



УДК 577.27;579.22;579.842.23;615.371; 616.097

ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА АНТИГЕНОВ *Yersinia pestis*

© 2011 г. А. А. Бывалов, Ю. С. Оводов\*

Учреждение Российской академии наук Институт физиологии Коми НЦ УрО РАН,  
167982, Республика Коми, г. Сыктывкар, Первомайская, 50

Поступила в редакцию 06.09.2010 г. Принята к печати 27.10.2010 г.

В обзоре представлена информация об иммунобиологических свойствах антигенов чумного микроба. Оценивается значимость каждого из идентифицированных антигенов в проявлении патогенности *Yersinia pestis* (устойчивость к фагоцитозу, токсичность, адгезивность и др.), способности к персистенции, адаптации к меняющимся условиям существования. Отдельно рассматриваются вопросы антигенного обеспечения иммуногенности живых чумных вакцин, литературные данные о собственной протективности антигенов для модельных животных. Приводятся сведения об установленных или предполагаемых механизмах участия антигенов в развитии адаптивного иммунитета.

*Ключевые слова:* *Yersinia pestis*, антиген, патогенность, протективность, иммунитет.

Из числа представителей рода *Yersinia* три – *Yersinia pestis*, *Yersinia pseudotuberculosis* и *Yersinia enterocolitica* – являются патогенными для человека. Первый из них, эволюционно наиболее “молодой”, вызывает чуму – системное особо опасное инфекционное заболевание, три пандемии которого в течение последних полутора тысяч лет унесли более 200 млн человеческих жизней. Возбудитель передается человеку, как правило, либо через укусы инфицированной блохи с развитием бубонной формы заболевания, либо аэрогенно, вызывая первично легочную чуму. Возбудители псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза передаются алиментарным путем, эти заболевания характеризуются, главным образом, проявлением симптомов энтерита или энтероколита. Клинически и эпидемиологически чума, с одной стороны, и псевдотуберкулез и кишечный иерсиниоз, с другой, резко различаются, в первую очередь, за счет носительства чумным микробом двух плазмид, отсутствующих в клетках энтеропатогенных иерсиний. Средств специфической профилактики псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза не создано. В противоэпидемической практике широко, хотя и с разной степенью эффективности, применялись живые и инактивированные чумные вакцины.

Защитное действие живых вакцин (в том числе и чумной) основано на способности микробов вакцинного штамма приживаться и распростра-

няться в прививаемом макроорганизме и, как следствие, накоплении *in vivo* достаточных количеств протективных антигенов, обеспечивающих развитие иммунных реакций. Тонкие механизмы формирования иммунитета к возбудителю чумы с помощью живой вакцины практически не изучены. То же самое можно сказать и об убитых чумных вакцинах, иммуногенность которых определяется совокупным действием протективных антигенов, находящихся в составе вакцинного препарата. Конструирование новых средств специфической профилактики чумы и тем более молекулярной вакцины, разработка эффективных иммуно- и генодиагностических тест-систем невозможны без углубленного исследования антигенной структуры *Y. pestis*, роли отдельных антигенов в проявлении чумным микробом патогенных и иммуногенных свойств.

Изучение иммунобиологических свойств отдельных компонентов *Y. pestis* началось вскоре после открытия возбудителя чумы и заключалось в попытках фракционирования микробной биомассы и оценке, в первую очередь, защитных свойств полученных фракций на лабораторных животных, зараженных вирулентной культурой чумного микроба. Начало целенаправленным усилиям по идентификации протективных антигенов было положено работами Шютце [1, 2], а затем Бейкера и соавт. [3, 4]. Последней группе исследователей удалось выделить в очищенном виде и охарактеризовать некоторые физико-химические и иммунобиологические свойства фракции I (или F1-антигена), первого из идентифицированных “моноантигенов” чумного микроба [4]. В последующем внедрение в практику исследований новых иммунохимических методов позволило выявить в чумном микробе значитель-

Сокращения: ЛПС – липополисахарид; РДП – реакция диффузионной преципитации; ОСА – основной соматический антиген; ImD<sub>50</sub> – расчетная доза антигена, вызывающая защиту 50% иммунизированных животных от заражения фиксированной дозой возбудителя; LD<sub>50</sub> – расчетная доза возбудителя, вызывающая гибель 50% зараженных животных.

\* Автор для связи (тел./факс: 8212-241001; эл. почта: ovoys@physiol.komisc.ru).

ное количество иммунохимически различных антигенов, но лишь небольшое число из них к настоящему времени выделено и изучено.

Наиболее исследованным антигеном *Y. pestis* является фракция I, формирующая на поверхности микроба капсулу в виде гранулярного слоя, фибриллярных структур, пилеподобных волокон и др. при повышенной температуре (~37°C) выращивания клеточной биомассы [5–7]. В условиях глубинного культивирования клеток F1-антиген способен “вымываться” из капсулярного слоя в питательную среду. Иммунохимическая активность препаратов фракции I, выделенных различными методами, определяется белковой составляющей антигена, что впервые было показано Бейкером и соавт. [3, 4], получившими полипептидный компонент макромолекулы (F1B), свободный от примеси полисахаридов. Нативные, высокомолекулярные формы антигена с мол. массой порядка нескольких МДа можно выделить из культуральной жидкости при выращивании микробов в обогащенной питательной среде при температуре ~37°C. Такие препараты антигена относительно устойчивы к воздействию физических и химических факторов.

Показано, что субъединица F1-антигена – незрелый белок CafI – с M17.6 кДа состоит из 170 а.о.; мол. масса зрелого белка без сигнального пептида составляет 15.5 кДа [8]. Его биосинтез кодируется геном *cafI fra*-оперона крупной (60–65 МДа) резидентной плазмиды чумного микроба pFra/Tox, результаты определения первичной структуры и молекулярно-генетической организации которого опубликованы [8, 9]. Изучение антигенной структуры фракции I с помощью набора гибридом показало, что молекула антигена имеет не менее восьми эпитопов, распознаваемых моноклональными антителами (MAт) различных линий; причем среди них выявлены как B-, так и T-клеточные эпитопы, определяющие различные иммунобиологические эффекты [8, 10].

Высокая иммунобиологическая значимость F1-антигена была показана вскоре после его выделения в очищенном виде и установления факта его наличия в составе капсулы *Y. pestis*. В первой классификации факторов вирулентности чумного микроба, предложенной в 1963 г. [11], фракция I стоит на первом месте. Способность к биосинтезу F1-антигена (капсулы) связывают с устойчивостью возбудителя чумы к захвату интактными клетками хозяина (нейтрофилами, макрофагами) [11–13], выживанию внутри макрофагов и чувствительностью *Y. pestis* к антибиотикам (цит. по [14]). Считается, что капсула, образованная фракцией I, предотвращает запуск иммунных механизмов хозяина путем механического экранирования липополисахарида наружной мембраны микробной клетки, обладающего способностью индуцировать альтернативный путь активации комплемента. F1-антиген способен прояв-

лять цитотоксическое действие, ингибирует комплементопосредованную опсонизацию микроба (цит. по [14]). Вместе с тем известны экспериментальные данные, указывающие на то, что способность к капсулообразованию не только не первостепенный, но и недостаточно значимый фактор патогенности (и иммуногенности) *Y. pestis* [15]. Широкий и, по всей видимости, еще не окончательно установленный спектр биологической значимости фракции I для обеспечения жизнедеятельности *Y. pestis* и сохранения возбудителя в природе определяется его поверхностной локализацией в микробной клетке, высокой антигенностью, способностью возбудителя при определенных условиях к ее продукции в больших количествах.

Протективные свойства фракции I для экспериментальных животных, зараженных культурой возбудителя чумы, исследовали во многих лабораториях с использованием различных условий эксперимента (разных доз антигена, адьювантов, способов, схем иммунизации и заражения, инфицирующих штаммов и т.д.). Многочисленные данные литературы позволяют утверждать, что первичная иммунизация препаратами F1-антигена индуцирует выраженную защиту от чумы, вызываемой капсулообразующими штаммами возбудителя, у животных: белых мышей, белых крыс, в меньшей степени, у морских свинок и обезьян нескольких видов, используемых при разработке и оценке качества чумных вакцин [4, 16, 17]. Применение адьювантов существенно усиливает протективный эффект иммунизации белых мышей антигеном F1 по показателю  $ImD_{50}$  неполного адьюванта Фрейнда – в 18–67 раз, геля гидроокиси алюминия – в 4–5 раз [16]. Естественно, неэффективна иммунизация F1-антигеном животных названных видов в отношении последующего заражения культурой бескапсульных форм *Y. pestis*.

Следует особо подчеркнуть способность фракции I обеспечивать высокий ревакцинирующий эффект на фоне грундиммунизации живой чумной вакциной павианов гамадрилов и морских свинок [18–20], которые отвечают развитию слабовыраженной специфической невосприимчивости к чуме в ответ на чрескожное первичное введение F1-антигена. Оценивая данные о выраженности иммунизирующего эффекта от введения антигена интактным животным (первичная иммунизация) и животным, предварительно привитым живой чумной вакциной (ревакцинация), можно прийти к следующим заключениям. Ревакцинация F1-антигеном павианов гамадрилов и морских свинок, грундиммунизированных живой вакциной, обуславливает резкую стимуляцию иммунитета, по своей выраженности несоизмеримую с защитным действием антигена при вакцинации неиммунизированных животных: как известно [4, 21], даже многократное (3–4-кратное) введение обезьянам и морским свинкам препара-

тов F1-антигена не вызывает развития специфической невосприимчивости к чуме приемлемого уровня. Вместе с тем значительного ревакцинирующего эффекта от введения антигена белым мышам, первично привитым живой вакциной, не обнаруживается; по-видимому, в этом случае речь может идти лишь об аддитивном действии вакцинных препаратов. Механизм столь мощного ревакцинирующего действия F1-антигена на организм иммунизированных приматов и морских свинок до настоящего времени не изучен. Повторное введение живой чумной вакцины также стимулирует иммунитет, и феномен ревакцинации усиливается с увеличением срока прививками. Это, очевидно, объясняется ослаблением во времени иммунитета после первичной иммунизации, что обуславливает соответствующее повышение эффективности приживления микробов вакцинного штамма, определяющего силу ревакцинирующего действия.

Второй из известных видоспецифических антигенов возбудителя чумы — “мышинный” токсин (Т-антиген, Ymt). Биосинтез этого белка кодируется ДНК собственной плазмиды pFga/Tox и мало зависит от температуры культивирования бактериальной массы. Т-антиген определяет токсичность чумного микроба для мышей и крыс [22], но не морских свинок, кроликов, обезьян [11]. В качестве фактора патогенности *Y. pestis* Т-антиген не рассматривается, так как потеря микробами способности продуцировать “мышинный” токсин не сопровождается существенным снижением вирулентности соответствующих вариантов для мышей и морских свинок [23]. Внутривенное введение “мышинного” токсина в дозе  $\sim 5 LD_{50}$  мышам и крысам вызывает гемоконцентрацию, падение кровяного давления и смерть в результате токсического шока; при аутопсии регистрируется гиперемия подкожных тканей, наблюдаются экссуdates в плевральной и перитонеальной полостях, геморрагические изменения в тонком кишечнике, некроз печени [11]. Малые дозы Т-антигена ингибируют экзогенное дыхание митохондрий клеток сердца животных, чувствительных к действию токсина, и вызывают изменения электрокардиограммы (цит. по [11]). С Т-антигеном ассоциируются ряд ферментативных активностей (фосфатазная, фосфолипазная, аутокиназная, фосфодиэстеразная, дезаминазная, NAD-гликогидролазная), а также митогенная активность в отношении Т-лимфоцитов белых мышей и суперантигенные свойства [24].

Ymt играет важную роль в колонизации *Y. pestis* средней кишки блохи, что необходимо для последующего образования блока в преджелудке блохи [25]. А блокообразование является необходимой стадией основного, классического пути трансмиссивной передачи возбудителя чумы в природе. В результате кровососания блохой животного, больного чумой,

на стадии бактериемии в преджелудке насекомого может формироваться содержащий микробы сгусток (блок); при последующем укусе нового прокормителя часть поглощенной крови, омыв блок и включив в себя бактерии *Y. pestis*, отрывается в кровеносный сосуд укушенного животного, что приводит к его инфицированию.

Изучение протективных свойств Т-антигена показало, что активная иммунизация лабораторных животных с помощью очищенных препаратов “мышинного” токсина не приводит к формированию выраженной резистентности к заражению вирулентной культурой возбудителя чумы [22]. Так, ни нативный токсин, ни его анатоксин в дозах от 0.1 до 5.0 мг не вызывают защиты морских свинок от подкожного заражения клетками возбудителя чумы. Лишь незначительное количество белых мышей (12.5–14.3%), которым трижды вводили по 1 мг анатоксина, а затем 10 мкг нативного “мышинного” токсина, выжили после подкожного инфицирования вирулентной культурой *Y. pestis* [26]. Нельзя исключить того, что зарегистрированный протективный эффект мог быть обусловлен и наличием в препарате Т-антигена иммунохимически неидентифицированной примеси F1-антигена, так как для выделения “мышинного” токсина была использована культура штамма EV (F1<sup>+</sup>T<sup>+</sup>). Вместе с тем иммунизация белых мышей детоксицированным Т-антигеном вызывает развитие выраженного антитоксического иммунитета [26].

Роль собственной плазмиды пестициногенности *Y. pestis* (pPst или pPCP1) в патогенности возбудителя до сих пор дискутируется. Одни штаммы чумного микроба нуждаются в pPst для проявления вирулентных свойств, другие — нет (существует достаточно много вирулентных штаммов, лишенных указанной плазмиды) [27]. Плазида pPst кодирует биосинтез активатора плазминогена (коагулазы/фибринолизина), который, как считается, способствует распространению микробов *Y. pestis* в тканях хозяина. Продукция этого белка в микробных клетках способствует повышению вирулентности *Y. pestis* в большей мере при подкожном инфицировании по сравнению с респираторным [28]. Белок Pla протеолитически инактивирует  $\alpha_2$ -антиплазмин (основной ингибитор плазмينا плазмы крови млекопитающих), некоторые антимикробные пептиды, С3-компонент комплемента; он способствует адгезии бактерий к внеклеточному матриксу, инвазии в клетки человека (HeLa, EC V304) [29].

Фибринолитическая и коагулазная активности чумного микроба опосредуются действием двух продуктов *pla*-гена — пептидов  $\alpha$ -Pla и  $\beta$ -Pla с *M* 37 и 35 кДа соответственно. Первый из них,  $\alpha$ -Pla, образуется при удалении сигнального пептида из незрелого Pla-белка, второй из упомянутых белков, равно как и  $\gamma$ -Pla (31 кДа), являются продуктами дальнейшего протеолиза  $\alpha$ -Pla; они

ассоциированы с наружной мембраной *Y. pestis*. Обе активности имеют разнонаправленную термозависимость: фибринолитическая усиливается при повышении температуры выше 30°C, коагулазная, напротив, падает [30–32].

Два других идентифицированных белка *Y. pestis*, детерминируемых плазмидой pPst: пестицин (М 39.9 кДа) и белок иммунитета к нему (16 кДа), — не относят к числу факторов патогенности возбудителя. Им приписывается функция обеспечения стабильного наследования плазмиды pPst [14]. В доступной нам литературе нет данных, которые бы убедительно свидетельствовали о способности активатора плазминогена, пестицина и иммунного белка к нему вызывать защиту от чумы лабораторных животных, хотя антигенность двух первых из них, оцениваемая по способности к индукции комплементарного антителообразования, признается достаточно высокой [33].

Со времени открытия собственных плазмид чумного микроба наиболее интенсивно изучается роль плазмиды кальцийзависимости в патогенности и иммуногенности иерсиний. Эта плазида (pCad, pLCR, pYV, pCD) считается родоспецифической и имеет высокий уровень гомологии в микробах трех патогенных для человека видов *Yersinia*, особенно в клетках *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis*. Значимость продуктов генов этой плазмиды в вирулентности иерсиний названных видов очень высока, несмотря на различные способы заражения и механизмы патогенеза чумы, псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза. Удаление этой плазмиды приводит к резкому снижению или потере вирулентности *Y. pestis* [34, 35].

Ранее считалось, что чумной микроб не способен синтезировать белки наружной мембраны, кодируемые ДНК плазмиды pCad, как это было известно в отношении бактерий *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* [36]. Однако в последующем исследованиями с помощью иммуноблоттинга при использовании культур, выращенных в полупроницаемых капсулах *in vivo* [37], опытами по передаче плазмиды pCad чумного микроба в клетки *Y. pseudotuberculosis* [38] и другими исследованиями было однозначно установлено наличие в плазмиде pCad *Y. pestis* генов, кодирующих биосинтез белков наружной мембраны. Уровень содержания таких полипептидов относительно невелик при выращивании культур чумного микроба в условиях *in vitro*; это связывают с использованием неблагоприятных для биосинтеза белков наружной мембраны условий культивирования микробов или с наличием в клетках *Y. pestis* плазмиды pPst, обуславливающей протеолитическую деградацию названных полипептидов [39, 40].

Основными группами факторов патогенности, детерминируемых плазмидой pLCR, являются система секреции III типа (ТЗСС) и эффекторный белок (Yops), биохимические и иммунобиологи-

ческие свойства которых охарактеризованы в ряде обзорных работ [28, 41, 42]. С помощью белков ТЗСС, кодируемых коровой областью pLCR, регулируются синтез и транслокация эффекторных белков в клетку-мишень: дендритные клетки, макрофаги, нейтрофилы. По крайней мере, четыре из шести идентифицированных эффекторных белков (YopE, YopH, YopT и YopO) участвуют в ингибировании фагоцитоза иерсиний. YopE является белком, активирующим GTP-азу, YopH обладает протеинтирозин-фосфатазной, YopO/YpkA — серин-треонин-киназной активностью. YopH (51 кДа) ингибирует Т-клетки, индуцируя митохондриально регулируемый апоптоз. YpkA (80 кДа) участвует в апоптозе эпителиальных и иммунных клеток. YopM (41 кДа) может проникать в ядро клетки хозяина и, возможно, ингибирует продуцирование макрофагами промежуточных продуктов химически активного азота; этот белок связывает  $\alpha$ -тромбин, ингибирует агрегацию тромбоцитов, подавляет естественные киллерные клетки в селезенке. YopJ/YopP (33 кДа) ингибирует продуцирование провоспалительного цитокина, фактора некроза опухоли TNF- $\alpha$ , подавляет активность CD8 Т-клеток, индуцирует апоптоз макрофагов. Кроме того, YopJ/YopP может вводиться в эндотелиальные клетки и подавлять экспрессию таких адгезинов, как ICAM и E-селектин, что уменьшает количество фагоцитирующих лейкоцитов в месте внедрения возбудителя. YopT (36 кДа) — цитотоксин, обладающий цистеин-протеазной активностью, индуцирует разрыв актиновой нити. В целом, все вышеперечисленные эффекторные белки нарушают внутриклеточную сигнализацию или вызывают цитоскелетные изменения, препятствующие фагоцитозу [28, 41, 43–45].

Среди шести белков системы секреции *Y. pestis* V-антиген (LcrV) был идентифицирован первым [46] и изучен достаточно хорошо. V-Антиген — многофункциональный белок. Установлено, что в процессе развития инфекции чумной микроб реплицируется внутри макрофагов теплокровных; экспрессия ТЗСС-белков, в том числе и LcrV, повышается, и на поверхности бактерии с участием V-антигена образуется иглоподобный комплекс [47]. После разрушения макрофагов бактерия сближается с клеткой-мишенью и вводит в нее эффекторные белки, ингибирующие иммунные реакции хозяина [41]. Предполагается, что экспонирование V-антигена на поверхности микробной клетки способствует межклеточной адгезии [48]. После выхода в межклеточное пространство LcrV, возможно, с участием TLR2 и CD14, стимулирует высвобождение IL-10 иммунными клетками хозяина и ингибирует продуцирование провоспалительных цитокинов, в частности TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  [41]. V-Антиген способен ингибировать в условиях *in vitro* и *in vivo* хемотаксис нейтрофилов [49].

Иммуногенность эффекторных белков и белков T3SS изучена в меньшей степени. Протективность V-антигена для лабораторных животных, инфицированных культурой возбудителя чумы, считается доказанной. Было установлено, что поликлональная сыворотка к V-антигену обладает способностью вызывать пассивную защиту мышей от чумы [50, 51], псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза [52]. Более строгие доказательства участия этого антигена в иммуногенезе были представлены в работах с использованием моноклональных антител к V-антигену, которые обладали способностью индуцировать пассивную защиту лабораторных животных [53, 54]. Указанный эффект объясняется нейтрализацией указанными антителами иммуносупрессивной активности, опосредованной, по меньшей мере частично, V-антигеном [53], который, как считается, препятствует инфильтрации воспалительных клеток макроорганизма в некротические очаги инфекции [55, 56]. Вместе с тем было показано, что в условиях *in vitro* антитела к LcrV не способны стимулировать гибель возбудителя чумы (штамм KIM5) в мышечных макрофагах [57].

Показана эффективность активной иммунизации препаратами V-антигена лабораторных животных, инфицированных возбудителем чумы. Так, двукратное, с интервалом в две недели, внутримышечное введение V-антигена (всего 100 мкг на животное) предотвращает гибель всех зараженных морских свинок [50]. Протективность V-антигена установлена и в опытах на мышах. В этих исследованиях применялись препараты V-антигена, выделенного из биомассы *Y. pestis* [58], рекомбинантного V-антигена, полученного из клеток *E. coli* [59], слитного белка, состоящего из стафилококкового белка A и V-антигена *Y. pseudotuberculosis* [60]; причем защитный эффект достигается не только в отношении бубонной, но и первично легочной чумы, вызываемой как капсулообразующим, так и бескапсульным штаммами *Y. pestis* [59].

Второй белок YscF системы секреции III типа T3SS, кодируемый плазмидой pCad и участвующий в секреции эффекторных Yops и транслокации токсинов в эукариотические клетки, способен индуцировать специфическую резистентность к чуме у белых мышей [61]. Белок YscF (в виде NT-YscF – с концевым гексагистидином) был выделен с помощью аффинной хроматографии из клеток рекомбинантного штамма-гиперпродуцента белка *E. coli*, степень его очистки превышала 95%. Трехкратное внутрибрюшинное введение белка при первичной иммунизации в полном, затем дважды в неполном адьюванте Фрейнда обеспечивает развитие иммунитета у аутбредных мышей к чуме, вызванной внутривенным введением культуры вирулентного штамма *Y. pestis* KIM5 (Pgm<sup>-</sup>): значение LD<sub>50</sub> для иммунизированных животных в 134 раза выше, чем для мы-

шей, получивших плацебо. У иммунизированных адьювантными формами NT-YscF животных после заключительной иммунизации отмечали высокий уровень сывороточных антител к белку [61].

Американскими исследователями [62] были клонированы и экспрессированы в клетках *E. coli* гены плазмиды кальцийзависимости *Y. pestis*, кодирующие биосинтез шести эффекторных белков. Очищенными рекомбинантными белками иммунизировали мышей с последующим заражением вирулентной культурой капсулообразующего и бескапсульного вариантов *Y. pestis*. Из числа этих белков лишь YopD обнаруживает протективный эффект при инфицировании животных культурой бескапсульного варианта возбудителя чумы. Активная иммунизация мышей белком YpkA существенно повышает средние сроки жизни животных, зараженных культурой бескапсульного варианта *Y. pestis*, но не предотвращает их гибель [62]. В ходе последующих исследований на основании результатов активной и пассивной иммунизации мышей была косвенно подтверждена значимость YopD как протективного белка [63]. Более того, предварительные данные цитируемых авторов позволили предположить, что и YopB, ответственный наряду с YopD за доставку эффекторных белков в цитоплазму эукариотической клетки, участвует в формировании иммунитета как протективный антиген [63]. Неэффективность пассивной защиты мышей от чумы, вызванной капсулообразующими штаммами *Y. pestis*, с помощью антител к YopD (вероятно, как и к другим поверхностным уже известным или потенциальным иммуногенам) может вызываться экранированием капсулой соответствующих антигенных эпитопов [62], хотя такое предположение, по-видимому, не является единственным объяснением отмеченного феномена [63].

Кроме трех вышеназванных резидентных плазмид, различные штаммы чумного микроба могут нести иные плазмиды. Так, все чаще в Китае выделяют штаммы *Y. pestis*, характеризующиеся наличием уже секвенированной криптической плазмиды pYC [27, 64]. Ее роль в патогенезе заболевания, тем более в развитии иммунитета, не установлена. Предполагается, что расширение географической зоны, в которой выделяют штаммы с плазмидой pYC, указывает на то, что данная плазида может обеспечивать селективное преимущество штаммам возбудителя, несущим плазмиду pYC [27].

В клетках чумного микроба, как и в бактериях ряда иных таксонов, обнаружена АТФ-зависимая система транспортных белков [АТФ – binding cassette (ABC) transporters], которая, по-видимому, участвует во многих физиологических процессах микроорганизма, в том числе в транспорте субстратов [65]. Из 10 идентифицированных и очищенных рекомбинантных белков, предположи-

тельно относящихся к этой системе, три способа выявлять комплементарные антитела в сыворотках кроликов, иммунизированных убитой культурой *Y. pestis*. Среди них лишь один полипептид, периплазматический белок OppA, индуцирует развитие приобретенного иммунитета к чуме: трехкратное внутримышечное введение адъювантной формы белка OppA в дозе 10 мкг вызывает статистически значимое ( $p < 0.05$ ) увеличение сроков жизни мышей, зараженных  $\sim 25$  LD<sub>50</sub> вирулентного штамма возбудителя чумы. При этом отмечается зависимость между титром сывороточных антител (IgG) к OppA и временем гибели от чумы зараженных животных [65].

Показана способность белка наружной мембраны YadC при его подкожном введении вызывать защиту мышей C57BL/6 от интраназального инфицирования культурой бескапсульного штамма *Y. pestis* CO99-3015 в дозе  $3 \times 10^3$  микробов: в результате выжили 87% иммунизированных животных при гибели всех контрольных мышей, получивших плацебо. Защитный эффект коррелирует с уровнем IgG1/IgG3 – антител к YadC [66].

К числу важных факторов патогенности *Y. pestis* относят систему обеспечения микробов молекулярным железом с помощью иерсиниабактина, экспрессия которого детерминируется областью ДНК, в составе *rgm*-локуса хромосомы, названной “островом высокой патогенности” (НПИ). Имеющиеся данные указывают на то, что *Fur*-регулируемый иерсиниабактин – локус НПИ важен для системного распространения иерсиний в клетках хозяев [67, 68]. Установлена связь между способностью к продукции нескольких белков микробами вирулентных штаммов *Y. pestis* в условиях дефицита ионов железа (IRP-белков) и вирулентностью возбудителя, а также показана антигенность IRP-белков [69, 70].

Данных о возможности использования упомянутых полипептидов в качестве протективных антигенов в литературе нет, но предполагается, что еще неидентифицированные протективные антигены, способные вызывать защиту от чумы, могут кодироваться генами *ybt*-локуса, или сегмента ДНК, ответственного за сорбцию пигмента [71]. Известно, что аналогичные по своей патогенетической функции белки, продуцируемые кишечной палочкой в желездефицитной среде, имеют существенное значение как иммуногены. Об этом свидетельствуют данные о способности кроличьих антисывороток к указанным белкам обеспечивать пассивную защиту животных в отношении колисептицемии [72].

В 1957 г. Крамптоном и Дэвисом в клетках чумного микроба, формирующих колонии гладкой формы (S-формы), был идентифицирован белковый антиген, названный авторами антигеном 4 [73]. Как предполагается [11, 30], антиген 4 соответствует антигену рН6 (или PsaA), выделенному

и охарактеризованному в многочисленных последующих исследованиях. Биосинтез антигена рН6 кодируется хромосомной ДНК и угнетается при повышении рН в среде культивирования [73]. Субъединицы антигена рН6, агрегируя на поверхности бактерий, образуют пили адгезии, способствующие прикреплению микроба к клеткам макроорганизма, тем самым индуцируя начало инфекционного процесса [74]. Спектр физиологической значимости для *Y. pestis* антигена рН6 достаточно широк.

PsaA обладает антифагоцитарным действием, ингибирует антителопродуцирующую реакцию макроорганизма, реакцию митогензависимой бласттрансформации, опосредует устойчивость *Y. pestis* в моноцитах (цит. по [14]). Очищенный PsaA избирательно связывается с Fc-субъединицами иммуноглобулинов подклассов G1, G2, G3 человека, аполипопротеином В человеческой плазмы, что подавляет взаимодействие PsaA с макрофагами. Предполагается, что этот процесс препятствует распознаванию патогена иммунной системой хозяина [14, 75, 76]. Считается, что антиген рН6 является одним из факторов патогенности и иммуногенности жизнеспособных микробов *Y. pestis*. Так, утверждается, что инактивация синтеза этого антигена у эталонного штамма 231 возбудителя чумы приводит к полной утрате вирулентности для лабораторных животных, а у штамма EV76 – к значительному снижению вакцинных свойств [77]. Напротив, А.П. Анисимов и соавт. [78] с использованием набора сконструированных изогенных вариантов *Y. pestis* с мутациями в генах *psa*-оперона, пассированных *in vivo*, показали, что способность к продукции антигена рН6 не влияет на вирулентность подкожно введенных микробов возбудителя для мышей BALB/c как интактных, так и иммунизированных этим антигеном. Авторы объясняют альтернативные результаты предшествующих исследований использованием в них исходных референс-культур с пониженной, вследствие неконтролируемых мутаций (модификаций), вирулентностью, на фоне которых потеря способности к продукции антигена рН6 может привести к полной авирулентности чумного микроба. Для минимизации таких мутаций авторы рекомендуют предварительную анимализацию штамма сравнения [78]. Сам по себе антиген PsaA, по данным большинства исследователей, не обладает защитными свойствами [22, 73], хотя и способен индуцировать выраженное антителообразование [33, 73]. Незначительный защитный эффект был зарегистрирован при иммунизации полимеризованной (но не деполимеризованной) формой антигена рН6 мышей и морских свинок [79].

Совсем недавно [80] в составе хромосомной ДНК *Y. pestis* был выявлен оперон, кодирующий биосинтез двух белков (YadB и YadC), предположительно поверхностно расположенных и отвечаю-



ших за прикрепление микроба к клеткам хозяина, по аналогии с белком YadA энтеропатогенных иерсиний. Авторы показали, что *yadBC*-оперон участвует в проявлении инвазивных, вирулентных свойств возбудителя при подкожном, но не первично легочном способе инфицирования мышей [80]. К числу выявленных адгезинов чумного микроба относят белок Ail, участвующий в доставке эффекторных Yop в клетки хозяина [81] и обеспечении устойчивости *Y. pestis* к бактерицидному действию комплемента сыворотки [82], YарЕ и YарС, также способствующие колонизации и диссеминации возбудителя [83, 84]. Возможная роль указанных адгезинов в адаптивном иммуногенезе не исследована.

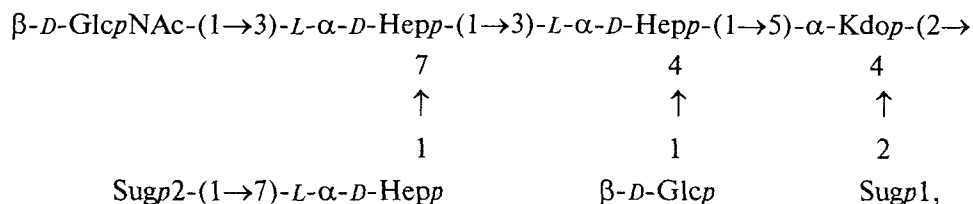
Показана значимость муреинового липопро-теина Брауна для экспрессии вирулентности штамма CO92 *Y. pestis* при бубонной и легочной чуме мышей. Предполагается синергичный эффект ослабления вирулентности чумного микроба в результате делеции *lpp*-гена, кодирующего биосинтез липопро-теина, и плазмиды рРСР1, детерминирующей продукцию активатора плазмидогена, и выражающийся в том числе в неспособности выживать внутри макрофагов [85].

Липополисахарид (ЛПС) чумного микроба имеет структуру, характерную для липополисахаридов R-форм грамотрицательных микробов. Однако, в отличие от большинства из них, в его состав не вхо-

дят O-боковые цепи (O-антиген). Ранее предполагали, что этот компонент полной структуры ЛПС синтезируется в клетке, но не способен присоединиться к неполному полисахаридному стержню [86]. Впоследствии [87], после секвенирования участка хромосомной ДНК *hemH-gsk*, ответственного за биосинтез O-антигена бактериями 15 серогрупп *Y. pseudotuberculosis* и штамма EV76 *Y. pestis*, было установлено, что из 17 генов указанного кластера 5 генов в клетках EV76 *Y. pestis* инактивированы, что и объясняет неспособность чумного микроба экспрессировать полноценный ЛПС, присущий штамму O:1b *Y. pseudotuberculosis*.

Структурно-функциональные особенности ЛПС *Y. pestis* зависят от условий культивирования микробов. С помощью химических методов, масс-спектрометрии, ЯМР-спектроскопии высокого разрешения установлена структура липида А и олигосахарида кора ЛПС клеток *Y. pestis* различных внутривидовых групп, выращенных при различных температурных условиях [88–94].

Поскольку чумной микроб является типичным представителем энтеробактерий, то кор его ЛПС имеет внутреннюю область, представленную дисахаридом из остатков 3-дезоксид-манно-окт-2-улозоновой кислоты (Kdo) и трисахаридом из остатков *L*-глицеро-*D*-манно-гептозы (LD-Hep) [91, 95–97].



где *L-α-D-Hep* означает *L*-глицеро-*α-D*-манно-гептозу, Sug1 – 3-дезоксид-*α-D*-манно-окт-2-улозоновую кислоту (*α-Kdo*) или *D*-глицеро-*α-D*-тало-окт-2-улозоновую кислоту (*α-Ko*), Sug2 – *β-D*-галактозу или *D*-глицеро-*α-D*-манно-гептозу. Меньшая часть молекул ЛПС не содержат GlcNAc.

Этот так называемый несальмонельный тип энтеробактериального кора [98], характеризуется замещением одной из LD-Hep остатком *D*-глюкозы в положении 4 [96].

ЛПС *Y. pestis*, как правило, содержит глицин, который нестехиометрически связан с одним из остатков внутреннего кора [88]. При структурном изучении ЛПС чумного микроба были обнаружены существенные вариации в коре и в липиде А при культивировании бактерий при различных температурах [89–91, 95, 99].

Спектр биологического действия ЛПС грамотрицательных бактерий, в том числе и *Y. pestis*, очень широк. ЛПС чумного микроба (за счет при-

сутствия в его составе липида А) обладает токсичностью для животных, применяемых в практике разработки и оценки качества вакцинных препаратов: мышей, морских свинок, кроликов, обезьян и др. [86]. Изучение влияния химического строения ЛПС различных штаммов *Y. pestis* на его эндотоксическую активность в отношении лабораторных животных показало, что степень активации моноцитов/макрофагов зависит от особенностей структуры липида А [92–94]. Повышение эндотоксичности коррелирует со степенью ацилирования низкотемпературных ЛПС, в частности, с присутствием в них гексаацилированных форм липида А, которые не обнаружены в высокотемпературных образцах [89, 91]. Эти данные согласуются с результатами других исследователей [95, 99], полученными на мышинных и человеческих макрофагальных линиях.

Совсем недавно было показано, что протеиназа Pla *Y. pestis*, являющаяся трансмембранным бел-

ком ОМР-семейства протеиназ внешней мембраны, для своей активации требует связывания с ЛПС, причем наблюдается более высокая степень активации протеиназы микробов *Y. pestis*, выращенных при повышенной температуре (37°C) по сравнению с выращенными при 20°C. Отсутствие в макромолекуле ЛПС О-боковых цепей, наличие области внешнего кора, а также пониженный уровень ацилирования усиливают взаимодействие ЛПС с Pla, что обуславливает способность *Y. pestis* избегать ответа врожденного иммунитета [100].

ЛПС *Y. pestis* является индуктором ряда цитокинов (интерлейкина 6, TNF- $\alpha$ ); при увеличении температуры окружающей среды до ~37°C указанный эффект ослабляется [14, 79]. ЛПС участвует в обеспечении устойчивости бактерий возбудителя чумы к комплементзависимому лизису, а также к катионным антимикробным белкам, являющимся элементами врожденного иммунитета. По мнению Т.А. Гремяковой [79], при укусе блохи развивающийся специфический иммунитет млекопитающего первоначально направлен на иммунодоминантные антигены коровой части ЛПС, экспрессируемые при температуре ~25°C (температура тела блохи). В последующем происходит размножение в организме теплокровного животного микробов с иной иммунохимической организацией кора ЛПС, которая не распознается запущенными иммунными механизмами хозяина, т.е. происходит направление иммунного ответа микроорганизма по ложному следу. Указанная выше способность чумного микроба менять антигенную структуру, в частности ЛПС, обеспечивает адаптационную пластичность возбудителя, позволяющую ему выживать при смене внешних условий существования [79].

В результате изучения иммуногенных свойств ЛПС чумного микроба установлено, что введение препаратов ЛПС экспериментальным животным хотя и индуцирует появление комплементарных сывороточных антител, но не вызывает развитие специфической невосприимчивости к инфекции [33, 101, 102]. Более того, первичная иммунизация мышей комплексным препаратом, включающим антигены рН6 и ЛПС, за счет последнего вызывает иммуносупрессивный эффект: в группе иммунизированных животных зарегистрирована более выраженная летальность даже по сравнению с группой контрольных неиммунных животных [79]. ЛПС способен угнетать протективность антигена F1 при ревакцинации комплексным препаратом (F1 + ЛПС) павианов гамадрилов, первично иммунизированных чумной живой вакциной [18]. Исследователи РосНИПЧИ "Микроб" нашли, что активная иммунизация мышей кроличьими антиидиотипическими антителами к ЛПС *Y. pestis* может предохранять отдельных животных от гибели после инфицирования культурой возбудителя чумы [103].

В результате исследований, направленных на поиск новых протективных антигенов, был идентифицирован и выделен Б-антиген, способный защищать морских свинок от экспериментальной чумы [104, 105]. Данный антиген экскретируется в жидкую питательную среду при "глубинном" выращивании микробов штамма-продуцента – *Y. pseudotuberculosis*, причем вся протективная активность культуральной жидкости была обусловлена наличием в ней Б-антигена. Его биосинтез детерминруется хромосомной ДНК, о чем свидетельствует способность к его биосинтезу бактериями бесплазмидных вариантов псевдотуберкулезного микроба. Выход Б-антигена в питательную среду при глубинном культивировании штамма-продуцента снижается при увеличении температуры выращивания с 27 до 37°C. В состав антигена входят липидная, полисахаридная и полипептидная составляющие, достаточно прочно связанные между собой [104, 105].

Активная иммунизация белых мышей Б-антигеном не обеспечивает защиту животных этого вида от подкожного инфицирования возбудителем чумы. Подкожное введение антигена морским свинкам индуцирует развитие специфической невосприимчивости к бубонной чуме, но не к псевдотуберкулезу. Эффективность иммунизации данным препаратом была показана и при аэрогенном инфицировании морских свинок возбудителем чумы вне зависимости от способности последнего продуцировать F1-антиген.

О существенной роли Б-антигена в иммуногенезе свидетельствуют и результаты изучения пассивной защиты животных с помощью антител к этому антигену, а также связи между наличием сывороточных антител и резистентностью животных к экспериментальной чуме [105, 106].

Оценивая иммуногенные свойства ЛПС-подобных антигенов, следует упомянуть о работах, посвященных выделению и частичной характеристике таких антигенных препаратов, как протективный фактор PF [107], пестин ПП [108] и др.; эти антигены, как впоследствии выяснилось, включают в свой состав ЛПС [86]. Если относительно возможности индуцировать выраженную невосприимчивость к чуме с помощью пестина ПП практически нет данных, то иммунизация препаратом PF, как показано [107], вызывает защиту морских свинок от экспериментальной чумы уже в первые сутки после введения препарата и в течение пяти недель. Авторы нашли, что антиген PF, состоящий из нескольких компонентов, вызывает в организме привитых животных продукцию антител, серологически идентичных иммуноглобулинам, специфичным к полисахаридному компоненту антигена Дэвиса [22, 101, 107]. Содержащие данные антитела сыворотки были неэффективны в тесте пассивной защиты животных [22]. В результате было высказано предположение, что биологическое действие PF аналогично



действию эндотоксинов и заключается в повышении неспецифической резистентности макроорганизма к чумной инфекции [22, 107]. Столь противоречивые данные, касающиеся изучения иммунобиологических свойств ассоциированных с ЛПС препаратов, объясняются, очевидно, различиями в их физико-химических и иммунохимических свойствах, что определяется применением в экспериментах различных штаммов-продуцентов, условий культивирования микробной биомассы, методик выделения антигенов и др.

Основной соматический антиген *Y. pestis* (ОСА) экстрагируют из клеток по Буавену с использованием трихлоруксусной кислоты и ацетона [109]. Препарат ОСА вакцинного штамма EV включает несколько компонентов, разделение которых может быть осуществлено электрофоретически [110, 111] и хроматографически [86]. Так, электрофоретически препарат ОСА был разделен на два разноименно заряженных компонента А и В [110]. Компонент А в РДП преципитирует антитела лошадиной (но не кроличьей) чумной антисоматической сыворотки. Компонент В характеризуется прямо противоположными антигенными свойствами [110]. Аналогичные данные были получены и в результате хроматографического фракционирования препарата ОСА с использованием сефадекса G-75 [86]. Применение вышеупомянутой процедуры выделения позволило авторам получить из клеток “псевдотуберкулезоподобного мутанта штамма EVm” комплекс, характеризующийся свойствами полноценного ЛПС (наличие в его составе липида А и Kdo, а также токсичности для лабораторных животных) и, кроме того, обладающий серологической активностью в РДП с чумной лошадиной сывороткой, идентичной активности ОСА, выделенного из клеток штамма EV [86, 111].

Иммунизация морских свинок препаратами ОСА в присутствии адьюванта Фрейнда стимулирует развитие специфического иммунитета, проявлявшегося в накоплении сывороточных антител и формировании устойчивости к заражению культурой возбудителя чумы [112, 113]. Авторы работ [112, 113] отмечают, что препараты ОСА, выделенные из различных серотипов псевдотуберкулезного микроба, характеризуются большей протективностью, чем полученные из биомассы клеток штамма EV [112]. Вместе с тем считается, что иммунитет, возникающий у морских свинок при введении препаратов ОСА, не является напряженным и длительным.

Наряду с другими факторами, различные виды активности *Y. pestis*: каталазная, пероксидазная, супероксиддисмутазная, — обеспечивают инактивацию компонентов кислородзависимой системы бактерицидности хозяина, позволяя возбудителю переживать и размножаться в моноцитах чувствительного к чуме макроорганизма [14]. В то же время

ферменты антиокислительной системы *Y. pestis* способны индуцировать образование сывороточных антител, а также вызывать активную защиту морских свинок от чумной инфекции [114]. Дальнейшее изучение иммунобиологических свойств ферментов антиокислительной системы чумного микроба должно дать более полное представление об их роли в развитии иммунного ответа.

Использование новых методических, в первую очередь, молекулярно-генетических подходов позволило идентифицировать большое число (несколько тысяч) ранее неизвестных генов, происхождение и значимость которых в проявлении вирулентности и иммуногенности *Y. pestis* в настоящее время изучаются и обсуждаются [28, 41, 115, 116]. Так, из более чем 100 очищенных рекомбинантных белков, кодируемых ДНК *Y. pestis*, 34 способны существенно стимулировать Т-клеточный ответ, регистрируемый по уровню продукции  $\gamma$ -интерферона. Из их числа 8 полипептидов проявляют слабо выраженный защитный эффект при активной иммунизации мышей возбудителем чумы, а белок YP 00606 индуцирует частичную невосприимчивость животных этого вида к инфицированию *Y. pestis* в дозе  $\sim 200$  LD<sub>50</sub> [117].

В обширной литературе, посвященной изучению иммунобиологических свойств антигенных комплексов, выделенных из культур чумного и близкородственных ему микробов, имеются сообщения о возможности формирования специфической резистентности к чуме с помощью ряда препаратов многокомпонентного и малоизученного антигенного состава. По этой причине рассмотрение результатов такого рода работ здесь представляется нецелесообразным.

Вышеприведенные данные свидетельствуют о сложной биохимической и иммунохимической организации чумного микроба, которая меняется как в процессе филогенеза, так и в течение какого-то определенного промежутка времени жизнедеятельности микробной популяции и определяет способы персистенции возбудителя в природе. Условия существования (внешняя среда, организм хозяина) оказывают существенное влияние на функционирование генетического аппарата *Y. pestis*, обеспечивающего процессы биосинтеза конститутивных структур бактериальной клетки, ее метаболитов. Совокупное действие антигенов чумного микроба на макроорганизм определяет патогенность возбудителя и его способность индуцировать развитие иммунных реакций.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Schütze H. // Brit. J. Exptl. Path. 1932. V. 13. P. 284–288.
2. Schütze H. // Brit. J. Exptl. Path. 1932. V. 13. P. 289–292.

3. Baker E.E., Sommer H., Foster L.E., Meyer E., Meyer K.F. // Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 1947. V. 64. P. 139–141.
4. Baker E.E., Sommer H., Foster L.E., Meyer E., Meyer K.F. // J. Immunol. 1952. V. 68. P. 131–145.
5. Кац Л.Н. // Журн. микробиол. 1966. № 7. С. 84–86.
6. Chen T.H., Elberg S.S. // Infect. Immun. 1977. V. 15. P. 972–977.
7. Runco L.M., Myrczek S., Bliska J.B., Thanassi D.G. // J. Bacteriol. 2008. V. 190. P. 3381–3385.
8. Galiov E.E., Smirnov O.Y., Karlishv A.V., Volkovoy K.I., Denesyuk A.I., Nazimov I.V., Rubstov K.S., Abramov V.M., Dalvadyanz S.M., Zav'yalov V.P. // FEBS Lett. 1990. V. 227. P. 230–232.
9. Karlyshev A.V., Galyov E.E., Abramov V.M., Zav'yalov V.P. // FEBS Lett. 1992. V. 305. P. 37–40.
10. Tripathi V., Chitralkha K.T., Bakshi A.R., Tomar D., Deshmukh R.A., Baig M.A., Rao D.N. // Vaccine. 2006. V. 24. P. 3279–3289.
11. Burrows T.W. // Ergeb. Microbiol. Immunitätsforsch. Exp. Therapie. 1963. V. 37. P. 59–113.
12. Du Y., Rosqvist R., Forsberg A. // Infect. Immun. 2002. V. 70. P. 1453–1460.
13. Печенкин Д.В., Бывалов А.А., Маракулин И.В., Шабалин Б.А., Гаврилов К.Е. // Пробл. особо опасн. инф. 2005. Вып. 90. С. 47–48.
14. Анисимов А.П. // Молекул. генетика. 2002. № 3. С. 3–23.
15. Drozdov I.G., Anisimov A.P., Samoilova S.V., Yezhov I.N., Yerebin S.A., Karlyshev A.V., Krasilnikova V.M., Kravchenko V.I. // J. Med. Microbiol. 1995. V. 42. P. 264–268.
16. Паутов В.Н., Чичерин Ю.В., Евстигнеев В.И., Бывалов А.А., Кедров О.А. // Журн. микробиол. 1979. № 10. С. 37–42.
17. Ehrenkranz N.J., Meyer K.F. // J. Infect. Diseases. 1974. V. 129. P. 41–45.
18. Бывалов А.А., Паутов В.Н., Чичерин Ю.В., Лебединский В.А., Евстигнеев В.И., Тихонов И.В., Додонов Н.П., Кедров О.А., Бугаев Ю.В. // Журн. микробиол. 1984. № 4. С. 74–76.
19. Лебединский В.А., Чичерин Ю.В., Паутов В.Н., Евстигнеев В.И., Бывалов А.А., Кедров О.А., Додонов Н.П. // Журн. микробиол. 1982. № 5. С. 60–63.
20. Дальвадяныц С.М., Дубровин М.Ю., Бывалов А.А., Додонов Н.П., Чичерин Ю.В., Евстигнеев В.И., Пименов Е.В., Еремин С.А., Дятлов И.А., Кутырев В.В. // Пробл. особо опасн. инф. 2005. Вып. 89. С. 62–67.
21. Ehrenkranz N.J., Meyer K.F. // J. Infect. Diseases. 1955. V. 96. P. 138–144.
22. Chen T.H. // Acta Trop. 1965. V. 22. P. 97–117.
23. Шанина Л.Н. Характеристика вариантов чумного микроба, не продуцирующих капсульного антигена и “мышинного” токсина. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Саратов: РосНИПЧИ “Микроб”, 1967. С. 23.
24. Мишанькин М.Б., Васильева Г.И., Козловский В.Н., Веркина Л.М. // Диагностика, лечение и профилактика опасных инфекционных заболеваний. Биотехнология. Ветеринария: Материалы юбилейной науч. конф., посвящ. 70-летию НИИ микробиологии МО РФ. Киров, 30 ноября – 1 декабря 1998 г. С. 171–172.
25. Hinnebusch B.J., Rudolph A.E., Cherepanov P., Dixon J.E., Schwan T.G., Forsberg A. // Science. 2002. V. 296. P. 733–735.
26. Евстигнеев В.И., Чичерин Ю.В., Бывалов А.А., Паутов В.Н., Додонов Н.П., Кедров О.А. // Журн. микробиол. 1981. № 3. С. 39–42.
27. Anisimov A.P., Lindler L.E., Pier G.B. // Clin. Microbiol. Rev. 2004. V. 17. P. 434–464.
28. Huang X.-Z., Nikolich M.P., Lindler L.E. // Clin. Med. Res. 2006. V. 4. P. 189–199.
29. Lähteenmäki K., Kukkonen M., Jaatinen S., Suomalainen M., Soranummi H., Virkola R., Lang H., Korhonen T.K. // Adv. Exp. Med. Biol. 2003. V. 529. P. 141–145.
30. Perry R.D., Fetherston J.D. // Clin. Microbiol. Rev. 1997. V. 10. P. 35–66.
31. Sodeinde O.A., Goguen J.D. // Infect. Immun. 1988. V. 56. P. 2743–2748.
32. McDonough K.A., Falkow S. // Mol. Microbiol. 1989. V. 3. P. 767–775.
33. Benner G.E., Andrews G.P., Byrne W.R., Strachan S.D., Sample A.K., Heath D.G., Friedlander A.M. // Infect. Immun. 1999. V. 67. P. 1922–1928.
34. Кутырев В.В., Филиппов А.А., Шавина Н.Ю., Проценко О.А. // Молекул. генетика. 1989. № 8. С. 42–47.
35. Brubaker R.R. // Rev. Infect. Dis. 1983. V. 5. P. 748–758.
36. Darveau R.P., Charnetzky T., Hurbert R.E. // J. Bacteriol. 1980. V. 143. P. 942–949.
37. Skurnik M. // Infect. Immun. 1985. V. 47. P. 183–190.
38. Walf-Watz H., Portnoy D.A., Bolin I., Falkow S. // Infect. Immun. 1985. V. 48. P. 241–243.
39. Шмелев В.А., Черепанов П.А., Носова Л.Ю., Каримова Г.А., Попов С.Г., Носков А.Н. // Молекул. генетика. 1991. № 1. С. 21–24.
40. Sodeinde O.A., Sample A.K., Brubaker R.R., Goguen J.D. // Infect. Immun. 1988. V. 56. P. 2749–2752.
41. Li B., Yang R. // Infect. Immun. 2008. V. 76. P. 1804–1811.
42. Shao F. // Current Opinion Microbiol. 2008. V. 11. P. 1–9.
43. Leung K.Y., Reisner B.S., Straley S.C. // Infect. Immun. 1990. V. 58. P. 3262–3271.
44. Reisner B.S., Straley S.C. // Infect. Immun. 1992. V. 60. P. 5242–5252.
45. Ye Z., Kerschen E.J., Cohen D.A., Kaplan A.M., van Rooijen N., Straley S.C. // Infect. Immun. 2009. V. 77. P. 3791–3806.
46. Burrows T.W., Bacon G.A. // Brit. J. Exptl. Pathol. 1956. V. 37. P. 481–493.
47. Cornelis G.R. // Int. J. Med. Microbiol. 2002. V. 291. P. 455–462.
48. Pettersson J., Holmstrom A., Hill J., Leary S., Frithz-Lindsten E., von Euler-Matell A., Carlsson E., Titball R., Forsberg A., Walf-Watz H. // Mol. Microbiol. 1999. V. 32. P. 961–976.

49. Welkos S., Friedlander A., McDowell D., Weeks J., Tobery S. // *Microb. Pathol.* 1998. V. 24. P. 185–196.
50. Lawton W.D., Erdman R.L., Surgalla M.J. // *J. Immunol.* 1963. V. 91. P. 179–184.
51. Motin V.L., Nakajima R., Smirnov G.B., Brubaker R.R. // *Infect. Immun.* 1994. V. 62. P. 4192–4201.
52. Une T., Brubaker R.R. // *J. Immunol.* 1984. V. 133. P. 2226–2230.
53. Nakajima R., Brubaker R.R. // *Infect. Immun.* 1993. V. 61. P. 23–31.
54. Sato K., Nakajima R., Hara F., Une T., Osada Y. // *Contrib. Microbiol. Immunol.* 1991. V. 12. P. 225–229.
55. Une T., Nakajima R., Brubaker R.R. // *Contrib. Microbiol. Immunol.* 1987. V. 9. P. 179–185.
56. Straley S.C., Cibull M.L. // *Infect. Immun.* 1989. V. 57. P. 1200–1210.
57. Noel B.L., Lilo S., Capurso D., Hill J., Bliska J.B. // *Clin. Vac. Immunol.* 2009. V. 16. P. 1457–1466.
58. Leary S.E.C., Williamson E.D., Griffin K.F., Russel P., Eley S.M., Titball R.W. // *Infect. Immun.* 1995. V. 63. P. 2854–2858.
59. Anderson G.W.Jr., Leary S.E.C., Williamson E.D., Titball R.W., Welkos S.L., Worsham P.L., Friedlander A.M. // *Infect. Immun.* 1996. V. 64. P. 4580–4585.
60. Motin V.L., Nakajima R., Smirnov G.B., Brubaker R.R. // *Infect. Immun.* 1994. V. 62. P. 4192–4201.
61. Matson J.S., Durick K.A., Bradley D.S., Nilles M.L. // *BMC Microbiol.* 2005. V. 5. P. 38.
62. Andrews G.P., Strachan S.T., Benner G.E., Sample A.K., Anderson G.W., Adamovicz J.J., Welkos S.L., Pullen J.K., Friedlander A.M. // *Infect. Immun.* 1999. V. 67. P. 1533–1537.
63. Ivanov M.I., Nocl B.L., Rampersand R., Mena P., Benach J.L., Bliska J.B. // *Infect. Immun.* 2008. V. 76. P. 5181–5190.
64. Dong X.Q., Lindler L.E., Chu M.C. // *Plasmid.* 2000. V. 43. P. 144–148.
65. Tanabe M., Atkins H.S., Harland D.N., Elvin S.J., Stagg A.J., Mirza O., Titball R.W., Byrne B., Brown K.A. // *Infect. Immun.* 2006. V. 74. P. 3687–3691.
66. Murphy B.S., Wulff C.R., Garvy B.A., Straley S.C. // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2007. V. 603. P. 400–414.
67. Карниэль Э. // Иерсинии и иерсиниозы / Ред. Г.Я. Ценева. СПб., 2006. С. 35–54.
68. Gao H., Zhou D., Li Y., Guo Z., Han Y., Song Y., Zhai J., Du Z., Wang X., Lu J., Yang R. // *J. Bacteriol.* 2008. V. 190. P. 3063–3075.
69. Carniel E., Mazigh D., Mollaret H.H. // *Contrib. Microbiol. Immunol.* 1987. V. 9. P. 259–265.
70. Carniel E., Antonie J.-C., Guiyoule A., Guiso N., Mollaret H.H. // *Infect. Immun.* 1989. V. 57. P. 540–545.
71. Quenee L.E., Cornelis C.A., Ciletti N.A., Elli D., Schneevind O. // *Infect. Immun.* 2008. V. 76. P. 2025–2036.
72. Bolin C.A., Jensen A.E. // *Infect. Immun.* 1987. V. 55. P. 1239–1242.
73. Crumpton M.J., Davies D.A.L. // *Nature.* 1957. V. 180. P. 863–864.
74. Lindler L.E., Tall B.D. // *Mol. Microbiol.* 1993. V. 8. P. 311–324.
75. Huang X., Lindler L.E. // *Infect. Immun.* 2004. V. 72. P. 7212–7219.
76. Makoveichuk E., Cherepanov P., Lundberg S., Forsberg A., Okivecrona G. // *J. Lipid. Res.* 2003. V. 44. P. 320–330.
77. Черепанов П.А., Каримова Г.А., Михайлова Т.Г., Волковой К.И. Иммунология и специфическая профилактика особо опасных инфекций: Материалы Российской научной конф. Саратов, 21–23 сентября 1993 г. С. 140–142.
78. Anisimov A.P., Bakhteeva I.V., Panfertsev E.A., Svetoch T.E., Kravchenko T.B., Platonov M.E., Titareva G.M., Kombarova T.I., Ivanov S.A., Rakin A.V., Atoako K.K., Dentovskaya S.V. // *J. Med. Microbiol.* 2009. V. 58. P. 26–36.
79. Гремякова Т.А. Структурно-функциональная вариабельность антигенов *Yersinia pestis* и методология конструирования противочумных иммунопрофилактических препаратов. Автореф. дис. ... д-ра. мед. наук. М.: ФГП Гос. науч. Центр прикладной микробиологии, 2004. С. 36.
80. Forman S., Wulff C.R., Myers-Morales T., Cowan C., Perry R.D., Straley S.C. // *Infect. Immun.* 2008. V. 76. P. 578–587.
81. Felek S., Krukoni E.S. // *Infect. Immun.* 2009. V. 77. P. 825–836.
82. Kolodziejek A.M., Sinclair D.J., Seo K.S., Schnider D.R., Deobald C.F., Rohde H.N., Viall A.K., Minnich S.S., Hovde C.J., Minnich S.A., Bohach G.A. // *Microbiology.* 2007. V. 153. P. 2941–2951.
83. Lawrenz M.B., Lenz J.D., Miller V.L. // *Infect. Immun.* 2009. V. 77. P. 317–326.
84. Felek S., Lawrenz M.B., Krukoni E.S. // *Microbiology.* 2008. V. 154. P. 1802–1812.
85. Agar S.L., Sha J., Baze W.B., Erova T.E., Foltz S.M., Suarez G., Wang S., Chopra A.K. // *Microbiology.* 2009. V. 155. P. 3247–3259.
86. Бахрах Е.Э., Боровикова Т.П., Вейнблат В.И., Дальвадьянц С.М., Тараненко Т.М. // *Журн. микробиол.* 1972. № 9. С. 101–105.
87. Skurnik M., Peippo A., Ervelä E. // *Mol. Microbiol.* 2000. V. 37. P. 316–330.
88. Дентовская С.В., Бахтеева И.В., Титарева Г.М., Шайхутдинова Р.З., Кондакова А.Н., Быстрова О.В., Линднер Б., Книрель Ю.А., Анисимов А.П. // *Биохимия.* 2008. Т. 73. С. 237–246.
89. Knirel Y.A., Lindner B., Vinogradov E.V., Kocharova N.A., Senchenkova S.N., Shaikhutdinova R.Z., Dentovskaya S.V., Fursova N.K., Bakhteeva I.V., Titareva G.M., Balakhonov S.V., Holst O., Gremyakova T.A., Pier G.B., Anisimov A.P. // *Biochemistry.* 2005. V. 44. P. 1731–1743.
90. Knirel Y.A., Lindner B., Vinogradov E.V., Shaikhutdinova R.Z., Senchenkova S.N., Kocharova N.A., Holst O., Pier G.B., Anisimov A.P. // *Carbohydr. Res.* 2005. V. 340. P. 1625–1630.
91. Knirel Y.A., Dentovskaya S.V., Senchenkova S.N., Shaikhutdinova R.Z., Kocharova N.A., Anisimov A.P. // *J. Endotoxin Res.* 2006. V. 12. P. 3–9.

92. Muller-Loennies S., Zahringer U., Seydel U., Kusumoto S., Ulmer A.G., Rietschel E.T. // Prog. Clin. Biol. Res. 1998. V. 397. P. 51–72.
93. Rietschel E.T., Brade H., Holst O., Brade L., Muller-Loennies S., Mamat U., Zahringer U., Beckmann F., Seydel U., Brandenburg K., Ulmer A.J., Matern T., Heine H., Schletter J., Loppnow H., Schonbeck U., Flad H.D., Hauschildt S., Schade U.F., Di Padova F., Kusumoto S., Schumann R.R. // Curt. Top. Microbiol. Immunol. 1996. V. 216. P. 39–81.
94. Schromm A.B., Brandenburg K., Loppnow H., Zahringer U., Rietschel E.T., Carrol S.F., Koch M.H., Kusumoto S., Seydel U. // J. Immunol. 1998. V. 161. P. 5464–5471.
95. Rebeil R., Ernst R.K., Gowen B., Miller S.I., Hinnebusch B.J. // Mol. Microbiol. 2004. V. 52. P. 1363–1373.
96. Vinogradov E.V., Lindner B., Kocharova N.A., Senchenkova S.N., Shashkov A.S., Knirel Y.A., Holst O., Gremyakova T.A., Shaikhutdinova R.Z., Anisimov A.P. // Carbohydr. Res. 2002. V. 337. P. 775–777.
97. Hitchen P.G., Prior J.L., Oyston P.C., Panico M., Wren M., Titball R.W., Morris H.R., Dell A. // Mol. Microbiol. 2002. V. 44. P. 1637–1650.
98. Holst O. // Endotoxin in Health and Disease / Eds Brade H., Opal S.M., Vogel S.N., Morrison D.C. New York: Marcel Dekker, 1999. P. 115–154.
99. Kawahara K., Tsukano H., Watanabe H., Lindner B., Matsuura M. // Infect. Immun. 2002. V. 70. P. 4092–4098.
100. Suomalainen M., Lobo L.A., Brandenburg K., Lindner B., Virkola R., Knirel Y.A., Anisimov A.P., Holst O., Korhonen T.K. // Infect. Immun. 2010. V. 78. P. 2644–2652.
101. Davies D.A.L. // J. Biochem. 1956. V. 63. P. 105–116.
102. Larrabee A.R., Marshall J.D., Crosier D. // J. Bacteriol. 1965. V. 90. P. 116–119.
103. Федорова В.А., Девдариани З.Л., Тараненко Т.М., Аленкина Т.В. // Иммунология и специфическая профилактика особо опасных инфекций: Материалы Российской научной конф. Саратов, 21–23 сентября 1993 г. С. 77–78.
104. Бывалов А.А., Дармов И.В., Евстигнеев В.И., Пименов Е.В. // Пробл. особо опасн. инф. 2005. Вып. 89. С. 54–58.
105. Бывалов А.А., Крупин В.В., Гаврилов К.Е. // Журн. микробиол. 2006. № 3. С. 49–53.
106. Бывалов А.А., Дубровин М.Ю., Елагин Г.Д., Печенкин Д.В., Бондарев В.П. // Клиническая лабораторная диагностика. 2007. № 7. С. 48–51.
107. Lawton W.D., Surgalla M.J. // J. Infect. Dis. 1963. V. 113. P. 39–42.
108. Бахрах Е.Э., Егорова В.Д., Павлова Л.П. // Журн. микробиол. 1962. № 6. С. 126–130.
109. Дальвадяц С.М., Попов А.А., Буркина М.А. // Пробл. особо опасн. инф. 1969. Вып. 5. С. 9–12.
110. Дальвадяц С.М., Попов А.А., Буркина М.А. // Пробл. особо опасн. инф. 1970. Вып. 5. С. 37–41.
111. Боровикова Т.П., Бахрах Е.Э., Вейнблат В.И., Белобородов Р.А. // Пробл. особо опасн. инф. 1971. Вып. 4. С. 47–52.
112. Дальвадяц С.М., Пономарев Н.Г., Сероглазов В.В. // Пробл. особо опасн. инф. 1972. Вып. 5. С. 134–138.
113. Дальвадяц С.М., Пономарев Н.Г., Зубова М.В. // Пробл. особо опасн. инф. 1971. Вып. 3. С. 81–84.
114. Куликов О.А., Дробков В.И., Дармов И.В., Смирнов Е.В. // Вестник РАМН. 1995. № 6. С. 45–49.
115. Smiley S.T. // Expert Rev. Vaccines. 2008. V. 7. P. 209–221.
116. Zhou D., Yang R. // Infect. Immun. 2009. V. 77. P. 2242–2250.
117. Li B., Zhou L., Guo J.Y., Wang X., Ni B., Ke Y., Zhu Z., Guo Z., Yang R. // Infect. Immun. 2009. V. 77. P. 4356–4361.

## Immunobiological Properties of *Yersinia pestis* Antigens

A. A. Byvalov and Yu. S. Ovodov<sup>#</sup>

<sup>#</sup>Phone /fax: 8212-241001; e-mail: ovoys@physiol.komisc.ru

Institute of Physiology, Komi Science Centre, The Urals Branch of the Russian Academy of Science, Pervomayskaya str. 50, Syktyvkar, 167982 Russia

The present review contains information concerning immunobiological properties of plague microbe antigens. All of the identified antigens are evaluated in relation to pathogenicity of *Yersinia pestis* namely a resistance to phagocytosis, toxicity, adhesiveness etc. as well as persistence ability and adaptation to variable environment. In addition, the role of antigens in immunogenicity of living plague microbe for experimental animals is considered. The data concerning mechanisms of antigenic contribution to the development of adaptive immunity are presented.

**Keywords:** *Yersinia pestis*, antigen, pathogenicity, protective activity, immunity.