

**ИММУНОХИМИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ OMPF И OMPС ПОРИНОВ
YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS, ОЦЕНЕННАЯ МЕТОДОМ
ЛАЗЕРНОЙ ЛОВУШКИ**

Коньшев И.В.^{1,2},

Новикова О.Д.³,

Портнягина О.Ю.³,

Бывалов А.А.^{1,2}.

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук (ИФ Коми НЦ УрО РАН)

² Федеральное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Вятский государственный университет" (ФГБОУ ВО "ВятГУ")

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Тихоокеанский институт биорганической химии им. Г.Б. Елякова Дальневосточного Отделения РАН (ТИБОХ им. Г.Б. Елякова ДВО РАН)

**IMMUNOCHEMICAL ACTIVITY OF YERSINIA
PSEUDOTUBERCULOSIS OMPF AND OMPС PORINS EVALUATED BY
OPTICAL TRAPPING**

Konyshev I.V.^{a,b},

Novikova O.D.^c,

Portnyagina O.Yu.^c,

Byvalov A.A.^{a,b}.

^a Federal State Budgetary Scientific Institution Institute of Physiology of the Komi Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (Komi SC UB RAS)

^b Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Vyatka State University» (VyatSU)

^c Federal State Budgetary Scientific Institution Pacific Institute of Bioorganic Chemistry named after G.B. Yelyakov of the Far East Branch of the Russian Academy of Sciences (IBC named after G.B. Yelyakov FEB RAS).

Резюме

Введение. Исследование особенностей взаимодействия в системе "антиген-антитело" имеет большое значение для разработки новых современных средств диагностики и терапии инфекционных заболеваний. В этой связи большой интерес представляет изучение природы связи, формируемой между бактериальными антигенами и антителами, с использованием современных биофизических методов. Одним из таких современных подходов является метод оптической ловушки, основанный на использовании лазерного пинцета. Значимость поверхностных антигенов в иммунохимической активности бактерий *Yersinia pseudotuberculosis* с использованием данного метода ранее не оценивалась. Целью настоящей работы явилось изучение возможности использования метода оптической ловушки для оценки взаимодействия трансмембранных белков, неспецифических поринов *Y. pseudotuberculosis* OmpF и OmpC типа, со специфическими антителами. *Материалы и методы.* Очищенные препараты поринов OmpF и OmpC наносили на полистироловые микросферы ($d = 1$ мкм) посредством пассивной адгезии; факт сенсibilизации микросфер верифицировали методом твердофазного иммуоферментного анализа комплементарных антисывороток, истощенных теми или иными микросферами. Антитела в составе мышинных сывороток сорбировали на поверхности стекла посредством химической сшивки. Определение силы связывания в системе "порины – антитела" производили с помощью лазерной ловушки согласно разработанному ранее алгоритму. *Результаты.* С помощью модельной системы, включающей полистирольные микросферы, сенсibilизированные поринами OmpF и OmpC, и подложку из аминированного стекла, покрытую иммунной или неиммунной сывороткой, были выявлены существенные различия в силе связывания поринов OmpF и OmpC с гомологичными антисыворотками по сравнению с неиммунной, контрольной сывороткой. Средняя сила связи при использовании иммунных

сывороток составила 60 пН для микросфер "OmpF" (контроль – 40 пН) и 69 пН для микросфер "OmpC" (контроль – 49 пН). Доля необратимых связываний микросфер обоих типов с соответствующими комплементарными антисыворотками оказалась существенно выше по сравнению с использованием интактной сыворотки. Результаты оценки средней силы взаимодействия, а также преобладание доли необратимых связываний микросфер, нагруженных исследуемыми антигенами, с подложками, обработанными иммунными сыворотками, свидетельствует о том, что в сконструированной нами модельной системе специфические взаимодействия вносят значительный вклад в силу межмолекулярного связывания. Предложенный методический подход может быть применен для оценки сил межмолекулярного взаимодействия в аналогичных модельных системах с использованием иных микробных антигенов.

Ключевые слова: порины, *Yersinia pseudotuberculosis*, антиген, антитело, сенсibilизация, лазерная ловушка.

Abstract

Introduction. Study of features for interacting "antigen-antibody" system is of great importance for developing new modern tools for diagnostics and therapy of infectious diseases. In this regard, it is of great interest to study the rupture force between bacterial antigens and antibodies using modern biophysical methods including optical trapping. The importance of surface antigens in the immunochemical activity of *Yersinia pseudotuberculosis* assessed by such method has not been evaluated yet. In this work we examined an opportunity to evaluate the interaction of hydrophobic *Y. pseudotuberculosis* porins OmpF and OmpC with specific antibodies using optical trapping method. *Materials and methods.* Polystyrene microspheres ($d = 1 \mu\text{m}$) were coated by passive adhesion with purified preparations of OmpF and OmpC porins; microsphere sensitization was verified by

enzyme immunoassay. Antibodies from mouse sera were adsorbed onto the glass surface by chemical linking. The rupture force in the "porins-antibodies" system was determined using a laser trap according to the previously developed algorithm. *Results.* Using a model system including polystyrene microspheres sensitized with the proteins and aminated glass substrate coated with immune or nonimmune serum, significant differences in binding strength of OmpF and OmpC porins to homologous immune versus nonimmune sera were detected. The average forces of interaction with immune sera was 60 pN for OmpF microspheres (control – 40 pN) and 69 pN for OmpC microspheres (control – 49 pN). The proportion of irreversible substrate binding of the microspheres coated by the antigens to the treated with immune vs. non-immune sera was significantly higher. The results of assessing the average interaction force, as well as the predominance of the proportion of irreversible binding of antigen-coated microspheres with sera-treated substrates, indicates that specific interactions contribute significantly to the force of interaction. The aforementioned method can be used to evaluate the forces of intermolecular interaction in similar model systems using other microbial antigens.

Keywords: porins, *Yersinia pseudotuberculosis*, antigen, antibody, sensitization, laser trap.

1 **Введение**

2 В настоящее время род *Yersinia*, включённый в семейство *Yersiniaceae*,
3 включает 27 видов бактерий, три из которых – *Y. pseudotuberculosis*, *Y.*
4 *enterocolitica* и *Y. pestis* – патогенны для человека. Заболевания, вызываемые
5 первыми двумя видами, протекают преимущественно в форме острого
6 энтерита с поражением регионарных лимфоузлов и пейеровых бляшек
7 кишечника. Энтеропатогенные представители рода *Yersinia* широко
8 распространены в природных биотопах (почве, воде, растениях), некоторые из
9 них являются зоонозными и обнаруживаются в организме рыб, земноводных
10 и насекомых. Особенности персистенции иерсиний в условиях окружающей
11 среды и те изменения, которые происходят в их клетках в процессе
12 инфицирования теплокровных животных и человека, изучены недостаточно.
13 Большую роль в этих процессах играют поверхностные антигены бактерий:
14 липополисахарид и белки наружной мембраны.

15 Преобладающими (до 10^5 копий на клетку) среди белков наружной
16 мембраны грамотрицательных бактерий являются порины, которые относятся
17 к группе трансмембранных интегральных белков, формирующих в
18 бактериальной мембране бочонкообразную структуру с гидрофильной порой
19 внутри [10]. Остатки гидрофобных аминокислот поринов, обращённые
20 наружу, взаимодействуют с липидами бактериальной мембраны; в свою
21 очередь, гидрофильные остатки обращены в полость канала, что обеспечивает
22 трансмембранный перенос низкомолекулярных гидрофильных органических
23 соединений и солей (нутриентов, антибиотиков, солей желчных кислот).

24 На примере *Escherichia coli* было показано, что уровень экспрессии
25 генов поринов изменяется в зависимости от температуры, pH среды и
26 осмолярности среды [4, 9]. Подобными свойствами обладают и клетки
27 психротолерантного микроорганизма *Yersinia pseudotuberculosis*: в
28 окружающей среде и при культивировании в диапазоне температур (от +4 до
29 +10 °C) в клеточной стенке данного микроба синтезируется преимущественно

30 порин OmpF. При повышении температуры до +37 °С, например, в условиях
31 избытка нутриентов внутри теплокровного организма, увеличивается
32 продукция OmpC белка, участвующего в формировании пор меньшего
33 размера. Предполагается, что изменение типа неспецифических поринов в
34 бактериальной мембране и связанное с этим изменение ее проницаемости (или
35 эффективности прохождения нутриентов через наружную мембрану)
36 представляет собой один из механизмов адаптации бактерий к изменению
37 условий окружающей среды. [9]. Кроме того, порин OmpC обеспечивает
38 дополнительную защиту иерсиний от действия жёлчных кислот, способствуя
39 их выживанию в тонком кишечнике [13].

40 Показано участие поринов грамотрицательных бактерий в процессах
41 адгезии, инвазии и формировании устойчивости к компонентам сыворотки [3,
42 5, 12]. Сообщается также о вкладе поринов ряда бактерий в образование
43 биоплёнок [11], об их возможном участии в рецепции бактериофагов [8] и в
44 стимуляции синтеза провоспалительных цитокинов в процессе развития
45 иммунного ответа [6].

46 Цель настоящего исследования состояла в определении методом
47 оптической ловушки силовых характеристик взаимодействия молекул
48 неспецифических поринов OmpF и OmpC *Y. pseudotuberculosis* с сыворотками,
49 содержащими гомологичные антитела.

50 Материалы и методы

51 В работе использовали штамм *Y. pseudotuberculosis* серотипа 1b (№ 474),
52 полученный из коллекции ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб».

53 Порины OmpF и OmpC *Y. pseudotuberculosis* получали из микробной
54 массы, выращенной, соответственно, при + 6... + 8 и + 37 °С по ранее
55 описанной методике [2]. Степень очистки полученных образцов поринов
56 анализировали с помощью SDS, ПААГ-электрофореза по методу Лэммли [7].
57 По данным электрофореза, использованные в эксперименте образцы белков
58 представляли собой гомогенные препараты. До использования в эксперименте

59 препараты поринов хранили при температуре 4-6 °С в фосфатном буферном
60 растворе, рН 7.2–7.4, (ФБР), содержащем 0.1 % SDS. Сенсibilизацию
61 микросфер препаратами поринов, а также валидацию факта указанной
62 сенсibilизации проводили по методикам, описанным в работе [1].

63 Мышинные антисыворотки к поринам получали, как описано в работе [1].
64 Титры антител в полученных антипориновых сыворотках определяли с
65 помощью метода непрямого твердофазного иммуноферментного анализа
66 (ТИФА), используя микропланшеты Costar (США). Титры иммунных
67 сывороток к OmpF и OmpC поринам составляли 1:62400 и 1:124800
68 соответственно. Нормальную, интактную сыворотку получали от неиммунных
69 мышей. Непосредственно перед использованием препараты сывороток
70 центрифугировали при 10000 g в течение 20 мин. Все эксперименты с
71 животными были проведены в соответствии с положениями *Директивы*
72 *№2010/63/ЕС* Европейского парламента и Совета *Европейского Союза* “О
73 защите животных, использующихся для научных целей”.

74 Для сенсibilизации подложек сыворотками использовали пластиковые
75 чашки «Fluorodish» (WPI, Германия) со стеклянным дном, которые
76 предварительно подвергали процедуре аминирования. В отдельной ёмкости
77 смешивали 10 мкл триэтиламина (Реахим, Россия) и 30 мкл 3-аминопропил-
78 триэтоксисилана (APTES) (Sigma Aldrich, США), после чего помещали её
79 вместе с чашками в эксикатор и выдерживали в атмосфере аргона в течение
80 1.5 ч. По окончании процедуры на поверхность чашек наносили
81 последовательно 0.6 мкл EDC (Sigma Aldrich, США), 900 мкл ФБР, 30 мкл
82 0.46%-ного раствора N-гидроксисукцинимиды (SigmaAldrich, США) и 100 мкл
83 каждой из трёх сывороток (в разведении 1:10). Инкубировали чашки в течение
84 ночи при температуре 4-6 °С, затем пятикратно промывали деионизованной
85 водой и хранили в закрытом эксикаторе при температуре 4-6 °С.

86 Для оценки сил взаимодействия в модельной системе «микросфера –
87 подложка» использовали лазерный пинцет JPK Nanotracker™ (JPK, Германия)

88 на основе иттрий-гранатового источника инфракрасного излучения ($\lambda = 1064$
89 нм). Непосредственно перед проведением эксперимента в чашку 'Fluorodish',
90 сенсibilизированную одним из трёх сывороточных препаратов, приливали
91 2.5 мл ФБР и 2-4 мкл суспензии микросфер. Тщательно перемешивали
92 содержимое чашки и устанавливали её на термостатируемую платформу с
93 температурой $+37$ °С. Далее производили калибровку прибора с
94 использованием программы «JPK Calibration Manager» с учётом температуры
95 раствора, диаметра микросфер и вязкости раствора (0.73 сПз). Определённое
96 таким способом среднее значение коэффициента чувствительности
97 квадрантного детектора составило 6.4 мВ/ нм, коэффициента жёсткости – 0.26
98 пН/ нм.

99 Методика оценки сил межмолекулярного взаимодействия включала
100 захват микросферы в фокус лазерной ловушки при мощности лазера 2.0 Вт.
101 После повторной калибровки подводили микросферу ко дну чашки таким
102 образом, чтобы расстояние между ними составляло 1.0 -1.5 мкм. С помощью
103 пьезостолика прецизионно перемещали чашку в направлении неподвижной
104 микросферы с шагом 50 нм до момента их соприкосновения, который
105 индицировали по трём последовательным скачкам на хронограмме сигнала.
106 Спустя 1 с после остановки запускали процесс отведения пьезостолика в
107 обратном направлении в полуавтоматическом режиме со скоростью около 150
108 нм/ с. Момент разрыва связи детектировали по скачкообразному изменению
109 сигнала на хронограмме.

110 Первичные данные сохраняли в виде текстовых файлов, которые затем
111 обрабатывали с использованием специализированного программного
112 обеспечения JPK Processing. Статистический анализ проводили с
113 использованием пакетов программ MatLab 7.0 и Statistica 12.

114 **Результаты и обсуждение**

115 На первом этапе исследования иммунохимически был подтверждён
116 факт сенсibilизации полистироловых микросфер препаратами поринов. С

117 помощью метода ТИФА были определены средние значения оптической
118 плотности (OP_{492}) растворов в лунках с внесёнными «анти-OmpF» и «анти-
119 OmpC» сыворотками, полученными после инкубации с микросферами,
120 сенсibilизированными гомологичными антигенами. Измеренные значения
121 OP_{492} составили соответственно 0.950 и 0.742 против 1.722 и 2.041 единиц
122 OP_{492} , полученных для супернатантов после инкубации микросфер «БСА» с
123 препаратами этих же сывороток. Активность исходных иммунных «анти-
124 OmpF» и «анти-OmpC» сывороток, взятых в том же разведении, составила, в
125 среднем, 1.803 и 2.102 единиц OP_{492} соответственно.

126 На втором этапе исследования методом оптической ловушки были
127 определены средние силы взаимодействия микросфер, обработанных
128 поринами OmpF и OmpC, с соответствующими гомологичными
129 антисыворотками. Их значения оказались близкими и составили
130 соответственно 60 и 69 пН. При использовании подложки, обработанной
131 нормальной мышиной сывороткой, не содержащей антител к указанным
132 белкам, силы взаимодействия составили, в среднем, 40 и 49 пН соответственно
133 (Таблица). Анализ гистограмм распределения сил разрыва для системы
134 «OmpF–анти-OmpF» показал наличие двух выраженных пиков (в области 20-
135 40 и 110-140 пН). Похожая закономерность характерна и для второй пары
136 взаимодействующих молекул: в системе «OmpC–анти-OmpC» первый пик
137 наблюдался в области 20-40 пН, второй – в области 110-150 пН (Рисунок).

138 Можно предположить, что высокоамплитудные отрывы соответствуют
139 специфическим взаимодействиям антигена с иммунной сывороткой, а
140 низкоамплитудные отрывы – неспецифическим взаимодействиям,
141 обусловленным, очевидно, физико-химическими особенностями носителей
142 (полистирола микросфер и стеклянной поверхности, обработанной
143 аминирующим агентом – APTEs). При использовании подложек,
144 обработанных нормальной мышиной сывороткой, доля низкоамплитудных
145 отрывов (до 40 пН) составила 57 и 48 % для микросфер «OmpF» и «OmpC»

146 соответственно. При использовании чашек, покрытых сыворотками к
147 указанным поринам, доля низкоамплитудных отрывов оказалась существенно
148 ниже - соответственно 30 и 40 %. При этом доля необратимых связываний
149 микросфер «OmpF» с комплементарной и контрольной сыворотками
150 составила 39.4 и 15.3%, а для микросфер «OmpC» - 39.2 и 17.9% (Таблица).

151 Как видно из представленных на рисунке данных, связывание
152 исследуемых антигенов с антителами представляет собой сложный процесс,
153 поскольку на всех гистограммах присутствует как низкоамплитудный, так и
154 высокоамплитудный пики. В случае иммунной сыворотки, которая
155 используется в эксперименте в небольшом разведении (1:10), наличие пика в
156 области 20-40 пН может объясняться присутствием сывороточных белков,
157 неспецифически взаимодействующих с БСА, привнесенным из блокирующего
158 буфера в состав сенситина на микросферах. Тем не менее, преобладание доли
159 необратимых связываний нагруженных исследуемыми антигенами микросфер
160 с подложками, обработанными иммунными сыворотками, свидетельствует о
161 том, что в сконструированной нами модельной системе специфические
162 взаимодействия вносят значительный вклад в силу межмолекулярного
163 связывания (Таблица).

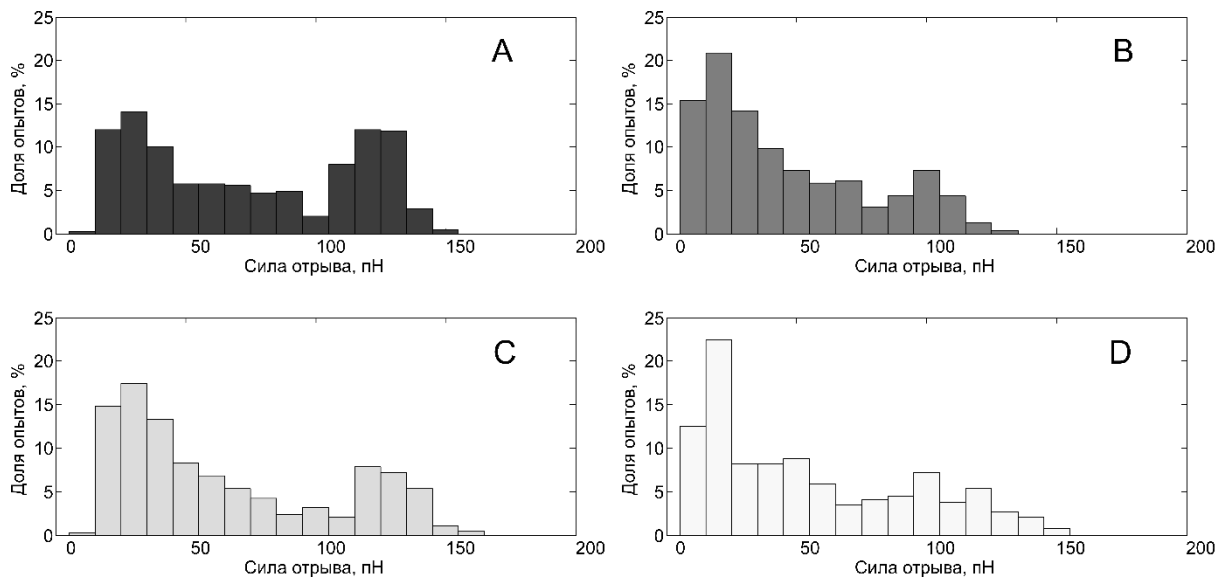
164 Полученные результаты свидетельствуют о том, что апробированные
165 нами методические подходы, основанные на использовании оптического
166 пинцета, позволяют оценивать силовые характеристики межмолекулярного
167 взаимодействия различных микробных антигенов и антител.

168 Исследования проведены в рамках темы НИР ИФ ФИЦ Коми НЦ УрО
169 РАН FUUU-2022-0065 (№ 1021051201894-0)".

РИСУНКИ

Рисунок – Гистограммы распределения сил разрыва в системе «микросфера – подложка». А – «OmpF – анти-OmpF», В – «OmpF – нормальная сыворотка», С – «OmpC – анти-OmpC», D – «OmpC – нормальная сыворотка».

Figure - Histograms of rupture force distribution in the "microsphere – glass surface" system. A - "OmpF - anti-OmpF", B - "OmpF - normal serum", C - "OmpC - anti-OmpC", D - "OmpC - normal serum".



ТАБЛИЦЫ

Таблица – Силы разрыва связей в системе «микросфера - подложка» для различных комбинаций антигенов и сывороток

Table. rupture force distribution in the "microsphere – glass surface" system for varying antigen-serum combinations

Показатель Parameter	Значение показателя для модельной системы... Parameter magnitude in model system			
	OmpF – анти-OmpF OmpF – anti-OmpF	OmpF – нормальная сыворотка OmpF – normal serum	OmpC – анти-OmpC OmpC – anti-OmpC	OmpC – нормальная сыворотка OmpC – normal serum
F_{mean} , пН	$60 \pm 41^*$	$40 \pm 31^*$	$69 \pm 41^{**}$	$49 \pm 39^{**}$
Доля необратимы х связываний, % Proportion of irreversible bindings, %	39.4	15.3	39.2	17.9
Доля «нулевых» опытов, % Proportion of “zero” bindings, %	17.9	46.8	16.5	41.9
N	471	326	450	375

Примечания: F_{mean} – среднее значение силы разрываемой связи;

**, ** – различия в парах статистически достоверны для $p > 0.99$;*

под «нулевым» опытом понимается отсутствие скачка сигнала на хронограмме при отведении пьезостолика

Notes: F_{mean} – mean value of the ruptured bond strength;

**, **— significant pairwise differences for $p > 0.99$;*

“zero” binding stands for no signal rise upon piezo table removal

.

МЕТАДАННЫЕ

Автор для переписки: Бывалов Андрей Анатольевич, доктор медицинских наук, профессор, старший научный сотрудник Центра превосходства "Фармацевтическая биотехнология" ВятГУ, зав. лабораторией физиологии микроорганизмов Института физиологии Коми НЦ УрО РАН

Corresponding author: Byvalov Andrey Anatolievich, MD, PhD, Professor, Senior Researcher of the Center of Excellence "Pharmaceutical Biotechnology" Vyatka State University, head of the Laboratory of Microbial Physiology of the Institute of Physiology, Komi Scientific Center, UrO RAS.

Место работы: Федеральное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Вятский государственный университет" (ФГБОУ ВО "ВятГУ")

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Vyatka State University» (FSBEI HE «VyatSU»)

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук (ИФ Коми НЦ УрО РАН)

Federal State Budgetary Scientific Institution Institute of Physiology of the Komi Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (Komi SC UB RAS)

Адрес для переписки: 610000, г. Киров, ул. Московская, д. 36, каб. 513а, тел.:

+7(8332) 64-50-69, e-mail: byvalov@nextmail.ru

610000, Russia, Kirov, 36, Moskovskaya street, VyatSU,
Biotechnology Department, 513a; phone: +7(8332) 64-50-69, e-mail: byvalov@nextmail.ru

Соавторы:

Коньшев Илья Владимирович, кандидат биологических наук, доцент кафедры биотехнологии ИББТ ВятГУ, с.и.с. лаборатории физиологии микроорганизмов ИФ Коми НЦ УрО РАН.

Konyshev Ilya Vladimirovich, Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Physiology of Prevention, Institute of Physics, Komi Scientific Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences.

Federal State Budgetary Scientific Institution Institute of Physiology of the Komi Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (Komi SC UB RAS); Vyatka State University

Новикова Ольга Даниловна, доктор химических наук, главный научный сотрудник лаборатории молекулярных основ антибактериального иммунитета Тихоокеанского института биоорганической химии им. Г.Б. Елякова Дальневосточного Отделения РАН (ТИБОХ им. Г.Б. Елякова ДВО РАН)

Novikova Olga Danilovna, Doctor of Chemistry, Principal Scientist, Laboratory of molecular basis of Immunity

Federal State Budgetary Scientific Institution Pacific Institute of Bioorganic Chemistry named after G.B. Yelyakov of the Far East Branch of the Russian Academy of Sciences (IBC named after G.B. Yelyakov FEB RAS)

Портнягина Ольга Юрьевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярных основ антибактериального иммунитета Тихоокеанского института биоорганической химии им. Г.Б. Елякова Дальневосточного Отделения РАН (ТИБОХ им. Г.Б. Елякова ДВО РАН)

Portnyagina Olga Yurievna, Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Laboratory of molecular basis of Immunity

Federal State Budgetary Scientific Institution Pacific Institute of Bioorganic Chemistry named after G.B. Yelyakov of the Far East Branch of the Russian

Academy of Sciences (IBC named after G.B. Yelyakov FEB RAS).

Название публикации: Иммунохимическая активность OmpF и OmpC поринов

Yersinia pseudotuberculosis, оцененная методом лазерной ловушки

Исходные данные: 6 стр., 1 табл., 1 рис.

Вид публикации: краткое сообщение.

Дата отправления работы: 25.07.2022 г.

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ

- Название статьи: Иммунохимическая активность OmpF и OmpC поринов *Yersinia pseudotuberculosis*, оцененная методом лазерной ловушки

Immunochemical activity of OmpF and OmpC porins from *Yersinia pseudotuberculosis* evaluated by optical trapping

- Авторы:

Коньшев И.В.^{1,2}, к.б.н., ст. науч. сотрудник

Новикова О.Д.³, д.х.н., гл. науч. сотрудник

Портнягина О.Ю.³, к.б.н., ст. науч. сотрудник

Бывалов А.А.^{1,2}, д.м.н., профессор

Konyshov I.V.^{a,b}, Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher

Novikova O.D.^c, Doctor of Chemistry, Principal Scientist

Portnyagina O.Yu.^c, Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher

Byvalov A.A.^{a,b}, Doctor of Medicine, Professor, Head of the laboratory

- Организации:

1) Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук (ИФ Коми НЦ УрО РАН)

2) Федеральное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Вятский государственный университет" (ФГБОУ ВО "ВятГУ")

3) Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова Дальневосточного Отделения РАН (ТИБОХ им. Г.Б. Елякова ДВО РАН)

a) Federal State Budgetary Scientific Institution Institute of Physiology of the Komi Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (Komi SC UB RAS)

b) Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Vyatka State University» (VyatSU)

c) Federal State Budgetary Scientific Institution Pacific Institute of Bioorganic Chemistry named after G.B. Yelyakov of the Far East Branch of the Russian Academy of Sciences (IBC named after G.B. Yelyakov FEB RAS).

- Сокращенное название статьи: Иммунохимическая активность поринов

Immunochemical activity of porins

- Ключевые слова: порины, *Yersinia pseudotuberculosis*, антиген, антитело, сенсibilизация, лазерная ловушка.

Keywords: porins, *Yersinia pseudotuberculosis*, antigen, antibody, sensitization, laser trap.

- Адрес для переписки: 610000, г. Киров, ул. Московская, д. 36, каб. 513а, +7(8332) 64-50-69, byvalov@nextmail.ru.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

№ ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	Ф.И.О., название публикации и источника на английском языке	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи и/или ее DOI
1	Бывалов А.А., Конышев И.В., Новикова О.Д., Портнягина О.Ю., Белозеров В.С., Хоменко В.А., Давыдова В.Н. Адгезивность поринов OmpF и OmpC <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> к макрофагам J774 // Биофизика. 2018. Т. 63. № 5. С. 913–922	Byvalov A.A., Konyshev I.V., Novikova O.D., Portnyagina O.Yu., Belozеров V.S., Khomenko V.A., Davydova V.N. Adhesiveness of OmpF and OmpC porins from <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> to macrophages J774 // Biophysics. 2018. Vol. 63, No. 5, P. 913-922.	https://elibrary.ru/item.asp?id=35598450
2	Новикова О.Д., Федореева Л.И., Хоменко В.А., Портнягина О.Ю., Ермак И.М., Лихацкая Г.Н., Мороз С.В., Соловьева Т.Ф., Оводов Ю.С. Влияние способа экстракции порообразующего белка из <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> на его макромолекулярную организацию // Биоорганическая химия. 1993. Т. 19. № 5. С. 536-547	Novikova O.D., Fedoreeva L.I., Khomenko VA, Portnyagina OY, Ermak I.M., Likhatskaya GN, Moroz SV, Solovieva TF, Ovodov Yu S. Effect of the method of extraction of pore-forming protein from <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> on its macromolecular organization // Bioorganic Chemistry. 1993. T. 19. № 5. C. 536-547	http://rjbc.ru/arc/19/5/0536-0547.pdf

3	Achouak W., Heulin T., Pages J.M. Multiple facets of bacterial porins. FEMS Microbiol. Lett., 2001, vol. 199, pp. 1–7	–	10.1111/j.1574-6968.2001.tb10642.x
4	Csonka L.N. Physiological and genetic responses of bacteria to osmotic stress. Microbiol. Rev., 1989, vol. 53, pp. 121–147	–	10.1128/mr.53.1.121-147.1989
5	Duperthuy M., Binesse J., Roux F. Le, Romestand B., Caro A., Got P., Givaudan A., Mazel D., Bachère E., Destoumieux-Garzón D. The major outer membrane protein OmpU of <i>Vibrio splendidus</i> contributes to host antimicrobial peptide resistance and is required for virulence in the oyster <i>Crassostrea gigas</i> . Environ. Microbiol., 2010, vol. 12, pp. 951–963	–	10.1111/j.1462-2920.2009.02138.x
6	Galdiero S., Falanga A., Cantisani M., Tarallo R., Della Pepa M.E., D'Orlando V., Galdiero M. Microbe-host interactions: structure and role of Gram-negative bacterial porins. Curr. Protein Pept. Sci., 2012, vol. 13, pp. 843-854	–	10.2174/138920312804871120

7	Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. <i>Nature</i> , 1970, vol. 227, pp. 680-685	–	10.1038/227680a0
8	Leon-Velarde C.G., Happonen L., Pajunen M., Leskinen K., Kropinski A.M., Mattinen L., Rajtor M., Zur J., Smith D., Chen S., Nawaz A., Johnson R.P., Odumeru J.A., Griffiths M.W., Skurnik M. <i>Yersinia enterocolitica</i> -specific infection by Bacteriophages TG1 and ϕ R1-RT is dependent on temperature-regulated expression of the phage host receptor OmpF. <i>Appl Environ Microbiol.</i> , 2016, vol. 82, pp. 5340-5453	–	10.1128/AEM.01594-16
9	Liu X., Ferenci T. An analysis of multifactorial influences on the transcriptional control of ompF and ompC porin expression under nutrient limitation. <i>Microbiology</i> , 2001, vol. 147, pp. 2981–2989	–	10.1099/00221287-147-11-2981
10	Nikaido H. <i>Escherichia coli</i> and <i>Salmonella</i> cellular and molecular biology. Outer membrane. Ed.	–	https://searchworks.stanford.edu/view/3213374

	Neidhardt F.C. ASM Press DC, 1996, pp. 29–47		
11	Pompilio A., Scribano D., Sarshar M., Di Bonaventura G., Palamara A.T., Ambrosi C. Gram-Negative Bacteria Holding Together in a Biofilm: The Acinetobacter baumannii Way. Microorganisms, 2021, vol. 9, 1353	–	10.3390/microorganisms9071353
12	van Putten J.P., Duensing T.D., Carlson J. Gonococcal invasion of epithelial cells driven by P.IA, a bacterial ion channel with GTP binding properties. J. Exp. Med., 1998, vol. 188, pp. 941–952	–	10.1084/jem.188.5.941
13	Thanassi D.G., Cheng L.W., Nikaido H. Active efflux of bile salts by Escherichia coli. J Bacteriol., 1997, vol. 179, pp. 2512–2518	–	10.1128/jb.179.8.2512-2518.1997