки [41]. Продукция F1 возможна в широком диапазоне pH с максимальным выходом капсульного антигена в интервале pH от 6,3 до 7,3 [76].

На уровень синтеза F1 влияет не только температура, но и состав питательной среды. Для высокого уровня синтеза питательная среда должна содержать аргинин, триптофан, α -аминоасляную кислоту, тирозин, глицин, орнитин, гистидин, пантотенат кальция, глюконат кальция и витамин В1. Отсутствие в среде одного из данных веществ приводит к резкому снижению (от 40 до 83,6%) выработки антигена [37].

Классическая методика выделения фракции I по Baker E.E. и др. [45] заключается в следующем. Штамм *Y. pestis* «дикого» типа выращивают при температуре 37°C на плотной питательной среде в течение трех суток. Клетки смывают 0,9% раствором хлорида натрия и двукратно обеззараживают охлажденным ацетоном. Капсульный антиген экстрагируют из ацетонвысушенных клеток 2,5% раствором хлорида натрия в течение суток при комнатной температуре. Выделение капсульного антигена из солевого раствора проводят с помощью переосаждения насыщенным раствором сульфата аммония (pH 7,5). Препарат, преципитирующий при насыщении 0,25–0,3, был обозначен как F1A, а при 0,3–0,33 — F1B. Указанные субфракции были серологически идентичны, но фракция IA помимо белка содержала полисахаридный компонент, в то время как фракция IB — чистый белок. Основным недостатком этого метода получения антигена F1 является то, что для его выделения использовали не собственно вещество капсулы *Y. pestis*, а экстракт из разрушенных ацетоном бактериальных клеток, содержащий также компоненты клеточной стенки и протоплазмы.

Метод выделения F1 из ацетонвысушенных клеток был усовершенствован В.И. Вейнблатом [8], который для более полного извлечения антигена из водно-солевого раствора предложил его экстракцию трихлоруксусной кислотой. Это позволило получить дополнительные фракции IC и ID, серологически идентичные фракциям IA и IB по результатам реакции нейтрализации антител (РНAt) и реакции двойной иммунодиффузии в геле (РДИД). Однако, в отличие от фракций IA, IB и IC, фракция ID не реагировала в реакции непрямой (пассивной) гемагглютинации (РНГА). Было высказано предположение, что это «связано с более глубокой гаптенизацией препарата». По своему химическому составу фракции IC и ID оказались белковонуклеополисахаридными комплексами, поскольку содержали 60–69% белка, 28–31% полисахарида, 1–2% нуклеиновых кислот.

Исходя из того, что капсульный антиген прочно связан с микробной клеткой и легко переходит в среду культивирования [42], в последнее время его чаще всего выделяют из куль-

туральной жидкости. Препарат F1, полученный путем фракционирования культуральной жидкости сульфатом аммония [42, 78] превосходил по своей иммунохимической активности препараты, полученные по оригинальной методике Baker E.E. и др. [45]. В 1983 г. М.М. Титенко с соавт. [35] предложили метод выделения F1 из культуральной жидкости осаждением в изоэлектрической точке, что позволило значительно сократить сроки и увеличить выход конечного продукта. Л.Н. Сердобинцевым [32] был разработан метод выделения F1 из культуральной жидкости с использованием колоночной хроматографии на молекулярных ситах.

Препараты F1, выделенные из жидкой среды выращивания, были лишены полисахаридных примесей и представляли собой монокомпонентную белковую систему [9, 35, 78]. В то же время есть данные, что даже препараты F1, выделенные из супернатанта культур, выращенных на жидких средах, содержат примеси липополисахарида (ЛПС) [42]. Комплексное исследование капсулообразования с помощью иммунологических и электронно-микроскопических методов показало, что гелеподобная капсула *Y. pestis* образована F1 антигеном, постепенно переходящим в окружающую среду в процессе культивирования [18, 52]. Хотя после указанных выше экспериментов, клонирования и определения первичной нуклеотидной последовательности *cafI* (или *caf*) оперона [68], кодирующего капсулообразование у *Y. pestis*, и конструирования бескапсульных вариантов возбудителя чумы за счет делеции части структурного гена *cafI* [32], тот факт, что структурный компонент капсулы *Y. pestis* состоит из белка, получил практически всеобщее признание, периодически появляются публикации, свидетельствующие о качественно иной структуре «субстанции», ответственной за антигенную и биологическую активность капсульного материала [19, 21, 56]. На наш взгляд, основой для этого заблуждения послужила работа Glosnicka R. и Gruszkiewicz E. [63], которые в качестве источника выделения антигена «панкреатического перевара оболочки» (АППО, pancreatic envelope digest antigen) использовали ацетонвысушенные клетки штамма EV, выращенные в течение 48 ч при температуре 37°C. Антигены экстрагировали 0,9%-ным раствором хлористого натрия, а надосадочную жидкость использовали в последующих экспериментах. Неочищенный «экстракт капсульной оболочки» содержал 32% белков, 2% углеводов и значительное количество нуклеиновых кислот. Наличие в препарате последних свидетельствует о разрушении клеток в процессе подобной обработки и, на наш взгляд, термин «экстракт капсульной оболочки» неправомерен, так как помимо антигенов, находящихся на клеточной поверхности, в нем присутствуют и экстрагированные внутриклеточные компоненты.

Последующее использование ферментативного переваривания панкреатином, хроматографии на колонках, содержащих смесь мембран эритроцитов человека с целитом, и рехроматографии на сефадексе G-200, позволило получить однородный препарат АППО, обладающий высокой специфичностью в серологических реакциях и рецепторной активностью по отношению к фагу чумного микроба. Изучение химических и физических свойств антигена продемонстрировало его липополисахаридную природу. Показано, что углеводная часть препарата состояла из галактозы и фукозы. Липидная фракция содержала фосфатидилэтаноламин и фосфатидилсерин. По предварительным данным, ЛПС АППО отличался от ЛПС клеточной оболочки *Y. pestis* отсутствием глюкозы, гексаминов и наличием этаноламина. Чтобы подчеркнуть различия ЛПС АППО и эндотоксина возбудителя чумы, он был обозначен термином «галактолипид». Было высказано мнение, что за антигенную специфичность галактолипида ответственна его полисахаридная часть [63]. Другой группой исследователей из препарата капсульного антигена, полученного осаждением сульфатом аммония по Baker E.E. и др. [45], методом Вестфаля–Людерица выделен ЛПС, обладающий значительной вязкостью и не вызывающий летального шока у мышей при внутрибрюшинном введении в дозах 1–2 мг [19], что дополнительно, по мнению авторов работы, подтверждало белково-липополисахаридную организацию фракции I чумного микроба. Однако в экспериментах Baker E.E. и др. [45] F1A и F1B после обработки трипсином теряли свою иммунохимическую активность. Кроме того, простое строение галактолипида, представляющего собой по сути гаптен, не позволяет рассчитывать на его высокую иммуногенность, но он может индуцировать синтез антител к минимальным количествам примесей белка, сохранившегося в липидных мицеллах, являясь, по сути, липидным адьювантом.

Фракции IA и IB, полученные по методу Baker E.E. и др. [45], а также фракции IC и ID, выделенные по способу В.И. Вейнבלата с соавт. [9], представляли собой серии молекулярных агрегатов с молекулярными массами от 300 kDa до 1,5 MDa. Выделение капсульного антигена более щадящими методами из культуральной жидкости, исключая этапы обработки ацетоном и высушивания, позволяет получать агрегат субъединиц с молекулярной массой до 2,0 MDa [42].

Определение изоэлектрической точки F1 показало, что ее величина для фракции IA составляла 4,5, а для IB — 4,7 [45], или 4,6 и 4,8 соответственно [47]. Следует отметить, что эти данные характеризуют препараты фрагментированного капсульного антигена, выделенного в достаточно жестких условиях. Значения pI для препа-

ратов выделенных из культуральной жидкости с помощью гелевой фильтрации или изоэлектрической преципитации составляло $3,95 \pm 0,05$ [35] или $4,1 \pm 0,05$ [9]. Изоэлектрическая точка для препаратов, полученных из культуральной жидкости высаливанием сульфатом аммония с последующей очисткой от эндотоксина с помощью хроматографии на иммобилизованном полимиксине В, находилась в диапазоне 4,3–4,5 [42]. Эти отличия могут свидетельствовать об изменении, и, может быть, определенной степени нарушения структуры и конформации макромолекул антигена, выделенного из ацетонвысушенных клеток, и влиянии на величину pI примесей липополисахарида. Изоэлектрическая точка F1, рассчитанная на основе данных о первичной нуклеотидной последовательности его субъединицы, составляет 4,3 [60].

Структурная организация капсульного антигена

В исследованиях с применением сканирующей электронной микроскопии Т.Н. Chen и S.S. Elberg [52] показали, что капсульный антиген образует на поверхности бактерий грануляционный слой, который постепенно диффундирует в окружающую среду. Н.П. Коннов и др. [23] при негативном контрастировании клеток *Y. pestis* установили, что капсула отстояла на 0,125 нм от клеточной стенки и имела четкие контуры. Однако при достаточно интенсивном отмывании зона капсульного вещества истончалась, и образовывались участки, полностью лишенные капсулы. Совместное использование иммуноферритинового метода и электронной микроскопии позволило А.Г. Золотареву и соавт. [18] подтвердить эти данные. Капсула на электронных микрофотографиях представлена в виде обрывков фибриллярного материала (диаметр отдельных фибрилл около 3 нм) [20, 82] или внеклеточного фибриллярного матрикса [52, 82]. Однако в большинстве случаев капсула *Y. pestis* определялась как аморфное вещество (рис. 1), и только при достаточном увеличении на снимках можно было видеть элементы ячеистой структуры капсулы и отдельные «фимбриеподобные тяжи» длиной до 200 нм [82], расходящиеся в разные стороны от поверхности бактерии. Капсулы некоторых энтеротоксигенных или способных вызывать септицемию штаммов *Escherichia coli* образованы белковым антигеном CS31A, представляющим собой фимбрию диаметром 2 нм [62], а структурная субъединица этих пилей — ClpG — филогенетически родственна структурной субъединице капсульного антигена Caf1 [48].

В отношении молекулярной организации капсульного антигена, большинство исследователей поддерживают точку зрения о том, что F1 состоит из большого числа субъединиц. Было

показано, что ген *cafI* кодирует белок CafI с молекулярной массой 17,6 kDa, состоящей из 170 аминокислот. При удалении сигнального пептида из CafI образуется зрелый белок с молекулярной массой 15,5 kDa [60].

Компьютерное сравнение аминокислотной последовательности капсульного антигена с первичными структурами других известных белков выявило несколько гомологичных участков. Установлена гомология CafI с сегментами константных доменов рецептора Т-лимфоцитов, с β -структурным оболочечным белком вируса иммунодефицита обезьян, а также с сегментом гемолизина холерного вибриона и предшественником аденилатциклазы возбудителя коклюша. Предполагают, что найденные гомологичные фрагменты сравниваемых белков обладают близкими структурными, а возможно, и функциональными свойствами [13].

Диссоциация агрегатов F1 на субъединицы происходила при прогревании образцов, содержащих 0,1% меркаптоэтанола и 0,25% додецилсульфата натрия (ДСН), в течение 5 мин при температуре 95°C. Устранение ДСН из препаратов белка приводило к реассоциации субъединиц в серию агрегатов, отличающихся по молекулярной массе [47]. Позднее [90] было показано, что под влиянием денатурирующих факторов, таких как температура, ДСН и мочевины, происходила диссоциация агрегированной формы капсульного антигена. Так, прогревание капсульного антигена при 100°C в течение трех минут вызывало его диссоциацию до тетрамера с молекулярной массой 55 kDa. Лиофилизированный препарат капсульного антигена под влиянием ДСН частично распадался, образуя набор олигомеров с различными молекулярными массами. Прогревание F1 в буфере, содержащем 0,1% ДСН, при 100°C в течение 3 минут приводило к образованию субъединичной формы антигена. Присутствие 0,1% ДСН в растворе капсульного антигена не влияло на иммунохимическую активность препарата. Прогревание капсульного антигена в буфере с 7 М мочевиной приводило к диссоциации до димера с молекулярной массой 25 kDa. Удаление денатурирующих агентов из раствора приводило к ассоциации субъединиц в тетрамеры. С течением времени происходила реассоциация субъединиц в олигомеры большей молекулярной массы. Характер денатурирующего воздействия температуры, вызывающей абсолютное преобладание в растворе тетрамера, указывает на то, что данная структура обладает конформационным оптимумом и обеспечивает максимальное взаимодействие комплементарных поверхностей субъединиц. Процесс формирования тетрамеров фракции I происходит в результате образования водородных связей между отдельными димерами, а формирование димеров происходит, в основном, за счет гидрофобных взаимодействий.

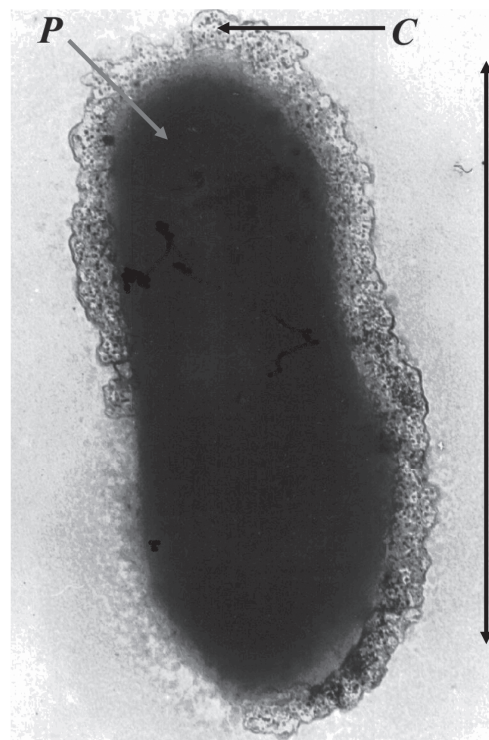


Рисунок 1. Электронная микрофотография единичной клетки штамма *Y. pestis* M-493

Примечание. Негативное контрастирование. Размер масштабной линейки — 1 мкм. Бактерии выращивали 48 ч при температуре 37°C. P — протоплазма (protoplasm). C — капсула (capsule).

О пространственной структуре агрегатов субъединиц капсульного антигена есть следующие предположения: молекула F1 в водных растворах имеет форму вытянутого эллипсоида вращения и может быть отнесена к асимметричным белкам с хаотически скрученными высоко-сольватированными полипептидными цепями [45]; по данным спектров рассеяния, структурная организация F1 не может соответствовать модели жесткой асимметричной частицы, а четвертичная структура может быть собрана непосредственно из тетрамеров [39]. В составе капсульного антигена отсутствует цистеин. Таким образом, вторичная, третичная и четвертичная структуры капсульного белка образуются без участия дисульфидных связей [60].

Генетический контроль продукции капсульного антигена

Как показали О.А. Проценко с соавт. [27], гены, ответственные за синтез F1 и «мышинного» токсина, локализованы на внехромосомном репликоне. В результате передачи реципиентным клеткам *Y. pestis* плазмиды с молекулярной массой около 60 MDa трансформанты приобретали способность к продукции антигена F1 и «мышин-

ного» токсина. Плазмида, считавшаяся до этого криптической, была обозначена rFra/Tox (позднее название было сокращено до rFra).

Молекулярная масса репликаона, кодирующего синтез F1, вариабельна и может достигать у полевочных штаммов 80 MDa, а у отдельных штаммов основного подвида — 190 MDa [38]. Описан также штамм Dodson с редуцированной формой плазмиды — < 40 MDa [75]. Показана возможность обратимой интеграции плазмиды rFra в различные участки хромосомы *Y. pestis* [28, 77].

Оперон *cafI*, кодирующий продукцию капсульного антигена, был впервые клонирован из EcoRI банка больших плазмид *Y. pestis* А.В. Карлышевым с соавт. в 1984 г. в составе космидного вектора рНС79 в клетках *E. coli*. Не позднее 1987 г. аналогичные работы были проведены в НИИ микробиологии МО РФ (цитируется по И.В. Дармову с соавт. [12]), а также в 1988 г. в РосНИПЧИ «Микроб» О.Г. Шишкиной с соавт. [40].

Анисимовым А.П. с соавт. [3, 4] на основе аттенуированных штаммов *Y. pestis* были сконструированы продуценты капсульного антигена, обладающего повышенной на 3–4 порядка (по сравнению со штаммами «дикого типа») серологической активностью. Было высказано предположение, что увеличение серологической активности связано с повышенной степенью агрегации субъединиц CafI в результате повышенной экспрессии *cafI* оперона в составе мультикопийных плазмид.

Система экспрессии генов на основе рекомбинантного поксвируса енотов (рода ортопоксвирусов (*Ortopoxvirus*) семейства *Poxviridae*) обеспечивала уровни экспрессии F1, достаточные для защиты иммунизированных рекомбинантной вирусной вакциной животных от заражения чумой [71].

Удалось добиться высокого уровня экспрессии структурного гена *cafI* и в растении, табаке Бентхама (*Nicotiana benthamiana*), инфицированном рекомбинантным вирусом табачной мозаики. Выделенный из растения и очищенный F1 антиген защищал морских свинок после подкожной иммунизации от аэрогенного заражения вирулентным штаммом *Y. pestis* [84].

По данным Karlyshev А. и др. [60, 68] структурная субъединица капсульного антигена кодируется геном *cafI* размером в 510 нуклеотидных пар (рис. 2). Белок-предшественник антигена F1 состоит из 170 аминокислотных остатков. Участок отщепления сигнальной последовательности расположен между 21-м и 22-м остатками аланина. Второй ген отвечает за синтез белка CafIM. Данный белок является периплазматическим шапероном. CafIM состоит из двух иммуноглобулиноподобных доменов и имеет гомологию с периплазматическим шапероном PapD *E. coli*. Третий ген кодирует ашер-белок CafIA, обеспечивающий, закрепление капсульного антигена

на поверхности бактериальной клетки. Белки CafIM и CafIA также обладают сигнальными последовательностями. Четвертый ген *cafI* оперона кодирует белок CafIR, который отвечает за температурозависимую регуляцию экспрессии трех остальных генов оперона.

Проведенный нами анализ структурного гена *cafI* с помощью программы BLAST на сайте NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi>) свидетельствует, что большинство доступных последовательностей полностью идентичны. В штаммах кавказского подвида Pestoides F. [61] и G8786 [64] в результате единичной замены нуклеотида произошла замена аланина на серин (A48 → S48), а в штаммах *Y. pestis* E1979001 (bv. *antiqua*) и F1991016 (bv. *orientalis*) мутации привели к возможности синтеза только укороченных до 147 и 130 аминокислотных остатков и, вероятно, функционально неполноценных вариантов белка CafI. Секвенирование гена *cafI* из 41 штамма, выделенного на территории Грузии и Армении от полевых и их эктопаразитов, показало, что для них всех характерна замена A48 → S48, а штаммы, выделенные в этом же регионе от песчанок или сусликов, обладали канонической последовательностью гена *cafI* [79].

На основе анализа первичной нуклеотидной последовательности *cafI* оперона было установлено его филогенетическое родство с кластерами генов, кодирующих пилевые и непилевые адгезины энтеробактерий. Образование пилей на поверхности клетки происходит из субъединиц синтезированных внутриклеточно. Структурные компоненты бактериальных фимбрий синтезируются в виде предшественников с N-концевой сигнальной последовательностью, которая отщепляется в процессе переноса через внутреннюю мембрану. Этот перенос обеспечивается «нормальной» экспортной системой, описанной впервые у *E. coli* [54]. В настоящее время принято считать, что за дальнейший перенос из периплазмы на клеточную поверхность через внешнюю мембрану отвечают специфичные для экспорта и сборки фимбрий системы, включающие в себя находящиеся в периплазме молекулярные шапероны и расположенные на клеточной поверхности молекулярные ашеры. Эти протеины не являются компонентами органелл [69]. Аналогичный кластер генов (*cafI* оперон) возбудителя чумы отвечает за синтез белковой капсулы, представляющей собой гомоагрегат субъединиц капсульного антигена. Структурные субъединицы, кодируемые геном *cafI*, синтезируются в виде предшественника с лидерной (сигнальной) последовательностью протяженностью в 21 аминокислотный остаток. Сравнение аминокислотных последовательностей протеина CafI с некоторыми субъединицами фимбрий показало, что C-концевые участки этих белков высококонсервативны и могут отвечать за «узнавание» периплазматическими

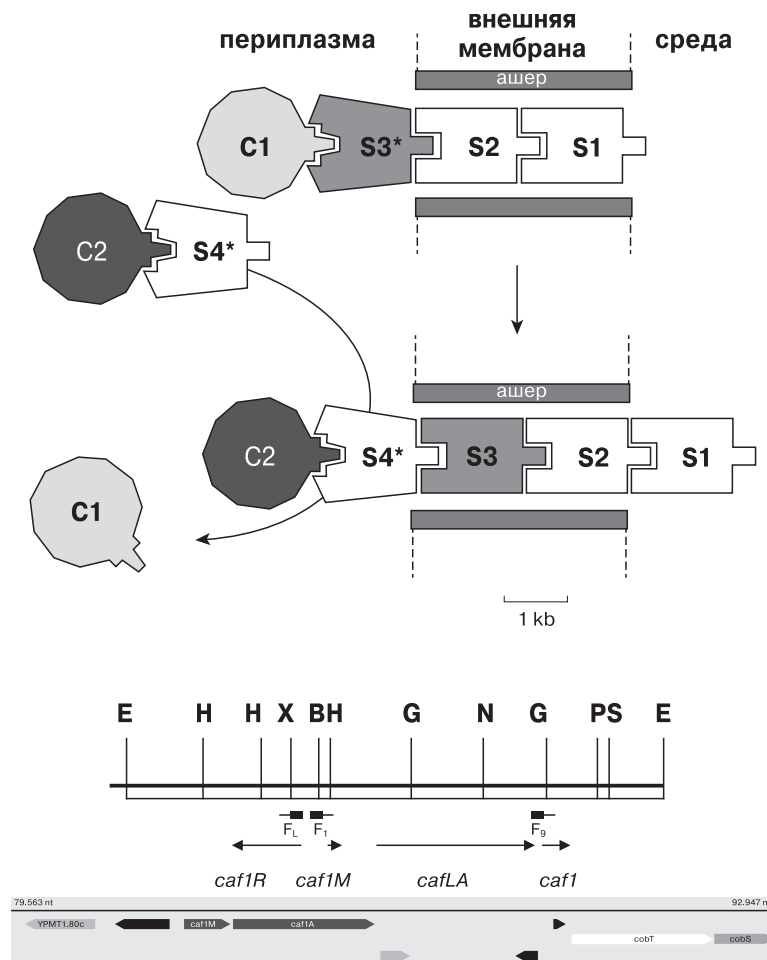


Рисунок 2. Модель сборки фимбрий из субъединиц Caf1 [46, 68]

Примечание. Шаперон Caf1M препятствует фолдингу субъединицы Caf1 в периплазме, сохраняя состояние молекулы с высоким запасом энергии. В трансмембранном канале, образованном ашером Caf1A, Caf1M:Caf1 комплекс (Caf1M₂:Caf1₄^{*}) замещает шаперон (Caf1M₁) на проксимальной субъединице фимбрий (Caf1₃^{*}), позволяя последней сложиться в окончательную конформацию (Caf1₃). Полагают, что освобождаясь при этом энергия обеспечивает процесс сборки фимбрий. «*» указывает на высокий запас энергии у субъединиц, связанных с шаперонами.

шаперонами. Ген *caf1M* кодирует шаперон, обладающий значительной гомологией с шаперонами семейства *PapD*. Ген *caf1A* отвечает за синтез белка, гомологичного фимбриальным ашером: FaeD, F1mD, MrkD, PapC. Ген *caf1R*, обеспечивающий позитивную терморегуляцию капсулообразования, кодирует протеин гомологичный представителям семейства XylS/AraC регуляторов трансляции [68].

Принято считать, что иммуноглобулиноподобные периплазматические шапероны взаимодействуют со структурными субъединицами адгезинов в периплазматическом пространстве по принципу антитело–антиген, предохраняя последние от протеолитической деградаци и преждевременной агрегации в периплазме, и затем «эскортируют» структурные элементы органелл к следующему компоненту секреторной системы — ашеру, расположенному на внешней мембране (рис. 2). Молекулярный ашер, в свою очередь, служит в качестве высокоспецифичного канала, обеспечивающего секрецию комплек-

са периплазматический шаперон–структурная субъединица, и платформы, обеспечивающей правильную сборку структурных субъединиц в органеллы после ашер-опосредованного отсоединения их от шаперонов [46, 65]. Показано, что отсутствие в бактериальных клетках периплазматических шаперонов FocC и F1mC или молекулярных ашеров FocD и F1mD, участвующих в биогенезе органелл, приводило к полному прекращению образования пилей [69]. «Выключение» гена, кодирующего периплазматический шаперон ClpE, вызывало резкое снижение секреции структурных элементов [48]. Для секреции структурной субъединицы капсульного антигена *Y. pestis* в клетках *E. coli* не был необходим ашер Caf1A, и было достаточно периплазматического шаперона Caf1M, но в этом случае не происходило образование органелл на клеточной поверхности, а структурные субъединицы Caf1 переходили в среду культивирования [68, 82]. В отсутствие же шаперона Caf1M секрецию не выявляли. В клетках *Y. pestis* в отсутствие

ашера Caf1A секреция не происходила — отмечали агрегацию субъединиц Caf1 в периплазме [82]. Вероятно в клетках *E. coli* присутствовал частично гомологичный ашер, образующий трансмембранный канал, пригодный для секреции Caf1 из периплазмы, но лишенный структуры, необходимой для «заякоривания» структурных субъединиц F1 на клеточной поверхности.

Отсутствие в клетках *E. coli*, несущих дефектный по гену *caf1M* оперон *caf1*, детектируемых количеств F1 позволило предположить, что для экспрессии и секреции капсульного антигена необходим продукт гена *caf1M*, обладающий гомологией с периплазматическим шапероном PapD из *E. coli*. В данной серии экспериментов тестирование продукции F1 проводили с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) и РНГА [68]. Однако в ряде других экспериментов было показано, что фрагмент ДНК, ограниченный сайтами BamHI, EcoRI и дефектный по гену *caf1M*, обеспечивал в клетках *E. coli* синтез капсульного антигена, выявляемого с помощью ИФА [87] или РДИД [10]. Инсерционный мутагенез гена *caf1M* также приводил к образованию антигена F1, выявляемого в РДИД и РНАт, но не в РНГА [4].

Роль капсульного антигена в патогенезе

Реализация патогенных свойств *Y. pestis* в организме восприимчивого хозяина требует присутствия у возбудителя чумы целого набора факторов патогенности различной функциональной направленности и системы регуляции, обеспечивающей их координированную экспрессию. Абсолютизирование роли любого отдельно взятого из указанных факторов некорректно [2]. Однако детальный анализ каждого из этих факторов лежит в основе системного подхода при изучении патогенности и вирулентности *Y. pestis*.

Роль капсульного антигена в патогенезе чумы неоднозначна. Капсула, образованная из F1, защищает клетки *Y. pestis* от захвата интактными нейтрофилами хозяина [50]. Это согласуется с общепризнанной ролью бактериальных капсул, препятствующих поглощению бактерий фагоцитарными клетками макроорганизма [89]. С одной стороны, они экранируют пептидогликан или ЛПС бактериальной клетки, препятствуя инициации альтернативного пути активации комплемента [72], но F1, напротив, истощает систему комплемента за счет избирательной активации C2 и C4 компонентов системы комплемента сыворотки человека и таким образом препятствует комплемент-опосредованной опсонизации бактерий [92]. С другой стороны, повышение устойчивости к фагоцитозу обычно коррелирует с увеличением отрицательного заряда микробной клетки, способствующего электростатическому отталкиванию от одноименно заряженных фаго-

цитов [89]. Но в клетках *Y. pestis* синтез капсулы, напротив, сопровождается снижением отрицательного заряда клеточной поверхности [5]. Более того, отсутствие F1 у некоторых штаммов *Y. pestis* обуславливало снижение эффективности захвата бактерий макрофагами морских свинок, но не белых мышей [11]. В то же время известно, что размножение клеток *Y. pestis* внутри макрофагов является обязательным этапом патогенеза чумы [50], а вирулентность чумного микроба коррелирует не с устойчивостью к захвату фагоцитами [66], но со способностью выживать и размножаться в фаголизосомах фагоцитарных клеток за счет подавления антибактериальных функций фагоцитов [51]. В последнее время некоторые исследователи под впечатлением от успехов в изучении кодируемой плазмидой pCad системы секреции 3-го типа, обеспечивающей агрессию внеклеточно расположенных бактерий *Y. pestis* в отношении макрофагов, склонны если не полностью отрицать значимость внутриклеточной стадии развития возбудителя чумы, то ограничивать ее лишь начальным этапом инфекционного процесса при бубонной форме чумы [53]. При этом они игнорируют цитированные выше исследования на модели *Y. pestis*, опираясь на электронно-микроскопическое исследование патоморфологии экспериментального псевдотуберкулеза [86].

Установлено, что при парентеральном введении мышам производных аттенуированного штамма *S. typhimurium* SL3261, несущих рекомбинантные плазмиды с полным *caf1* опероном, которые неспособны стабильно наследоваться *in vitro*, в организме животных происходит селекция клеток, сохраняющих и экспрессирующих гены, ответственные за продукцию капсульного антигена. из печени и селезенки умерщвленных на 1–7-е сутки с момента заражения животных удавалось высевать только F1⁺ рекомбинантные клетки [88]. Рекомбинантные клетки *E. coli*, способные образовывать капсулу *Y. pestis*, были устойчивы к фагоцитозу мышинными перитонеальными макрофагами [59].

Капсульный антиген F1 способен образовывать в двухслойных фосфолипидных мембранах поры, проницаемые для воды [80]. В основе цитотоксического действия лимфоцитов на раковые клетки лежит аналогичная способность продуцировать белок перфорин, который «встраивается» в оболочку злокачественной клетки и делает в ней перфорацию. Это приводит к нарушению осмотической регуляции и последующей гибели «целевой» клетки. Подобным же образом действуют дефензины — пептиды нейтрофилов и макрофагов, обладающие широким спектром антимикробной активности. Высказано предположение, что F1 действует аналогичным образом на клетки-мишени теплокровного животного.

Andrews G.P. и др. [42] для объяснения гибели отдельных иммунизированных животных, обладающих высокими титрами антител к F1,

предположили, что секретируемый бактериями в окружающую среду капсульный антиген связывает значительные количества иммуноглобулинов, препятствуя, таким образом, опсонизации бактерий. По их мнению, возможно также и слушивание с фрагментами капсулы уже прикрепившихся к ней антител.

Исходя из экспериментальных данных, свидетельствующих о высоком аффинитете молекулярного ашера Caf1A не только к структурной субъединице капсульного антигена Caf1, но и к человеческому интерлейкину 1b, В.П. Завьялов с соавт. [97] сделали предположение, что F1 может вступать в конкуренцию с интерлейкинами 1a, 1b и 1га за связывание с рецепторами на лимфоидных клетках, препятствуя развитию адекватного иммунного ответа. В свою очередь молекулярный ашер Caf1A может сорбировать интерлейкины, препятствуя их контакту с макрофагами.

Высказано предположение о том, что димеры Caf1, способные взаимодействовать с рецепторами интерлейкина-1 ряда иммунокомпетентных клеток, могут обеспечивать тесный контакт между *Y. pestis* и эукариотической клеткой мишенью за счет их крепления на Caf1A ашере, расположенном во внешней мембране бактериальной клетки [41]. Подобный тесный контакт необходим для инициации системы секреции 3-го типа, обеспечивающей доставку цитотоксических эффекторных Yop белков в клетку мишень хозяина.

Самоходкиной Е.Д. с соавт. (цитируется по Anisimov A.P. и др. [43]) было показано, что лечение экспериментальной чумы, вызванной бескапсульными штаммами *Y. pestis*, оказалось неэффективным при использовании тетрациклина, бета-лактамовых антибиотиков и хинолонов в средних терапевтических дозах, оказывающих выраженный лечебный эффект в отношении инфекции, вызванной полноценными штаммами. Аналогичная антибиотикорезистентность выявлялась и *in vitro* в культуре макрофагов, но не на питательных средах. Клетки *Y. pestis* способны переживать и даже размножаться в фаголизосомах макрофагов [50]. В то же время известно, что указанные антибиотики не способны проникать в фагоциты в активной форме [83]. Похоже, что капсула *Y. pestis* может влиять на уровень проницаемости этих антибиотиков через плазматическую мембрану макрофагов. Антиген F1, образующий капсулу *Y. pestis*, способен встраиваться в двухслойные фосфолипидные мембраны, образуя в них поры, проницаемые для воды. Это, по мнению Rodrigues C.G. и др. [80], лежит в основе цитопатического действия *Y. pestis* на фагоцитарные клетки. Также известно, что после обработки клетка-формирующими токсинами мембраны клеток становятся проницаемыми для целого ряда молекул [67]. Учитывая все вышесказанное, мы можем предположить *a priori*, что

in vivo индуцированные F1 «водяные» поры могут быть основной причиной проникновения антибиотиков в макрофаг и его фаголизосомы и, таким образом, обеспечивать чувствительность к антибиотикам клеток *Y. pestis* «дикого» типа [43].

Иммуногенная активность капсульного антигена

На основании данных об одинаковой иммунохимической активности в РДИД как исходного, так и полностью диссоциированного капсульного антигена было сделано предположение о том, что антигенные детерминанты F1 определяются структурой субъединицы и не зависят от конформации надмолекулярного образования [47].

Блокирование аминокислотных групп капсульного белка тринитробензосульфокислотой не снижало иммунохимической активности F1A, что является аргументом против определяющего участия N-концевого аланина, а также аминокислот, содержащих боковые аминокислотные группы, в формировании антигенных детерминант. Было высказано предположение, что наиболее вероятным способом организации основного антигенного эпитопа является структура, образованная связанными между собой в определенном порядке субъединицами F1A [34].

В результате компьютерного анализа аминокислотной структуры субъединицы Caf1 было установлено, что она состоит из двух β-структурных доменов, соединенных между собой гидрофильной неструктурированной петлей, которая соответствует основному В-клеточному эпитопу данного белка (аминокислотные остатки 72–95). Высказано предположение, что эта гидрофильная петля расположена на поверхности субъединицы напротив С-концевой последовательности, которая, возможно, отвечает за агрегацию субъединиц белка, не препятствуя экспозиции В-клеточных эпитопов на поверхности образующихся агрегатов. Два Т-клеточных эпитопа расположены в С-концевых областях доменов (аминокислотные остатки 51–71 и 129–149) [96].

Тестирование пяти перекрывающихся олигопептидов, включающих полную аминокислотную последовательность зрелого белка Caf1, методом ИФА с помощью трех различных чумных гипериммунных сывороток и четырех моноклональных антител, специфичных в отношении F1, проводили с целью выявления линейных В-клеточных эпитопов [74]. Установлено, что как минимум два линейных В-клеточных эпитопа расположены на С-концевом участке F1. Тот факт, что один из клонов IgG не реагировал ни с одним из олигопептидов, но вступал в реакцию с полной последовательностью F1, свидетельствует о наличии у капсульного анти-

гена как минимум одного конформационного В-клеточного эпитопа.

Позднее при изучении механизмов презентации CD4 Т-клеточных эпитопов F1 на модели макрофагов из костного мозга мышей и Т-клеточных гибридом было выявлено четыре эпитопа, взаимодействующих с эукариотическими белками главного комплекса гистосовместимости (МНС) класса II и использующих различные пути презентации [73]. Два из них расположены на С-конце глобулярного домена (134–147 и 123–136) и презентуются вновь синтезированными антигенами МНС класса II после лизосомального процессинга при низких значениях pH. Эпитоп, расположенный на неструктурированном N-концевом участке (7–20), презентуется зрелыми белками МНС класса II, независимо от низких значений pH и без протеолитического процессинга. Расположенный между ними четвертый эпитоп (48–61) обладает промежуточными свойствами. Гидролиз белка в процессе его презентации начинается с N-конца.

Анализ аминокислотной последовательности F1 с помощью программы DNA STAR позволил выявить четыре В-клеточных [B1 (105–123), B2 (142–165), B3 (96–106), B4 (141–154)] и два Т-клеточных эпитопа [T1 (123–137), T2 (137–148)]. Пептид B2 оказался наиболее иммуногенным, за ним следовали пептиды B1 и B3. Использование химерных В–Т позволило получить антительный ответ, сравнимый с ответом на полноразмерный антиген F1, а стимуляция клеточного звена иммунитета была даже эффективнее при использовании В–Т пептидов.

В настоящее время капсульный антиген *Y. pestis* принято считать видоспецифичным, и иммунодиагностика чумы построена на выявлении F1 или анти-F1-антител [14, 75]. В иммунохимических реакциях с коммерческими антительными моно- и поликлональными диагностикумами производства Среднеазиатского ПЧИ препараты F1, выделенные по Baker E.E. и др. [45], после обработки ДСН обладали общими эпитопами с белково-полисахаридными комплексами, выделенными по аналогичной методике из клеток *K. pneumoniae* и *C. freundii*. Указанные иммунодиагностические препараты были разрешены к коммерческому производству после проведения Государственных испытаний, показавших их высокую специфичность — отсутствие реакции с бактериями, не продуцирующими капсульный антиген *Y. pestis*, при использовании «рабочих» разведений диагностикумов и бактерий.

Конформационно-зависимая детерминанта являлась специфичной лишь для препаратов F1, не обработанных ДСН. Препараты из штаммов *Y. pestis*, лишенных капсулы, способствовали выработке у животных антител к неконформационно-зависимым эпитопам F1 и детерминан-

там антигенов, выделенных по Baker E.E. и др. [45] из ацетонвысушенных клеток *K. pneumoniae* и *C. freundii* [21]. На основании данных собственных экспериментов и ссылок на работы, опубликованные до 1987 г., Л.В. Коссе с соавт. [21] пишут, что «пока нет единого мнения о генетическом контроле синтеза и продукции F1», но в этой же работе приведена ссылка на данные о клонировании *cafI* оперона [60], которые, напротив, однозначно свидетельствуют, что гены, расположенные на 8,6-т.п.о. EcoRI фрагменте плазмиды pFra, обеспечивают образование капсулы *Y. pestis* в *E. coli*. Более того, аминокислотная последовательность субъединицы CafI, рассчитанная на основании секвенирования структурного гена *cafI* [60], совпала с результатами определения аминокислотного состава F1 [47].

Несмотря на наличие общих антигенных детерминант и близкую молекулярную массу субъединиц, антигены из *cafI* оперон-несодержащих энтеробактерий обладали гидрофильными свойствами и не образовывали агрегированных структур [21], в то время как формирование макромолекул капсульного антигена *Y. pestis* происходит, в основном, за счет гидрофобных взаимодействий [90]. Компьютерный анализ нуклеотидной последовательности структурного гена капсульного антигена также свидетельствует о гидрофобных свойствах субъединицы F1 [60].

Каждый микроорганизм содержит множество различных антигенов. Во время инфекционного процесса иммунный ответ развивается на большинство из них. Однако резистентность к инфекции зависит, главным образом, от иммунного ответа на небольшое число антигенов, располагающихся на поверхности микроорганизмов. Покрывающий поверхность микробных клеток капсульный антиген *Y. pestis* — важнейший составной элемент всех современных чумных вакцин. Показана его ведущая роль в создании напряженного иммунитета у белых мышей, крыс, приматов и человека [14, 75].

Однако при изучении иммунизирующей активности F1 на морских свинках была выявлена способность препарата F1 вызывать в «миллиграммовых» дозах у этого вида животных состояние иммунопаралича, но в микрограммовых количествах с адьювантом препараты F1 стимулировали протективный ответ [70, 91].

F1 индуцировала выработку макрофагами интерлейкина-1 и фактора некроза опухолей; наибольшим защитным действием обладал препарат F1, содержащий углеводный компонент, причем лучший эффект оказывала агрегированная форма капсульного антигена [16, 26]. Кроме того, формирование более выраженного по силе и протективности тимусзависимого иммунного ответа происходит, вероятно, в организме теплокровного животного или человека в случае попадания в него F1, агрегированной с тимусзависи-

мыми детерминантами других белков чумного микроба или при введении очищенного препарата F1 в организм, ранее контактировавший с возбудителем чумы. В то же время Т-клеточные эпитопы, индуцирующие клеточное звено иммунного ответа, присутствуют и в собственной структуре субъединицы капсульного антигена [73, 96]. Следует отметить, что основное значение в формировании иммунитета к чуме принадлежит именно клеточным иммунным процессам и главным образом Т-системе лимфоцитов [24].

Представленные выше данные подтверждают, что большинство факторов патогенности являются хорошими иммуногенами, а защитные механизмы против целого ряда инфекционных заболеваний основываются на гуморальном и (или) клеточном иммунитете, индуцированном этими факторами. В свою очередь, варьирование антигенной специфичности указанных факторов препятствует элиминации патогенных бактерий из макроорганизма [15, 57]. Взаимодействие иммунной системы хозяина и противоиммунных факторов микроорганизма обеспечивает саморегуляцию и непрерывность эпизоотического и эпидемического процессов [6]. В настоящее время ряд исследователей склоняется к тому, что поддержание эпизоотического процесса может обеспечиваться атипичными формами чумного микроба, «уклоняющимися» от индикации и идентификации. Одним из наиболее лабильных свойств возбудителя чумы является синтез F1. Данный признак находится в прямой зависимости от характера эпизоотийного процесса: по мере угасания эпизоотий происходит увеличение числа культур со сниженной способностью синтезировать капсульный антиген, вплоть до полной его утраты. Это коррелирует с нарастанием числа животных, серопозитивных в отношении F1 [31, 36]. Широкая «проиммунизация» чувствительных животных в ходе эпизоотии чумы приводит к формированию у них длительного бактерионосительства, способного вызывать в отдаленные сроки острый инфекционный процесс [25, 36]. У подавляющего большинства выделявшихся в этот период штаммов с резко подавленной способностью синтезировать F1 оказалась снижена и вирулентность для белых мышей и морских свинок [36].

Вирулентность бескапсульных вариантов *Y. pestis*

Значительный объем исследований показал, что в отличие от многих других бактерий чумной микроб весьма однороден как вид, и свойства штаммов, циркулирующих на территории определенных природных очагов, высококонсервативны. Тем не менее, неоднократно описывались случаи выделения атипичных штаммов, то есть отличающихся по некоторым призна-

кам от преобладающего в определенном очаге экотипа *Y. pestis*. При исследовании способности продуцировать F1 штаммами возбудителя чумы из различных очагов СНГ, бесфракционные штаммы обнаруживали не только в Южном Прибалхашье, а практически на всей территории Среднеазиатского пустынного природного очага [44]. В Муюнкумском автономном очаге в различных популяциях большой песчанки циркулировало различное количество штаммов с атипичными свойствами. Наибольшее количество измененных штаммов выделяли в Батышкудукской (18,6%) и Северной Карачардинской (18,4%), а наименьшее — в Коскудукской (1,4%) и Южной Карачардинской (1,8%) популяциях больших песчанок. F1-варианты составляли в среднем 15,8% от числа всех атипичных штаммов. Особенно часто культуры, дефектные по продукции F1, изолировали от песчанок Жуантобинской, Камкалинской и Саумаккольской популяций, что, вероятно, связано «с определенными физиологическими особенностями больших песчанок из разных популяций» [30]. Подобные штаммы *Y. pestis* были выделены от погибших от чумы людей [49, 92]. Образование F1-вариантов может происходить при элиминации плазмиды rFra из клеток чумного микроба, ее обратимой интеграции в различные участки хромосомы *Y. pestis*, в результате повреждения *cafI* оперона резидентными для возбудителя чумы IS-элементами: IS100 и IS285 или бактериофагами [75].

В большинстве ранних исследований, кроме работ с экспериментальным штаммом 358/12 [55] и F1-штаммом И-2422 [44], бескапсульные варианты, в отличие от полноценных штаммов, обладали избирательной вирулентностью. В большинстве публикаций отмечалось резкое снижение их вирулентности в отношении морских свинок, но не белых мышей, в отношении крыс, но не мышей, в отношении морских свинок, но не белых мышей и серых сурков, или в отношении морских свинок, но не белых мышей, тушканчиков, больших и полуденных песчанок. В Или-Каратальском междуречье выделены F1-штаммы, авирулентные для белых мышей и морских свинок, слабовирулентные для полуденных, краснохвостых и гребенщиковых, но высоковирулентные для больших песчанок. В последнее время таким атипичным вариантам приписывают способность вызывать хронические формы инфекционного процесса, что может играть определенную роль в поддержании эпизоотий, а, возможно, и в сохранении возбудителя чумы в межэпизоотический период [44].

Использование для конструирования F1-штаммов сайт-направленного мутагенеза, избирательно затрагивающего только гены оперона *cafI*, позволило получить бескапсульные мутанты штаммов 358, 231 (табл. 1), 296, И-2638, X [44] и CO92 [59, 94], сохранившие вирулентность для мышей [94], морских свинок [44] и обезьян [59,

94] на уровне исходных родительских штаммов. Однако у животных, зараженных рядом штаммов с фенотипом F1⁻, отмечали достоверную задержку сроков гибели. Выраженность перехода чумной инфекции в подострую форму зависела от вида животных и исходного штамма *Y. pestis*.

Вероятнее всего значительное снижение вирулентности F1⁻ штаммов в экспериментах большинства исследователей может быть связано с наличием в изученных ими штаммах дополнительных неидентифицированных мутаций. По мнению Friedlander A.M. и др. [59], снижение вирулентности F1⁻ штаммов, несущих плазмиду pFga в интегрированном состоянии, может быть связано с тем, что эта интеграция оказывает влияние на экспрессию других факторов патогенности.

Всестороннее изучение экспериментальных штаммов микроорганизмов, дефектных по продукции отдельных факторов патогенности, интересно не только с точки зрения выяснения особенностей вызванного ими инфекционного процесса на модели интактных животных. Неменьший интерес представляет эпидемиологическая значимость естественной вариабельности циркулирующих в природе возбудителей инфекционных заболеваний и, в первую очередь, взаимосвязь изменения антигенной структуры патогенов и их способности преодолевать коллективный популяционный иммунитет хозяев, лежащая в основе саморегуляции паразитарных систем. Даже беглый анализ литературных данных показывает, что изменчивость по одному определенному антигену неравнозначна для развития эпидемического процесса у различных носителей и, соответственно, в различных природных очагах.

При заражении интактных больших песчанок F1⁺ штаммами на 5–9-е сутки животные гибли от генерализованной инфекции с выделением F1⁺ культур. Гибель в сроки позже одного месяца или умерщвление животных в эти же сроки, как правило, вели к выявлению F1⁻ форм возбудителя чумы в абсцессах, сформировавшихся в местах введения исходной F1⁺ культуры [29]. Выделение F1⁺ или F1⁻ бактерий чередовалось в зависимости от фазы эпизоотии и коррелиро-

вало, в первую очередь, с колебаниями процента серопозитивных в отношении F1 больших песчанок в популяции.

В опытах по заражению вирулентными неизогенными F1⁺ и F1⁻ штаммами *Y. pestis* серых сурков, выживших после предварительного заражения этими же штаммами чумного микроба, было показано, что «от гибели в результате заражения капсульным штаммом» их «практически не защищали бескапсульные микробы, а капсульные защищали слабо. По отношению к бескапсульному штамму ... как капсульные, так и бескапсульные микробы обладали выраженными иммуногенными свойствами» [7]. Следует отметить, что в доступной нам литературе нет сведений о выделении F1⁻ штаммов от сурков и их эктопаразитов.

В наших экспериментах (табл. 2) были подтверждены известные данные о неэффективности иммунитета в отношении F1⁻ штаммов на модели белых мышей, предварительно иммунизированных F1⁺ штаммами, убитой вакциной USP или антигеном F1 [59, 94] и отсутствии селективных преимуществ у F1⁻ штаммов на модели иммунизированных содержащими F1 препаратами морских свинок [1]. Результаты экспериментов с иммунными морскими свинками, казалось бы, противоречат результатам исследования фагоцитарной активности «иммунных» перитонеальных макрофагов морских свинок в отношении штаммов *Y. pestis*, отличающихся по продукции F1, в котором показано, что F1⁻ штаммы возбудителя чумы имеют преимущество размножения внутри макрофагов животных, иммунизированных штаммом EV линии НИИЭГ [22]. По этому поводу хочется высказать два соображения. С одной стороны, моделирование такого сложного явления как инфекционное заболевание на изолированных клетках животных, переживающих в питательных средах вне организма, позволяет изучать тонкие механизмы взаимодействия патогенных микроорганизмов с отдельными эукариотическими клетками, с другой стороны, — является крайней степенью упрощения изучаемого процесса. Поэтому сравнение результатов, полученных в опытах *in vivo* и в экспериментах с изо-

ТАБЛИЦА 1. РЕЗУЛЬТАТЫ ЗАРАЖЕНИЯ ИММУННЫХ БЕЛЫХ МЫШЕЙ И МОРСКИХ СВИНОК ИЗОГЕННЫМИ F1⁺ И F1⁻ ШТАММАМИ ВОЗБУДИТЕЛЯ ЧУМЫ

Штаммы <i>Y. pestis</i>	F1	Показатели LD ₅₀ (КОЕ)		Средние сроки жизни (сут.)	
		белые мыши	морские свинки	белые мыши	морские свинки
231	+	1,0 × 10 ⁵ (2,0 × 10 ⁴ –6,0 × 10 ⁵)	5,6 × 10 ⁵ (1,2 × 10 ⁵ –1,9 × 10 ⁶)	5,8 (3–16)	11,0 (6–16)
231pFra/pFS23	–	1,0 × 10 ³ (2,0 × 10 ² –6,0 × 10 ³)	6,9 × 10 ⁵ (8,7 × 10 ⁴ –2,1 × 10 ⁶)	8,3 (6–30)	16,5 (8–30)
231pFra ⁻	–	2,1 × 10 ³ (4,0 × 10 ² –9,0 × 10 ³)	7,0 × 10 ⁵ (3,0 × 10 ⁵ –1,1 × 10 ⁶)	9,1 (7–30)	17,2 (7–30)
358	+	3,2 × 10 ⁵ (7,0 × 10 ⁴ –1,6 × 10 ⁶)	1,0 × 10 ⁶ (2,6 × 10 ⁵ –4,0 × 10 ⁶)	6,3 (3–15)	11,8 (5–21)
358pFra/pFS23	–	3,0 × 10 ² (7,3 × 10 ¹ –1,7 × 10 ³)	1,5 × 10 ⁶ (3,8 × 10 ⁵ –6,0 × 10 ⁶)	8,9 (6–28)	17,8 (6–30)
358pFra ⁻	–	2,7 × 10 ³ (5,2 × 10 ² –1,2 × 10 ⁴)	6,8 × 10 ⁵ (1,7 × 10 ⁵ –3,1 × 10 ⁶)	8,7 (7–27)	17,6 (6–30)

ТАБЛИЦА 2. РЕЗУЛЬТАТЫ ЗАРАЖЕНИЯ ИММУННЫХ И ПЕРЕБОЛЕВШИХ ЧУМОЙ МОРСКИХ СВИНОК ИЗОГЕННЫМИ F1⁺ И F1⁻ ШТАММАМИ ВОЗБУДИТЕЛЯ ЧУМЫ

Штаммы <i>Y. pestis</i>	F1	Показатели LD ₅₀ (КОЕ)		Средние сроки жизни (сут.)	
		иммунные	переболевшие	иммунные	переболевшие
231	+	3,6 × 10 ⁵ (9,1 × 10 ⁴ –1,4 × 10 ⁶)	1,6 × 10 ⁸ (4,1 × 10 ⁷ –6,5 × 10 ⁸)	11,1 (5–18)	13,1 (11–30)
231pFra/pFS23	–	4,1 × 10 ⁵ (1,0 × 10 ⁵ –1,6 × 10 ⁶)	6,1 × 10 ⁶ (1,5 × 10 ⁶ –2,4 × 10 ⁷)	15,9 (8–30)	17,6 (10–30)

лированными фагоцитами, требует серьезной критичной оценки. В этом плане интересно, что свойства F1⁺ и F1⁻ штаммов, выявленные на модели «иммунных» перитонеальных макрофагов, не проявляются в опытах на морских свинках, однократно иммунизированных аттенуированным вакцинным штаммом EV, но четко видны при заражении переболевших чумой животных (табл. 2). Это, на наш взгляд, еще раз подчеркивает разницу между поствакцинальным и постинфекционным иммунитетом при чуме и свидетельствует о необходимости оценки эпидемиологической значимости изменения антигенной структуры *Y. pestis* именно на модели переболевших животных.

Заключение

Капсула — это один из основных факторов патогенности *Y. pestis*, благодаря которым данный микроорганизм способен противостоять защитным механизмам хозяина. Ее основной компонент — капсульный антиген — обладает целым рядом активностей, направленных на угнетение врожденного иммунитета. Он препятствует захвату бактерии интактными фагоцитами хозяина и истощает систему комплемента за счет избирательной активации C₂ и C₄ компонентов системы комплемента, угнетает активность рецепторного аппарата Т-хелперов

морских свинок. Структурные составляющие F1 могут вступать в конкуренцию с интерлейкинами 1α, 1β и 1γ за связывание с рецепторами на лимфоидных клетках, препятствуя развитию адекватного иммунного ответа, а также конкурируют с интерлейкином гHuIL-1β за общие рецепторы на иммунокомпетентных клетках.

Капсульный антиген *Y. pestis* — важнейший составной элемент всех современных чумных вакцин. Однако селективное давление иммунной системы хозяина способствует накоплению в макроорганизме бескапсульных (F1⁻) вариантов микроба, сохранивших вирулентность на уровне штаммов «дикого типа», что свидетельствует о нецелесообразности использования моноантигенных вакцин на основе F1. Кроме того возможность циркуляции бескапсульных штаммов в природе необходимо учитывать при лабораторной диагностике чумы, так как большинство диагностических препаратов нацелено именно на капсульный антиген или кодирующий его ген *cafI*.

Представленная выше информация является ярким примером того, что только детальное и всестороннее изучение отдельных факторов патогенности болезнетворных микробов может способствовать их рациональному использованию в качестве молекулярных мишеней для диагностики, профилактики и лечения вызываемых ими болезней.

Список литературы/References

- Акимович В.В., Шанина Л.Н. Варианты чумного микроба, не образующие капсульного антигена // Вопросы микробиологии и лабораторной диагностики особо опасных инфекций. Саратов, 1965. С. 54–58. [Akimovich V.V., Shanina L.N. Variants of the plague microbe non-forming capsular antigen. *Voprosy mikrobiologii i laboratornoi diagnostiki osobo opasnykh infektsii* [Diagnostics of Particularly Dangerous Infections]. *Saratov, 1965, pp. 54–58.*]
- Анисимов А.П. Факторы *Yersinia pestis*, обеспечивающие циркуляцию и сохранение возбудителя чумы в экосистемах природных очагов. Сообщение 1 // 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 1. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya = Molecular Genetics, Microbiology and Virology, 2002, no. 3, pp. 3–23. (In Russ.)*]
- Анисимов А.П., Никифоров А.К., Еремин С.А., Дроздов И.Г. Конструирование штамма *Yersinia pestis* с повышенной протективностью // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1995. № 11. С. 532–534. [Anisimov A.P., Nikiforov A.K., Eremin S.A., Drozdov I.G. Design of a *Yersinia pestis* strain with increased protection. *Byulleten' eksperimental'noi biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine, 1995, no. 11, pp. 532–534. (In Russ.)*]
- Анисимов А.П., Захарова Н.М. Серовариация капсульного антигена возбудителя чумы // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 1992. № 9–10. С. 26–29. [Anisimov A.P., Zakharova N.M. Serovariation of the capsule antigen of the plague pathogen. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya = Molecular Genetics, Microbiology and Virology, 1992, no. 9–10, pp. 26–29. (In Russ.)*]
- Анисимов А.П., Фомченков В.М., Фурсова Н.К. Электрокинетический потенциал клеток *Yersinia pestis* и *Escherichia coli* с интактным или дефектным геном *usaA* (*cafI*M) *fra*-оперона возбудителя чумы // Генетика. 1994. Т. 30, № 9.

- C. 1160–1165. [Anisimov A.P., Fomchenkov V.M., Fursova N.K. Electrokinetic potential of *Yersinia pestis* and *Escherichia coli* cells with an intact or defective *ycsaA* gene (*caf1M*) of the *fra*-operon of plague pathogen. *Genetika = Genetics*, 1994, vol. 30, no. 9, pp. 1160–1165. (In Russ.)]
6. Беляков В.Д., Голубев Д.Б., Каминский Г.Д., Тец В.В. Саморегуляция паразитарных систем. Молекулярно-генетические механизмы. Л.: Медицина, 1987. 240 с. [Belyakov V.D., Golubev D.B., Kaminskii G.D., Tets V.V. *Samoregulyatsiya parazitarnykh sistem. Molekulyarno-geneticheskie mekhanizmy* [Self-regulation of parasitological systems. Molecular-genetic mechanisms]. Leningrad: Medicine, 1987, 240 p.]
 7. Вариводина Т.А., Кудинова Т.П., Кузнецова К.А. Чувствительность серых сурков к дефектным штаммам чумного микроба и особенности иммунологических реакций у этих животных // Проблемы особо опасных инфекций. 1969. № 6 (10). С. 51–54. [Varivodina T.A., Kudinova T.P., Kuznetsova K.A. Gray marmots' response to defective strains of the plague microbe and features of these animals' immunological response. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 1969, no. 6 (10), pp. 51–54. (In Russ.)]
 8. Вейнблат В.И., Никифоров В.В., Кормилицин А.В. Гидродинамическая характеристика капсульного антигена возбудителя чумы // Вопросы генетики, молекулярной биологии и микробиологии чумы и холеры. Саратов: Коммунист, 1985. С. 37–42. [Veinblat V.I., Nikiforov V.V., Kormilitsin A.V. *Gidrodinamicheskaya kharakteristika kapsul'nogo antigena vobzuditelya chummy* [Hydrodynamic characteristic of the plague originator's capsular antigen]. *Voprosy genetiki, molekulyarnoi biologii i mikrobiologii chумы i kholery* [The issues of genetics, molecular biology and microbiology of plague and cholera]. Saratov: Communist, 1985, pp. 37–42.]
 9. Вейнблат В.И., Дальвадянец С.М., Веренков М.С. Методы получения и очистки капсульного антигена и эндотоксина возбудителя чумы // Лабораторное дело. 1983. № 12. С. 37–39. [Veinblat V.I., Dal'vadyants S.M., Verenkov M.S. Methods of preparing and purifying the capsular antigen and endotoxin of the causative agent of plague. *Laboratornoe delo = Laboratory Medicine*, 1983, no. 12, pp. 37–39. (In Russ.)]
 10. Гончаров А.Ю., Гончаров Е.К., Алутин И.М., Марченков В.И. Локализация ответственного за синтез фракции I участка ДНК на плазмиде рУТ чумного микроба // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 1992. № 11–12. С. 10–14. [Goncharov A.Yu., Goncharov E.K., Alutin I.M., Marchenkov V.I. Localization of the DNA segment coding for the synthesis of fraction I on the рУТ plague pathogen plasmid. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya = Molecular Genetics, Microbiology and Virology*, 1992, no. 11–12, pp. 10–14. (In Russ.)]
 11. Гребцова Н.Н., Чернявская А.С., Лебедева С.А., Иванова В.С. Изучение фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов в отношении *Yersinia pestis* с дефектными и полноценными *fra*-генами // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 1990. № 5. С. 7–11. [Grebtsova N.N., Chernyavskaya A.S., Lebedeva S.A., Ivanova V.S. The phagocytic activity of peritoneal macrophages in relation to *Yersinia pestis* with defective and complete *fra* genes. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 1990, no. 5, pp. 7–11. (In Russ.)]
 12. Дармов И.В., Маракулин И.В., Янов С.Н., Бывалов А.А., Абдуллин Т.Г., Смирнов Е.В. Конструирование штаммов-продуцентов антигенов F1 и Т чумного микроба // Биотехнология. 1992. № 6. С. 59–62. [Darmov I.V., Marakulin I.V., Yanov S.N., Byvalov A.A., Abdullin T.G., Smirnov E.V. Construction of plague microbe strains producers of F1 and T antigens. *Biotechnologiya = Biotechnology*, 1992, no. 6, pp. 59–62. (In Russ.)]
 13. Денесюк А.И., Завьялова Г.А., Абрамов В.М., Завьялов В.П. Компьютерный анализ структуры и иммунологической активности Ф1-антигена чумного микроба // Актуальные вопросы профилактики опасных инфекционных заболеваний. Киров, 1991. С. 175–176. [Denesyuk A.I., Zav'yalova G.A., Abramov V.M., Zav'yalov V.P. *Komp'yuternyi analiz struktury i immunobiologicheskoi aktivnosti F1-antigena chumnogo mikroba* [Computer analysis of structure and immunobiological efficacy of F1 antigen of the plague microbe]. *Aktual'nye voprosy profilaktiki opasnykh infektsionnykh zabolevanii* [The issues of prevention particular dangerous infections]. Kirov, 1991, pp. 175–176.]
 14. Домарадский И.В. Чума. М.: Медицина, 1998. 176 с. [Domaradskii I.V. *Chuma* [Plague]. Moscow: Meditsina Press., 1998. 176 p.]
 15. Езепчук Ю.В. Биомолекулярные основы патогенности бактерий. М.: Наука, 1977. 216 с. [Ezepchuk Yu.V. *Biomolekulyarnye osnovy patogennosti bakterii* [Biomolecular basis of bacterial pathogenicity]. Moscow: Science, 1977, 216 p.]
 16. Ермакова Г.В., Тараненко Т.М., Наумов А.В. Изучение протективной активности различных по химическому составу препаратов капсульного антигена чумного микроба // Микробиология, биохимия и специфическая профилактика карантинных инфекций. Саратов, 1990. С. 84–89. [Ermakova G.V., Taranenko T.M., Naumov A.V. *Izuchenie protektivnoi aktivnosti razlichnykh po khimicheskomu sostavu preparatov kapsul'nogo antigena chumnogo mikroba* [Studies on protective efficacy of various chemical composition specimens of the plague microbe's capsule antigen]. *Mikrobiologiya, biokhimiya i spetsificheskaya profilaktika karantinnykh infektsii* [Microbiology, biochemistry and specific prevention of quarantine infections]. Saratov, 1990, pp. 84–89.]
 17. Желтенков А.И. О чумном токсине, анатоксине, противочумной антитоксической сыворотке и методах стандартизации их на белых мышах // Вестник микробиологии, эпидемиологии и паразитологии. 1939. № 17. С. 272–301. [Zheltenkov A.I. About plague toxin, toxoid, anti-plague antitoxic serum and methods of its standardization on white mice. *Vestnik mikrobiologii, epidemiologii i parazitologii = Herald of Epidemiology, Microbiology and Parasitology*, 1939, no. 17, pp. 272–301. (In Russ.)]
 18. Золотарев А.Г., Кедров В.А., Паутов В.Н. Изучение локализации антигена Ф1 *Yersinia pestis* ЕВ иммуноферритиновым методом // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 1983. № 7. С. 62–64. [Zolotarev A.G., Kedrov V.A., Pautov V.N. Localization of antigen F-1 of *Yersinia pestis* EV by an immunoferritin method. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 1983, no. 7, pp. 62–64. (In Russ.)]
 19. Исин Ж.М., Тугамбаев Т.И. Структурно-функциональные свойства и биологическая активность капсульного антигена, «мышинного» токсина и эндотоксина *Yersinia pestis* // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 1987. № 4. С. 91–98. [Isin Zh.M., Tugambaev T.I. Structural and functional properties and the biological activity of *Yersinia pestis* capsular antigen, murine toxin and endotoxin. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 1987, no. 4, pp. 91–98. (In Russ.)]

20. Кац Л.Н. О субмикроскопической структуре *Pasteurella pestis* // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 1966. № 7. С. 84–86. [Kats L.N. On the submicroscopic structure of *Pasteurella pestis* Holland. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 1966, no. 7, pp. 84–86. (In Russ.)]
21. Коссе Л.В., Лебедева С.А., Кузнецова Л.С., Чернявская А.С., Заренков М.И. Новые данные, относящиеся к специфичности и генетическому контролю капсульного антигена (F1) *Yersinia pestis* // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 1997. № 2. С. 29–33. [Kosse L.V., Lebedeva S.A., Kuznetsova L.S., Chernyavskaya A.S., Zarenkov M.I. New data on the specificity and genetic control of the capsular antigen (F1) in *Yersinia pestis*. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 1997, no. 2, pp. 29–33. (In Russ.)]
22. Куклева Л.М., Карасева З.Н., Кондрашин Ю.И. Фагоцитоз штаммов чумного микроба перитонеальными макрофагами интактных и иммунизированных животных // Вопросы генетики, молекулярной биологии и микробиологии чумы и холеры. Саратов, 1985. С. 42–48. [Kukleva L.M., Karaseva Z.N., Kondrashin Yu.I. Fagotsitoz shtammov chumnogo mikroba peritoneal'nymi makrofagami intaktnykh i immunizirovannykh zhivotnykh [Phagocytosis of the plague microbe strains by peritoneal macrophages of intact and immunized animals]. *Voprosy genetiki, molekulyarnoi biologii i mikrobiologii chumy i kholery* [Questions on genetics, molecular biology and microbiology of plague and cholera]. *Saratov*, 1985, pp. 42–48.]
23. Кутырев В.В., Коннов Н.П., Волков Ю.П. Возбудитель чумы: ультраструктура и локализация в переносчике. М.: Медицина, 2007. 222 с. [Kutyrev V.V., Konnov N.P., Volkov Yu.P. *Vozбудitel' chumy: ul'trastruktura i lokalizatsiya v perenoschike* [The plague pathogen: ultrastructure and localization in a carrier]. *Moscow: Medicine*, 2007, 222 p.]
24. Наумов А.В., Ледванов М.Ю., Дроздов И.Г. Иммунология чумы. Саратов, 1992. 172 с. [Naumov A.V., Ledvanov M.Yu., Drozdov I.G. *Immunologiya chumy* [Immunology of plague]. *Saratov*, 1992, 172 p.]
25. Пилипенко В.Г., Тарасова В.В., Попов В.А. О циркуляции антител F1 чумного микроба у горных сусликов, перенесших однократное заражение возбудителем, и значение этого фактора в формировании бактерионосительства после повторного заражения чумой // Профилактика природноочаговых инфекций. Ставрополь, 1983. С. 129–131. [Pilipenko V.G., Tarasova V.V., Popov V.A. O tsirkulyatsii antitel F1 chumnogo mikroba u gornykh suslikov, perenesshikh odnokratnoe zarazhenie vozбудitelem, i znachenie etogo faktora v formirovanii bakterionositel'stva posle povtornogo zarazheniya chumoi [About circulation of antibodies F1 of the plague microbe in little ground squirrels single infected by the pathogen, and the significance of this factor in forming bacteria carriage after second plague infecting]. *Profilaktika prirodnoochagovykh infektsii* [Prevention of natural focal infections]. *Stavropol*, 1983, pp. 129–131.]
26. Прокопьева Е.Д., Прокопьев А.А., Дальвадянц С.Н. Изучение индукции интерлейкина-I и фактора некроза опухоли мышинными макрофагами под воздействием капсульного антигена возбудителя чумы // Микробиология, биохимия и специфическая профилактика карантинных инфекций. Саратов, 1990. С. 77–84. [Prokop'eva E.D., Prokop'ev A.A., Dal'vadyants S.N. Izuchenie induktsii interleikina-I i faktora nekroza opukholi myshinyimi makrofagami pod vozdeistviem kapsul'nogo antigena vozбудitelya chumy [Studies on induction of the interleukine-I and necrotizing factor of tumor by mouse macrophages under the influence of the plague pathogen's capsule antigen]. *Mikrobiologiya, biokhimiya i spetsificheskaya profilaktika karantinnykh infektsii* [Microbiological, biochemical and specific prevention of quarantine infections]. *Saratov*, 1990, pp. 77–84.]
27. Проценко О.А., Анисимов П.И., Можаров О.Т., Коннов Н.П., Попов Ю.А., Кокушкин А.М. Выявление и характеристика плазмид чумного микроба, детерминирующих синтез пестицина I, антигена фракция I и экзотоксина «мышинного» токсина // Генетика. 1983. № 19. С. 1081–1090. [Protsenko O.A., Anisimov P.I., Mozharov O.T., Konnov N.P., Popov Yu.A., Kokushkin A.M. Detection and characterization of the plasmids of the plague microbe which determine the synthesis of pesticide I, fraction I antigen and “mouse” toxin exotoxin. *Genetika = Genetics*, 1983, no. 19, pp. 1081–1090. (In Russ.)]
28. Проценко О.А., Филиппов А.А., Кутырев В.В. Гетерогенность популяций штаммов возбудителя чумы по плазмидному составу // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 1992. № 3–4. С. 20–24. [Protsenko O.A., Filippov A.A., Kutyrev V.V. Plasmid heterogeneity in populations of *Yersinia pestis* strains. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology = Molecular Genetics, Microbiology and Virology*, 1992, no. 3–4, pp. 20–24. (In Russ.)]
29. Пунский Е.Е., Левина А.А., Вологина И.И. Потеря способности возбудителя чумы синтезировать фракцию I при длительном нахождении его в организме большой песчанки // Проблемы особо опасных инфекций. 1972. Вып. 2 (24). С. 20–24. [Punskii E.E., Levina A.A., Vologina I.I. Loss of capacity of the plague pathogen's for synthesis of fraction I at its long-term presence in an organism of ill great gerbil. *Problemy osobo opasnykh infektsii = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 1972, no. 2 (24), pp. 20–24. (In Russ.)]
30. Сагимбеков У.А., Рапопорт Л.П. Об особенностях штаммов возбудителя чумы, выделенных в различных популяциях больших песчанок в Муюнкумах // Микробиология, генетика и иммунология чумы и холеры. Саратов, 1983. С. 11–13. [Sagimbekov U.A., Rapoport L.P. Ob osobennostyakh shtammov vozбудitelya chumy, vydelennykh v razlichnykh populyatsiyakh bol'shikh peschanok v Muyunkumakh [About features of the plague pathogen strains, isolated in various populations of great gerbils in the Muyunkum desert]. *Mikrobiologiya, genetika i immunologiya chumy i kholery* [Microbiology, genetics and immunology of plague and cholera]. *Saratov*, 1983, pp. 11–13.]
31. Сагимбеков У.А., Пошевина Г.О., Красноусова Н.В. Свойства атипичных штаммов чумного микроба, выделенных весной 1977 г. в Муюнкумах и Саксауловой Даче // Патологическая физиология особо опасных инфекций. Саратов, 1981. С. 82–86. [Sagimbekov U.A., Poshevina G.O., Krasnousova N.V. Svoistva atipichnykh shtammov chumnogo mikroba, vydelennykh vesnoi 1977 g. v Muyunkumakh i Saksaulovoi Dache [Properties of the plague microbe atypical strains, isolated in the Muyunkum desert and Saxaul-plot in spring 1977]. *Patologicheskaya fiziologiya osobo opasnykh infektsii* [Pathophysiology of particularly dangerous infections]. *Saratov*, 1981, pp. 82–86.]
32. Сердобинцев Л.Н., Тараненко Т.М., Веренков М.С., Наумов А.В. Получение капсульного антигена методом одноэтапной гелевой фильтрации // Вопросы профилактики природно-очаговых инфекций. Саратов, 1983. С. 37–41. [Serdobintsev L.N., Taranenko T.M., Verenkov M.S., Naumov A.V. Poluchenie kapsul'nogo antigena metodom odnoetapnoi gelevoi fil'tratsii [Preparing the capsule antigen by one-stage gel filtration procedure]. *Voprosy profilaktiki prirodno-ochagovykh infektsii* [The issues of prevention of natural focal infections]. *Saratov*, 1983, pp. 37–41.]

33. Способ получения мутантов чумного микроба дефектных по синтезу капсульного антигена фракции I: А. С. № 1754779, кл. С 12 N 15/00: Заявка 4863570 Рос. Федерация / Карлышев А.В., Кравченко В.И., Красильникова В.М., Анисимов А.П.; заявл. 22.06.90, опубл. 15.08.92; зарегистрировано в Государственном реестре изобретений СССР 15.04.92. [*Sposob polucheniya mutantov chumnogo mikroba defektnykh po sintezu kapsul'nogo antigena fraktsii I*] [Method of generation of plague microbe mutants deficient in capsule antigen synthesis in fraction I]; А. С. no. 1754779, С 12 N 15/00: request 4863570 Russian Federation / Karlyshev A.V., Kravchenko V.I., Krasil'nikova V.M., Anisimov A.P.; statement 22.06.90, published 15.08.92; registered in the State register of inventions of the USSR 15.04.92. (*In Russ.*)
34. Титенко М.М., Новохатский А.С., Коссе Л.В. Новые данные по характеристике препарата F1A капсульного антигена возбудителя чумы // Вестник Всесоюзного микробиологического общества (Ростовское отделение). 1989. № 1. С. 118–123. [Titenko M.M., Novokhatskii A.S., Kosse L.V. A new data set of the specimen F1A characteristic of the plague pathogen. *Vestnik Vsesoyuznogo mikrobiologicheskogo obshchestva (Rostovskoe otdelenie) = Bulletin of All-Union Microbiological Association (Rostov Branch)*, 1989, no. 1, pp. 118–123. (*In Russ.*)]
35. Титенко М.М., Вейнблат В.И., Веренков М.С., Васенин А.С. Препаративный метод выделения и очистки капсульного антигена возбудителя чумы при помощи изоэлектрической преципитации // Диагностика и профилактика особо опасных инфекций. Саратов, 1983. С. 34–39. [Titenko M.M., Veinblat V.I., Verenkov M.S., Vasenin A.S. Preparativnyi metod vydeleniya i ochistki kapsul'nogo antigena vozбудitelya chумы pri pomoshchi izoelektricheskoi pretsipitatsii] [Preparative method of preparing and purifying the capsular antigen of the plague pathogen by isoelectric precipitation]. *Diagnostika i profilaktika osobo opasnykh infektsii* [Diagnostics and prevention of particular dangerous infections]. *Saratov*, 1983, pp. 34–39]
36. Топорков В.П., Леви М.И., Белобородов Р.А., Пунский Е.Е., Зарипов Ш.Н., Солодкова Л.Н., Афанасьева М.А., Балухин В.Н. Результаты комплексного исследования больших песчанок в фазу завершения эпизоотии чумы // Совершенствование методов диагностики и профилактики чумы и холеры. Саратов, 1987. С. 23–29. [Toporkov V.P., Levi M.I., Beloborodov R.A., Punskey E.E., Zaripov Sh.N., Solodkova L.N., Afanas'eva M.A., Balukhin V.N. Rezul'taty kompleksnogo issledovaniya bol'shikh peschanok v fazu zaversheniya epizootii chумы [Results of the comprehensive research of great gerbils at the plague epizootic termination phase, of plague and cholera]. *Sovershenstvovanie metodov diagnostiki i profilaktiki chумы i kholery* [Improvement of methods for diagnosis and prophylaxis of plague and cholera]. *Saratov*, 1987, pp. 23–29]
37. Тюлембаев М.А., Атчабаров Б.Б., Соорбеков О.С. Влияние аминокислот, витаминов, урацила и некоторых солей на синтез фракции I чумного микроба // Патологическая физиология, иммунология и аллергология особо опасных инфекций. Саратов, 1984. С. 27–30. [Tyulembaev M.A., Atchabarov B.B., Soorbekov O.S. Vliyaniye aminokislot, vitaminov, uratsila i nekotorykh solei na sintez fraktsii I chumnogo mikroba [Effect of amino acids, vitamins, uracil and certain salts on synthesis of plague pathogen's fraction I]. *Patologicheskaya fiziologiya, immunologiya i allergologiya osobo opasnykh infektsii* [Pathophysiology of particularly dangerous infections]. *Saratov*, 1984, pp. 27–30.]
38. Филиппов А.А., Солодовников Н.С., Куклева Л.М., Проценко О.А. Изучение плазмидного состава штаммов возбудителя чумы из разных природных очагов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 1992. № 3. С. 10–13. [Filippov A.A., Solodovnikov N.S., Kukleva L.M., Protsenko O.A. Plasmid composition of *Yersinia pestis* strains from different natural foci. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 1992, no. 3, pp. 10–13. (*In Russ.*)]
39. Хлебцов Н.Г., Никифоров В.В., Мельников А.Г., Меркулова Т.К., Сердобинцев Л.Н. Спектроскопия упругого рассеяния растворов капсульного белка чумного микроба // Биополимеры и клетки. 1990. Т. 6, № 2. С. 81–87. [Khlebtsov N.G., Nikiforov V.V., Mel'nikov A.G., Merkulova T.K., Serdobintsev L.N. The elastic-scattering spectroscopy of plague microbe's capsular protein solutions. *Biopolimery i kletki = Biopolymers and Cells*, 1990, vol. 6, no. 2, pp. 81–87. (*In Russ.*)]
40. Шишкина О.Г., Кириллина О.А., Попов Ю.А. Получение рекомбинантных молекул ДНК, содержащих фрагменты плазмиды pFra чумного микроба // Микробиология и биохимия особо опасных инфекций. Саратов, 1988. С. 11–16. [Shishkina O.G., Kirillina O.A., Popov Yu.A. Poluchenie rekombinantnykh molekul DNK, soderzhashchikh fragmenty plazmidy pFra chumnogo mikroba [The preparation of recombinant DNA molecules containing fragments of plasmid *Yersinia pestis* pFra]. *Mikrobiologiya i biokhimiya osobo opasnykh infektsii* [Microbiology and biochemistry of particularly dangerous infections]. *Saratov*, 1988, pp. 11–16.]
41. Abramov V.M., Vasiliev A.M., Khlebnikov V.S., Vasilenko R.N., Kulikova N.L., Kosarev I.V., Ishchenko A.T., Gillespie J.R., Millett I.S., Fink A.L., Uversky V.N. Structural and functional properties of *Yersinia pestis* CafI capsular antigen and their possible role in fulminant development of primary pneumonic plague. *J. Proteome Res.*, 2002, no. 1, pp. 307–315. doi: 10.1021/pr025511u
42. Andrews G.P., Heath D.G., Anderson G.W., Welkos S.L., Friedlander A.M. Fraction 1 capsular antigen (F1) purification from *Yersinia pestis* CO92 and from an *Escherichia coli* recombinant strain and efficacy against lethal plague challenge. *Infect. Immun.*, 1996, vol. 64, no. 6, pp. 2180–2187.
43. Anisimov A.P., Dyatlov I.A. A novel mechanism of antibiotic resistance in plague? *J. Med. Microbiol.*, 1997, vol. 46, pp. 887–889.
44. 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
45. Baker E.E., Sommer H., Foster L.E., Meyer E., Meyer K.F. Studies on immunization against plague. I. The isolation and characterization of the soluble antigen of the *Pasteurella pestis*. *J. Immunol.*, 1952, vol. 68, no. 2, pp. 131–145.
46. Behrens S., Hershko A., Ciechanover A., Varshavsky A. Periplasmic chaperones — preservers of subunit folding energy for organelle assembly. *Cell*, 2003, vol. 113, no. 5, pp. 556–557. doi: 10.1016/S0092-8674(03)00396-9
47. Bennett L.G., Tornabene T.G. Characterization of the antigenic subunits of the envelope protein of *Yersinia pestis*. *J. Bacteriol.*, 1974, vol. 117, no. 1, pp. 48–55.
48. Bertin Y., Girardeau J.-P., Der Vartanian M., Martin C. The ClpE protein involved in biogenesis of the CS31A capsule-like antigen is a member of a periplasmic chaperone family in Gram-negative bacteria. *FEMS Microbiol. Lett.*, 1993, vol. 108, pp. 59–68. doi: 10.1111/j.1574-6968.1993.tb06074.x

49. Burrows T.W., Bacon G.A. The effects of loss of different virulence determinants on the virulence and immunogenicity of strains of *Pasteurella pestis*. *Brit. J. Exp. Pathol.*, 1958, vol. 39, no. 3, pp. 278–291.
50. Cavanaugh D.C., Randall R. The role of multiplication of *Pasteurella pestis* in mononuclear phagocytes in the pathogenesis of flea-borne plague. *J. Immunol.*, 1959, vol. 83, pp. 348–371.
51. Charnetzky W.T., Shuford W.W. Survival and growth of *Yersinia pestis* within macrophages and on effect of the loss of the 47-megadalton plasmid on growth in macrophages. *J. Infect. Immun.*, 1985, vol. 47, pp. 234–241.
52. Chen T.H., Elberg S.S. Scanning electron microscopic study of virulent *Yersinia pestis* and *Yersinia pseudotuberculosis* type I. *Infect. Immun.*, 1977, vol. 15, no. 3, pp. 972–977.
53. Cornelis G.R. The *Yersinia* deadly kiss. *J. Bacteriol.*, 1998, vol. 180, no. 21, pp. 5495–5504.
54. Dodd D.C., Eisenstein B.I. Dependence of secretion and assembly of type 1 fimbrial subunits on normal protein export. *J. Bacteriol.*, 1984, vol. 159, no. 3, pp. 1077–1079.
55. Drozdov I.G., Anisimov A.P., SamoiloVA S.V., Yezhov I.N., Yeremin S.A., Karlyshev A.V., Krasilnikova V.M., Kravchenko V.I. Virulent non-capsulate *Yersinia pestis* variants constructed by insertion mutagenesis. *J. Med. Microbiol.*, 1995, vol. 42, no. 4, pp. 264–268. doi: 10.1099/00222615-42-4-264
56. Feodorova V.A., Devdariani Z.L. New genes involved in *Yersinia pestis* fraction I biosynthesis. *J. Med. Microbiol.*, 2001, vol. 50, pp. 969–978.
57. Finlay B.B., Falkow S. Common themes in microbial pathogenicity revisited. *Microbiol. Mol. Biol.*, 1997, vol. 61, no. 2, pp. 136–169.
58. Fox E.N., Higuchi K. Synthesis of the fraction I antigenic protein by *Pasteurella pestis*. *J. Bacteriol.*, 1958, vol. 75, no. 2, pp. 209–216.
59. Friedlander A.M., Welkos S.L., Worsham P.L., Andrews G.P., Heath D.G., Anderson G.W.Jr., Pitt M.L., Estep J., Davis K. Relationship between virulence and immunity as revealed in recent studies of the F1 capsule of *Yersinia pestis*. *Clin. Inf. Dis.*, 1995, vol. 21, suppl. 2, pp. S178–S181. doi: 10.1093/clinids/21.Supplement_2.S178
60. Galyov E.E., Smirnov O.Yu., Karlyshev A.V., Volkovoy K.I., Denesyuk A.I., Nazimov I.V., Rubtsov K.S., Abramov V.M., Dalvadyanz S.M., Zav'yalov V.P. Nucleotide sequence of the *Yersinia pestis* gene encoding F1 antigen and the primary structure of the protein. Putative T and B cell epitopes. *FEBS Lett.*, 1990, vol. 227, no. 1–2, pp. 230–232.
61. Garcia E., Chain P., Worsham P., Bearden S.W., Malfatti S., Lang D., Larimer F., Lindler L., Pestoides F., an atypical *Yersinia pestis* strain from the former Soviet Union. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2007, vol. 603, pp. 17–22.
62. Girardeau J.-P., Vartanian M., Der Ollier J.L., Contrefois M. CS31A, a new K88-related fimbrial antigen on bovine enterotoxigenic and septicemic *Escherichia coli* strains. *Infect. Immun.*, 1988, vol. 56, no. 8, pp. 2180–2188.
63. Glosnicka R., Gruszkiewicz E. Chemical composition and biological activity of the *Yersinia pestis* envelope substance. *Infect. Immun.*, 1980, vol. 30, pp. 506–512.
64. Golubov A., Neubauer H., Noelting C., Heesemann J., Rakin A. Structural organization of the pFra virulence-associated plasmid of rhamnase-positive *Yersinia pestis*. *Infect. Immun.*, 2004, vol. 72, pp. 5613–5621. doi: 10.1128/IAI.72.10.5613-5621.2004
65. Hultgren S.J., Jones C.H. Utility of the immunoglobulin-like fold of chaperones in shaping organelles of attachment in pathogenic bacteria. The chaperone/usher pathway is a paradigm of certain facets of organelle development. *ASM News*, 1995, vol. 61, pp. 457–464.
66. Janssen W.A., Lawton W.D., Fukui G.M., Surgalla M.J. The pathogenesis of plague: I. A study of the correlation between virulence and relative phagocytosis resistance of some strains of *Pasteurella pestis*. *J. Infect. Dis.*, 1963, vol. 113, no. 2, pp. 139–143. doi: 10.1093/infdis/113.2.139 <http://jid.oxfordjournals.org/content/113/2/139.long>
67. Kagan B.L., Selsted M.E., Ganz T., Lehrer R.I. Antimicrobial defensin peptides form voltage-dependent ion-permeable channels in planar lipid bilayer membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1990, vol. 87, no. 1, pp. 210–214.
68. Karlyshev A., Galyov E., Smirnov O., Abramov V., Zav'yalov V.P. Structure and regulation of a gene cluster involved in capsule formation of *Yersinia pestis*. In: *Biological membranes: structure, biogenesis and dynamics*; eds.: Jos A.F. Op den Kamp. Berlin, Germany: NATO ASI Series. Series H: Cell Biology, Springer-Verlag, 1994, vol. 82, pp. 321–330.
69. Klemm P., Jørgensen B.J., Kreft B., Christiansen G. The export systems of type 1 and F1C fimbriae are interchangeable but work in parental pairs. *J. Bacteriol.*, 1995, vol. 177, no. 3, pp. 621–627.
70. Lawton W.D., Fukui G.W., Surgalla M.G. Studies on the antigens of *Pasteurella pestis* and *Pasteurella pseudotuberculosis*. *J. Immunol.*, 1960, vol. 84, no. 5, pp. 475–479.
71. Mencher J.S., Smith S.R., Powell T.D., Stinchcomb D.T., Osorio J.E., Rocke T.E. Protection of black-tailed prairie dogs (*Cynomys ludovicianus*) against plague after voluntary consumption of baits containing recombinant raccoon poxvirus vaccine. *Infect. Immun.*, 2004, vol. 72, no. 9, pp. 5502–5505.
72. Muller-Eberhard H.J. Complement. *Ann. Rev. Biochem.*, 1975, vol. 44, pp. 695–724.
73. Musson J.A., Morton M., Walker N., Harper H.M., McNeill H.V., Williamson E.D., Robinson J.H. Sequential proteolytic processing of the capsular Caf1 antigen of *Yersinia pestis* for MHC class II-restricted presentation to T lymphocytes. *J. Biol. Chem.*, 2006, vol. 281, no. 36, pp. 26129–26135. doi: 10.1128/IAI.72.9.5502-5505.2004
74. Neubauer H., Aleksis S., Meyer H., Spletstoesser W.D. Mapping of B-cell epitopes of the F1 capsular antigen of *Y. pestis*. *Medische Microbiologie (Nederlands Tijdschrift voor)*, 1998, vol. 6, suppl. II, pp. S10–S11.
75. Perry R.D., Fetherston J.D. *Yersinia pestis* — etiologic agent of plague. *Clin. Microbiol.*, 1997, vol. 10, no. 1, pp. 35–66.
76. Pirt S.T., Theckerey E.T., Harris-Smith R. The influence of environment on antigen production by *Pasteurella pestis* studies by means of the continuous flow culture technique. *J. Gen. Microbiol.*, 1961, vol. 25, pp. 119–130. doi: 10.1099/00221287-25-1-119
77. Protsenko O.A., Filippov A.A., Kutyrev V.V. Integration of the plasmid encoding the synthesis of capsular antigen and murine toxin into *Yersinia pestis* chromosome. *Microb. Pathogen.*, 1991, vol. 11, pp. 123–128.
78. Reddin K.M., Easterbrook T.J., Robinson A., Williamson D., Rhind-Tutt R. Large-scale purification of the F1 antigen of *Yersinia pestis*. *Contrib. Microbiol. Immunol.*, 1995, vol. 13, pp. 329–330. doi:10.1016/0882-4010(91)90005-U
79. Revazishvili T., Rajanna C., Bakanidze L., Tsertsvadze N., Imnadze P., O'Connell K., Kreger A., Stine O. C., Morris Jr.J.G., Sulakvelidze A. Characterisation of *Yersinia pestis* isolates from natural foci of plague in the Republic of Georgia, and their relationship to *Y. pestis* isolates from other countries. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2008, vol. 14, no. 5, pp. 429–436. doi: 10.1111/j.1469-0691.2008.01953.x.

80. Rodrigues C.G., Carneiro C.M., Barbosa C.T., Nogueira R.A. Antigen F1 from *Yersinia pestis* forms aqueous channels in lipid bilayer membranes. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 1992, vol. 25, no. 1, pp. 75–79.
81. Rowland S. The morphology of the plague bacillus. *J. Hyg.*, 1914, vol. 13, suppl. 3, pp. 418–422.
82. Runco L.M., Myrczek S., Bliska J.B., Thanassi D.G. Biogenesis of the F1 capsule and analysis of the ultrastructure of *Yersinia pestis*. *J. Bacteriol.*, 2008, vol. 190, no. 9, pp. 3381–3385. doi: 10.1128/JB.01840-07. doi: 10.1128/JB.01840-07
83. Russell A.D., Furr J.R., Maillard J.-Y. Microbial susceptibility and resistance to biocides. *ASM News.*, 1997, vol. 63, pp. 481–487.
84. Santi L., Giritch A., Roy C.J., Marillonnet S., Klimyuk V., Gleba Y., Webb R., Arntzen C.J., Mason H.S. Protection conferred by recombinant *Yersinia pestis* antigens produced by a rapid and highly scalable plant expression system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006, vol. 103, no. 4, pp. 861–866. doi: 10.1073/pnas.0510014103
85. Schütze H. Studies on *Bacterium pestis* antigens: III. The prophylactic value of the envelope and somatic antigens of *B. pestis*. *Br. J. Exp. Pathol.*, 1932, vol. 13, no. 3, pp. 293–298.
86. Simonet M., Richard S., Berche P. Electron microscopic evidence for in vivo extracellular localization of *Yersinia pseudotuberculosis* harboring the pYV plasmid. *Infect. Immun.*, 1990, vol. 58, pp. 841–845.
87. Simpson W.J., Thomas R.E., Schwan T.G. Recombinant capsular antigen (fraction I) from *Yersinia pestis* induces a protective antibody response in BALB/c mice. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1990, vol. 43, no. 4, pp. 389–396.
88. Titball R.W., Howells A.M., Oyston P.C.F., Williamson E.D. Expression of the *Yersinia pestis* capsular antigen (F1 antigen) on the surface of an *aroA* mutant of *Salmonella typhimurium* induces high levels of protection against plague. *Infect. Immun.*, 1997, vol. 65, pp. 1926–1930.
89. Van Oss C.J. Phagocytosis as a surface phenomenon. *Ann. Rev. Microbiol.*, 1978, vol. 32, pp. 19–39. doi: 10.1146/annurev.mi.32.100178.000315.
90. Vorontsov E.D., Dubichev A.G., Serdobintsev L.N., Naumov A.V. Association-dissociation processes and supermolecular organization of the capsule antigen (protein F1) of *Yersinia pestis*. *Biomed Sci.*, 1990, vol. 1, no. 4, pp. 391–396.
91. Walker R.V. Studies on the immune response of guinea pigs to the envelope substance of *P. pestis*: II. Fluorescent antibody studies of cellular and tissue response in mice and guinea pigs to large doses of fraction I. *J. Immunol.*, 1962, vol. 88, pp. 164–173.
92. Williams R.C., Gewurz H., Quie P.G. Effects of fraction 1 from *Yersinia pestis* on phagocytosis in vitro. *J. Infect. Dis.*, 1972, vol. 126, no. 3, pp. 235–241. doi: 10.1093/infdis/126.3.235
93. Winter C.C., Cherry W.B., Moody M.D. An unusual strain of *Pasteurella pestis* isolated from a fatal human case of plague. *Bull. World Health Organ.*, 1960, vol. 23, no. 2–3, pp. 408–409.
94. Worsham P.L., Stein M.-P., Welkos S.L. Construction of defined F1 negative mutants of virulent *Yersinia pestis*. *Contr. Microbiol. Immunol.*, 1995, vol. 13, pp. 325–328.
95. Yersin A. La peste bubonique à Hong-Kong. *Ann. Inst. Pasteur*, 1894, vol. 8, pp. 662–667.
96. Zav'yalov V.P., Denesyuk A.I., Zav'yalova G.A., Korpela T. Molecular modeling of the steric structure of the envelope F1 antigen of *Yersinia pestis*. *Immunol. Lett.*, 1995, vol. 45, no. 1–2, pp. 19–22. doi: 10.1016/0165-2478(94)00194-V
97. Zav'yalov V.P., Chernovskaya T.V., Navolotskaya E.V., Karlyshev A.V., MacIntyre Sh., Vasiliev A.M., Abramov V.M. Specific high affinity binding of human interleukin 1 β by Caf1A usher protein of *Yersinia pestis*. *FEBS Lett.*, 1995, vol. 371, iss. 1, pp. 65–68. doi: 10.1016/0014-5793(95)00878-D

Авторы:

Кадникова Л.А., стажер-исследователь отдела коллекционных культур ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, п. Оболенск, Московская область, Россия;
Копылов П.Х., к.б.н., зав. сектором биохимии отдела особо опасных инфекций ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, п. Оболенск, Московская область, Россия;
Дентовская С.В., д.м.н., зав. лабораторией микробиологии чумы отдела особо опасных инфекций ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, п. Оболенск, Московская область, Россия;
Анисимов А.П., д.м.н., профессор, зам. директора по научной работе ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, п. Оболенск, Московская область, Россия.

Authors:

Kadnikova L.A., Intern of the Microorganisms Collection Department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation;
Kopylov P.K., PhD (Biology), Head of Biochemical Sector, Department for Particularly Dangerous Infections, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation;
Dentovskaya S.V., PhD, MD (Medicine), Head of Laboratory for Plague Microbiology, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation;
Anisimov A.P., PhD, MD (Medicine), Professor, Deputy Director for Science of the State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation.

Поступила в редакцию 24.05.2015
 Отправлена на доработку 05.06.2015
 Принята к печати 07.07.2015

Received 24.05.2015
 Revision received 05.06.2015
 Accepted 07.07.2015