

6. Романова Ю.М., Гинцбург А.Л. Бактериальные биопленки как естественная форма существования бактерий в окружающей среде и в организме хозяина. Журн. микробиол. 2011, 3: 99-109.
7. Толстикова Т.Г., Сорокина И.В., Толстикова Г.А., Толстикова А.Г., Флехтер О.Б. Терпеноиды ряда лупана — биологическая активность и фармакологические перспективы. Природные производные лупана. Биоорганическая химия. 2006, 1: 42-45.
8. Уткина Т.М., Казакова О.Б., Медведева Н.И., Карташова О.Л. Структурно-функциональная характеристика производных бетулина. Антибиотики и химиотерапия. 2011, 56: 11-12.
9. Уткина Т.М., Потехина Л.П., Карташова О.Л., Васильченко А.С. Характеристика механизмов биологической активности циклоферона. Журн. микробиол. 2014, 4: 76-79.
10. Фролов Б.А., Чайникова И.Н., Филиппова Ю.В., Смолягин А.И., Панфилова Т.В., Железнова А.Д. Механизмы реализации защитного действия милиацина для экспериментальной сальмонеллезной инфекции: влияние на эндотоксинемию и продукцию цитокинов. Журн. микробиол. 2014, 5: 8-12.
11. Chang Y., Gu W., Landsborough L.M. Low concentration of ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) affects biofilm formation of *Listeria monocytogenes* by inhibiting its initial adherence. Food Microbiol. 2012, 29 (1): 10-17.
12. Lemos M., Burges A., Teodosio J. et al. The effects of ferulic and salicylic acids on *Bacillus cereus* and *Pseudomonas fluorescens* single- and dual-species biofilms. Int. Biodeterioration and Biodegradation. 2014, 86: 42-51.
13. Nazzaro F., Erantianni F., Coppola R. Quorum sensing and phytochemicals. Int. J. Mol. Sci. 2013, 14 (6):12607-12619.
14. O'Toole G.A., Kolter R. Initiation of biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signalling pathways: a genetic analysis. Mol. Microbiol. 1998, 28 (3): 449-461.
15. Wojnicz D., Kucharska A. Z., Sokol-Letowska A. et al. Medicinal plants extracts affect virulence factors expression and biofilm formation by the uropathogenic *Escherichia coli*. Urol. Res. 2012, 40 (6): 683-697.

Поступила 23.02.16

Контактная информация: Чайникова Ирина Николаевна, д.м.н., проф., 460000, Оренбург, ул. Пионерская, 11, р.т. (3532) 77-44-63

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

С.Н.Клюева, Т.Н.Шуковская, С.А.Бугоркова, П.С.Ерохин, Е.М.Кузнецова, О.А.Волох

ОЦЕНКА СТИМУЛИРУЮЩЕГО ВЛИЯНИЯ БИОГЕННОГО АМИНА СЕРОТОНИНА НА КАПСУЛОПОДОБНОЕ ВЕЩЕСТВО *FRANCISELLA TULARENSIS*

Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов

Цель. Изучить влияние серотонина на морфометрические и топографические характеристики клеток вакцинного штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ (Саp⁺) и его бескапсульного варианта *F. tularensis* КМ-9 (Саp⁻). *Материалы и методы.* Анализ проводили методами денситоморфометрии и атомно-силовой микроскопии. *Результаты.* Выявлено, что при выращивании *F. tularensis* 15 НИИЭГ (Саp⁺) на FT агаре в присутствии серотонина толщина капсулоподобного вещества, окружающего бактериальные клетки, увеличивалась в среднем в 3 раза и составляла 95,1±0,56 нм против 31,7±0,18 нм в контроле (без серотонина). При аналогичном выращивании *F. tularensis* КМ-9 (Саp⁻) такого явления не обнаружено. Установлено, что в образовании биопленки важную роль играет капсулоподобное вещество туляремийного микроба. *Заключение.* Полученные данные доказывают важное значение фенотипа туляремийного микроба и позволяют предположить особую роль серотонина в процессах формирования биопленочного сообщества, в составе которого бактерии защищены от повреждающих факторов внешней среды.

Ключевые слова: *Francisella tularensis*, серотонин, капсулоподобное вещество, биопленка, денситоморфометрия, атомно-силовая микроскопия

S.N.Klyueva, T.N.Schukovskaya, S.A.Bugorkova, P.S.Erokhin, E.M.Kuznetsova, O.A.Volokh

EVALUATION OF STIMULATING EFFECT OF BIOGENIC AMINE SEROTONIN ON CAPSULE-LIKE SUBSTANCE OF *FRANCISELLA TULARENSIS*

Russian Research Institute of Plague Control «Microbe», Saratov, Russia

Aim. Evaluate the effect of serotonin on morphometric and topographic characteristics of cells of vaccine strain of *F. tularensis* 15 NIEG (Cap⁺) and its non-capsule variant *F. tularensis* KM-9 (Cap⁻). **Materials and methods.** Analysis was carried out by methods of densitomorphometry and atomic-force microscopy. **Results.** Cultivation of *F. tularensis* 15 NIEG (Cap⁺) in FT agar has shown that in the presence of serotonin the thickness of capsule-like substance, surrounding bacterial cells, has increased on average 3 times and was 95.1 ± 0.56 nm against 31.7 ± 0.18 nm in control (without serotonin). During similar cultivation of *F. tularensis* KM-9 (Cap⁻) such phenomenon was not detected. Capsule-like substance of tularemia microbe was established to play an important role in biofilm formation. **Conclusion.** The data obtained prove an importance of phenotype of tularemia microbe and allow to assume a special role of serotonin in the processes of formation of biofilm community, in which the bacteria are protected from damaging factors of the environment.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2016, No. 4, P. 9–16

Key words: *Francisella tularensis*, serotonin, capsule-like substance, biofilm, densitomorphometry, atomic-force microscopy

ВВЕДЕНИЕ

Одним из факторов, определяющих стабильность природных очагов туляремии [7], является высокая экологическая пластичность туляремийного микроба, обладающего способностью длительного сохранения в естественных биоценозах в виде некультивируемых форм, в том числе, в биопленках [5]. В настоящее время проводятся исследования по изучению роли капсулоподобного вещества *Francisella tularensis* для проявления вирулентности [12, 16] и в формировании биопленки [19]. Для патогенных бактерий биопленка является фактором адаптации к внешней среде, так, формирование биопленки возбудителем чумы связывают с ее участием в образовании «чумного блока» [2]. Известно о способности штаммов *F. tularensis* subsp. *poviscida* формировать биопленки на различных поверхностях, в том числе, на хитине ракообразных с участием ферментов хитиназ [15, 17].

Имеются данные о стимулирующем действии биогенных аминов (серотонина, дофамина) на рост клеток возбудителей особо опасных инфекций, таких как чума, туляремия [6, 11]. В том числе, биогенные амины влияют на подвижность и (в случае патогенов) вирулентность микроорганизмов, а также на формирование микробных биопленок [1, 14]. Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с электродетекцией установлено, что биогенный амин серотонин (5-гидрокситриптамин) имеется у многих патогенных микроорганизмов, а в случае его добавления к их культурам оказывает влияние на ростовые и структурные эффекты микробных колоний [4, 10].

На настоящий момент недостаточно изучена функциональная морфология и ультраструктура голарктического подвида туляремийного микроба, в том

числе, его капсульных (Cap^+) и бескапсульных (Cap^-) вариантов и их способность формировать био пленку для обеспечения приспособительной изменчивости патогена в среде обитания.

В освещении механизмов адаптации к неблагоприятным условиям среды возбудителя туляремии и других особо опасных инфекций важное место занимают данные о субклеточном строении бактерий при их трехмерной визуализации, а также морфологические изменения бактерий *F. tularensis* под действием различных биологически активных веществ. Атомно-силовая микроскопия (АСМ) является перспективным методом, позволяющим исследовать особенности структуры поверхности бактерий особо опасных инфекций [9].

Цель работы заключалась в изучении влияния биогенного амина серотонина на морфометрические и топографические характеристики клеток вакцинного штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ (Cap^+) и его бескапсульного варианта *F. tularensis* КМ-9 (Cap^-) методами денситоморфометрии и АСМ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Вакцинный штамм *F. tularensis* 15 НИИЭГ (Cap^+) и его бескапсульный вариант *F. tularensis* КМ-9 (Cap^-) выращивали на FT агаре с глюкозо-витаминной добавкой (ФБУН ГНЦ ПМБ) при температуре 37°C в течение 48 ч. Штаммы получены из Государственной коллекции патогенных бактерий РосНИПЧИ «Микроб». Из полученных культур готовили бактериальные взвеси в стерильном 0,9% растворе натрия хлорида рН 7,2 по стандартному образцу мутности ОСО-42-28-85П 10 единиц, эквивалентному 5×10^9 м.к./мл. Методом серийных разведений доводили концентрацию клеток до 1×10^3 м.к./мл.

Серотонин-креатинин сульфат («Merck», Germany) применяли в виде свежеприготовленного водного раствора, стерилизованного фильтрацией через мембранные фильтры с диаметром пор 0,2 мкм. Поверхность пластин FT агара до посева бактериальных взвесей обрабатывали в течение 15 мин раствором серотонина концентрацией 1×10^{-5} М, 1×10^{-6} М, 1×10^{-7} М в количестве 0,1 мл [10]. Затем на обработанные указанным способом агаровые пластины высевали культуры *F. tularensis* 15 НИИЭГ (Cap^+) и *F. tularensis* КМ-9 (Cap^-) в концентрациях 100 м.к./0,1 мл. Контролем являлись посевы *F. tularensis* 15 НИИЭГ (Cap^+) и *F. tularensis* КМ-9 (Cap^-) в концентрациях 100 м.к./0,1 мл, сделанные на FT агар соответственно без обработки их серотонином. Обработку непосредственно самих взвесей клеток *F. tularensis* (1×10^3 м.к./мл) проводили серотонином 1×10^{-5} М в течение 30 мин при комнатной температуре, затем высевали по 100 мкл соответствующей бактериальной взвеси на FT агар. Посевы *F. tularensis* инкубировали при температуре 37°C в течение 48 часов.

Способность формировать био пленку штаммами *F. tularensis* 15 НИИЭГ (Cap^+) и *F. tularensis* КМ-9 (Cap^-) оценивали методом окрашивания кристалл-фиолетом [18] в стеклянных пробирках и полистироловых планшетах.

Морфологию и величину колоний и клеток туляремиальных бактерий оценивали при увеличении ($\times 40$) и ($\times 1000$) с применением аппаратно-программного комплекса «Мекос-Ц», оснащенного биологическим микроскопом Olimpus CX 31 с видеокамерой JVC. Работу проводили в программе «Денситоморфометрия» (версия 2.1.0.0.).

Для проведения АСМ клетки *F. tularensis* после обеззараживания 2,5 % глутаральдегидом осаждали центрифугированием при 3000 г в течение 15 — 20

мин, осадок отмывали дважды стерильной дистиллированной водой и хранили при температуре 4°C [8]. После осуществления контроля специфической стерильности полученные взвеси клеток в объеме 4 мкл помещали на поверхности подложек (покровные стекла размером 18x18 мм) и высушивали на воздухе.

Топографические характеристики поверхностных структур туляремийных бактерий изучали с применением атомно-силового микроскопа Solver P47-PRO («NT-MDT», Россия) методами полуконтактным, рассогласования и отображения фазы. При этом использовали полуконтактные кремниевые зонды серии NSG01 («NT-MDT», Россия) жесткостью 5,1 Н/м, с радиусом кривизны 10 нм и резонансной частотой 150 кГц. Обработку и анализ топографических изображений осуществляли с использованием программы Nova («NT-MDT», Россия), позволяющей редактировать полученные данные, а также представлять их в дву- (2D) и трехмерном (3D) формате.

Статистическую обработку полученных результатов проводили по результатам трех независимых экспериментов с использованием стандартного пакета программ Microsoft Office Excel 2010. Для определения достоверности различий между анализируемыми выборками определяли среднюю арифметическую ряда, среднее квадратичное отклонение, среднюю ошибку средней арифметической. Достоверными считали различия при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При изучении влияния серотонина на рост туляремийного микроба использовали концентрации серотонина (1×10^{-7} — 1×10^{-5} М), сопоставимые с микромолярными концентрациями серотонина ($8,5 \times 10^{-4}$ — 1×10^{-6} М), детектируемых в культурах различных микроорганизмов (*Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Streptococcus faecalis*) при выращивании на плотных питательных средах [1, 4, 10]. Через 48 ч инкубации регистрировали разреженный рост туляремийных колоний в виде капелек росы. В контроле наблюдали колонии SR-типа, характерные для вакцинных штаммов возбудителя туляремии, диаметр которых при морфометрическом анализе составлял в среднем $948,76 \pm 33,79$ мкм. Предварительная обработка FT агара серотонином в концентрациях 1×10^{-5} М, 1×10^{-6} М, 1×10^{-7} М не влияла на рост и морфологию колоний штаммов *F. tularensis* 15 НИИЭГ (Cap⁺) и *F. tularensis* KM-9 (Cap⁻).

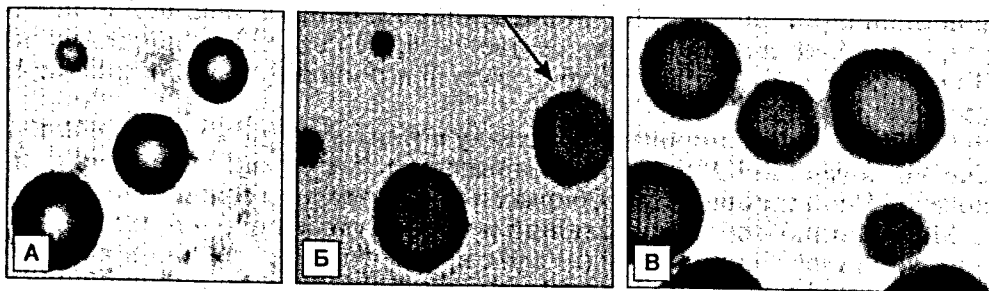


Рис. 1. SR-колонии *F. tularensis* 15 НИИЭГ через 48 ч культивирования при 37°C на FT агаре без серотонина (А), в присутствии серотонина (Б) и выросшие на FT агаре из взвесей *F. tularensis* 15 НИИЭГ, обработанных серотонином (В).

Стрелкой указано капсулоподобное вещество. Ув. x40.

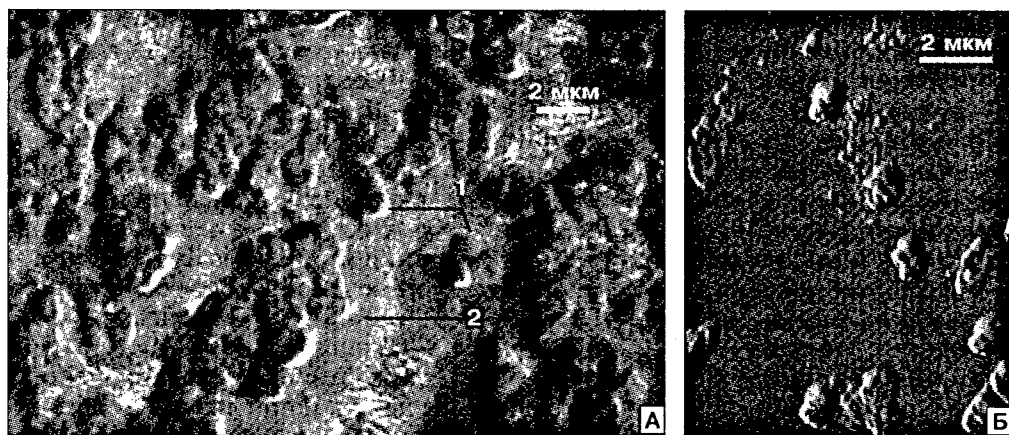


Рис. 2. АСМ-изображения клеток штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ, образующих био пленку (А) и *F. tularensis* КМ-9 (Б) через 48 ч культивирования при 37°C на FT агаре.

А — метод отображения фазы, Б — метод рассогласования. Стрелками указаны: 1 — клетки *F. tularensis* 15 НИИЭГ; 2 — межклеточный матрикс.

Денситоморфометрическое исследование показало, что колонии *F. tularensis* 15 НИИЭГ (Cap^+), выросшие на FT агаре в присутствии серотонина в концентрации 1×10^{-5} М, а также из взвесей клеток *F. tularensis* 15 НИИЭГ (Cap^+), обработанных серотонином в концентрации 1×10^{-5} М, окружены капсулоподобным слизистым покровом. Это образование имело вид небольшой светлой зоны вокруг бактериальной колонии (рис. 1Б). Причем колонии возбудителя туляремии, сформировавшиеся на агаре в присутствии серотонина, располагались одиночно (рис. 1Б), а после высева бактериальных взвесей *F. tularensis* 15 НИИЭГ (Cap^+), обработанных серотонином, в основном — цепочками (рис. 1В). Наличием слизи, которая удерживает микробные колонии, объясняется их характерное расположение в виде цепочек. При аналогичном выращивании *F. tularensis* КМ-9 (Cap^-) такого явления не обнаружено.

При бактериоскопическом исследовании учитывали тинкториальные свойства (окраска по Граму), морфологию клеток туляремийного микроба. Морфометрические показатели клеток *F. tularensis* (длина, ширина) соответствовали данным литературы. С помощью АСМ установлены трехмерные характеристики бактерий туляремии (высота, объем). Установлено, что высота клеток *F. tularensis* 15 НИИЭГ, выращенных на средах, обработанных серотонином, почти в 2 раза превышала аналогичный показатель в контроле (без серотонина) и составляла $0,29 \pm 0,017$ мкм и $0,15 \pm 0,002$ мкм соответственно ($p < 0,05$).

Для изучения топографических характеристик туляремийного микроба в нанометровом диапазоне использовался полуконтактный режим АСМ. При этом было обнаружено капсулоподобное вещество, окружающее клетки *F. tularensis* 15 НИИЭГ (Cap^+). Установлено, что клетки *F. tularensis* 15 НИИЭГ (Cap^+), которые выращивались на культуральной среде в присутствии серотонина и без него, на подложке образуют клеточные конгломераты. Причем, при инкубации посевов *F. tularensis* 15 НИИЭГ (Cap^+) на средах, обработанных серотонином, толщина капсулоподобного слизистого вещества туляремийного микроба увеличивалась ($p < 0,05$) по результатам трех независимых экспериментов в среднем в 3 раза и равнялась $95,1 \pm 0,56$ нм против $31,7 \pm 0,18$ нм в

контроле (без серотонина). Толщина капсулоподобного вещества туляремийного микроба в присутствии серотонина максимально увеличивалась в 5,8 раза и составляла 196,5 нм против 33,4 нм ($p < 0,05$) в контроле.

Методом АСМ показано, что на подложке бактерии *F. tularensis* КМ-9 (Cap^-) располагаются в виде отдельных клеток, не образуя конгломераты. В отличие от *F. tularensis* 15 НИИЭГ (Cap^+) бескапсульный штамм *F. tularensis* КМ-9 (Cap^-) капсулоподобное вещество не продуцировал как в присутствии серотонина, так и без него. Выявлено также, что серотонин не влиял на морфологию клеток и поверхность клеточной стенки *F. tularensis* КМ-9 (Cap^-).

В следующей серии экспериментов было проведено изучение способности штаммов *F. tularensis* 15 НИИЭГ (Cap^+) и *F. tularensis* КМ-9 (Cap^-) формировать биопленку. Методом АСМ установлено, что *F. tularensis* 15 НИИЭГ (Cap^+) образовывал биопленку (рис. 2А) на различных поверхностях (стекло, пластик) как в условиях оптимальной питательной среды, так и при лимите необходимых витаминов и глюкозы. Через 48 ч культивирования в тонком слое у Cap^+ штамма зарегистрировано образование групп клеток (рис. 2А), тогда как у штамма с Cap^- фенотипом отмечены единичные клетки (рис. 2Б).

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты денситоморфометрического исследования об отсутствии стимулирующего эффекта серотонина на рост колоний капсульного вакцинного штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ (Cap^+) и его бескапсульного варианта *F. tularensis* КМ-9 (Cap^-) на плотной питательной среде согласуются с аналогичными данными при выращивании туляремийных бактерий в жидкой среде культивирования в присутствии серотонина [6].

С использованием АСМ зафиксировано, что капсулоподобное вещество туляремийного микроба способствует образованию клеточных конгломератов *F. tularensis* 15 НИИЭГ (Cap^+), тесно связанных с образованием биопленки. Бескапсульный штамм *F. tularensis* КМ-9 (Cap^-) биопленку не образует, что связано, по-видимому, с отсутствием у бескапсульных штаммов антигенов капсульного вещества.

По данным литературы, с помощью электронной микроскопии изучен капсулоподобный покров туляремийного микроба и показана прямая или косвенная связь этого образования с наружной мембраной бактериальной клетки [16]. Так, известно, что во внешней мембране у капсульных вариантов присутствует белок с молекулярной массой 65 кДа и липополисахарид (ЛПС) находится в S-форме, тогда как у бескапсульных — белок с молекулярной массой 33 кДа и R-ЛПС [3]. Также доказано, что капсула туляремийного микроба аналогична капсулам, продуцируемым некоторыми грамотрицательными бактериями *Vibrio cholerae*, *E. coli*, *Salmonella enterica* [13].

Примечательно, что биогенные амины (норадреналин, дофамин, серотонин) у некоторых микроорганизмов содержатся не внутриклеточно, а в покрывающем клетки матриксе [10]. Из литературных источников известно, что серотонин, выявляемый методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с электродетекцией у многих патогенных микроорганизмов, оказывает стимулирующее влияние на ростовые и структурные свойства микробных колоний, а также стимулирует формирование групп клеток *E. coli*, спаянных матриксом [1]. Образование матрикса и биопленки связано с межклеточной сигнальной системой, обеспечивающей «чувство кворума» («quorum sensing») и заключается в способности микроорганизмов регулировать плотность своей популяции [7]. Проблема биопленок возбудителя туляремии имеет огромное практическое значение, поскольку эта форма существования микроорганиз-

мов наряду с некультивируемыми формами, по-видимому, способна поддерживать существование возбудителя в окружающей среде в межэпизоотические (межэпидемические) периоды [5].

Таким образом, установлено, что в образовании биопленки важную роль играет капсулоподобное вещество туляремийного микроба. Серотонин в концентрации 1×10^{-5} М стимулирует выработку капсулоподобного слизистого вещества штаммом *F. tularensis* 15 НИИЭГ (Cap⁺). Полученные данные доказывают важное значение фенотипа туляремийного микроба и позволяют предположить особую роль серотонина в процессах формирования биопленочного сообщества, в составе которого бактерии защищены от повреждающих факторов внешней среды, что дает им возможность длительно персистировать в почвенных и водных экосистемах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анучин А.М., Чувелев Д.И., Кировская Т.А., Олескин А.В. Действие нейромедиаторных моноаминов на ростовые характеристики *Escherichia coli* K-12. Микробиология. 2008, 77 (6): 758-765.
2. Ерошенко Г.А., Видяева Н.А., Куклева Л.М., Кошель Е.И., Одинокоев Г.Н., Шавина Н.Ю., Князева Т.В., Мокроусова Т.В., Краснов Я.М., Анисимова Л.В., Новичкова Л.А., Ерохин П.С., Бойко А.В., Кутырев В.В. Изучение образования биопленки у беспигментных и бесплазмидных мутантов штамма *Yersinia pestis* на биотических поверхностях в условиях *in vitro* и *in vivo*. Пробл. особо опасных инф. 2012, 3 (113): 45-49.
3. Кузнецова Е.М., Шепелев И.А., Волох О.А. Структурно-функциональная характеристика основных антигенов *Francisella tularensis*. Пробл. особо опасных инф. 2009, 100: 44-49.
4. Маликина К.Д., Шишов В.А., Чувелев Д.И., Кудрин В.С., Олескин А.В. Регуляторная роль нейромедиаторных аминов в клетках *Saccharomyces cerevisiae*. Прикл. биохим. и микробиол. 2010, 46 (6): 672-677.
5. Мещерякова И.С. Туляремия: современная эпидемиология и вакцинопрофилактика (к 80-летию создания первой туляремийной лаборатории в России). Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2010, 2: 17-22.
6. Мишанькин Б.Н., Демьяненко С.В., Романова Л.В. Действие серотонина и дофамина на рост штаммов *Yersinia pestis* и *Francisella tularensis*. Журн. микробиол. 2009, 2: 93-96.
7. Олескин А.В., Ботвинко И.В., Цавкелова Е.А. Колониальная организация и межклеточная коммуникация у микроорганизмов. Микробиология. 2000, 69 (3): 309-327.
8. Транквилевский Д.В., Удовиков А.И., Попов В.П., Захаров К.С., Попов Н.В., Безмертвый В.Е. Состояние численности грызунов и эпидемиологическая обстановка по туляремии на территории Российской Федерации во втором полугодии 2014 г. и прогноз на 2015 г. Пробл. особо опасных инф. 2015, 1: 30-35.
9. Уткин Д.В., Кузнецов О.С., Ерохин П.С., Спицын А.Н., Волох О.А., Осина Н.А. Разработка методических подходов изучения возбудителей особо опасных инфекционных болезней методом атомно-силовой микроскопии. Пробл. особо опасных инф. 2012, 1 (112): 62-64.
10. Цавкелова Е.А., Климова С.Ю., Чердынцева Т.А., Нетрусов А.И. Гормоны и гормоноподобные соединения микроорганизмов. Прикл. биохим. микробиол. 2006, 42 (3): 261-268.
11. Шуковская Т.Н., Ключева С.Н., Кравцов А.Л., Волох О.А., Алешина Ю.А., Кутырев В.В. Влияние биогенного амина серотонина на рост и профиль белков чумного микроба в условиях культивирования на плотных питательных средах. Пробл. особо опасных инф. 2008, 2 (96): 35-39.
12. Bandara A. V., Champion A. E., Wang X. et al. Isolation and mutagenesis of a capsule-like complex (CLC) from *Francisella tularensis*, and contribution of the CLC to *F. tularensis* virulence in mice. PLoS One. 2011, 6: e19003 10.1371/journal.pone.0019003.
13. Chen Y., Bystricky P., Adeyeye J. et al. The capsule polysaccharide structure and biogenesis for non-O1 *Vibrio cholerae* NRT36S: genes are embedded in the LPS region. BMC Microbiol. 2007, 7: 20. doi: 10.1186/1471-2180-7-20.

14. Clarke M.B., Hughes D.T., Zhu C. et al. The QseC sensor kinase: a bacterial adrenergic receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2006, 103: 10420-10425.
15. Durham-Colleran M.W., Verhoeven A.B., van Hoek M.L. Francisella novicida forms in vitro biofilms mediated by an orphan response regulator. *Microb Ecol*. 2010, 59 (3): 457-465.
16. Jones B.D., Faron M., Rasmussen J.A., Fletcher J.R. Uncovering the components of the Francisella tularensis virulence stealth strategy. *Front. Cell. Infect. Microbiol*. 2014, 4: 1-10. doi: 10.3389/fcimb.2014.00032.
17. Margolis J.J., El-Etr S., Joubert L.-M. et al. Contributions of Francisella tularensis subsp. novicida chitinases and secretion system to biofilm formation on chitin. *Appl. Environ. Microbiol*. 2010, 76 (2): 596-608.
18. O'Toole G.A., Kolter R. Initiation of biofilm formation in Pseudomonas fluorescens WCS365 proceeds via multiple, convergent signalling pathways: a genetic analysis. *Mol. Microbiol*. 1998, 28 (3): 449-461.
19. Van Hoek M.L. Biofilms. An advancement in our understanding of Francisella species. *Virulence*. 2013, 4 (8): 833-846. <http://dx.doi.org/10.4161/viru.27023>.

Поступила 15.01.16

Контактная информация: Ключева Светлана Николаевна, к.б.н., 410005, Саратов, ул. Университетская, 46, р.т. (8452)51-52-12

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

А.А. Бывалов^{1,2}, Л.Г. Дудина¹, С.Г. Литвинец¹, Е.А. Мартинсон¹

ИММУНОХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ РЕЦЕПЦИИ БАКТЕРИОФАГА ЧУМНОГО ПОКРОВСКОЙ

¹Вятский государственный университет, Киров; ²Институт физиологии, Сыктывкар

Цель. Исследование механизма рецепции бактериофага чумного Покровской к клеткам *Yersinia pestis* с использованием панели моноклональных антител. *Материалы и методы.* С помощью метода конкурентного ингибирования оценена способность моноклональных антител к антигенным эпитопам наружной мембраны бактерий рода *Yersinia* ингибировать адгезию исследуемого бактериофага к клеткам *Y. pestis* штамм EV. *Результаты.* Подтверждена ключевая роль структуры углеводной природы в рецепции бактериофага Покровской. Установлено, что из пяти линий моноклональных антител к белковым эпитопам две вызывают существенную инактивацию адгезии бактериофага к бактериальным клеткам. *Заключение.* Высказано предположение о возможности участия в рецепции бактериофага Покровской клетками чумного микроба структуры полипептидной природы.

Журн. микробиол., 2016, № 4, С. 16–21

Ключевые слова: бактериофаг, *Yersinia pestis*; моноклональные антитела, адгезия

А.А. Byvalov^{1,2}, L.G. Dudina¹, S.G. Litvinets¹, E.A. Martinson¹

IMMUNOCHEMICAL STUDY OF RECEPTION OF PLAGUE BACTERIOPHAGE POKROVSKY

¹Vyatsky State University, Kirov; ²Institute of Physiology, Syktyvkar, Russia

Aim. Study of mechanism of reception of plague bacteriophage Pokrovsky to cells of *Yersinia pestis* using a panel of monoclonal antibodies. *Materials and methods.* Using a method of competitive inhibition, the ability of monoclonal antibodies against antigenic epitopes of outer membrane of *Yersinia* genus bacteria to inhibit adhesion of the studied bacteriophage to cells of *Y. pestis* EV strain, was evaluated. *Results.* A key role of structure of carbohydrate nature in reception of Pokrovsky