

Photorhabdus spp.: от симбиоза к паразитизму

Н.А.Липатникова, С.В.Дентовская

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора,
Оболенск, Московская область, Российская Федерация

Представители рода *Photorhabdus* spp. завоевывают все больше внимания в научных исследованиях. Род включает строгих энтомопатогенов и виды, вызывающие инфекцию у людей, и предоставляет прекрасную модель для изучения эволюции паразитизма: симбионт для нематод, патоген для насекомых и людей. В настоящем обзоре представлено внутривидовое разнообразие *Photorhabdus* spp. Подробно описаны жизненный цикл бактерий *Photorhabdus* spp. и патогенность для разных животных моделей, а также изменения, произошедшие с патогеном беспозвоночных при адаптации к теплокровным хозяевам. Рассмотрены молекулярные основы уникальной способности представителей рода к биолюминесценции. Определены перспективы использования антимикробного пептида *Photorhabdus* spp. для разработки лекарственных препаратов против грамотрицательных патогенов.

Ключевые слова: *Photorhabdus*, симбиоз, патогенность, фоторабдоз, сравнительная геномика, лекарственные средства на основе пептидов

Для цитирования: Липатникова Н.А., Дентовская С.В. *Photorhabdus* spp.: от симбиоза к паразитизму. Бактериология. 2023; 8(2): 64–71. DOI: 10.20953/2500-1027-2023-2-64-71

Photorhabdus spp.: from symbiosis to parasitism

N.A.Lipatnikova, S.V.Dentovskaya

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор, Obolensk, Moscow Region,
Russian Federation

Representatives of the genus *Photorhabdus* spp. are gaining more and more attention in research. The genus includes strict entomopathogens and species caused infection in humans and provides an excellent model for studying the evolution of parasitism: symbiont for nematodes, pathogen for insects and people. This review presents intraspecific diversity of *Photorhabdus* spp. The life cycle of bacteria *Photorhabdus* spp. and pathogenicity for different animal models are described in detail, as well as the changes that occurred with the pathogen of invertebrates during adaptation to warm-blooded hosts. The molecular basis of the unique ability to bioluminescence of representatives of the genus is considered. The prospects of using the antimicrobial peptide of *Photorhabdus* spp have been determined for the development of drugs against gram-negative pathogens.

Key words: *Photorhabdus*, symbiosis, pathogenicity, photorhabdosis, comparative genomics, peptide drugs

For citation: Lipatnikova N.A., Dentovskaya S.V. *Photorhabdus* spp.: from symbiosis to parasitism. Bacteriology. 2023; 8(2): 64–71. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2023-2-64-71

Бактерии рода *Photorhabdus* – симбионты нематод семейства *Heterorhabditidae*, широко распространенных на всех континентах, кроме Антарктиды. Наиболее часто их обнаруживают в почве прибрежных территорий [1].

Благодаря продукции токсинов с инсектицидной активностью представители *Photorhabdus* spp. до настоящего времени являются объектом интенсивного изучения с целью получения биопестицидов [2]. Симбиотический комплекс «нематода–бактерия» или очищенные инсектицидные токсины используют в сельском хозяйстве в качестве альтерна-

тивного пестицида для борьбы с личинками многих насекомых-вредителей [3].

Представители *Photorhabdus* spp. являются подвижными биолюминесцентными факультативно-анаэробными бактериями, имеющими форму палочек [4, 5]. Все виды хорошо растут на кровяном агаре при температуре 28°C, образуя специфическую тонкую линию кольцевого гемолиза. Клинические изоляты также хорошо растут в интервале температур 37–42°C. Хотя подвижность и не является абсолютно необходимым фактором патогенности или симбиоза,

Для корреспонденции:

Липатникова Надежда Алексеевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории микробиологии чумы отдела особо опасных инфекций ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 142279, Московская область, г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967) 36-0117
E-mail: n.a.lipatnikova@mail.ru

Статья поступила 05.04.2023, принята к печати 30.06.2023

For correspondence:

Nadezhda A. Lipatnikova, PhD in Biological Sciences, researcher of laboratory for plague microbiology State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор

Address: 24 «Quarter A» Territory, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, 142279, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0117
E-mail: n.a.lipatnikova@mail.ru

The article was received 05.04.2023, accepted for publication 30.06.2023

установлено, что штаммы, обладающие этим свойством, имеют преимущество в ходе колонизации насекомого [6].

Виды *P. asymbiotica* и *P. australis* приобрели патогенность для человека, сохранив способность заражать насекомых. При температуре тела человека у указанных видов происходят изменения в экспрессии генов, кодирующих факторы патогенности, и генов, связанных с метаболизмом [7].

В настоящем обзоре представлено внутривидовое разнообразие *Photorhabdus* spp. Подробно описан жизненный цикл бактерий *Photorhabdus* spp. и патогенность для разных животных моделей, а также изменения, произошедшие с патогеном беспозвоночных при адаптации к теплокровным хозяевам. Рассмотрены молекулярные основы уникальной способности представителей рода к биолюминесценции. Определены перспективы использования антимикробного пептида *Photorhabdus* spp. для разработки лекарственных препаратов против граммотрицательных патогенов.

Таксономическое положение

Представители *Photorhabdus* spp. принадлежат к семейству *Morganellaceae* [8]. N.E. Voomare et al. [9] предложили выделить *Photorhabdus luminescens* в отдельный род в 1993 г. С этого времени были обнаружены многочисленные виды и подвиды. Сейчас род *Photorhabdus* включает 22 вида: *P. aegyptia*, *P. akhurstii*, *P. antumapuensis*, *P. asymbiotica*, *P. australis*, *P. bodei*, *P. caribbeanensis*, *P. cinerea*, *P. hainanensis*, *P. heterorhabditis*, *P. hindustanensis*, *P. kayaii*, *P. kharii*, *P. kleinii*, *P. laumondii*, *P. luminescens*, *P. namnaonensis*, *P. noenieputensis*, *P. stackebrandtii*, *P. tasmaniensis*, *P. temperata* и *P. thracensis*. У шести видов описаны подвиды – по два внутри каждого: у *P. akhurstii* – *akhurstii* и *bharatensis*; у *P. australis* – *australis* и *thailandensis*; у *P. heterorhabditis* – *heterorhabditis* и *aluminescens*; у *P. kharii* – *kharii* и *guanajuatensis*; у *P. laumondii* – *laumondii* и *clarkei*; у *P. luminescens* – *luminescens* и *mexicana*¹ [10].

Жизненный цикл бактерий

Известно, что жизненный цикл бактерий рода *Photorhabdus* начинается и заканчивается колонизацией кишечного тракта нематоды, находящейся в непитающейся стадии, называемой инвазионной личинкой (ИЛ) [11]. ИЛ проникают в тело насекомого непосредственно через кутикулу [11–13] или через естественные отверстия (рот, анус, дыхальца) [14], затем оказываются в незамкнутой кровеносной системе насекомого, гемоцели. Попадая в гемоцель, нематоды высвобождают симбиотических бактерий в гемолимфу, последние, начав размножаться, выделяют токсины, способные вызвать гибель насекомого в течение 24 ч [11, 15]. Все изученные штаммы *Photorhabdus* spp. обладают высокой патогенностью для насекомых (LD₅₀ < 100 м.к.) [14]. Бактерии рода *Photorhabdus* успешно уклоняются от системы врожденного иммунитета насекомого, вызывая его гибель, превращают ткани мертвого насекомого в питательный бульон, способствуя репродукции нематод, и затем снова колонизируют их на стадии ИЛ [16]. Кроме того, фоторабдусы выделяют целый спектр антимикробных субстанций, препятствующих размножению других микроорганизмов. После не-

скольких циклов репродукции потомство нематод получает неохарактеризованные сигналы из окружающей среды, которые стимулируют появление нового поколения инвазионных личинок, колонизированных бактериями. На заключительном этапе сотни тысяч ИЛ со своими симбионтами, *Photorhabdus* spp., покидают оболочку насекомого в поисках новой добычи [17].

Живые энтомопатогенные нематоды, используемые в качестве препаратов для борьбы с насекомыми, размножаются внутри насекомых-хозяев, оказывая долгосрочное, устойчивое воздействие на популяцию вредителей [18], но эффективны в узком диапазоне значений влажности и температуры почвы, хранятся при низкой, оптимальной для вида, температуре, что ограничивает их применение [19].

Бактерии *Photorhabdus* spp. нельзя использовать в качестве инсектицидов из-за отсутствия способности длительно сохраняться в почве отдельно от энтомопатогенных нематод. По этой причине инсектицидные вещества (в частности белки-токсины) воспроизводят в других организмах: бактериях и растениях [20]. Например, продукты генов *P. luminescens*, кодирующих токсины, после клонирования и экспрессии в клетках бактерии *Escherichia coli* показали значительный пестицидный потенциал [21].

Биолюминесценция

Одной из уникальных характеристик бактерий рода *Photorhabdus* является способность к биолюминесценции. Люминесценция наблюдается у всех штаммов при достижении конца экспоненциальной фазы роста при культивировании на плотных или в жидких питательных средах. *In vivo* свечение можно обнаружить только после гибели насекомого или деградации его тканей [22]. Несмотря на существование множества светящихся водных бактерий (*Vibrio harveyi*, *Vibrio fischeri*, *Vibrio cholerae*, *Photobacterium leiognathi*, *Photobacterium phosphoreum*, *Shewanella hanedai*), фоторабдусы являются единственным представителем почвенных микроорганизмов, способным испускать свет. Существует много спекуляций по поводу причины биолюминесценции у фоторабдусов. Одни исследователи считают, что функциональная значимость люминесценции может состоять в отпугивании некрофагов, ведущих ночной образ жизни, является сигналом, который передается от бактерии к бактерии или от бактерии к нематоду и синхронизирует симбиоз и действует как приманка для насекомого-добычи [23]. Наряду с этим существует мнение, что продукция света представителями *Photorhabdus* не выполняет никакой жизненно важной функции, а лишь является характерной чертой его водного предшественника, которая сохранилась при колонизации нематодами почвенной среды, или может быть лишь случайным проявлением горизонтального переноса генов, для исчезновения которого еще не прошло достаточно эволюционного времени [24].

Фермент, катализирующий эмиссию света у штаммов *Photorhabdus* spp., является типичной бактериальной люциферазой [25], которая использует молекулярный кислород для окисления двух субстратов: длинноцепочечного алифатического альдегида и флавиномононуклеотида. Данная реакция сопровождается зелено-голубым свечением (λ = 490 нм). По температурной зависимости, кинетике све-

¹Далее название видов и подвидов приводится согласно тексту статей, указанных в ссылках.

чения и альдегидному ингибированию субстрата люцифераза *P. luminescens* имеет большее сходство с ферментом бактерии *V. harvey*, чем с люциферазами других видов морских светящихся бактерий (*V. fischeri*, *Photobacterium phosphoreum* и *Photobacterium leiognathi*) [26]. Ответственные за продукцию люциферазы гены *lux* фоторабдусов и других биолюминесцентных бактерий [27–32] составляют оперон, организация которого варьирует от бактерии к бактерии [33]. Е.А.Meighen и R.B.Szittner [33] установили высокий консерватизм нуклеотидной последовательности структурных генов оперона *luxCDABE* у трех изученных штаммов *P. luminescens* (идентичность 85–90%). При этом аминокислотная последовательность белков LuxA и LuxB *P. luminescens* оказалась сходной с аминокислотной последовательностью соответствующих белков *V. harveyi* (83–85% и 58–59% соответственно) [34]. Поскольку бактерии рода *Photorhabdus* филогенетически изолированы от подобных им морских светящихся бактерий, это может являться примером горизонтального переноса генов *lux* оперона.

Патогенность *Photorhabdus* spp.

Насекомые

Насекомые обладают многокомпонентной иммунной системой, некоторые из защитных механизмов которой подобны механизмам системы врожденного иммунитета млекопитающих [35]. Фоторабдусы должны противостоять системе врожденного иммунитета насекомого: или уклониться от распознавания, или подавить его иммунный ответ [36]. Представители *Photorhabdus* spp. обладают множеством факторов патогенности, которые обеспечивают защиту бактерий от гуморального и клеточного иммунитета насекомых-хозяев, а также вызывают гибель этих насекомых.

Для оценки вирулентности штаммов *Photorhabdus* spp. традиционно используют два вида насекомых – представителей чешуекрылых: *Galleria mellonella* (большая восковая моль) и *Manduca sexta* (табачный бражник). Кроме того, в последнее время используют представителя двукрылых – *Drosophila melanogaster*, преимуществом которого является полностью секвенированный геном и легкость проведения генетических манипуляций [37–40].

С помощью метода иммуногистохимии установлено, что в желудке насекомого бактерии экспрессируют по крайней мере два фактора патогенности: комплекс токсинов А (toxin complex A/Tca) и металопротеазу PrtA [22, 41]. Тесная ассоциация бактерий с эпителием и секреция вышеперечисленных белков ведут к быстрой деструкции желудка хозяина.

Другим активным в отношении клеток желудка токсином, продуцируемым всеми бактериями рода *Photorhabdus*, является мультидоменный Mcf1. Этот белок попадает в клетку-мишень путем эндоцитоза и индуцирует апоптоз [42, 43]. Данный токсин обладает низкой специфичностью и, кроме того, может индуцировать апоптоз гемоцитов и широкого круга клеточных линий человека. Ген *mcf1* обнаружен во всех известных к настоящему времени штаммах *Photorhabdus* spp., но в каждом случае может кодироваться разными генетическими локусами, что подтверждает его независимое приобретение [44]. В двух штаммах *P. luminescens*, W14 и TT01, обнаружен гомолог, названный Mcf2. Данный белок отличается от Mcf1 по строению домена активного сайта, но

также индуцирует апоптоз и, кроме того, гомологичен вызывающему апоптоз токсину HrmA *Pseudomonas* spp. [45].

Клеточный иммунный ответ насекомых опосредуется циркулирующими гемоцитами, которые участвуют в фагоцитозе, нодуляции или инкапсуляции патогенов, проникших в гемоцель. На более позднем этапе иммунного ответа происходит агрегация гемоцитов вокруг чужеродных микроорганизмов [46, 47]. Бактерии рода *Photorhabdus* синтезируют целый набор цитолизин/гемолизин и токсинов, некоторые из которых индуцируют некроз или апоптоз при добавлении к культурам иммунных клеток насекомых. Подобно многим патогенным грамотрицательным бактериям, *P. luminescens* обладает системой секреции третьего типа, которая обеспечивает устойчивость к фагоцитозу и предотвращает образование нодул. Показано, что эффекторный белок LopT, кодируемый системой секреции третьего типа *P. luminescens* TT01 и W14, гомологичен белку YopT *Yersinia* spp. и предотвращает захват бактерий гемоцитами [46, 48]. В одной из кассет вирулентности *Photorhabdus* обнаружена открытая рамка считывания, продукт которой гомологичен LopT. Известно, что кассеты вирулентности *Photorhabdus* кодируют подобные R-типу пиоцинов структуры, которые предположительно могут выступать в качестве систем доставки различных токсичных продуктов к клеткам мишеням [49]. Штаммы *P. luminescens* TT01 и *P. asymbiotica* ATCC43949 несут несколько локусов, кодирующих «кассеты вирулентности», с предполагаемыми различными эффекторными белками, гомологичными токсину А *Clostridium difficile* (Mcf), YopT *Yersinia enterocolitica* (LopT), активному домену цитотоксического некротизирующего фактора 1 (cytotoxic necrotizing factor 1 / CNF1) *E. coli* и другие, не имеющие известных гомологий и представляющие собой новые эффекторы [50]. Учитывая множественность и разнообразие «кассет вирулентности», можно предположить, что их продукты могут обладать токсичностью в отношении различных групп насекомых или, в случае *P. asymbiotica*, млекопитающих [49].

В геноме штаммов *P. luminescens* и *P. asymbiotica* обнаружены бинарные системы токсичности, кодирующие два белка PirA и PirB [51, 52] и белки, гомологичные HaxA и HaxB, впервые обнаруженные у близкородственного патогена насекомых *Xenorhabdus nematophila* [53, 54]. Токсины PirAB проявляют активность против личинок *Galleria* spp., гусениц *Plutella xylostella* и трех видов комаров: *Aedes aegypti*, *Culex pipiens* и *Anopheles gambiae* [51, 55]. Кроме того, PirAB оказывают цитолитический, гемолитический и проапоптотный эффекты на клетки насекомых и млекопитающих. Более того, в двух полностью секвенированных геномах *Photorhabdus* spp. обнаружены два гена, кодирующих гемолизины, обладающие цитотоксическим эффектом [55, 56].

Установлено, что вторичные метаболиты стильбена (3,5-дигидрокси-4-изопропилстильбен), выделяемого *Photorhabdus* spp., являются мощными ингибиторами фенолоксидазы, что позволяет фоторабдусам избежать развития меланотической капсуляции в организме насекомого [57].

Другими гуморальными факторами, которым должны противостоять представители *Photorhabdus* spp., являются циркулирующий лизоцим и антимикробные пептиды. Гуморальный иммунный ответ у насекомых реализуется посредством широкого спектра антимикробных пептидов, вза-

имедействующих с клеточной оболочкой бактерий [58]. Хотя фоторабдусы и индуцируют транскрипцию мРНК катионных антимикробных пептидов (КАМП) насекомых, до настоящего времени не ясно, устойчивы ли они к КАМП специфически или блокируют их трансляцию или секрецию.

Установлено, что у *Salmonella* spp. замещение фосфатных групп липида А 4-аминоарабинозой находится под контролем оперона *pmgHFijklm*, активность которого регулируется двухкомпонентной сигнальной системой PhoP–PhoQ [59, 60]. Подобно сальмонеллам, бактерии *P. luminescens* противостоят действию КАМП, модифицируя свои поверхностные слои. У *P. luminescens* введение мутаций в ген *phoP* и ген *pbgE1*, гомологичный гену *pmrK Salmonella* spp., приводит к увеличению чувствительности к КАМП и снижению вирулентности для насекомых [61, 62].

Многие энтомопатогенные бактерии секретируют протеазы, которые разрушают КАМП. Установлено, что при введении чешуйчатокрылым металлопротеаза PrtA бактерий рода *Photorhabdus* разрушает цекропины А и В, а также ингибирует антибактериальную активность насекомого [63]. Таким образом, иммунная система насекомого распознает *P. luminescens*, но бактериям удается преодолеть действие КАМП.

Все животные-хозяева находятся в антагонистических взаимоотношениях со своими бактериальными паразитами в борьбе за поглощение железа (комплексонов железа). Подобно другим патогенам животных, бактерии рода *Photorhabdus* обладают несколькими системами связывания и поглощения железа, включающими продукцию сидерофора пробактина [63]. Установлено, что мутанты по гену *exbD* штамма *P. temperata* K122 не способны потреблять железо и аттенуированы по отношению к насекомым [64].

Культуры тканей

Для исследования взаимодействия *P. asymbiotica* и макрофагоподобных клеточных линий используют культуры тканей. N.R. Waterfield et al. [23], а также S.C. Costa et al. [65] установили, что штаммы *P. asymbiotica* являются факультативными внутриклеточными патогенами, способными реплицироваться внутри мышинных и человеческих макрофагоподобных клеточных линий. Это подтверждает и обнаружение гена *sopV* в клинических изолятах *P. asymbiotica*, и отсутствие данного гена у *P. luminescens*. Кроме того, S.C. Costa et al. [65] показали, что наряду с человеческими клеточными линиями штаммы *P. asymbiotica* способны проникать в гемоциты насекомых. Установлено, что штаммы *P. asymbiotica* subsp. *australis* способны инвазировать нефагоцитирующие клеточные линии и индуцируют апоптоз клеток человека быстрее, чем штаммы *P. asymbiotica* subsp. *asymbiotica* [65]. Способность *P. asymbiotica* проникать в иммунные клетки подтверждает наблюдаемые в клинике случаи бактериемии и предоставляет бактериям нишу, где они становятся недоступны для гуморального иммунного ответа млекопитающего. Данное поведение подобно поведению другого родственного микроорганизма, *Yersinia pestis*, который также является факультативным внутриклеточным патогеном, индуцирует апоптоз макрофагов и не вызывает выраженную воспалительную реакцию, что предоставляет ему возможность распространения по лимфатической системе.

Лабораторные животные

Фоторабдоз воспроизведен на модели теплокровных лабораторных животных [66]. Штаммами *Photorhabdus* spp., отличающимися по патогенности для человека, заражали мышей линии Balb/c. Бактерии видов *P. asymbiotica* subsp. *asymbiotica* и *P. asymbiotica* subsp. *australis*, способные вызывать заболевания у людей, обладали умеренной вирулентностью для лабораторных животных. При заражении дозами 10^6 – 10^8 КОЕ наблюдалась клиническая картина инфекции, подобная таковой у людей, и гибель ~50–100% животных. Гибель мышей линии BALB/c была вызвана инфекционно-токсическим шоком и связана с расстройством гемодинамики, изменением свертываемости крови и нарушением лимфопоэза в органах иммуногенеза. Представитель патогенного только для насекомых вида *P. temperata* subsp. *cinerea* не вызывал гибели мышей. Реакция на его введение ограничивалась образованием небольшого количества плазматических клеток в селезенке и лимфатических узлах.

Фоторабдоз у человека

В отличие от других представителей рода *P. asymbiotica* может инфицировать людей [67]. Зарегистрировано 20 случаев заболеваний фоторабдозом: 8 в США [68–70], 11 в Австралии [3, 71–74] и 1 в России [75]. У пациентов в США и Австралии инфекция сопровождалась появлением на коже гноящихся язв, поражением мягких тканей, в 80% случаев – гематогенной диссеминацией, а в 30% случаев – бактериемией [3, 68, 72]. Случай, описанный в России, отличался локализацией инфекции. *P. asymbiotica* вызвал острый пиелонефрит на фоне мочекаменной болезни. В бактериологическом посеве мочи из почки при чрескожной пункционной нефростомии наблюдался рост *P. asymbiotica* 1×10^6 КОЕ/мл. Больному проводилась антибактериальная терапия препаратами группы фторхинолонов [75].

Вероятно, число заболевших людей значительно выше, чем это отражено в научных публикациях. Трудности идентификации данной бактерии связаны с тем, что *P. asymbiotica* не была внесена в стандартные базы данных клинической бактериологии [69, 70, 72].

P. asymbiotica может инфицировать пациентов с ослабленным иммунитетом, но является первичным, а не оппортунистическим патогеном. Не обнаружено связи между инфицированием человека и такими предполагаемыми факторами заболевания, как возраст, пол и др. Большинство заболеваний описаны как случаи локальных или диссеминированных поражений мягких тканей с тенденцией к образованию болезненных некротических язв. У многих пациентов обнаруживали отдаленные от первичного места внедрения инфекции изъязвления мягких тканей, свидетельствующие о гематогенной диссеминации возбудителя. Возбудителя инфекции выделяли из гноя первичного очага инфицирования, из крови, в одном случае из слюны пациентов и еще в одном случае – из мочи [72, 75]. Бактериальный штамм, выделенный от пациента из города Кингслифа, проявлял слабую люминесценцию при выращивании в жидкой питательной среде при температуре 30°C, но строгую эмиссию света при температуре 37°C, подтверждая интригующую всех возможность свечения поражений мягких тканей у инфицированных [76]. У заболевших людей из Австралии и

США наблюдали рецидивы фоторабдоза после лечения антибиотиками в течение нескольких недель [72]. Этиотропная терапия инфекции должна основываться на *in vitro* чувствительности возбудителя к антибиотикам [71].

P.Wilkinson et al. [77] провели сравнительный анализ геномов патогенного для людей штамма *P. asymbiotica* subsp. *asymbiotica* ATCC43949 и энтомопатогенного штамма *P. luminescens* TT01 и составили исчерпывающий список геномных различий. Установлено, что каждый патоген содержит около 1 млн уникальных пар оснований ДНК. У патогенного для человека штамма *P. asymbiotica* размер генома меньше (5 064 808 п.о.), чем у патогена насекомых *P. luminescens* (5 688 987 п.о.). Уменьшение генома *P. asymbiotica* сопровождалось снижением разнообразия генов, кодирующих инсектицидные токсины, и фоторабдусных «кассет вирулентности». Также показано, что геном *P. asymbiotica* дополнительно содержит плазмиду, родственную плазмиде *Y. pestis* pMT, и некоторое количество новых островов патогенности, включая остров патогенности, кодирующий систему секреции третьего типа. По-видимому, вирулентность представителей *P. asymbiotica* по отношению к человеку явилась следствием приобретения плазмиды подобной pMT и некоторых специфических эффекторов, например SopB, который способствует выживанию бактерий внутри макрофагов. Способность штаммов *P. asymbiotica* расти при температуре 37°C играет важную роль в патогенезе фоторабдоза у человека. Протеомный анализ клеточных супернатантов и клеток *P. asymbiotica*, выращенных при температурах 30 и 37°C, выявили индукцию при повышенной температуре двух белков «теплового шока»: гомолога ClpB (rau03190) и гомолога HtpG (rau03384). Кроме повышенной температуры при внедрении в тело человека, бактерии *P. asymbiotica* должны противостоять его системе врожденного иммунитета. Установлено, что при температуре 37°C, но не при 30°C, клетки *P. asymbiotica* секретируют белок, гомологичный белку Ail *Y. pestis*, обеспечивающему прикрепление к клеткам млекопитающих и устойчивость к комплементу сыворотки [12]. Кроме того, установлено, что утрата инсектицидных генов у *P. asymbiotica* не сопровождается потерей патогенности по отношению к насекомым [54].

Использование антимикробного пептида *Photorhabdus* spp. для разработки лекарственных препаратов против грамотрицательных патогенов

Всемирная организация здравоохранения опубликовала список бактерий, для борьбы с которыми срочно требуется создание новых антибиотиков. Грамотрицательные патогены, такие как *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii*, приобрели устойчивость к большинству, а в некоторых случаях ко всем антибиотикам, доступным в клинической практике [78]. Внешняя мембрана грамотрицательных бактерий предотвращает проникновение нежелательных соединений в клетку и содержит помпы множественной лекарственной устойчивости, которые откачивают молекулы, попавшие в клетку. Однако уникальная среда и компоненты внешней мембраны и периплазматического пространства являются потенциальными мишенями для селективных грамотрицательных агентов. К

таким агентам относятся недавно описанные макроциклические пептиды, один из них – даробактин [79].

Антимикробный пептид даробактин был впервые выделен из штамма *P. khanii* HGB1456, является пептидом рибосомального синтеза [78]. В составе даробактина есть два макроцикла, образованных перекрестным связыванием боковых цепей триптофана и лизина [79]. Даробактин активен в отношении многих грамотрицательных бактерий, включая патогенов человека с лекарственной устойчивостью, среди них *P. aeruginosa* с устойчивостью к полимиксину, *K. pneumoniae* и *E. coli* с устойчивостью к β-лактамам. *In vitro* эффективность даробактина была подтверждена *in vivo* на зараженных мышинных моделях. Даробактин не токсичен для клеток человека (*in vitro*) в концентрациях, в которых он является эффективным антибиотиком. В серии экспериментов были определены механизм действия и мишень антимикробного пептида. Внешняя мембрана грамотрицательных бактерий содержит белки со структурой β-бочонков. Белок BamA является центральным компонентом комплекса для сбора β-бочонков и катализирует упаковку и встраивание новых белков во внешнюю мембрану [80]. Даробактин связывается с BamA и стабилизирует белок в конформации с закрытыми латеральными воротами, предотвращая выход субстратов во внешнюю мембрану [78]. Как следствие происходит пузырение мембраны и в результате набухание и лизис клеток [81].

Заключение

Представители рода *Photorhabdus* являются прекрасной моделью для изучения симбиоза и патогенности. Бактерии *P. asymbiotica* патогенны для насекомых и человека, на их примере можно понять, какую роль играют беспозвоночные в возникновении болезней человека. Постгеномные технологии и генетические модификации бактерий, симбиотических нематод, насекомых-хозяев позволят нам получить новые данные о взаимосвязи между патогенностью и симбиозом. У бактерий *Photorhabdus* spp. большое количество кластеров генов вторичных метаболитов, благодаря чему они могут быть источником лекарственных препаратов-кандидатов.

Информация о финансировании

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Financial support

The work was supported by the Sectoral Scientific Program of Rosпотребнадзор.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest

Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

Литература / References

1. Boemare NE. Biology, taxonomy and systematics of *Photorhabdus* and *Xenorhabdus*. In: R. Gaugler (ed.). Entomopathogenic nematology. Wallingford: CABI Publishing; 2002. DOI: 10.1079/9780851995670.0035

2. Ehlers RU. Mass production of entomopathogenic nematodes for plant protection. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2001 Sep;56(5-6):623-33. DOI: 10.1007/s002530100711
3. Peel MM, Alfredson DA, Gerrard JG, Davis JM, Robson JM, McDougall RJ, et al. Isolation, identification, and molecular characterization of strains of *Photorhabdus luminescens* from infected humans in Australia. *J Clin Microbiol.* 1999 Nov;37(11):3647-53. DOI: 10.1128/JCM.37.11.3647-3653.1999
4. Ffrench-Constant R, Bowen D. *Photorhabdus* toxins: novel biological insecticides. *Curr Opin Microbiol.* 1999 Jun;2(3):284-8. DOI: 10.1016/s1369-5274(99)80049-6
5. Ffrench-Constant RH, Bowen DJ. Novel insecticidal toxins from nematode-symbiotic bacteria. *Cell Mol Life Sci.* 2000 May;57(5):828-33. DOI: 10.1007/s000180050044
6. Easom CA, Clarke DJ. Motility is required for the competitive fitness of entomopathogenic *Photorhabdus luminescens* during insect infection. *BMC Microbiol.* 2008 Oct 3;8:168. DOI: 10.1186/1471-2180-8-168
7. Hapeshi A, Waterfield NR. *Photorhabdus asymbiotica* as an Insect and Human Pathogen. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2017;402:159-177. DOI: 10.1007/82_2016_29
8. Adeolu M, Alnajar S, Naushad S, S Gupta R. Genome-based phylogeny and taxonomy of the 'Enterobacteriales': proposal for *Enterobacterales* ord. nov. divided into the families *Enterobacteriaceae*, *Erwiniaceae* fam. nov., *Pectobacteriaceae* fam. nov., *Yersiniaceae* fam. nov., *Hafniaceae* fam. nov., *Morganellaceae* fam. nov., and *Budviciaceae* fam. nov. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2016 Dec;66(12):5575-5599. DOI: 10.1099/ijsem.0.001485
9. Boemare NE, Akhurst RJ, Mourant RG. DNA relatedness between *Xenorhabdus* spp. (*Enterobacteriaceae*), symbiotic bacteria of entomopathogenic nematodes, and a proposal to transfer *Xenorhabdus luminescens* to a new genus, *Photorhabdus* gen. nov. *Int J Syst Bacteriol.* 1993;43:249-255. DOI: 10.1099/00207713-43-2-249
10. Castaneda-Alvarez C, Machado RAR, Morales-Montero P, Boss A, Muller A, Prodan S, et al. *Photorhabdus antumapuensis* sp. nov., a novel symbiotic bacterial species associated with *Heterorhabditis atacamensis* entomopathogenic nematodes. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2022 Oct;72(10). DOI: 10.1099/ijsem.0.005525
11. Forst S, Dowds B, Boemare N, Stackebrandt E. *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* spp.: bugs that kill bugs. *Annu Rev Microbiol.* 1997;51:47-72. DOI: 10.1146/annurev.micro.51.1.47
12. Akhurst R, Dunphy GB. Tripartite interactions between symbiotically associated ento-mopathogenic bacteria, nematodes, and their insect hosts. In: Beckage N, Thompson S, Federici B (Eds.). *Parasites and Pathogens of Insects.* New York: Academic; 1993.
13. Poinar GOJ. Biology and taxonomy of *Steinernematidae* and *Heterorhabditidae*. In Gaugler R, Kaya HK (eds.). *Entomopathogenic Nematodes in Biological Control.* CRC Press, Boca Raton, FL; 1990.
14. Boemare N. Interactions between the partners of the entomopathogenic bacterium nematode complexes, *Steinernema – Xenorhabdus* and *Heterorhabditis – Photorhabdus*. *Nematology.* 2002a;4:601-603. DOI: 10.1163/15685410260438863
15. Ciche TA, Ensign JC. For the insect pathogen *Photorhabdus luminescens*, which end of a nematode is out? *Appl Environ Microbiol.* 2003 Apr;69(4):1890-7. DOI: 10.1128/AEM.69.4.1890-1897.2003
16. Goodrich-Blair H, Clarke DJ. Mutualism and pathogenesis in *Xenorhabdus* and *Photorhabdus*: two roads to the same destination. *Mol Microbiol.* 2007 Apr;64(2):260-8. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2007.05671.x
17. Forst S, Nealson K. Molecular biology of the symbiotic-pathogenic bacteria *Xenorhabdus* spp. and *Photorhabdus* spp. *Microbiol Rev.* 1996 Mar;60(1):21-43. DOI: 10.1128/mr.60.1.21-43.1996
18. Peters A. The natural host range of *Steinernema* and *Heterorhabditis* spp and their impact on insect populations. *Biocontrol Sci Technol* 1996;6:389-402. DOI: 10.1080/09583159631361
19. Lacey LA, Georgis R. Entomopathogenic nematodes for control of insect pests above and below ground with comments on commercial production. *J Nematol.* 2012 Jun;44(2):218-25.
20. Dutta TK, Phani V, Mandal A. *Photorhabdus* bacterial toxins as a candidate for insect pest bio-management: an update. *Indian Entomologist.* 2022;3(2):6-27.
21. Bowen D, Rocheleau TA, Blackburn M, Andreev O, Golubeva E, Bhartia R, et al. Insecticidal toxins from the bacterium *Photorhabdus luminescens*. *Science.* 1998 Jun 26;280(5372):2129-32. DOI: 10.1126/science.280.5372.2129
22. Daborn PJ, Waterfield N, Blight MA, Ffrench-Constant RH. Measuring virulence factor expression by the pathogenic bacterium *Photorhabdus luminescens* in culture and during insect infection. *J Bacteriol.* 2001 Oct;183(20):5834-9. DOI: 10.1128/JB.183.20.5834-5839.2001
23. Waterfield NR, Ciche T, Clarke D. *Photorhabdus* and a host of hosts. *Annu Rev Microbiol.* 2009;63:557-74. DOI: 10.1146/annurev.micro.091208.073507
24. Peat SM, Adams BJ. Natural selection on the *luxA* gene of bioluminescent bacteria. *Symbiosis.* 2008;46:101-108.
25. Poinar GO Jr, Thomas GM, Haygood M, Nealson KH. Growth and luminescence of the symbiotic bacteria associated with the terrestrial nematode *Heterorhabditis bacteriophora*. *Soil Biol Biochem.* 1980;12:5-10. DOI: 10.1016/0038-0717(80)90095-4
26. Sztitner R, Meighen E. Nucleotide sequence, expression, and properties of luciferase coded by *lux* genes from a terrestrial bacterium. *J Biol Chem.* 1990 Sep 25;265(27):16581-7.
27. Baldwin TO, Devine JH, Heckel RC, Lin JW, Shadel GS. The complete nucleotide sequence of the *lux* regulon of *Vibrio fischeri* and the *luxABN* region of *Photobacterium leiognathi* and the mechanism of control of bacterial bioluminescence. *J Biolumin Chemilumin.* 1989 Jul;4(1):326-41. DOI: 10.1002/bio.1170040145
28. Cochrum L, Hruska KS, Rucker EB, Johnston TC. The nucleotide sequence of the *luxD* gene of *Xenorhabdus luminescens* Hm. *Nucleic Acids Res.* 1990 Sep 25;18(18):5570. DOI: 10.1093/nar/18.18.5570
29. Frackman S, Anhalt M, Nealson KH. Cloning, organization, and expression of the bioluminescence genes of *Xenorhabdus luminescens*. *J Bacteriol.* 1990 Oct;172(10):5767-73. DOI: 10.1128/jb.172.10.5767-5773.1990
30. Frackman S, Nealson KH. The molecular genetics of *Xenorhabdus*. In: Gaugler R, Kaya H (ed.). *Entomopathogenic nematodes in biological control.* CRC Press, Inc., Boca Raton, Fla.; 1990.
31. Friedland J, Hastings JW. Nonidentical subunits of bacterial luciferase: their isolation and recombination to form active enzyme. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1967 Dec;58(6):2336-42. DOI: 10.1073/pnas.58.6.2336
32. Xi L, Cho KW, Tu SC. Cloning and nucleotide sequences of *lux* genes and characterization of luciferase of *Xenorhabdus luminescens* from a human wound. *J Bacteriol.* 1991 Feb;173(4):1399-405. DOI: 10.1128/jb.173.4.1399-1405.1991
33. Meighen EA, Sztitner RB. Multiple repetitive elements and organization of the *lux* operons of luminescent terrestrial bacteria. *J Bacteriol.* 1992 Aug;174(16):5371-81. DOI: 10.1128/jb.174.16.5371-5381.1992
34. Johnston TC, Rucker EB, Cochrum L, Hruska KS, Vandegriff V. The nucleotide sequence of the *luxA* and *luxB* genes of *Xenorhabdus luminescens* HM and a comparison of the amino acid sequences of luciferases from four species of bioluminescent bacteria. *Biochem Biophys Res Commun.* 1990 Jul 31;170(2):407-15. DOI: 10.1016/0006-291x(90)92106-a
35. Uvell H, Engström Y. A multilayered defense against infection: combinatorial control of insect immune genes. *Trends Genet.* 2007 Jul;23(7):342-9. DOI: 10.1016/j.tig.2007.05.003
36. Klein M. Efficacy against soil-inhabiting insect pests. In: Gaugler RR, Kaya HK (ed.). *Entomopathogenic nematodes in biological control.* CRC Press, Inc., Boca Raton, Fla; 1990.
37. Khush RS, Lemaitre B. Genes that fight infection: What the *Drosophila* genome says about animal immunity. *Trends Genet.* 2000;16(10):442-449. DOI: 10.1016/S0168-9525(00)02095-3

38. Tzou P, De Gregorio E, Lemaitre B. How *Drosophila* combats microbial infection: a model to study innate immunity and host-pathogen interactions. *Curr Opin Microbiol.* 2002 Feb;5(1):102-10. DOI: 10.1016/s1369-5274(02)00294-1
39. Vodovar N, Acosta C, Lemaitre B, Boccard F. *Drosophila*: a polyvalent model to decipher host-pathogen interactions. *Trends Microbiol.* 2004;12(5):235-242. DOI: 10.1016/j.tim.2004.03.007
40. Hallem EA, Rengarajan M, Ciche TA, Sternberg PW. Nematodes, bacteria, and flies: a tripartite model for nematode parasitism. *Curr Biol.* 2007;17(10):898-904. DOI: 10.1016/j.cub.2007.04.027
41. Silva CP, Waterfield NR, Daborn PJ, Dean P, Chilver T, Au CP, et al. Bacterial infection of a model insect: *Photorhabdus luminescens* and *Manduca sexta*. *Cell Microbiol.* 2002 Jun;4(6):329-39. DOI: 10.1046/j.1462-5822.2002.00194.x
42. Daborn PJ, Waterfield N, Silva CP, Au CP, Sharma S, Ffrench-Constant RH. A single *Photorhabdus* gene, makes caterpillars floppy (mcf), allows *Escherichia coli* to persist within and kill insects. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002 Aug 6;99(16):10742-7. DOI: 10.1073/pnas.102068099
43. Dowling AJ, Daborn PJ, Waterfield NR, Wang P, Streuli CH, Ffrench-Constant RH. The insecticidal toxin Makes caterpillars floppy (Mcf) promotes apoptosis in mammalian cells. *Cell Microbiol.* 2004 Apr;6(4):345-53. DOI: 10.1046/j.1462-5822.2003.00357.x
44. Waterfield NR, Daborn PJ, Ffrench-Constant RH. Insect pathogenicity islands in the insect pathogenic bacterium *Photorhabdus*. *Physiol Entomol.* 2004;29:240-250. DOI: 10.1111/j.0307-6962.2004.00407.x
45. Waterfield NR, Daborn PJ, Dowling AJ, Yang G, Hares M, Ffrench-Constant RH. The insecticidal toxin Makes caterpillars floppy 2 (Mcf2) shows similarity to HrmA, an avirulence protein from a plant pathogen. *FEMS Microbiol Lett.* 2003;229(2):265-270. DOI: 10.1016/S0378-1097(03)00846-2
46. Ffrench-Constant R, Waterfield N, Daborn P, Joyce S, Bennett H, Au C, et al. *Photorhabdus*: Towards a functional genomic analysis of asymbiont and pathogen. *FEMS Microbiol Rev.* 2003;26:433-456. DOI: 10.1111/j.1574-6976.2003.tb00625.x
47. Dean P, Richards EH, Edwards JP, Reynolds SE, Charnley K. Microbial infection causes the appearance of hemocytes with extreme spreading ability in monolayers of the tobacco hornworm *Manduca sexta*. *Dev Comp Immunol.* 2004 Jun;28(7-8):689-700. DOI: 10.1016/j.dci.2003.11.006
48. Brugirard-Ricaud K, Duchaud E, Givaudan A, Girard PA, Kunst F, Boemare N, et al. Site-specific antiphagocytic function of the *Photorhabdus luminescens* type III secretion system during insect colonization. *Cell Microbiol.* 2005 Mar;7(3):363-71. DOI: 10.1111/j.1462-5822.2004.00466.x
49. Yang G, Dowling AJ, Gerike U, Ffrench-Constant RH, Waterfield NR. *Photorhabdus* virulence cassettes confer injectable insecticidal activity against the wax moth. *J Bacteriol.* 2006;188:2254-2261. DOI: 10.1128/JB.188.6.2254-2261.2006
50. Ffrench-Constant RH, Dowling A, Waterfield NR. Insecticidal toxins from *Photorhabdus* bacteria and their potential use in agriculture. *Toxicon.* 2007;49:436-451. DOI: 10.1016/j.toxicon.2006.11.019
51. Duchaud E, Rusniok C, Frangeul L, Buchrieser C, Givaudan A, Taourit S, et al. The genome sequence of the entomopathogenic bacterium *Photorhabdus luminescens*. *Nat Biotechnol.* 2003 Nov;21(11):1307-13. DOI: 10.1038/nbt886
52. Sicard M, Hering S, Schulte R, Gaudriault S, Schulenburg H. The effect of *Photorhabdus luminescens* (*Enterobacteriaceae*) on the survival, development, reproduction and behaviour of *Caenorhabditis elegans* (*Nematoda: Rhabditidae*). *Environ Microbiol.* 2007;9(1):12-25. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2006.01099.x
53. Vigneux F, Zumbihl R, Jubelin G, Ribeiro C, Poncet J, Baghdigui S, et al. The *xaxAB* genes encoding a new apoptotic toxin from the insect pathogen *Xenorhabdus nematophila* are present in plant and human pathogens. *J Biol Chem.* 2007 Mar 30;282(13):9571-9580. DOI: 10.1074/jbc.M604301200
54. Waterfield NR, Sanchez-Contreras M, Eleftherianos I, Dowling A, Yang G, Wilkinson P, Parkhill J, Thomson N, Reynolds SE, Bode HB, Dorus S, Ffrench-Constant RH. Rapid Virulence Annotation (RVA): identification of virulence factors using a bacterial genome library and multiple invertebrate hosts. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008 Oct 14;105(41):15967-72. Erratum in: *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009 Feb 10;106(6):2083. Yang, Guowei [added]. DOI: 10.1073/pnas.071114105
55. Waterfield N, Kamita SG, Hammock BD, Ffrench-Constant R. The *Photorhabdus* Pir toxins are similar to a developmentally regulated insect protein but show no juvenile hormone esterase activity. *FEMS Microbiol Lett.* 2005 Apr 1;245(1):47-52. DOI: 10.1016/j.femsle.2005.02.018
56. Brillard J, Duchaud E, Boemare N, Kunst F, Givaudan A. The PhiA hemolysin from the entomopathogenic bacterium *Photorhabdus luminescens* belongs to the two-partner secretion family of hemolysins. *J Bacteriol.* 2002;184(14):3871-3878. DOI: 10.1128/JB.184.14.3871-3878.2002
57. Eleftherianos I, Boundy S, Joyce SA, Aslam S, Marshall JW, Cox RJ, et al. An antibiotic produced by an insect-pathogenic bacterium suppresses host defenses through phenoloxidase inhibition. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007 Feb 13;104(7):2419-24. DOI: 10.1073/pnas.0610525104
58. Nappi AJ, Ottaviani E. Cytotoxicity and cytotoxic molecules in invertebrates. *Bioessays.* 2000 May;22(5):469-80. DOI: 10.1002/(SICI)1521-1878(200005)22:5<469::AID-BIES9>3.0.CO;2-4
59. Guo L, Lim KB, Gunn JS, Bainbridge B, Darveau RP, Hackett M, et al. Regulation of lipid A modifications by *Salmonella typhimurium* virulence genes *phoP-phoQ*. *Science.* 1997 Apr 11;276(5310):250-3. DOI: 10.1126/science.276.5310.250
60. Gunn JS, Belden WJ, Miller SI. Identification of PhoP-PhoQ activated genes within a duplicated region of the *Salmonella typhimurium* chromosome. *Microb Pathog.* 1998 Aug;25(2):77-90. DOI: 10.1006/mpat.1998.0217
61. Derzelle S, Turlin E, Duchaud E, Pages S, Kunst F, Givaudan A, et al. The PhoP-PhoQ two-component regulatory system of *Photorhabdus luminescens* is essential for virulence in insects. *J Bacteriol.* 2004 Mar;186(5):1270-9. DOI: 10.1128/JB.186.5.1270-1279.2004
62. Bennett HPJ, Clarke DJ. The *pbpPE* operon in *Photorhabdus luminescens* is required for pathogenicity and symbiosis. *J Bacteriol.* 2005;187:77-84. DOI: 10.1128/JB.187.1.77-84.2005
63. Cabral CM, Cherqui A, Pereira A, Simões N. Purification and characterization of two distinct metalloproteases secreted by the entomopathogenic bacterium *Photorhabdus* sp. strain Az29. *Appl Environ Microbiol.* 2004 Jul;70(7):3831-8. DOI: 10.1128/AEM.70.7.3831-3838.2004
64. Watson RJ, Joyce SA, Spencer GV, Clarke DJ. The *exbD* gene of *Photorhabdus temperata* is required for full virulence in insects and symbiosis with the nematode *Heterorhabditis*. *Mol Microbiol.* 2005 May;56(3):763-73. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2005.04574.x
65. Costa SC, Girard PA, Brehélin M, Zumbihl R. The emerging human pathogen *Photorhabdus asymbiotica* is a facultative intracellular bacterium and induces apoptosis of macrophage-like cells. *Infect Immun.* 2009 Mar;77(3):1022-30. DOI: 10.1128/IAI.01064-08
66. Киршева НА, Ганина ЕА, Комбарова ТИ, Шайхутдинова РЗ, Дентовская СВ, Анисимов АП. Инфекционная чувствительность мышей линии BALB/c к заражению *Photorhabdus asymbiotica* и *Photorhabdus temperata*. Проблемы особо опасных инфекций. 2012;3(113):64-66. / Kirsheva NA, Ganina EA, Kombarova TI, Shaikhutdinova RZ, Dentovskaya SV, Anisimov AP. Infectious Sensitivity of BALB/c Mice to Infestation with *Photorhabdus asymbiotica* and *Photorhabdus temperata*. Problemy osobo opasnykh infektsii (Problems of Particularly Dangerous Infections). 2012;3(113):64-66. (In Russian).
67. Mulley G, Beeton ML, Wilkinson P, Vlisidou I, Ockendon-Powell N, Hapeshi A, et al. From Insect to Man: *Photorhabdus* Sheds Light on the Emergence of Human Pathogenicity. *PLoS One.* 2015 Dec 17;10(12):e0144937. DOI: 10.1371/journal.pone.0144937
68. Farmer JJ 3rd, Jorgensen JH, Grimont PA, Akhurst RJ, Poinar GO Jr, Ageron E, et al. *Xenorhabdus luminescens* (DNA hybridization group 5) from human clinical specimens. *J Clin Microbiol.* 1989 Jul;27(7):1594-600. DOI: 10.1128/jcm.27.7.1594-1600.1989

69. Weissfeld AS, Halliday RJ, Simmons DE, Trevino EA, Vance PH, O'Hara CM, et al. *Photorhabdus asymbiotica*, a pathogen emerging on two continents that proves that there is no substitute for a well-trained clinical microbiologist. *J Clin Microbiol*. 2005 Aug;43(8):4152-5. DOI: 10.1128/JCM.43.8.4152-4155.2005
70. Dutta A, Flores AR, Revell PA, Owens L. Neonatal Bacteremia and Cutaneous Lesions Caused by *Photorhabdus luminescens*: A Rare Gram-Negative Bioluminescent Bacterium. *J Pediatric Infect Dis Soc*. 2018 Aug 17;7(3):e182-e184. DOI: 10.1093/jpids/piy064
71. Gerrard JG, McNevin S, Alfredson D, Forgan-Smith R, Fraser N. *Photorhabdus* species: bio-luminescent bacteria as emerging human pathogens? *Emerg Infect Dis*. 2003 Feb;9(2):251-4. DOI: 10.3201/eid0902.020222
72. Gerrard J, Waterfield N, Vohra R, French-Constant R. Human infection with *Photorhabdus asymbiotica*: an emerging bacterial pathogen. *Microbes Infect*. 2004 Feb;6(2):229-37. DOI: 10.1016/j.micinf.2003.10.018
73. Gerrard JG, Joyce SA, Clarke DJ, French-Constant RH, Nimmo GR, Looke DF, et al. Nematode symbiont for *Photorhabdus asymbiotica*. *Emerg Infect Dis*. 2006 Oct;12(10):1562-4. DOI: 10.3201/eid1210.060464
74. Gerrard JG, Stevens RP. A Review of Clinical Cases of Infection with *Photorhabdus asymbiotica*. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2017;402:179-191. DOI: 10.1007/82_2016_56
75. Авдошин ВП, Макаров ОВ, Киричек АА, Шехтман МС, Кещьян КС. *Photorhabdus asymbiotica* – новый представитель грамтрицательной микрофлоры в инфекции мочевых путей. Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2013;4:94-99. / Avdoshin VP, Makarov OV, Kirichek AA, Shekhtman MS, Kesh'yan KS. *Photorhabdus asymbiotica* – a new representative of the gram-negative microflora in urinary tract infections. Vestnik Rossiiskogo Universiteta Druzhby Narodov. Seriya: Meditsina (RUDN Journal Of Medicine). 2013;4:94-99. (In Russian).
76. Plichta KL, Joyce SA, Clarke D, Waterfield N, Stock SP. *Heterorhabditis gerrardi* n. sp. (Nematoda: Heterorhabditidae): the hidden host of *Photorhabdus asymbiotica* (Enterobacteriaceae: gamma-Proteobacteria). *J Helminthol*. 2009 Dec;83(4):309-20. DOI: 10.1017/S0022149X09222942
77. Wilkinson P, Waterfield NR, Crossman L, Corton C, Sanchez-Contreras M, Vlisidou I, et al. Comparative genomics of the emerging human pathogen *Photorhabdus asymbiotica* with the insect pathogen *Photorhabdus luminescens*. *BMC Genomics*. 2009 Jul 7;10:302. DOI: 10.1186/1471-2164-10-302
78. Imai Y, Meyer KJ, Iinishi A, Favre-Godal Q, Green R, Manuse S, et al. A new antibiotic selectively kills Gram-negative pathogens. *Nature*. 2019 Dec;576(7787):459-464. Erratum in: *Nature*. 2020 Apr;580(7802):E3. DOI: 10.1038/s41586-019-1791-1
79. McLaughlin MI, van der Donk WA. The Fellowship of the Rings: Macrocyclic Antibiotic Peptides Reveal an Anti-Gram-Negative Target. *Biochemistry*. 2020 Feb 4;59(4):343-345. DOI: 10.1021/acs.biochem.9b01086
80. Sousa MC. New antibiotics target bacterial envelope. *Nature*. 2019;576:389-90. DOI: 10.1038/d41586-019-03730-x
81. Uper G, Luther A, Obrecht D, Ermert P. Emerging peptide antibiotics with therapeutic potential. *Med Drug Discov*. 2021 Mar;9:100078. DOI: 10.1016/j.medidd.2020.100078

Информация о соавторе:

Дентовская Светлана Владимировна, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник лаборатории микробиологии чумы отдела особо опасных инфекций ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

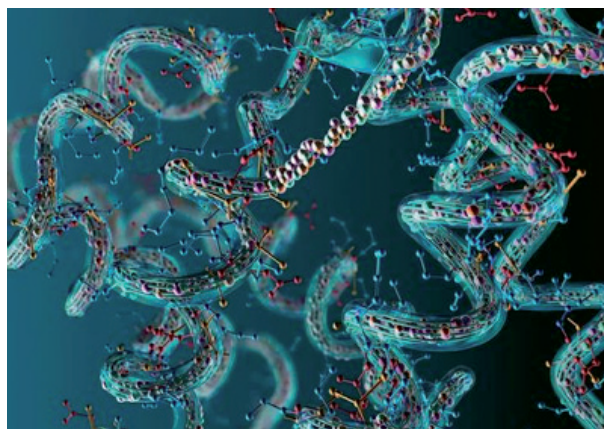
Information about co-author:

Svetlana V. Dentovskaya, MD, PhD, DSc, Major Researcher of Laboratory for Plague Microbiology State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзора

НОВОСТИ НАУКИ

Искусственный интеллект можно использовать для разработки новых белков

Конструирование фермента de novo стремится ввести активные центры и карманы для связывания субстрата, которые, по прогнозам, будут катализировать интересующую реакцию, в геометрически совместимые нативные каркасы 1, 2, но это было ограничено отсутствием подходящих белковых структур и сложностью нативной белковой последовательности. – структурировать отношения. Описан подход «семейной галлюцинации», основанный на глубоком обучении, который генерирует большое количество идеализированных белковых структур, содержащих различные формы карманов, и разработанные последовательности, которые их кодируют. Авторы использовали эти каркасы для создания искусственных люцифераз, которые избирательно катализируют окислительную хемилюминесценцию синтетических субстратов люциферина дифенилтеразина-3 и 2-дезоксикоэлэнтеразина. Разработанные активные центры располагают группу аргинина и гуанидина рядом с анионом, который образуется во время реакции в связывающем кармане с высокой степенью комплементарности по форме. Для обоих субстратов люциферина мы получаем сконструированные люциферазы с высокой селективностью; наиболее активным из них является небольшой (13,9 кДа) и термостабильный (с температурой плавления >95°C) фермент, обладающий каталитической эффективностью на дифенилтеразине (kcat/Km=106 М⁻¹ с⁻¹), сравнимой с таковой нативных люцифераз, но с гораздо более высокой субстратной специфичностью. Создание с нуля высокоактивных и специфических биокатализаторов с широким применением в биомедицине является ключевой вехой для вычислительного дизайна ферментов, и наш подход должен позволить генерировать широкий спектр люцифераз и других ферментов.



Yeh AHW, Norn C, Kipnis Y, et al.
De novo design of luciferases using deep learning.
Nature. 2023;614:774–780. DOI: 10.1038/S41586-023-05696-3