



Антигенная идентичность иммунодоминантных белков геновариантов *Bacillus anthracis*

Ижбердеева М.П.[✉], Сауткина А.А., Баркова И.А., **Викторов Д.В.**

Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Волгоград, Россия

Аннотация

Введение. Основным биологическим сырьём при производстве иммунобиологических препаратов для индикации и идентификации *Bacillus anthracis* являются специфические антигены — протективный антиген (ПА) и белок EA1.

Цель работы — определить антигенную идентичность иммунодоминантных белков, выделенных гель-хроматографией и электрофорезом, различных геновариантов *B. anthracis*.

Материалы и методы. В работе использованы культуральные фильтраты изогенных вариантов штамма *B. anthracis* 575/122 (pXO1⁺, pXO2⁺): R01 (pXO1⁺, pXO2⁻); R00 (pXO1⁻, pXO2⁻). Гель-хроматографическое фракционирование и электрофоретическое разделение проведено по стандартным методикам. Антигенные свойства белков, выделенных гель-хроматографией и электрофорезом, изучены в реакции иммунодиффузии с поликлональными моноспецифическими сыворотками к ПА и белку EA1 S-слоя.

Результаты. При гель-хроматографическом разделении культуральных фильтратов *B. anthracis* 575/122: R01 (pXO1⁺, pXO2⁻) и R00 (pXO1⁻, pXO2⁻) получены фракция 1 и фракция 5. Сыворотки к белку EA1, а также к фракции 1 культуральных фильтратов штаммов *B. anthracis* 575/122 R00 и *B. anthracis* 575/122 R01 выявили идентичные антигены. Сыворотка к антигенам фракции 5 *B. anthracis* 575/122 R01 содержит антитела к ряду белков, в том числе к ПА, выделенному электрофорезом.

Обсуждение. В ходе работы была установлена антигенная идентичность иммунодоминантных белков, выделенных гель-хроматографией и электрофорезом.

Заключение. Таким образом, нами в электрофорезе и гель-хроматографией выделены белок EA1 и ПА, которые могут быть использованы для получения моноклональных и поликлональных моноспецифических антител, пригодных для конструирования диагностических препаратов.

Ключевые слова: *Bacillus anthracis*, протективный антиген, белок EA1, гель-хроматография, электрофорез, реакция иммунодиффузии, антигенная идентичность

Этическое утверждение. Авторы подтверждают соблюдение институциональных и национальных стандартов по использованию лабораторных животных в соответствии с «Consensus Author Guidelines for Animal Use» (IAVES, 23.07.2010). Все работы с экспериментальными животными согласованы и утверждены в рамках темы 084-3-15 «Детекция иммунодоминантных антигенов штаммов *Bacillus anthracis* с различным набором плазмид вирулентности» на заседании комиссии Волгоградского научно-исследовательского противочумного института по биоэтике (протокол № 2 от 22.05.2016).

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Ижбердеева М.П., Сауткина А.А., Баркова И.А., Викторов Д.В. Антигенная идентичность иммунодоминантных белков геновариантов *Bacillus anthracis*. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2023;100(2):203–208.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-284> EDN: <https://www.elibrary.ru/vupggy>

Antigenic identity of immunodominant proteins of *Bacillus anthracis* genovariants

Margarita P. Izhberdeeva[✉], Anastasiya A. Sautkina, Irina A. Barkova, **Dmitry V. Victorov**

Volgograd Plague Control Research Institute, Volgograd, Russia

Abstract

Introduction. The main biological raw materials for the production of immunobiological preparations for identification of *Bacillus anthracis* are its specific antigens, the protective antigen and the EA1 protein.

Purpose. To determine the antigenic identity of immunodominant proteins of different genovariants of *B. anthracis* isolated by gel chromatography and electrophoresis.

Materials and methods. Culture filtrates of isogenic variants of *B. anthracis* strain 575/122 (pXO1⁺, pXO2⁺): R01 (pXO1⁺, pXO2⁻); R00 (pXO1⁻, pXO2⁻) were used in the study. Gel chromatographic fractionation and electrophoretic separation were carried out according to standard methods. The antigenic properties of proteins isolated by gel chromatography and electrophoresis were studied by immunodiffusion with polyclonal monospecific sera against the protective antigen and the EA1 protein of the S-layer.

Results. Gel chromatographic separation of *B. anthracis* 575/122 culture filtrates R01 (pXO1⁺, pXO2⁻) and R00 (pXO1⁻, pXO2⁻) yielded fractions 1 and 5. Sera against EA1 protein and antigens of fraction 1 of strains *B. anthracis* 575/122 R00 and *B. anthracis* 575/122 R01 culture filtrates identified the identical antigens. Serum against antigens of fraction 5 of *B. anthracis* 575/122 R01 contained antibodies to numerous proteins, including the protective antigen isolated by electrophoresis.

Discussion. The antigenic identity of immunodominant proteins isolated by gel chromatography and electrophoresis was identified.

Conclusion. EA1 and PA proteins isolated by electrophoresis and gel chromatography can be used for production of monoclonal and polyclonal monospecific antibodies suitable for the design of diagnostic preparations.

Keywords: *Bacillus anthracis*, protective antigen, EA1 protein, gel chromatography, electrophoresis, immunodiffusion reaction, antigenic identity.

Ethics approval. Authors confirm compliance with institutional and national standards for the use of laboratory animals in accordance with «Consensus Author Guidelines for Animal Use» (IAVES, 23 July 2010). All work with experimental animals was agreed and approved within the framework of topic 084-3-15 "Detection of immunodominant antigens of *Bacillus anthracis* strains with a different set of virulence plasmids" at a meeting of the commission of the Volgograd Research Anti-Plague Institute on Bioethics (protocol No. 2 of May 22, 2016).

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Izhberdeeva M.P., Sautkina A.A., Barkova I.A., Victorov D.V. Antigenic identity of immunodominant proteins of *Bacillus anthracis* genovariants. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2023;100(2):203–208. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-284> EDN: <https://www.elibrary.ru/vupggg>

Введение

Основным биологическим сырьём при производстве иммунобиологических препаратов являются специфические антигены, выделенные из микробных биомасс, и иммунные сыворотки, полученные на их основе. При многообразии способов извлечения специфических антигенов из микробных клеток необходим комплекс последовательных манипуляций, который бы позволил изолировать полноценные в антигенном отношении фракции для производственных целей [1].

В качестве сырья при создании иммунобиологических препаратов для индикации и идентификации *Bacillus anthracis* используются иммунодоминантные белки, в том числе протективный антиген (ПА) и белок поверхностных структур EA1 (extractable antigen) [2–5].

Ранее нами изучены внеклеточные антигены *B. anthracis*, выделенные гель-хроматографией и электрофорезом [6, 7]. Иммунодоминантные белки электрофоретических фракций идентифицированы MALDI-TOF MS как ПА (молекулярная масса (ММ) 85,810 кДа) и EA1 (ММ 91,360 кДа) [8].

Цель работы — определить антигенную идентичность иммунодоминантных белков, выделенных

гель-хроматографией и электрофорезом, различных геновариантов *B. anthracis*.

Материалы и методы

В работе использованы изогенные варианты вирулентного штамма *B. anthracis* 575/122 (pXO1⁺, pXO2⁺): токсинпродуцирующий 575/122 R01 (pXO1⁺, pXO2⁻); бесплазмидный 575/122 R00 (pXO1⁻, pXO2⁻) [9]. Исходный вирулентный штамм был получен из лаборатории коллекционных штаммов Волгоградского научно-исследовательского противочумного института Роспотребнадзора (выделен санэпидемслужбой Молдавской ССР из шкуры крупного рогатого скота в июле 1982 г.).

Для получения бесклеточных культуральных фильтратов (КФ) использовали жидкую питательную среду Ristroph (R-среду) pH 8,0–8,3 и R-среду с казаминовыми кислотами («Difco») из расчёта 4 г/л питательной среды [10]. Штаммы культивировали при 37°C в течение 18 ч, при 72 об/мин в биологическом шейкере «Excella E-25/25R» («Eppendorf»). Культуральную жидкость стерилизовали фильтрованием через фильтр ДР045, стерильность определяли высевом на сердечно-мозговой агар и в сердечно-мозговой бульон. КФ концентрировали

на установке ДС 2 «Amicon» с волоконными фильтрами HLP10 («Amicon»), а затем на ультрафильтре РМ10 [6].

Гель-хроматографическое фракционирование с использованием сверхтонкого сефакрила S-300 HR «Pharmacia» в объёме 2,5 × 5,6 см и электрофоретическое разделение в 10% полиакриламидном геле проводили по стандартным методикам [6, 7]. Белки визуализировали в блоке геля охлаждённым раствором 0,1М КСl. Белковые фракции вырезали, гомогенизировали и экстрагировали углекислым аммонием [7].

Кроличьи сыворотки к гель-хроматографическим фракциям и кроличьи моноспецифические поликлональные сыворотки к белку EA1 и ПА получали по методике, описанной ранее [6–8].

Все работы с экспериментальными животными согласованы и утверждены в рамках темы 084-3-15 «Детекция иммунодоминантных антигенов штаммов *Bacillus anthracis* с различным набором плазмид вирулентности» на заседании комиссии по биоэтике (протокол № 2 от 22.05.2016).

Идентичность белков, выделенных гель-хроматографией и электрофорезом [9], определяли в реакции иммунодиффузии (РИД) [11].

Результаты

В ходе работы получены КФ штаммов *B. anthracis* 575/122 R01 (pXO1⁺, pXO2⁻) с содержанием белка 9,8 мг/мл и *B. anthracis* 575/122 R00 (pXO1⁻, pXO2⁻) с содержанием белка 5,5 мг/мл, проведено их гель-хроматографическое разделение. Хроматограммы изогенных вариантов штамма *B. anthracis* 575/122 соответствовали хроматограммам КФ штаммов с аналогичным набором плазмид вирулентности, а именно *B. anthracis* СТИ (pXO1⁺, pXO2⁻) и *B. anthracis* 81/1 R00 (pXO1⁻, pXO2⁻) (рис. 1) [6].

При электрофоретическом разделении белков КФ штамма *B. anthracis* 575/122 R01 определялся преимущественно белок с ММ 85,810 кДа, который был идентифицирован в MALDI-TOF MS как ПА, а КФ *B. anthracis* 575/122 R00 содержал белки: 91,361 кДа, идентифицированный как EA1 [8], и ММ 87 кДа, который в MALDI-TOF MS не удалось определить, однако по ММ он совпадал с белком Sap *B. anthracis* (86,7 кДа) [12].

К электрофоретическим фракциям были получены кроличьи иммунные поликлональные сыворотки, которые использовались для постановки РИД с КФ *B. anthracis* 575/122 R01. Иммунопреципитаты к белкам S-слоя образовывались через 2 ч (рис. 2, а), а к ПА — через 18 ч (рис. 2, б).

Для определения в РИД идентичности белков гель-хроматографических и электрофоретических фракций использованы КФ штаммов *B. anthracis* 575/122 R01 и *B. anthracis* 575/122 R00; сыворотки

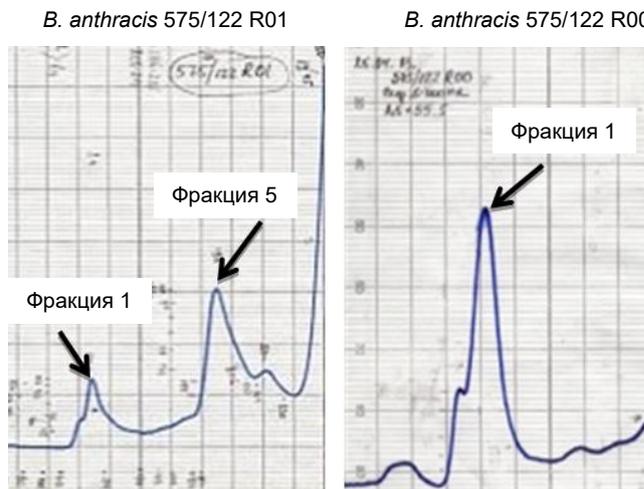


Рис. 1. Хроматограммы культуральных фильтратов *B. anthracis*.

Fig. 1. Chromatograms of *B. anthracis* culture filtrates.

к фракции 1 КФ *B. anthracis* 575/122 R01 и 575/122 R00 и фракции 5 КФ *B. anthracis* 575/122 R01; сыворотки к белку EA1, белку ММ 87 кДа и к ПА КФ *B. anthracis* 575/122 R01.

В результате РИД белки фракции 1 КФ *B. anthracis* 575/122 R01 и 575/122 R00 и белки EA1 и 575/122 R00 ММ 87 кДа, выделенные электрофорезом, образовывали идентичную иммунопреципитующую линию.

Сыворотка к фракции 5 штамма *B. anthracis* 575/122 R01 формировала иммунопреципитаты как с КФ *B. anthracis* 575/122 R01, так и с КФ *B. anthracis* 575/122 R00. Сыворотка к ПА, выделенному в элек-

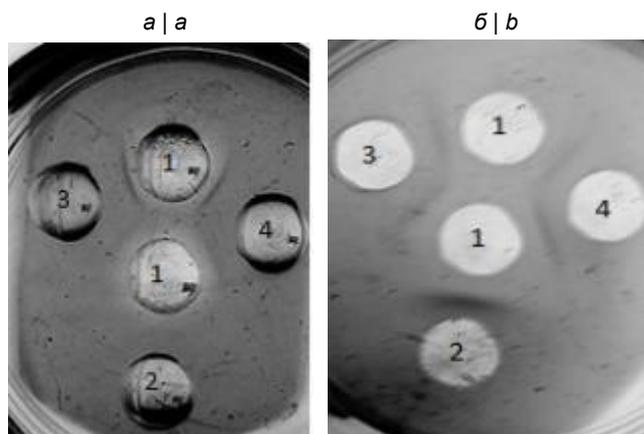


Рис. 2. РИД в геле белков электрофоретических фракций РИД через 2 ч (а) и через 18 ч (б).

1 — сыворотка к КФ *B. anthracis* 575/122 R01; 2 — ПА *B. anthracis* 575/122 R01; 3 — EA1 *B. anthracis* 575/122 R00; 4 — белок *B. anthracis* 575/122 R00 ММ 87 кДа.

Fig. 2. Gel immunodiffusion of proteins from electrophoretic fractions after 2 hours (a) and 18 hours (b) incubation.

1 — serum to culture filtrate of *B. anthracis* 575/122 R01; 2 — protective antigen of *B. anthracis* 575/122 R01; 3 — EA1 *B. anthracis* 575/122 R00; 4 — 87 kDa protein of *B. anthracis* 575/122 R00.

трофорезе, образовывала одну гомогенную линию с КФ *B. anthracis* 575/122 R01, с *B. anthracis* 575/122 R00 преципитирующих линий не выявлено (рис. 3).

Обсуждение

Для конструирования диагностических тест-систем основными мишенями являются специфические антигены возбудителей заболеваний и иммунные сыворотки на их основе. Для *B. anthracis* в настоящее время таковыми являются белок EA1 и ПА [2–4, 13–15].

Существует достаточно большое количество эффективных методик получения антигенов из микробных клеток. Нами в течение ряда лет были освоены способы выделения ПА и белка EA1. Изучена видовая специфичность сывороток к белкам, выделенным гель-хроматографией из КФ штаммов *B. anthracis* с различным содержанием плазмид вирулентности, определена возможность использования ПА для обнаружения антител в реакции непрямой геммагглютинации и в твердофазном иммуноферментном методе, а белка EA1 возбудителя сибирской язвы — в методе флуоресцирующих антител [6, 16, 17]. В последующих исследованиях данные белки были выделены из КФ изогенных вариантов *B. anthracis*, накоплены в препаративном электрофорезе, идентифицированы в MALDI-TOF MS, а также определено их диагностическое значение [7–9].

Целью настоящей работы являлось установление идентичности антигенов, выделенных гель-хроматографией и электрофорезом, различных геновариантов *B. anthracis*. Для этого были получены гипериммунные кроличьи сыворотки. Процесс получения сывороток к гель-хроматографическим фракциям занимал меньше времени. Для получения сывороток к белкам EA1 и MM 87 кДа нам понадобилось около 18 мес. При гель-проникающей хроматографии происходит разделение по молекулярным весам, но тонкая очистка невозможна, и фракции содержат смесь антигенов с преобладанием того или другого. В нашей работе в РИД сыворотки к белкам EA1 и MM 87 кДа, выделенным из полиакриламидного геля, а также сыворотки к первым фракциям КФ бесплазмидного и токсинпродуцирующего штаммов выявили идентичные антигены. Следовательно, в данных гель-хроматографических фракциях содержатся белки S-слоя MM 94 и 87 кДа (EA1 и Sap) [12]. Сыворотка к ПА *B. anthracis* 575/122 R01, выделенному электрофорезом, в отличие от сыворотки к фракции 5, образовывала одну четкую гомогенную линию с КФ *B. anthracis* 575/122 R01, а с КФ *B. anthracis* 575/122 R00 иммунопреципитатов не выявлено. Препаративный электрофорез позволяет не только определять MM белков с точностью до 5%, но и даёт высокое разрешение, переводит в растворимую форму большинство белков, которые

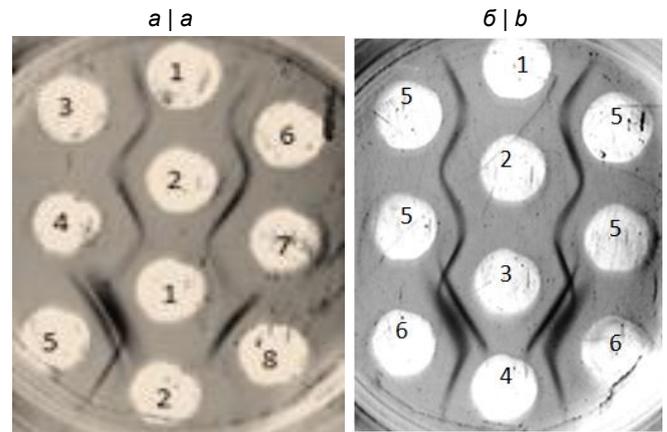


Рис. 3. Антигены, выявляемые сыворотками к белкам гель-хроматографических и электрофоретических фракций.

а: 1 — КФ *B. anthracis* 575/122 R01; 2 — КФ *B. anthracis* 575/122 R00; 3 — сыворотка к белку EA1 КФ *B. anthracis* 575/122 R00; 4 — сыворотка к фракции 1 КФ *B. anthracis* 575/122 R01; 5 — сыворотка к фракции 5 КФ *B. anthracis* 575/122 R01; 6 — сыворотка к фракции 1 КФ *B. anthracis* 575/122 R00; 7 — сыворотка к белку КФ *B. anthracis* 575/122 R00 MM 87 кДа; 8 — сыворотка к ПА КФ *B. anthracis* 575/122 R01;

б: 1 — сыворотка к фракции 1 КФ *B. anthracis* 575/122 R01; 2 — сыворотка к белку EA1 КФ *B. anthracis* 575/122 R00; 3 — сыворотка к фракции 5 КФ *B. anthracis* 575/122 R01; 4 — сыворотка к ПА КФ *B. anthracis* 575/122 R01; 5 — КФ *B. anthracis* 575/122 R00; 6 — КФ *B. anthracis* 575/122 R01.

Fig. 3. Antigens detected by sera to proteins from fractions separated in gel-chromatography and electrophoresis.

a: 1 — culture filtrate of *B. anthracis* 575/122 R01; 2 — culture filtrate of *B. anthracis* 575/122 R00; 3 — serum to EA1 protein from *B. anthracis* 575/122 R00 culture filtrate; 4 — serum to fraction 1 of *B. anthracis* 575/122 R01 culture filtrate; 5 — serum to fraction 5 of *B. anthracis* 575/122 R01 culture filtrate; 6 — serum to fraction 1 of *B. anthracis* 575/122 R00 culture filtrate; 7 — serum to 87 kDa protein from *B. anthracis* 575/122 R00 culture filtrate; 8 — serum to protective antigen from *B. anthracis* 575/122 R01 culture filtrate; **b:** 1 — serum to fraction 1 of *B. anthracis* 575/122 R01 culture filtrate; 2 — serum to EA1 protein from *B. anthracis* 575/122 R00 culture filtrate; 3 — serum to fraction 5 of *B. anthracis* 575/122 R01 culture filtrate; 4 — serum to protective antigen of *B. anthracis* 575/122 R01 culture filtrate; 5 — culture filtrate of *B. anthracis* 575/122 R00; 6 — culture filtrate of *B. anthracis* 575/122 R01.

нельзя солиubilизировать другими методами [18]. Происходит более эффективное разделение белков, чем гель-хроматографией, что подтверждено данными иммуноблотинга [7].

Важнейшим качеством, определяющим иммуногенность антигенов, являются размер молекулы, доза вводимого антигена, пространственная структура белка. Смесь белковых компонентов вызывает более выраженный иммунный ответ, чем введение очищенного антигена [19], что объясняет длительность получения сывороток к белкам, выделенным электрофорезом.

Таким образом, нами при помощи электрофореза и гель-хроматографии в препаративных количествах накоплен ряд идентичных белков геновариантов *B. anthracis*, что в дальнейшем позволит использовать данные методики при разработке

схем иммунизации для получения моноклональных и поликлональных моноспецифических антител, пригодных для конструирования диагностических препаратов.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

1. Тюменцева И.С., Жарникова И.В., Афанасьев Е.Н. и др. Научно-методические разработки биотехнологий производства иммунобиологических препаратов для экспресс-диагностики инфекционных заболеваний и детекции их возбудителей. *Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2015;(4):21–5. Tyumentseva I.S., Zharnikova I.V., Afanas'ev E.N., et al. Scientific and methodical development of biotechnological production of immunobiological preparations for instant diagnosis of infectious diseases and detection of pathogens. *Biopreparation. Prevention, diagnosis, treatment*. 2015;(4):21–5. EDN: <https://www.elibrary.ru/vaehbl>
2. Wang D., Yang R., Zhang Z.P., et al. Detection of *B. anthracis* spores and vegetative cells with the same monoclonal antibodies. *PLoS One*. 2009;4(11):e7810. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007810>
3. Makam S., Kingston J., Ramakrishna U., et al. Application of extractable antigen 1 (EA1) for specific detection of *Bacillus anthracis* cells. *Int. J. Pharm. Bio. Sci.* 2013;4(2):274–83.
4. Walper S.A., Anderson G.P., Brozozog P.A., et al. Rugged single domain antibody detection elements for *Bacillus anthracis* spores and vegetative cells. *PLoS One*. 2012;7(3):e32801. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032801>
5. Alexander N.W., Brian N.W., Shihui L., et al. Small molecule inhibitors of *Bacillus anthracis* protective antigen proteolytic activation and oligomerization. *J. Med. Chem.* 2012;55(18):7998–8006. DOI: <https://doi.org/10.1021/jm300804e>
6. Баркова И.А., Барков А.М., Алексеев В.В. и др. Продукция белков S — слоя разными штаммами *Bacillus anthracis*. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2008;(4):29–32. Barkova I.A., Barkov A.M., Alekseev V.V., et al. Production of S-layer proteins by different *Bacillus anthracis* strains. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2008;(4):29–32. DOI: [https://doi.org/10.21055/0370-1069-2008-4\(98\)-29-32](https://doi.org/10.21055/0370-1069-2008-4(98)-29-32) EDN: <https://www.elibrary.ru/kvekch>
7. Баркова И.А., Червакова М.П., Барков А.М. и др. Диагностическое значение некоторых иммунодоминантных белков изогенных вариантов *Bacillus anthracis*. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016;61(12):833–8. Barkova I.A., Chervakova M.P., Barkov A.M., et al. The diagnostic significance of particular immune-dominating proteins of isogenic variants of *Bacillus anthracis*. *Clinical Laboratory Diagnostics*. 2016;61(12):833–8. DOI: <https://doi.org/10.18821/0869-2084-2016-61-12-833-837> EDN: <https://www.elibrary.ru/xscftr>
8. Червакова М.П., Шаров Т.Н., Баркова И.А. и др. Идентификация иммуногены белков штаммов *Bacillus anthracis* в MALDI TOF MS. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2018;95(1):52–7. Chervakova M.P., Sharov T.N., Berkova I.A., et al. Identification of immunogenic proteins of strains of *Bacillus anthracis* in MALDI TOF MS. *Journal of Microbiology Epidemiology and Immunobiology*. 2018;95(1):52–7. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2018-1-52-57> EDN: <https://www.elibrary.ru/yxtuxr>
9. Баркова И.А., Новоженина А.В., Барков А.М. и др. Характеристика изогенных вариантов *Bacillus anthracis* с различным содержанием плазмид вирулентности. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2015;92(1):17–22. Barkova I.A., Novozhenina A.V., Barkov A.M. Characteristics of isogenic variants of *Bacillus anthracis* with various content of virulence plasmids. *Journal of Microbiology Epidemiology and Immunobiology*. 2015;92(1):17–22. EDN: <https://www.elibrary.ru/vobdpf>
10. Маринин Л.И., Онищенко Г.Г., Степанов А.В. и др. *Микробиологическая диагностика сибирской язвы*. М.; 1999. Marinin L.I., Onishchenko G.G., Stepanov A.V., et al. *Microbiological Diagnostics of Anthrax*. Moscow; 1999.
11. Баркова И.А., Липницкий А.В., Барков А.М., Евтеева Е.В. Использование иммуноглобулинов к отдельным внеклеточным антигенам *Bacillus anthracis* СТИ для идентификации сибиреязвенного микроба. *Биотехнология*. 2005;(2):91–6. Barkova I.A., Lipnitskiy A.V., Barkov A.M., Evteeva E.V. Use of immunoglobulins to individual extracellular antigens of *Bacillus anthracis* STI for identification of the anthrax microbe. *Biotechnology in Russia*. 2005;(2):91–6. EDN: <https://www.elibrary.ru/hvtscr>
12. Lamonica J.M., Wagner M., Eschenbrenner M., et al. Comparative secretome analyses of three *Bacillus anthracis* strains with variant plasmid contents. *Infect. Immun.* 2005;73(6):3646–58. DOI: <https://doi.org/10.1128/iai.73.6.3646-3658.2005>
13. Love T.E., Redmond C., Mayers C.N. Real time detection of anthrax spores using highly specific anti-EA1 recombinant antibodies produced by competitive panning. *J. Immunol. Methods*. 2008;334(1-2):1–10. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jim.2007.12.022>
14. Хлынцова А.Е., Лунева Н.М., Белова Е.В. и др. Разработка и испытания диагностикума на основе моноклональных антител для определения спор возбудителя сибирской язвы в реакции латекс-агглютинации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2011;4:71–5. Khlintseva A.E., Luneva N.M., Belova E.V., et al. Development and testing of monoclonal antibodies-based diagnostic preparation for *Bacillus anthracis* spores detection using latex agglutination method. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2011;4:71–5. DOI: [https://doi.org/10.21055/0370-1069-2011-4\(110\)-71-75](https://doi.org/10.21055/0370-1069-2011-4(110)-71-75) EDN: <https://www.elibrary.ru/ojsmb>
15. Семакова А.П., Микшис Н.И., Попова П.Ю. и др. Повышение эффективности и стабильности прототипа вакцины сибиреязвенной химической на основе рекомбинантного протективного антигена. В кн.: Попова А.Ю., Кутырев В.В., ред. *Общие угрозы — совместные действия. Ответ государств БРИКС на вызовы опасных инфекционных болезней. Материалы международной конференции*. М.; 2015:341–4. Semakova A.P., Mikshis N.I., Popova P.Yu., et al. Improving the effectiveness and stability of the prototype of a chemical anthrax vaccine based on a recombinant protective antigen. In: Popova A.Yu., Kutuyev V.V., eds. *Common Threats are Joint Actions. The Response of the BRICS States to the Challenges of Dangerous Infectious Diseases: Materials of the International Conference*. Moscow; 2015:341–4. EDN: <https://www.elibrary.ru/vwuizx>
16. Баркова И.А., Барков А.М., Алексеев В.В., Липницкий А.В. Видоспецифические сыворотки против антигенов поверхностных структур штаммов *Bacillus anthracis*. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2010;(11):51–3. Barkova I.A., Barkov A.M., Alekseev V.V., Lipnitskii A.V. Species-specific sera against antigens of the surface structures of *Bacillus anthracis* strains. *Clinical Laboratory Diagnostics*. 2010;(11):51–3. EDN: <https://www.elibrary.ru/nbnhwX>
17. Барков А.М., Баркова И.А., Алексеев В.В. и др. Обнаружение антител к протективному антигену *Bacillus anthracis* с использованием реакции непрямой гемагглютинации и твердофазного иммуноферментного метода. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2010;(3):42–5. Barkov A.M., Barkova I.A., Alekseev V.V., et al. Detection of antibodies to protective antigen of *Bacillus anthracis* using indirect hemagglutination test and enzyme-linked immunosorbent assay. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2010;(3):42–5. DOI: [https://doi.org/10.21055/0370-1069-2010-3\(105\)-42-45](https://doi.org/10.21055/0370-1069-2010-3(105)-42-45) EDN: <https://www.elibrary.ru/mumfjl>

18. Гааль Э., Медьеша Г., Верецкеи Л. *Электорофорез в разделении биологических макромолекул*. М.; 1982. Gaal O., Medgyesi G.A., Vereczkey L. *Electrophoresis in the Separation of Biological Macromolecules*. Budapest; 1980.
19. Супрун Е.Н. Часть вторая причина иммунологической реакции. *Аллергология и иммунология в педиатрии*. 2013;(1):26–32. Suprun E.N. Reason of immunological reaction (part 2). *Allergology and Immunology in Pediatrics*. 2013;(1):26–32. EDN: <https://www.elibrary.ru/wxghal>

Информация об авторах

Ижбердеева Маргарита Павловна[✉] — н.с. лаб. биоинформационного анализа Волгоградского научно-исследовательского противочумного института, Волгоград, Россия, margaritakovyлина@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2979-4452>

Сауткина Анастасия Александровна — н.с. лаб. оперативной диагностики бактериальных и вирусных инфекций Волгоградского научно-исследовательского противочумного института, Волгоград, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-6302-443>

Баркова Ирина Анатольевна — к.м.н., доцент, с.н.с. отдела подготовки специалистов Волгоградского научно-исследовательского противочумного института, Волгоград, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-5036-0034>

Викторов Дмитрий Викторович — д.б.н., доцент, зам. директора по научно-экспериментальной работе Волгоградского научно-исследовательского противочумного института, Волгоград, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-2722-7948>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 10.12.2023;
принята к публикации 15.02.2023;
опубликована 28.04.2023

Information about the authors

Margarita P. Izhberdeeva[✉] — researcher, Laboratory of bioinformatic analysis, Volgograd Plague Control Research Institute, Volgograd, Russia, margaritakovyлина@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2979-4452>

Anastasiya A. Sautkina — researcher, Laboratory of the operative diagnostic of bacterial and viral infections, Volgograd Plague Control Research Institute, Volgograd, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-6302-4438>

Irina A. Barkova — Cand. Sci. (Med.), assistant professor, senior researcher, Specialist training department, Volgograd Plague Control Research Institute, Volgograd, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-5036-0034>

Dmitry V. Viktorov — D. Sci. (Biol.), assistant professor, assistant director for science and experiment issues, Volgograd Plague Control Research Institute, Volgograd, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-2722-7948>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 10.12.2023;
accepted for publication 15.02.2023;
published 28.04.2023