

**В.Б. Николаев, Е.Ю. Марков, Л.Я. Урбанович, А.С. Марамович, Е.П. Голубинский,  
Е.С. Куликалова, Ю.О. Попова, С.Н. Козлов**

**ПОЛИПЕПТИДНЫЙ ПРОФИЛЬ НАРУЖНЫХ МЕМБРАН ВИРУЛЕНТНЫХ  
И АВИРУЛЕНТНЫХ ШТАММОВ *VIBRIO CHOLERAЕ* O1 И O139 СЕРОГРУПП**

**ФГУЗ ИркутскНИПЧИ Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора (Иркутск)**

*В работе приведена характеристика белкового состава наружных мембран вирулентных и авирулентных штаммов холерного вибриона различных серогрупп. Изученные штаммы принадлежали к разным генотипам по наличию или отсутствию генов факторов вирулентности (ctxAB, tcpA, toxR). Электрофоретический анализ наряду с существенным сходством выявил некоторые особенности полипептидного состава БНМ исследованных штаммов *V. cholerae* eltor O1 и *V. cholerae* O139 с разными биологическими свойствами.*

**Ключевые слова:** *Vibrio cholerae*, белки наружной мембраны

**POLYPEPTIDE PROFILE OF OUTER MEMBRANES OF VIRULENT AND AVIRULENT  
STRAINS OF *VIBRIO CHOLERAЕ* O1 AND O139 SEROGROUPS**

**V.B. Nikolaev, E.Yu. Markov, L.Ya. Urbanovich, A.S. Maramovich, E.P. Golubinsky,  
E.S. Kulikalova, Yu.O. Popova, S.N. Kozlov**

**Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East, Irkutsk**

*Characteristics of peptide structure of the outer membranes of virulent and avirulent strains of *Vibrio cholerae* different serogroups is shown in the article. The investigated strains belonged to different genotypes on the basis of presence or absence of virulence factors genes (ctxAB, tcpA, toxR). Electrophoresis revealed some peculiarities of outer membranes peptides structure of *Vibrio cholerae* eltor O1 and *V. cholerae* O139 strains investigated with different biological features, equally with essential similarity.*

**Key words:** *Vibrio cholerae*, outer membranes peptides

Белки наружной мембраны (БНМ) играют важную роль в патогенезе и иммуногенезе холеры, в адаптации ее возбудителя к условиям окружающей среды [9, 10, 12, 14, 16, 19, 22]. Наряду с другими компонентами наружной мембраны, они определяют адгезию холерных вибрионов и колонизацию ими слизистых оболочек, рецепцию фагов бактериальной клеткой, поступление необходимых для жизнедеятельности микроорганизма веществ и устойчивость к антибиотикам, катионным пептидам, гидролитическим ферментам, солям желчных кислот и другим стрессовым воздействиям.

Это свидетельствует о громадной значимости БНМ в жизнедеятельности бактериальной клетки. Знание состава и функции белков, входящих в состав поверхностных структур бактериальной клетки необходимы для понимания иммунологических, вирулентных и патогенных свойств холерного вибриона. Успешная разработка новых специфических диагностических препаратов и вакцин, изучение механизма действия последних также невозможны без исследования профиля полипептидов НМ возбудителя холеры.

**Цель** настоящей работы — сравнительный анализ полипептидного состава БНМ вирулентных и авирулентных штаммов *Vibrio cholerae* O1 и O139 серогрупп, выделенных на географически удален-

ных территориях, и выявление возможной связи спектра БНМ микроорганизма с его эпидемической значимостью.

**МЕТОДИКА**

В работе было использовано 18 штаммов *V. cholerae* eltor (O1 серогруппа) и 6 штаммов *V. cholerae* O139 из музея живых культур Иркутского научно-исследовательского противочумного института, в том числе выделенные от больных холерой в гг. Барнаул, Иркутск, Южно-Сахалинск, Владивосток и Северной Бразилии<sup>1</sup>: *V. cholerae* eltor — 10 штаммов (И-563, И-1263, И-1298, И-1342, И-1291, И-1292, И-1293, И-1294, И-1295, И-1296) и *V. cholerae* O139 — 3 штамма из Индии, Японии и Франции (И-12, И-11, И-59 Din, соответственно); вибриононосителя из г. Южно-Сахалинск — *V. cholerae* eltor — 1 штамм (И-1299); из объектов окружающей среды во время вспышки холеры в гг. Южно-Сахалинск и Владивосток — *V. cholerae* O1 — 3 штамма (И-1310, И-1330 и И-1332); из поверхностных водоемов в благополучный по холере период — *V. cholerae* eltor — 4 штамма из гг. Иркутск, Владивосток и Находка (И-638, И-1327, И-1355, И-1361) и *V. cholerae* O139 — 3 штамма из поверхностных водоемов гг. Иркутск и Новосибирск (И-4, И-10, И-5).

<sup>1</sup> 6 амазонских штаммов любезно предоставлены д-ром С.А. Salles (Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil).

Изучение культурально-морфологических, биохимических, серологических свойств, чувствительности исследуемых штаммов к диагностическим бактериофагам проводилось в соответствии с МУ 4.2.1097-02 «Лабораторная диагностика холеры».

Для детекции основных детерминант вирулентности холерных вибрионов применяли молекулярно-генетический метод — мультиплексную ПЦР [2] на выявление генов токсинообразования (*ctxAB*), токсинорегулируемых пилей адгезии (*tcpA*) и гена, регулирующего их экспрессию (*toxR*).

Бактерии культивировали на казеин-дрожжевом агаре (рН 7,2). 18–24-часовую культуру каждого штамма вибриона, выращенного при разных температурных режимах (37, 13 и 6 °С), смывали ЗФР. Концентрация взвеси в каждом отдельном случае составляла от 50 до 100 млрд. м. к. на 1 мл.

Наружные мембраны получали лизисом живых клеток холерных вибрионов раствором мочевины с последующим дифференциальным центрифугированием полученного лизата и обработкой нуклеазами [3, 5]. БНМ экстрагировали кипячением суспензии наружных мембран в 0,0625 М Трис-НСl буфере рН 6,8, содержащем 2 % додецилсульфата натрия, 5 % β-меркаптоэтанола, 10 % глицерина и 0,01 % бромфенолового синего. От нерастворимой части материала клеточных стенок освобождались центрифугированием в течение 5 мин при 8000 об/мин. Электрофорез в присутствии 0,1 % ДСН проводили в вертикальных пластинах полиакриламидного геля толщиной — 0,75 мм и размером 105 × 100 мм, используя в качестве разделяющего 7,5–15 % градиентный полиакриламидный гель (ДСН-ПААГ) [15]. В качестве молекулярных маркеров использовали белки с известной молекулярной массой (Protein test mixture № 5 и № 4, «Serva», Германия). Электрофорез проводили при силе тока 20 мА и напряжении 100–250 В. Белки окрашивали Кумасси яркосиним R-250 («Serva», Германия) [11]. Молекулярную массу (мол. масса) полипептидов определяли по кривой зависимости расстояния, пройденного маркерными белками от десятичного логарифма их мол. массы.

Электрофоретический перенос белков на нитроцеллюлозную мембрану проводили из 10 % полиакриламидного геля при 25 В и 100–300 мА в Трис-глициновом буфере рН 8,3, содержащем 10 % метанола [13]. Иммунохимическое проявление реплик проводили с помощью конъюгатов антител с частицами коллоидного серебра [4]. Специфическую сыворотку получали гипериммунизацией кроликов препаратом наружных мембран *V. cholerae* M-875 серовариант Инаба и *V. cholerae* M-800 серовариант Огава. Выделение иммуноглобулиновой фракции из сыворотки осуществляли комбинированным методом с использованием каприловой кислоты и сульфата аммония [17].

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Все взятые в исследование штаммы, изолированные в период острых вспышек холеры от больных и из объектов окружающей среды, относятся к сероварианту Огава и содержат комплекс генетических детерминант вирулентности — *ctxAB*, *tcpA* и *toxR*. Штамм И-563, выделенный из секционного материала (Барнаул, 1973), характеризуется утратой *ctxAB*-генов при хранении в условиях музея с сохранением генов *tcpA* и *toxR*. Один из штаммов *V. cholerae* O1 сероварианта Огава (И-1299), выделенный от здорового вибриононосителя, прибывшего из Китая в г. Южно-Сахалинск (1999 г.), лишен всех трех из указанных генетических маркеров вирулентности. Шесть клинических изолятов *V. cholerae* O1 (И-1291 — И-1296), изолированных во время ограниченных вспышек холеры 1991–1992 гг. в северной Бразилии в районе бассейна р. Амазонка, относятся к сероварианту Гикошима и характеризуются отсутствием основных генов вирулентности — *ctxAB* и *tcpA* и наличием регуляторного гена *toxR*. Последний является, как известно, также регулятором синтеза БНМ [21]. Культуры *V. cholerae* O1 (И-1327, И-1355 и И-1361), изолированные из поверхностных водоемов в период эпидблагополучия, относятся к сероварианту Инаба. У них гены токсинообразования и токсинорегулируемых пилей не обнаружены, определяется только *toxR*-ген.

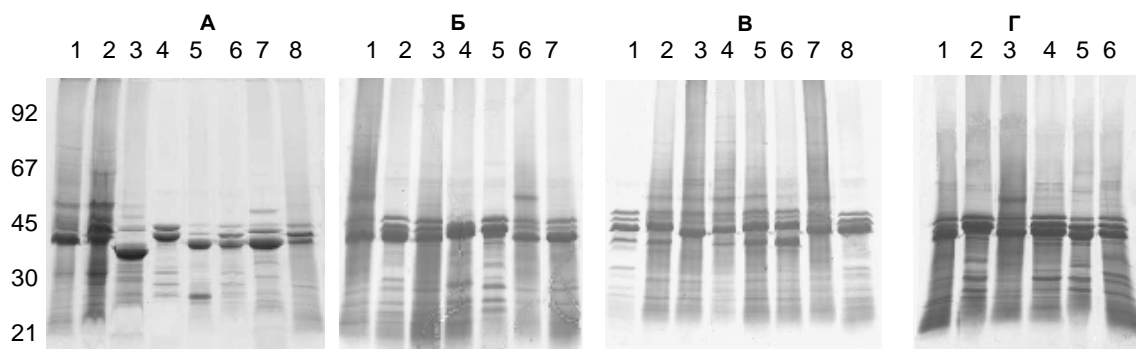
Холерные вибрионы O139 серогруппы от больных из Японии (И-11), Индии (И-12) и Франции (И-59 Din) содержат весь комплекс основных генов вирулентности — *ctxAB*, *tcpA* и *toxR*. У штаммов *V. cholerae* O139 из поверхностных водоемов г. Иркутска (И-4, И-10) и г. Новосибирска (И-5) обнаружен только *toxR*-ген.

Электрофоретический анализ наряду с существенным сходством выявил некоторые особенности полипептидного состава БНМ исследованных штаммов *V. cholerae* O1 и *V. cholerae* O139 с разными биологическими свойствами (рис. 1). Величины мол. масс полипептидов БНМ колебались в широких пределах от 7 до 100 kDa. Наиболее часто встречаемые группы полипептидов отмечались в диапазоне 13–18 kDa, 20–28 kDa, 30–34 kDa, 35–46 kDa, 47–59 kDa, 63–79 kDa и 80–106 kDa. В составе БНМ исследованных штаммов обнаружены полипептиды, которые, судя по их мол. массам, соответствуют описанным в научной литературе следующим БНМ: OmpV (23 kDa), OmpX (27 kDa), OmpA-подобному белку (35 kDa), OmpU (38 kDa), OmpT (40 kDa) и OmpS (45 kDa) [1, 6, 8, 18, 19]. Хотя уровень экспрессии мажорных БНМ с мол. массой 35–46 kDa варьирует, эти полипептиды обнаружены у всех исследованных штаммов *V. cholerae* O1 и O139 серогрупп, что придавало электрофореграммам характерный вид. Из всего состава мажорных БНМ наибольшим уровнем экспрессии отличались белки, мигрирующие в виде комплекса полипептидов с мол. массой 37–42 kDa. Некоторое разнообразие в полипептидных профилях отмечено у холерных вибрионов O139 серог-

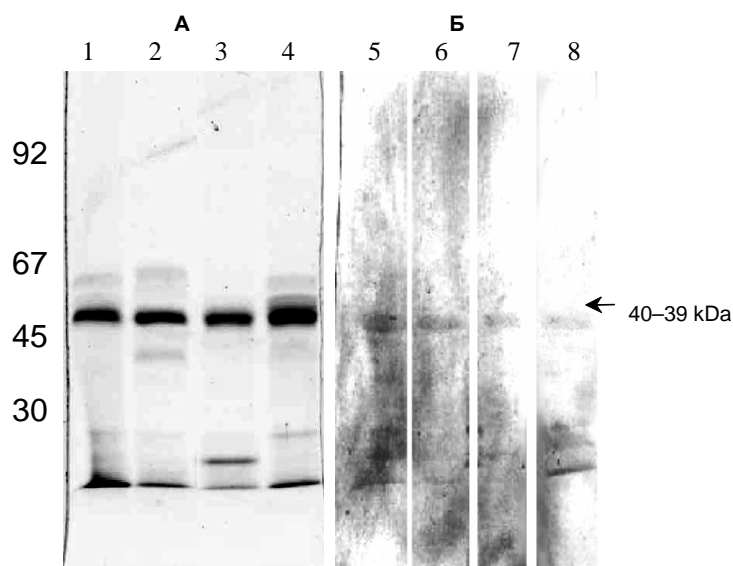
руппы (рис. 1.А3, 4) и *V. cholerae eltor* (рис. 1.Г2), что указывает на наличие более высокой гетерогенности мажорных БНМ холерных вибрионов О139 в сравнении с вибрионами О1. Профиль БНМ *V. cholerae* О139 (*tcpA*<sup>+</sup>) (рис. 1.А4, 5, 6) в диапазоне мол. масс 20 – 23 kDa качественно и количественно отличается от такового *V. cholerae* О139 (*tcpA*<sup>-</sup>) (рис. 1.А3, 7, 8) и *V. cholerae* О1 (*tcpA*<sup>-</sup>); при этом различия профилей БНМ *V. cholerae* О1 (*tcpA*<sup>+</sup>) и *V. cholerae* О1 (*tcpA*<sup>-</sup>) представляются незначительными. Индивидуальной особенностью белкового спектра клинических изолятов серова-

рианта Гикошима из Амазонии являются, наряду с наличием мажорных БНМ, повышенное удельное содержание полипептида с мол. массой 33,5 kDa (рис. 1.В1, 2, 4, 5, 6), за исключением одного штамма из этой группы (рис. 1.В3), обладающего повышенным синтезом полипептида с мол. массой 36,6 kDa.

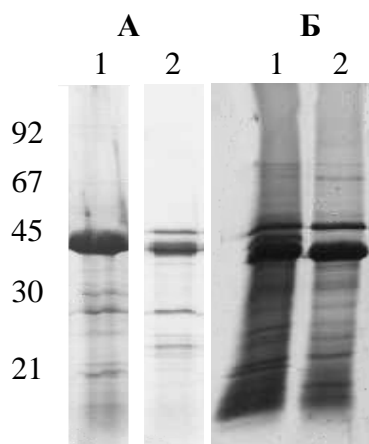
Изменение условия культивирования микробных клеток оказывает влияние на качественный и количественный состав БНМ. Так, снижение температуры культивирования *V. cholerae eltor* И-563 (Инаба, *ctxAB*<sup>-</sup>, *tcpA*<sup>+</sup>, *toxR*<sup>+</sup>) и *V. cholerae eltor* И-



**Рис. 1.** ДСН-ПААГ электрофорез препаратов наружных мембран *V. cholerae*, изолированных от больных и водных объектов. **А:** 1. *V. cholerae eltor* И-1263 Огава (*ctxAB*<sup>+</sup>, *tcpA*<sup>+</sup>, *toxR*<sup>+</sup>), 2. *V. cholerae eltor* И-638 Инаба (*ctxAB*<sup>-</sup>, *tcpA*<sup>-</sup>, *toxR*<sup>+</sup>), 3. *V. cholerae* О139 И-5 (*ctxAB*<sup>-</sup>, *tcpA*<sup>-</sup>, *toxR*<sup>+</sup>), 4. *V. cholerae* О139 p16067 (*ctxAB*<sup>+</sup>, *tcpA*<sup>+</sup>, *toxR*<sup>+</sup>), 5. *V. cholerae* О139 p16066 (*ctxAB*<sup>+</sup>, *tcpA*<sup>+</sup>, *toxR*<sup>+</sup>), 6. *V. cholerae* О139 59 Din (*ctxAB*<sup>+</sup>, *tcpA*<sup>+</sup>, *toxR*<sup>+</sup>), 7. *V. cholerae* О139 И-10 (*ctxAB*<sup>-</sup>, *tcpA*<sup>-</sup>, *toxR*<sup>+</sup>), 8. *V. cholerae* О139 И-4 (*ctxAB*<sup>-</sup>, *tcpA*<sup>-</sup>, *toxR*<sup>+</sup>). **Б:** 1. *V. cholerae eltor* И-1298 Огава (*ctxAB*<sup>+</sup>, *tcpA*<sup>+</sup>, *toxR*<sup>+</sup>), 2. *V. cholerae eltor* И-1299 Огава (*ctxAB*<sup>-</sup>, *tcpA*<sup>-</sup>, *toxR*<sup>-</sup>), 3. *V. cholerae eltor* И-1310 Огава (*ctxAB*<sup>+</sup>, *tcpA*<sup>+</sup>, *toxR*<sup>+</sup>), 4. *V. cholerae eltor* И-1327 Инаба (*ctxAB*<sup>-</sup>, *tcpA*<sup>-</sup>, *toxR*<sup>+</sup>), 5. *V. cholerae eltor* И-1330 Огава (*ctxAB*<sup>+</sup>, *tcpA*<sup>+</sup>, *toxR*<sup>+</sup>), 6. *V. cholerae eltor* И-1332 Огава (*ctxAB*<sup>+</sup>, *tcpA*<sup>+</sup>, *toxR*<sup>+</sup>), 7. *V. cholerae eltor* И-1342 Огава (*ctxAB*<sup>+</sup>, *tcpA*<sup>+</sup>, *toxR*<sup>+</sup>). **В:** 1. *V. cholerae eltor* 1293 Гикошима (*ctxAB*<sup>-</sup>, *tcpA*<sup>-</sup>, *toxR*<sup>+</sup>), 2. *V. cholerae eltor* 1291 Гикошима (*ctxAB*<sup>-</sup>, *tcpA*<sup>-</sup>, *toxR*<sup>+</sup>), 3. *V. cholerae eltor* 1292 Гикошима (*ctxAB*<sup>-</sup>, *tcpA*<sup>-</sup>, *toxR*<sup>+</sup>), 4. *V. cholerae eltor* 1294 Гикошима (*ctxAB*<sup>-</sup>, *tcpA*<sup>-</sup>, *toxR*<sup>+</sup>), 5. *V. cholerae eltor* 1295 Гикошима (*ctxAB*<sup>-</sup>, *tcpA*<sup>-</sup>, *toxR*<sup>+</sup>), 6. *V. cholerae eltor* 1296 Гикошима (*ctxAB*<sup>-</sup>, *tcpA*<sup>-</sup>, *toxR*<sup>+</sup>), 7. *V. cholerae eltor* И-1298 Огава (*ctxAB*<sup>+</sup>, *tcpA*<sup>+</sup>, *toxR*<sup>+</sup>), 8. *V. cholerae eltor* И-1299 Огава (*ctxAB*<sup>-</sup>, *tcpA*<sup>-</sup>, *toxR*<sup>-</sup>). **Г:** 1. *V. cholerae eltor* И-1342 Огава (*ctxAB*<sup>+</sup>, *tcpA*<sup>+</sup>, *toxR*<sup>+</sup>), 2. *V. cholerae eltor* И-1330 Огава (*ctxAB*<sup>+</sup>, *tcpA*<sup>+</sup>, *toxR*<sup>+</sup>), 3. *V. cholerae eltor* И-1332 Огава (*ctxAB*<sup>+</sup>, *tcpA*<sup>+</sup>, *toxR*<sup>+</sup>), 4. *V. cholerae eltor* И-1355 Инаба (*ctxAB*<sup>-</sup>, *tcpA*<sup>-</sup>, *toxR*<sup>+</sup>), 5. *V. cholerae* О139 59 Din (*ctxAB*<sup>+</sup>, *tcpA*<sup>+</sup>, *toxR*<sup>+</sup>), 6. *V. cholerae eltor* И-1361 Инаба (*ctxAB*<sup>-</sup>, *tcpA*<sup>-</sup>, *toxR*<sup>+</sup>). Слева указано положение маркерных белков.



**Рис. 2.** ДСН-ПААГ электрофорез препарата НМ, изолированных из клеток *V. cholerae*, культивированных при 37, 13, 6 °С. **А** – *V. cholerae eltor* И-563 (Инаба, *ctxAB*<sup>-</sup>, *tcpA*<sup>+</sup>, *toxR*<sup>+</sup>): 1 – 37 °С, 2 – 6 °С; **Б** – *V. cholerae eltor* И-1342 (Огава, *ctxAB*<sup>+</sup>, *tcpA*<sup>+</sup>, *toxR*<sup>+</sup>): 1 – 37 °С, 2 – 13 °С.



**Рис. 3.** ДСН-ПААГ электрофорез и иммуноблоттинг БНМ *V. cholerae*, изолированных от больных и из поверхностных водоемов. **А** – ДСН-ПААГ электрофорез: **1.** *V. cholerae* eltor И-1342 (Огава, *ctxAB*<sup>+</sup>, *tcpA*<sup>+</sup>, *toxR*<sup>+</sup>), **2.** *V. cholerae* eltor 1293 (Гикошима, *ctxAB*<sup>-</sup>, *tcpA*<sup>-</sup>, *toxR*<sup>+</sup>), **3.** *V. cholerae* O139 И-12 (p16066) (*ctxAB*<sup>+</sup>, *tcpA*<sup>+</sup>, *toxR*<sup>+</sup>), **4.** *V. cholerae* eltor И-1355 (Инаба, *ctxAB*<sup>-</sup>, *tcpA*<sup>-</sup>, *toxR*<sup>+</sup>). **Б** – иммуноблоттинг с антителами, мечеными частицами коллоидного серебра, из гипериммунной кроличьей сыворотки № 1850: **5.** *V. cholerae* eltor И-1342 (Огава, *ctxAB*<sup>+</sup>, *tcpA*<sup>+</sup>, *toxR*<sup>+</sup>), **6.** *V. cholerae* eltor 1293 (Гикошима, *ctxAB*<sup>-</sup>, *tcpA*<sup>-</sup>, *toxR*<sup>+</sup>), **7.** *V. cholerae* O139 И-12 (p16066) (Огава, *ctxAB*<sup>+</sup>, *tcpA*<sup>+</sup>, *toxR*<sup>+</sup>), **8.** *V. cholerae* eltor И-1355 (Инаба, *ctxAB*<sup>-</sup>, *tcpA*<sup>-</sup>, *toxR*<sup>+</sup>). Слева указано положение маркерных белков.

1342 (Огава, *ctxAB*<sup>+</sup>, *tcpA*<sup>+</sup>, *toxR*<sup>+</sup>) с 37 до 6–13 °С приводит к изменению профиля их БНМ за счет снижения уровня экспрессии полипептидов с мол. массой 15; 17,0; 22,2; 28,2; 38–42 kDa (рис. 3.А-2, Б-2, 3) и увеличения уровня синтеза других полипептидов с мол. массой 18,5; 20,2; 21,6 kDa (рис. 2.А2). Эти изменения, вероятно, являются проявлением адаптационных механизмов микробной клетки к окружающей температуре, что отмечается и другими исследователями [20].

Имуноглобулины (из сыворотки против наружных мембран вирулентных вибрионов) в иммуноблоттинге, независимо от генотипа и серогруппы исследуемого вибриона, в составе БНМ выявляют один из основных белков с мол. массой 39–40 kDa, что согласуется с литературными данными [7] и ряд низкомолекулярных полипептидов (рис. 3).

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Электрофоретический анализ наружных мембран *V. cholerae* O1 и O139 серогрупп показал наряду с индивидуальными особенностями существенное сходство их полипептидных спектров. В профиле БНМ выявлены доминирующие фракции, представляющие собой либо агрегаты полипептидов, либо индивидуальные белки, определяющие характерный профиль изученных штаммов. Обнаруживаемые в составе БНМ полипептиды с мол. массой 23, 27, 35, 38, 40, 45 kDa, скорее всего являются белками OmpV, OmpX, OmpA, OmpU, OmpT и OmpS, соответственно.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о наличии у всех штаммов *V. cholerae* O1 и O139 серогрупп идентичных или близких по мол. массам БНМ, в тоже время отмеченные особенности свидетельствуют о неоднородности профилей БНМ, в первую очередь характерной для штаммов *V. cholerae* O139. Сравнение данных генотипиче-

ского скрининга изученных штаммов и профилей БНМ в отношении присутствия TcpA (20 kDa) представляет сложности из-за множества минорных полипептидов в данной области мол. масс. Исключение составляют вирулентные штаммы *V. cholerae* O139 (*ctxAB*<sup>+</sup>, *tcpA*<sup>+</sup>), обладающие индивидуальным профилем полипептидов в этой области мол. масс, отличающимся от авирулентных, не содержащих пили адгезии *V. cholerae* O1 (*ctxAB*<sup>-</sup>, *tcpA*<sup>-</sup>), так и *V. cholerae* O139 (*ctxAB*<sup>-</sup>, *tcpA*<sup>-</sup>). Однако данный аспект требует дальнейшего изучения с использованием иммунохимических методов для специфической идентификации одного из основных факторов колонизации возбудителя холеры – токсин-корректируемых пилей адгезии.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Изучение распространенности регуляторных генов, контролирующих экспрессию генов вирулентности, среди штаммов *Vibrio cholerae* биоэпидемиологического эльтора с разным пандемическим потенциалом / Н.И. Смирнова, К.С. Нефедов, А.В. Осин, Л.Ф. Ливанова и др. // Молек. генетика. – 2007. – № 1. – С. 3–8.
2. Методические рекомендации по детекции детерминант вирулентности холерного вибриона с использованием мультиплексной ПЦР: Метод. рекомендации / С.В. Балахонов, Л.В. Миронова, В.И. Погорелов, Л.Я. Урбанович / Иркутский научно-исследовательский институт Сибири и Дальнего Востока. – Иркутск, 2002. – 7 с.
3. Наружные мембраны холерного вибриона как потенциальный компонент химической вакцины // Е.Ю. Марков, Л.Я. Урбанович, Е.П. Голубинский, А.Б. Чернов и др. // Журн. микробиол. – 1995. – № 2. – С. 86–89.
4. Полтавченко А.Г. Использование золей серебра как маркеров иммуноанализа на микротитровальных планшетах / А.Г. Полтавченко, В.С. Ка-

раваев, Ф.В. Тузиков // Журн. микробиол. — 1998. — № 2. — С. 108 — 111.

5. Получение высокоиммуногенного препарата наружных мембран *Vibrio cholerae eltor* / Е.Ю. Марков, Л.Я. Урбанович, Е.П. Голубинский, Э.С. Каретникова и др. // Журн. инфекционной патологии. — Иркутск, 1998. — Т. 5, № 4. — С. 42 — 48.

6. Протеомный анализ двух изогенных вариантов *Vibrio cholerae* классического биовара с альтернативной экспрессией генов вирулентности / С.П. Заднова, Н.Д. Исаев, К.Б. Кутейкин-Тепляков, О.В. Тихонова и др. // Журн. микробиол. — 2006. — № 3. — С. 11 — 16.

7. Сравнительный анализ белковых антигенов штаммов *Vibrio cholerae* O139 / О.С. Чемисова, Л.П. Алексеева, Б.Л. Мазрухо, О.А. Татаренко и др. // Холера и патогенные для человека вибрионы: Сб. материалов пробл. комиссии науч. совета по сан.-эпидемиол. охране территории Российской Федерации. — Ростов-на-Дону, 2005. — Вып. 18. — С. 101 — 102.

8. Штаммы *Vibrio cholerae* серогрупп O1 и O139 — продуценты основных протективных антигенов / Н.И. Смирнова, Л.Ф. Ливанова, Г.В. Чеховская, Г.А. Ерошенко и др. // Журн. микробиол. — 2000. — № 3. — С. 47 — 51.

9. Cell envelope proteins of environmental *Vibrio cholerae* non O1 isolates from Albufera Lake (Valencia, Spain) influence of some factors on OMP expression / C. Amaro, E. Herrero, A. Arnau, E. Garay // Zentralbl. Hyg. Umweltmed. — 1989. — Vol. 189, N 2. — P. 164 — 174.

10. Characterization of adhesive epitopes with the OmpS display system / H. Lang, M. Maki, A. Rantakari, T.K. Korhonen // Eur. J. Biochem. — 2000. — Vol. 267, N 1. — P. 163 — 170.

11. Electrophoretic analysis of the major polypeptides of the human erythrocyte membrane / G. Fiarbanks, T.L. Steck, D.F.H. Wallach // Biochem. — 1971. — Vol. 10, N 13. — P. 2606 — 2617.

12. Electrophoretic mobility and immune response of outer membrane proteins of *Vibrio cholerae* O139 / S. Pal, D. Sasmal, B. Guhathakurta, G.B. Nair et al. // FEMS Immunol. Med. Microbiol. — 1996. — Vol. 15, N 2 — 3. — P. 143 — 148.

13. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications / H. Towbin, T. Stachelin, J. Gordon // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1979. — Vol. 76, N 9. — P. 4350 — 4354.

14. Identification of murine B-cell and T-cell epitopes of *Escherichia coli* outer membrane protein F with synthetic polypeptides / K.M. Williams, E.C. Bigley 3<sup>rd</sup>, R.B. Raybourne // Infect. Immun. — 2000. — Vol. 68, N 5. — P. 2535 — 2545.

15. Laemmli U.K. Maturation of the head of bacteriophage T4. I. DNA packaging events / U.K. Laemmli, M. Favre // J. Mol. Biol. — 1973. — Vol. 80, N 4. — P. 575 — 599.

16. Major outer membrane proteins of *Vibrio cholerae* and their role in induction of protective immunity through inhibition of intestinal colonization / D.K. Sengupta, T.K. Sengupta, A.C. Ghose // Infect. Immun. — 1992. — Vol. 60, N 11. — P. 4848 — 4855.

17. McKinney M.M. A simple, non-chromatographic procedure to purify immunoglobulins from serum and ascites fluid / M.M. McKinney, A. Parkinson // J. Immunol. Meth. — 1987. — Vol. 96, N 2. — P. 271 — 278.

18. Nakasone N. Characterization of outer membrane protein OmpU of *Vibrio cholerae* O1 / N. Nakasone, M. Iwanaga // Infect. Immun. — 1998. — Vol. 66, N 10. — P. 4726 — 4728.

19. Porins of *Vibrio cholerae*: purification and characterization of OmpU / S.R. Chakrabarti, K. Chaudhuri, K. Sen, J. Das // J. Bacteriol. — 1996. — Vol. 178, N 2. — P. 524 — 530.

20. Structural features, properties and regulation of the outer-membrane protein W (Omp W) of *Vibrio cholerae* / B. Nandi, R.K. Nandy, A. Sakar, A.C. Ghose // Microbiol. — 2005. — Vol. 151, N 9. — P. 2975 — 2986.

21. ToxR regulon of *Vibrio cholerae* and its expression in vibrios shed by cholera patients / J. Bina, J. Zhu, M. Dziejman, S. Faruque et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2003. — Vol. 100, N 5. — P. 2801 — 2806.

22. *Vibrio fischeri* outer membrane protein OmpU plays a role in normal symbiotic colonization / F. Aeckersberg, C. Lupp, B. Feliciano, E.G. Ruby // J. Bacteriol. — 2001. — Vol. 183, N 22. — P. 6590 — 6597.