

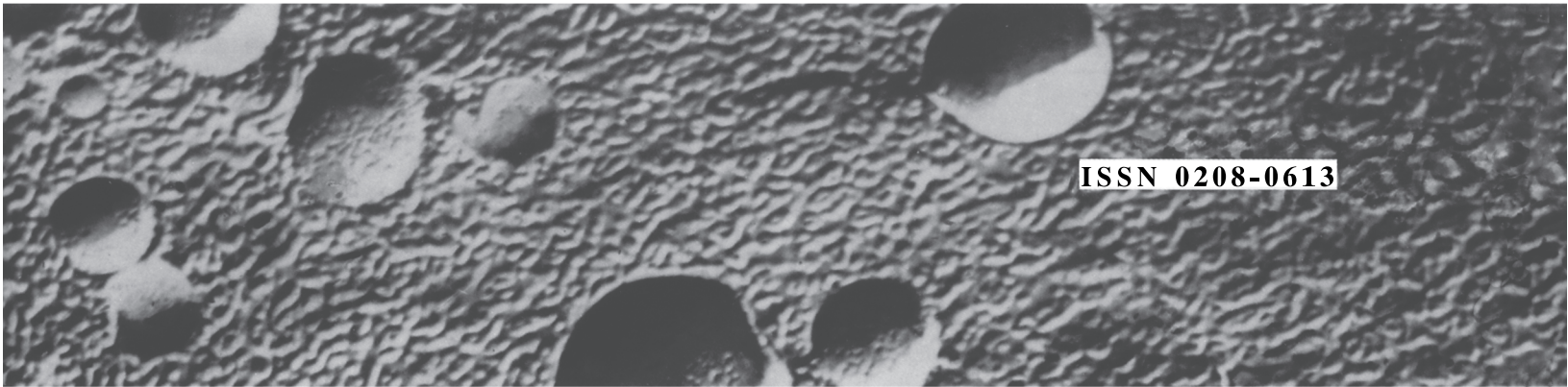


www.medlit.ru

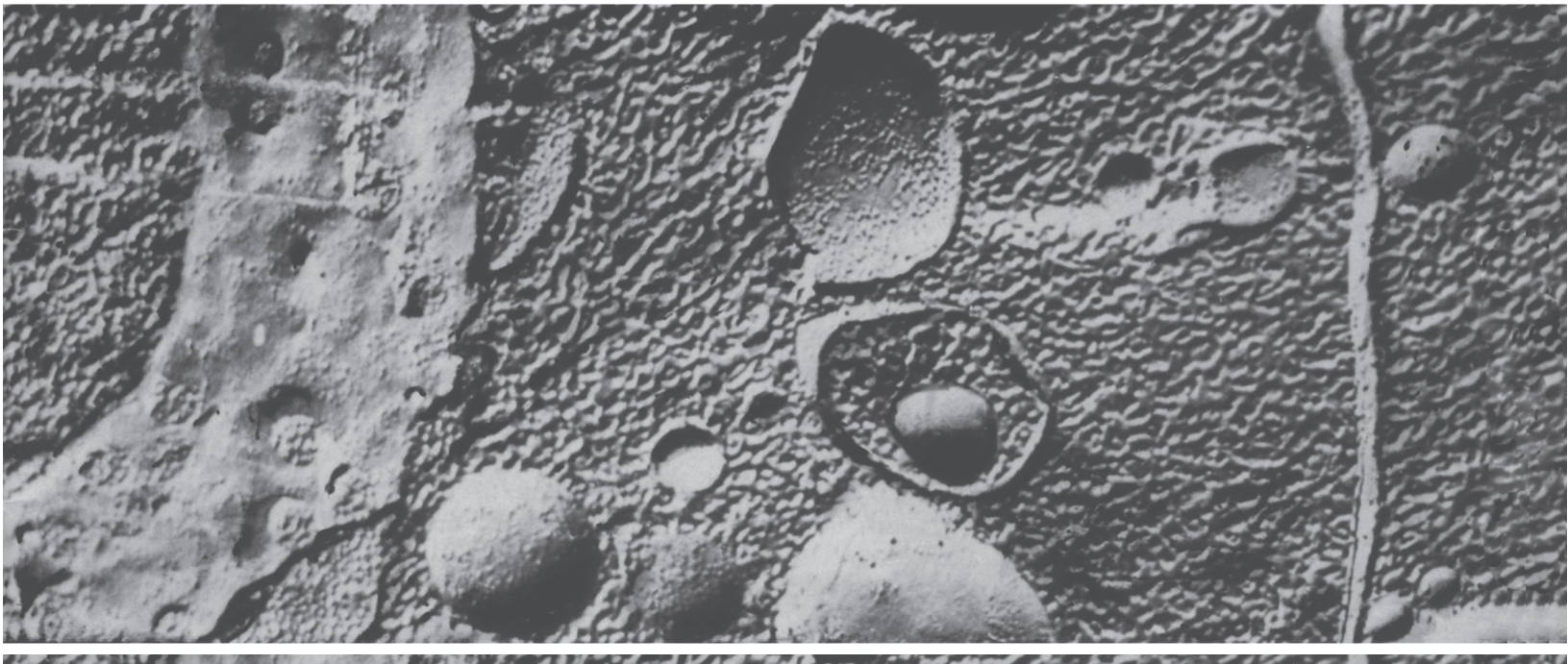
Список журналов публикуемых в Издательстве «Медицина»

<i>Журнал</i>	<i>Периодичность в полугодие</i>	<i>Индекс</i>
Анестезиология и реаниматология	3	71402 – инд.* 71403 – вед.**
Анналы хирургии	3	72155 72156
Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева	2	70646 70648
Вопросы вирусологии	3	71416
Гематология и трансфузиология	2	71426 72757
Гигиена и санитария	3	71429
Детская хирургия	3	72096 72119
Здравоохранение Российской Федерации	3	73163 73164
Иммунология	3	71492 71493
Клиническая лабораторная диагностика	6	71442 71443
Клиническая медицина	6	71444 71445
Медико-социальная экспертиза и реабилитация	2	47281 47282
Молекулярная генетика, микробиология и вирусология	2	71452 72152
Неврологический журнал	3	72157 72158
Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины	3	73302 72412
Регионарная анестезия и лечение острой боли	2	25100
Российский журнал кожных и венерических болезней	3	48231 48232
Российский медицинский журнал	3	72758 72759
Российский онкологический журнал	3	72159 72160
Российский педиатрический журнал	3	48229 48230
Российская педиатрическая офтальмология	2	36051 36052
Российский стоматологический журнал	3	72301 72302
Социология медицины	1	81769 81770
Физиотерапия, бальнеология и реабилитация	3	81267 81268
Эпидемиология и инфекционные болезни	3	72161 72162

- Подписка через интернет: www.akc.ru, www.pressa-rf.ru
- Подписка на электронную версию журналов: www.elibrary.ru

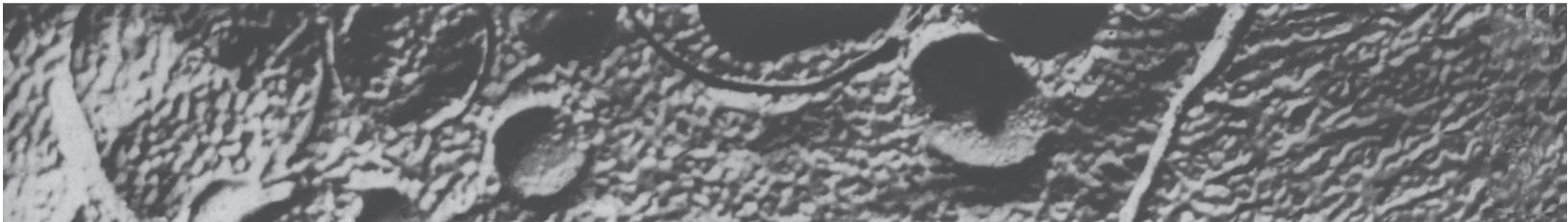


**МОЛЕКУЛЯРНАЯ
ГЕНЕТИКА
МИКРОБИОЛОГИЯ
И ВИРУСОЛОГИЯ**



1 2015 МОСКВА МЕДИЦИНА

Том 33
Vol. 33



9. Масалова О.В., Леснова Е.И., Шингарова Л.Н., Туницкая В.Л., Уланова Т.И., Бурков А.Н. и др. Комбинированное применение нуклеотидных и аминокислотных последовательностей белка NS3 вируса гепатита С, гена гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора и блокатора регуляторных Т-клеток индуцирует эффективный иммунный ответ против вируса гепатита С. *Молекулярная биология*. 2012; 46 (3): 525–34.

10. Масалова О.В., Абдулмеджидова А.Г., Атанадзе С.Н., Лакина Е.И., Семилетов Ю.А., Бурков А.Н. и др. Характеристика панели моноклональных антител и эпитопное картирование белков вируса гепатита С. *Доклады РАН*. 2002; 383 (4): 545–50.

11. Муковня А.В., Туницкая В.Л., Хандажинская А.Л., Голубева Н.А., Закирова Н.Ф., Иванов А.В. и др. Хеликаза/НТРаза вируса гепатита С. Эффективная система экспрессии и новые ингибиторы. *Биохимия*. 2008; 73: 822–832.

12. Уланова Т.И., Пузырев В.Ф., Бурков А.Н., Обрядина А.П. Влияние гетерогенности аминокислотной последовательности на иммунореактивность комплекса антигенных эпитопов, локализованного в пределах 1192-1456 аминокислот белка NS3 вируса гепатита С. *Вопросы вирусологии*. 2006; 51 (1): 28–30.

14. Масалова О.В., Леснова Е.И., Грабовецкий В.В., Смирнова О.А., Уланова Т.И., Бурков А.Н. и др. ДНК-иммунизация плазмидой, содержащей ген белка NS5A вируса гепатита С, индуцирует эффективный клеточный иммунный ответ. *Молекулярная биология*. 2010; 44 (2): 275–83.

15. Масалова О.В., Куц А.А. Моноклональные антитела к белкам вируса гепатита С – инструмент для картирования антигенных детерминант, диагностики гепатита С и изучения вирусного патогенеза. *Российский биотерапевтический журнал*. 2003; 2 (3): 7–24.

Поступила 15.05.14

REFERENCES

1. Horner S.M. Activation and evasion of antiviral innate immunity by hepatitis C virus. *J. Mol. Biol.* 2014; 426 (6): 1198–209.

2. Irshad M., Mankotia D.S., Irshad K. An insight into the diagnosis and pathogenesis of hepatitis C virus infection. *World J. Gastroenterol.* 2013; 19 (44): 7896–909.

3. Pawlotsky J.M. Hepatitis C virus: standard-of-care treatment. *Adv. Pharmacol.* 2013; 67: 69-215.

4. Rupp D., Bartenschlager R. Targets for antiviral therapy of hepatitis C. *Semin. Liver Dis.* 2014; 34 (1): 9-21.

5. Halliday J., Klenerman P., Barnes E. Vaccination for hepatitis C virus: closing in on an evasive target. Expert Rev. *Vaccines*. 2011; 10 (5): 659–72.

6. Honegger J.R., Zhou Y., Walker C.M. Will there be a vaccine to prevent HCV infection? *Semin. Liver Dis.* 2014; 34 (1): 79–88.

7. Masalova O.V., Lesnova E.I., Ivanov A.V., Pichugin A.V., Permyakova K.Yu., Smirnova O.A. et al. Comparative analysis of the immune response to DNA constructions encoding hepatitis C virus nonstructural proteins. *Voprosy virusologii.* 2013; 58 (2): 21–8. (in Russian)

8. Moradpour D., Penin F., Rice C.M. Replication of hepatitis C virus. *Nat. Rev. Microbiol.* 2007; 5: 453–63.

9. Masalova O.V., Lesnova E.I., Shingarova L.N., Tunitskaia V.L., Ulanova T.I., Burkov A.N. et al. The combined application of nucleotide and amino acid sequences of NS3 hepatitis C virus protein, DNA encoding granulocyte macrophage colony-stimulating factor and inhibitor of regulatory T cells induces effective immune response against hepatitis C virus. *Molecularnaya biology*. 2012; 46 (3): 525–34. (in Russian)

10. Masalova O.V., Abdulmedzhidova A.G., Atanadze S.N., Lakina E.I., Semiletov Yu.A., Burkov A.N. et al. Characterization of a panel of monoclonal antibodies and mapping the epitopes of hepatitis C virus proteins. *Doklady RAN*. 2002; 383 (4): 545–50. (in Russian)

11. Mukovnya A.V., Tunitskaya V.L., Khandazhinskaya A.L., Golubeva NA, Zakirova NF, Ivanov AV et al. Hepatitis C virus helicase/NTPase: an efficient expression system and new inhibitors. *Biokhimiya.*. 2008; 73 (6): 660–8. (in Russian)

12. Ulanova T.I., Puzyrev V.F., Burkov A.N., Obyadina A.P. Impact of the heterogenicity of amino acid sequence on the immunoreactivity of an antigenic epitopic complex localized within amino acids 1192-1456 of protein NS3 protein of hepatitis C virus. *Voprosy virusologii.* 2006; 51 (1): 28-30. (in Russian)

13. Ivanov A.V., Korovina A.N., Tunitskaya V.L., Kostyuk D.A., Rechinsky V.O., Kukhanova M.K. et al. Development of the system ensuring a high-level expression of hepatitis C virus nonstructural NS5B and NS5A proteins. *Protein Expr. Purif.* 2006; 48 (1): 14–23.

14. Masalova O.V., Lesnova E.I., Grabovetskiy V.V., Smirnova O.A., Ulanova T.I., Burkov A.N. et al. DNA immunization with a plasmid carrying the gene of hepatitis C virus protein 5A (NS5A) induces an effective cellular immune response. *Molecularnaya biologiya*. 2010; 44 (2): 245–53. (in Russian)

15. Masalova O. V., Kushch A.A. Monoclonal antibodies to hepatitis C virus proteins as a tool for antigenic determinant mapping, hepatitis C diagnostics and investigation of viral pathogenesis. *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal*. 2003; 2 (3): 7–24. (in Russian)

16. Thimme R., Neumann-Haefelin C., Boettler T., Blum H. Adaptive immune responses to hepatitis C virus: from viral immunobiology to a vaccine. *J. Biol. Chem.* 2008; 389 (5): 457–67.

17. Masalova O.V., Lesnova E.I., Pichugin A.V., Melnikova T.M., Grabovetsky V.V., Petrakova N.V. et al. The successful immune response against hepatitis C nonstructural protein 5A (NS5A) requires heterologous DNA/protein immunization. *Vaccine*. 2010; 28 (8): 1987–96.

18. Alvarez-Lajonchere L., Shoukry N.H., Grá B., Amador-Cañizares Y., Helle F., Bédard N. et al. Immunogenicity of CIGB-230, a therapeutic DNA vaccine preparation, in HCV-chronically infected individuals in a Phase I clinical trial. *J. Viral Hepatitis*. 2009; 16 (3): 156–67.

19. Ghorbani M., Nass T., Azizi A., Soare C., Aucoin S., Giulivi A. et al. Comparison of antibody- and cell-mediated immune responses after intramuscular hepatitis C immunizations of BALB/c mice. *Viral Immunol.* 2005; 18 (4): 637–48.

20. Arico E., Belardelli F. Interferon-α as antiviral and antitumor vaccine adjuvants: mechanisms of action and response signature. *J. Interferon Cytokine Res.* 2012; 32 (6): 235–47.

Received 15.05.14

ENHANCEMENT OF THE IMMUNE RESPONSE BY CO-DELIVERY OF THE HEPATITIS C VIRUS RECOMBINANT DNA AND PROTEINS OF REPLICATIVE COMPLEX

Masalova O. V.¹, Lesnova E. I.¹, Permyakova K. Yu.¹, Ivanov A. V.², Tunitskaya V. L.², KushchA. A.¹

¹ Ivanovsky Institute of Virology, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia; ² Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

The plasmids encoding amino acid sequences corresponding to the hepatitis C virus (HCV) are regarded as promising candidates for the anti-HCV vaccines. However, optimal composition of these vaccines was not determined. The goal of this work was to evaluate the immune response after immunization of mice with the DNA construct pcNS3-NS5B encoding proteins, which constitute viral replicative complex combined with the recombinant nonstructural proteins NS3 and NS5B using various adjuvants. DBA mice were immunized with the DNA construct and/or the recombinant proteins three times. The antibody response was evaluated using ELISA. Cell immunity was estimated using lymphocyte proliferation test in vitro and by production and secretion of IFN-γ and IL-2 measured in ELISpot and ELISA. It was found that the pcNS3-NS5B plasmid induced predominantly T cell response, whereas the recombinant NS3 and NS5B proteins stimulated a potent humoral immune response. It allowed us to demonstrate for the first time a statistically significant stimulation of both humoral and cell immunity after immunization with the pcNS3-NS5B in combination with the NS3 and NS5B HCV proteins. It was noteworthy that the animals developed the immune response not only to NS3 and NS5B proteins, but also to other antigens encoded by pcNS3-NS5B plasmid (NS4, NS5A). The most pronounced immune response was observed in the mice subjected to a triple immunization with pcNS3-NS5B plasmid in combination with a gene adjuvant pcGM-CSF and recombinant proteins (NS3 and NS5B), which were injected together with IFN-α. The adjuvant activity of IFN-α, which was demonstrated in a model of the HCV gene and proteins, can be prerequisite for including it in a candidate vaccine.

Key words: hepatitis C virus, nonstructural proteins, DNA immunization, recombinant proteins, immune response, adjuvants, IFN-α; vaccine.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ГЕНЕТИКА МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ

1·2015

Том 33

Квартальный
научно-теоретический журнал

Основан в январе 1983 г.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор С. В. КОСТРОВ
Зам. главного редактора Ю. М. РОМАНОВА
Ответственный секретарь Т. С. ИЛЬИНА

В. И. АГОЛ, А. Д. АЛЬТШТЕЙН, А. П. АНИСИМОВ, В. А. ГВОЗДЕВ,
В. Н. ГЕРШАНОВИЧ, А. Л. ГИНЦБУРГ, В. В. ДЕМКИН, Е. Д. КУЗНЕЦОВА
(научный редактор), С. А. ЛИМБОРСКАЯ, С. А. ЛУКЬЯНОВ, Н. Ф. МЯСОЕДОВ,
С. В. НЕТЕСОВ, Е. Д. СВЕРДЛОВ, Г. Б. СМЕРНОВ, Н. И. СМЕРНОВА,
В. З. ТАРАНТУЛ

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

А. М. БОРОНИН (Пушино-на-Оке), В. И. ВОТЯКОВ (Минск),
А. А. ПРОЗОРОВ (Москва), Ю. К. ФОМИЧЕВ (Минск),
С. В. ШЕСТАКОВ (Москва)

Журнал утвержден в Перечне ведущих научных журналов и изданий, выпускаемых в Российской Федерации, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора наук (Бюллетень ВАК)

Журнал полностью переводится на английский язык в США издательством ALLERTON PRESS, INC.

Сведения о статьях, публикуемых в журнале, размещаются в следующих международных информационно-справочных изданиях: *Index Medicus*, *Biological Abstracts*, *Chemical Abstracts*, *Current Contents*, *Ulrich's International Periodicals Directory*, а также журнал включен в информационные продукты Thomson Reuters. Начиная с тома 23 (1) 2008 г. издание индексируется и вносится в следующие базы данных:

- Science Citation Index Expanded (известный также, как SciSearch®)
- Journal Citation Reports/Science Edition®
- Biotechnology Citation Index®
- Biological Abstracts
- BIOSIS Previews



МОСКВА «ИЗДАТЕЛЬСТВО "МЕДИЦИНА"»

СОДЕРЖАНИЕ

ОБЗОР

- Ильина Т. С.** Нитчатые бактериофаги и их роль в вирулентности и эволюции патогенных бактерий 3

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

- Холодий Г. Я., Тарантул В. З.** Дифференциальная активность сайтов инициации репликации ДНК, расположенных в хромосомной полосе 9p22 человека 11
- Смирнова Н.И., Кульшань Т.А., Краснов Я.М.** MLVA-типирование клинических штаммов *Vibrio cholerae*, изолированных в разные периоды текущей пандемии холеры 15
- Платонов М.Е., Евсеева В.В., Ефременко Д.В., Афанасьев М.В., Вержуцкий Д.Б., Кузнецова И.В., Шестопалов М.Ю., Дентовская С.В., Куличенко А.Н., Балахонov С.В., Анисимов А.П.** Внутривидовая принадлежность рамнозопозитивных штаммов *Yersinia pestis* из природных очагов чумы Монголии. 23
- Мануйлов В.А., Осипова Л.П., Нетесова И.Г., Чуб Е.В., Безуглова Л.В., Norder H., Magnius L.O., Нетёсов С.В.** Распространенность различных генотипов и субтипов HBs-антигена вируса гепатита В в группах коренного населения Сибири 28
- Масалова О.В., Леснова Е.И., Пермякова К.Ю., Иванов А.В., Туницкая В.Л., Куц А.А.** Усиление иммунного ответа при сочетанном введении рекомбинантных ДНК и белков репликативного комплекса вируса гепатита С 36

CONTENTS

REVIEW

- Ilyina T. S.** The Filamentous Bacteriophages and Their Role in the Virulence and Evolution of Pathogenic Bacteria 3

EXPERIMENTAL WORKS

- Kholodii G. Ya. and Tarantul V. Z.** Differential Activity of the DNA Replication and Initiation Sites Attributed to the Human Chromosome 9p22 11
- Smirnova N. I., Kul'shan' T. A., and Krasnov Ya. M.** MLVA-Typing of Clinical *Vibrio cholerae* Strains Isolated during Different Periods of the Current Cholera Pandemic 15
- Platonov M. E., Evseeva V. V., Efremenko D. V., Afanas'ev M. V., Verzhutski D. B., Kuznetsova I. V., Shestopalov M. Yu., Dentovskaya S. V., Kulichenko A. N., Balakhonov S. V., and Anisimov A. P.** Intraspecies Belonging of the Rhamnose-fermentation-positive *Yersinia Pestis* Isolates from the Mongolian Natural Plague Foci 23
- Manuilov V. A., Osipova L. P., Netesova I. G., Chub E. V., Bezuglova L. V., Norder H., Magnius L. O., and Netesov S. V.** Prevalence of HBsAg Subtypes and Genotypes in Native Population Groups of Siberia 28
- Masalova O. V., Lesnova E. I., Permyakova K. Yu., Ivanov A. V., Tunitskaya V. L., and Kushch A. A.** Enhancement of the Immune Response by Co-delivery of the Hepatitis C Virus Recombinant DNA and Proteins of Replicative Complex 36

Индекс 71452

для индивидуальных подписчиков

Индекс 72152

для предприятий и организаций

ISSN 0208-0613. Молекул. генетика, микробиология и вирусология, 2015. № 1. 1–40.

Почтовый адрес редакции:

Москва, 109029

115088, ул. Новоостاپовская, д. 5, стр. 14

ОАО «Издательство "Медицина"»

Редакция журнала "Молекулярная генетика, микробиология и вирусология"

Тел. редакции: 8 495 678-63-95

e-mail: molgenetika@yandex.ru

Зав. редакцией И. Х. Измайлова

ОТДЕЛ РЕКЛАМЫ

Тел./факс 8-495-678-64-84

E-mail: oao-meditsina@mail.ru

Ответственность за достоверность информации, содержащейся в рекламных материалах, несут рекламодатели.

Художественный редактор
А. В. Минаичев

Корректор Т. Д. Малышева

Переводчик С. К. Чаморовский

Все права защищены. Ни одна часть этого издания не может быть занесена в память компьютера либо воспроизведена любым способом без предварительного письменного разрешения издателя.

Сдано в набор 21.10.14
Подписано в печать 12.12.14
Формат 60 × 88%
Печать офсетная. Печ. л. 5,00
Усл.-печ. л. 4,90. Уч.-изд. л. 5,50
Заказ 568

ЛР №010215 от 29.04.97 г.

www.medlit.ru

Отпечатано в типографии ООО "Подольская Периодика",
142110, г. Подольск, ул. Кирова, 15

Ильина Т. С.

НИТЧАТЫЕ БАКТЕРИОФАГИ И ИХ РОЛЬ В ВИРУЛЕНТНОСТИ И ЭВОЛЮЦИИ ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ

ФГБУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва

Нитчатые бактериофаги рода *Inovirus* семейства *Inoviridae* инфицируют множество грамотрицательных и некоторые грамположительные бактерии. В обзоре обсуждаются современные данные о роли нитчатых бактериофагов в вирулентности и эволюции таких известных патогенных бактерий, как *V. cholerae*, *Yersinia pestis*, *Neisseria meningitidis*, *Escherichia coli* O18: K1: H7, *Pseudomonas aeruginosa*, и ряда патогенов сельскохозяйственных растений.

Ключевые слова: нитчатые бактериофаги, патогенные бактерии, вирулентность, эволюция бактерий.

В последние два десятилетия появилось множество работ, посвященных обнаружению, выделению и изучению нитчатых фагов, принадлежащих к роду *Inovirus* семейства *Inoviridae*. Нитчатые фаги, широко распространенные среди бактерий, инфицируют широкий круг грамотрицательных бактерий разных родов – *Escherichia*, *Salmonella*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Vibrio*, *Thermus*, *Neisseria* и др. [1], а также некоторые грамположительные бактерии [2, 3]. Многие из них являются вирулентными и способны лишь размножаться в клетках бактерий. Однако в последние годы описан целый ряд умеренных нитчатых фагов, способных внедрять свой геном в хромосому хозяина и существовать в ней в виде профага (см. таблицу).

К настоящему времени накоплено достаточно данных, доказывающих, что несмотря на малый размер, нитчатые фаги играют важную роль в изменчивости и эволюции бактериальных хозяев [4–6]. Описано множество аспектов взаимодействия бактерий с нитчатыми фагами. Многие из них участвуют в подавлении роста чувствительных к фагам бактерий, производя отбор резистентных клеток, влияют на улучшение приспособляемости бактерий к условиям окружающей среды. Группа умеренных фагов вызывает образование мутаций и геномных перестроек в бактериальных геномах, влияет на образование биопленок бактериями-хозяевами. Но наибольший интерес представляют нитчатые фаги, способные влиять на вирулентность бактерий. Благодаря взаимодействиям самих фагов с бактериальным хозяином и их способности осуществлять горизонтальный перенос генов появляются новые патогенные бактерии (человека, животных или растений), наблюдаются изменения в существующих свойствах патогенных бактерий или приобретаются новые свойства, создающие им преимущество в отношении ранее существовавших штаммов. Детально изучены на сегодня лишь немногие фаги с такими свойствами, в основном связанные с наиболее опасными и широко распространенными патогенными бактериями.

Механизмы, ответственные за влияние фагов на хозяина, могут быть разными, обусловленными либо самим фактом интеграции генома фага в бактериальную хромосому (лизогенизацией, способностью вызывать лизогенные конверсии), либо горизонтальным переносом фагом случайных чужеродных генов при участии разных механизмов – трансдукции, транспозиции, репликации по типу «катящегося кольца» [7].

Вирионы нитчатых фагов представляют собой длинные тонкие спирально закрученные нити, внутри которых заключена циркулярно замкнутая одонитевая ДНК (ssDNA). Большинство сведений о структурной организации фаговых геномов получено при изучении фагов *FfE.coli* и *pfl P. aeruginosa*. Они имеют модулярную структуру, при которой функционально родственные гены сгруппированы вместе. Всегда присутствуют 3 функциональных модуля: модуль репликации, структурный модуль и модуль сборки и секреции. Модуль репликации содержит гены, кодирующие репликацию по типу «катящегося кольца», и белки, ответственные за связывание с одонитевой ДНК (*gII*, *gV* и *gX*), показано на модели фага *FfE. coli* [7]. Структурный модуль содержит гены главного (*gVIII*) и малых оболочечных белков (*gIII*, *gVI*, *gVII* и *gIX*) и ген *gIII*, кодирующий адсорбционный белок *pIII*. Модуль сборки и секреции содержит гены морфогенеза и выхода фаговых частиц (*gI* и *gIV*). Нитевидная структура вириона образована тысячами спирально расположенных копий *pVIII*, небольшого белка из 50 аминокислот. Концы нитей замкнуты двумя различными парами белков – *pVII–pIX* и *pIII–pVI* [8].

Нитчатые фаги, как и другие известные фаги, способны существовать в клетках бактерий как вирулентные либо как умеренные фаги, способные интегрироваться в хромосомы и сохраняться в них в виде профагов. Внехромосомная репликация вирулентных вирусов происходит практически неконтролируемо, поскольку геномы нитчатых фагов не кодируют регуляторных белков. Она осуществляется посредством репликации по типу «катящегося кольца». Репродукция вирусов в клетках хозяина не сопровождается гибелью клеток, сборка зрелых частиц фагов происходит на поверхности клеток, где они накапливаются и высвобождаются способом, сходным с «выдавливанием». Экспрессия генов и репликация интегрированных в хромосому фагов строго контролируются регуляторами транскрипции, которые подавляют транскрипцию репликационного белка и белков вириона [8].

При лизогенизации бактерий используются различные стратегии интеграции фаговых геномов в