

МОЛЕКУЛЯРНЫЙ АНАЛИЗ *PMP*-ГЕНОВ ШТАММА ХЛАМИДИЙ ПП-87, КОДИРУЮЩИХ ПОЛИМОРФНЫЕ БЕЛКИ НАРУЖНОЙ МЕМБРАНЫ

¹Каримов М.З., ¹Бакиров И.Х., ²Вафин Р.Р., ¹Равилов Р.Х., ³Тюлькин С.В.,
⁴Тупикин А.Е., ¹Ахметов Т.М.

¹ФГБОУ ВПО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана», Казань;

²ФГБНУ «Татарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства» РАН, Казань, Россия, vafin-ramil@mail.ru;

³ФГБУ «Татарская межрегиональная ветеринарная лаборатория», Казань, Россия;

⁴ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, Новосибирск, Россия

Цель настоящей работы – сравнительный молекулярно-генетический анализ *pmp*-генов штамма хламидий ПП-87, на основе полученных массивов данных полногеномного секвенирования. Оценена идентичность/гетерогенность штамма *Chlamydia sp.* ПП-87 к штаммам *Chlamydia psittaci* GR9, *Chlamydia psittaci* 6BC и *Chlamydia abortus* S26/3 в процентном выражении выборок локусов *pmp*-генов. Проанализированные в данной работе *pmp*-гены, кодирующие полиморфные белки наружной мембраны штамма *Chlamydia sp.* ПП-87, имеют наряду с референсным штаммом GR9 по подавляющему большинству представленных генов близкородственное сходство к типовому штамму 6BC, нежели чем к штамму S26/3, за исключением *pmp18D*-гена последнего, являющегося одним из ключей к раскрытию молекулярных механизмов развития инфекционного процесса с обоснованием патогенеза хламидийной инфекции, ассоциированной с колонизацией плаценты хозяина внутриклеточным паразитом, и прояснению эволюции хламидий.

Ключевые слова: хламидии, *pmp*-гены, полиморфные белки наружной мембраны, секвенирование.

MOLECULAR ANALYSIS OF *PMP*-GENES OF CHLAMYDIAL STRAIN PP-87, ENCODING POLYMORPHIC OUTER MEMBRANE PROTEINS

¹Karimov M.Z., ¹Bakirov I.K., ²Vafin R.R., ¹Ravilov R.K., ³Tyulkin S.V.,
⁴Tupikin A.E., ¹Akhmetov T.M.

¹Kazan State Academy of Veterinary Medicine, Kazan, Russia;

²Tatar Research Institute of Agriculture of RAS, Kazan, Russia, vafin-ramil@mail.ru;

³Tatar Trans-Regional Veterinarian Laboratory, Kazan, Russia;

⁴SB RAS «Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine», Novosibirsk, Russia

The purpose of this work - a comparative molecular genetic analysis of *pmp*-gene of chlamydial strain PP-87 on the basis of the whole genome sequencing data sets. The identity/heterogeneity of *Chlamydia sp.* strain PP-87 to strains of *Chlamydia psittaci* GR9, *Chlamydia psittaci* 6BC and *Chlamydia abortus* S26/3 in percentage value of *pmp*-genes loci samples was evaluated. Analyzed in this work the *pmp*-genes, encoding polymorphic outer membrane proteins of the *Chlamydia sp.* strain PP-87 have along with the reference strain GR9 for the vast majority represented genes closely related similarity to the type strain 6BC, rather than to the strain S26/3, except *pmp18D*-gene of the last-named, which is one of the keys to the disclosure of molecular mechanisms of development of infection process with the justification of the pathogenesis of chlamydial infections associated with the placental colonization of the host by intracellular parasite, and to clarify the evolution of chlamydia.

Keywords: chlamydia, *pmp*-genes, polymorphic outer membrane proteins, sequencing.

Pmp-гены, кодирующие полиморфные белки наружной мембраны хламидий (Polymorphic Outer Membrane Proteins – POMP), включая функционально схожие белки-аналоги группы автотранспортеров, составляют до 14% всего генетического материала микроорганизма [1, 5].

Полиморфные белки наружной мембраны хламидий, в свою очередь, проявляющие высокую иммуногенную активность, применяются при создании субъединичной (пептидной)

противохламидийной вакцины [3, 8].

Полиморфизм *ptp*-генов ассоциирован с патогенетическими свойствами хламидий, их вирулентностью и тканевым тропизмом возбудителя [1, 4]. А методы полногеномного секвенирования способствуют раскрытию молекулярных механизмов его патогенеза [5, 7].

Цель настоящей работы – сравнительный молекулярно-генетический анализ *ptp*-генов штамма хламидий ПП-87, на основе полученных массивов данных полногеномного секвенирования.

Материалы и методы исследования

Экстракция геномной ДНК штамма хламидий ПП-87, выделенного от абортировавшей самки песка [2, 6], и адаптированного к размножению в желточных оболочках куриных эмбрионов, осуществлена набором «ДНК-сорб Б» («ЦНИИ эпидемиологии», Россия).

Создание фрагментной библиотеки выполнено с помощью набора NEBNext DNA Library (NEB, США), где на начальном этапе проводилась фрагментация геномной ДНК с помощью ультразвука на приборе Covaris S2 (Covaris, США). Далее полученные фрагменты обрабатывались T4 ДНК-полимеразой для получения «тупых» концов и T4 полинуклеотидкиназой для присоединения фосфата на 5'-конец. На следующем этапе в реакционную смесь был добавлен фрагмент Кленова для присоединения dA на 3'-конец, что позволило провести дальнейшее селективное присоединение к полученным фрагментам с помощью ДНК-лигазы двуцепочечного адаптера, несущего в своей последовательности участки для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) и секвенирования. На последнем этапе проводилась ПЦР для увеличения копийности фрагментов, а также для избавления от концевых некомплементарных участков.

Качество полученной фрагментной библиотеки оценивали с помощью набора High Sensitivity DNA Kit на приборе Bioanalyzer 2100 (Agilent, США). Количество ДНК было определено с помощью набора dsDNA High Sensitivity Kit на флюориметре Qubit 1.0 (Invitrogen, США). Секвенирование фрагментной библиотеки на геномном секвенаторе MiSeq (Illumina, США) проводилось по протоколу производителя с использованием набора MiSeq Reagent Kit, 600 Cycles (Illumina, США) в ЦКП «Геномика» СО РАН (Новосибирск).

Результаты исследований и их обсуждение

В результате секвенирования были получены парные чтения длиной 300+300 нт с общим объемом данных порядка 660 тыс. последовательностей, 80% которых имели качество QV>30, эквивалентное 1 ошибке на 1000 нуклеотидов.

Для последующего анализа последовательности были отфильтрованы по качеству (QV>20), оттриммированы и картированы на референсный геном *Chlamydia psittaci* GR9 (GenBank A/N: CP003791). При этом, количество ридов, соответствовавших этому геному

составило всего 1,6% с его покрытием в среднем $2 \pm 1,86$. Значительная же доля просеквенированного материала – ДНК *Gallus Gallus*, послужившая причиной низкого покрытия генома хламидий.

Данное обстоятельство не помешало провести анализ идентичности штамма *Chlamydia sp.* ПП-87 к штаммам *Chlamydia psittaci* GR9 (CP003791), *Chlamydia psittaci* 6BC (CP002549) и *Chlamydia abortus* S26/3 (CR848038) в процентном выражении выборок локусов *pmp*-генов, представленный в развернутой табличной форме (табл. 1).

Таблица 1

Анализ идентичности штамма *Chlamydia sp.* ПП-87 к штаммам *C. psittaci* GR9, *C. psittaci* 6BC и *C. abortus* S26/3 в процентном выражении выборок локусов *pmp*-генов

<i>Chlamydia sp.</i> ПП-87 vs <i>Chlamydia psittaci</i> 6BC	GR 6BC	<i>Chlamydia sp.</i> ПП-87 vs <i>Chlamydia psittaci</i> GR9	GR9 S26/3	<i>Chlamydia sp.</i> ПП-87 vs <i>Chlamydia abortus</i> S26/3
complement(217354..222747) /gene=" <i>pmp1B</i> " /locus_tag="CPSIT_0231" /product="polymorphic outer membrane protein B family" (219145-219769) 92% (222386-222832) 100%	97 %	complement(217331..222727) /locus_tag="B598_0234" /product="autotransporter beta-domain protein" (219034-219659) 100% (222275-222721) 100%	92 %	complement(217265..222631) /gene=" <i>pmp1B</i> " /locus_tag="CAB200" /product="polymorphic outer membrane protein" (218971-219591) 95% (222188-222625) 87%
complement(223038..225839) /gene=" <i>pmp2A</i> " /locus_tag="CPSIT_0232" /product="polymorphic outer membrane protein A family" (223082-223375) 99% (225356-225839) 100%	99 %	complement(222927..225728) /locus_tag="B598_0235" /product="autotransporter beta-domain protein" (222971-223264) 100% (225245-225728) 100%	92 %	complement(222833..225634) /gene=" <i>pmp2A</i> " /locus_tag="CAB201" /product="polymorphic outer membrane protein" (222877-223170) 95% (225153-225634) 93%
complement(293986..296988) /gene=" <i>pmp3E</i> " /locus_tag="CPSIT_0297" /product="polymorphic outer membrane protein E family" (293986-294231) 95% (296305-296867) 91%	90 %	complement(293489..296485) /locus_tag="B598_0301" /product="autotransporter beta domain protein" (293489-293734) 99% (295801-296366) 100%	86 %	complement(293548..296514) /gene=" <i>pmp3E</i> " /locus_tag="CAB265" /product="polymorphic outer membrane lipoprotein" (293548-293793) 86% (295829-296395) 72%
complement(297010..299895) /gene=" <i>pmp4E</i> " /locus_tag="CPSIT_0298" /product="polymorphic outer membrane protein E family" (297010-297564) 89% (299258-299895) 100%	96 %	complement(296507..299392) /locus_tag="B598_0302" /product="autotransporter beta-domain protein" (296507-297061) 100% (298755-299392) 100%	82 %	complement(296536..299397) /gene=" <i>pmp4E</i> " /locus_tag="CAB266" /product="polymorphic outer membrane protein" (296536-297090) 88% (298751-299397) 83%
complement(300162..301226) /gene=" <i>pmp5E</i> " /locus_tag="CPSIT_0300" /product="polymorphic outer membrane autotransporter beta-domain protein" (300162-301226) 99%	99 %	complement(299660..300724) /locus_tag="B598_0303" /product="autotransporter beta-domain protein" (299660-300724) 99%	81 %	complement(299664..300743) /gene=" <i>pmp5E</i> " /locus_tag="CAB267" /product="polymorphic outer membrane protein" (299664-300743) 81%
complement(301687..304641) /gene=" <i>pmp6H</i> " /locus_tag="CPSIT_0301" /product="polymorphic outer membrane protein H family" (301687-303038) 97% (304190-304641) 98%	96 %	complement(301185..304139) /locus_tag="B598_0305" /product="autotransporter beta-domain protein" (301185-302539) 100% (303688-304139) 99%	88 %	complement(301197..304139) /gene=" <i>pmp6H</i> " /locus_tag="CAB268" /product="polymorphic outer membrane protein" (301197-302548) 88% (303691-304139) 93%

complement(304667..307798) /gene=" pmp7G " /locus_tag="CPSIT_0302" /product=" polymorphic outer membrane protein G family " (304667-305146) 99% (306510-307228) 93%	96 %	complement(304165..307284) /locus_tag="B598_0306" /product=" outer membrane autotransporter barrel domain protein " (304165-304644) 100% (306005-306714) 100%	88 %	complement(304165..307239) /gene=" pmp7G " /locus_tag="CAB269" /product=" polymorphic outer membrane protein " (304165-304644) 94% (305993-306669) 87%
complement(308031..310586) /gene=" pmp8G " /locus_tag="CPSIT_0304" /product=" polymorphic outer membrane protein G family " (308059-308652) 99% (310248-310586) 99%	99 %	complement(307518..310073) /locus_tag="B598_0307" /product=" autotransporter beta-domain protein " (307546-308139) 99% (309735-310073) 100%	88 %	complement(307520..310121) /gene=" pmp8G " /locus_tag="CAB270" /product=" polymorphic outer membrane protein (pseudogene) " (307548-308141) 90% (309735-310070) 91%
complement(310842..313676) /gene=" pmp9G " /locus_tag="CPSIT_0305" /product=" polymorphic outer membrane protein G family " (310922-311474) 99% (312659-313254) 94%	96 %	complement(310328..313162) /locus_tag="B598_0308" /product=" autotransporter beta-domain protein " (310408-310960) 100% (312145-312740) 100%	86 %	complement(310327..313154) /gene=" pmp9G " /locus_tag="CAB273" /product=" polymorphic outer membrane protein (pseudogene) " (310407-310959) 89% (312137-312732) 86%
complement(313808..316330) /gene=" pmp10G " /locus_tag="CPSIT_0306" /product=" polymorphic outer membrane protein G family " (313808-314672) 99% (314724-315874) 99%	99 %	complement(313293..315815) /locus_tag="B598_0309" /product=" autotransporter beta-domain protein " (313293-314157) 100% (314209-315359) 100%	92 %	complement(313284..315806) /gene=" pmp10G " /locus_tag="CAB277" /product=" polymorphic outer membrane protein " (313284-314148) 93% (314200-315350) 92%
complement(316486..319020) /gene=" pmp11G " /locus_tag="CPSIT_0307" /product=" polymerase outer membrane protein G family " (316684-317838) 99% (318465-319035) 99%	99 %	complement(315971..318520) /locus_tag="B598_0310" /product=" outer membrane autotransporter barrel domain protein " (316169-317323) 100% (317950-318520) 99%	91 %	complement(315962..318511) /gene=" pmp11G " /locus_tag="CAB278" /product=" polymorphic outer membrane protein " (316160-317314) 91% (317941-318511) 93%
complement(319411..321975) /gene=" pmp12G " /locus_tag="CPSIT_0309" /product=" polymorphic outer membrane protein G family " (320158-320380) 95% (320910-321881) 77%	81 %	complement(319496..321508) /locus_tag="B598_0313" /product=" chlamydia polymorphic membrane middle domain protein " (319706-319928) 96% (320444-321414) 100%\	79 %	complement(318850..321371) /gene=" pmp12G " /locus_tag="CAB279" /product=" polymorphic outer membrane protein (pseudogene) " (319597-319819) 88% (320340-321277) 71%
complement(324766..327309) /gene=" pmp14G " /locus_tag="CPSIT_0311" /product=" polymorphic outer membrane protein G family " (325513-325735) 98% (326251-327215) 93%	93 %	(319706-319928) 96% (320444-321414) 100%		(319597-319819) 88% (320340-321277) 71%
complement(322106..324637) /gene=" pmp13G " /locus_tag="CPSIT_0310" /product=" polymorphic outer membrane protein G family "	79 %	complement(321639..322565) /locus_tag="B598_0314" /product=" autotransporter beta-domain protein " complement(322936..324195)	82 %	complement(321502..324045) /gene=" pmp13G " /locus_tag="CAB281" /product=" polymorphic outer membrane protein "

(322122-322933) 84% (323411-324637) 77%		/locus_tag="B598_0315" /product="chlamydia polymorphic membrane family protein" (321655-322466) 98% (322951-324195) 97%		(321518-322326) 83% (322815-324045) 80%
complement(327440..330007) /gene="pmp15G" /locus_tag="CPSIT_0312" /product="polymorphic outer membrane protein G family" (327456-328267) 97% (328754-330007) 91%	95 %	(321655-322466) 98% (322951-324195) 97%		(321518-322326) 83% (322815-324045) 80%
complement(324766..327309) /gene="pmp14G" /locus_tag="CPSIT_0311" /product="polymorphic outer membrane protein G family" (325669-326162) 24% (326221-326878) 50%	46 %	complement(324319..327099) /locus_tag="B598_0317" /product="outer membrane autotransporter barrel domain protein" (325207-325700) 100% (325762-326422) 99%	93 %	complement(324168..326948) /gene="pmp14G" /locus_tag="CAB282" /product="polymorphic outer membrane protein" (325056-325549) 93% (325611-326271) 91%
complement(330131..332827) /gene="pmp16G" /locus_tag="CPSIT_0313" /product="polymorphic outer membrane protein G family" (331019-331512) 99% (331574-332234) 99%	99 %	(325207-325700) 100% (325762-326422) 99%		(325056-325549) 93% (325611-326271) 91%
complement(327440..330007) /gene="pmp15G" /locus_tag="CPSIT_0312" /product="polymorphic outer membrane protein G family" (327748-329521) 6%	23 %	complement(327243..331313) /locus_tag="B598_0318" /product="outer membrane autotransporter barrel domain protein" (329154-330840) 100%	88 %	complement(327092..331228) /gene="pmp15G" /locus_tag="CAB283" /product="polymorphic outer membrane protein" (329012-330665) 84%
complement(333055..335394) /gene="pmp17G" /locus_tag="CPSIT_0314" /product="polymorphic outer membrane protein G family" (334963-336639) 89% complement(335706..337112) /gene="pmp18G" /locus_tag="CPSIT_0316" /product="polymorphic outer membrane protein G family"	93 %	(329154-330840) 100%		(329012-330665) 84%
complement(330131..332827) /gene="pmp16G" /locus_tag="CPSIT_0313" /product="polymorphic outer membrane protein G family" (331233-332229) 1%	0 %	691252..693760 /locus_tag="B598_0667" /product="chlamydia polymorphic membrane family protein" (691297-692233) 96%	81 %	683361..685902 /gene="pmp16G" /locus_tag="CAB596" /product="polymorphic outer membrane protein (pseudogene)" (683406-684366) 81%
707548..710061 /gene="pmp19G" /locus_tag="CPSIT_0666" /product="polymorphic outer membrane protein G family" (707593-708529) 96%	99 %	(691297-692233) 96%		(683406-684366) 81%

complement(333055..335394) /gene=" pmp17G " /locus_tag="CPSIT_0314" /product=" polymorphic outer membrane protein G family " (334613-335042) 0%	1 %	693891..695195 /locus_tag="B598_0669" /product=" chlamydia polymorphic membrane family protein " (694155-694553) 90%	79 %	686033..688552 /gene=" pmp17G " /locus_tag="CAB598" /product=" polymorphic outer membrane protein " (686282-686680) 84%
710192..712741 /gene=" pmp20G " /locus_tag="CPSIT_0667" /product=" polymorphic outer membrane protein G family " (710456-710854) 90%	100 %	(694155-694553) 90%		(686282-686680) 84%
712872..715415 /gene=" pmp21G " /locus_tag="CPSIT_0668" /product=" polymorphic outer membrane protein G family " (714699-715302) 99%	100 %	695847..696563 /locus_tag="B598_0671" /product=" autotransporter beta-domain protein " (695847-696450) 99%	91 %	(687836-688439) 90%
complement(926701..931305) /gene=" pmp22D " /locus_tag="CPSIT_0856" /product=" polymorphic outer membrane protein D family " (926975-927345) 91% (930464-931055) 89%	90 %	complement(902244..906845) /locus_tag="B598_0860" /product=" outer membrane autotransporter barrel domain protein " (902518-902888) 100% (906001-906592) 100%	98 %	complement(899562..904163) /gene=" pmp18D " /locus_tag="CAB776" /product=" polymorphic outer membrane protein " (899836-900206) 96% (903319-903910) 97%

Данные, представленные в таблице 1, послужили основой для построения обобщенной таблицы анализа гетерогенности штамма ПП-87 к штаммам GR9, 6BC и S26/3 (табл. 2).

Таблица 2
Анализ гетерогенности штамма *Chlamydia sp.* ПП-87 к штаммам *C. psittaci* GR9, 6BC и *C. abortus* S26/3 в процентном выражении выборов локусов *pmp*-генов

Штамм	Гетерогенность выборов локусов генов <i>pmp1B-pmp9G</i>								
S26/3	5-13% <i>pmp1B</i>	5-8% <i>pmp2A</i>	14-28% <i>pmp3E</i>	12-17% <i>pmp4E</i>	19% <i>pmp5E</i>	3-12% <i>pmp6H</i>	6-13% <i>pmp7G</i>	9-10% <i>pmp8G</i>	11-14% <i>pmp9G</i>
GR9	0%	0%	0-1%	0%	1%	0-1%	0%	0-1%	0%
6BC	0-8% <i>pmp1B</i>	0-1% <i>pmp2A</i>	5-9% <i>pmp3E</i>	0-11% <i>pmp4E</i>	1% <i>pmp5E</i>	2-3% <i>pmp6H</i>	1-7% <i>pmp7G</i>	1% <i>pmp8G</i>	1-6% <i>pmp9G</i>
Штамм	Гетерогенность выборов локусов генов <i>pmp10G-pmp22D</i>								
S26/3	7-8% <i>pmp10G</i>	7-9% <i>pmp11G</i>	12-29% <i>pmp12G</i>	17-20% <i>pmp13G</i>	7-9% <i>pmp14G</i>	16% <i>pmp15G</i>	19% <i>pmp16G</i>	10-16% <i>pmp17G</i>	3-4 <i>pmp18D</i>
GR9	0%	0-1%	0-4%	2-3%	0-1%	0%	4%	1-10%	0%
6BC	1% <i>pmp10G</i>	1% <i>pmp11G</i>	8-23% <i>pmp12G</i> (2-7%) (<i>pmp14G</i>)	16-23% <i>pmp13G</i> (2-3%) (<i>pmp15G</i>)	50-76% <i>pmp14G</i> (1%) (<i>pmp16G</i>)	94% <i>pmp15G</i> (11%) (<i>pmp17G</i>) (<i>pmp18G</i>)	99% <i>pmp16G</i> (4%) (<i>pmp19G</i>)	100% <i>pmp17G</i> [1-10%] (<i>pmp20G</i>) [<i>pmp21G</i>]	(9-11%) <i>pmp22D</i>)

Вышеприведенный анализ гетерогенности/идентичности по выборкам локусов *pmp*-генов (табл. 2/1) наглядно продемонстрировал близкородственное сходство штамма ПП-87 к референсному штамму *Chlamydia psittaci* GR9, но с существенными нуклеотидными различиями, достигающими 10% гетерогенности по отношению к соответствующему локусу B598_0669 штамма GR9 (выборка: 694155-694553 nt).

Полученный результат выравнивания соответствующих нуклеотидных последовательностей, отраженный на рисунке 1, проведенный с целью прояснения причины вышеотмеченной существенной гетерогенности, указывает на возможное эволюционное формирование анализируемого локуса *ptp*-гена штамма ПП-87 под влиянием межштаммовой/межгенной *ptp* рекомбинации.

```

Query      1      CTTTCCTTCTTAGGAAACGGCTATACTC-TT-TGTTTTGATAATATTACTAC-ACAAGCA
CP003791  694155  .....-.....-.....-.....-.....-.....-.....-.....-.....-.....
CP003796  324357  .....T...A.....T...-...A.A.G.....-TG...AT
CR848038  686282  ...A.....C.....G.....-...C.....T...-...T

Query      58      AGTAACCCGGGAGCCATTAATGTTAGTGGTAGCAA--TAAAACCTTAGACATCTCAGGAT
CP003791  694212  .....-.....-.....-.....-.....-.....-.....-.....-.....-.....
CP003796  324300  .....A..C..T.....G.--G.....G..A.....
CR848038  686339  .....C.....CAA...--...GGA.....G.....

Query      116     TTTCATTATTTTCATGTGCCTATTGCCCTCCAGGCACAACCGGTTACGGAGCCAT-CAAA
CP003791  694270  .....-.....-.....-.....-.....-.....-.....-.....-.....-.....
CP003796  324242  ....C..G.....C.C..T..C..G..T.....G..A....
CR848038  686396  ....T.....T.....T.....T.....T.....T...--.C.

Query      175     G-CTGGAGGGGAATACT-ACITTTAAAAGATAACTCTAGTCTTGTCTTCCATAAGAACTGTT
CP003791  694329  .-.....-.....A.T.....A.....C.
CP003796  324182  --.-CA.A..C..CA.A.....
CR848038  686455  .A..AA..C..C..A-.....A.....C.

Query      233     CAACAACAGAAGGTGGAGCCATCAAATGTCAATCAGACGGCTCTAATGGTAGAGTGAAT
CP003791  694387  .G.....C.....T..TC.G...A..GG.AC.A.-.G-...-C.GA.T.A...A
CP003796  324125  .....-.....-.....-.....-.....-.....-.....-.....-.....-.....
CR848038  686514  ....G.....G..T..C.G...A..GG.-.-.-AG.G...C.GA.T.A...A

Query      293     TAGTCAATAATCAGAATCTGGTTTTCTCAGAGAACTCCTCCGCTGTAAAAGGTGGCGCTA
CP003791  694444  ..AA.....T..A..T.....T..TC..GC..C.....
CP003796  324065  .....-.....-.....-.....-.....-.....-.....-.....-.....-.....
CR848038  686571  ..AA.....A.....A..TC.....C..G....

Query      353     TTTATGCTGATAAACTTACCATTGTCTCAGGTGGACCTACGTTATTTTCT 402
CP003791  694504  .....C..T..... 694553
CP003796  324005  ..... 323956
CR848038  686631  .....C.....G.....A..... 686680

```

Рис. 1. Выравнивание нуклеотидных последовательностей локуса *ptp17G/ptp20G*-гена штаммов *Chlamydia* sp. ПП-87 (Query), *Chlamydia psittaci* GR9 (CP003791), *Chlamydia abortus* S26/3 (CR848038) и локуса *ptp13G*-гена *Chlamydia psittaci* WC (CP003796).

Примечания: Серым цветом выделены последовательности штаммов GR9 и WC, гомологичные соответствующим последовательностям штамма ПП-87.

Дополнительный анализ гетерогенности референсного штамма GR9 к штаммам 6BC и S26/3 в процентном выражении *ptp*-генов показал меньшую гетерогенность (или большую идентичность) GR9 к 6BC по подавляющему большинству анализируемых генов, за исключением *ptp18D*-гена штамма S26/3, к которому штамм GR9 по соответствующему локусу B598_0860 проявляет наиболее близкородственное сходство, нежели чем к аналогичному *ptp22D*-гену 6BC (табл. 3).

Таблица 3

**Анализ гетерогенности штамма *C. psittaci* GR9 к штаммам *C. psittaci* 6BC
и *C. abortus* S26/3 в процентном выражении *ptp*-генов**

Штамм	Гетерогенность выборок локусов генов <i>ptp1B-ptp9G</i>								
S26/3	8% <i>ptp1B</i>	8% <i>ptp2A</i>	14% <i>ptp3E</i>	18% <i>ptp4E</i>	9% <i>ptp5E</i>	12% <i>ptp6H</i>	12% <i>ptp7G</i>	12% <i>ptp8G</i>	14% <i>ptp9G</i>
6BC	3% <i>ptp1B</i>	1% <i>ptp2A</i>	10% <i>ptp3E</i>	4% <i>ptp4E</i>	1% <i>ptp5E</i>	4% <i>ptp6H</i>	4% <i>ptp7G</i>	1% <i>ptp8G</i>	4% <i>ptp9G</i>
Штамм	Гетерогенность выборок локусов генов <i>ptp10G-ptp22D</i>								
S26/3	8% <i>ptp10G</i>	9% <i>ptp11G</i>	21% <i>ptp12G</i>	18% <i>ptp13G</i>	7% <i>ptp14G</i>	12% <i>ptp15G</i>	19% <i>ptp16G</i>	9-21% <i>ptp17G</i>	2% <i>ptp18D</i>
6BC	1% <i>ptp10G</i>	1% <i>ptp11G</i>	19% <i>ptp12G</i> (7%) (<i>ptp14G</i>)	21% <i>ptp13G</i> (5%) (<i>ptp15G</i>)	54% <i>ptp14G</i> (1%) (<i>ptp16G</i>)	77% <i>ptp15G</i> (7%) (<i>ptp17G</i>) (<i>ptp18G</i>)	100% <i>ptp16G</i> (1%) (<i>ptp19G</i>)	99% <i>ptp17G</i> (0%) (<i>ptp20G</i>) [<i>ptp21G</i>]	(10%) (<i>ptp22D</i>)

Следует отметить, что по анализируемым выборкам (902518-902888 nt, 906001-906592 nt) локуса B598_0860 штамм GR9 имеет 100% идентичность с ПП-87, который, в свою очередь, аналогично референсному штамму, тоже проявляет близкородственное сходство к S26/3 (*ptp18D*-ген, локус CAB776, выборки: 899836-900206 nt, 903319-903910 nt), нежели чем к 6BC (*ptp22D*-ген, локус CPSIT_0856, выборки 926975-9273 nt, 45930464-931055 nt) (табл. 1).

Заключение

Таким образом, установлено, что проанализированные в данной работе *ptp*-гены, кодирующие полиморфные белки наружной мембраны штамма *Chlamydia sp.* ПП-87, имеют наряду с референсным штаммом *Chlamydia psittaci* GR9 по подавляющему большинству представленных генов близкородственное сходство к типовому штамму *Chlamydia psittaci* 6BC, нежели чем к штамму *Chlamydia abortus* S26/3, за исключением *ptp18D*-гена последнего, являющегося одним из ключей к раскрытию молекулярных механизмов развития инфекционного процесса с обоснованием патогенеза хламидийной инфекции, ассоциированной с колонизацией плаценты хозяина внутриклеточным паразитом, и прояснению эволюции хламидий.

Список литературы

1. Плахова, К.И. Генетические варианты *C. trachomatis* и поиск факторов вирулентности / К.И. Плахова, О.С. Кожушная, М.Р. Рахматулина, Н.В. Фриго // Вестник дерматологии и венерологии. – 2012. – № 3. – С. 48-54.
2. Равилов, Р.Х. Штамм хламидий *Chlamydia psittaci*, используемый для изготовления биопрепаратов для диагностики и профилактики хламидиоза песцов: авторское

свидетельство № 1667869 / Р.Х. Равилов, Р.А. Шафикова, А.З. Равилов, А.Ю. Беклешова // опубл. 07.08.1991.

3. Рубаник, Л.В. Механизмы противохламидийного иммунитета и конструирование противохламидийной вакцины / Л.В. Рубаник // Медицинские новости. – 2006. – № 11. – С. 29-35.

4. Knittler, MR. Chlamydia psittaci: new insights into genomic diversity, clinical pathology, host-pathogen interaction and anti-bacterial immunity / M.R. Knittler, A. Berndt, S. Böcker, P. Dutow, F. Hänel, D. Heuer et al. // Int. J. Med. Microbiol. – 2014. – V. 304. – N. 7. – P. 877-893.

5. Thomson, N.R. The Chlamydomonas abortus genome sequence reveals an array of variable proteins that contribute to interspecies variation / N.R. Thomson, C. Yeats, K. Bell, M.T. Holden, S.D. Bentley, M. Livingstone et al. // Genome Res. – 2005. – V. 15. – N. 5. – P. 629-640.

6. Vafin, R.R. On the nomenclature and classification of chlamydiae / Vafin, R.Kh. Ravilov, Kh.Z. Gaffarov, A.Z. Ravilov, G.M. Iskhakov, I.Kh. Bakirov, V.N. Kashov // Molecular Genetics, Microbiology and Virology. – 2007. – V. 22. – N. 4. – P. 155-164.

7. Voigt, A. The Chlamydia psittaci genome: a comparative of intracellular pathogens / A. Voigt, G. Schöfl, H.P. Saluz // PLoS ONE. – 2012. – V.7. – N.4. – e35097. Available at: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0035097>.

8. Wheelhouse, N.M. Processing of Chlamydia abortus polymorphic membrane protein 18D during the chlamydial development cycle / N.M. Wheelhouse, M. Sait, K. Aitchison, M. Livingstone, F. Wright, K. McLean et al. // PLoS ONE. – 2012. – V.7. – N.11. – e49190. Available at: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0049190>.

Рецензенты:

Госманов Р.Г., д.вет.н., профессор кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Казанской государственной академии ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана, г. Казань.

Якупов Т.Р., д.вет.н., доцент кафедры биологической и неорганической химии Казанской государственной академии ветеринарной медицины имени Н. Э. Баумана, г. Казань.