

УДК 577.3:579.4

С.О. Садикалиева,
К.Т. Султанкулова*, В.М. Строчков, К.К. Акылбаева,
О. Шыныбекова, Н.Т. Сандыбаев, А.Р. Сансызбай

Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности,
Республика Казахстан, Жамбылская область, п.г.т. Гвардейский

*E-mail: karla8408@mail.ru

Генетический анализ вирулентных генов *virb1*, *virb3*, *virb5* и *virulence protein* бактерии *Brucella abortus*, выделенной в Казахстане

В данной статье представлены результаты сравнительного анализа нуклеотидных последовательностей генов *virb1*, *virb3*, *virb5* и *virulence protein* (*virP*) казахстанских штаммов бактерии *Brucella abortus* с использованием компьютерных программ Vector NTI Suite 9 и BLAST. По результатам анализа выявлено, что ген *virb1* казахстанских штаммов, при сравнении со штаммами из Genbank *B. abortus*, *str A13334*, *B. abortus 544* и *B. abortus* с ID номером AF226278.1, имеет одну нуклеотидную замену С на Т в позиции 96, которая приводит к аминокислотной замене Ala на Thr. Результат сравнительного анализа по гену *virP* со штаммами из Genbank показал, что наблюдаются замены в нуклеотидной последовательности G на А и А на С в позициях 145 и 612, соответственно.

Ключевые слова: *Brucella abortus*, четвертая секреторная система, вирулентные гены, ПЦР, секвенирование.

S.O. Sadikaliyeva, K.T. Sultankulova, V.M. Storchkov, K.K. Akylbayeva,
G.O. Shynybekova, N.T. Sandybayev, A.R. Sansyzbay

Genetic analysis of virulent genes of *virb1*, *virb3*, *virb5* and *virulence protein* of the bacterium *Brucella abortus*, isolated in Kazakhstan

This article presents the results of a comparative analysis of nucleotide sequences of Kazakhstan strains bacteria *Brucella abortus* genes *virb1*, *virb3*, *virb5* and *virulence protein* (*virP*) with using computer programs Vector NTI Suite 9 and BLAST. According to the analysis revealed that the gene *virb1* of kazakhstan strains when compared to the strains from GenBank *B. abortus*, *str A13334*, *B. abortus* and *B. abortus 544* with the ID number AF226278.1, has a single nucleotide substitution C to T at position 96, which leads to amino acid substitution to Ala Thr. The results of the comparative analysis of gene *virP* strains from GenBank showed that the observed substitutions in the nucleotide sequence of G to A and A to C at positions 145 and 612, respectively.

Key words: *Brucella abortus*, fourth secretory system, virulent genes, PCR, sequencing.

С.О. Садикалиева, К.Т. Султанкулова, В.М. Строчков, К.К. Акылбаева,
Г.О. Шыныбекова, Н.Т. Сандыбаев, А.Р. Сансызбай

Қазақстанда бөлініп алынған *Brucella abortus* бактериясының *virb1*, *virb3*, *virb5* және *virulence protein* вирулентті гендерінің генетикалық талдауы

Бұл мақалада Vector NTI Suite 9 және BLAST компьютерлік бағдарламаларын пайдалана отырып, Қазақстанда бөлініп алынған *Brucella abortus* бактериясының *virb1*, *virb3*, *virb5* және *virP* вирулентті гендерінің нуклеотидті тізбектерінің салыстырмалы талдау нәтижелері көрсетілген. *Virb1* гені бойынша зерттеу нәтижелері қазақстандық штамдардың Genbank базасындағы *B. abortus*, *str A13334*, *B. abortus 544* және ID нөмірі AF226278.1 *B. abortus* штамдарынан, Ala – Thr аминқышқылдық өзгеріске алып келетін, нуклеотидтік тізбектеріндегі 96 орында С – Т ауысымының бар екендігін

көрсетті. Қазақстандық штамдардың Genbank базасындағы штамдармен *virP* гені бойынша салыстырмалы талдау нәтижелерінде нуклеотидтік тізбектерінде 145 және 612 орындарда G – A және A – C алмастырулар бар екендігі анықталды.

Түйін сөздер: *Brucella abortus*, төртінші секрециялық жүйе, вирулентті гендер, ПТР, секвенирлеу.

Введение

Бруцеллез является одной из особо опасных инфекционных болезней, наносящих большой экономический ущерб животноводству. По данным Объединенного комитета экспертов ФАО, бруцеллез сельскохозяйственных животных распространен практически во всем мире. В частности, эпизоотии и высокий уровень заболеваемости бруцеллёзом сохраняется в странах СНГ, главным образом в Казахстане и среднеазиатских странах, что связано с патогенностью данной бактерии [1].

Патоген попадает в клетку-мишень и изменяет его физиологию, подавляет защитную реакцию организма. Четвертая секреторная система (T4SS) является важнейшим фактором, который определяет взаимодействия хозяина с патогеном и позволяет выживать бактерии в самых различных местообитаниях, в таких, как внутриклеточных отсеках клеток млекопитающих [2].

T4SS состоит из оперона *virb*, кодирующего 11 субъединиц белкового канала. Эта секреторная система гомологична механизму конъюгации и используется бактерией-паразитом для впрыскивания своих белков напрямую в клетку-хозяина [3].

Биохимические, генетические и клеточно-биологические эксперименты показывают, что *virb2-virb11* составляют трансмембранные поры, которые соединяют внутреннюю и внешнюю мембрану через периплазматические взаимодействия, а также формирует гомо-олигомеры и внеклеточные пилусы. Данные гены незаменимы для бактерии *Brucella* при его достижении внутриклеточной ниши и репликации в клетках или макрофагах [4].

Ген оперона *virb*, *virb1* локализован на поверхности бактерий, где она потенциально взаимодействует с клетками хозяина, оказывая полярное воздействие на нижестоящие гены оперона [5].

Роль протеина *virb3* мало изучена, по сравнению с другими компонентами T4SS, но его взаимодействие с компонентами пилуса и локализация в наружной мембране дает возможность предположить, что он может играть определенную роль в процессе сборки этой структуры [6].

virb5 является минорным компонентом внеклеточного пилуса грамотрицательной бак-

терий, который, вероятно, является посредником образования контакта с клеткой хозяина [7].

Исходя из вышеперечисленных данных, целью данной работы является изучение молекулярно-генетических характеристик некоторых генов бактерии *Brucella abortus*, таких, как *virb1*, *virb3*, *virb5* и *virP*.

Материалы и методы

В качестве объектов исследования были использованы штаммы бактерии *Brucella abortus*, выделенные в различных регионах Республики Казахстан (таблица 1).

Выделение ДНК. Выделение ДНК проводили с использованием набора «PrepMan Ultra Sample Preparation Reagent» фирмы Applied Biosystems (США), согласно протоколу производителя.

Наработка участков генов *virb1*, *virb3*, *virb5* и *virP*. Нарботку проводили с помощью ПЦР с использованием набора AccuPrime Taq DNA Polymerase High Fidelity, фирмы Invitrogen, на амплификаторе фирмы Applied Biosystems 2720 Thermal cycler, США.

При амплификации смесь ПЦР содержал: 5 мкл 10х буфера, 1 мкл dNTP, по 1 мкл 10 пмоль праймера, 0,5 мкл Taq DNA polymerase и по 2 мкл исследуемых ДНК образцов. Начальная денатурация прошла при 95°C в течение 5 минут, после 30 циклов денатурации при 94°C в течение 1 мин, отжиг при температуре 55°C в течение 1 мин и репликация при 72°C в течение 2 мин. Пост-репликация ПЦР прошла при 72°C в течение 10 мин.

Электрофорез ДНК в 2% агарозном геле проводили, используя TBE буфер, содержащий 1 мкл/мл бромистого этидия. Использовали аппарат для электрофореза нуклеиновых кислот G-100, Pharmacia, США.

Секвенирование. Секвенирование ДНК проводили методом дидеоксисеквенирования с использованием терминирующих дидеоксинуклеотидов (метод Сенгера) на автоматическом 16-капиллярном секвенаторе GeneticAnalyser 3130 xl, AppliedBiosystems, Япония.

Сравнительный анализ. Сравнительный анализ проводили с помощью компьютерных программ BLAST и Vector NTI.

Таблица 1 – Штаммы бактерии *Brucella abortus*

№	Наименование штамма	Регионы
1	<i>Brucella abortus</i> 0001/Н	Жамбылская область
2	<i>Brucella abortus</i> 0002/Н	
3	<i>Brucella abortus</i> 0006/В	Алматинская область
4	<i>Brucella abortus</i> 0007/В	
5	<i>Brucella abortus</i> 0008/В	
6	<i>Brucella abortus</i> в R-форме 0009/Х	Южно-Казахстанская область
7	<i>Brucella abortus</i> ЮКО 198 212 S -ф	
8	<i>Brucella abortus</i> ЮКО 2535 S -ф	
9	<i>Brucella abortus</i> ЮКО198767578 S-ф	
10	<i>Brucella abortus</i> Алаколь 1, S -ф	Алматинская область, Талдыкорганский регион
11	<i>Brucella abortus</i> Алаколь 2, S -ф	
12	<i>Brucella abortus</i> Атырау 88, S -ф	Атырауская область
13	<i>Brucella abortus</i> СКО,S -ф	Северо-Казахстанская область

Результаты и обсуждения

Для амплификации ДНК генов бактерии *B. abortus* были конструированы праймеры с помощью компьютерной программы Vector

NTI. В результате были подобраны праймеры на гены *virb1*, *virb3*, *virb5* и *virP* четвертой секреторной системы. Нуклеотидные последовательности праймеров представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Праймеры, используемые для амплификации генов, кодирующих белки бруцелл

Ген	Праймер	Нуклеотидная последовательность праймера	Длина продукта
VirB1 <i>Brucella abortus</i>	<i>Virb1_F</i>	TTAGAAAACAACACTACGCCGTCCG	660
	<i>Virb1_R</i>	ATGGCAGCAATCGTGCAG	
Virulence protein <i>Brucella abortus</i>	<i>VirP_F</i>	TCATTGCACCACTCCCATT	720
	<i>VirP_R</i>	GCAAACAATCTCCACAGAAATCAGT	
VirB3 <i>Brucella abortus</i>	<i>Virb3_F</i>	CTG TAC ACG GCC AGC CAT GT	249
	<i>Virb3_R</i>	TGC GCG TAT TTG GAT TGA GC	
Vir B5 <i>Brucella abortus</i>	<i>Virb5_F1</i>	TCA TTG CCG AAG TCG GGG AC	717
	<i>Virb5_R717</i>	TCG GGT AGT TAA TAG GCG GC	

С целью изучения свойств вирулентных генов *virb1*, *virb3*, *virb5* и *virP* четвертой секреторной системы казахстанских штаммов бактерии *B. abortus* была проведена наработка, секвенирование и сравнительный анализ данных генов.

На рисунке 1 (А, Б, В, Г) представлены результаты амплификации ДНК генов *virb1*, *virb3*, *virb5* и *virP* казахстанских штаммов бактерии *B. abortus*, выделенных на территории Республики Казахстан.

В результате секвенирования были получены нуклеотидные последовательности генов *virb1*, *virb3*, *virb5*, *virP*, размерами 660 п.о., 249 п.о., 717 п.о. и 720 п.о., соответственно.

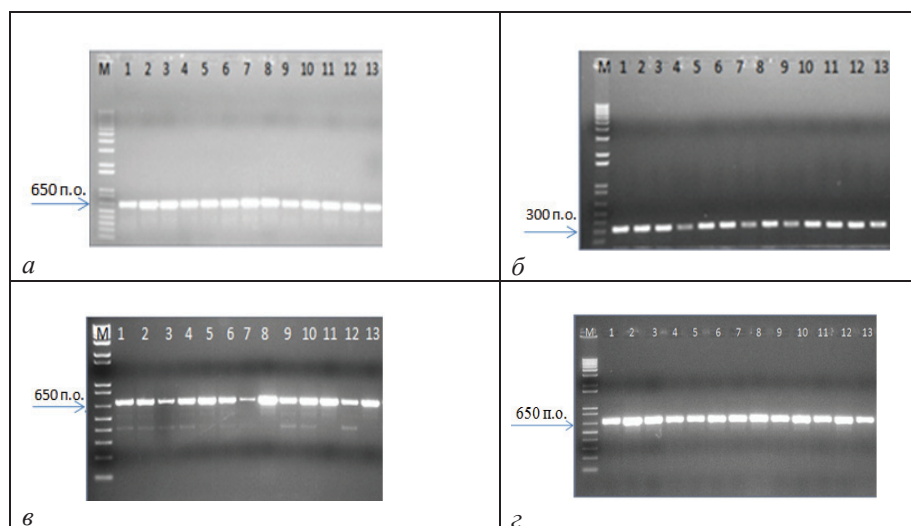
Проведены исследования по сравнительному анализу нуклеотидных и аминокислотных последовательностей участков генов казахстанских штаммов бактерии *B. abortus* с имеющимися данными международного банка генов Genbank.

Результаты исследований по сравнительному анализу генов казахстанских штаммов бактерии *B. abortus* представлены на рисунках 2-6.

Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей гена *virb1* различных штаммов бактерии *B. abortus*, выделенных на территории Республики Казахстан показали, что каза-

хстанские штаммы идентичны между собой на 100%, за исключением штаммов *B. abortus* ЮКО 2535, *B. abortus* ЮКО 198 212, выделенные в Южно-Казахстанской области. Данные штаммы идентичны между собой и со штаммами из

Genbank *B. abortus*, str A13334, *B. abortus* 544 и *B. abortus* с ID номером AF226278.1, где имеет-ся одна нуклеотидная замена С на Т в позиции 96. Было выявлено, что данная замена приводит к аминокислотной замене А на Т (рисунок 3).



М – Маркер 1kb, invitrogen; 1 – *Brucella abortus* 0001/H; 2 – *Brucella abortus* 0002/H; 3 – *Brucella abortus* 0006/H; 4 – *Brucella abortus* 0007/H; 5 – *Brucella abortus* 0008/H; 6 – *Brucella abortus* 0009/H; 7 – *Brucella abortus* ЮКО 198 212; 8 – *Brucella abortus* ЮКО 2535; 9 – *Brucella abortus* ЮКО198767578; 10 – *Brucella abortus* Алаколь1; 11 – *Brucella abortus* Алаколь 2; 12 – *Brucella abortus* Атырау 88; 13 – *Brucella abortus* СКО
А – *virb1*; Б – *virb3*; В – *virb5*; Г – *virP*;

Рисунок 1 – Электрофореграмма ПЦР продуктов вирулентных генов казахстанских штаммов бактерии *B. abortus*

	40	50	60	70	80	90	100	110	120	130	140	150	160	170
virb1 Br.a. 544	9	CGGCGCATCGGTTGTGCGCGGCTGCTCTGTCTTCAGGCTTACAGGCGGCTTCGCGCT	100	CGGCGTGGCTGGCATCGACTGCGATGATGGATGCAGATCGACAGAAACAGAATTACGATCAGCGCGGCTGTCTGTTT										
virb1 Br.a. ID: AF226278.1	1	CGGCGCATCGGTTGTGCGCGGCTGCTCTGTCTTCAGGCTTACAGGCGGCTTCGCGCT	100	CGGCGTGGCTGGCATCGACTGCGATGATGGATGCAGATCGACAGAAACAGAATTACGATCAGCGCGGCTGTCTGTTT										
virb1 Br.a. A13334	40	CGGCGCATCGGTTGTGCGCGGCTGCTCTGTCTTCAGGCTTACAGGCGGCTTCGCGCT	100	CGGCGTGGCTGGCATCGACTGCGATGATGGATGCAGATCGACAGAAACAGAATTACGATCAGCGCGGCTGTCTGTTT										
virb1_1	36	CGGCGCATCGGTTGTGCGCGGCTGCTCTGTCTTCAGGCTTACAGGCGGCTTCGCGCT	100	CGGCGTGGCTGGCATCGACTGCGATGATGGATGCAGATCGACAGAAACAGAATTACGATCAGCGCGGCTGTCTGTTT										
virb1_2	32	CGGCGCATCGGTTGTGCGCGGCTGCTCTGTCTTCAGGCTTACAGGCGGCTTCGCGCT	100	CGGCGTGGCTGGCATCGACTGCGATGATGGATGCAGATCGACAGAAACAGAATTACGATCAGCGCGGCTGTCTGTTT										
virb1_3	32	CGGCGCATCGGTTGTGCGCGGCTGCTCTGTCTTCAGGCTTACAGGCGGCTTCGCGCT	100	CGGCGTGGCTGGCATCGACTGCGATGATGGATGCAGATCGACAGAAACAGAATTACGATCAGCGCGGCTGTCTGTTT										
virb1_4	28	CGGCGCATCGGTTGTGCGCGGCTGCTCTGTCTTCAGGCTTACAGGCGGCTTCGCGCT	100	CGGCGTGGCTGGCATCGACTGCGATGATGGATGCAGATCGACAGAAACAGAATTACGATCAGCGCGGCTGTCTGTTT										
virb1_5	30	CGGCGCATCGGTTGTGCGCGGCTGCTCTGTCTTCAGGCTTACAGGCGGCTTCGCGCT	100	CGGCGTGGCTGGCATCGACTGCGATGATGGATGCAGATCGACAGAAACAGAATTACGATCAGCGCGGCTGTCTGTTT										
virb1_6	27	CGGCGCATCGGTTGTGCGCGGCTGCTCTGTCTTCAGGCTTACAGGCGGCTTCGCGCT	100	CGGCGTGGCTGGCATCGACTGCGATGATGGATGCAGATCGACAGAAACAGAATTACGATCAGCGCGGCTGTCTGTTT										
virb1_7	28	CGGCGCATCGGTTGTGCGCGGCTGCTCTGTCTTCAGGCTTACAGGCGGCTTCGCGCT	100	CGGCGTGGCTGGCATCGACTGCGATGATGGATGCAGATCGACAGAAACAGAATTACGATCAGCGCGGCTGTCTGTTT										
virb1_8	28	CGGCGCATCGGTTGTGCGCGGCTGCTCTGTCTTCAGGCTTACAGGCGGCTTCGCGCT	100	CGGCGTGGCTGGCATCGACTGCGATGATGGATGCAGATCGACAGAAACAGAATTACGATCAGCGCGGCTGTCTGTTT										
virb1_9	24	CGGCGCATCGGTTGTGCGCGGCTGCTCTGTCTTCAGGCTTACAGGCGGCTTCGCGCT	100	CGGCGTGGCTGGCATCGACTGCGATGATGGATGCAGATCGACAGAAACAGAATTACGATCAGCGCGGCTGTCTGTTT										
virb1_10	9	CGGCGCATCGGTTGTGCGCGGCTGCTCTGTCTTCAGGCTTACAGGCGGCTTCGCGCT	100	CGGCGTGGCTGGCATCGACTGCGATGATGGATGCAGATCGACAGAAACAGAATTACGATCAGCGCGGCTGTCTGTTT										
virb1_11	9	CGGCGCATCGGTTGTGCGCGGCTGCTCTGTCTTCAGGCTTACAGGCGGCTTCGCGCT	100	CGGCGTGGCTGGCATCGACTGCGATGATGGATGCAGATCGACAGAAACAGAATTACGATCAGCGCGGCTGTCTGTTT										
virb1_12	10	CGGCGCATCGGTTGTGCGCGGCTGCTCTGTCTTCAGGCTTACAGGCGGCTTCGCGCT	100	CGGCGTGGCTGGCATCGACTGCGATGATGGATGCAGATCGACAGAAACAGAATTACGATCAGCGCGGCTGTCTGTTT										
virb1_13	9	CGGCGCATCGGTTGTGCGCGGCTGCTCTGTCTTCAGGCTTACAGGCGGCTTCGCGCT	100	CGGCGTGGCTGGCATCGACTGCGATGATGGATGCAGATCGACAGAAACAGAATTACGATCAGCGCGGCTGTCTGTTT										
Consensus	40	CGGCGCATCGGTTGTGCGCGGCTGCTCTGTCTTCAGGCTTACAGGCGGCTTCGCGCT	100	CGGCGTGGCTGGCATCGACTGCGATGATGGATGCAGATCGACAGAAACAGAATTACGATCAGCGCGGCTGTCTGTTT										

Br.a. 544 – *Brucella abortus* 544; Br.a. ID: AF226278.1 – *Brucella abortus* ID: AF226278.1; Br.a. A13334 – *Brucella abortus* A13334; 1 – *Brucella abortus* 0001/H; 2 – *Brucella abortus* 0002/H; 3 – *Brucella abortus* 0006/H; 4 – *Brucella abortus* 0007/H; 5 – *Brucella abortus* 0008/H; 6 – *Brucella abortus* 0009/H; 7 – *Brucella abortus* ЮКО 198 212; 8 – *Brucella abortus* ЮКО 2535; 9 – *Brucella abortus* ЮКО198767578; 10 – *Brucella abortus* Алаколь1; 11 – *Brucella abortus* Алаколь 2; 12 – *Brucella abortus* Атырау 88; 13 – *Brucella abortus* СКО

Рисунок 2 – Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей гена *virb1* штаммов бактерии *B. abortus*

Компьютерный анализ с использованием программы Vector NTI показал, что нуклеотидные последовательности участка гена *virb3* казахстанских штаммов бактерии *B. abortus* были

идентичны на 100% между собой и со штаммами из Genbank, такими как *B. abortus*, str A13334, *B. abortus* S19, *B. abortus*, str 9-941, *B. abortus* 544 и *B. abortus* с ID номером AF226278.1.

	158	160	170	180	190	200	210	220	230	240	250	260	270
virb3 Br.a. 544	109	AGTCTGCGTGATCTGCGCGATGACCAAGCAGGATTGGTACGATCAGCGGCAATATGAACATGGAAATCCAGACCGATAAGAGAACGATGCTGCCGCCAACGATGACAAGCGGGATCACAG											
virb3 Br.a. A13334	137	AGTCTGCGTGATCTGCGCGATGACCAAGCAGGATTGGTACGATCAGCGGCAATATGAACATGGAAATCCAGACCGATAAGAGAACGATGCTGCCGCCAACGATGACAAGCGGGATCACAG											
virb3 Br.a. S19	137	AGTCTGCGTGATCTGCGCGATGACCAAGCAGGATTGGTACGATCAGCGGCAATATGAACATGGAAATCCAGACCGATAAGAGAACGATGCTGCCGCCAACGATGACAAGCGGGATCACAG											
virb3 Br.a. str 9-941	137	AGTCTGCGTGATCTGCGCGATGACCAAGCAGGATTGGTACGATCAGCGGCAATATGAACATGGAAATCCAGACCGATAAGAGAACGATGCTGCCGCCAACGATGACAAGCGGGATCACAG											
virb3_1	137	AGTCTGCGTGATCTGCGCGATGACCAAGCAGGATTGGTACGATCAGCGGCAATATGAACATGGAAATCCAGACCGATAAGAGAACGATGCTGCCGCCAACGATGACAAGCGGGATCACAG											
virb3_2	141	AGTCTGCGTGATCTGCGCGATGACCAAGCAGGATTGGTACGATCAGCGGCAATATGAACATGGAAATCCAGACCGATAAGAGAACGATGCTGCCGCCAACGATGACAAGCGGGATCACAG											
virb3_3	158	AGTCTGCGTGATCTGCGCGATGACCAAGCAGGATTGGTACGATCAGCGGCAATATGAACATGGAAATCCAGACCGATAAGAGAACGATGCTGCCGCCAACGATGACAAGCGGGATCACAG											
virb3_4	138	AGTCTGCGTGATCTGCGCGATGACCAAGCAGGATTGGTACGATCAGCGGCAATATGAACATGGAAATCCAGACCGATAAGAGAACGATGCTGCCGCCAACGATGACAAGCGGGATCACAG											
virb3_5	122	AGTCTGCGTGATCTGCGCGATGACCAAGCAGGATTGGTACGATCAGCGGCAATATGAACATGGAAATCCAGACCGATAAGAGAACGATGCTGCCGCCAACGATGACAAGCGGGATCACAG											
virb3_6	125	AGTCTGCGTGATCTGCGCGATGACCAAGCAGGATTGGTACGATCAGCGGCAATATGAACATGGAAATCCAGACCGATAAGAGAACGATGCTGCCGCCAACGATGACAAGCGGGATCACAG											
virb3_7	5	AGTCTGCGTGATCTGCGCGATGACCAAGCAGGATTGGTACGATCAGCGGCAATATGAACATGGAAATCCAGACCGATAAGAGAACGATGCTGCCGCCAACGATGACAAGCGGGATCACAG											
virb3_8	118	AGTCTGCGTGATCTGCGCGATGACCAAGCAGGATTGGTACGATCAGCGGCAATATGAACATGGAAATCCAGACCGATAAGAGAACGATGCTGCCGCCAACGATGACAAGCGGGATCACAG											
virb3_9	125	AGTCTGCGTGATCTGCGCGATGACCAAGCAGGATTGGTACGATCAGCGGCAATATGAACATGGAAATCCAGACCGATAAGAGAACGATGCTGCCGCCAACGATGACAAGCGGGATCACAG											
virb3_10	1	AGTCTGCGTGATCTGCGCGATGACCAAGCAGGATTGGTACGATCAGCGGCAATATGAACATGGAAATCCAGACCGATAAGAGAACGATGCTGCCGCCAACGATGACAAGCGGGATCACAG											
virb3_11	153	AGTCTGCGTGATCTGCGCGATGACCAAGCAGGATTGGTACGATCAGCGGCAATATGAACATGGAAATCCAGACCGATAAGAGAACGATGCTGCCGCCAACGATGACAAGCGGGATCACAG											
virb3_12	104	AGTCTGCGTGATCTGCGCGATGACCAAGCAGGATTGGTACGATCAGCGGCAATATGAACATGGAAATCCAGACCGATAAGAGAACGATGCTGCCGCCAACGATGACAAGCGGGATCACAG											
virb3_13	102	AGTCTGCGTGATCTGCGCGATGACCAAGCAGGATTGGTACGATCAGCGGCAATATGAACATGGAAATCCAGACCGATAAGAGAACGATGCTGCCGCCAACGATGACAAGCGGGATCACAG											
Consensus	158	AGTCTGCGTGATCTGCGCGATGACCAAGCAGGATTGGTACGATCAGCGGCAATATGAACATGGAAATCCAGACCGATAAGAGAACGATGCTGCCGCCAACGATGACAAGCGGGATCACAG											

Br.a. 544 – *Brucella abortus* 544; Br.a. A13334 – *Brucella abortus* A13334; Br.a. S19 – *Brucella abortus* S19; Br.a. str 9-941 – *Brucella abortus* 9-941; 1 – *Brucella abortus* 0001/H; 2 – *Brucella abortus* 0002/H; 3 – *Brucella abortus* 0006/H; 4 – *Brucella abortus* 0007/H; 5 – *Brucella abortus* 0008/H; 6 – *Brucella abortus* 0009/H; 7 – *Brucella abortus* ЮКО 198 212; 8 – *Brucella abortus* ЮКО 2535; 9 – *Brucella abortus* ЮКО198767578; 10 – *Brucella abortus* Алаколь1; 11 – *Brucella abortus* Алаколь 2; 12 – *Brucella abortus* Атырау 88; 13 – *Brucella abortus* СКО

Рисунок 3 – Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей гена *virb3* штаммов бактерии рода *B. abortus*

	15	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120	130	140	150	
virb5_1	3	GGCGGCTTCCAGTGCCTTTCGGCTGCGGATAGCCGCGCCGGGCAATATCCCTTCGCGCTAATTGGTGTGGGCTGTGCTCCAGGAGCTTGTCTGTGGCTCTGCCATCTGCTGGTAGAGATGAAGCGGGGTGTCTTCGTTT														
virb5_2	1	GGCGGCTTCCAGTGCCTTTCGGCTGCGGATAGCCGCGCCGGGCAATATCCCTTCGCGCTAATTGGTGTGGGCTGTGCTCCAGGAGCTTGTCTGTGGCTCTGCCATCTGCTGGTAGAGATGAAGCGGGGTGTCTTCGTTT														
virb5_3	2	GGCGGCTTCCAGTGCCTTTCGGCTGCGGATAGCCGCGCCGGGCAATATCCCTTCGCGCTAATTGGTGTGGGCTGTGCTCCAGGAGCTTGTCTGTGGCTCTGCCATCTGCTGGTAGAGATGAAGCGGGGTGTCTTCGTTT														
virb5_4	1	GGCGGCTTCCAGTGCCTTTCGGCTGCGGATAGCCGCGCCGGGCAATATCCCTTCGCGCTAATTGGTGTGGGCTGTGCTCCAGGAGCTTGTCTGTGGCTCTGCCATCTGCTGGTAGAGATGAAGCGGGGTGTCTTCGTTT														
virb5_5	1	GGCGGCTTCCAGTGCCTTTCGGCTGCGGATAGCCGCGCCGGGCAATATCCCTTCGCGCTAATTGGTGTGGGCTGTGCTCCAGGAGCTTGTCTGTGGCTCTGCCATCTGCTGGTAGAGATGAAGCGGGGTGTCTTCGTTT														
virb5_6	3	GGCGGCTTCCAGTGCCTTTCGGCTGCGGATAGCCGCGCCGGGCAATATCCCTTCGCGCTAATTGGTGTGGGCTGTGCTCCAGGAGCTTGTCTGTGGCTCTGCCATCTGCTGGTAGAGATGAAGCGGGGTGTCTTCGTTT														
virb5_7	15	GGCGGCTTCCAGTGCCTTTCGGCTGCGGATAGCCGCGCCGGGCAATATCCCTTCGCGCTAATTGGTGTGGGCTGTGCTCCAGGAGCTTGTCTGTGGCTCTGCCATCTGCTGGTAGAGATGAAGCGGGGTGTCTTCGTTT														
virb5_8	1	GGCGGCTTCCAGTGCCTTTCGGCTGCGGATAGCCGCGCCGGGCAATATCCCTTCGCGCTAATTGGTGTGGGCTGTGCTCCAGGAGCTTGTCTGTGGCTCTGCCATCTGCTGGTAGAGATGAAGCGGGGTGTCTTCGTTT														
virb5_9	1	GGCGGCTTCCAGTGCCTTTCGGCTGCGGATAGCCGCGCCGGGCAATATCCCTTCGCGCTAATTGGTGTGGGCTGTGCTCCAGGAGCTTGTCTGTGGCTCTGCCATCTGCTGGTAGAGATGAAGCGGGGTGTCTTCGTTT														
virb5_10	1	GGCGGCTTCCAGTGCCTTTCGGCTGCGGATAGCCGCGCCGGGCAATATCCCTTCGCGCTAATTGGTGTGGGCTGTGCTCCAGGAGCTTGTCTGTGGCTCTGCCATCTGCTGGTAGAGATGAAGCGGGGTGTCTTCGTTT														
virb5_11	1	GGCGGCTTCCAGTGCCTTTCGGCTGCGGATAGCCGCGCCGGGCAATATCCCTTCGCGCTAATTGGTGTGGGCTGTGCTCCAGGAGCTTGTCTGTGGCTCTGCCATCTGCTGGTAGAGATGAAGCGGGGTGTCTTCGTTT														
virb5_12	1	GGCGGCTTCCAGTGCCTTTCGGCTGCGGATAGCCGCGCCGGGCAATATCCCTTCGCGCTAATTGGTGTGGGCTGTGCTCCAGGAGCTTGTCTGTGGCTCTGCCATCTGCTGGTAGAGATGAAGCGGGGTGTCTTCGTTT														
virb5_13	5	GGCGGCTTCCAGTGCCTTTCGGCTGCGGATAGCCGCGCCGGGCAATATCCCTTCGCGCTAATTGGTGTGGGCTGTGCTCCAGGAGCTTGTCTGTGGCTCTGCCATCTGCTGGTAGAGATGAAGCGGGGTGTCTTCGTTT														
virb5 Br.a. S19	3	GGCGGCTTCCAGTGCCTTTCGGCTGCGGATAGCCGCGCCGGGCAATATCCCTTCGCGCTAATTGGTGTGGGCTGTGCTCCAGGAGCTTGTCTGTGGCTCTGCCATCTGCTGGTAGAGATGAAGCGGGGTGTCTTCGTTT														
virb5 Br.a.str9-941	3	GGCGGCTTCCAGTGCCTTTCGGCTGCGGATAGCCGCGCCGGGCAATATCCCTTCGCGCTAATTGGTGTGGGCTGTGCTCCAGGAGCTTGTCTGTGGCTCTGCCATCTGCTGGTAGAGATGAAGCGGGGTGTCTTCGTTT														
virb5 Br.a. A13334	7	GGCGGCTTCCAGTGCCTTTCGGCTGCGGATAGCCGCGCCGGGCAATATCCCTTCGCGCTAATTGGTGTGGGCTGTGCTCCAGGAGCTTGTCTGTGGCTCTGCCATCTGCTGGTAGAGATGAAGCGGGGTGTCTTCGTTT														
Consensus	15	GGCGGCTTCCAGTGCCTTTCGGCTGCGGATAGCCGCGCCGGGCAATATCCCTTCGCGCTAATTGGTGTGGGCTGTGCTCCAGGAGCTTGTCTGTGGCTCTGCCATCTGCTGGTAGAGATGAAGCGGGGTGTCTTCGTTT														

1 – *Brucella abortus* 0001/H; 2 – *Brucella abortus* 0002/H; 3 – *Brucella abortus* 0006/H; 4 – *Brucella abortus* 0007/H; 5 – *Brucella abortus* 0008/H; 6 – *Brucella abortus* 0009/H; 7 – *Brucella abortus* ЮКО 198 212; 8 – *Brucella abortus* ЮКО 2535; 9 – *Brucella abortus* ЮКО198767578; 10 – *Brucella abortus* Алаколь1; 11 – *Brucella abortus* Алаколь 2; 12 – *Brucella abortus* Атырау 88; 13 – *Brucella abortus* СКО; Br.a. 544 – *Brucella abortus* 544; Br.a. S19 – *Brucella abortus* S19; Br.a. str 9-941 – *Brucella abortus* 9-941; Br.a. A13334 – *Brucella abortus* A13334

Рисунок 4 – Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей гена *virb5* штаммов бактерии рода *B. abortus*

В результате проведения сравнительного анализа было выявлено, что последовательности казахстанских штаммов не отличаются между собой. Анализ нуклеотидных последовательностей гена *virb5* бактерии *B. abortus* с данными Genbank программой Vector NTI показал, что гомологичность последовательностей казахстанских штаммов достигает 100%.

Результаты сравнительного анализа по гену *virP* выявили, что нуклеотидные последовательности казахстанских штаммов идентичны между собой и со штаммами *B. abortus*, *str* A13334, *B. abortus* S19, *B. abortus*, *str* 9-941, *B. abortus* 544, взятых из Genbank. Исключением являются штаммы *B. abortus* Алаколь1 и Алаколь2, выделенные в Талдыкорганском регионе Алма-

тинской области. Данные штаммы имеют замену в нуклеотидной последовательности G на A и A на C в позициях 145 и 612, соответственно.

Выводы

Проведен сравнительный анализ нуклеотидных и аминокислотных последовательностей генов *virb1*, *virb3*, *virb5* и *virP* штаммов бактерии *B. abortus*, выделенных на территории Республики Казахстан с использованием компьютерных программ Vector NTI Suite 9 и BLAST. Результаты сравнительного анализа казахстанских штаммов со штаммами из Genbank *B. abortus*, *str* A13334, *B. abortus* 544 и *B. abortus* с ID номером AF226278.1 выявили, что ген *virb1*

имеет одну нуклеотидную замену С на Т в позиции 96, которая приводит к аминокислотной замене Ala на Thr. Анализ по гену *virP* показал, что наблюдаются замены в нуклеотидной последовательности G на А и А на С в позициях 145 и 612, соответственно. Полученные данные по

генам *virb3* и *virb5* определили их высокую консервативность.

Благодарность. Авторы работы выражают благодарность сотрудникам НИИПБ, а именно Еспембетову Б.А. и Зининой Н.Н. за доставку штаммов бактерий *Brucella abortus*.

		66	70	80	90	100	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200	
virP Br. a. str 9-941	30	TCAGGCGGGCGGCGATTCCGACATCAAGAGGGGATTGACGTATTGGTAGGCCAAATGGTGGCGATCCAGTGGCGTTGTTTCGCCGTCACCGGGCTCTGCTTGGTGGCGCTTTGTGCTCTTCGCAAGGCGACCGTGGCGATGCCCTT															
virP Br. a. S19	30	TCAGGCGGGCGGCGATTCCGACATCAAGAGGGGATTGACGTATTGGTAGGCCAAATGGTGGCGATCCAGTGGCGTTGTTTCGCCGTCACCGGGCTCTGCTTGGTGGCGCTTTGTGCTCTTCGCAAGGCGACCGTGGCGATGCCCTT															
virP Br. A.13334	66	TCAGGCGGGCGGCGATTCCGACATCAAGAGGGGATTGACGTATTGGTAGGCCAAATGGTGGCGATCCAGTGGCGTTGTTTCGCCGTCACCGGGCTCTGCTTGGTGGCGCTTTGTGCTCTTCGCAAGGCGACCGTGGCGATGCCCTT															
virP Br. a. 544	30	TCAGGCGGGCGGCGATTCCGACATCAAGAGGGGATTGACGTATTGGTAGGCCAAATGGTGGCGATCCAGTGGCGTTGTTTCGCCGTCACCGGGCTCTGCTTGGTGGCGCTTTGTGCTCTTCGCAAGGCGACCGTGGCGATGCCCTT															
virP_1	35	TCAGGCGGGCGGCGATTCCGACATCAAGAGGGGATTGACGTATTGGTAGGCCAAATGGTGGCGATCCAGTGGCGTTGTTTCGCCGTCACCGGGCTCTGCTTGGTGGCGCTTTGTGCTCTTCGCAAGGCGACCGTGGCGATGCCCTT															
virP_2	40	TCAGGCGGGCGGCGATTCCGACATCAAGAGGGGATTGACGTATTGGTAGGCCAAATGGTGGCGATCCAGTGGCGTTGTTTCGCCGTCACCGGGCTCTGCTTGGTGGCGCTTTGTGCTCTTCGCAAGGCGACCGTGGCGATGCCCTT															
virP_3	38	TCAGGCGGGCGGCGATTCCGACATCAAGAGGGGATTGACGTATTGGTAGGCCAAATGGTGGCGATCCAGTGGCGTTGTTTCGCCGTCACCGGGCTCTGCTTGGTGGCGCTTTGTGCTCTTCGCAAGGCGACCGTGGCGATGCCCTT															
virP_4	38	TCAGGCGGGCGGCGATTCCGACATCAAGAGGGGATTGACGTATTGGTAGGCCAAATGGTGGCGATCCAGTGGCGTTGTTTCGCCGTCACCGGGCTCTGCTTGGTGGCGCTTTGTGCTCTTCGCAAGGCGACCGTGGCGATGCCCTT															
virP_5	43	TCAGGCGGGCGGCGATTCCGACATCAAGAGGGGATTGACGTATTGGTAGGCCAAATGGTGGCGATCCAGTGGCGTTGTTTCGCCGTCACCGGGCTCTGCTTGGTGGCGCTTTGTGCTCTTCGCAAGGCGACCGTGGCGATGCCCTT															
virP_6	10	TCAGGCGGGCGGCGATTCCGACATCAAGAGGGGATTGACGTATTGGTAGGCCAAATGGTGGCGATCCAGTGGCGTTGTTTCGCCGTCACCGGGCTCTGCTTGGTGGCGCTTTGTGCTCTTCGCAAGGCGACCGTGGCGATGCCCTT															
virP_7	7	TCAGGCGGGCGGCGATTCCGACATCAAGAGGGGATTGACGTATTGGTAGGCCAAATGGTGGCGATCCAGTGGCGTTGTTTCGCCGTCACCGGGCTCTGCTTGGTGGCGCTTTGTGCTCTTCGCAAGGCGACCGTGGCGATGCCCTT															
virP_8	35	TCAGGCGGGCGGCGATTCCGACATCAAGAGGGGATTGACGTATTGGTAGGCCAAATGGTGGCGATCCAGTGGCGTTGTTTCGCCGTCACCGGGCTCTGCTTGGTGGCGCTTTGTGCTCTTCGCAAGGCGACCGTGGCGATGCCCTT															
virP_9	30	TCAGGCGGGCGGCGATTCCGACATCAAGAGGGGATTGACGTATTGGTAGGCCAAATGGTGGCGATCCAGTGGCGTTGTTTCGCCGTCACCGGGCTCTGCTTGGTGGCGCTTTGTGCTCTTCGCAAGGCGACCGTGGCGATGCCCTT															
virP_10	40	TCAGGCGGGCGGCGATTCCGACATCAAGAGGGGATTGACGTATTGGTAGGCCAAATGGTGGCGATCCAGTGGCGTTGTTTCGCCGTCACCGGGCTCTGCTTGGTGGCGCTTTGTGCTCTTCGCAAGGCGACCGTGGCGATGCCCTT															
virP_11	38	TCAGGCGGGCGGCGATTCCGACATCAAGAGGGGATTGACGTATTGGTAGGCCAAATGGTGGCGATCCAGTGGCGTTGTTTCGCCGTCACCGGGCTCTGCTTGGTGGCGCTTTGTGCTCTTCGCAAGGCGACCGTGGCGATGCCCTT															
virP_12	41	TCAGGCGGGCGGCGATTCCGACATCAAGAGGGGATTGACGTATTGGTAGGCCAAATGGTGGCGATCCAGTGGCGTTGTTTCGCCGTCACCGGGCTCTGCTTGGTGGCGCTTTGTGCTCTTCGCAAGGCGACCGTGGCGATGCCCTT															
virP_13	42	TCAGGCGGGCGGCGATTCCGACATCAAGAGGGGATTGACGTATTGGTAGGCCAAATGGTGGCGATCCAGTGGCGTTGTTTCGCCGTCACCGGGCTCTGCTTGGTGGCGCTTTGTGCTCTTCGCAAGGCGACCGTGGCGATGCCCTT															
Consensus	66	TCAGGCGGGCGGCGATTCCGACATCAAGAGGGGATTGACGTATTGGTAGGCCAAATGGTGGCGATCCAGTGGCGTTGTTTCGCCGTCACCGGGCTCTGCTTGGTGGCGCTTTGTGCTCTTCGCAAGGCGACCGTGGCGATGCCCTT															

		482	0	490	500	510	520	530	540	550	560	570	580	590	600	610	6
virP Br. a. str 9-941	446	0	CGCTTGACGCGCACCAGGTAGGGACATGTTGCTTTAGCGGTAACTCCCGGCGATGCGCATCCGAGCAGCAGGTAAATGGTGGCGAAAGCCCGGCGATTTCACGCGCGCGGCTTCGGAATTTTCGCAAAAGCCGGA														
virP Br. a. S19	446	0	CGCTTGACGCGCACCAGGTAGGGACATGTTGCTTTAGCGGTAACTCCCGGCGATGCGCATCCGAGCAGCAGGTAAATGGTGGCGAAAGCCCGGCGATTTCACGCGCGCGGCTTCGGAATTTTCGCAAAAGCCGGA														
virP Br. A.13334	482	0	CGCTTGACGCGCACCAGGTAGGGACATGTTGCTTTAGCGGTAACTCCCGGCGATGCGCATCCGAGCAGCAGGTAAATGGTGGCGAAAGCCCGGCGATTTCACGCGCGCGGCTTCGGAATTTTCGCAAAAGCCGGA														
virP Br. a. 544	461	0	CGCTTGACGCGCACCAGGTAGGGACATGTTGCTTTAGCGGTAACTCCCGGCGATGCGCATCCGAGCAGCAGGTAAATGGTGGCGAAAGCCCGGCGATTTCACGCGCGCGGCTTCGGAATTTTCGCAAAAGCCGGA														
virP_1	446	0	CGCTTGACGCGCACCAGGTAGGGACATGTTGCTTTAGCGGTAACTCCCGGCGATGCGCATCCGAGCAGCAGGTAAATGGTGGCGAAAGCCCGGCGATTTCACGCGCGCGGCTTCGGAATTTTCGCAAAAGCCGGA														
virP_2	456	0	CGCTTGACGCGCACCAGGTAGGGACATGTTGCTTTAGCGGTAACTCCCGGCGATGCGCATCCGAGCAGCAGGTAAATGGTGGCGAAAGCCCGGCGATTTCACGCGCGCGGCTTCGGAATTTTCGCAAAAGCCGGA														
virP_3	454	0	CGCTTGACGCGCACCAGGTAGGGACATGTTGCTTTAGCGGTAACTCCCGGCGATGCGCATCCGAGCAGCAGGTAAATGGTGGCGAAAGCCCGGCGATTTCACGCGCGCGGCTTCGGAATTTTCGCAAAAGCCGGA														
virP_4	454	0	CGCTTGACGCGCACCAGGTAGGGACATGTTGCTTTAGCGGTAACTCCCGGCGATGCGCATCCGAGCAGCAGGTAAATGGTGGCGAAAGCCCGGCGATTTCACGCGCGCGGCTTCGGAATTTTCGCAAAAGCCGGA														
virP_5	459	0	CGCTTGACGCGCACCAGGTAGGGACATGTTGCTTTAGCGGTAACTCCCGGCGATGCGCATCCGAGCAGCAGGTAAATGGTGGCGAAAGCCCGGCGATTTCACGCGCGCGGCTTCGGAATTTTCGCAAAAGCCGGA														
virP_6	426	0	CGCTTGACGCGCACCAGGTAGGGACATGTTGCTTTAGCGGTAACTCCCGGCGATGCGCATCCGAGCAGCAGGTAAATGGTGGCGAAAGCCCGGCGATTTCACGCGCGCGGCTTCGGAATTTTCGCAAAAGCCGGA														
virP_7	454	0	CGCTTGACGCGCACCAGGTAGGGACATGTTGCTTTAGCGGTAACTCCCGGCGATGCGCATCCGAGCAGCAGGTAAATGGTGGCGAAAGCCCGGCGATTTCACGCGCGCGGCTTCGGAATTTTCGCAAAAGCCGGA														
virP_8	451	0	CGCTTGACGCGCACCAGGTAGGGACATGTTGCTTTAGCGGTAACTCCCGGCGATGCGCATCCGAGCAGCAGGTAAATGGTGGCGAAAGCCCGGCGATTTCACGCGCGCGGCTTCGGAATTTTCGCAAAAGCCGGA														
virP_9	461	0	CGCTTGACGCGCACCAGGTAGGGACATGTTGCTTTAGCGGTAACTCCCGGCGATGCGCATCCGAGCAGCAGGTAAATGGTGGCGAAAGCCCGGCGATTTCACGCGCGCGGCTTCGGAATTTTCGCAAAAGCCGGA														
virP_10	456	0	CGCTTGACGCGCACCAGGTAGGGACATGTTGCTTTAGCGGTAACTCCCGGCGATGCGCATCCGAGCAGCAGGTAAATGGTGGCGAAAGCCCGGCGATTTCACGCGCGCGGCTTCGGAATTTTCGCAAAAGCCGGA														
virP_11	454	0	CGCTTGACGCGCACCAGGTAGGGACATGTTGCTTTAGCGGTAACTCCCGGCGATGCGCATCCGAGCAGCAGGTAAATGGTGGCGAAAGCCCGGCGATTTCACGCGCGCGGCTTCGGAATTTTCGCAAAAGCCGGA														
virP_12	457	0	CGCTTGACGCGCACCAGGTAGGGACATGTTGCTTTAGCGGTAACTCCCGGCGATGCGCATCCGAGCAGCAGGTAAATGGTGGCGAAAGCCCGGCGATTTCACGCGCGCGGCTTCGGAATTTTCGCAAAAGCCGGA														
virP_13	458	0	CGCTTGACGCGCACCAGGTAGGGACATGTTGCTTTAGCGGTAACTCCCGGCGATGCGCATCCGAGCAGCAGGTAAATGGTGGCGAAAGCCCGGCGATTTCACGCGCGCGGCTTCGGAATTTTCGCAAAAGCCGGA														
Consensus	482	0	CGCTTGACGCGCACCAGGTAGGGACATGTTGCTTTAGCGGTAACTCCCGGCGATGCGCATCCGAGCAGCAGGTAAATGGTGGCGAAAGCCCGGCGATTTCACGCGCGCGGCTTCGGAATTTTCGCAAAAGCCGGA														

Br. a. str 9-941 – *Brucella abortus* 9-941; Br. a. S19 – *Brucella abortus* S19; Br. a. A13334 – *Brucella abortus* A13334; Br. a. 544 – *Brucella abortus* 544; 1 – *Brucella abortus* 0001/H; 2 – *Brucella abortus* 0002/H; 3 – *Brucella abortus* 0006/H; 4 – *Brucella abortus* 0007/H; 5 – *Brucella abortus* 0008/H; 6 – *Brucella abortus* 0009/H; 7 – *Brucella abortus* YOKO 198 212; 8 – *Brucella abortus* YOKO 2535; 9 – *Brucella abortus* YOKO198767578; 10 – *Brucella abortus* Алаколь 1; 11 – *Brucella abortus* Алаколь 2; 12 – *Brucella abortus* Атырай 88; 13 – *Brucella abortus* СКО

Рисунок 5 – Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей гена *virP* штаммов бактерии рода *B. abortus*

Литература

- 1 Pappas G., Papadimitriou P., Akritidis N. et al. The new global map of human brucellosis // *Lancet Infect. Dis.* – 2006. – V. 6. – P. 91-99
- 2 Ellen L. Zechner, Silvia Lang, and Joel F. Schildbach. Assembly and mechanisms of bacterial type IV secretion machines // *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* – 2012. – V. 367(1592). – P. 1073-1087.
- 3 Karin Wallden, Angel Rivera-Calzada, and Gabriel Waksman. Type IV secretion systems: versatility and diversity in function // *Cell. Microbiol.* – 2010. – V. 12(9). – P. 1203-1212.
- 4 Berger, B. R. & Christie, P. J. Genetic complementation analysis of the *Agrobacterium tumefaciens* *virB* operon: *virB2* through *virB11* are essential virulence genes // *J. Bacteriol.* – 1994. – V. 176. – P. 3646-3660.
- 5 Baron, C., Llosa, M., Zhou, S. & Zambryski, P. C. C-terminal processing and cellular localization of VirB1, a component of the T-complex transfer machinery of *Agrobacterium tumefaciens* // *J. Bacteriol.* – 1997. – V. 179. – P. 1203-1210.
- 6 Shamaei-Tousi A1, Cahill R, Frankel G. Interaction between protein subunits of the type IV secretion system of *Bartonella henselae* // *J. Bacteriol.* – 2004. – V. 186(14). – P. 4796-801.
- 7 Schmidt-Eisenlohr H1, Domke N, Angerer C, Wanner G, Zambryski PC, Baron C. Vir proteins stabilize VirB5 and mediate its association with the T pilus of *Agrobacterium tumefaciens* // *J. Bacteriol.* – 1999. – V. 181(24). – P. 7485-92.