DOI: 10.20953/2500-1027-2025-2-93–102

Бактериология, 2025, том 10, №2, с. 93–102
Bacteriology, 2025, volume 10, No 2, p. 93–102

Характеристика литического бактериофага KpV17Sklif – нового представителя рода *Drulisvirus*, активного против *Klebsiella pneumoniae* капсульного типа K23

Н.В.Колупаева[1], А.А.Сизова[1], Е.Б.Лазарева[2], Т.В.Черненькая[2], Н.Е.Сузина[3], Н.В.Воложанцев[1]

[1]ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российская Федерация;
[2]ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В.Склифосовского Департамента здравоохранения г. Москвы», Москва, Российская Федерация;
[3]Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований РАН», Пущино, Московская область, Российская Федерация

Возникновение и распространение антибиотикорезистентных штаммов *Klebsiella pneumoniae* является важной проблемой общественного здравоохранения. Особую угрозу представляют гипервирулентные (hvKp) и мультирезистентные штаммы *K. pneumoniae*, вызывающие тяжелые внутрибольничные и внебольничные заболевания. Актуальным направлением в борьбе с инфекциями, вызванными данным патогеном, является поиск и характеристика литических бактериофагов. В ходе проведенного исследования выделен и охарактеризован новый бактериофаг KpV17Sklif семейства *Autographiviridae* (род *Drulisvirus*), активный в отношении *K. pneumoniae* капсульного типа K23. Определена полная нуклеотидная последовательность генома бактериофага. На основании сходства ДНК и предполагаемых полипептидных продуктов с известными фагами определены функции продуктов 28 из 53 предсказанных генов. Установлено, что бактериофаг KpV17Sklif имеет типичную организацию генома T7-подобных фагов с наличием собственных генов ДНК- и РНК-полимераз и кассеты лизиса, состоящей из генов спанина, холина и эндолизина. В геноме фага не обнаружены гены, ассоциированные с устойчивостью к антибактериальным агентам, а также гены, ответственные за лизогенный путь развития бактериофага. Предполагается, что выраженная K23-специфичность фага KpV17Sklif связана с наличием гена, кодирующего предсказанный рецептор-связывающий белок Skif45 с доменом полисахарид-деполимеризы.
Ключевые слова: Klebsiella pneumoniae, капсульный полисахарид, антибактериальная терапия, бактериофаг, деполимераза

Для цитирования: Колупаева Н.В., Сизова А.А., Лазарева Е.Б., Черненькая Т.В., Сузина Н.Е., Воложанцев Н.В. Характеристика литического бактериофага KpV17Sklif – нового представителя рода *Drulisvirus*, активного против *Klebsiella pneumoniae* капсульного типа K23. Бактериология. 2025; 10(2): 93–102. DOI: 10.20953/2500-1027-2025-2-93-102

Characteristics of the lytic bacteriophage KpV17Sklif, a new member of the genus *Drulisvirus*, active against *Klebsiella pneumoniae* of the K23 capsular type

N.V.Kolupaeva[1], A.A.Sizova[1], E.B.Lazareva[2], T.V.Chernenkaya[2], N.E.Suzina[3], N.V.Volozhantsev[1]

[1]State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation;
[2]N.V.Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, Moscow City Health Department, Moscow, Russian Federation;
[3]Research Center Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences, Pushchino, Moscow Region, Russian Federation

Для корреспонденции:

Колупаева Надежда Вячеславовна, младший научный сотрудник отдела подготовки и усовершенствования специалистов 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) 31-2182

Статья поступила 28.05.2025, принята к печати 30.06.2025

For correspondence:

Nadezhda V. Kolupaeva, Junior Researcher of the Department for training and improvement of specialists of the State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

Address: 24 “Quarter A” Territory, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, 142279, Russian Federation
Phone: (4967) 31-2182

The article was received 20.05.2025, accepted for publication 30.06.2025

The emergence and spread of antibiotic-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains is an important public health problem. Hypervirulent (hvKp) and multidrug-resistant strains of *K. pneumoniae* causing severe hospital-acquired and out-of-hospital illnesses are a particular threat. An actual direction in the fight against infections caused by this pathogen is the search and characterization of lytic phages. In this study, a new bacteriophage KpV17Sklif of the family *Autographiviridae* (genus *Drulisvirus*), active against *K. pneumoniae* capsular type K23, was isolated and characterized. The complete nucleotide sequence of the bacteriophage genome has been determined. The functions of the products of 28 of 53 predicted genes were determined based on the similarity of DNA and putative polypeptide products with known phages. It was found that the KpV17Sklif bacteriophage has a typical T7-like phage genome organization with its own DNA and RNA polymerase genes and a lysis cassette consisting of spanin, holin, and endolysin genes. The phage genome does not contain genes associated with resistance to antibacterial agents, as well as genes responsible for the lysogenic pathway of bacteriophage development. It is assumed that the pronounced K23 specificity of the KpV17Sklif phage is associated with the presence of a gene encoding the predicted receptor-binding protein Skif45 with a polysaccharide depolymerase domain.
Key words: Klebsiella pneumoniae, capsular polysaccharide, antimicrobial therapy, bacteriophage, depolymerase

For citation: Kolupaeva N.V., Sizova A.A., Lazareva E.B., Chernenkaya T.V., Suzina N.E., Volozhantsev N.V. Characteristics of the lytic bacteriophage KpV17Sklif, a new member of the genus *Drulisvirus*, active against *Klebsiella pneumoniae* of the K23 capsular type. Bacteriology. 2025; 10(2): 93–102. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2025-2-93-102

Устойчивость патогенных бактерий к антибиотикам становится все более актуальной клинической проблемой во всем мире. *Klebsiella pneumoniae*, способная формировать устойчивость к представителям всех классов антибиотиков, на сегодняшний день является лидирующим оппортунистическим патогеном, способным вызывать широкий спектр внутрибольничных и внебольничных инфекций, таких как сепсис, пневмония, менингит, первичные абсцессы печени, инфекции мочевыводящих путей, ожоговых ран и хирургических швов [1–3].

Большая озабоченность клиницистов связана с появлением и все более широким распространением штаммов *K. pneumoniae*, продуцирующих β-лактамазы расширенного спектра действия (ESBL) и карбапенемазы (CP) [4, 5]. Для инфекций, вызванных ESBL- или CP-продуцирующими штаммами, характерны более высокие показатели тяжести заболевания и смертности [6]. Особенно это касается так называемых гипервирулентных штаммов (hypervirulent *K. pneumoniae*/hvKp) [7, 8]. Благодаря характерному для *K. pneumoniae* горизонтальному переносу генов все чаще стали регистрироваться случаи выделения множественно-резистентных hvKP, в т.ч. устойчивых к карбапенемам (CR-hvKP) [7, 9]. Распространение таких штаммов существенно ограничивает возможности лечения *K. pneumoniae*-инфекций и снижает эффективность применения разработанных лекарственных препаратов.

Одной из перспективных альтернатив использованию антибиотиков является терапия бактериофагами (фагами) – естественными киллерами, которые могут быстро и избирательно инфицировать и лизировать патогенные бактерии, в т.ч. устойчивые к антибиотикам [10–13]. Фаготерапия применяется в клинической практике с начала XX века, и за всю историю использования не было выявлено сколько-нибудь существенных побочных эффектов [14].

Естественным ограничением фаготерапии являются высокая специфичность и узкий круг хозяев отдельных бактериофагов. Поэтому для борьбы с неизвестным патогеном приходится использовать фаговые коктейли. Диапазон хозяев многих бактериофагов *K. pneumoniae* коррелирует с типом капсульного полисахарида (CPS) – ключевого фактора вирулентности, защищающего бактерии от фагоцитоза, бактерицидного действия комплемента сыворотки крови, антимикробных пептидов организма-хозяина и некоторых антибиотиков [15, 16]. Известно более 130 типов CPS, включая 77 K-типов, распознаваемых серологическим типированием [17], и новые K-типы, определенные секвенированием ДНК-локуса, ответственного за синтез капсулы (K-локус (KL)) [18]. Упомянутые выше штаммы hvKp обладают, как правило, гипермукоидным (hypermucoviscosity/HM) фенотипом, связанным с гиперэкспрессией капсульных полисахаридов. Чаще всего HM-фенотип ассоциируется с капсульными типами K1 и K2, реже – с K5, K16, K20, K54, K57 [19, 20]. В связи с выраженной капсулоспецифичностью фагов *K. pneumoniae* актуальным является создание банка охарактеризованных фагов, лизирующих штаммы разных капсульных типов, выявление и изучение белков, определяющих специфичность бактериофагов, в частности полисахарид-деполимераз, способных связываться и расщеплять поверхностные полисахариды патогенных *K. pneumoniae*.

Цель работы – выделение и молекулярно-генетическая характеристика нового литического бактериофага, активного против *K. pneumoniae* капсульного типа K23, и выявление в фаговом геноме генов, кодирующих полисахарид-деполимеразы.

Материалы и методы

Бактериальные штаммы и условия их выращивания

В работе использовали 52 штамма *K. pneumoniae*, выделенных из крови пациентов отделения реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) многопрофильного стационара в 2014 г.

Для культивирования гемокультур использовали бактериологический анализатор «Юнона Labstar» (Scenker Biological Technology, Китай). Идентификацию бактерий и определение чувствительности к антибиотикам проводили с использованием масс-спектрометра VITEK MS и анализатора VITEK-2 Compact (bioMérieux, Франция). Выделенные штаммы депонированы в Государственную коллекцию патогенных микроорганизмов и клеточных культур (ГКПМ-Оболенск); геномы всех штаммов секвенированы [21, 22]. Кроме того, использовали штаммы других представителей из группы ESKAPE-патогенов: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Enterobacter* sp., полученные из ГКПМ-Оболенск. Бактериальные культуры выращивали в жидкой питательной среде

«ГРМ-бульон» (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск, Россия) и на плотной питательной среде «ГРМ-агар» (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск, Россия) при температуре 37°С в течение 24–48 ч.

Выделение и размножение бактериофага

Бактериофаги выделяли методом обогащения из флаконов гемокультур, в которых были выявлены *K. pneumoniae*. Пробу обрабатывали хлороформом и центрифугировали в низкоскоростном режиме (6000 g, 20 мин). Надосадочную жидкость фильтровали через мембранные фильтры диаметром 0,22 и 0,45 мкм (Millipore, США). Фильтрат смешивали с суспензий бактериальных клеток *K. pneumoniae*, принадлежащих к различным капсульным типам, и культивировали при температуре 37°С в течение 24 ч. Затем в пробы добавляли хлороформ и центрифугировали при 6000 g в течение 10 мин. Супернатанты фильтровали через мембранный фильтр 0,22 мкм для удаления бактериальных клеток. Наличие бактериофагов в полученных образцах подтверждали методом spot-теста [23]. На бактериальный газон наносили 10–40 мкл фильтрата фага и культивировали в течение 18–24 ч при температуре 37°С. Литическую активность фага фиксировали по наличию зон лизиса на бактериальном газоне. Отобранные с бактериальных газонов негативные колонии (бляшки фага) помещали в SM-буфер (10 мМ Трис-HCl, pH 7,5, 10 мМ $MgSO_4$ и 100 мМ NaCl) и проводили очистку бактериофага с помощью трехкратных последовательных пересевов бляшек на газоне чувствительных штаммов *K. pneumoniae*.

Для размножения фага использовали штамм *K. pneumoniae* KPS43107-1 (B-16465) капсульного типа K23 [22]. Культуру штамма-хозяина выращивали в жидкой питательной среде «ГРМ-бульон» в условиях аэрации при температуре 37°С до оптической плотности OD_{600} = 0,3–0,4; вносили препарат фага при кратности заражения MOI = 0,1 и культивировали до лизиса бактериальной культуры. Для удаления клеточного дебриса к смеси добавляли хлороформ и центрифугировали 5 мин при 13 000 g. Титр препарата бактериофага определяли методом агаровых слоев Грациа [23].

Электронная микроскопия

Препарат бактериофага с титром 10^9 БОЕ/мл наносили на медные подложки Formvar для электронно-микроскопических исследований. После высушивания образец окрашивали 0,3%-м водным раствором уранилацетата (pH 4,0). Исследования проводили на электронном микроскопе JEM-1400 (JEOL, Япония) при ускоряющем напряжении 80 кВ.

Спектр литического действия бактериофага

Специфичность и круг хозяев бактериофага определяли капельным методом (спот-тест). Бактериальные культуры (10^9 КОЕ/мл) смешивали с 4 мл полужидкого агара (0,5%-й агарозы) и распределяли по поверхности чашек с плотной питательной средой «ГРМ-агар». Затем на поверхность агара наносили по 10 мкл последовательных десятикратных разведений бактериофага и культивировали 18–24 ч при температуре 37°С.

Адсорбция фага на клетках *K. pneumoniae*

Клетки *K. pneumoniae* KPS43107-1 выращивали до оптической плотности OD_{600} = 0,3 (10^9 КОЕ/мл). Бактериальную суспензию смешивали с фагом (10^6 БОЕ/мл) и инкубировали при комнатной температуре. Пробы отбирали через 1, 2, 3, 4, 5, 8, 10, 15 и 20 мин (по 100 мкл) в SM-буфер с хлороформом и центрифугировали при 10 000 g 3–5 мин. Для определения количества неадсорбированных фагов в различных временных интервалах проводили титровку надосадочной жидкости с последующим высевом на плотную питательную среду «ГРМ-агар» по методу агаровых слоев и культивированием в течение 18–24 ч при температуре 37°С. Константу скорости адсорбции измеряли по падению титра свободного фага [23].

Одиночный цикл размножения бактериофага

Для определения одиночного цикла развития фага бактериальные клетки штамма-хозяина выращивали до логарифмической фазы роста (OD_{600} = 0,3), осаждали центрифугированием, ресуспендировали в 1 мл жидкой питательной среды «ГРМ-бульон» и смешивали с фагом при множественности инфицирования 1:100. Смесь инкубировали в течение 5 мин при температуре 37°С. Для удаления неадсорбировавшихся фаговых частиц образцы центрифугировали при 10 000 g 3 мин. Осадок ресуспрендировали в 20 мл жидкой питательной среды «ГРМ-бульон» и инкубировали в течение 120 мин, отбирая пробы через каждые 5 мин для определения титра фага по методу агаровых слоев.

Устойчивость фага KpV17Sklif к температуре и pH среды

Температурную устойчивость бактериофага KpV17Sklif определяли после инкубации фаголизата при различных температурах (8, 24, 37, 42, 56 и 70°С) в течение 1 ч. Для оценки стабильности KpV17Sklif при различных pH суспензию фага (10^8 БОЕ/мл) инкубировали в растворах со значениями pH от 3,2 до 12 в течение 1 ч. Влияние температуры и pH среды на стабильность фага KpV17Sklif оценивали при помощи определения титра бактериофага стандартным двухслойным методом [23].

Выделение и секвенирование фаговой ДНК

Выделение ДНК бактериофага проводили методом фенол-хлороформной экстракции [24]. Фаголизат инкубировали 2 ч при температуре 37°С в SM-буфере с добавлением 0,5 М ЭДТА, 10% SDS и 20 мг/мл протеиназы К и прогревали при температуре 56°С в течение 20 мин. Далее в пробу добавляли равный объем фенол/хлороформной смеси, центрифугировали 5 мин при 10 000 об./мин, осторожно отбирали верхнюю водную фазу и проводили очистку ДНК от белковых примесей с помощью изоамилового и этилового спиртов. Полученный осадок растворяли в 40 мкл ТЕ-буфера. Образец ДНК фага KpV17Sklif хранили при температуре -20°С. Секвенирование генома фага проводили на платформе Unicycler v.0.4.7 с технологией сборки генома Genolab M.

Биоинформатический анализ данных

Аннотирование геномных последовательностей бактериофага осуществляли при помощи программ GeneMark [25], RAST [26] и NCBI BLAST [27]. Генетические карты визуализировали с помощью SnapGene Viewer v 6.2.1. Для определения полисахарид-деполимеризующего домена использовали сервер HHpred [28] и базу данных NCBI BLAST [26].

Типирование капсульных локусов ранее секвенированных геномов *K. pneumoniae* [22] и определение капсульных типов (K-типов) проводили с помощью веб-ресурса Kaptive Web [29].

Филогенетическую реконструкцию проводили с использованием PhyML+SMS/OneClick-алгоритма (параметры по умолчанию) web-сервиса NGPhylogeny.fr [30]. Дендрограммы воспроизводили с помощью сервиса iTOL [31].

Результаты исследования и их обсуждение

Выделение бактериофага и его морфологическая характеристика

Бактериофаг KpV17Sklif выделен из крови пациента, находящегося на лечении в ОРИТ многопрофильного стационара, методом обогащения с использованием штаммов *K. pneumoniae* 12 K-типов (K1, K2, K17, K20, K23, K39, K48, K57, K64, K102, K107, K112), включая штамм KPS78054 K-типа K48, выделенный из крови этого же пациента. Как оказалось при дальнейшем исследовании, выделенный бактериофаг не лизирует клетки штамма KPS78054, а для его размножения может быть использован штамм *K. pneumoniae* KPS43107-1 (капсульный тип K23), полученный из крови другого пациента ОРИТ.

На бактериальном газоне штамма *K. pneumoniae* KPS43107-1 фаг KpV17Sklif образует прозрачные негативные колонии диаметром 2–4 мм с ореолом (рис. 1A). Образование ореола указывает на наличие ферментов, разрушающих полисахаридный слой бактериальных клеток (деполимераз).

При электронной микроскопии вирусных частиц KpV17Sklif были выявлены икосаэдрические головки диаметром 45 нм с коротким хвостовым отростком (рис. 1B), что соответствует морфологической характеристике подовирусов [32].

Специфичность и спектр литического действия фага KpV17Sklif

При изучении спектра литического действия бактериофага KpV17Sklif с использованием 52 штаммов *K. pneumoniae* разных K-типов, а также штаммов *A. baumannii* (n = 5), *P. aeruginosa* (n = 3), *Enterobacter* sp., *E. faecium* и *S. aureus* (n = 3) было показано, что фаг обладает высоким уровнем специфичности: лизирует штаммы *K. pneumoniae* K-типа K23 и не проявляет литической активности в отношении *K. pneumoniae* других K-типов, а также других патогенов группы ESKAPE (таблица).

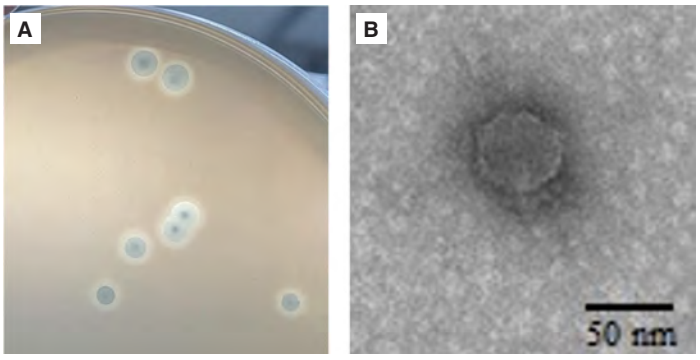

Рис. 1. **Морфологические характеристики бактериофага KpV17Sklif: A) фаговые бляшки на газоне штамма *K. pneumoniae* KPS43107-1; B) электронная микрофотография вириона бактериофага (масштабная линейка 50 нм).**
*Fig. 1. **Morphological characteristics of the bacteriophage KpV17Sklif: A) phage plaques on a lawn of the K. pneumoniae strain KPS43107-1; B) electron micrograph of the bacteriophage virion (scale bar 50 nm).***

Таблица. **Спектр литического действия бактериофага KpV17Sklif**
*Table. **Spectrum of lytic action of bacteriophage KpV17Sklif***

Вид / *Species*	K-тип / *K-type*	Кол-во штаммов / *Number of strains*	Чувствительность к фагу / *Sensitivity to phage*
K. pneumoniae	1	2	–
	2	5	–
	17	4	–
	20	3	–
	23	11	+
	39	2	–
	48	10	–
	57	1	
	64	6	–
	102	1	–
	107	6	–
	112	1	–
A. baumannii	–	5	–
P. aeruginosa	–	3	–
E. species	–	1	–
E. faecium	–	1	–
S. aureus	–	3	–

Адсорбция и одиночный цикл размножения фага KpV17Sklif

Изучение количественных параметров вновь характеризуемых фагов дает ценную информацию о кинетике и эффективности репликации и высвобождения фага в популяции бактерий-хозяев.

Процесс фаговой инфекции исследовали путем оценки скорости адсорбции и определения одиночного цикла размножения фага KpV17Sklif на клетках *K. pneumoniae* KPS43107-1. Как следует из данных, представленных на рис. 2A, фаг быстро адсорбируется на клетках штамма-хозяина; >90% фаговых частиц адсорбируется в течение 4 мин. Константа адсорбции KpV17Sklif составила $4{,}0 \cdot 10^{-7}$ мл/мин.

Результаты эксперимента по определению одиночного цикла размножения фага показали, что латентный период фага KpV17Sklif составляет 10 мин, за ним следует такой же короткий период подъема (увеличение концентрации фаговых частиц) продолжительностью 10 мин и фаза плато. Выход фага составляет ~28 фаговых частиц на одну инфицированную клетку (рис. 2B).

Влияние температуры и pH на выживаемость фага KpV17Sklif

Изучение стабильности фага при различных значениях температуры и pH показало, что фаг остается активным в диапазоне pH от 4 до 9, но только 0,1% фагов сохраняют способность инфицировать клетки штамма-хозяина при pH 3, и ~3% – при pH 11 (рис. 2C). Инфекционная активность

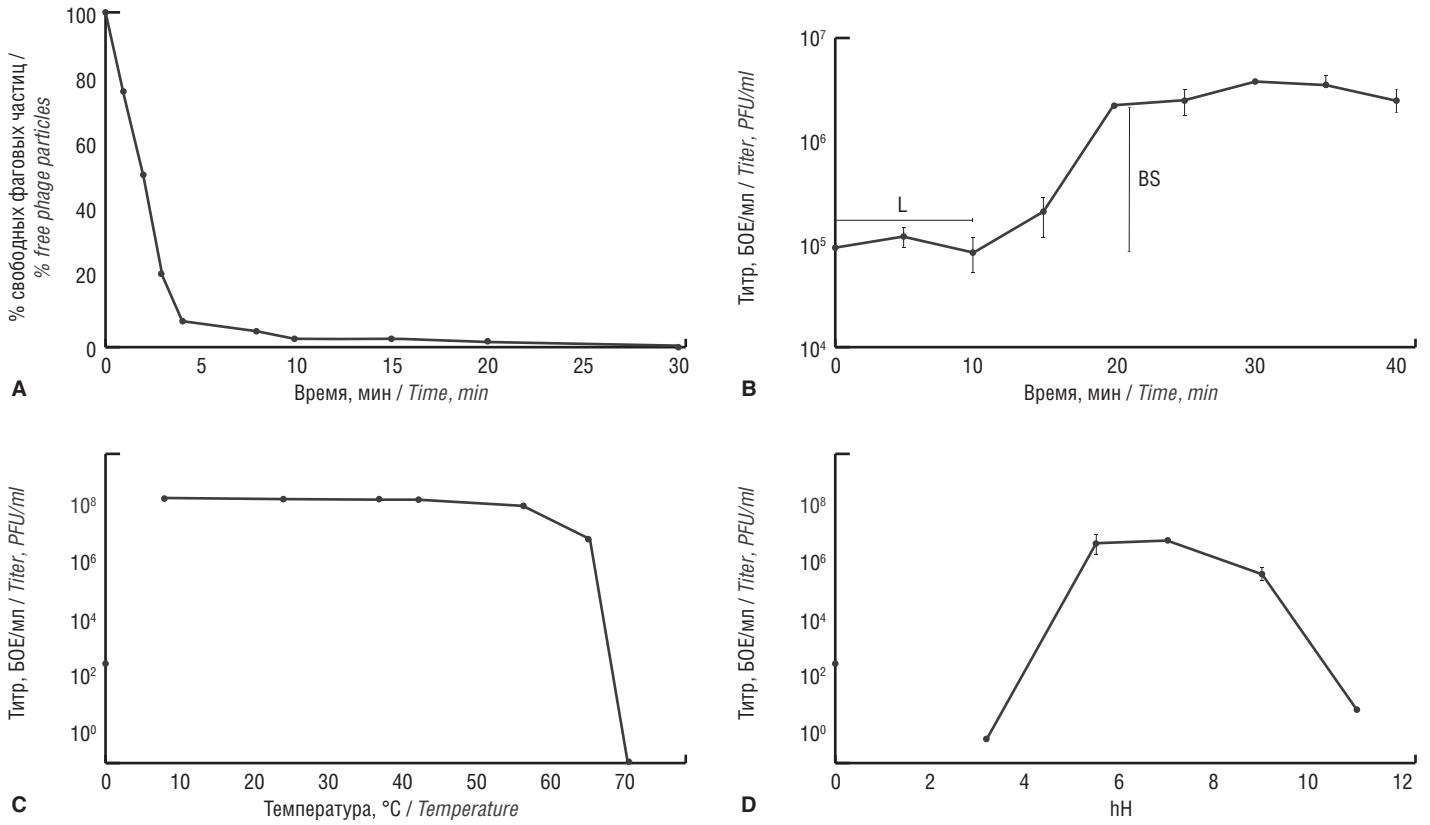

Рис. 2. **Характеристики литической активности бактериофага KpV17Sklif: A) адсорбция фага на клетках *K. pneumoniae* KPS43107-1; B) одиночный цикл размножения фага на клетках штамма *K. pneumoniae* KPS43107-1 (отмечена продолжительность латентного периода – L и выход фаговых частиц – BS); C) влияние температуры на жизнеспособность фага KpV17Sklif; D) влияние pH на жизнеспособность фага KpV17Sklif.**
*Fig. 2. **Characteristics of the lytic activity of the bacteriophage KpV17Sklif: A) phage KpV17Sklif adsorption on K. pneumoniae KPS43107-1 cells; B) one-step growth curve of KpV17Sklif phage on K. pneumoniae strain KPS43107-1 with indication of estimated burst size (BS) and latent period (L); C) the effect of temperature on the viability of the phage KpV17Sklif; D) the effect of pH on the viability of the phage KpV17Sklif.***

бактериофага оставалась неизменно стабильной при температуре от 8 до 56°C. Аналогичная стабильность в этом диапазоне температур была отмечена у ранее охарактеризованных K23-специфичных фагов разных морфотипов: Seu621 и KpS8 рода *Mydovirus* и *Drulisvirus* Dlv622 [33]. Следует отметить, что бактериофаг KpV17Sklif, так же как фаги Seu621 и KpS8, сохранял высокую бляшкообразующую активность даже после инкубации при 65°C, что указывает на его хорошую термостабильность (рис. 2B). Стабильность фага KpV17Sklif в различных условиях окружающей среды имеет решающее значение для его эффективного применения в борьбе с инфекциями, вызванными K. pneumoniae K-типа K23. Широкий спектр температурной устойчивости является ценным свойством для разработки препаратов на основе данного фага для перорального, местного или даже системного применения.

Секвенирование и анализ генома фага KpV17Sklif

Геном фага KpV17Sklif представлен линейной двухцепочечной ДНК размером 43 443 пары нуклеотидов и GC-составом 53,8%. Определены 53 открытые рамки считывания (ORF) – потенциальные гены, кодирующие полипептиды размером >50 аминокислотных остатков. Все идентифицированные гены транскрибируются в одном направлении, 49 ORF начинаются с кодона ATG, четыре – с TTG. Гены, кодирующие тРНК, в геноме фага не выявлены (рис. 3).

На основании гомологии с аминокислотными последовательностями известных фаговых белков предполагаемые

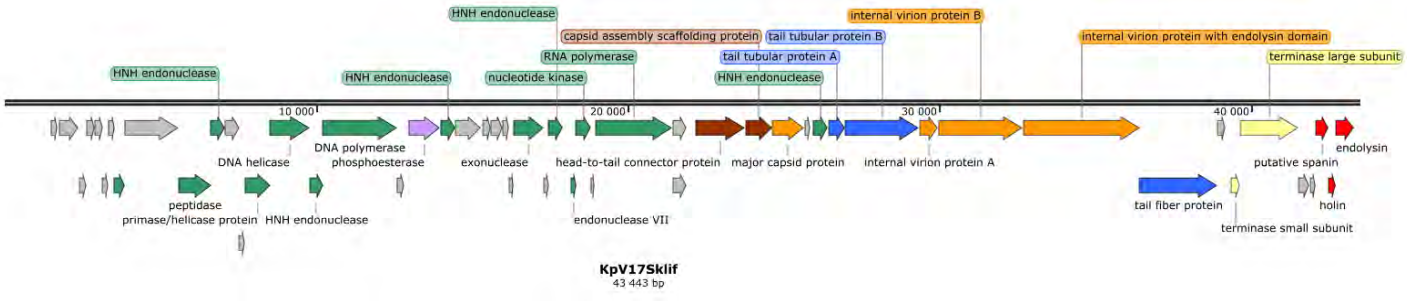

Рис. 3. **Структура генома бактериофага KpV17Sklif.**
*Fig. 3. **Genome structure of the bacteriophage KpV17Sklif.***

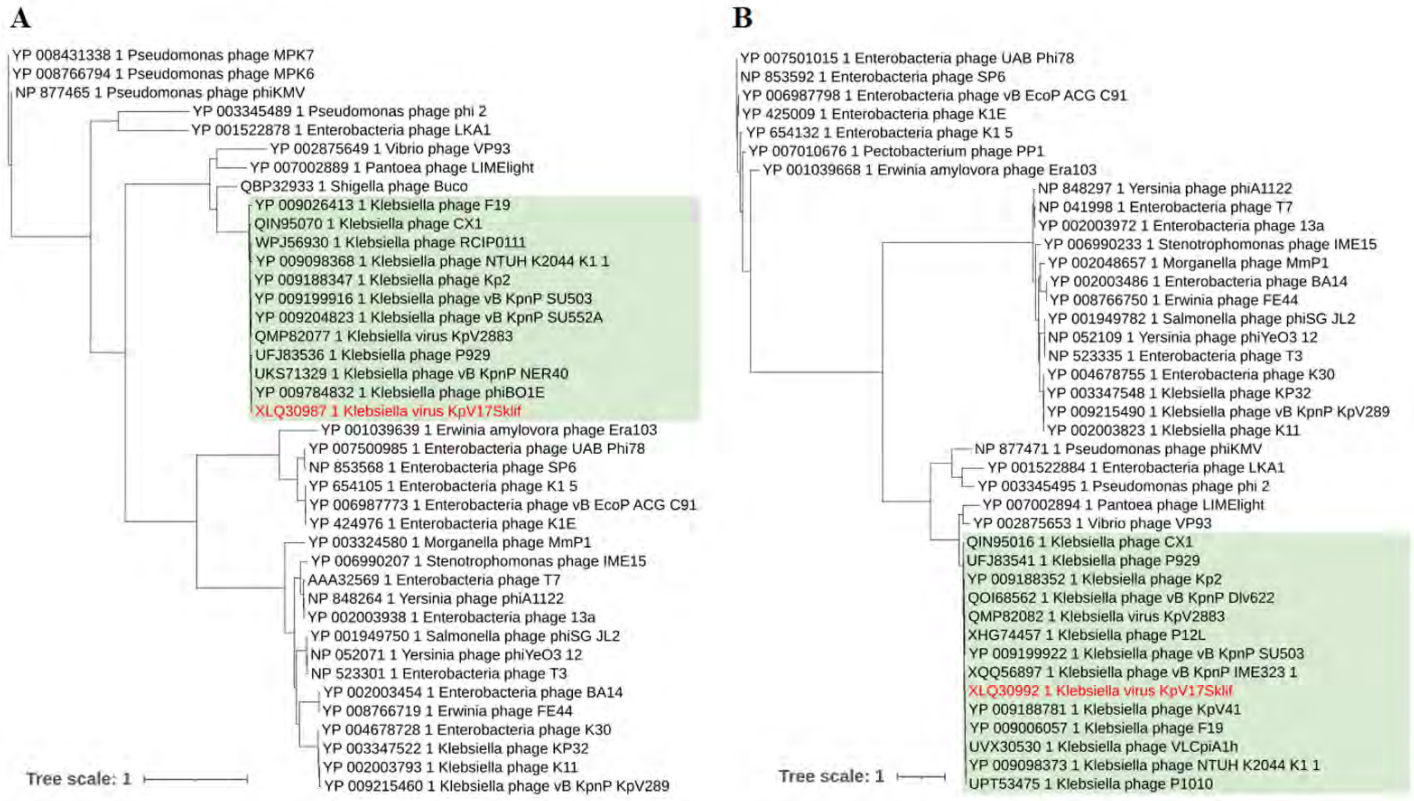

Рис. 4. **Филогенетическое дерево, построенное на основе выравнивания аминокислотных последовательностей РНК-полимеразы (А) и основного белка капсида (В) бактериофагов семейства *Autographiviridae*. Бактериофаги рода *Drulisvirus* маркированы зеленым.**

Fig. 4. ***Phylogenetic tree constructed based on the alignment of amino acid sequences of RNA polymerase (A) and major capsid protein (B) of bacteriophages of the Autographiviridae family. Bacteriophages of the genus Drulisvirus are marked in green.***

функции были определены для продуктов 28 ORF, включая белки, участвующие в репликации ДНК (АТФ-зависимая ДНК-хеликаза, праймаза/хеликаза и ДНК-полимераза), транскрипции (ДНК-зависимая РНК-полимераза), упаковке ДНК в капсид (терминаза, большая и малая субъединицы), лизисе бактериальных клеток (холин, эндолизин и спанин), а также структурные белки фага (основной белок капсида, внутренние белки вириона, тубулярные белки хвоста и белки хвостовых фибрилл).

Продукты остальных 25 ORF имели сходство с гипотетическими фаговыми белками, представленными в базах данных NCBI, однако их функции неизвестны (рис. 3). Каких-либо генов или фрагментов ДНК, свидетельствующих о возможном лизогенном пути развития фага, не обнаружено. Не выявлено также гомологии с известными детерминантами устойчивости к антибиотикам, бактериальными белками вирулентности или токсинами.

Таким образом, результаты проведенного анализа показали, что бактериофаг KpV17Sklif имеет типичную организацию генома фага T7 с наличием кассеты лизиса, состоящей из расположенных рядом генов, кодирующих спанин, холин и эндолизин, а также фаговых ДНК- и РНК-полимераз.

Сравнительный геномный анализ выявил высокую гомологию между ДНК фага KpV17Sklif и бактериофагов семейства *Autographiviridae* подсемейства *Slopekvirinae*. Наиболее близкими к этому фагу по нуклеотидному составу генома оказались литические фаги рода *Drulisvirus* P929 (GenBank: OK562429.1) и CX1 (GenBank: MT090077.2), выделенные в Китае, – идентичность составляет 93% (при покрытии 81–82%), что ниже принятого порога сходства геномов фагов внутри одного вида. Геномные различия >5% предполагают принадлежность фага KpV17Sklif к новому виду вирусов в пределах рода *Drulisvirus*. Таксономическая связь KpV17Sklif с фагами рода *Drulisvirus* подтверждена филогенетическим анализом, основанным на множественных выравниваниях аминокислотных последовательностей РНК-полимеразы и основного белка капсида представителей разных родов семейства *Autographiviridae* (рис. 4).

Анализ хвостовых белков фага и выявление белка с полисахарид-деполимеризующей активностью

Специфичность по отношению к *K. pneumoniae* определенного К-типа (таблица) и наличие полупрозрачного ореола вокруг негативных колоний KpV17Sklif (рис. 1А) предполагают наличие в составе хвостового аппарата этого фага белка с CPS-деполимерующей активностью – полисахарид-деполлимеразы. BLASTp-анализ полипептидных последовательностей KpV17Sklif показал, что белок хвостовой фибриллы Skif45, кодируемый ORF45, содержит N-концевой домен, схожий с рецептор-связывающим доменом TSP1/Gp66 спайковых белков эшерихиозных бактериофагов CBA120 [34] и G7C [35]. Наличие подобных доменов характерно для многих деполимераз (GenBank: UKM17348.1 [36]; YP_010676313.1 [37]; YP_009796379.1 [38]). Последующий анализ с помощью интерактивного сервера HHpred [28] показал, что белок Skif45 имеет структурную гомологию с

другим белком фага CBA120 – TSP3 (HHpred-вероятность 99,97%), содержащим рецептор-связывающий домен, аналогичный TSP1, и каталитический эндогликозидазный домен [39]. По результатам HHpred-анализа также установлено, что белок Skif45 имеет выраженную структурную гомологию (HHpred-вероятность >99%) с белком хвостового спайка фага K64 (ORF41), расщепляющего полисахариды *K. pneumoniae* капсульного типа K64 [40], и аналогичным белком фага phiAB6, который специфически гидролизует экзополисахариды *A. baumannii* [41]. Все упомянутые выше белки имеют характерную для фаговых деполимераз β-складчатую трехмерную архитектуру [39-41]. Таким образом, на основании проведенного анализа с большой долей вероятности можно предположить, что белок Skif45 содержит рецептор-связывающий и каталитический домены, присущие полисахарид-деполимеризующим структурным ферментам бактериофагов.

Заключение

В представленной работе охарактеризованы биологические свойства и геномная организация бактериофага KpV17Sklif, высокоспецифичного по отношению к *K. pneumoniae* капсульного типа K23. Бактериофаг депонирован в Государственную коллекцию патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболенск» (регистрационный номер Ph-193); геном фага представлен в международную базу GenBank под номером PQ663821. На основании результатов геномного и филогенетического анализа установлена принадлежность бактериофага к роду *Drulisvirus* семейства *Autographiviridae*. Показано, что фаг KpV17Sklif имеет типичную организацию генома T7-подобных бактериофагов с наличием собственных генов ДНК- и РНК-полимераз, а также характерной кассеты лизиса, состоящей из расположенных рядом генов спанина, холина и эндолизина. В геноме фага не обнаружены гены, ассоциированные с устойчивостью к антибактериальным агентам, а также гены, ответственные за лизогенный путь развития бактериофага. Предполагается, что выраженная K23-специфичность фага KpV17Sklif связана с наличием гена, кодирующего рецептор-связывающий белок Skif45 с доменом полисахарид-деполимеризы. Полученные результаты указывают на потенциал использования фага KpV17Sklif как средства идентификации *K. pneumoniae* K-типа K23, а также как одного из компонентов фагового коктейля для борьбы с инфекциями, вызванными *K. pneumoniae*. В свою очередь, выявление закодированного в геноме фага белка Skif45, определяющего активность фага в отношении *K. pneumoniae* K-типа K23, является предметом дальнейших исследований, направленных на изучение структуры, особенностей и механизмов действия этого пептида, а также его роли в процессе взаимодействия фага с бактериальной клеткой.

Источник финансирования
Работа выполнена при поддержке отраслевой научной программы Роспотребнадзора.
Funding source
The work was supported by the Sectoral Scientific Program of the Rospotrebnadzor.

Конфликт интересов
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest
The authors declare no conflict of interest.

Литература

1. Комисарова ЕВ, Воложанцев НВ. Гипервирулентная *Klebsiella pneumoniae* – новая инфекционная угроза. Инфекционные болезни. 2019;17(3):81-89. DOI: 10.20953/1729-9225-2019-3-81-89
2. Чеботарь ИВ, Бочарова ЮА, Подопригора ИВ, Шагин ДА. Почему *Klebsiella pneumoniae* становится лидирующим оппортунистическим патогеном. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2020;22(1):4-19. DOI: 10.36488/cmac.2020.1.4-19
3. Wang G, Zhao G, Chao X, Xie L, Wang H. The Characteristic of Virulence, Biofilm and Antibiotic Resistance of *Klebsiella pneumoniae*. Int J Environ Res Public Health. 2020;17(17):6278. DOI: 10.3390/ijerph17176278
4. Namikawa H, Oinuma KI, Kaneko Y, Kakeya H, Shuto T. Antimicrobial resistance in hypermucoviscous and non-hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae*: a systematic review and meta-analysis. Emerg Microbes Infect. 2024; 4:2438657. DOI: 10.1080/22221751.2024.2438657
5. Han YL, Wen XH, Zhao W, Cao XS, Wen JX, Wang JR, et al. Epidemiological characteristics and molecular evolution mechanisms of carbapenem-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. Front Microbiol. 2022;13:1003783. DOI: 10.3389/fmicb.2022.1003783
6. Li D, Huang X, Rao H, Yu H, Long S, Li Y, et al. *Klebsiella pneumoniae* bacteremia mortality: a systematic review and meta-analysis. Front Cell Infect Microbiol. 2023;13:1157010. DOI: 10.3389/fcimb.2023.1157010
7. Dong N, Yang X, Chan EW, Zhang R, Chen S. *Klebsiella* species: Taxonomy, hypervirulence and multidrug resistance. EBioMedicine. 2022; 79:103998. DOI: 10.1016/j.ebiom.2022.103998
8. Kocsis B. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*: An update on epidemiology, detection and antibiotic resistance. Acta Microbiol Immunol Hung. 2023;70(4):278-287. DOI: 10.1556/030.2023.02186
9. Pu D, Zhao J, Chang K, Zhuo X, Cao B. "Superbugs" with hypervirulence and carbapenem resistance in *Klebsiella pneumoniae*: the rise of such emerging nosocomial pathogens in China. Sci Bull (Beijing). 2023; 68(21):2658-2670. DOI: 10.1016/j.scib.2023.09.040
10. Górski A, Międzybrodzki R, Żaczek M, Borysowski J. Phages in the fight against COVID-19? Future Microbiol. 2020;15:1095-1100. DOI: 10.2217/fmb-2020-0082
11. Комисарова ЕВ, Красильникова ВМ, Воложанцев НВ. Бактериофаги, фаговые полисахарид-деполимеразы и возможности их использования для лечения бактериальных инфекций. Бактериология. 2019;4(4):7-14. DOI: 10.20953/2500-1027-2019-4-7-14
12. Payne RJ, Phil D, Jansen VA. Phage therapy: the peculiar kinetics of self-replicating pharmaceuticals. Clin Pharmacol Ther. 2000;68(3):225-30. DOI: 10.1067/mcp.2000.109520
13. Kou X, Yang X, Zheng R. Challenges and opportunities of phage therapy for *Klebsiella pneumoniae* infections. Appl Environ Microbiol. 2024;90(10):e0135324. DOI: 10.1128/aem.01353-24
14. Abbas S, Kanwar R, Ullah K, Kanwal R, Tajamal M, Aslam MA, et al. Bacteriophage therapy: a possible alternative therapy against antibiotic-resistant strains of *Klebsiella pneumoniae*. Front Microbiol. 2025;16:1443430. DOI: 10.3389/fmicb.2025.1443430
15. Cortes G, Borrell N, de Astorza B, Gómez C, Sauleda J, Albertí S. Molecular analysis of the contribution of the capsular polysaccharide and the lipopolysaccharide O side chain to the virulence of *Klebsiella pneumoniae* in a murine model of pneumonia. Infect Immun. 2002;70(5):2583-90. DOI: 10.1128/IAI.70.5.2583-2590.2002

16. Domenico P, Salo RJ, Cross AS, Cunha BA. Polysaccharide capsule-mediated resistance to opsonophagocytosis in *Klebsiella pneumoniae*. Infect Immun. 1994;62(10):4495-9. DOI: 10.1128/iai.62.10.4495-4499.1994
17. Ørskov I, Fife-Asbury MA. New *Klebsiella* capsular antigen K82 and the deletion of five of those previously assigned. Int J Syst Bacteriol. 1977;27:386-387. DOI: 10.1099/00207713-27-4-386
18. Wyres KL, Wick RR, Gorrie C, Jenney A, Follador R, Thomson NR, et al. Identification of *Klebsiella* capsule synthesis loci from whole genome data. Microb Genom. 2016;2(12):e000102. DOI: 10.1099/mgen.0.000102
19. Al Ismail D, Campos-Madueno EI, Donà V, Endimiani A. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* (hvKp): Overview, Epidemiology, and Laboratory Detection. Pathog Immun. 2025;10(1):80-119. DOI: 10.20411/pai.v10i1.777
20. Volozhantsev NV, Shpirt AM, Borzilov AI, Komisarova EV, Krasilnikova VM, Shashkov AS, et al. Characterization and therapeutic potential of bacteriophage-encoded polysaccharide depolymerases with β galactosidase activity against *Klebsiella pneumoniae* K57 capsular type. Antibiotics (Basel). 2020;9(11):732. DOI: 10.3390/antibiotics9110732
21. Kolupaeva NV, Kolupaeva LV, Evseev PV, Skryabin YP, Lazareva EB, Chernenkaya TV, et al. *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae* Isolates Obtained from Intensive Care Unit Patients in 2024: General Characterization, Prophages, Depolymerases and Esterases of Phage Origin. Viruses. 2025;17(5):623. DOI: 10.3390/v17050623
22. Колупаева ЛВ, Колупаева НВ, Лебедева АЮ, Соломенцев ВИ, Сизова АА, Фурсов МВ, и др. Геномные последовательности изолятов *Acinetobacter baumannii* и *Klebsiella pneumoniae*, выделенных из крови пациентов отделения реанимации и интенсивной терапии в 2024 г. Бактериология. 2025;10(1):116-118. DOI: 10.20953/2500-1027-2025-1-116-118
23. Adams MH. Bacteriophages. Interscience Publishers: New York, NY, USA, 1959.
24. Green MR, Sambrook J. Molecular Cloning: a Laboratory Manual. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2012;1890.
25. Besemer J, Lomsadze A, Borodovsky M. GeneMarkS: a self-training method for prediction of gene starts in microbial genomes. Implications for finding sequence motifs in regulatory regions. Nucleic Acids Res. 2001;29(12):2607-18. DOI: 10.1093/nar/29.12.2607
26. Aziz RK, Bartels D, Best AA, DeJongh M, Disz T, Edwards RA, et al. The RAST Server: rapid annotations using subsystems technology. BMC Genomics. 2008;9:75. DOI: 10.1186/1471-2164-9-75
27. Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. Basic local alignment search tool. J Mol Biol. 1990; 215(3):403-10. DOI: 10.1016/S0022-2836(05)80360-2
28. Zimmermann L, Stephens A, Nam SZ, Rau D, Kübler J, Lozajic M, et al. A completely reimplemented MPI bioinformatics toolkit with a new HHpred Server at its Core. J Mol Biol. 2018;430(15):2237-2243. DOI: 10.1016/j.jmb.2017.12.007
29. Wick RR, Heinz E, Holt KE, Wyres KL. Kaptive Web: User-Friendly Capsule and Lipopolysaccharide Serotype Prediction for *Klebsiella* Genomes. J Clin Microbiol. 2018;56(6):e00197-18. DOI: 10.1128/JCM.00197-18
30. Lemoine F, Correia D, Lefort V, Doppelt-Azeroual O, Mareuil F, Cohen-Boulakia S, et al. NGPhylogeny.fr: new generation phylogenetic services for non-specialists. Nucleic Acids Res. 2019;47(1):260-265. DOI: 10.1093/nar/gkz303
31. Letunic I, Bork P. Interactive Tree of Life (iTOL) v6: recent updates to the phylogenetic tree display and annotation tool. Nucleic Acids Res. 2024;52(1):78-82. DOI: 10.1093/nar/gkae268
32. Ackermann HW. Basic phage electron microscopy. Methods Mol Biol. 2009;501:113-26. DOI: 10.1007/978-1-60327-164-6_12
33. Gorodnichev RB, Volozhantsev NV, Krasilnikova VM, Bodoev IN, Kornienko MA, Kuptsov NS, et al. Novel *Klebsiella pneumoniae* K23-Specific Bacteriophages From Different Families: Similarity of Depolymerases and Their Therapeutic Potential. Front Microbiol. 2021;12:669618. DOI: 10.3389/fmicb.2021.669618
34. Chen C, Bales P, Greenfield J, Heselpoth RD, Nelson DC, Herzberg O. Crystal structure of ORF210 from *E. coli* O157:H1 phage CBA120 (TSP1), a putative tailspike protein. PLoS One. 2014;9(3):e93156. DOI: 10.1371/journal.pone.0093156
35. Prokhorov NS, Riccio C, Zdorovenko EL, Shneider MM, Browning C, Knirel YA, et al. Function of bacteriophage G7C esterase tailspike in host cell adsorption. Mol Microbiol. 2017;105(3):385-398. DOI: 10.1111/mmi.13710
36. Sattar S, Bailie M, Yaqoob A, Khanum S, Fatima K, Altaf AURB, et al. Characterization of two novel lytic bacteriophages having lysis potential against MDR avian pathogenic *Escherichia coli* strains of zoonotic potential. Sci Rep. 2023;13(1):10043. DOI: 10.1038/s41598-023-37176-z
37. Sousa JC, Sillankorva S, Faustino A, Carvalho CM. Suggestion for a new bacteriophage genus for the *Klebsiella pneumoniae* phage vB_KpnS-Carvaje. Curr Genet. 2022;68(3-4):393-406. DOI: 10.1007/s00294-022-01242-2
38. Newkirk HN, Lessor L, Gill JJ, Liu M. Complete Genome Sequence of *Klebsiella pneumoniae* Myophage Menlow. Microbiol Resour Announc. 2019;8(17):e00192-19. DOI: 10.1128/MRA.00192-19
39. Greenfield J, Shang X, Luo H, Zhou Y, Heselpoth RD, Nelson DC, et al. Structure and tailspike glycosidase machinery of ORF212 from *E. coli* O157:H7 phage CBA120 (TSP3). Sci Rep. 2019;9(1):7349. DOI: 10.1038/s41598-019-43748-9
40. Huang T, Zhang Z, Tao X, Shi X, Lin P, Liao D, et al. Structural and functional basis of bacteriophage K64-ORF41 depolymerase for capsular polysaccharide degradation of *Klebsiella pneumoniae* K64. Int J Biol Macromol. 2024; 265(2):130917. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2024.130917
41. Lee IM, Tu IF, Yang FL, Ko TP, Liao JH, Lin NT, et al. Structural basis for fragmenting the exopolysaccharide of *Acinetobacter baumannii* by bacteriophage ΦAB6 tailspike protein. Sci Rep. 2017;7:42711. DOI: 10.1038/srep42711

References

1. Komisarova EV, Volozhantsev NV. Hypervirulent *Klebsiella pneumonia*: a new infectious threat. Infekc. bolezni (Infectious Diseases). 2019;17(3):81-89. DOI: 10.20953/1729-9225-2019-3-81-89 (In Russian).
2. Chebotar IV, Bocharova YA, Podoprigora IV, Shagin DA. The reasons why *Klebsiella pneumoniae* becomes a leading opportunistic pathogen. Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. 2020;22(1):4-19. DOI: 10.36488/cmac.2020.1.4-19 (In Russian).
3. Wang G, Zhao G, Chao X, Xie L, Wang H. The Characteristic of Virulence, Biofilm and Antibiotic Resistance of *Klebsiella pneumoniae*. Int J Environ Res Public Health. 2020;17(17):6278. DOI: 10.3390/ijerph17176278
4. Namikawa H, Oinuma KI, Kaneko Y, Kakeya H, Shuto T. Antimicrobial resistance in hypermucoviscous and non-hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae*: a systematic review and meta-analysis. Emerg Microbes Infect. 2024; 4:2438657. DOI: 10.1080/22221751.2024.2438657
5. Han YL, Wen XH, Zhao W, Cao XS, Wen JX, Wang JR, et al. Epidemiological characteristics and molecular evolution mechanisms of carbapenem-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. Front Microbiol. 2022;13:1003783. DOI: 10.3389/fmicb.2022.1003783
6. Li D, Huang X, Rao H, Yu H, Long S, Li Y, et al. *Klebsiella pneumoniae* bacteremia mortality: a systematic review and meta-analysis. Front Cell Infect Microbiol. 2023;13:1157010. DOI: 10.3389/fcimb.2023.1157010
7. Dong N, Yang X, Chan EW, Zhang R, Chen S. *Klebsiella* species: Taxonomy, hypervirulence and multidrug resistance. EBioMedicine. 2022; 79:103998. DOI: 10.1016/j.ebiom.2022.103998
8. Kocsis B. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*: An update on epidemiology, detection and antibiotic resistance. Acta Microbiol Immunol Hung. 2023;70(4):278-287. DOI: 10.1556/030.2023.02186
9. Pu D, Zhao J, Chang K, Zhuo X, Cao B. "Superbugs" with hypervirulence and carbapenem resistance in *Klebsiella pneumoniae*: the rise of such emerging nosocomial pathogens in China. Sci Bull (Beijing). 2023; 68(21):2658-2670. DOI: 10.1016/j.scib.2023.09.040

10. Górski A, Międzybrodzki R, Żaczek M, Borysowski J. Phages in the fight against COVID-19? Future Microbiol. 2020;15:1095-1100. DOI: 10.2217/fmb-2020-0082
11. Komisarova EV, Krasilnikova VM, Volozhantsev NV. Bacteriophages, phage polysaccharide depolymerases and the possibility of their use for the treatment of bacterial infections. Bacteriology. 2019;4(4):7-14. DOI: 10.20953/2500-1027-2019-4-7-14 (In Russian).
12. Payne RJ, Phil D, Jansen VA. Phage therapy: the peculiar kinetics of self-replicating pharmaceuticals. Clin Pharmacol Ther. 2000;68(3):225-30. DOI: 10.1067/mcp.2000.109520
13. Kou X, Yang X, Zheng R. Challenges and opportunities of phage therapy for *Klebsiella pneumoniae* infections. Appl Environ Microbiol. 2024;90(10):e0135324. DOI: 10.1128/aem.01353-24
14. Abbas S, Kanwar R, Ullah K, Kanwal R, Tajamal M, Aslam MA, et al. Bacteriophage therapy: a possible alternative therapy against antibiotic-resistant strains of *Klebsiella pneumoniae*. Front Microbiol. 2025;16:1443430. DOI: 10.3389/fmicb.2025.1443430
15. Cortes G, Borrell N, de Astorza B, Gómez C, Sauleda J, Albertí S. Molecular analysis of the contribution of the capsular polysaccharide and the lipopolysaccharide O side chain to the virulence of Klebsiella pneumoniae in a murine model of pneumonia. Infect Immun. 2002;70(5):2583-90. DOI: 10.1128/IAI.70.5.2583-2590.2002
16. Domenico P, Salo RJ, Cross AS, Cunha BA. Polysaccharide capsule-mediated resistance to opsonophagocytosis in *Klebsiella pneumoniae*. Infect Immun. 1994;62(10):4495-9. DOI: 10.1128/iai.62.10.4495-4499.1994
17. Ørskov I, Fife-Asbury MA. New *Klebsiella* capsular antigen K82 and the deletion of five of those previously assigned. Int J Syst Bacteriol. 1977;27:386-387. DOI: 10.1099/00207713-27-4-386
18. Wyres KL, Wick RR, Gorrie C, Jenney A, Follador R, Thomson NR, et al. Identification of *Klebsiella* capsule synthesis loci from whole genome data. Microb Genom. 2016;2(12):e000102. DOI: 10.1099/mgen.0.000102
19. Al Ismail D, Campos-Madueno EI, Donà V, Endimiani A. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* (hvKp): Overview, Epidemiology, and Laboratory Detection. Pathog Immun. 2025;10(1):80-119. DOI: 10.20411/pai.v10i1.777
20. Volozhantsev NV, Shpirt AM, Borzilov AI, Komisarova EV, Krasilnikova VM, Shashkov AS, et al. Characterization and therapeutic potential of bacteriophage-encoded polysaccharide depolymerases with β galactosidase activity against *Klebsiella pneumoniae* K57 capsular type. Antibiotics (Basel). 2020;9(11):732. DOI: 10.3390/antibiotics9110732
21. Kolupaeva NV, Kolupaeva LV, Evseev PV, Skryabin YP, Lazareva EB, Chernenkaya TV, et al. *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae* Isolates Obtained from Intensive Care Unit Patients in 2024: General Characterization, Prophages, Depolymerases and Esterases of Phage Origin. Viruses. 2025;17(5):623. DOI: 10.3390/v17050623
22. Kolupaeva LV, Kolupaeva NV, Lebedeva AYu, Solomentsev VI, Sizova AA, Fursov MV, et al. Genomic sequences of *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae* isolates obtained from the blood of patients of intensive care unit in 2024. Bacteriology. 2025;10(1):116-118. DOI: 10.20953/2500-1027-2025-1-116-118 (In Russian).
23. Adams MH. Bacteriophages. Interscience Publishers: New York, NY, USA, 1959.
24. Green MR, Sambrook J. Molecular Cloning: a Laboratory Manual. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2012;1890.
25. Besemer J, Lomsadze A, Borodovsky M. GeneMarkS: a self-training method for prediction of gene starts in microbial genomes. Implications for finding sequence motifs in regulatory regions. Nucleic Acids Res. 2001;29(12):2607-18. DOI: 10.1093/nar/29.12.2607
26. Aziz RK, Bartels D, Best AA, DeJongh M, Disz T, Edwards RA, et al. The RAST Server: rapid annotations using subsystems technology. BMC Genomics. 2008;9:75. DOI: 10.1186/1471-2164-9-75
27. Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. Basic local alignment search tool. J Mol Biol. 1990; 215(3):403-10. DOI: 10.1016/S0022-2836(05)80360-2
28. Zimmermann L, Stephens A, Nam SZ, Rau D, Kübler J, Lozajic M, et al. A completely reimplemented MPI bioinformatics toolkit with a new HHpred Server at its Core. J Mol Biol. 2018;430(15):2237-2243. DOI: 10.1016/j.jmb.2017.12.007
29. Wick RR, Heinz E, Holt KE, Wyres KL. Kaptive Web: User-Friendly Capsule and Lipopolysaccharide Serotype Prediction for *Klebsiella* Genomes. J Clin Microbiol. 2018;56(6):e00197-18. DOI: 10.1128/JCM.00197-18
30. Lemoine F, Correia D, Lefort V, Doppelt-Azeroual O, Mareuil F, Cohen-Boulakia S, et al. NGPhylogeny.fr: new generation phylogenetic services for non-specialists. Nucleic Acids Res. 2019;47(1):260-265. DOI: 10.1093/nar/gkz303
31. Letunic I, Bork P. Interactive Tree of Life (iTOL) v6: recent updates to the phylogenetic tree display and annotation tool. Nucleic Acids Res. 2024;52(1):78-82. DOI: 10.1093/nar/gkae268
32. Ackermann HW. Basic phage electron microscopy. Methods Mol Biol. 2009;501:113-26. DOI: 10.1007/978-1-60327-164-6_12
33. Gorodnichev RB, Volozhantsev NV, Krasilnikova VM, Bodoev IN, Kornienko MA, Kuptsov NS, et al. Novel *Klebsiella pneumoniae* K23-Specific Bacteriophages From Different Families: Similarity of Depolymerases and Their Therapeutic Potential. Front Microbiol. 2021;12:669618. DOI: 10.3389/fmicb.2021.669618
34. Chen C, Bales P, Greenfield J, Heselpoth RD, Nelson DC, Herzberg O. Crystal structure of ORF210 from *E. coli* O157:H1 phage CBA120 (TSP1), a putative tailspike protein. PLoS One. 2014;9(3):e93156. DOI: 10.1371/journal.pone.0093156
35. Prokhorov NS, Riccio C, Zdorovenko EL, Shneider MM, Browning C, Knirel YA, et al. Function of bacteriophage G7C esterase tailspike in host cell adsorption. Mol Microbiol. 2017;105(3):385-398. DOI: 10.1111/mmi.13710
36. Sattar S, Bailie M, Yaqoob A, Khanum S, Fatima K, Altaf AURB, et al. Characterization of two novel lytic bacteriophages having lysis potential against MDR avian pathogenic *Escherichia coli* strains of zoonotic potential. Sci Rep. 2023;13(1):10043. DOI: 10.1038/s41598-023-37176-z
37. Sousa JC, Sillankorva S, Faustino A, Carvalho CM. Suggestion for a new bacteriophage genus for the *Klebsiella pneumoniae* phage vB_KpnS-Carvaje. Curr Genet. 2022;68(3-4):393-406. DOI: 10.1007/s00294-022-01242-2
38. Newkirk HN, Lessor L, Gill JJ, Liu M. Complete Genome Sequence of *Klebsiella pneumoniae* Myophage Menlow. Microbiol Resour Announc. 2019;8(17):e00192-19. DOI: 10.1128/MRA.00192-19
39. Greenfield J, Shang X, Luo H, Zhou Y, Heselpoth RD, Nelson DC et al. Structure and tailspike glycosidase machinery of ORF212 from *E. coli* O157:H7 phage CBA120 (TSP3). Sci Rep. 2019;9(1):7349. DOI: 10.1038/s41598-019-43748-9
40. Huang T, Zhang Z, Tao X, Shi X, Lin P, Liao D, et al. Structural and functional basis of bacteriophage K64-ORF41 depolymerase for capsular polysaccharide degradation of *Klebsiella pneumoniae* K64. Int J Biol Macromol. 2024;265(2):130917. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2024.130917
41. Lee IM, Tu IF, Yang FL, Ko TP, Liao JH, Lin NT, et al. Structural basis for fragmenting the exopolysaccharide of *Acinetobacter baumannii* by bacteriophage ΦAB6 tailspike protein. Sci Rep. 2017;7:42711. DOI: 10.1038/srep42711

Информация о соавторах:

Сизова Анжелика Александровна, младший научный сотрудник отдела коллекционных культур ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Лазарева Елена Борисовна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клинической микробиологии ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В.Склифосовского Департамента здравоохранения г. Москвы»

Черненькая Татьяна Витальевна, кандидат медицинских наук, заведующая научным отделением лаборатории клинической микробиологии ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В.Склифосовского Департамента здравоохранения г. Москвы»

Сузина Наталья Егоровна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории цитологии микроорганизмов Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К.Скрябина, ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН»

Воложанцев Николай Валентинович, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Information about co-authors:

Anzhelika A. Sizova, Junior Researcher, Department of Collection Cultures, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

Elena B. Lazareva, MD, PhD, DSc, Leading Researcher, Laboratory of Clinical Microbiology, N.V.Sklifosovsky Research Institute for Emergency Care, Moscow Department of Healthcare

Tatyana V. Chernenkaya, PhD, MD, Head of the Scientific Department of the Laboratory of Clinical Microbiology, N.V.Sklifosovsky Research Institute for Emergency Care, Moscow Department of Healthcare

Natalya E. Suzina, PhD in Biological Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Microorganism Cytology, Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms G.K.Skryabin, Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences

Nikolay V. Volozhantsev, PhD in Biological Sciences, Leading Researcher, Department of Molecular Microbiology, Federal State Scientific Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

НОВОСТИ НАУКИ

Покоящиеся листерии в продуктах питания

Бактерии, подвергшиеся стрессу, могут перейти в спящее жизнеспособное, но некультивируемое (VBNC) состояние. Патогены VBNC представляют повышенный риск для здоровья, поскольку их невозможно обнаружить методами, основанными на росте, и они могут снова просыпаться в вирулентном состоянии. Несмотря на широкое распространение среди бактерий, механизмы, управляющие этим фенотипическим переключением, остаются неуловимыми. Здесь мы исследуем переход состояния VBNC у человеческого патогена *Listeria monocytogenes*. Мы показываем, что бактерии, голодающие в минеральной воде, становятся VBNC, превращаясь в осмотически стабильные коккоидные формы с дефицитом клеточной стенки, явление, которое встречается у других видов *Listeria*. Мы раскрываем регулятор реакции бактерий на стресс SigB и аутолизин NamA как основные участники перехода состояния VBNC. Наконец, мы показываем, что VBNC *Listeria* возвращаются в окруженное стенкой и вирулентное состояние после пассажа в куриных эмбрионах. Наше исследование предоставляет более подробную информацию о механизмах перехода между состояниями VBNC, раскрывая, что бактерии без стенки, естественным образом возникающие в водной среде, являются потенциальной стратегией выживания в гипоосмотических и олиготрофных условиях.

Carvalho F, Carreaux A, Sartori-Rupp A, Tachon S, Gazi AD, Courtin P, et al.
Aquatic environment drives the emergence of cell wall-deficient dormant forms in Listeria.
Nat Commun. 2024 Oct 2;15(1):8499. DOI: 10.1038/s41467-024-52633-7

Изучение редких бактериальных геномов с помощью нового инструмента секвенирования

Выявление и секвенирование редких штаммов бактерий, составляющих микробиом человека, является сложной задачей для ученых. Генетики из Медицинской школы Икана в Маунт-Синай, разработали метод под названием mEnrich-seq для решения этой проблемы. Используя уникальные эпигенетические сигнатуры определенных бактериальных штаммов, mEnrich-seq может усилить сигнал интересующих штаммов более чем в 100 раз, не давая им заглушаться «шумом» распространенных видов. Этот метод секвенирования бактериального генома можно использовать для выявления штаммов, устойчивых к антибиотикам, например, у пациентов с инфекциями мочевыводящих путей, или для обнаружения полезных штаммов в образцах фекалий, которые можно использовать в качестве пробиотиков.

Cao L, Kong Y, Fan Y, Ni M, Tourancheau A, Ksiezarek M, et al.
mEnrich-seq: methylation-guided enrichment sequencing of bacterial taxa of interest from microbiome.
Nat Methods. 2024 Feb;21(2):236-246. DOI: 10.1038/s41592-023-02125-1