

Н.Н. Мухами^{1,2}, С.К. Кендирбаева^{2,1}, К.А. Шораева¹,
М.Д. Алмежанова¹, В.М. Строчков¹, К.Т. Султанкулова¹

¹Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности,
пгт. Гвардейский, Жамбылская область, Казахстан;

²Кыргызский государственный университет им. И. Арабаева, Бишкек, Кыргызстан
(E-mail: mukhami.nazym@mail.ru)

Генетический анализ вирулентного гена *hgbA* бактерии *Pasteurella multocida*

Ген *hgbA* имеет особое значение для выживания бактерии *Pasteurella multocida* в клетке у хозяина и сохранения его патогенности. Ген *hgbA* может использоваться в качестве маркера в эпидемиологических мониторинговых исследованиях. В ходе экспериментов были наработаны ПЦР продукты гена *hgbA*, кодирующего железосвязывающие белки пяти бактериальных штаммов *Pasteurella multocida*, выделенных от сайгаков в Казахстане. Были расшифрованы нуклеотидные последовательности гена *hgbA* штаммов *Pasteurella multocida*, выделенных от сайгаков в Казахстане. Нуклеотидная последовательность гена *hgbA* казахстанского штамма *Pasteurella/Saigas/2011/ZKO/KZ* была депонирована в Международную базу GenBank под номером KT238895.1. Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей гена *hgbA Pasteurella multocida* показал, что казахстанские штаммы бактерии *Pasteurella multocida*, выделенные в 2010, 2011 и 2012 гг. идентичны между собой на 100 %. Нуклеотидные последовательности гена *hgbA* казахстанских штаммов бактерии *Pasteurella multocida* показали 99 %-ную гомологию со штаммом *Pasteurella multocida_Pm25* (AF331501.1) из Международной базы GenBank. Эти исследования необходимы для выяснения патогенеза и роли гена *hgbA* в качестве одного из факторов вирулентности бактерии *Pasteurella multocida* в иммунном процессе.

Ключевые слова: *Pasteurella multocida*, ген, ПЦР, генетический анализ, факторы вирулентности.

Введение

Pasteurella multocida — условно-патогенная грамотрицательная бактерия, постоянно обитающая на слизистой оболочке верхних дыхательных путей животных. Бактерия обладает несколькими факторами вирулентности (капсула, дермонекротический токсин, адгезины, протектины, гиалуронидаза, железотранспортирующие протеины и др.), обуславливающими ее патогенность для животных. Геном *Pasteurella multocida* состоит из одной кольцевой хромосомы длиной в 2257487 пар оснований, содержит приблизительно 2014 кодирующих генов, 6 рибосомальных РНК оперонов и 57 tRNAs [1].

Бактерии производят и высвобождают в окружающую среду микромолекулы с различными химическими структурами, известные как сидерофоры, которые способны хелатировать свободное железо. Сидерофоры как специфические белковые рецепторы участвуют в процессе поглощения железа [2]. И к числу таких сидерофоров относится гемоглобин-связывающий наружный белок А, кодирующийся геном *hgbA*. Этот ген кодирует белок, который отвечает за регулирование гемоглобина в организме [3].

Роль железа в патогенезе *Pasteurella multocida* очень важна [4]. Существует два независимых механизма приобретения железа белками *Pasteurella multocida*. Первый механизм — железосвязывающие белки экспрессируются на наружной мембране бактериальной клетки, взаимодействуя непосредственно с железосвязывающим гликопротеином. Второй механизм — бактериальные белки связываются с гемоглобином и гемоглобинным комплексом [5].

Ген *hgbA* имеет особое значение для выживания бактерии *Pasteurella multocida* в клетке у хозяина и сохранения его патогенности. Поэтому целью данной работы является проведение генетического анализа гена *hgbA* бактерий *Pasteurella multocida*, выделенных от павших сайгаков в Казахстане.

Ген *hgbA* может использоваться в качестве маркера в эпидемиологических мониторинговых исследованиях.

Материалы и методы

В эксперименте были использованы ДНК штаммов бактерии рода *Pasteurella*, выделенные в Казахстане: *Pasteurella/Saigas/2010/ZKO/KZ*, *Pasteurella/Saigas/2011/ZKO/KZ*, *Pasteurella/Saigas/2012/Kostanai/KZ*, Сайгачий/88 и Сайгачий/88 (телячий).

Выделение ДНК. Выделение ДНК проведено с помощью коммерческого набора «DNeasy® Blood & Tissue Kit (250)», фирмы Qiagen.

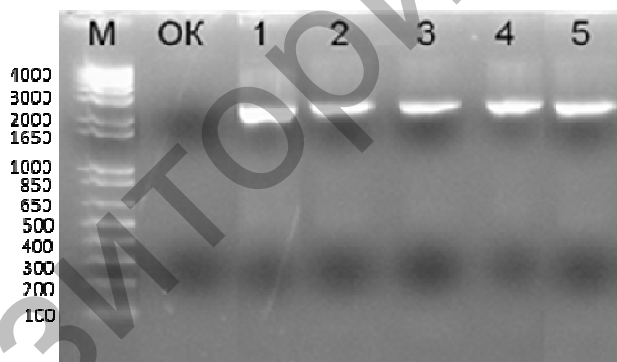
Проведение ПЦР. Реакционная смесь для постановки реакции состояла из следующих компонентов: Master mix объем 25 мкл, 10x ПЦР буфер — 2,5 мкл, dNTP — 1 мкл, MgCl₂ — 1 мкл; 10 пмоль F праймер — 1 мкл, 10 пмоль R праймер — 1 мкл, 5 ед. Taq DNA Polymerase — 0,5 мкл; H₂O — 13 мкл, ДНК — 3 мкл. Нарботка ПЦР-продуктов проведена в термоциклере GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems, США) согласно следующему режиму амплификации: 94 °C — 3 мин, 35 цикл, 94 °C — 20 с, 57 °C — 20 с, 72 °C — 40 с и 72 °C — 7 мин. При постановке ПЦР были использованы олигонуклеотидные праймеры: *hgbAs* -5'- TCA ACG GCA GAT AAT CAG GG -3' и *hgbAa* -5'- GCG GGA ATG CTG AAG ATA AG-3'.

Электрофоретический анализ. ПЦР продукты амплификации ДНК бактерии *Pasteurella multocida* анализированы в 1,5 % агарозном геле в TAE-буфере при напряжении 80 В/см длины геля, в течение 60 мин с дальнейшей детекцией на трансиллюминаторе Gel ChemiDoc («Bio-Rad» США). Полученные результаты были визуализированы и зарегистрированы с помощью программы «Quantity One».

Определение нуклеотидной последовательности. Секвенирование проведено методом дидезоксисеквенирования с использованием терминирующих дидезоксинуклеотидов (метод Сенгера) на автоматическом 16-капиллярном секвенаторе GenTic Analyser 3130xl, (Applied Biosystems, USA). Последовательность фрагмента ДНК содержала 2167 пар оснований. Нуклеотидная последовательность гена *hgbA* казахстанского штамма *Pasteurella/Saigas/2011/ZKO/KZ* была депонирована в международную базу GenBank под номером KT238895.1.

Результаты исследования и их обсуждение

Амплификация гена *hgbA* проведена в ПЦР с использованием праймеров *hgbAs* и *hgbAa* для исследуемого гена. Результаты представлены на рисунке 1.



M — Маркер, 1 п.о., Invitrogen; OK — отрицательный контроль; 1 — шт. *Pasteurella/saigas/2010/ZKO/KZ*; 2 — шт. *Pasteurella/saigas/2011/ZKO/KZ*; 3 — шт. *Pasteurella/saigas/2012/Kostanai/KZ*; 4 — шт. Сайгачий/88; 5 — шт. Сайгачий/88 (телячий)

Рисунок 1. Электрофореграмма ПЦР продукта гена *hgbA* (2167 п.о.) *Pasteurella multocida*

На рисунке 1 показаны ПЦР фрагменты гена *hgbA* казахстанских штаммов бактерии *Pasteurella multocida* с размерами 2167 п.о. Определены нуклеотидные последовательности полученных ПЦР продуктов гена *hgbA*. Был проведен сравнительный молекулярно-генетический анализ нуклеотидных последовательностей гена *hgbA* казахстанских штаммов *Pasteurella multocida* с данными базы GenBank (рис. 2).

	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<input type="checkbox"/>	Pasteurella multocida strain PM25 HgbA gene, complete cds	3947	4720	100%	0.0	99%	AF331501.1
<input type="checkbox"/>	Haemophilus influenzae strain NTHI2019 hemoglobin-haptoglobin binding protei	2745	3263	90%	0.0	92%	KC607496.1
<input type="checkbox"/>	Haemophilus influenzae Rd KW20, complete genome	2499	2499	75%	0.0	90%	L42023.1
<input type="checkbox"/>	Pasteurella multocida subsp. multocida str. HB03, complete genome	1989	2702	61%	0.0	98%	CP003328.1
<input type="checkbox"/>	Pasteurella multocida 36950, complete genome	1989	2702	61%	0.0	98%	CP003022.1
<input type="checkbox"/>	Haemophilus influenzae KR494, complete genome	1914	2432	71%	0.0	96%	CP005967.1
<input type="checkbox"/>	Pasteurella multocida putative TonB-dependent receptor (hgbA) gene, complete	1882	2567	58%	0.0	98%	AF237932.1
<input type="checkbox"/>	Pasteurella multocida subsp. multocida str. 3480, complete genome	1847	3127	88%	0.0	95%	CP001409.1
<input type="checkbox"/>	Pasteurella multocida subsp. multocida str. HN06, complete genome	1847	3127	88%	0.0	95%	CP003313.1
<input type="checkbox"/>	Pasteurella multocida subsp. multocida str. Pm70, complete genome	1831	3083	88%	0.0	95%	AE004439.1
<input type="checkbox"/>	Actinobacillus actinomycetemcomitans strain HK1002 hemoglobin binding protei	193	193	34%	1e-44	71%	AF359451.1

Рисунок 2. Сравнительный анализ гена *hgbA* с данными GenBank

Полученные результаты сравнительного анализа показали, что исследуемые казахстанские штаммы по гену *hgbA* идентичны на 99 % со штаммом *Pasteurella multocida*_Pm25 (AF331501.1), а также на 98 % со штаммами *Pasteurella multocida*_HB03 (CP003328.1), *Pasteurella multocida*_36950 (CP003022.1), *Pasteurella multocida*_hgbA gene (AF237932.1).

На рисунке 3 представлены результаты сравнительного анализа казахстанских штаммов между собой и с данными международной базы GenBank по нуклеотидным последовательностям гена *hgbA*.

	396	400	410	420	430	440	450	460	470	480	490	501
P.m.hgbA_2010_KZ	169	CGGTTCTTCTCAACAAGATGAGATGAATATTAAGAGAAAAAAGTCGGTGAACCTGTGAAAAACGGCGAGTCAATTGAAACGCCAGCAAGTACAGGATAGTCGTGA										
P.m.hgbA_2011_KZ	169	CGGTTCTTCTCAACAAGATGAGATGAATATTAAGAGAAAAAAGTCGGTGAACCTGTGAAAAACGGCGAGTCAATTGAAACGCCAGCAAGTACAGGATAGTCGTGA										
P.m.hgbA_2012_KZ	321	CGGTTCTTCTCAACAAGATGAGATGAATATTAAGAGAAAAAAGTCGGTGAACCTGTGAAAAACGGCGAGTCAATTGAAACGCCAGCAAGTACAGGATAGTCGTGA										
P.m.hgbA_88_KZ	338	CGGTTCTTCTCAACAAGATGAGATGAATATTAAGAGAAAAAAGTCGGTGAACCTGTGAAAAACGGCGAGTCAATTGAAACGCCAGCAAGTACAGGATAGTCGTGA										
P.m.hgbA_88/tel_KZ	47	CGGTTCTTCTCAACAAGATGAGATGAATATTAAGAGAAAAAAGTCGGTGAACCTGTGAAAAACGGCGAGTCAATTGAAACGCCAGCAAGTACAGGATAGTCGTGA										
P.m.hgbA_PM25	393	CGGTTCTTCTCAACAAGATGAGATGAATATTAAGAGAAAAAAGTCGGTGAACCTGTGAAAAACGGCGAGTCAATTGAAACGCCAGCAAGTACAGGATAGTCGTGA										
P.m.hbA_36950	168	CGGTTCTTCTCAACAAGATGAGATGAATATTAAGAGAAAAAAGTCGGTGAACCTGTGAAAAACGGCGAGTCAATTGAAACGCCAGCAAGTACAGGATAGTCGTGA										
P.m.hgbA_3480	168	CGGTTCTTCTCAACAAGATGAGATGAATATTAAGAGAAAAAAGTCGGTGAACCTGTGAAAAACGGCGAGTCAATTGAAACGCCAGCAAGTACAGGATAGTCGTGA										
P.m.hgbA_HB03	168	CGGTTCTTCTCAACAAGATGAGATGAATATTAAGAGAAAAAAGTCGGTGAACCTGTGAAAAACGGCGAGTCAATTGAAACGCCAGCAAGTACAGGATAGTCGTGA										
P.m.hgbA_HN06	168	CGGTTCTTCTCAACAAGATGAGATGAATATTAAGAGAAAAAAGTCGGTGAACCTGTGAAAAACGGCGAGTCAATTGAAACGCCAGCAAGTACAGGATAGTCGTGA										
P.m.hgbA_Pm70	168	CGGTTCTTCTCAACAAGATGAGATGAATATTAAGAGAAAAAAGTCGGTGAACCTGTGAAAAACGGCGAGTCAATTGAAACGCCAGCAAGTACAGGATAGTCGTGA										
Consensus	396	CGGTTCTTCTCAACAAGATGAGATGAATATTAAGAGAAAAAAGTCGGTGAACCTGTGAAAAACGGCGAGTCAATTGAAACGCCAGCAAGTACAGGATAGTCGTGA										

	593	600	610	620	630	640	650	660	670	680	690
P.m.hgbA_2010_KZ	366	GTGGCAATTACAGTAGATGGCTTACATCAAGCAGAAAACCCCTTCTCTCAAGGTTTAAAGAATTATTTGAAGGTTACGGCAATTTTAAACAATACCCGAAA									
P.m.hgbA_2011_KZ	366	GTGGCAATTACAGTAGATGGCTTACATCAAGCAGAAAACCCCTTCTCTCAAGGTTTAAAGAATTATTTGAAGGTTACGGCAATTTTAAACAATACCCGAAA									
P.m.hgbA_2012_KZ	518	GTGGCAATTACAGTAGATGGCTTACATCAAGCAGAAAACCCCTTCTCTCAAGGTTTAAAGAATTATTTGAAGGTTACGGCAATTTTAAACAATACCCGAAA									
P.m.hgbA_88_KZ	535	GTGGCAATTACAGTAGATGGCTTACATCAAGCAGAAAACCCCTTCTCTCAAGGTTTAAAGAATTATTTGAAGGTTACGGCAATTTTAAACAATACCCGAAA									
P.m.hgbA_88/tel_KZ	244	GTGGCAATTACAGTAGATGGCTTACATCAAGCAGAAAACCCCTTCTCTCAAGGTTTAAAGAATTATTTGAAGGTTACGGCAATTTTAAACAATACCCGAAA									
P.m.hgbA_PM25	590	GTGGCAATTACAGTAGATGGCTTACATCAAGCAGAAAACCCCTTCTCTCAAGGTTTAAAGAATTATTTGAAGGTTACGGCAATTTTAAACAATACCCGAAA									
P.m.hbA_36950	365	GTGGCAATTACAGTAGATGGCTTACATCAAGCAGAAAACCCCTTCTCTCAAGGTTTAAAGAATTATTTGAAGGTTACGGCAATTTTAAACAATACCCGAAA									
P.m.hgbA_3480	365	GTGGCAATTACAGTAGATGGCTTACATCAAGCAGAAAACCCCTTCTCTCAAGGTTTAAAGAATTATTTGAAGGTTACGGCAATTTTAAACAATACCCGAAA									
P.m.hgbA_HB03	365	GTGGCAATTACAGTAGATGGCTTACATCAAGCAGAAAACCCCTTCTCTCAAGGTTTAAAGAATTATTTGAAGGTTACGGCAATTTTAAACAATACCCGAAA									
P.m.hgbA_HN06	365	GTGGCAATTACAGTAGATGGCTTACATCAAGCAGAAAACCCCTTCTCTCAAGGTTTAAAGAATTATTTGAAGGTTACGGCAATTTTAAACAATACCCGAAA									
P.m.hgbA_Pm70	365	GTGGCAATTACAGTAGATGGCTTACATCAAGCAGAAAACCCCTTCTCTCAAGGTTTAAAGAATTATTTGAAGGTTACGGCAATTTTAAACAATACCCGAAA									
Consensus	593	GTGGCAATTACAGTAGATGGCTTACATCAAGCAGAAAACCCCTTCTCTCAAGGTTTAAAGAATTATTTGAAGGTTACGGCAATTTTAAACAATACCCGAAA									

	910	910	920	930	940	950	960	970	980	990	1000
P.m.hgbA_2010_KZ	683	AATGTTTGATGCATTGATTATGCACTCTAAGCGACATGGACATGAATTAGAAAAATTATGACTATAAAAAATGGCAGAGATATTCAGGGGAAAGAAA									
P.m.hgbA_2011_KZ	683	AATGTTTGATGCATTGATTATGCACTCTAAGCGACATGGACATGAATTAGAAAAATTATGACTATAAAAAATGGCAGAGATATTCAGGGGAAAGAAA									
P.m.hgbA_2012_KZ	792	AATGTTTGATGCATTGATTATGCACTCTAAGCGACATGGACATGAATTAGAAAAATTATGACTATAAAAAATGGCAGAGATATTCAGGGGAAAGAAA									
P.m.hgbA_88_KZ	852	AATGTTTGATGCATTGATTATGCACTCTAAGCGACATGGACATGAATTAGAAAAATTATGACTATAAAAAATGGCAGAGATATTCAGGGGAAAGAAA									
P.m.hgbA_88/tel_KZ	561	AATGTTTGATGCATTGATTATGCACTCTAAGCGACATGGACATGAATTAGAAAAATTATGACTATAAAAAATGGCAGAGATATTCAGGGGAAAGAAA									
P.m.hgbA_PM25	907	AATGTTTGATGCATTGATTATGCACTCTAAGCGACATGGACATGAATTAGAAAAATTATGACTATAAAAAATGGCAGAGATATTCAGGGGAAAGAAA									
P.m.hbA_36950	682	AATGTTTGATGCATTGATTATGCACTCTAAGCGACATGGACATGAATTAGAAAAATTATGACTATAAAAAATGGCAGAGATATTCAGGGGAAAGAAA									
P.m.hgbA_3480	682	AATGTTTGATGCATTGATTATGCACTCTAAGCGACATGGACATGAATTAGAAAAATTATGACTATAAAAAATGGCAGAGATATTCAGGGGAAAGAAA									
P.m.hgbA_HB03	682	AATGTTTGATGCATTGATTATGCACTCTAAGCGACATGGACATGAATTAGAAAAATTATGACTATAAAAAATGGCAGAGATATTCAGGGGAAAGAAA									
P.m.hgbA_HN06	682	AATGTTTGATGCATTGATTATGCACTCTAAGCGACATGGACATGAATTAGAAAAATTATGACTATAAAAAATGGCAGAGATATTCAGGGGAAAGAAA									
P.m.hgbA_Pm70	682	AATGTTTGATGCATTGATTATGCACTCTAAGCGACATGGACATGAATTAGAAAAATTATGACTATAAAAAATGGCAGAGATATTCAGGGGAAAGAAA									
Consensus	910	AATGTTTGATGCATTGATTATGCACTCTAAGCGACATGGACATGAATTAGAAAAATTATGACTATAAAAAATGGCAGAGATATTCAGGGGAAAGAAA									

Рисунок 3. Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей гена *hgbA Pasteurella multocida*

По результатам сравнительного анализа нуклеотидных последовательностей гена *hgbA* видно (рис. 3), что казахстанские штаммы *Pasteurella/Saigas/2010/ZKO/KZ*, *Pasteurella/Saigas/2011/ZKO/KZ*, *Pasteurella/Saigas/2012/Kostanai/KZ*, Сайгачий/88, Сайгачий/88 (телячий) имеют 100 % идентичность между собой. Самым близкородственным к казахстанским образцам оказался штамм *Pasteurella multocida_Pm25* (AF331501.1). *Pasteurella multocida_Pm25* (AF331501.1) и казахстанские штаммы отличаются от других штаммов из базы GenBank наличием двух нуклеотидных замен: С на Т в позиции 645 и Т на С в позиции 811. Штамм *Pasteurella multocida_Pm25* (AF331501.1) имеет одну нуклеотидную замену А на Т в позиции 962 по сравнению со всеми исследуемыми штаммами.

Полученные данные свидетельствуют о том, что ген *hgbA* может быть использован в качестве биомаркера для выявления вирулентности бактерии *Pasteurella multocida*.

Заключение

В результате проведенных работ были наработаны ПЦР продукты гена *hgbA*, кодирующего железосвязывающие белки бактериальных штаммов *Pasteurella multocida*, выделенных от сайгаков в Казахстане. Расшифрованы нуклеотидные последовательности гена *hgbA* казахстанских штаммов *Pasteurella/Saigas/2010/ZKO/KZ*, *Pasteurella/Saigas/2011/ZKO/KZ*, *Pasteurella/Saigas/2012/Kostanai/KZ*, «Сайгачий/88», «Сайгачий/88 (телячий)». Проведен сравнительный анализ нуклеотидной последовательности гена *hgbA* штаммов, выделенных в Казахстане со штаммами *Pasteurella multocida* из международной базы GenBank. Выявлена тесная родовая связь между штаммами бактерии *Pasteurella multocida*, выделенных от сайгаков в Казахстане. Также определена 99 %-ная гомология со штаммом *Pasteurella multocida_Pm25* (AF331501.1) из международной базы GenBank.

Эти исследования необходимы для выяснения патогенеза и роли гена *hgbA* в качестве одного из факторов вирулентности бактерии *Pasteurella multocida* в иммунном процессе.

Список литературы

- 1 May B.J. Complete genomic sequence of *Pasteurella multocida*, Pm70 / B.J. May, Q. Zhang, L.L. Li, M.L. Paustian, T.S. Whittam, V. Kapur // Proc Natl Acad Sci USA. — 2001. — P. 3460–3465.
- 2 Boyce J.D. *Pasteurella multocida* capsule: composition, function and genetics/ J.D. Boyce, J.Y. Chung, B. Adler // Journal of Biotechnology. — 2000. — P. 153–160.
- 3 Ratledge C. Iron metabolism in pathogenic bacteria / C. Ratledge, L.G. Dover // Annu. Rev. Microbiol. — 2000. — Vol. 54. — P. 881–941.
- 4 Tang X. Isolation, antimicrobial resistance, and virulence genes of *Pasteurella multocida* strains from swine in China / X. Tang, Z. Zhao, J. Hu // Journal of Clinical Microbiology. — 2009. — P. 951–958.
- 5 Cox A.J. Functional characterization of *HgbB1* a new hemoglobin binding protein of *Pasteurella multocida* / A.J. Cox, M.L. Hunt, J.D. Boyce, B. Adler // Microb. Pathog. — 2003. — Vol. 34. — P. 287–296.

Н.Н. Мухами, С.К. Кендирбаева, К.А. Шораева,
М.Д. Алмежанова, В.М. Строчков, К.Т. Сұлтанқұлова

***Pasteurella multocida* бактериясының *hgbA* вирулентті генінің генетикалық талдауы**

HgbA гені *Pasteurella multocida* бактериясының жасушада өмір сүруі мен оның патогенділігін сақтауында маңызды зор. *HgbA* генін эпидемиологиялық мониторинг зерттеулерінде маркер ретінде қолдануға болады. Жасалынған эксперименттер барысында Қазақстандағы киіктерден бөлініп алынған *Pasteurella multocida* бактериясының бес штаммын темірмен байланыстыратын ақуыздарды кодтайтын *hgbA* генінің ПТР өнімдері жасалды. Қазақстандағы киіктерден бөлініп алынған *Pasteurella multocida* штамдарының *hgbA* генінің нуклеотидтік тізбегі деформацияланды. Kazakhstan *Pasteurella/Saigas/2011/ZKO/KZ* штаммының *hgbA* генінің нуклеотидтік тізбегі KT238895.1 нөмірімен GenBank халықаралық базасына тіркелді. *Pasteurella multocida*-ның *hgbA* генінің нуклеотидті тізбектерінің салыстырмалы талдауы 2010, 2011 және 2012 жж. бөлінген *Pasteurella multocida* бактериясының қазақстандық штаммдары өзара 100 % бірдей екенін көрсетті. *Pasteurella multocida* бактериясының қазақстандық штаммының *hgbA* генінің нуклеотидтік тізбектері GenBank халықаралық мәліметтер қорынан *Pasteurella multocida_Pm25* (AF331501.1) штаммы 99 % гомологиясын көрсетті. Бұл зерттеулер иммундық жүйеде *Pasteurella multocida* бактериясының вирулентті факторларының бірі ретінде *hgbA* генінің патогенезі мен рөлін анықтау үшін қажет.

Кілт сөздер: *Pasteurella multocida*, ген, ПТР, генетикалық талдау, вируленттілік факторлары.

N.N. Mukhami, S.K. Kendirbayeva, K.A. Shorayeva,
M.D. Almezhanova, V.M. Strochkov, K.T. Sultankulova

Genetic analysis of the *hgbA* virulent gene of *Pasteurella multocida* bacterium

The *hgbA* gene has a particular importance for survival of *Pasteurella multocida* bacterium in a host cell and maintenance its pathogenicity. The *hgbA* gene can be used as a marker in epidemiological monitoring studies. During the experiments there have been processed PCR products of *hgbA* gene coding iron-binding proteins of five bacterial strains of *Pasteurella multocida* isolated from saigas in Kazakhstan. The nucleotide sequences of *hgbA* gene of *Pasteurella multocida* strains isolated from saigas in Kazakhstan have been deciphered. The nucleotide sequence of the *hgbA* gene of the Kazakhstan *Pasteurella/Saigas/2011/ZKO/KZ* strain was deposited into the GenBank international base under the number KT238895.1. The comparative analysis of the nucleotide sequences of *hgbA* gene of *Pasteurella multocida* showed that the Kazakhstan strains of *Pasteurella multocida* bacterium isolated in 2010, 2011 and 2012 are identical among themselves for 100 %. The nucleotide sequences of *hgbA* gene of Kazakhstan strain of *Pasteurella multocida* bacterium showed 99 % of homology with a *Pasteurella multocida*_Pm25 (AF331501.1) strain from the international base GenBank. These studies are necessary for clarification of pathogenesis and a role of *hgbA* gene as one of factors of virulence of *Pasteurella multocida* bacterium in immune process.

Keywords: *Pasteurella multocida*, gene, PCR, genetic analysis.