

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ *BACILLUS SUBTILIS* В КАЧЕСТВЕ НОСИТЕЛЯ ОРАЛЬНОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ *STREPTOCOCCUS SUIIS*

(✉) Афонюшкин В.Н.^{1,2}, Фуди Ян¹, Миронова Т.Е.², Нефедова Е.В.², Кильп А.С.^{2,3}, Коптев В.Ю.², Донченко Н.А.^{2,3}

¹Институт химической биологии и фундаментальной медицины

Сибирского отделения Российской академии наук

Новосибирск, Россия

²Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук

Новосибирская область, р.п. Краснообск, Россия

³Новосибирский государственный аграрный университет

Новосибирск, Россия

(✉) e-mail: lisocim@mail.ru

Из-за прогрессирующего роста бактерий, вызванного широким применением антибиотиков, лечение стрептококкоза становится все более сложной задачей. Необходима надежная вакцинация против *Streptococcus suis*. Современные возможности молекулярной диагностики и геной инженерии создают перспективы для прямого клонирования протективных эпитопов гена Lmb местного штамма *S. suis* в предложенную систему доставки антигена иммунной системы свиней. Среди носителей оральных вакцин *Bacillus subtilis* признана относительно экологически чистым носителем с эффективной системой секреции белка и адаптивным метаболизмом, способная продуцировать споры в относительно жестких условиях. Это свойство спор может использоваться для повышения стабильности и возможности повторного использования вакцин. Изучена возможность использования протективных эпитопов Lmb *S. suis* в составе *B. subtilis* в качестве носителя оральной рекомбинантной вакцины против *Streptococcus suis*. Нуклеотидные последовательности *S. suis* получены в базе данных GenBank после предварительного анализа литературных данных об известных протективных антигенах *S. suis* различных серотипов. Анализ нуклеотидных последовательностей проводили с использованием программного обеспечения Unipro UGENE v. 43.0. Для поиска Т (CTL и Th) и В зависимых эпитопов гена Lmb использовали The Immune Epitope Database (IEDB). Приведено описание сконструированной на основе компьютерного дизайна вакцины, в которой спрогнозирована локализация CTL, В и Th эпитопов. Описаны результаты клонирования последовательности антигенно-активного эпитопа белка *S. suis* Lmb в *B. subtilis* для последующего перорального введения и изучения изменений иммунологических реакций и побочных реакций у животных. Выявлена возможность клонировать эпитопы рекомбинантного белка Lmb *S. suis* в полилинкер вектора pBE-S. В перспективе представляется возможным создать новую недорогую и удобную в эксплуатации вакцину против *S. suis*, не требующую инъекционного введения.

Ключевые слова: *Streptococcus suis*, оральная вакцина, *Bacillus subtilis*, эпитоп, Lmb

USING *BACILLUS SUBTILIS* AS AN ORAL VACCINE CARRIER AGAINST *STREPTOCOCCUS SUIIS*

(✉) Afonyushkin V.N.^{1,2}, Fudi Y.¹, Mironova T.E.², Nefedova E.V.², Kilp A.S.^{2,3}, Koptev V.Yu.², Donchenko N.A.^{2,3}

¹Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences

Novosibirsk, Russia

²Siberian Federal Scientific Centre of Agro-BioTechnologies of the Russian Academy of Sciences

Krasnoobsk, Russia

³Novosibirsk State Agrarian University

Novosibirsk, Russia

(✉) e-mail: lisocim@mail.ru

Due to the progressive growth of the bacteria caused by the widespread use of antibiotics, treatment of streptococcosis is becoming increasingly difficult. Reliable vaccination against *Streptococcus suis*

is necessary. Modern molecular diagnostic and genetic engineering capabilities create prospects for direct cloning of the protective epitopes of the Lmb gene of the local *S. suis* strain into the proposed delivery system of the pig immune system antigen. Among oral vaccine carriers, *Bacillus subtilis* is recognized as a relatively environmentally friendly carrier with an efficient protein secretion system and adaptive metabolism capable of spore production under relatively harsh conditions. This spore property can be used to increase the stability and reusability of vaccines. The possibility of using the protective Lmb epitopes of *S. suis* in *B. subtilis* as a carrier of an oral recombinant vaccine against *Streptococcus suis* was studied. The nucleotide sequences of *S. suis* were obtained from the GenBank database after a preliminary analysis of literature data on the known protective antigens of *S. suis* of various serotypes. Nucleotide sequence analysis was performed using Unipro UGENE v. 43.0. The Immune Epitope Database (IEDB) was used to search for T (CTL and Th) and B dependent epitopes of the Lmb gene. A computer-designed vaccine in which localization of CTL, B, and Th epitopes is predicted is described. The results of cloning the sequence of the antigenically active epitope of the *S. suis* Lmb protein in *B. subtilis* for subsequent oral administration and study of changes in immunological reactions and adverse reactions in animals are described. The possibility to clone the epitopes of recombinant *S. suis* Lmb protein into the pBE-S polylinker vector was revealed. In the long term, it seems possible to create a new inexpensive and easy-to-use vaccine against *S. suis* that does not require injection.

Keywords: *Streptococcus suis*, oral vaccine, *Bacillus subtilis*, epitope, Lmb

Для цитирования: Афонюшкин В.Н., Фуди Ян, Миронова Т.Е., Неведова Е.В., Кильп А.С., Коптев В.Ю., Донченко Н.А. Использование *Bacillus subtilis* в качестве носителя оральной вакцины против *Streptococcus suis* // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2022. Т. 52. № 6. С. 78–84. <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2022-6-9>

For citation: Afonyushkin V.N., Fudi Y., Mironova T.E., Nefedova E.V., Kilp A.S., Koptev V.Yu., Donchenko N.A. Using *Bacillus Subtilis* as an oral vaccine carrier against *Streptococcus suis*. *Sibirskii vestnik sel'skokhozyaistvennoi nauki* = *Siberian Herald of Agricultural Science*, 2022, vol. 52, no. 6, pp. 78–84. <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2022-6-9>

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Благодарность

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ и НСО № 22-26-20118 «Изучение возможных механизмов формирования протективного иммунного ответа в отношении некоторых инфекционных агентов свиней и кур при пероральном введении штамма-продуцента антигенов на основе микроорганизмов рода *Bacillus*».

Acknowledgements

The work was supported by the grant of the Russian Science Foundation and the Novosibirsk Region № 22-26-20118 "Studying possible mechanisms of formation of protective immune response against some infectious agents of pigs and chickens with oral administration of strain-producing antigens based on microorganisms of the genus *Bacillus*".

ВВЕДЕНИЕ

Streptococcus suis (*S. suis*) является грам-положительным кокком [1], который может быть разделен на 35 серотипов в соответствии с различными антигенами капсульного полисахарида *Streptococcus* [2]. Из-за прогрессирующего роста резистентности бактерий, вызванного широким применением антибиотиков, лечение *S. suis* становится все более сложной задачей, что приводит к росту потребности в эффективной вакцинации против него [3].

Путь передачи *S. suis* среди свиней обычно следующий: поросята заражаются в организме матери (вертикальная передача) или

от других животных в стаде (горизонтальная передача) [4]. Несмотря на то, что контакт с зараженным мясом или животными через раны незначителен, преобладающий путь передачи *S. suis* человеку – употребление в пищу недоваренной зараженной свинины. Как у свиней, так и у людей *S. suis* может вызывать менингит, септицемию и другие болезни. Данная инфекция вызывает острое зоонозное инфекционное заболевание [5, 6].

На протяжении многих лет ученые проводили исследования различных новых вакцин. В нашем исследовании решено выбрать пероральную вакцину с живыми бактериями в качестве носителя. Считаем, что

пероральное введение может быть простым и легко реализуемым на практике, а также способно стимулировать иммунитет слизистых оболочек [7]. Среди применявшихся оральных вакцин бактерия *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*) признана относительно экологически чистым носителем с эффективной системой секреции белка и адаптивным метаболизмом. Данный микроорганизм также может продуцировать споры в относительно жестких условиях [8]. Это свойство спор может использоваться для повышения стабильности вакцин в относительно неблагоприятных условиях хранения и применения [9]. Технологию использования спорообразующих бактерий успешно применяют в различных производствах, включая производство вакцин [10]. Таким образом, *B. subtilis* является оптимально подходящим переносчиком вакцинных антигенов.

После выбора штамма в качестве вакцинного вектора нам необходимо разработать вакцину. Lmb представляет собой внеклеточный белок, впервые обнаруженный у *S. agalactiae* в 1999 г. [11], далее – у различных видов *Streptococcus* [12, 13]. Последующие исследования показали, что белок Lmb может обладать протективной способностью против стрептококковой инфекции (см. рис. 1).

Lmb представляет собой поверхностный белок, участвующий в абсорбции ионов цинка (возможно, рецептор цинка). Эти белки, связанные с бактериальной адгезией, принадлежат к семейству липопротеиновых рецепторов. Иммунизация мышей показала, что специфические антитела, продуцируемые белком Lmb, могут эффективно противостоять стрептококковой инфекции¹.

Цель исследования – изучить возможность использования протективных эпитопов Lmb *S. suis* в составе *B. subtilis* в качестве носителя оральной рекомбинантной вакцины против *S. suis*.

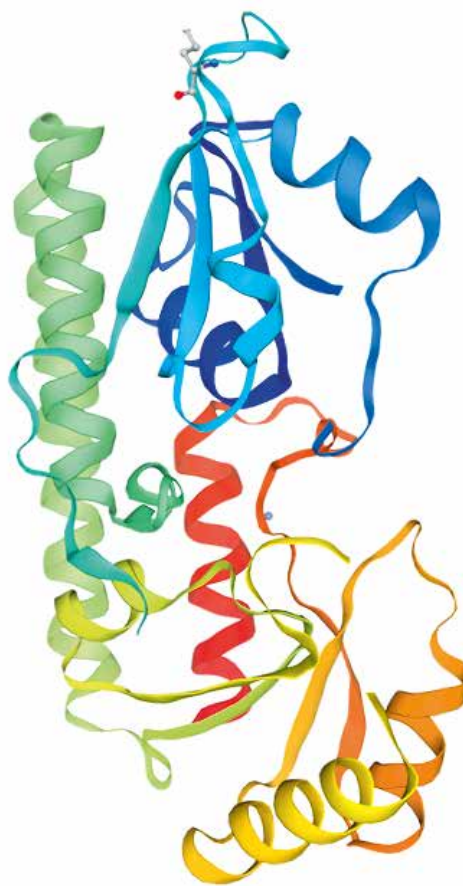


Рис. 1. Lmb: поверхностный белок, связывающий ламинин

Fig. 1. Lmb: surface laminin binding protein

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на базе лаборатории фармакогеномики Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, а также в секторе молекулярной биологии Сибирского федерального центра агробιοтехнологий РАН. Нуклеотидные последовательности *S. suis* получены в базе данных GenBank после предварительного анализа литературных данных об известных протективных антигенах *S. suis* различных серотипов. Анализ нуклеотидных последовательностей проводили с использованием программного обеспечения Unipro UGENE v. 43.0. Для поиска Т (CTL и Th) и В зависимых эпитопов гена Lmb использовали The Immune Epitope Database (IEDB) (см. сноску 1).

¹URL: <http://www.iedb.org/>.

Дизайн праймеров проводили для клонирования и моделирования процесса клонирования участков гена *Lmb*, содержащих Т (CTL и Th) и В зависимые эпитопы, путем лигирования по сайтам рестрикции *Bam*H I, *Hind*III в полилинкер шаттл-вектора *pBE-S*. ДНК *S. suis* выделяли силико-сорбционным методом из полевых изолятов, предоставленных ООО «Алекрис». ПЦР проводили с использованием общепринятых методик на амплификаторе «Терцик» (ООО «ДНК Технологии», Россия).

Для клонирования фрагмента гена *Lmb* были разработаны праймеры:

– Fwd *Lmb*: 5'-GAGGGATCCGCGATGTTAAAGAAAGTGATAAG-3';

– Rev *Lmb*: 5'-GACAAGCTTGGGTAAGTTCACCAATCGC-3'.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Нами использован компьютерный дизайн вакцины для прогнозирования полученных эпитопов-кандидатов (т.е. антигенной де-

терминанты) с использованием алгоритмов, представленных на веб-сайте (см. сноску 1). После проведения скрининга отобрали ламининсвязывающий белок (*Lmb*) в качестве вакцинного антигена (см. рис. 2).

По результатам биоинформатического анализа один эпитоп CTL обнаружен в положениях 12–20 аминокислотных остатков *Lmb*; четыре В-клеточных эпитопа – в позициях 65–75, 131–141, 179–189 и 279–287 аминокислотных остатков *Lmb* соответственно. Эпитопы 1 Th обнаружены в положениях 12–20 аминокислотных остатков *Lmb* (см. табл. 1).

В исследовании применены методики для анализа возможного другого эпитопа белковой последовательности, а затем использован вектор *pBE-S* для трансформации композитии, содержащей протективный эпитоп *Lmb* в *B. subtilis*. В качестве векторного штамма, использовали энтероинвазивный штамм *B. subtilis* 53 ИХБФМ (выделенный и изученный нами ранее).

>AER14507.1 laminin binding protein [Streptococcus suis SS12]
MLKKVIRGCFV^{ALFGFVLAA}CSAQKEASQVQPGMKIVTSFYPIYSLVKEVSGNKNDVRMIGSRQGIHSYE
PSAADIKAIYDADVFIYHSRILESWAGRLEPNLQGSSVKVLEASTNLPLTKVPGLEDMEAGQGIDEASLY
DPHTWLDPV^{LVGQEAVAI}GELLAESDPKNADYYRQNAATLEGKAQKLADKYSPIFLKATSKT^{FVTQHTAF}
^{SYTAQRFGLKQLGIAGVSEEEPSRQLAEIKEFVDVTYNVQTFTEKGASDKLAKALASSTGVDLKVLDPLEADPENN}LTYLENLEQVLETLAQELK

Рис. 2. Локализация эпитопов ЦТЛ и В-клеток *Lmb* по данным биоинформатического анализа.

Примечание. Эпитоп ЦТЛ (цитотоксические Т-клетки, цитотоксические Т-лимфоциты) отмечен фиолетовым, сегменты В-клеточного эпитопа – синим, эпитоп Th – зеленым.

Fig. 2. Localization of CTL epitopes and B-cells *Lmb* according to bioinformatics analysis

Note. The CTL epitope (cytotoxic T-cells, cytotoxic T-lymphocytes) is marked in purple, the B-cell epitope segments are marked in blue, the Th-epitope is marked in green.

Табл. 1. Аминокислотные и нуклеотидные последовательности CTL, В и Th эпитопов *Lmb* белка *S. suis* (SS12)

Table 1. Amino acid and nucleotide sequences of CTL, B, and Th epitopes of *Lmb* of *S. suis* (SS12) protein

№	Нуклеотидная последовательность	Аминокислотная последовательность
<i>Предсказанный эпитоп В</i>		
1	GGCATACACTCTTATGAACCATCGGCTGCGGAC	GIHSYEPSAAD
2	GGTCAAGGGATTGATGAAGCTAGTTTATATGAC	GQGIDEASLYD
3	ACTTTAGAGGGAAAGGCGCAAAAGTTGGCAGAC	TLEGKAQKLAD
4	CCTCTTGAAGCAGATCCAGAAAATAAT	PLEADPENN
<i>Предсказанный эпитоп CTL</i>		
1	GCCTTATTCGGTTTTGTTTTAGCAGCT	ALFGFVLAA
<i>Предсказанный эпитоп Th</i>		
1	TTGGTTGGTCAGGAAGCTGTTGCGATT	LVGQEAVAI
2	TTTGTCACTCAACACACAGCCTTCTCT	FVTQHTAFS

Челночный вектор pBE-S способен экспрессировать рекомбинантный белок в клетках *B. subtilis*, также он имеет дополнительный источник репликации (ориджин) в клетках *Escherichia coli*. Разработанные нами праймеры имеют дополнительные сайты рестрикции Bam HI и Hind III, что позволяет клонировать найденные эпитопы в полилинкер данного вектора, в том числе амплифицируя их из первичных изолятов *S. suis* и патологического материала (см. рис. 3).

По результатам биоинформатического анализа гена Lmp *S. suis* выявлены антиген-

ные эпитопы, перспективные для создания рекомбинантной вакцины: один эпитоп STL обнаружен в положениях 12–20 аминокислотных остатков Lmb, четыре В-клеточных эпитопа – в позициях 65–75, 131–141, 179–189 и 279–287 аминокислотных остатков Lmb соответственно. Эпитопы Th 1 обнаружены в положениях 12–20 аминокислотных остатков Lmb. Предложенная система доставки рекомбинантных протективных антигенов *S. suis* включает плазмидный вектор pBE-S в составе энтероинвазивного штамма *B. subtilis* B53 ИХБФМ.

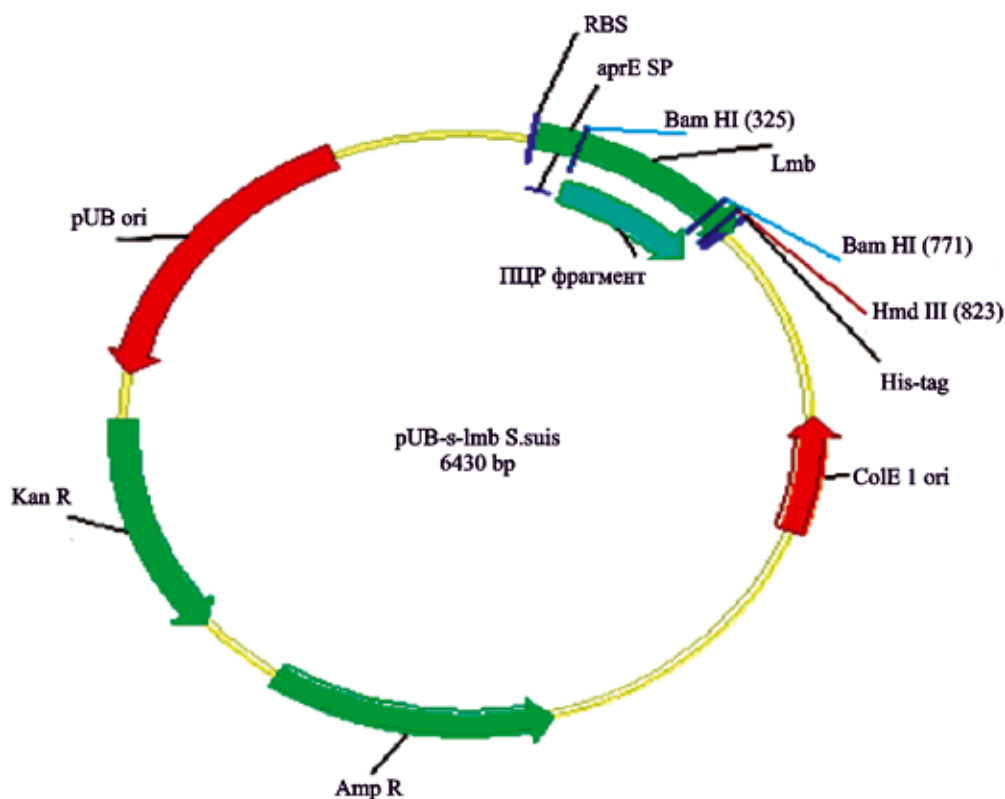


Рис. 3. Карта плазмидного вектора pBE-S со вставкой *S. suis* Lmb:

pUB ori – ориджин для рода *Bacillus* (сайт старта начала репликации плазмиды); ColE1 ori – ориджин для *E. coli*; Kan R – ген устойчивости к канамицину (экспрессируется в бактериях рода *Bacillus*); Amp R – ген устойчивости к ампициллину (экспрессируется в *Escherichia coli*); His-tag – гистидиновый хвост на никелевых колонках для выделения рекомбинантного белка; Hind III (823), Bam HI (771), Bam HI (325) – сайты рестрикции; Lmb – фрагмент антигена *S. suis*; aprE Sp; RBS – промотерная область для экспрессии белка у микроорганизмов рода *Bacillus*

Fig. 3. Map of plasmid vector pBE-S with *S. suis* Lmb insert:

pUB ori - origin for *Bacillus* genus (plasmid replication start site); ColE1 ori - origin for *E. coli*; Kan R, kanamycin resistance gene (expressed in *Bacillus* bacteria); AmpR, ampicillin resistance gene (expressed in *Escherichia coli*); His-tag, histidine tail on nickel columns for recombinant protein isolation; Hind III (823), Bam HI (771), Bam HI (325), restriction sites; Lmb, fragment of *S. suis*; aprE Sp; RBS, promoter region for protein expression in microorganisms of the genus *Bacillus*

ВЫВОДЫ

1. Выявлена возможность клонировать эпитопы рекомбинантного белка Lmb *S. suis* в полилинкер вектора pBE-S.

2. В перспективе представляется возможным создать новую недорогую и удобную в эксплуатации вакцину против *S. suis*, не требующую инъекционного введения.

3. Современные возможности молекулярной диагностики и генной инженерии создают перспективы для прямого клонирования протективных эпитопов гена Lmb местного штамма *S. suis* в предложенную систему доставки антигена иммунной системе свиней.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Van de Beek D.L., Spanjaard J. Streptococcus suis meningitis in the Netherlands // Journal of Infectious Diseases. 2008. Vol. 57. N 2. P. 158–161. DOI: 10.1016/j.jinf.2008.04.009.
2. Feng Y., Xiuzhen Pan, Wen Sun, Changjun Wang. Streptococcus suis enolase functions as a protective antigen displayed on the bacterial cell surface // Journal of Infectious Diseases. 2009. Vol. 200. N 10. P. 1583–1592. DOI: 10.1086/644602.
3. Segura M. Streptococcus suis vaccines: Candidate antigens and progress // Expert Review of Vaccines. 2015. Vol. 14. N 12. P. 1587–1608. DOI: 10.1586/14760584.2015.1101349.
4. Bonifait L., Veillette M., Létourneau V., Grenier D., Duchaine C. Detection of Streptococcus suis in bioaerosols of swine confinement buildings // Applied and Environmental Microbiology. 2014. Vol. 80. N 11. P. 3296–3304. DOI: 10.1128/AEM.04167-13.
5. Michaud S., Duperval R., Higgins R. Streptococcus suis meningitis: First case reported in Quebec // Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology. 1996. Vol. 7. N 5. P. 329–331.
6. Segura M., Zheng H., De Greeff A. Latest developments on Streptococcus suis: An emerging zoonotic pathogen: Part 2 // Future Microbiology. 2014. Vol. 9. N 5. P. 587–591. DOI: 10.2217/fmb.14.15.
7. Czerkinsky C., Russell M.W., Lycke N., Lindblad M. Oral administration of a streptococcal antigen coupled to cholera toxin B subunit evokes strong antibody responses in salivary

- glands and extramucosal tissues // Infection and Immunity. 1989. Vol. 57. N 4. P. 1072–1077.
8. Su Y., Liu C., Fang H., Zhang D. Bacillus subtilis: A universal cell factory for industry, agriculture, biomaterials and medicine // Microbial Cell Factor. 2020. Vol. 19. N 1. P. 1–12. DOI: 10.1186/s12934-020-01436-8.
 9. Hagmann M. Computers Aid Vaccine Design // Science. 2000. Vol. 290. N 5489. P. 80–82. DOI: 10.1126/science.290.5489.80.
 10. Chen H., Ullah J., Jia J. Progress in Bacillus subtilis Spore Surface Display Technology towards Environment, Vaccine Development, and biocatalysis // Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology. 2017. Vol. 27. N 3. P. 159–167. DOI: 10.1159/000475177. Epub 2017 Jun 13.
 11. Schnitzler N., Lütticken R., Podbielski A. Lmb, a protein with similarities to the LraI adhesin family, mediates attachment of Streptococcus agalactiae to human laminin // Infection and Immunity. 1999. Vol. 67. N 2. P. 871–878. DOI: 10.1128/IAI.67.2.871-878.1999.
 12. Terao Y., Kawabata S., Kunitomo E., Nakagawa I., Hamada S. Novel laminin-binding protein of Streptococcus pyogenes, Lbp, is involved in adhesion to epithelial cells // Infection and Immunity. 2002. Vol. 70. N 2. P. 993–997. DOI: 10.1128/IAI.70.2.993-997.2002.
 13. Loisel E., Jacquemet L., Sterne L., Bauvois C., Luc Ferrari J., Verrat T., Di Guilmi A.M. Claire DurmortAdcAII, A New Pneumococcal Zn-Binding Protein Homologous with ABC Transporters: Biochemical and Structural Analysis // Journal of Molecular Biology. 2008. Vol. 381. N 3. P. 594–606. DOI: 10.1016/j.jmb.2008.05.068. Epub 2008 Jun 3.

REFERENCES

1. Van de Beek D.L., Spanjaard J. Streptococcus suis meningitis in the Netherlands. *Journal of Infectious Diseases*, 2008, vol. 57, no. 2, pp. 158–161. DOI: 10.1016/j.jinf.2008.04.009.
2. Feng Y., Xiuzhen Pan, Wen Sun, Changjun Wang. Streptococcus suis enolase functions as a protective antigen displayed on the bacterial cell surface. *Journal of Infectious Diseases*, 2009, vol. 200, no. 10, pp. 1583–1592. DOI: 10.1086/644602.
3. Segura M. Streptococcus suis vaccines: Candidate antigens and progress. *Expert Review of Vaccines*, 2015, vol. 14, no. 12, pp. 1587–1608. DOI: 10.1586/14760584.2015.1101349.

4. Bonifait L., Veillette M., Létourneau V., Grenier D., Duchaine C. Detection of *Streptococcus suis* in bioaerosols of swine confinement buildings. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, vol. 80, no. 11, pp. 3296–3304. DOI: 10.1128/AEM.04167-13.
5. Michaud S., Duperval R., Higgins R. *Streptococcus suis* meningitis: First case reported in Quebec. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*, 1996, vol. 7, no. 5, pp. 329–331.
6. Segura M., Zheng H., De Greeff A. Latest developments on *Streptococcus suis*: An emerging zoonotic pathogen: Part 2. *Future Microbiology*, 2014, vol. 9, no. 5, pp. 587–591. DOI: 10.2217/fmb.14.15.
7. Czerkinsky C., Russell M.W., Lycke N., Lindblad M. Oral administration of a streptococcal antigen coupled to cholera toxin B subunit evokes strong antibody responses in salivary glands and extramucosal tissues. *Infection and Immunity*. 1989, vol. 57, no. 4, pp. 1072–1077.
8. Su Y., Liu C., Fang H., Zhang D. *Bacillus subtilis*: A universal cell factory for industry, agriculture, biomaterials and medicine. *Microbial Cell Factor*, 2020, vol. 19, no. 1, pp. 1–12. DOI: 10.1186/s12934-020-01436-8.
9. Hagmann M. Computers Aid Vaccine Design. *Science*, 2000, vol. 290, no. 5489, pp. 80–82. DOI: 10.1126/science.290.5489.80.
10. Chen H., Ullah J., Jia J. Progress in *Bacillus subtilis* Spore Surface Display Technology towards Environment, Vaccine Development, and biocatalysis. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 2017, vol. 27, no. 3, pp. 159–167. DOI: 10.1159/000475177. Epub 2017 Jun 13.
11. Schnitzler N., Lütticken R., Podbielski A. Lmb, a protein with similarities to the Lral adhesin family, mediates attachment of *Streptococcus agalactiae* to human laminin. *Infection and Immunity*, 1999, vol. 67, no. 2, pp. 871–878. DOI: 10.1128/IAI.67.2.871-878.1999.
12. Terao Y., Kawabata S., Kunitomo E., Nakagawa I., Hamada S. Novel laminin-binding protein of *Streptococcus pyogenes*, Lbp, is involved in adhesion to epithelial cells. *Infection and Immunity*, 2002, vol. 70, no. 2, pp. 993–997. DOI: 10.1128/IAI.70.2.993-997.2002.
13. Loisel E., Jacquemet L., Sterne L., Bauvois C., Luc Ferrari J., Verrat T., Di Guilmi A.M. Claire DurmortAdcAII, A New Pneumococcal Zn-Binding Protein Homologous with ABC Transporters: Biochemical and Structural Analysis. *Journal of Molecular Biology*, 2008, vol. 381, no. 3, pp. 594–606. DOI: 10.1016/j.jmb.2008.05.068. Epub 2008 Jun 3.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

✉ **Афонюшкин В.Н.**, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник; **адрес для переписки:** Россия, 630501, Новосибирская область, р.п. Краснообск, а/я 463; e-mail: isocim@mail.ru

Фуди Ян, аспирант

Миронова Т.Е., младший научный сотрудник

Нефедова Е.В., кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник

Кильп А.С., младший научный сотрудник, аспирант

Коптев В.Ю., кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник

Донченко Н.А., доктор ветеринарных наук, член-корреспондент РАН, руководитель структурного подразделения

AUTHOR INFORMATION

✉ **Vasily N. Afonyushkin**, Candidate of Science in Biology, Lead Researcher; **address:** PO Box 463, Krasnoobsk, Novosibirsk Region, 630501, Russia; e-mail: isocim@mail.ru

Yang Fudi, Postgraduate student

Tatyana E. Mironova, Junior Researcher

Ekaterina V. Nefedova, Candidate of Science in Veterinary Medicine, Senior Researcher

Anna S. Kilp, Junior Researcher, Postgraduate student

Vyacheslav Yu. Koptev, Candidate of Science in Veterinary Medicine, Lead Researcher

Nikolay A. Donchenko, Doctor of Science in Veterinary Medicine, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Business Unit Supervisor

Дата поступления статьи / Received by the editors 09.08.2022
Дата принятия к публикации / Accepted for publication 22.11.2022
Дата публикации / Published 27.12.2022