

УДК: 579.2:578.4

КОРИНЕФАГИ: ВЫДЕЛЕНИЕ, ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ

**Пименов Н.В., д.б.н., профессор, заведующий кафедрой
иммунологии и биотехнологии**

Алмуслимави Х.А., аспирант

Тел. +79851325133, hassan91zh@yahoo.co.uk

**ФГБОУ ВО МГАВМИИБ – МВА имени К.И. Скрябина,
г. Москва, Россия**

Ключевые слова: коринефаги, *Corynebacterium*, бактериофаг *Corynebacterium*, *Corynebacterium pseudotuberculosis*, *Corynebacterium striatum*, *Corynebacterium amyclutium*.

В данной работе рассматривается роль коринефагов в экологии и эволюции бактерий рода *Corynebacterium*, а также их потенциальные применения в биотехнологии и медицине. Обширный обзор литературы и системный анализ показали, что коринефаги играют ключевую роль в патогенности и генетическом обмене между бактериями. Несмотря на значимость коринебактерий, знания об их бактериофагах остаются ограниченными. Исследования, проведенные в рамках работы, выявили новые литические бактериофаги, такие как CSP1, и их способности к инфицированию мультирезистентных изолятов. Также были выделены фаги, специфичные к *C. amyclutium* и *C. pseudotuberculosis*, с различной литической активностью. Эти результаты подчеркивают потенциал бактериофагов в качестве антибактериальных агентов и диагностических инструментов, что может существенно повлиять на клиническую практику и меры общественного здравоохранения, особенно в контексте борьбы с инфекциями, вызванными патогенными коринебактериями. Дальнейшие исследования необходимы для оптимизации применения этих фагов в терапии и диагностике инфекционных заболеваний.

Введение. Бактериофаги были предметом многочисленных исследований в течение многих лет, и их использование в качестве

модельных систем и исследовательских инструментов для различных биологических процессов сыграло важную роль в молекулярной биологии. Невозможно переоценить значение бактериофагов в развитии бактерий. За последние 10 лет были предприняты масштабные усилия по секвенированию геномов бактерий и архей, что расширило наше понимание функции бактериофагов в эволюции генома и вызвало новый интерес к биологии бактериофагов [2]. В биотехнологии нетоксичные бактериофаги коринебактерий имеют широкий спектр применений, включая фаготерапию, антибактериальные агенты, диагностические инструменты, системы доставки генов, безопасность и сохранение пищевых продуктов и также сельскохозяйственные применения. Несмотря на промышленное и медицинское значения коринебактерий, относительно мало известно об их бактериофагах [10].

Методы. В работе использовались актуальный обзор и системный анализ, классификация бактериофагов, а также рутинные методы микробиологических исследований.

Результаты и их обсуждение. Бактериофаги коринебактерий, обычно называемые коринефагами, представляют собой специализированную группу бактериофагов, которые специфически заражают бактерии рода *Corynebacterium*. Эти фаги играют важную роль в экологии и эволюции своих бактериальных хозяев, особенно в контексте патогенности и генетического обмена. Большая часть научных исследований сосредоточена на лизогенном бактериофаге *Corynebacterium*; существует недостаток информации о литическом бактериофаге *Corynebacterium*.

Существуют множество применений и исследований токсигенного бактериофага *Corynebacterium*, который переносит дифтерийный токсин между видами *Corynebacterium diphtheriae* и его близкими родственниками (*C. ulcerans*). Дифтерия – острое токсикопосредованное заболевание верхних дыхательных путей, кожи и, возможно, других слизистых оболочек человека [1]. Это гибридные белки, которые избирательно убивают раковые клетки, защищая при этом здоровые ткани путем объединения DT с антителами или другими нацеливающими фрагментами. Известные примеры включают *Denileukin diftotox*, который является одобренным FDA лекарственным средством, действующим как противоопухолевый агент с

использованием дифтерийного токсина [3, 4]. Бактериофаги коринебактерий обладают значительным потенциалом в качестве диагностических инструментов, особенно, при выявлении и дифференциации опасных видов коринебактерий, таких как *C. ulcerans* и *C. diphtheriae*. Специфичность бактериофагов используется в этих тестах для повышения клинической точности и своевременности диагностики. Быстрое и точное обнаружение и дифференциация патогенных видов *Corynebacterium* улучшается за счет использования бактериофага в диагностических процедурах. Область диагностической микробиологии меняется в сторону более быстрых и точных процедур, которые могут оказать большое влияние на уход за пациентами и ответные меры общественного здравоохранения при эпидемии дифтерии, поскольку наряду с новыми биосенсорными технологиями развиваются молекулярные инструменты, такие как ПЦР в реальном времени [5, 6].

В недавних исследованиях были выделены и разработаны различные фаги для использования в качестве противомикробных агентов против патогенных коринебактерий. Первым описан CSP1, фаг, который существует в природе и нацелен на клинические изоляты *MDR-C. striatum*, которые были выделены из окружающей среды. После идентификации, выделения, характеристики его генома, анализа его эволюционной истории, скрининга его диапазона, изучения его физиологических характеристик и анализа безопасности его клеток, было обнаружено, что этот фаг имеет икосаэдрическую головку и длинный неконтрактильный хвост, что классифицирует его как новый вид в неклассифицированных. Ожидается, что его круговая двуцепочечная ДНК-генома длиной 39 752 пары оснований кодирует 61 (ORF) и 1 tPHK; гены, связанные с болезнями или вирулентностью, не были найдены. Из них *orf1* (CSP1_01) кодирует интегразу из семейства тирозина, *orf53* (CSP1_53) кодирует лизоцим, а *orf4* (CSP1_04) представляет собой неохарактеризованный ген с сайтом SNP. Геном CSP1 также включает все структурные и упаковочные кластеры генов, которые типичны для НК97-подобных фагов, в дополнение к литическим и лизогенным генам. Обладая способностью инфицировать и лизировать 21 отдельный клинический мультирезистентный изолят *C. striatum* из разных отделов (20 с образованием прозрачных бляшек и 1 с

образованием мутных бляшек), CSP1 демонстрирует широкий диапазон хозяев и предполагает, что он может быть умеренным фагом с литическим и лизогенным жизненными циклами. Он может эффективно функционировать в диапазоне pH от 4 до 12, от -40 до 55° С и в 0,9% буферном растворе NaCl, не причиняя вреда хозяину. Таким образом, они закладывают важную основу для будущих исследований и адаптации фагов *C. striatum* и их производных эндолизина в качестве новых антимикробных средств [7].

Таблица 1. Свойства и литическая активность бактериофагов *Corynebacterium pseudotuberculosis*

Наименование изolata бактериофага <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> и номер штамма	Происхождение	негативных колоний		Литическая активность	
		Морфология	Диаметр, мм	по методу Апфельмана	по методу Грациа, БОЕ / мл
vB Cps-Z1 B-826	навоз МТФ «Озеречкое»	прозрачный центр	0,5- 1,0	10 ⁻²	1×10 ³
vB Cps-Z2 B-826	навоз МТФ «Озеречкое»	прозрачный центр	0,5- 1,0	10 ⁻⁴	2×10 ⁴
vB Cps-H B-1463	навоз телятник ЗАО «Васильевское»	прозрачный центр с ореолом	2,0-3,0	10 ⁻⁷	3×10 ⁸
vB Cps-N B-1089	навоз МТФ «Алферьево»	прозрачный центр, мутный край	1,0-2,0	10 ⁻⁴	2 × 10 ⁵
vB Cps-M1 B-826	навоз МТФ изолятор «Озеречкое»	прозрачный центр с ореолом	1,0-2,0	10 ⁻⁶	8×10 ⁶
vB Cps-M2 B-826	навоз МТФ изолятор «Озеречкое»	прозрачный центр	0.5- 1,0	10 ⁻⁷	5×10 ⁷
vB Cps-M3 B-1463	навоз из козьего сарая ООО «Шульгино»	мутный центр	0.5- 1,0	10 ⁻⁶	1×10 ⁶
vB Cps-E1 B-1463	навоз из козьего сарая ООО «Шульгино»	прозрачный центр	0.5- 1,0	10 ⁻⁵	2×10 ⁵
vB Cps-E2 B-1089	навоз из вивария МГАВМиБ, отдел КРС, МРС	прозрачный центр с ореолом	0.5- 1,0	10 ⁻³	4×10 ⁴
vB Cps-E3 B-1089	навоз из вивария МГАВМиБ, коношния	прозрачный центр	0.5- 1,0	10 ⁻⁶	6×10 ⁶

Текущие исследования, направленные на разработку уникальных бактериофагов, специфичных для *Corynebacterium spp.*, показали обнадеживающие результаты. Так, фаги vB_Cam 1 и vB_Cam 2 были выделены как наиболее эффективные для применения в качестве антибактериальной обработки *C. amycolutium* из-за их мощной литической активности и специфичности штамма-хозяина. В другом исследовании десять фагов, специфичных к *C. pseudotuberculosis*, были выделены в навозном материале (см. таблицу 1). Они обладали различными свойствами. Морфология бляшек представляла собой округлые, гладкоокрашенные, прозрачные отрицательные колонии, а размер лизиса варьировался в зависимости от формы (0,5-3 мм в диаметре). Литическая активность бактериофагов по методу Аппельмана составляла от 10^{-2} до 10^{-7} , по Грация – от 1×10^3 до 3×10^8 .

Выделенные бактериофаги, специфичные к *Corynebacterium pseudotuberculosis*, позволили сформировать первичную коллекцию для дальнейшего изучения их биологических свойств и отбора штаммов-кандидатов. На данном этапе пять из десяти выделенных бактериофагов по своей литической активности представляют интерес в качестве основы для лекарственных средств против коринебактериозной инфекции.

Необходимы дальнейшие исследования их комбинированного воздействия на *C. amycolutium* и *C. pseudotuberculosis*. Информация, полученная в ходе этой работы, позволит разработать новый препарат с антибактериальной активностью против *C. amycolutium*, *C. pseudotuberculosis*, который, по мнению исследователей, участвует в этиологии нескольких различных инфекционных заболеваний человека и животных [8, 9].

Заключение. Бактериофаги сыграли решающую роль в молекулярной биологии, выступая в качестве модельных систем и инструментов исследования биологических процессов. Их роль в развитии бактерий, особенно в патогенности и генетическом обмене, неопределима. Работы по секвенированию расширили наше понимание роли бактериофагов в эволюции генома. Бактериофаги *Corynebacterium*, в частности литический бактериофаг *Corynebacteria*, обладают значительным потенциалом в качестве диагностических инструментов. Их специфичность повышает точность клинических исследований и

эффективность реагирования на вспышки дифтерии. Уникальные бактериофаги, специфичные к *Corynebacterium spp.* перспективны в качестве новых антибактериальных средств против *C. amyclutium* и *C. pseudotuberculosis*.

Библиографический список:

1. Barka, E.A. Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria. Microbiology and molecular biology reviews /E.A. Barka, P. Vatsa, L.Sanchez, N.Gaveau-Vaillant, C. Jacquard, H.P. Klenk, C. Clément, Y. Ouhdouch, G.P. Van Wezel. 2016. - C. 1-43.
2. Brussow, H. Phages, and the evolution of bacterial pathogens: from genomic rearrangements to lysogenic conversion/H. Brussow, C. Canchaya, W.D. Hardt, //Microbiol Mol Biol Rev, 2004.- C. 560–602.
3. Holmes, R.K. Biology and molecular epidemiology of diphtheria toxin and the tox gene/ R.K. Holmes // The Journal of infectious diseases, 2000.- C.156–S167.
4. Li, Y. M. Diphtheria toxin-based targeted toxin therapy for brain tumors/Y.M. Li, A.D. Vallera, W.A. Hall // Journal of neuro-oncology, 2013.-C. 155–164.
5. Prygiel, M. Challenges of Diphtheria Toxin Detection *Toxins*/M. Prygiel, E. Mosiej, M. Polak, K. Krysztapa-Grzybowska, K. Wdowiak, K. Formińska, A.A.Zasada, 2024.-C. 245.
6. Shafiee, F. Targeted Diphtheria Toxin-Based Therapy: A Review Article /F. Shafiee, M.G. Aucoin //Jahanian-Najafabadi A Front Microbiol. 2019.-C.23-40.
7. Wang, J. Isolation and identification of a novel phage targeting clinical multidrug-resistant *Corynebacterium striatum* isolates/J. Wang, M. Zhang, J.Pei, W. Yi, L.Fan, C.Wang, X.Xiao // Frontiers in cellular and infection microbiology. 2024.-C.14.
8. Алмуслимави, Х.А. Выделение бактериофагов эффективных против штаммов *Corynebacterium amyclutium* /Х.А. Алмуслимави, Н. В. Пименов, А.А. Айгинин// Всероссийской конференции с международным участием «Биотехнология: надежды и свершения». 2024.-C. 35-36.
9. Алмуслимави, Х.А. Выделение активных бактериофагов к *corynebacterium pseudotuberculosis*, /Х.А. Алмуслимави, Н.В Пименов //

Актуальные проблемы ветеринарной медицины, зоотехнии, биотехнологии и экспертизы сырья и продуктов животного происхождения. 2023. – С. 245.

10. Алмуслимави, Х.А. Эпизоотология зоопатогенных коринебактерий /Х.А. Алмуслимави, Н.В Пименов //Ветеринария, зоотехния и биотехнология. 2022.-С. 33-42.

APPLICATION OF CORYNEBACTERIUM BACTERIOPHAGE

Pimenov N.V., Almuslimavi H.A.

FGBOU VO MGAVMIIB – MBA named after K.I. Skryabin, Moscow,
Russia

Keywords: *Corynebacterium*, *bacteriophage Corynebacterium*, *Corynebacterium pseudotuberculosis*. *Corynebacterium striatum*. *Corynebacterium amycolatum*.

This paper examines the role of bacteriophages, especially corynephages, in the ecology and evolution of bacteria of the genus Corynebacterium, as well as their potential applications in biotechnology and medicine. An extensive literature review and systematic analysis have shown that corynephages play a key role in pathogenicity and genetic exchange between bacteria. Despite the importance of Corynebacteria, knowledge about their bacteriophages remains limited. The research carried out within the framework of the work revealed new lytic bacteriophages, such as CSP1, and their ability to infect multi-resistant C. striatum. Phages specific to C. amycolatum and C. pseudotuberculosis with different lytic activity have also been isolated. These results highlight the potential of bacteriophages as antibacterial agents and diagnostic tools, which can significantly affect clinical practice and public health measures, especially in the context of combating infections caused by pathogenic corynebacteria. Further research is needed to optimize the use of these phages in the treatment and diagnosis of infectious diseases.