

**SELECTION AND IMPROVEMENT OF TECHNOLOGICAL PARAMETERS
OF ALLOCATION OF BACTERIOPHAGES OF ANAEROBIC BACTERIA
*DESULFOVIBRIO DESULFURICANS***

Karamysheva N.N. , Vasilev D.A., Zolotukhin S.N.

Key words: *Desulfovibrio desulfuricans, biopreparation, technological parameters.*

*The work is devoted to the selection and improvement of the technological parameters of allocation of bacteriophages of anaerobic bacteria *Desulfovibrio desulfuricans*.*

УДК 616.316.5-002-053.2:616.8

**ЛЕКТИН-ГЛИКОКОНЬЮГАТНЫЕ ОТНОШЕНИЯ В СИСТЕМАХ
«БАКТЕРИОФАГИ - БАКТЕРИИ»**

Лахтин В.М., доктор биологических наук

Тел. 8(903)503-11-80, lakhtinv@yandex.ru

Алешкин А.В., доктор биологических наук

Тел. 8(964)646-43-79, ava@gabri.ru

Лахтин М.В., кандидат биологических наук

Тел. (007-495)452-18-16, info@gabrich.com

*Афанасьев С.С., доктор биологических наук, профессор,
заслуженный деятель науки РФ*

*Алешкин В.А., доктор биологических наук, профессор,
заслуженный деятель науки РФ*

ФБУН «МНИИЭМ им. Г.Н.Габричевского» Роспотребнадзора

Ключевые слова: *бактериофаги, бактерии, лектины, гликоконъюгаты, системы, узнавание*

В обзоре рассмотрено применение лектин-гликоконъюгатных принципов организации и функционирования систем «Бактериофаги – Бактерии», что расширяет возможности конструирования и контроля таких макросистем.

Введение. Исследование бактериофагов (БФ) открывает широкие перспективы [1-3]. Узнавание бактерий бактериофагами, их первые этапы взаимоотношений являются ключевыми - иницирующими последующие реакции. Нами сформулированы основные принципы организации и функционирования лектинов (Л), лектиновых систем и лектин-гликоконъюгатных (Л-ГК) отношений, вовлекающих организм человека и его биотопную микрофлору [4-10]. Целью является применить принципы взаимосвязей Л-ГК в системе «БФ - Бактерии».

Структурно-функциональные взаимоотношения типа Л-ГК, наблюдаемые и в системе «БФ - Бактерии». К Л относятся пептид/белок-содержащие структуры и комплексы, связывающие, чувствующие, распознающие углеводы и ГК. Л имеют пространственные участки узнавания ГК, часто являются олигомерами, не относятся к иммуноглобулинам (Ig) (могут иметь Ig-подобные домены) и ферментам углеводного обмена (есть исключения), участвуют в

иммунитете, обладают организующими (в том числе строительными [протеогликаны, клеточные слои, упорядоченная слизь, поверхность органелл], носительными/доставочными) и сигнальными свойствами (информосомными); являются вспомогательными, корректирующими и стабилизирующими по отношению к доминирующей активности в составе всех классов и групп белковых эффекторов (ферментов [в том числе цитолизин с модульным независимым расположением активностей], гормонов, клеточных рецепторов, цитокинов, дефензинов, антибиотиков, узнающих пептидов [в том числе укороченных Л]). Молекулы Л часто ассиметричны (активны), гидрофобны, зависят от катионов Ca^{2+} и других металлов, могут иметь 2 и более участков узнавания (в том числе разного типа; включать межсубъединичные области), склонны к направленной сборке (особенно в интерфазных областях, включая клеточную поверхность). Молекула Л обычно представлена системой множественных сборочных форм с различными активностями. Система Л направлена на систему мишеней - ГК, которые могут быть ранжированы по степени сродства (обратимого или необратимого) к молекуле Л (возможность одновременного узнавания несколько различных ГК/мишеней, разобщенных в пространстве). Системы Л являются мозаичными (например, их распределение при визуализации зависит от типа ГК); им свойственен синергизм (не конкурирующая система из одного и того же источника) при достижении конечного результата действия, в том числе антимикробный при сочетании с другими антимикробными соединениями. К ГК относятся гликопротеины, гликолипиды (в том числе липополисахариды [ЛПС]), протео/пептидо-гликаны (в том числе пептидогликаны [ПГ] бактерий), арабиногалактановые слои (микобактерии), полисиаловые капсулы (*E.coli*, нейссерии), другие. Один тип ГК может одновременно взаимодействовать с несколькими различными Л (или системами Л), которые могут быть ранжированы по степени сродства к Л (или системам Л). Л способны собираться в частичковые латексные и филаментные узнающие макролектиновые формы, которые также образуются и в случае сенсбилизации клеток посредством Л (клетки как модельные макролектины). Л могут проявлять литическое, деградирующее и регулирующее действие в отношении микробных массивов.

Примеры систем «БФ - Бактерии», использующие взаимодействия типа «Л - ГК».

С одной стороны, в БФ (голове/капсиде, шее, туловище и, особенно, хвосте [участвующем в правильной посадке/рецепции на клеточную поверхность]) много гликопротеинов, как экспонированных, так и участвующих во внутренней сборке/упаковке (между белками и гликопротеинами и между белками и нуклеиновыми кислотами - ГК), что предусматривает принципы Л-ГК связывания/узнавания. С другой стороны, в оболочке и клеточной стенке бактерий/мишеней присутствуют наборы потенциальных рецепторов (ГК) БФ (смотри ниже).

Синтезированные в родительских бактериях системы БФ, попадают во внеклеточное пространство и взаимодействуют с бактериями-мишенями (например, патогенами, которые необходимо обезвредить), распределяясь по клеточной поверхности неравномерно - мозаично (благодаря обратимому связыванию и передислокации (слабо Ca^{2+} -зависимой в случае БФ SPP1 *B.subtilis*) на клеточной поверхности, в зависимости от ее особенностей [11]: полюсные, септированные, с повышенным уровнем метаболизма [возможности для БФ более полно использовать активные ресурсы бактерии]). Описанная выше «неопределенность» или ограниченная определенность поведения системы частиц БФ с использованием слабоаффинных взаимодействий и особенностей бактерии-мишени коэволюционно оправдана и обеспечивает необходимый выбор эффективных пар и достаточное количество таких пар, что повышает, в конечном счете, надежность конечного результата – цитолиза. В процессе рецепции хвостовые (БФ порядка *Caudovirale*) составляющие (белки и их ассоциаты - паттерны) находят адекватные аффинные площадки сорбции (вначале обратимой {например, связывание БФ SPP1 Glc-тейхоевой кислотой *B.subtilis* или эндолизина PlyP35 БФ *Listeria* – с GlcNAc-тейхоевой кисло-

той [12, 13]} и позже – необратимой [последующее связывание SPP1 с рецепторным белком YueB как вторичным рецептором] [12]). В качестве первичных рецепторов БФ (T4, T7, Φ A1122, другие) могут служить коровые олигосахариды из состава ЛПС грамотрицательных бактерий (*E.coli*, *Y.pestis* {рецептор для the Φ A1122 – область ЛПС Hep/Glc-Kdo/Ko}[14], другие); капсулярный галактозилированный фосфорамидат (*Campylobacter jejuni*) (рецептор для БФ F336 - GalfNAc MeOPN) [15], ПГ и гликозилированные (обязательное условие для попадания в клетку по сравнению с БФ сем. *Myoviridae*) тейхоевые кислоты (например, *S.aureus* в случае узнавания посредством БФ сем. *Siphoviridae* [16]). Создание на основе ЛПС, ПГ, тейхоевых кислот и других ГК уникальных или с повышенной специфичностью рецепторов с высоким сродством к типу БФ является путем повышения селективности (в отношении патогенов) и бысродействия (ускоренного цитолиза) БФ. Возможно Fc-Ig-рецептор-опосредованное (Ig-зависимое) попадание БФ в клетки [17]. Ig-технологии поддерживаются широким распространением Ig-подобных доменов (I-set, FN3, and BIG-2) у представителей *Caudovirales* (семейства [сем.] *Myoviridae* (например, T4), *Podoviridae* [например, T7] и *Siphoviridae* [например, λ , БФ лактококков), инфицирующих грамположительные и грамотрицательные бактерии [18].

В БФ в составе острых хвостовых выступов присутствуют белки первичной и вторичной рецепции, включая латеральные эндолизины, узнающие и разрушающие маскирующие клеточную мембрану слои (ПГ, ЛПС, [глико/липо]тейхоевые кислоты), что является необходимым для последующего введения в клетку упакованных нуклеиновых кислот капсида. К ним относятся эндогликангидролазы/полисахаридазы (мурамидазы и лизоцим-подобные [действие на ПГ]; эндосиалидазы [в том числе эндосиалидаза F]), эндорамнозидазы, другие гидролазы (амидазы), деполимеразы (пектинлиазы), литические трансгликозилазы и инвертированные гликозил-гидролазы. Для эндолизинов БФ характерна модульная с высокой термостабильностью организация: наличие пространственного модуля узнавания/связывания с рецепторами бактерии (часто в С-концевой аминокислотной последовательности в виде нескольких повторов) и отдельного модуля литической активности (обычно в N-концевой области), разрушающей клеточную стенку в месте связывания. Так, в случае БФ Cp-7 (*S.pneumoniae*) повторы CW_7 связывают в ПГ муропептиды GlcNAc-MurNAc-L-Ala-D-isoGln [18]. Активность последующего введения нуклеиновых кислот сцеплена/спарена в пространстве и во времени с обеими вышеуказанными активностями эндолизинов (в процессе биосинтеза и сборки БФ на генетическом и конечном [структурно-упаковочном] уровнях). Использование коктейля БФ расширяет спектр эндолизинов и повышает надежность достижения конечного результата – клеточного лизиса (например, разрушение ПГ может достигаться ПГ-гидролазами различных типов, в соответствии с Международной классификацией ферментов). Разнообразие модулей БФ позволяет путем их комбинирования создавать новые составляющие литических наномашин – ключевых механоузлов (рецепции и инъекции) хвоста БФ [19]. В этом смысле БФ можно рассматривать как функционирующие совместно с бактериями/мишенями нанороботы.

В составе биопленок БФ способны не только изменять фенотип бактерий и определять аномальное формирование пленок, но и, благодаря, например, нарушенной сборке биопленки, вызывать их усиленный лизис [20]. В сочетании с антибиотиками группы аминогликозидов (ГК) (например, гентамицином) БФ проявляет синергидное действие против биопленки *S.aureus* [21]. Механизм синергизма – в усилении деградирующего действия БФ в отношении сформированных агрегатов бактерий (гентамицин индуцировал сильно выраженный агрегационный фенотип популяций стафилококков). Пектинлиаза-подобные домены хвостовых белков БФ (стафилококков) рассматриваются как перспективные для лизиса и деградаци биопленок [22].

Заключение. Приведенные данные указывают на перспективность представлений

Л-ГК для более полной оценки типов рецепторных взаимодействий БФ и бактерий, что важно для биоконтроля и конструирования терапевтических БФ. Кроме того, технологии с использованием БФ позволяют разрабатывать пептидные имитаторы и миметики углеводов/олигосахаридов и ПГ – перспективные для использования в качестве антивирусных средств (ингибиторы клеточной сорбции) и при разработке вакцин [23].

Библиографический список

1. Aleshkin A.V., Lakhtin V.M., Afanasiev S.S., Lakhtin M.V., Aleshkin V.A. // Materialy VIII Miedzynarodowej naukowí-praktycnej konferensji “Nauka i inowacja - 2012”. - Vol. 16. – P. 17-36. - Nauk biologicznych.: Przemysl. Nauka i studia.
2. Лахтин В.М., Алешкин А.В., Лахтин М.В., Афанасьев С.С., Алешкин В.А. // Бюлл. ВСНЦ СО РАМН. - 2012. - № 5 (87); Часть 1. – С. 382 – 385.
3. Aleshkin A.V. Volozhantsev N.V., Svetoch E.A., Afanas'ev S.S., Lakhtin V.M. // Proceedings 2nd Int. Conf. on Antimicrobial Research (Nov. 21-23, 2012, Lisbon).
4. Лахтин В.М. // ВИНТИ. Итоги науки и техники. Серия Биотехнология. Том 2. Лектины в исследовании белков и углеводов / под ред. профессора Клесова А.А. – Москва: ВИНТИ, 1987. – С. 4-290.
5. Lakhtin V.M., Lakhtin M.V., Alyoshkin V.A. // Anaerobe. - 2011. – V. 17; No 6. - P. 452-455.
6. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Алешкин В.А., Афанасьев С.С., Алешкин В.А. Лектины и ферменты в биологии и медицине // Москва: Издательство «Династия», 2010. - 496 с.
7. Lakhtin M.V., Lakhtin V.M., Alyoshkin V.A. // Int. J. Mol. & Clin. Microbiol. – 2011. - V. 1. – P. 9 – 14.
8. Lakhtin M.V., Lakhtin V.M., Alyoshkin V.A., Afanasyev S.S. // Beneficial Microbes. - 2011. – V. 2; No 2. – P. 155 – 165.
9. Лахтин М.В., Караулов А.В., Лахтин В.М., Алешкин В.А., Афанасьев С.С. и др. // Иммунопатология, аллергология, инфектология, 2012. - № 1. – С. 27 – 36.
10. Lakhtin M., Lakhtin V., Aleshkin A., Bajrakova A., Afanasiev S., Aleshkin V. // in the book: “Probiotics - 2012”, Edited by E.C. Rigobelo. – 2012. – P. 417 – 432.
11. Jakutyte L., Baptista C., São-José C., Daugelavičius R., Carballido-López R. et al. // J. Bacteriol. – 2011. – V. 193(18). – P. 4893-4903.
12. Jakutyte L., Lurz R., Baptista C., Carballido-Lopez R., São-José C. et al. // Virology. – 2012. – V. 422(2). – P. 425-434.
13. Eugster M.R., Haug M.C., Huwiler S.G., Loessner M.J. // Mol. Microbiol. - 2011. – V. 81(6): P. 1419-1432.
14. Kiljunen S., Datta N., Dentovskaya S.V., Anisimov A.P., Knirel Y.A. et al. // J. Bacteriol. – 2011. – V. 193(18). – P. 4963–4972.
15. Sørensen M.C.H., van Alphen L.B., Harboe A., Li J., Christensen B.B., Szymanski C.M., Brøndsted L. // J. Bacteriol. – 2011. – V. 193(23). – P. 6742–6749.
16. Xia G., Corrigan R.M., Winstel V., Goerke C., Gründling A., Peschel A. // J. Bacteriol. – 2011. – V. 193(15). – P. 4006–4009.
17. Sapinoro R., Volcy K., Shanaka W.W., Rodrigo I., Schlesinger J.J., Dewhurst S. // Virology. – 2008. – V. 373(2). – P. 274–286.
18. Bustamante N., Rico-Lastres P., García E., García P., Menéndez M. // PLoS One. – 2012. – V. 7(10): e46654.
19. Veessler D., Cambillau C. // Microbiol. Mol. Biol. Rev. – 2011. – V. 75(3). – P. 423–433.
20. Webb J.S., Lau M., Kjelleberg S. // J. Bacteriol. – 2004. – V. 186(23). – P. 8066–8073.

21. Kirby A.E. // PLoS One. – 2012. – V. 7(11):e51017. doi: 10.1371/journal.pone.0051017. Epub 2012 Nov 30.
22. Gutiérrez D., Martínez B., Rodríguez A., García P. // BMC Genomics. – 2012. – V. 13: 228.
23. Matsubara T. // J. Nucleic Acids. – 2012. – V. 2012:740982. doi: 10.1155/2012/740982. Epub 2012 Oct 10.

LECTIN-GLYCOCONJUGATE RELATHIONSHIPS IN THE SYSTEMS “BACTERIOPHAGES - BACTERIA”

Lakhtin V.M., Aleshkin A.V., Lakhtin M.V., Afanasiev S.S., Aleshkin V.A.

Key words: *bacteriophages, bacteria, lectins, glycoconjugates, systems, recognition.*

The review is devoted to possibilities of application of structure-function principles of lectin-glycoconjugate relationships to the systems “Bacteriophages - Bacteria”. The data described will allow extending constructions and control of such coupled macrosystems.

УДК 619:579

ОСНОВНЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ВЫДЕЛЕННЫХ БАКТЕРИОФАГОВ БАКТЕРИЙ РОДА *KLEBSIELLA*

*Ляшенко Е.А., кандидат биологических наук, доцент
тел. 8(8422) 55-95-47, elena-118@mail.ru*

*Васильев Д.А., доктор биологических наук, профессор
тел. 8(8422) 55-95-47, dav_ul@mail.ru*

*Золотухин С.Н., доктор биологических наук, профессор
8(8422) 55-95-47, fym.zol@yandex.ru*

ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А.Столыпина»

Ключевые слова: *биологические свойства, бактериофаги, бактерии рода *Klebsiella**

*Изучены основные биологические свойства бактериофагов бактерий рода *Klebsiella*.*

По результатам проведенных исследований были отобраны два бактериофага с высокой литической активностью и широким диапазоном литического действия, строго специфичные бактериофаги K- 10 и K- 81 для практического использования.

Введение. Бактериофаги – это вирусы, характеризующиеся специфической способностью к избирательному инфицированию бактериальных клеток, принадлежащих к одному штамму или антигенно-гомологичным штаммам одного вида или рода [1].

По литературным данным фаги могут использоваться для обработки инструментария и оборудования больниц, предприятий пищевой промышленности, полуфабрикатов или готовой продукции, а также непосредственно человеком в виде пищевых добавок или иных форм [2].