

УДК 619:579.882: 57.052

МОЛЕКУЛЯРНЫЙ АНАЛИЗ АССАМБЛЕИ ГЕНОВ ШТАММА ХЛАМИДИЙ ПП-87, БЛИЗЛЕЖАЩИХ К PROS-ГЕНУ, КОДИРУЮЩЕМУ ПРОЛИЛ-ТРНК-СИНТЕТАЗУ

¹Каримов М.З., ¹Бакиров И.Х., ¹Вафин Р.Р., ¹Равилов Р.Х., ²Тюлькин С.В.,
³Кабиллов М.Р., ⁴Зайнуллин Л.И., ¹Ахметов Т.М.

¹ФГБОУ ВПО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана», Казань, e-mail: vafin-ramil@mail.ru;

²ФГБУ «Татарская межрегиональная ветеринарная лаборатория», Казань;

³ЦКП «Геномика» СО РАН, Новосибирск;

⁴ФГАОУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Казань

Целью настоящей работы являлся молекулярно-генетический анализ ассамблеи генов штамма хламидий ПП-87, близлежащих к *proS*-гену, кодирующему пролил-тРНК-синтеазу, на основе полученных массивов данных полногеномного секвенирования. В результате исследования установлено, что, несмотря на общегеномное сходство штамма *Chlamydia sp.* ПП-87 к референсному геному штамма *Chlamydia psittaci* GR9, по ряду генов, например, кодирующих белки холодового и теплового шока, близлежащих к *proS*, он проявляет наиболее близкородственное сходство к штамму *Chlamydia abortus* S26/3. Проанализированные гены, кодирующие белки холодового и теплового шока, а также другие близлежащие к ним гены (в т.ч. *proS*-ген) штамма ПП-87 являются ключом как к раскрытию молекулярных механизмов развития инфекционного процесса с обоснованием патогенеза хламидийной инфекции, ассоциированной с колонизацией плаценты хозяина внутриклеточным паразитом, так и к прояснению эволюции хламидий.

Ключевые слова: хламидии, ассамблея генов, белки холодового и теплового шока, секвенирование

MOLECULAR ANALYSIS OF GENES ASSEMBLY THE CHLAMYDIAL STRAIN PP-87, ADJACENT TO PROS-GENE ENCODING PROLYL-TRNA-SYNTHEASE

¹Karimov M.Z., ¹Bakirov I.K., ¹Vafin R.R., ¹Ravilov R.K., ²Tyulkin S.V.,
³Kabilov M.R., ⁴Zaynullin L.I., ¹Akhmetov T.M.

¹Kazan state academy of veterinary medicine, Kazan, e-mail: vafin-ramil@mail.ru;

²Tatar trans-regional veterinarian laboratory, Kazan;

³SB RAS «Genomics» Core Facility, Novosibirsk;

⁴Kazan (Volga region) federal university, Kazan

The aim of this study was a molecular genetic analysis of genes assembly the chlamydial strain PP-87, adjacent to *proS*-gene encoding prolyl-tRNA-synthetase, on the full genome sequencing database. The study found that, despite general genomic similarity strain *Chlamydia sp.* PP-87 to the reference genome of a strain of *Chlamydia psittaci* GR9, for a number of genes, for example encoding cold and heat shock proteins adjacent to *proS*, it exhibits similarity to the most closely related strain of *Chlamydia abortus* S26/3. The genes encoding cold and heat shock proteins, as well as other nearby genes to them (including *proS*-gene) strain PP-87 is the key as to the disclosure of molecular mechanisms of development of infection process with the justification of the pathogenesis of chlamydial infection associated with placental colonization of the host by intracellular parasite, and to clarify the evolution of chlamydia.

Keywords: chlamydia, genes assembly, cold and heat shock proteins, sequencing

Факты существования штаммов хламидий, занимающих промежуточное положение между видами *Chlamydia psittaci* и *Chlamydia abortus*, включая проблемы таксономического соотношения так называемых «промежуточных» штаммов и пути решения вопросов их видовой принадлежности, изложены в научных публикациях [1, 3, 5].

Геномы хламидий являются перспективным объектом исследования [4], тем более учитывая то обстоятельство, что генетический критерий идентификации служит одним из конструктивных звеньев построения их таксономической классификации [1, 3].

Методы полногеномного секвенирования на высокопроизводительных секвенаторах нового поколения, приобретающие статус рутинных генодиагностических исследований, являются ценным мультизадачным инструментарием, в т.ч. способствующим раскрытию молекулярных механизмов патогенеза изучаемого инфекционного агента.

Цель настоящей работы – молекулярно-генетический анализ ассамблеи генов штамма хламидий ПП-87 [2], близлежащих к *proS*-гену, кодирующему пролил-тРНК-синтеазу, на основе полученных массивов данных полногеномного секвенирования.

Материалы и методы исследования

Экстракция геномной ДНК штамма хламидий ПП-87, выделенного от абортировавшей самки песца [2] 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 исследования и их обсуждение

В результате секвенирования были получены парные чтения (Paired End), т.е. каждый фрагмент был прочитан с двух сторон 300 + 300 нт. Общий объем полученных данных для библиотеки составил порядка 660 тыс. последовательностей или 167 Мб,

что должно было обеспечить более чем 150-кратное покрытие генома хламидий. Более 80% полученных последовательностей имели качество QV > 30 (Phred Quality Score), что соответствует наличию всего лишь 0,1% ошибок, т.е. 1 на 1000 нуклеотидов.

Для дальнейшего анализа полученные последовательности были отфильтрованы по качеству (QV > 20), оттриммированы и картированы на геном *Chlamydia psittaci* GR9. Количество ридов, соответствовавших этому геному, составило 1,6% (10 600) от общего количества. Покрытие генома в среднем составило 2 ± 1,86, и 25% генома при этом было с нулевым покрытием. Причиной низкого покрытия генома хламидий послужило присутствие ДНК *Gallus Gallus*, составившей основную часть просеквенированного материала.

Однако, несмотря на крайне низкое покрытие генома, был проведен анализ полиморфизмов, для которых покрытие было не меньше 4. Их оказалось 66 шт., из них 20 приводило к несинонимичным заменам в таких генах, как *polA* (DNA polymerase I), *proS* (prolyl-tRNA synthetase), *dapL* (LL-diaminopimelate aminotransferase), *mhcA3* (myosin heavy chain-like domain protein) и др. Следует обратить внимание, что максимальное количество SNV наблюдается в генах двух белков: *vacB* and RNase II 3'-5' exoribonucleases family protein и *proS*. Причем в последнем мутации приводят к 5 заменам аминокислот.

Данные 5 аминокислотных замен, выделенных серым цветом, а также подчеркнутая аминокислотная последовательность, транслированная с секвенированной нуклеотидной последовательности штамма ПП-87 с покрытием не менее 4, представлены на рис. 1.

Query	1	GHYGANIEAAVAQPPHYTYDKDYLP	IEEVDTDPDVRTIENLQDFFSVPPYRIMKTLVVKLS
CR848038	1Q.....
CP003791	1Q.....E.....S..E.....H..L.....
Query	61	YGEKEKFTAIGIRGDRQINLTKIGSKLNAD	ACSLASDEEIQKHLGVEKGFIGPLNCPIDF
CR848038	61
CP003791	61	...QD..A.....E.....
Query	121	YADETTQCMTNFICAGNVKDKHYKNVWDRDIPRPEYADFLLAEAGDLC	PAW 172
CR848038	121T. 172
CP003791	121T..... 172

Рис. 1. Выравнивание аминокислотных последовательностей пептидного фрагмента prolyl-tRNA synthetase штаммов *Chlamydia* sp. ПП-87 (Query), *Chlamydia abortus* S26/3 (CR848038) и *Chlamydia psittaci* GR9 (CP003791)

Соответствующие выравненные нуклеотидные последовательности локуса *proS*-гена, кодирующие пептидный

фрагмент prolyl-tRNA synthetase этих же штаммов хламидий, представлены на рис. 2.

Query	1	TTGTTTGCTGGGCAGAGATCTCCGGCTTCAGCAAGGAGAAAGTCTGCATATTCGGGGCGA
CR848038	260129T.....C.....
CP003791	260250T.....A.....T.....A...
Query	61	GGAAATATCGCGATCCCAATTGACGTTTTTGTAAATGTTTGTCTTTGACGTTTCCTGCGCAG
CR848038	260189A.....
CP003791	260310A.....A.....
Query	121	ATGAAGTTCGTCATGCATTGCGTTGTTTCATCAGCATAGAAGTCTATAGGACAGTTTAAA
CR848038	260249
CP003791	260370G.....G.....A.....
Query	181	GGACCGATAAATCCTTTTTCTACTCCCAGATGTTTCTGTATTTCCCTCATCTGAAGCGAGA
CR848038	260309
CP003791	260430C.....T.....T.....A...
Query	241	GAACAGGCATCCGCATTAAGTTTGGAAACCTATTTTAGTGAGGTTGATTTGTCGATCCCC
CR848038	260369G
CP003791	260490TT.....G..C....C.....T..T
Query	301	CGGATGCCTATAGCTGTGAATTTCTCTTTTCTCCATAGGAGAGTTTCACTACGAGAGTT
CR848038	260429
CP003791	260550C.....A..C.G.....C..A....A.....
Query	361	TTCATGATCCGGTAGGGGGGAACGGAGAAAAAGTCTTGGAGATTTTCTATTGTGCGTACA
CR848038	260489
CP003791	260610G.....GT..A....A.....C
Query	421	TCAGGTGTGTCTACTTCTTCTATAGGTAGGTAGTCTTTATCGTAAGTATAGTGC GGAGGC
CR848038	260549T.....
CP003791	260670GA.....C..A..T.....C....T..A..C..T
Query	481	TGGGCAACTGCGGCTTCGATATTCGCTCCGTAATGACC 518
CR848038	260609 260646
CP003791	260730	..T....C..T.....G..... 260767

Рис. 2. Выравнивание нуклеотидных последовательностей локуса *proS*-гена штаммов *Chlamydia sp.* ПП-87 (Query), *Chlamydia abortus* S26/3 (CR848038) и *Chlamydia psittaci* GR9 (CP003791). Примечания: подчеркнутым выделены нуклеотидные последовательности с покрытием генома не менее 4, серым цветом выделены нуклеотиды, ассоциированные с несинонимическими нуклеотидными заменами, приводящими к замене аминокислоты

Локусы генов, близлежащих к *proS*, также были проанализированы на предмет гетерогенности/идентичности (табл. 1 и 2) соответственно) штамма ПП-87 к штаммам GR9 и S26/3 и представлены в обобщенной (табл. 1) и развернутой (табл. 2) формах.

Таблица 1

Анализ гетерогенности штамма *Chlamydia sp.* ПП-87 к штаммам *Chlamydia psittaci* GR9 и *Chlamydia abortus* S26/3 в процентном выражении близлежащих локусов генов

GR9	0%	5%	4%	6–9%	5–8%	6–8%	7%	7–8%	10%	0%	0%	0%
ПП-87	CBS	vacB	dnaK	grpE	hrcA	proS	ABC	dapL	SSFP	PIMP	aroG	PMP
S26/3	9%	1%	1%	1%	2–3%	1–3%	1%	1%	2%	3%	7–10%	10%

Обозначения кодируемых белков: **CBS** – CBS domain pair family protein; **vacB** – vacB and RNase II 3'-5' exoribonucleases family protein; **dnaK** – heat shock chaperone protein (hsp70); **grpE** – GrpE protein (hsp-70 cofactor); **hrcA** – heat-inducible transcription repressor; **proS** – prolyl-tRNA synthetase; **ABC** – ABC transporter substrate binding family protein; **dapL** – LL-diaminopimelate aminotransferase; **SSFP** – solute symporter family protein; **PIMP** – putative inner membrane protein; **aroG** – phospho-2-dehydro-3-deoxyheptonate aldolase; **PMP** – putative membrane protein.

Примечательно, что, несмотря на общее геномное сходство штамма *Chlamydia sp.* ПП-87 к референсному геному штамма *Chlamydia psittaci* GR9, по ряду генов, на пример кодирующих белки холодого и теплового шока, близлежащих к *proS*, он проявляет наиболее близкородственное сходство к штамму *Chlamydia abortus* S26/3.

Таблица 2

Анализ идентичности штамма *Chlamydia sp.* ПП-87 к штаммам *Chlamydia psittaci* GR9 и *Chlamydia abortus* S26/3 в процентном выражении близлежащих локусов генов

<i>Chlamydia psittaci</i> GR9 (GenBank A/N: CP003791)	<i>Chlamydia sp.</i> ПП-87		<i>Chlamydia abortus</i> S26/3 (GenBank A/N: CR848038)
1	2	3	4
complement (250164...251288) /product = « CBS domain pair family protein »	(250672–251041) 100%	(250554–250923) 91%	complement(250046...251170) /product = « CBS domain pair family protein »
complement (251290...251766) complement (251768...251929) complement (251964...252089) /product = «hypothetical protein»	(251242–252193) 100%	(251124–252075) 93%	complement(251172...251648) complement(251667...251828) complement(251846...252007) /product = «hypothetical protein»
complement (252243...252908) /product = «hypothetical protein»	(252356–252622) 100%	(252238–252504) 95%	complement(252146...252790) /product = «putative exported protein»
complement (253664...255709) /product = « vacB and RNase II 3'-5' exoribonucleases family protein »	(254041–254677) 95%	(253920–254556) 99%	complement (253543...255591) /product = « vacB and RNase II 3'-5' exoribonucleases family protein »
complement (255866...257845) /gene = «dnaK» /product = « chaperone protein DnaK »	(256083–256683) 96%	(255962–256562) 99%	complement (255745...257724) /gene = «dnaK» /product = « heat shock chaperone protein (hsp70) »
complement (257871...258446) /gene = «grpE» /product = « grpE family protein »	(257277–257713) 95%	(257156–257592) 99%	complement (257750...258325) /gene = «grpE» /product = « GrpE protein(hsp-70 cofactor) »
complement (257864–258022) 91%	(257864–258022) 91%	(257743–257901) 99%	complement (257750...258325) /gene = «grpE» /product = « GrpE protein(hsp-70 cofactor) »
complement (258443...259603) /gene = «hrcA» /product = « heat-inducible transcription repressor HrcA »	(258169–258435) 94%	(258048–258314) 99%	complement (257750...258325) /gene = «grpE» /product = « GrpE protein(hsp-70 cofactor) »
complement (258443...259603) /gene = «hrcA» /product = « heat-inducible transcription repressor HrcA »	(258683–258902) 95%	(258562–258781) 97%	complement (258322...259482) /gene = «hrcA» /product = « heat-inducible transcription repressor »
complement (258951–259483) 92%	(258951–259483) 92%	(258830–259362) 98%	complement (258322...259482) /gene = «hrcA» /product = « heat-inducible transcription repressor »
complement (259712...261445) /gene = «proS» /product = « prolyl-tRNA synthetase »	(259644–259915) 94%	(259523–259794) 99%	complement (259591...261324) /gene = «proS» /product = « prolyl-tRNA synthetase »
complement (259935–260167) 94%	(259935–260167) 94%	(259814–260046) 97%	complement (259591...261324) /gene = «proS» /product = « prolyl-tRNA synthetase »
complement (260250–260767) 91%	(260250–260767) 91%	(260129–260646) 99%	complement (259591...261324) /gene = «proS» /product = « prolyl-tRNA synthetase »
complement (260772–261028) 93%	(260772–261028) 93%	(260651–260907) 98%	complement (259591...261324) /gene = «proS» /product = « prolyl-tRNA synthetase »
complement (261060–261436) 92%	(261060–261436) 92%	(260939–261315) 99%	complement (259591...261324) /gene = «proS» /product = « prolyl-tRNA synthetase »
261710...262906 /product = «hypothetical protein»	(262707–262892) 91%	(262587–262772) 98%	261590...262786 /product = «hypothetical protein»
263962...264240 /product = «hypothetical protein»	(263967–264183) 94%	(263847–264063) 99%	263842...264132 /product = «hypothetical protein»
complement (264237...265280) /product = « ABC transporter substrate binding family protein »	(264548–264815) 93%	(264380–264695) 99%	complement (264117...265160) /product = « putative exported protein »
complement (265277...266473) /gene = «dapL» /product = « LL-diaminopimelate aminotransferase »	(264950–265779) 93%	(264830–265659) 99%	complement (265157...266353) /gene = «dapL» /product = « putative amino-transferase »
complement (266031–266458) 92%	(266031–266458) 92%	(265911–266338) 99%	complement (265157...266353) /gene = «dapL» /product = « putative amino-transferase »

Окончание табл. 2

1	2	3	4
266738...267508 /product = «hypothetical protein»	(266815–267294) 84%	(266697–267174) 97%	266618...267382 /product = «hypothetical protein»
267942...269177 /product = «hypothetical protein»	(267588–268109) 95%	(267462–267984) 99%	267808...269052 /product = «putative exported protein»
complement(269178...271262) /product = «hypothetical protein»	(268569–268755) 93%	(268444–268630) 99%	complement (269053...271137) /product = «hypothetical protein»
	(268764–268895) 92%	(268639–268770) 98%	
	(269136–269471) 93%	(269011–269349) 99%	
	(269500–269953) 91%	(269375–269828) 98%	
271402...272007 /product = «hypothetical protein»	(270266–270499) 94%	(270141–270374) 99%	271285...272154 /product = «hypothetical protein»
271983...272279 /product = «hypothetical protein»	(270446–271493) 96%	(270560–271367) 99%	272151...272483 /product = «hypothetical protein»
	(271537–271889) 95%	(271411–271763) 99%	
	(272198–272344) 91%	(272073–272219) 97%	
272276...272608 /product = «HIT domain protein»	(272406–272698) 94%	272281–272574) 97%	272528...274144 /product = «hypothetical protein»
272652...274268 /product = «hypothetical protein»	(272829–273208) 94%	(272705–273084) 99%	274747...276081 /product = «putative sodium symporter»
274870...276204 /product = «solute symporter family protein»	(273303–273649) 92%	(273179–273525) 98%	
	(273909–274205) 93%	(273785–274081) 99%	
complement(276287...276487) /product = «putative inner membrane protein»	(276322–276447) 100%	(276205–276330) 97%	complement (276170...276370) /product = «putative inner membrane protein»
complement(276705...277394) /gene = «aroG» /product = «phospho-2-dehydro-3-deoxyheptonate aldolase»	(276606–276819) 100%	(276486–276702) 80%	complement (276588...277433) /product = «putative aldolase (pseudogene)»
	(276928–277080) 100%	(276811–276963) 93%	
complement(277566...280703) /product = «putative membrane protein»	(277508–277919) 100%	(277391–277802) 90%	complement(277449...280766) /product = «putative membrane protein»

Так, ген штамма хламидий ПП-87, кодирующий фермент белкового семейства 3'-5' экзорибонуклеаз vacB и RNase II (vacB and RNase II 3'-5' exoribonucleases family protein) и фактически являющегося белком холодного шока, индуцирующимся при понижении температуры, имеет 99%-ю идентичность к штамму S26/3 против 95%-го сходства со штаммом GR9 в части анализируемого локуса.

DnaK-ген ПП-87, кодирующий одноименный белок-шаперон теплового шока или стресс-индуцированный hsp70 (chaperone protein DnaK, heat shock chaperone protein – hsp70), принимающий участие в сворачивании и разворачивании белков, обеспечивая бактериальной клетке нечувствительность к нагреванию, имеет также 99%-ю идентичность к S26/3 против 95–96%-го сходства с GR9 в части анализируемых локусов.

GrpE-ген ПП-87, кодирующий белок теплового шока *grpE*, по сути являющийся кофактором *hsp70* (*GrpE* protein – *hsp-70* cofactor), проявляет 99%-е сходство к S26/3 против 91–94%-й идентичности к GR9 в части анализируемых локусов.

HrcA репрессор транскрипции, индуцируемый теплом (heat-inducible transcription repressor HrcA) – репрессор белков теплового шока, – регулятор ответа на тепловой стресс, являющийся транскрипционным фактором, в части нуклеотидных последовательностей анализируемых локусов *hrcA*-гена штамма ПП-87, также имеет наиболее близкородственное сходство с S26/3 (97–98%), нежели с GR9 (92–95%).

ProS-ген ПП-87, кодирующий пролил-тРНК-синтетазу (prolyl-tRNA synthetase), в свою очередь взаимодействующую с белком теплового шока DnaK, по анализируемым локусам имеет 97–99%-ю идентичность к S26/3 против 91–94%-го сходства с GR9, результаты выравнивания которых только по одному из локусов (S26/3: 260129-260646; GR9: 260250-260767) ранее уже были описаны на представленных рис. 1 и 2.

Еще три гена штамма ПП-87, близлежащих к *proS*, но прерываемых гипотетическими протеинами (hypothetical proteins), также проявляли большую идентичность (или меньшую гетерогенность) в процентном выражении анализируемых локусов по отношению к штамму S26/3, нежели чем к штамму GR9 (табл. 1–2).

Транслируемые протеины данных трех генов: ABC транспортер семейства субстрат-связывающего белка (ABC transporter substrate binding family protein) с транскрипционной активацией, индуцируемой тепловым шоком; LL-диаминопимелат аминотрансфераза (LL-diaminopimelate aminotransferase) и предполагаемый натриевый симпортер семейства трансмембранного белка-переносчика растворенных веществ (solute symporter family protein, putative sodium symporter).

Вышеперечисленную ассамблею примыкающих друг к другу генов с близкородственным сходством анализируемых локусов штамма ПП-87 к штамму S26/3 фланкируют гены, чьи анализируемые локусы, наоборот, имеют 100% идентичность к штамму GR9, а именно: гены гипотетических протеинов (hypothetical proteins) и *CBS*-ген белкового семейства парного домена цистатионин бета-синтазы (CBS domain pair family protein), с одной стороны, и ген предполагаемого внутреннего мембранного белка (putative inner membrane protein), с другой, примыкающий в свою очередь к *aroG*-гену кодирующему фосфо-2-дегидро-3-дезоксигептонат-альдозу (phospho-2-dehydro-3-deoxyheptonate).

Заключение

Проанализированные в данной работе гены, кодирующие белки холодового и теплового шока, а также другие близлежащие к ним гены (в т.ч. *proS*-ген) штамма *Chlamydia sp.* ПП-87 с их ярко выраженным близкородственным сходством по отношению к штамму *Chlamydia abortus* S26/3, являются ключом как к раскрытию молекулярных механизмов развития инфекционного процесса с обоснованием патогенеза хламидийной инфекции, ассоциированной с колонизацией плаценты хозяина внутриклеточным паразитом, так и к прояснению эволюции хламидий.

Список литературы

1. Вафин, Р.Р. О номенклатуре и классификации хламидий / Р.Р. Вафин, Р.Х. Равилов, Х.З. Гаффаров, А.З. Равилов, Г.М. Исхаков, И.Х. Бакиров, В.Н. Кашов, Р.Р. Вафин // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2007. – № 4. – С. 17–25.
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. 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. – Vol. 22. – № 4. – P. 155–164.
4. Van Lent, S. Full genome sequences of all nine *Chlamydia psittaci* genotype reference strains / S. Van Lent., J.R. Piet, D. Beeckman, A. van der Ende, F. Van Nieuwerburgh, P. Bavoil, G. Myers, D. Vanrompay, Y. Pannekoek // J. Bacteriol. – 2012. – Vol. 194. – № 24. – P. 930–931.
5. Van Loock, M. Missing links in the divergence of *Chlamydomydia abortus* from *Chlamydomydia psittaci* / M. Van Loock, D. Vanrompay, B. Herrmann, J. Vander Stappen, G. Volckaert, B.M. Goddeeris, K.D. Everett // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. – 2003. – Vol. 53. – № 3. – P. 761–770.

References

1. Vafin R.R. A contribution to the nomenclature and classification of chlamydiae / R.R. Vafin, R.Kh. Ravilov, Kh.Z. Gaffarov, A.Z. Ravilov, G.M. Iskhakov, I.Kh. Bakirov, V.N. Kashov, R.R. Vafin // Mol. Gen. Mikrobiol. Virusol. 2007. no. 4. pp. 17–25.
2. Ravilov, R.Kh. Chlamydial strain *Chlamydia psittaci*, used for manufacture of biological products for the diagnosis and prevention of chlamydiosis in arctic foxes: certificate of authorship no. 1667869 / R.Kh. Ravilov, R.A. Shafikova, A.Z. Ravilov, A.Yu. Bekleshova // publication 07.08.1991.
3. 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. Vol. 22. no. 4. pp. 155–164.
4. Van Lent S. Full genome sequences of all nine *Chlamydia psittaci* genotype reference strains / S. Van Lent., J.R. Piet, D. Beeckman, A. van der Ende, F. Van Nieuwerburgh, P. Bavoil, G. Myers, D. Vanrompay, Y. Pannekoek // J. Bacteriol. 2012. Vol. 194. no. 24. pp. 930–931.
5. Van Loock M. Missing links in the divergence of *Chlamydomydia abortus* from *Chlamydomydia psittaci* / M. Van Loock, D. Vanrompay, B. Herrmann, J. Vander Stappen, G. Volckaert, B.M. Goddeeris, K.D. Everett // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2003. Vol. 53. no. 3. pp. 761–770.

Рецензенты:

Госманов Р.Г., д.в.н., профессор кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана, г. Казань;

Лутфуллин М.Х., д.в.н., профессор, заведующий кафедрой паразитологии и радиобиологии, Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана, г. Казань.

Работа поступила в редакцию 23.10.2014.