ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

Бактериология, 2026, том 11, №2, с. 8–16
Bacteriology, 2026, volume 11, No 2, p. 8–16

DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-8-16

Молекулярно-генетическая характеристика клебсиеллезного бактериофага KpS7 – нового представителя Т-четных фагов рода *Jiaodavirus*

В.А.Волкова, Е.А.Денисенко, В.М.Красильникова, А.А.Кисличкина, Н.В.Воложанцев

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

Распространение множественно-резистентных штаммов *Klebsiella pneumoniae* (MDR-KP) представляет собой серьезную угрозу общественному здравоохранению. В связи с этим фаготерапия рассматривается как перспективная альтернатива борьбы с MDR-KP. В данном исследовании охарактеризован геном бактериофага KpS7 – нового представителя Т-четных фагов рода *Jiaodaviruse*, активного против клинических MDR-штаммов *K. pneumoniae*. Полный геном бактериофага состоит из линейной двухцепочечной ДНК длиной 167 663 пары нуклеотидов (GC-состав: 39,54%) и содержит 292 белок-кодирующие последовательности (CDS); при этом CDS составляют 95% генома. Предполагаемые функции определены для белков, кодируемых 115 CDS, организованных в функциональные модули, характерные для Т-четных бактериофагов: белки метаболизма нуклеиновых кислот (50 CDS), связанные с репликацией, рекомбинацией, репарацией и транскрипцией ДНК; структурные белки капсида и хвостового аппарата (46 CDS); белки, обеспечивающие упаковку ДНК в капсид (3 CDS), и белки с литическими свойствами (4 CDS). Дополнительно идентифицировано 12 белков бактериофагов с консервативным доменным профилем, функция которых не известна, и ряд гипотетических белков, составляющих в общей сложности 56%. В геноме фага KpS7 не выявлено генов, ассоциированных с лизогенией, устойчивостью к антибиотикам или бактериальной вирулентностью, что свидетельствует о безопасности использования бактериофага в качестве терапевтического средства.
Ключевые слова: Klebsiella pneumoniae, бактериофаг (фаг), геномный анализ, антибактериальная терапия

Для цитирования: Волкова В.А., Денисенко Е.А., Красильникова В.М., Кисличкина А.А., Воложанцев Н.В. Молекулярно-генетическая характеристика клебсиеллезного бактериофага KpS7 – нового представителя Т-четных фагов рода *Jiaodavirus*. Бактериология. 2026; 11(2): 8–16. DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-8-16

Molecular genetic characteristics of the Klebsiella bacteriophage KpS7, a new member of the T-even phages of the genus *Jiaodavirus*

V.A.Volkova, E.A.Denisenko, V.M.Krasilnikova, A.A.Kislichkina, N.V.Volozhantsev

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor, Obolensk, Russian Federation

The spread of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* (MDR-KP) strains poses a serious threat to public health. In this context, phage therapy is considered a promising alternative for combating MDR-KP. In this study, the genome of bacteriophage KpS7, a new representative of T-even phages of the genus *Jiaodavirus* active against clinical MDR strains of *K. pneumoniae*, was characterized. The complete genome of the bacteriophage consists of a linear double-stranded DNA molecule of 167,663 base pairs (GC content: 39.54%) and contains 292 protein-coding sequences (CDSs); CDSs constitute 95% of the genome. Putative functions were assigned to proteins encoded by 115 CDSs, which are organized into functional modules typical of T-even bacteriophages: nucleic acid metabolism proteins (50 CDSs) involved in DNA replication, recombination, repair, and transcription; structural proteins of the capsid and tail (46 CDSs); proteins involved in DNA packaging into the capsid (3 CDSs); and proteins with lytic properties (4 CDSs). Additionally, 12 bacteriophage proteins with a conserved domain profile but unknown function were identified, as well as a number of hypothetical proteins, constituting 56% of the total. No genes associated with lysogeny, antibiotic resistance, or bacterial virulence were detected in the genome of phage KpS7, indicating its safety as a therapeutic agent.
Key words: Klebsiella pneumoniae, bacteriophage (phage), genomic analysis, antibacterial therapy

Для корреспонденции:

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

Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967) 36-0147
E-mail: nikvol@obolensk.org
ORCID: 0000-0003-4667-1451

Статья поступила 19.03.2026, принята к печати 30.06.2026

For correspondence:

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

Address: 24 "Quarter A" Territory, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow region, 142279, Russian Federation
Phone: (4967) 36-01-47
E-mail: nikvol@obolensk.org
ORCID: 0000-0003-4667-1451

The article was received 19.03.2026, accepted for publication 30.06.2026

For citation: Volkova V.A., Denisenko E.A., Krasilnikova V.M., Kislichkina A.A., Volozhantsev N.V. Molecular genetic characteristics of the Klebsiella bacteriophage KpS7, a new member of the T-even phages of the genus *Jiaodavirus*. Bacteriology. 2026; 11(2): 8–16. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-8-16

Согласно оценкам Всемирной организации здравоохранения, распространение устойчивых к антибиотикам микроорганизмов является одной из наиболее критических угроз, сопряженной со снижением терапевтической эффективности противомикробных препаратов и, как следствие, с увеличением уровня летальности среди людей и животных. В клинической микробиологии ключевое значение имеют представители группы ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Enterobacter* spp.), среди которых выделяются представители рода *Klebsiella*, характеризующиеся значительным уровнем устойчивости к антибиотикам, приобретенным за счет горизонтального переноса мобильных генов резистентности [1]. Инфекции, вызванные множественно-резистентными *K. pneumoniae* (MDR-KP), в т.ч. штаммами, продуцирующими карбапенемазы и β-лактамазы расширенного спектра действия, имеют высокие показатели заболеваемости и смертности, а применяемая в последние годы комбинированная антибиотикотерапия таких инфекций не всегда дает удовлетворительные результаты, что подчеркивает необходимость исследования и разработки более эффективных подходов [2, 3].

В контексте распространения MDR-KP фаготерапия позиционируется как потенциальная альтернатива современным стратегиям противомикробной химиотерапии [4, 5]. Исследования, проведенные в последнее десятилетие, подтверждают безопасность и терапевтическую эффективность фаготерапии, особенно при инфекциях, не поддающихся лечению стандартными антибиотиками, включая патологии дыхательных путей, раневые инфекции и инфекции мочевыводящих путей [6–9].

Для разработки эффективных фаговых препаратов, способных бороться с бактериальными инфекциями, большое значение имеют исследования, направленные на изучение структурных и функциональных особенностей генома бактериофага. Геномный анализ является мощным инструментом для идентификации и характеристики генов, кодирующих литические ферменты (эндолизины), разрушающие клеточную стенку бактерий, или полисахарид-деполимеризующие ферменты (деполимеразы), разрушающие капсулы бактерий и биопленки. Кроме того, знание геномной структуры позволяет выявлять нежелательные гены, ответственные за лизогению и процесс интеграции фаговой ДНК в бактериальный геном, а также гены, кодирующие белки, которые могут вызывать негативные побочные эффекты при фаготерапии [10–12].

Т-четные фаги – одна из наиболее обширных и хорошо охарактеризованных групп хвостатых вирусов, поражающих бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, что делает их ключевыми в регуляции бактериальных популяций и перспективными для терапии. Перспективность этих фагов обусловлена их высокой литической активностью, способностью инфицировать широкий круг патогенных энтеробактерий, включая клинически значимые виды Klebsiella, а также отсутствием потенциально опасных генов и возможностью генетической модификации для повышения их активности и безопасности [13–16].

Целью настоящей работы является структурная и функциональная аннотация генома бактериофага KpS7 – нового представителя Т-четных фагов рода *Jiaodavirus*, активного против MDR-штаммов *K. pneumoniae*.

Материалы и методы

Бактериальные штаммы и условия их выращивания

В работе использовали 235 клинических штаммов *K. pneumoniae* из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «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.

Определение литической активности бактериофага KpS7

Для размножения фага использовали штамм *K. pneumoniae* KPB1674 (ГКПМ-Оболенск: B-7934). Культуру штамма-хозяина выращивали в жидкой питательной среде «ГРМ-бульон» с аэрацией при температуре 37°С до оптической плотности OD600 = 0,3; вносили препарат фага при кратности заражения MOI = 0,1 и культивировали до просветления бактериальной культуры. Для удаления клеточного дебриса к смеси добавляли хлороформ и центрифугировали 5 мин при 13 000 g. Титр бактериофага определяли методом агаровых слоев по Грациа.

Спектр литического действия бактериофага (круг хозяев) определяли капельным методом с определением эффективности бляшкообразования [17], которую рассчитывали как отношение количества бляшкообразующих единиц (БОЕ) фага на исследуемом штамме к количеству БОЕ на штамме-хозяине KPB1674.

Выделение и секвенирование фаговой ДНК

ДНК бактериофага выделяли методом фенол-хлороформной экстракции как описано ранее [17]. Секвенирование ДНК фага проводили на платформе Ion Torrent PGM (Life Technologies, Inc., США) с технологией сборки генома Unicycler v.0.4.7. Корректность сборки генома верифицировали с использованием программы SeqMan NGen DNAStar (США).

Биоинформатический анализ данных

Белок-кодирующие последовательности ДНК (CDS) и гены тРНК определяли с помощью биоинформатических инструментов автоматизированного сервиса RAST (Rapid

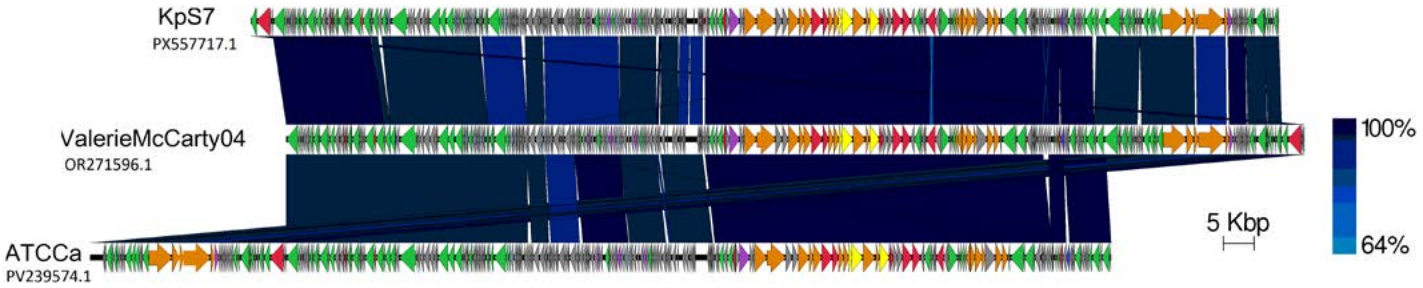


Рис. 1. **Сравнение полных геномов бактериофага KpS7 и близкородственных фагов ValerieMcCarty04 и ATCCa.**
Fig. 1. ***Comparison of the complete genomes of bacteriophage KpS7 and closely related phages ValerieMcCarty04 and ATCCa.***

Annotation using Subsystem Technology) [18]. Сравнительный анализ белковых и нуклеотидных последовательностей, уточнение предсказанных функций белковых продуктов и выявление гомологов осуществляли с помощью программных ресурсов NCBI BLAST [19]. Сравнение и визуализацию геномов родственных фагов проводили с использованием программы Easyfig [20] при нуклеотидной идентичности, превышающей 64%. Для предсказания трехмерной структуры белков и обнаружения эволюционно родственных белков на основе структурного сходства использовали HHpred-анализ [21]. Таксономическое позиционирование и филогенетическую реконструкцию проводили на основании tBLASTx-анализа полных геномов бактериофагов с построением протеомного дерева на сайте ViPTree (http://www.genome.jp/viptree) [22] и методом полногеномного BLASTn-анализа с использованием ресурсов сайта NCBI Virus (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/labs/virus/vssi/#/) и программы MEGA7 [23].

Результаты исследования и их обсуждение

Спектр литической активности фага KpS7

Бактериофаг KpS7 выделен из образца сточных вод методом обогащения с использованием штаммов *K. pneumoniae* разных капсульных типов и размножен на бактериальном штамме *K. pneumoniae* KPB1674 (ГКПМ-Оболенск: B-7934; сиквенс тип: ST11; капсульный тип: K24). На бактериальном газоне этого штамма фаг KpS7 образует мелкие негативные колонии диаметром ~1 мм.

При изучении спектра литической активности бактериофага с использованием 235 клинических штаммов *K. pneumoniae* разных генетических групп было показано, что фаг лизирует 15% штаммов с эффективностью бляшкообразования от 0,01 до 1,0, что свидетельствует о широком круге хозяев фага среди штаммов *K. pneumoniae*. На бактериальных газонах еще 17% штаммов при нанесении фага KpS7 отмечено формирование мутных нетитруемых пятен, что, вероятно, связано в этих случаях с обратимой адсорбцией фага без продуктивной инфекции.

В ходе проведенных экспериментов не выявлено избирательной специфичности фага к штаммам *K. pneumoniae* какого-либо одного капсульного типа, O-серотипа или сиквенс-типа. Активность фага отмечена по отношению к отдельным штаммам разных капсульных типов, включая K1, K2, K3, K22, K23, K24, K27, K28, K38, K39, K47, K57, K64, K74, KL108, и O-серотипов (O2a, O2afg, O3, O4, O5), что предполагает механизмы заражения бактериальных клеток, не связанные со строгим распознаванием фагом поверхностных K- или O-антигенов с использованием деполимераз. Вместе с тем следует отметить, что фаг KpS7 проявляет высокую эффективность по отношению к штаммам *K. pneumoniae* капсульного типа K24: лизирует 7 из 7 имеющихся в коллекции штаммов данного типа.

Сравнительный генетический и филогенетический анализ генома KpS7

ДНК бактериофага KpS7 была секвенирована по технологии IonTorrent, собрана в единый контиг (средняя величина покрытия 30×) размером 167 663 пары оснований (GC-состав: 39,54%), аннотирована и депонирована в базу данных GenBank (код доступа: PX557717).

Как показал BLASTn-анализ с использованием базы нуклеотидных последовательностей core_nt, геном фага KpS7 имеет высокую степень идентичности (96–98% при покрытии 97–98%) с некоторыми клебсиеллезными бактериофагами рода *Jiaodavirus*, в частности, *Klebsiella* phage ValerieMcCarty04 (GenBank: OR271596.1) [15] и *Klebsiella* phage ATCCa (GenBank: PV239574.1) (рис. 1).

Для подтверждения таксономической принадлежности и определения эволюционной взаимосвязи фага KpS7 с другими ДНК-фагами был проведен комплексный биоинформатический анализ с использованием сервиса ViPTree (Virus Proteomic Tree) и ресурсов сайта NCBI Virus. В первом случае для сравнения использовали референсные геномы 650 бактериофагов разных семейств из базы данных RefSeq, идентифицированных в соответствии с официальной классификацией ICTV, во втором – полные геномы 48 фагов подсемейства *Tevenvirinae* из GenBank.

Результаты протеомного ViPTree-анализа показали, что фаг KpS7 является представителем семейства *Straboviridae* и входит в обособленный кластер, сформированный клебсиеллезными фагами рода *Jiaodavirus* (рис. 2). Филогенетический BLASTn-анализ полных геномов T-четных фагов (*Tevenvirinae*) семейства *Straboviridae* с выборкой по базе данных GenBank также показал, что бактериофаг KpS7 располагается на одной ветви филогенетического дерева с фагами, отнесенными к роду *Jiaodavirus* (рис. 3). На основании проведенного анализа можно заключить, что по своим генетическим характеристикам бактериофаг KpS7 является типичным представителем рода *Jiaodavirus* подсемейства *Tevenvirinae* семейства *Straboviridae*. Подсемейство *Tevenvirinae* – относительно новая таксономическая группа, в которую предложено включать крупные T-четные (T-even) ДНК-фаги, одним из наиболее изученных представителей которых является хорошо известный бактериофаг T4 [24].

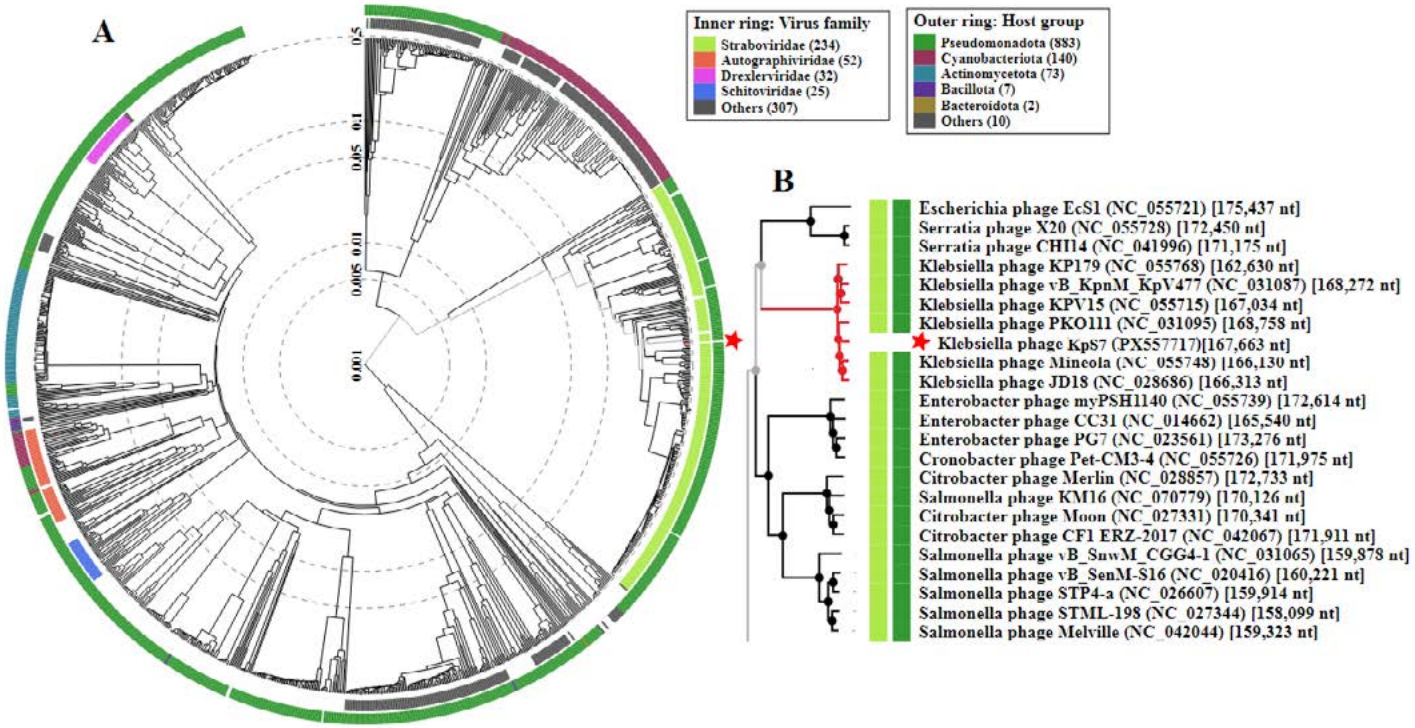


Рис. 2. **ViPTree-анализ геномов фага KpS7 и родственных фагов.**
(А) Протеомное дерево, построенное с использованием референсных геномов 650 фагов (внешнее и внутреннее кольца указывают на группу бактерий-хозяев и семейство вирусов соответственно; светло-зеленый фрагмент – фаги семейства *Straboviridae*). (В) Увеличенный фрагмент протеомного дерева, содержащий родственные фаги подсемейства *Tevenvirinae*. Красным цветом отмечена ветвь, содержащая фаги рода Jiaodavirus; бактериофаг KpS7 отмечен звездочкой.
Fig. 2. ***ViPTree analysis of the genomes of phage KpS7 and related phages.***
(A) Proteome tree constructed using the reference genomes of 650 phages (the outer and inner rings indicate the bacterial host group and virus family, respectively; the light green fragment indicates phages of the family Straboviridae). (B) Enlarged fragment of the proteome tree containing related phages of the subfamily Tevenvirinae. The branch containing phages of the genus Jiaodavirus is marked in red; bacteriophage KpS7 is marked with an asterisk.

Структурная и функциональная аннотация генома фага KpS7

В геноме бактериофага KpS7 определены 292 кодирующие последовательности (CDS) – потенциальные гены, кодирующие полипептиды размером от 29 аминокислотных остатков (гипотетический белок, CDS8) до 1476 а.о. (белок хвостовой фибриллы, CDS269). В общей структуре генома CDS составляют 95%.

На основании сходства нуклеотидных последовательностей ДНК и предсказанных полипептидных продуктов с данными из референсных баз данных определены функции для 115 из 292 продуктов CDS фага KpS7. При этом значительная часть генома (165 CDS, или 56%) кодирует гипотетические белки с неустановленными функциями.

Предполагаемые функции определены для белков, кодируемых 115 CDS, которые организованы в отдельные функциональные группы (модули), характерные для Т4-подобных бактериофагов. Это белки метаболизма нуклеиновых кислот (50 CDS), связанные с репликацией, рекомбинацией, репарацией и транскрипцией ДНК; структурные белки капсида и хвостового аппарата (46 CDS); белки, обеспечивающие упаковку ДНК в капсид (3 CDS), и белки с литическими свойствами (4 CDS) Дополнительно идентифицировано 12 белков бактериофагов с консервативным доменным профилем, функция которых на данный момент не установлена. Структура генома фага KpS7 и предсказанные функции кодируемых продуктов представлены на рис. 4.

Наиболее представительным в геноме бактериофага является модуль метаболизма нуклеиновых кислот. Группа генов, ответственных за репликацию ДНК фага KpS7, включает гены, кодирующие ДНК-полимеразу (CDS43), праймазу (CDS28), хеликазу (CDS204, CDS205), топоизомеразу (CDS283), нуклеазы и другие вспомогательные белки, координирующие синтез ведущей и отстающей нитей ДНК. Помимо общей организации генома, порядок и состав генов репликации KpS7 напоминают таковые у фага Т4 и других Т-четных фагов, геном которых кодирует все необходимые белки для репликации вирусной ДНК внутри инфицированной клетки [24]. Связь генома KpS7 с фагами *Tevenvirinae*, в т.ч. фагом Т4, на уровне модуля репликации подтверждает их эволюционное родство и общие механизмы функционирования. Механизм репликации бактериофага Т4 – это одна из наиболее хорошо охарактеризованных систем репликации ДНК, изучение которой позволило внести огромный вклад в понимание общих механизмов репликации ДНК у всех живых организмов [25].

Транскрипционный аппарат фага KpS7 не содержит собственной РНК-полимеразы (RNAP), что свидетельствует, так же как в случае с Т4-фагами, о его зависимости от РНК-полимеразы бактерии-хозяина. В геноме KpS7 выявлены гены, продукты которых модифицируют бактериальную РНК-полимеразу; белки-активаторы транскрипции, ς-фактор и анти-ς-фактор, белки, участвующие в определении раннего и позднего распознавания промоторов. Установлено, что CDS49 бактериофага KpS7 является аналогом гена *rpbA* фага Т4, кодирующего белок RpbA, который связывается с АДФ-рибозилированной бактериальной РНК-полимеразой и модулирует ее функцию, обеспечивая преимущественное

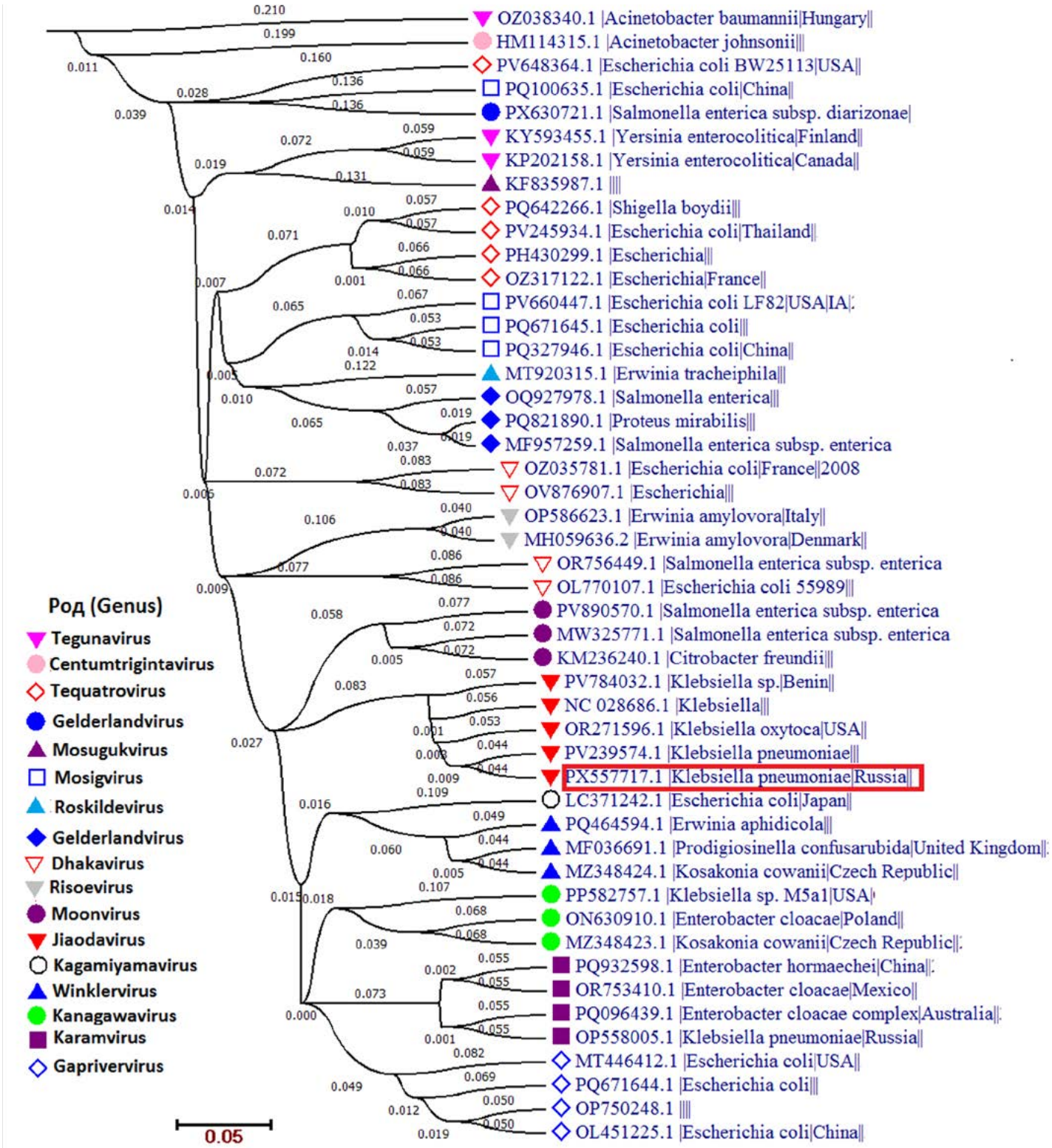


Рис. 3. **Филогенетическое дерево, построенное на основании BLASTn-анализа полных геномов фагов подсемейства *Tevenvirinae* семейства *Straboviridae*. Бактериофаги обозначены в соответствии с номером GenBank и видом бактерии-хозяина. Фаг KpS7 выделен красным прямоугольником.**

*Fig. 3. **Phylogenetic tree constructed based on BLASTn analysis of the complete genomes of phages of the Tevenvirinae subfamily. Bacteriophages are designated according to GenBank numbers and host bacterial species. Phage KpS7 is highlighted with a red rectangle.***

связывание с промоторами вирусного генома [24]. Продукт гена CDS58 определен как ς-субъединица RNAP и по данным BLASTp-анализа соответствует небольшому, сильно дивергентному белку gp55 фага T4. Этот представитель семейства ς-белков является одним из ключевых белков, участвующих в регуляции транскрипции генов у бактериофага T4; без него РНК-полимераза не может эффективно запускать транскрипцию поздних генов фага [26].

Предсказаны функции по крайней мере еще двух белков транскрипционного аппарата фага KpS7, кодируемых



Рис. 4. **Структура генома фага KpS7 и предсказанные функции кодируемых продуктов.**
Цифрами обозначены гены и кодируемые продукты в соответствии с номерами CDS в аннотации GenBank: PX557717. Гены и соответствующие белки одной функциональной группы обозначены одним цветом.
Fig. 4. ***The KpS7 phage genome structure and predicted functions of the encoded products.***
Numbers indicate genes and encoded products according to their CDS numbers in the GenBank annotation. Genes and corresponding proteins of the same functional group are indicated in the same color.

CDS244 и CDS263. CDS244, по-видимому, является аналогом раннего гена *alc* бактериофага T4, кодирующего фактор терминации транскрипции (transcription termination factor). Известно, что белок Alc фага T4 действует как сайт-специфический фактор терминации, участвующий в прекращении транскрипции бактериальной ДНК, содержащей цитозин, но не ДНК T4, которая содержит 5-гидроксиметилцитозин [27]. В пределах CDS263 фага KpS7 выявлены консервативные последовательности, характерные для коактиваторов поздней транскрипции ДНК хвостатых фагов, в частности гена фага T4, кодирующего белок-коактиватор gp33 [28].

Система упаковки ДНК KpS7 представлена генами, кодирующими портальный белок (CDS190), большую (CDS187) и малую (CDS186) субъединицы терминазы. Известно, что большая терминаза (TerL) фага T4 функционирует как АТФазный мотор, обеспечивающий перемещение ДНК в капсид и осуществляющий расщепление конкатемерной ДНК; малая терминаза (TerS) распознает фаговый геном и регулирует АТФазную активность большой субъединицы; портальный белок образует додекамерную кольцевую структуру, обеспечивая место связывания для комплекса терминазы и канал для проникновения ДНК [29].

При сборке генома KpS7 было отмечено, что нуклеотидные последовательности ДНК фага закольцовываются в единый контиг без четко разделенных областей с увеличенным покрытием, что указывает на наличие концевых избыточных последовательностей в молекуле ДНК, которая оказывается немного больше фактического генома. Формирование «избыточных» ДНК без четких, стабильно увеличенных областей покрытия является прямым следствием механизма упаковки по принципу полного заполнения головки (headful packaging), характерного для T4-подобных фагов [30, 31]. В фаге T4 упаковка ДНК из конкатемера может начинаться с нескольких участков, но предпочтительный сайт находится в 3'-области гена terS, кодирующего малую субъединицу терминазы, в пределах 24-нуклеотидных последовательностей: 5'-GAGGCTCAAGAAGCTCGTGAGAAG [30]. Аналогичная последовательность выявлена в 3'-области гена *terS* фага KpS7 (координаты генома: 96334–96357), в которой 20 из 24 нуклеотидов идентичны соответствующей области фага T4, что подтверждает сходный с T4 механизм упаковки ДНК и предполагает участие аналогичных последовательностей в качестве предпочтительных сайтов инициации упаковки ДНК фага KpS7. Отметим, что все 24 нуклеотида этой области полностью идентичны у фага KpS7 и близкородственных фагов ValerieMcCarty04 (GenBank: OR271596.1) и ATCCa (GenBank: PV239574.1).

Биоинформатический анализ выявил 4 CDS, кодирующих белки, определяющие литическую активность фага KpS7: холин (CDS271), лизоцимоподобный белок (CDS125), T4-подобный лизоцим (CDS134) и белок базальной пластинки с литическим доменом (CDS172). Предсказанный кластер генов, кодирующих холин и лизоцим, определяет возможный молекулярный механизм, посредством которого фаг KpS7 лизирует инфицированные бактерии. В процессе лизиса бактериальной клетки холины индуцируют образование пор во внутренней цитоплазматической мембране бактерии, что позволяет эндолизинам проникать в периплазматическое пространство и осуществлять эффективную гидролитическую деградацию пептидогликанового слоя клеточной стенки [32, 33]. По-видимому, лизоцимоподобный белок (CDS125) и/или T4-подобный лизоцим (CDS134) фага KpS7 играют роль эндолизинов, обеспечивая разрушение клеточной стенки бактерии-хозяина в конце литического цикла, приводящее к высвобождению вирусных частиц.

По данным HHpred-анализа белок фага KpS7, кодируемый CDS172, имеет выраженную структурную гомологию с белком Gp5 центрального шипа базальной пластинки (baseplate) фага T4 (HHpred вероятность = 100%, E-value = 8,8e-55). Этот белок имеет трехдоменную структуру, в которой средний домен выполняет литическую функцию (локально разрушает пептидогликан клеточной стенки), функционируя как «клеточно-прокалывающее устройство», обеспечивающее проникновение фаговой ДНК в бактериальную клетку [33].

Важной характеристикой бактериофага как терапевтического агента является его специфичность, определяемая на молекулярном уровне взаимодействием рецепторных белков фага с поверхностными рецепторами бактериальной клетки. Основными белками, определяющими специфичность фага T4, являются белок дистальной субъединицы длинной хвостовой фибриллы (gp37), обладающий гипервариабельными сегментами, которые непосредственно взаимодействуют с рецепторами поверхности бактерии-хозяина (липополисахаридом *Escherichia coli* B или белком OmpC), и адгезин gp38, который, как полагают, связывается с дистальным концом длинной хвостовой фибриллы (LTF) и/или катализирует сборку LTF [34, 35]. По данным BLASTp- и HHpred-анализов аналогами белков gp37 и gp38 у фага KpS7 являются белки L-образной хвостовой фибриллы и адгезин хвостовой фибриллы, кодируемые CDS269 и CDS270 соответственно.

Кроме белок-кодирующих генов, в геноме фага KpS7 идентифицирован кластер генов, кодирующих 17 тРНК для 15 различных аминокислот (Arg, Asn, Asp, Gln, Gly, His, Ile, Leu, Lys, Met, Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr). Наличие собственных тРНК у фага может свидетельствовать об адаптивном механизме, направленном на оптимизацию эффективности синтеза фаговых белков за счет согласования с особенностями трансляционного аппарата бактерии-хозяина [36].

В геноме фага KpS4 не обнаружены нуклеотидные последовательности, кодирующие белки, ответственные за лизогенный путь развития фага, такие как сайт-специфические интегразы и репрессоры. Также не выявлены гены, ассоциированные с устойчивостью к антибиотикам и бактериальной вирулентностью.

Заключение

Выделен и охарактеризован новый бактериофаг KpS7, активный против клинических штаммов *K. pneumoniae* разных генетических групп.

На основании результатов геномного и филогенетического анализов установлена принадлежность бактериофага к роду *Jiaodaviruse*. По современной классификации вирусов фаги этого рода относятся к подсемейству *Tevenvirinae* семейства *Straboviridae*, которое включает один из наиболее изученных вирусов – эшерихиозный бактериофаг T4.

Показано, что фаг KpS7 имеет типичную организацию генома, характерную для Т4-подобных фагов, которая представляет собой высоко скоординированную систему, предназначенную для быстрого захвата механизмов бактерии-хозяина, с акцентом на эффективную репликацию собственной ДНК, деградацию ДНК хозяина и специализированное управление бактериальной РНК. Такая организация генома фага KpS7 свидетельствует о его высоком потенциале терапевтического применения.

Отсутствие в геноме фага KpS7 генов, ассоциированных с лизогенией, устойчивостью к антибиотикам или бактериальной вирулентностью, указывает на строго литический путь развития фага и сниженный риск горизонтального переноса генов, что крайне важно для использования фага в качестве терапевтического средства.

Источники финансирования

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Funding

The work was supported by the Sectoral Scientific Program of the Rospotrebnadzor

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии отношений, деятельности и интересов за последние три года, связанных с третьими лицами (коммерческими и некоммерческими организациями), интересы которых могут быть затронуты содержанием статьи.

Conflict of interest

The authors have no relationships, activities, or interests with third parties (commercial or non-commercial organizations) to declare that could have influenced the work reported in this paper in the last three years.

Вклад авторов

Все авторы подтверждают равное участие на всех этапах подготовки рукописи: разработка концепции, получение и анализ данных, написание и редактирование текста.

Все авторы одобрили рукопись (версию для публикации), а также согласились нести ответственность за все аспекты настоящей работы, гарантируют надлежащее рассмотрение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой ее части.

Author contributions

All authors contributed equally to this work, including conceptualization and design, data acquisition and analysis, manuscript writing and editing.

All authors have read and approved the final manuscript and agree to be accountable for all aspects of the work, ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Генеративный искусственный интеллект

При создании настоящей статьи технологии генеративного искусственного интеллекта не использовали.

Generative artificial intelligence

No generative artificial intelligence technologies were used in the preparation of this article.

Литература / References

1. Pendleton JN, Gorman SP, Gilmore BF. Clinical Relevance of the ESKAPE Pathogens. Expert Rev Anti Infect Ther. 2013;11:297-308. DOI: 10.1586/ERI.13.12
2. Tumbarello M, Trecarichi EM, De Rosa FG, Giannella M, Giacobbe DR, Bassetti M, et al. Infections Caused by KPC-Producing *Klebsiella pneumoniae*: Differences in Therapy and Mortality in a Multicentre Study. J Antimicrob Chemother. 2015;70:2133-43. DOI: 10.1093/JAC/DKV086
3. Bassetti M, Righi E, Carnelutti A, Graziano E, Russo A. Multidrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae*: Challenges for Treatment, Prevention and Infection Control. Expert Rev Anti Infect Ther. 2018;16:749-61. DOI: 10.1080/14787210.2018.1522249
4. Комисарова ЕВ, Красильникова ВМ, Воложанцев НВ. Бактериофаги, фаговые полисахарид-деполимеразы и возможности их использования для лечения бактериальных инфекций. Бактериология. 2019;4(4):7-14. / 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).
5. Herridge WP, Shibu P, O'Shea J, Brook TC, Hoyles L. Bacteriophages of *Klebsiella* spp., their diversity and potential therapeutic uses. J Med Microbiol. 2020 Feb;69(2):176-194. DOI: 10.1099/jmm.0.001141
6. Dedrick RM, Smith BE, Cristinziano M, Freeman KG, Jacobs-Sera D, Belessis Y, et al. Phage Therapy of *Mycobacterium* Infections: Compassionate Use of Phages in 20 Patients With Drug-Resistant Mycobacterial Disease. Clin Infect Dis. 2023 Jan 6;76(1):103-112. DOI: 10.1093/cid/ciac453
7. Petrovic Fabijan A, Lin RCY, Ho J, Maddocks S, Ben Zakour NL, Iredell JR. Westmead Bacteriophage Therapy Team. Safety of bacteriophage therapy in severe *Staphylococcus aureus* infection. Nat Microbiol. 2020 Mar;5(3):465-472. DOI: 10.1038/s41564-019-0634-z
8. Schooley RT, Biswas B, Gill JJ, Hernandez-Morales A, Lancaster J, Lessor L, et al. Development and Use of Personalized Bacteriophage-Based Therapeutic Cocktails To Treat a Patient with a Disseminated Resistant *Acinetobacter baumannii* Infection. Antimicrob Agents Chemother. 2017 Sep 22;61(10):e00954-17. DOI: 10.1128/AAC.00954-17
9. Ibrahim R, Aranjani JM, Kalikot Valappil V, Nair G. Unveiling the potential bacteriophage therapy: a systematic review. Future Sci OA. 2025 Dec;11(1):2468114. DOI: 10.1080/20565623.2025.2468114
10. Klumpp J, Fouts DE, Sozhamannan S. Bacteriophage functional genomics and its role in bacterial pathogen detection. Brief Funct Genomics. 2013 Jul;12(4):354-65. DOI: 10.1093/bfgp/elt009
11. Banerjee B, Halder S, Kumar S, Chaddha M, Ali R, Mohite R, et al. Genomic insights into bacteriophages: a new frontier in AMR detection and phage therapy. Brief Funct Genomics. 2025 Jan 15;24:elaf011. DOI: 10.1093/bfgp/elaf011
12. Abdraimova N, Shitikov E, Kornienko M. The Role of Genomics in Advancing and Standardising Bacteriophage Therapy. Antibiotics (Basel). 2026 Jan 4;15(1):55. DOI: 10.3390/antibiotics15010055
13. Bourdin G, Schmitt B, Marvin Guy L, Germond JE, Zuber S, Michot L, et al. Amplification and purification of T4-like *Escherichia coli* phages for phage therapy: from laboratory to pilot scale. Appl Environ Microbiol. 2014;80(4):1469-76. DOI: 10.1128/AEM.03357-13
14. Weber-Dąbrowska B, Żaczek M, Łobocka M, Łusiak-Szelachowska M, Owczarek B, Orwat F, et al. Characteristics of Environmental *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* Bacteriophages and Their Therapeutic Applications. Pharmaceutics. 2023 Jan 28;15(2):434. DOI: 10.3390/pharmaceutics15020434
15. Lewis JM, Arens DK, Quaye A, Calvopina-Chavez DG, Jensen KT, Miller AK, et al. Genome sequences of two *Klebsiella* phages isolated from wastewater treatment samples that infect a clinical *Klebsiella* isolate. Microbiol Resour Announc. 2025 Jan 16;14(1):e0083623. DOI: 10.1128/MRA.00836-23

16. Duong MM, Carmody CM, Ma Q, Peters JE, Nugen SR. Optimization of T4 phage engineering via CRISPR/Cas9. Sci Rep. 2020;10(1):18229. DOI: 10.1038/s41598-020-75426-6
17. Solovieva EV, Myakinina VP, Kislichkina AA, Krasilnikova VM, Verevkin VV, Mochalov VV, et al. Comparative genome analysis of novel Podoviruses lytic for hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae* of K1, K2, and K57 capsular types. Virus Res. 2018 Jan 2;243:10-18. DOI: 10.1016/j.virusres.2017.09.026
18. 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
19. Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. Basic local alignment search tool. J Mol Biol. 1990;215:403-410. DOI: 10.1016/S0022-2836(05)80360-2
20. Sullivan MJ, Petty NK, Beatson SA. Easyfig: a genome comparison visualizer. Bioinformatics. 2011 Apr 1;27(7):1009-10. DOI: 10.1093/bioinformatics/btr039
21. Söding J, Biegert A, Lupas AN. The HHpred interactive server for protein homology detection and structure prediction. Nucleic Acids Res. 2005 Jul 1;33(Web Server issue):W244-8. DOI: 10.1093/nar/gki408
22. Nishimura Y, Yoshida T, Kuronishi M, Uehara H, Ogata H, Goto S. ViPTree: the viral proteomic tree server. Bioinformatics. 2017 Aug 1;33(15):2379-2380. DOI: 10.1093/bioinformatics/btx157
23. Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. Mol Biol Evol. 2016 Jul;33(7):1870-4. DOI: 10.1093/molbev/msw054
24. Miller ES, Kutter E, Mosig G, Arisaka F, Kunisawa T, Rüger W. Bacteriophage T4 genome. Microbiol Mol Biol Rev. 2003 Mar;67(1):86-156, table of contents. DOI: 10.1128/MMBR.67.1.86-156.2003
25. Spiering MM, Benkovic SJ. The bacteriophage T4 replisome: a model system for understanding DNA replication mechanisms. EcoSal Plus. 2025 Dec 16;13(1):eesp00102025. DOI: 10.1128/ecosalplus.esp-0010-2025
26. Wong K, Kassavetis GA, Leonetti JP, Geiduschek EP. Mutational and functional analysis of a segment of the sigma family bacteriophage T4 late promoter recognition protein gp55. J Biol Chem. 2003 Feb 28;278(9):7073-80. DOI: 10.1074/jbc.M211447200
27. Kashlev M, Nudler E, Goldfarb A, White T, Kutter E. Bacteriophage T4 Alc protein: a transcription termination factor sensing local modification of DNA. Cell. 1993 Oct 8;75(1):147-54.
28. Nechaev S, Kamali-Moghaddam M, André E, Léonetti JP, Geiduschek EP. The bacteriophage T4 late-transcription coactivator gp33 binds the flap domain of Escherichia coli RNA polymerase. Proc Natl Acad Sci U S A. 2004 Dec 14;101(50):17365-70. DOI: 10.1073/pnas.0408028101
29. Rao VB, Fokine A, Fang Q, Shao Q. Bacteriophage T4 Head: Structure, Assembly, and Genome Packaging. Viruses. 2023 Feb 14;15(2):527. DOI: 10.3390/v15020527
30. Lin H, Black LW. DNA Requirements In Vivo for Phage T4 Packaging. Virology. 1998;242:118-127. DOI: 10.1006/viro.1997.9019
31. Feiss M, Rao VB. The bacteriophage DNA packaging machine. Adv Exp Med Biol. 2012;726:489-509. DOI: 10.1007/978-1-4614-0980-9_22
32. Cahill J, Young R. Phage Lysis: Multiple Genes for Multiple Barriers. Adv Virus Res. 2019;103:33-70. DOI: 10.1016/bs.aivir.2018.09.003
33. Kanamaru S, Ishiwata Y, Suzuki T, Rossmann MG, Arisaka F. Control of bacteriophage T4 tail lysozyme activity during the infection process. J Mol Biol. 2005;346(4):1013-20. DOI: 10.1016/j.jmb.2004.12.042
34. Hashemolhosseini S, Montag D, Krämer L, Henning U. Determinants of receptor specificity of coliphages of the T4 family. A chaperone alters the host range. J Mol Biol. 1994 Aug 26;241(4):524-33. DOI: 10.1006/jmbi.1994.1529
35. Bartual SG, Garcia-Doval C, Alonso J, Schoehn G, van Raaij MJ. Two-chaperone assisted soluble expression and purification of the bacteriophage T4 long tail fibre protein gp37. Protein Expr Purif. 2010 Mar;70(1):116-21. DOI: 10.1016/j.pep.2009.11.005
36. van den Berg DF, Brouns SJJ. Phage tRNAs: decoding the enigma. Trends Microbiol. 2025 Oct;33(10):1121-1131. DOI: 10.1016/j.tim.2025.05.009

Информация о соавторах:

Волкова Вероника Александровна, стажер-исследователь отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Денисенко Егор Алексеевич, научный сотрудник отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0003-2639-192X

Красильникова Валентина Михайловна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Кисличкина Ангелина Александровна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела коллекционных культур ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0001-8389-2494

Information about co-authors:

Veronika A. Volkova, Intern, Department of Molecular Microbiology, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

Egor A. Denisenko, Researcher, Department of Molecular Microbiology, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0003-2639-192X

Valentina M. Krasilnikova, PhD in Biological Sciences, Senior Researcher, Department of Molecular Microbiology, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

Angelina A. Kislichkina, PhD in Biological Sciences, Leading Researcher, Department of Collection Cultures, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0001-8389-2494

НОВОСТИ НАУКИ

Клетки кишечного эпителия сдерживают рост сальмонеллы, ограничивая доступ к микроэлементам

Установлено, что микроэлементы необходимы как патогенным микроорганизмам, так и их позвоночным хозяевам; в качестве защитной реакции организм хозяина может индуцировать дисбаланс концентрации ионов металлов (дефицит или токсический избыток). Определена роль белков семейства SLC11 во взаимодействии иммунной системы с патогеном, а также проведена оценка участия одного из их представителей, SLC11A2, в ингибировании сальмонеллы. Белок SLC11A2 ограничивает рост сальмонеллы в кишечнике путем снижения биодоступности ионов двухвалентного железа и марганца для данного патогена.

Norberg ES, Westerman TL, Cruz E, Bushman SD, Salogiannis J, Skaar EP, et al. SLC11A2 withholds divalent metals from Salmonella in the gut epithelium. Proc Natl Acad Sci U S A. 2026 Jun 30;123(26):e2532675123. DOI: 10.1073/pnas.2532675123