

ПОЛИАДГЕЗИНЫ: ПРОТИВОИММУННОЕ ОРУЖИЕ ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ

University of Turku, Arcanum, Finland

Херсонский государственный университет

Быстрое появление новых и лечение устойчивых грамотрицательных бактерий (ГОб) стало серьезной угрозой для здоровья населения. Недавняя вспышка новой инфекции O104H4 в Германии, которая продуцирует дизентерийный токсин, иллюстрирует эту проблему. Для колонизации ткани хозяина, большинство патогенных ГОб экспрессируют поверхностные адгезивные органеллы. Немецкий штамм использует агрегатную приверженность фимбрии I (AAF/I) для крепления к слизистой оболочке кишечника и вызывает воспаление. AAF/I принадлежит к обнаруженному нами семейству фимбриальных полиадгезинов. Полиадгезины патогенных ГОб функционируют в качестве оружия для захвата, нейтрализации и дезориентации иммунной системы хозяина. Многие фимбриальные полиадгезины, в том числе AAF / I, являются иммунозащитными, являются мишенями для конструирования вакцин и антимикробных лекарств. Ранее, в наших структурных исследованиях предложен новый подход к построению хорошо растворимых мономерных субъединиц фимбриальных полиадгезинов. Такой подход облегчает конструкцию потенциальных молекулярных вакцин против нескольких инфекционных заболеваний.

Ключевые слова: патогенные бактерии, полиадгезины, противоиммунное оружие.

Введение. Угроза инфекций, вызываемых грамотрицательными бактериями (ГОб), резко возросла в связи с появлением штаммов, устойчивых к антибиотикам, и снижением иммунитета у населения [Chopra *et al.*, 2008]. В 2011 г. в Германии новый штамм *E. coli* O104H4, продуцирующий дизентерийный токсин и имеющий множественную лекарственную устойчивость, вызвал 3842 случая заболевания гемолитико-уремическим синдромом и острым гастроэнтеритом, в том числе 55 смертельных случаев [20, 34]. Разработка новых антибиотиков и вакцин для лечения и профилактики ГОб инфекций является важнейшим условием предотвращения в будущем медицинской и социальной катастрофы. Достижение этой цели требует детальных знаний о структуре и функции главных факторов вирулентности и антигенности ГОб [12].

Прикрепление ГОб-патогенов к определенным видам клеток хозяина критично для начала инфекции. Оно необходимо для колонизации тканей хозяина и опосредовано адгезинами, экспрессированными на поверхности бактерий. Адгезины взаимодействуют со строго определенными рецепторами клеток хозяина [4, 13]. Фибриллярные адгезины, доминирующие в ГОб, секретируются на поверхность бактерии и собираются с помощью довольно простой и консервативной системы секреции. Она состоит из двух белков. Один из них получил английское название «chaperone», которое переводится как «компаньон», «сопровождающее лицо», а в транскрипции – «шаперон», а второй компонент получил английское название «usher», которое переводится как «швейцар», «привратник», в транскрипции – «ашер» [1, 14, 17, 33, 35, 36, 41, 44, 49, 50, 54, 56-59]. Анализ структурных исследований, выполненных нами [18, 19, 24-26, 51, 52, 53, 54] и другими авторами [2, 3, 11, 35], позволил нам открыть новое семейство фибриллярных адгезинов, представляющих собой полимер одной или двух типов субъединиц, в каждой из которых расположен один или даже два независимых центра адгезии, специфичных к разным рецепторам клеток хозяина. Мы назвали это семейство органелл «фибриллярными полиадгезинами» или просто «полиадгезинами» [49, 50]. Полиадгезины собираются с помощью т. н. «FGL» семейства периплазматических шаперонов (FGL расшифровывается как FG-long, т. е. шапероны с длинной петлей FG, отвечающей за взаимодействие с субъединицами полиадгезинов) [6, 21, 30, 49, 54]. Полиадгезины выполняют функцию бактериального оружия для захвата, нейтрализации и дезориентации иммунной системы хозяина [50]. Члены семейства полиадгезинов являются мишенями для конструирования вакцин и антимикробных лекарств, а также широко используются в диагностике тяжелых заболеваний, вызываемых ГОб патогенами [49, 56-59].

Наши исследования, открывшие путь к обнаружению семейства полиадгезинов, начались с клонирования и секвенирования генов, ответственных за образование капсулы *Yersinia pestis*, возбудителя одной из самых опасных инфекций, известных

человечеству – чумы. Легочная форма чумы до эры антибиотиков вызывала 100% смертность. Пандемии чумы унесли жизни, приблизительно, 200 миллионов человек, т. е. больше, чем войны за всю историю человечества. Капсула *Y. pestis* представляет собой агрегат высокомолекулярных линейных полимеров, состоящих всего из одной субъединицы Caf1 (капсульная фракция 1 – F1) [49, 51-53, 56, 57]. Образование капсулы кодируется кластером генов *caf*, гены которого, *caf1*, *caf1M*, *caf1A* и *caf1R*, кодируют, соответственно, Caf1 субъединицу, периплазматический шаперон Caf1M, молекулярный ашер Caf1A и белок Caf1R, регулирующий транскрипцию кластера генов [18, 19, 24-26]. Свободные от шаперонов субъединицы полиадгезинов весьма нестабильны и склонны к образованию агрегатов [53, 55]. Поэтому информация о структуре многих субъединиц фибриллярных органелл адгезии была получена при изучении комплексов шаперон–субъединица [7, 27, 35, 38, 40, 46, 52, 53]. Кристаллическая структура комплексов шаперон–субъединица для пилей I типа FimC–FimH [7] и P пилей PapD–PapK, PapD–PapE и PapD–PapA [38, 39, 40, 46] позволила обнаружить, что субъединицы пилей (пилины), как и шапероны, имеют иммуноглобулино-подобную (Ig) структуру. Однако, С-концевой (G) β-тяж Ig структуры отсутствует. В результате, на поверхности субъединицы образуется глубокая гидрофобная щель. Шапероны встраивают в эту щель пилинов свой β-тяж G1. Этот процесс назван “комплементацией донируемым тяжем” [7, 38, 40, 46] [Choudhury *et al.*, 1999; Sauer *et al.*, 1999, 2002; Verger *et al.*, 2007]. В результате, три гидрофобных боковых цепи в консервативном фрагменте G1 встраиваются в гидрофобную акцепторную щель и становятся составной частью гидрофобного ядра субъединицы. Кристаллические структуры комплексов шаперон–субъединица Caf1M–Caf1 и SafB–SafA позволили увидеть конформацию субъединиц полиадгезинов, комплементированную шапероном [35, 48, 52, 53]. Как и пилины, субъединицы полиадгезинов Caf1 и SafA имеют недостроенную Ig структуру. Несмотря на то, что сколь-нибудь значительного сходство в последовательностях аминокислот отсутствует, у субъединиц полиадгезинов и пилинов имеется сходство в организации их В, С, Е и F β-тяжей, которые, как известно, образуют общий каркас Ig структуры [5]. Однако, структура β-тяжа А в полиадгезинах и пилинах различается. В пилинах β-тяж А начинается с водородной связи с β-тяжем В и принимает участие в образовании β-слоя АВЕD; затем он прерывается в середине и продолжается как часть β-слоя А'G1FC. В субъединицах полиадгезинов β-тяж А или переходит из слоя в слой очень поздно (в Caf1) или становится неупорядоченным (в SafA). В области между β-тяжами С и Е наблюдается большая структурная изменчивость как для пилинов, так и для субъединиц полиадгезинов. У пилинов есть тенденция образовывать более длинную петлю между β-тяжами D'' и Е. В субъединицах полиадгезинов имеются значительно более длинные последовательности, образующие область между β-тяжами

С и D''. Структура этой области более вариабельна в полиадгезинах, чем в пилинах, и потенциально может участвовать в образовании центров связывания, а также антигенных эпитопов, специфичных для каждой из органелл. Самые большие отличия между двумя классами субъединиц и соответствующих им шаперонов обнаружены в области взаимодействия шаперон–субъединица [31, 35, 46, 52, 53]. Конец петли F1–G1 и начало β-тяжа G1 в PapD содержит мотив из четырех остатков, которые участвуют в связывании субъединицы. Этот мотив включает один небольшой гидрофильный (N101) и три перемежающихся массивных гидрофобных остатка (L107, I105 и L103) [46]. Эта же область в молекуле SafB содержит похожий мотив из пяти остатков, который включает один небольшой гидрофобный (A114) и четыре массивных гидрофобных остатка (L116, L118, L120 и I122) [35]. Конец петли F1–G1 и начало β-тяжа G1 в Caf1M содержит мотив из пяти перемежающихся массивных гидрофобных остатков (V126, V128, V130, F132 and I134) [52, 53]. Остальная часть петли F1–G1 (остатки 96–102 в PapD, 104–113 в SafB и 104–123 в Caf1M) в кристаллической структуре неупорядочена. Другой мотив, участвующий в связывании субъединиц в FGL шаперонах и включающий три перемежающихся гидрофобных остатка (Y12 в Caf1M/F12 в SafB, V14 и I16), расположен в длинной N-концевой последовательности, которая образует тяж А1. β-тяжи А1 и G1 являются крайними тяжами β-сэндвича, в который свернут N-концевой домен. В комплексе β-тяжи А1 and G1 удлиняются в связи с частичным упорядочиванием N-концевой последовательности и петли F1–G1, соответственно, с образованием связывающей платформы, экспонирующей гидрофобные остатки связывающих мотивов. В дополнение к этой связывающей структуре в PapD, Caf1M и SafB шаперонах участвует пара консервативных положительно заряженных остатков (R8 и K112 в PapD, R20 и K127 в SafB, R20 и K139 в Caf1M), которые связывают субъединицы путем закоривания их С-концевой карбоксильной группы. Вследствие отсутствия седьмого (G) тяжа и упаковки β-сэндвича из шести тяжей, гидрофобное ядро Caf1 частично экспонировано в длинную и глубокую гидрофобную щель. Субъединица Caf1 и шаперон Caf1M взаимодействуют посредством крайних тяжей в Caf1 и в N-концевом домене Caf1M с образованием замкнутого цилиндра с общим ядром [52]. Тяж G1 в Caf1M присоединен водородными связями к тяжу F в Caf1. Тяж А1 шаперона соединен водородными связями с тяжем А субъединицы. Как и в комплексах FGS (FG-short – короткая петля F1-G1) шаперонов с пилиновыми субъединицами [7, 38, 40, 46], шаперона Caf1M донирует субъединице гидрофобные остатки тяжа G1, чтобы компенсировать отсутствие тяжа G. Более длинный тяж G1 шаперона Caf1M донирует субъединице Caf1 пять массивных гидрофобных остатков (P1–P5 остатки), которые погружены в пять связывающих карманов в гидрофобной щели Caf1 субъединицы (P1–P5 связывающие карманы).

Таким образом, акцепторная щель Caf1 субъединицы значительно длиннее, чем у субъединиц пилей. Более длинный тяж A1 в Caf1M также взаимодействует более интенсивно с субъединицей по сравнению с A1 тяжем в FGS шаперон-пилиновых комплексах. В кристаллической структуре комплекса SafB–SafA также наблюдается значительно большая область контактов между шапероном и субъединицей, чем в комплексах FGS шаперонов с пилиновыми субъединицами. Как и в комплексе Caf1M–Caf1, это является следствием более протяженной гидрофобной щели в SafA субъединице, чем в субъединицах пилей. Эта щель комплементирована более длинной последовательностью SafB шаперона. Однако, главный связывающий мотив F1–G1–петля–β-тяж G1 SafB содержит четыре, а не пять массивных гидрофобных остатков (L116, L118, L120 и I122), которые взаимодействуют с гидрофобными карманами P4–P1 в щели субъединицы. Пятый донируемый остаток, вставленный в карман P5, является небольшим A114. Были обнаружены две кристаллические формы комплекса SafB–SafA, которые отличаются по степени упорядоченности остатка A114 [35]. В кристаллах типа I остаток A114 упорядочен и вставлен в карман P5 субъединицы SafA. В кристаллах II типа этот остаток имеет неупорядоченную структуру и не вставлен в карман P5. В результате петли и элементы вторичной структуры в субъединице SafA, которые образуют карман P5, также неупорядочены и не прослеживаются на карте электронной плотности. Обнаружение двух структур свидетельствует в пользу равновесия между двумя состояниями комплекса SafB–SafA, как следствие слабого связывания донируемого тяжа G1 шаперона в кармане P5 связывающей щели SafA субъединицы [35]. Расшифровка кристаллической структуры минимальной фибриллы F1 *Y. pestis* (Caf1M–Caf1'–Caf1'' – тройной комплекс) стала важным шагом в понимании общих принципов сборки субъединиц по пути шаперон-ашер. Структура Caf1M и шаперон-связанной субъединицы Caf1' визуальны такие же, как и в бинарном комплексе Caf1M–Caf1. Однако, в отличие от неупорядоченной N-концевой области Caf1 в бинарном комплексе, N-концевая область Caf1' упорядочена и образует донируемый β-тяж, взаимодействующий в антипараллельном направлении с последним (F) β-тяжем в свободной от шаперона Caf1'' субъединице (рис. 2b). Донируемый N-концевой тяж приводит к образованию канонической Ig топологии в фибриллярной субъединице и получил обозначение 'Gd' (d – donor), так как он играет ту же структурную роль в фибрилле, что и G тяж (C-концевой) в канонической Ig структуре [52]. Таким образом, освобождение субъединицы из комплекса шаперон-субъединица и ее встройка в фибриллу сопровождается заменой G1 и A1 донируемых тяжей шаперона на Gd тяж соседней субъединицы. При замене тяжа G1 тяжем Gd происходит также изменение направления донируемого тяжа с параллельного на антипараллельное по отношению к β-тяжу F субъединицы. Этот процесс

был предсказан ранее для пилей адгезии, которые собираются с помощью FGS шаперонов [7, 38] и для полиадгезинов, которые собираются с помощью FGL шаперонов [51], и был назван 'обменом донируемыми тяжами'. Похожий 'топологический переход' [40] был обнаружен для субъединицы PapE P пилей, связанной с пептидом, соответствующим предполагаемому донируемому тяжу пилевой субъединицы PapK. Этот результат свидетельствует о том, что обмен донируемыми тяжами является общим для обоих типов органелл. Структура тройного комплекса PapD, связанного с PapA (через комплементацию донируемым тяжем), была расшифрована [46]. Комплекс PapD–PapA'–PapA'' похож на комплекс для Caf системы [52, 53]. Ядро складчатой структуры PapA после обмена донируемыми тяжами приобретает более компактен, чем PapA субъединица, комплементированная шапероном. Причина заключается в том, что β-тяжи, ограничивающие щель в PapA, после обмена донируемыми тяжами сближаются. По сравнению с субъединицей PapA P пилей [46] у субъединицы Caf1 полиадгезина F1 [52, 53] более длинная акцепторная щель, в которой размещается более длинный донируемый тяж Gd. Это находится в соответствии с более протяженной областью контактов между FGL шаперонами и субъединицами полиадгезинов в структурах Caf1M–Caf1 и SafB–SafA комплексов по сравнению с областью контактов между FGS шаперонами и субъединицами пилей в структурах FimC–FimH, PapD–PapK, PapD–PapE и PapD–PapA комплексов [7, 38, 40, 46, 52, 53]. Структуры нескольких других субъединиц фибриллярных полиадгезинов, AfaE/DraE, DraD, DaaE и SafA, также были определены с высоким разрешением [2, 10, 11, 23, 28, 32, 35]. В этих исследованиях для облегчения определения структуры были созданы искусственные конструкции. Структурная информация о DaaE и AfaE/DraE субъединицах была получена в результате исследований тримеров этих субъединиц, образующихся в цитоплазме [2, 29, 32, 35]. Анализ кристаллических структур показал, что тримеры образованы путем обмена β-тяжами. Не являясь естественным, этот обмен β-тяжами все же похож на комплементацию донируемыми тяжами. Другой подход был выбран для определения структуры с помощью ядерного магнитного резонанса (ЯМР) самокомплементированной субъединицы AfaE [3]. Эта конструкция содержит донируемую последовательность, присоединенную не к N-, а к C-концу, что позволяет субъединице самокомплементироваться путем вставления Gd тяжа в акцепторную щель с восстановлением канонической Ig структуры. Такой же подход был использован для определения структуры CssA и CssB субъединиц, участвующих в образовании т. н. "Coli surface antigen 6" (CS6) [37]. Этот антиген широко экспрессируется в энтеротоксигенных штаммах *E. coli* (ETEC) и является фактором колонизации, который опосредует прикрепление бактерий к эпителию кишечника. Было показано, что CssA и CssB субъединицы перемежаются в линейных фибриллах

CS6 и соединены по принципу комплементации донируемым тяжем. Этот тип сборки фибрилл является новым для адгезинов, образующихся по пути шаперон-ашер. Обнаружено, что обе субъединицы в фибриллах связываются с рецепторами на эпителиальных клетках [37], но только CssB специфически распознает фибронектин, белок внеклеточного матрикса. Таким образом, CS6 представляет собой органеллу адгезии нового типа, гетеро-полиадгезин, который обеспечивает поливалентное прикрепление к различным рецепторам. Для определения структуры фибриллярной формы SafA субъединицы группа Gabriel Waksman [35] использовала ту же технику, которую они использовали ранее для структурных исследований PapE [40]. SafA был сокристаллизован с пептидом, который по предсказаниям должен образовывать донируемый тяж. Процесс преобразования периплазматического комплекса шаперон-субъединица в свободный шаперон и секретируемую фибриллу не требует внешнего источника энергии [22]. Ответ частично был получен в результате структурных исследований [14, 40, 46, 52, 53]. Сравнение субъединицы, комплементированной шапероном (Caf1''), с субъединицей в фибрилле (Caf1'') позволило обнаружить большие конформационные различия [14, 52, 53]. Фибриллярная конформация была охарактеризована как "сомкнутая" или "сжатая" [14, 53]. Наблюдаемые отличия между разомкнутой и сомкнутой конформациями, включающие перекомпоновку и конденсацию гидрофобного ядра субъединицы, позволили предположить, что периплазматические шапероны могут удерживать субъединицы в высокоэнергетическом промежуточном состоянии "расплавленной глобулы" [52]. Была предложена модель, в которой освобождение субъединицы, сопровождаемое комплементацией донируемым тяжем Gd с завершением процесса сворачивания, является движущей силой образования фибриллы [52]. Замена массивных гидрофобных остатков в донируемом шапероном тяжем G1 на небольшие остатки в донируемой субъединице N-концевом Gd сегменте позволяет двум слоям β -сандвича более плотно упаковаться [14, 52, 53]. Значительная стабилизация субъединицы в результате окончательной высококачественной упаковки гидрофобного ядра подтверждается плавлением нативного тройного комплекса. Структурно наблюдаемое полное сжатие фибриллярной субъединицы Caf1'', комплементированной тяжем Gd, приводит к драматическому увеличению энтальпии и температуры плавления фибриллярного модуля. Термодинамические исследования являются убедительным доказательством гипотезы, что сжатие гидрофобного ядра сдвигает равновесие в сторону образования фибриллы [14, 53].

В противоположность пилиям-моноадгезинам, у которых только один связывающий домен на вершине пилей (рис. 1а), каждая фибрилла полиадгезина может (рис. 1б):

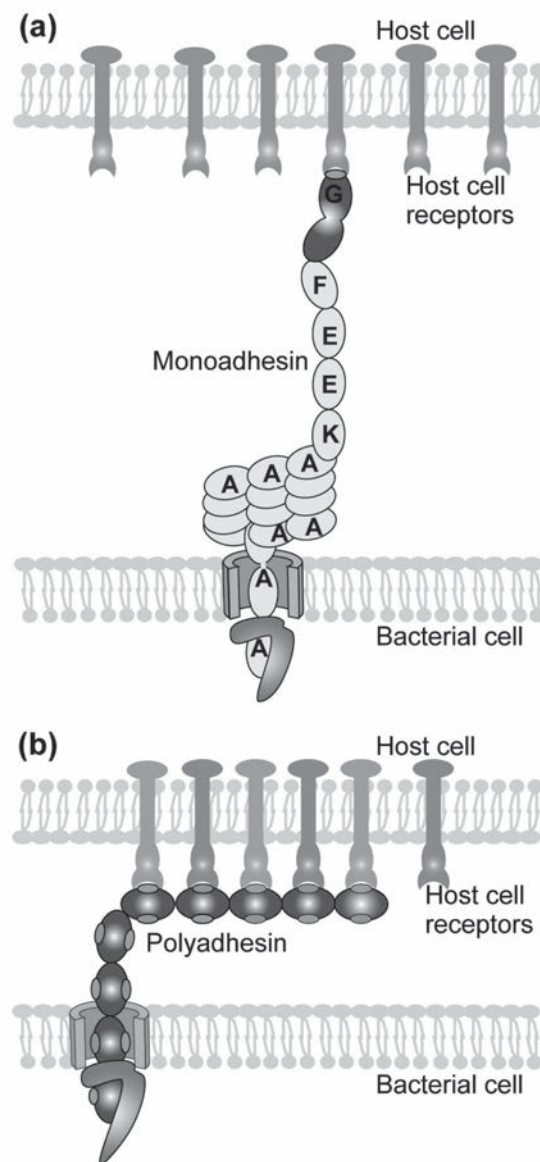


Рис. 1. Схематическая иллюстрация связывания моноадгезивных (а) и полиадгезивных фибриллярных органелл (б) с рецепторами клеток хозяина.

(1) обеспечивать прочное поливалентное прилегание бактериального патогена к клетке-мишени хозяина;

(2) агрегировать рецепторы клеток хозяина и запускать передачу сигналов, вызывающих иммунопрессивные и провоспалительные реакции;

(3) подтягивать бактерию к клетке хозяина с помощью механизма, похожего на застежку-молнию, чтобы увеличить плотность контакта.

Плотный контакт между взаимодействующими клетками затрудняет диффузию Ca^{2+} в области контакта и, как следствие, запускает Ca^{2+} -зависимую систему секреции III типа (кодируется pCD1 плазмидой вирулентности), которая приводит в негодность систему защиты клетки хозяина [8, 9, 15, 47]. Это чрезвычайно важно для бактериальной

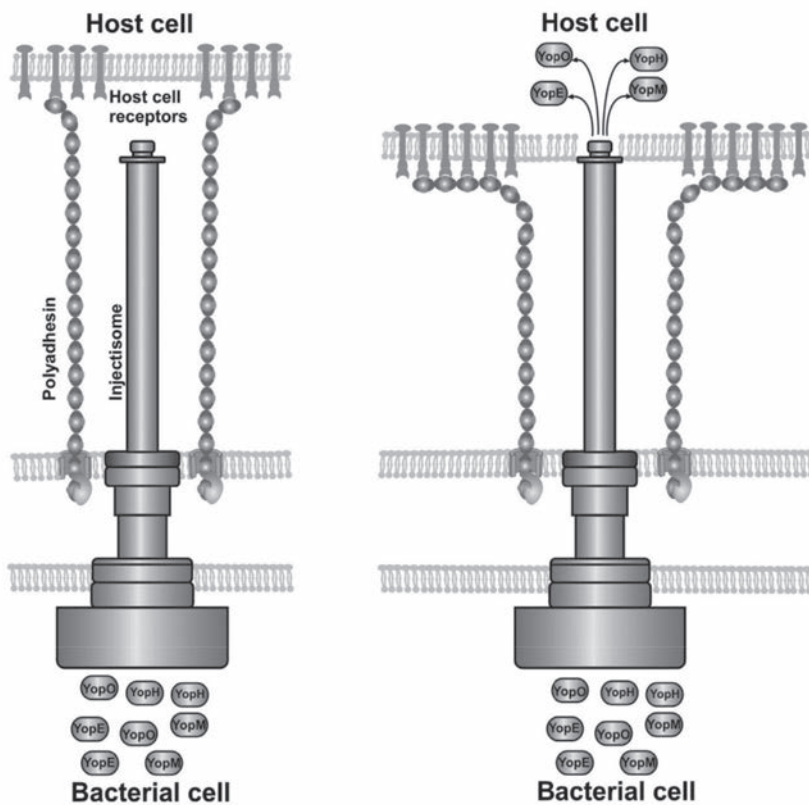


Рис. 2. Схема, ілюструюча можливий механізм взаємодії поліадгезинів з системою секреції III типу (ін'єктисома) *Yersinia*. Рисунок оснований на даних, опублікованих Cornelis (2010) and Felek *et al.* (2010) [8, 16].

вирулентності. В частині, *Y. pestis* використовує систему секреції III типу для порчі кліток з функціями природного імунітету (макрофаги, дендритні клітки і нейтрофіли), які представляють собою передову лінію оборони організму господаря, запобігаючи розвитку адекватного адаптивного імунітету і прискорюючи смертельний кінець чуми [Marketon *et al.*, 2005]. Було виявлено, що дендритні клітки, інфіковані *Y. pestis*, втрачають здатність прикріплюватися до твердих поверхонь і мігрувати під впливом хемокіну CCL19 (трансмембранна проба *in vitro*). Обидва ефекти залежать від присутності плазмиди rCD1 і температури вирощування бактерій перед зараженням [45]. Закапування штаму *Y. pestis*, позбавленого плазмиди rCD1, в дихальні шляхи мишей супроводжувалося процесом ефективного переміщення альвеолярних дендритних кліток в лімфатичні вузли середостення. В той же час, закапування штаму *Y. pestis*, несуттєвої плазмиду, не індукувало цей процес. Отримані результати дозволяють передбачити, що залежна від плазмиди вирулентності rCD1 міграція дендритних кліток

є важливим механізмом, використовуваним *Y. pestis* для зворотного функціонування дендритних кліток.

Felek *et al.*, 2010 [16] виявили, що адгезини *Y. pestis* спрощують доставку Yop в еукаріотичні клітки і вносять внесок в вирулентність. Ail, активатор плазміногена (Pla) і рН6 антиген (Psa) можуть опосередковувати транслокацію Yop в клітку господаря. Внесок кожного адгезину в зв'язування і доставку Yop залежить від умов вирощування бактерій. При вирощуванні при 28°C, рН 7, ступінь важливості адгезинів для зв'язування з клітками і цитотоксичності була Ail>Pla>Psa. Для *Y. pestis*, вирощеної при 37°C, рН 7, внесок Ail і Pla був рівним, а роль Psa встановити не вдалося. При 37°C, рН 6, як Ail, так і Psa вносили внесок в зв'язування і доставку Yop, в той час як внесок Pla був мінімальним. Здатність Pla посилювати транслокацію Yop не залежала від протеазної активності. З трьох окремих мутантів *Δail* мутант був найбільш дефектним за рівнем вирулентності для мишей. З трьох адгезинів експресія *ail* в тканинах інфікованих мишей була найвищою. Делеція

psaA (кодує Psa) додатково до делеції *ail* призводила до збільшення LD₅₀ для мишей в 130000 разів по відношенню до вихідного штаму KIM5. Ці результати показують, що Psa є адгезином, чий внесок в вирулентність залежить від середовища. Експресія Psa спрощує секрецію Yop, які вносять вирішальний внесок в вирулентність *Y. pestis*. **Рисунок 2** показує можливий механізм взаємодії поліадгезинів і системи секреції III типу (ін'єктисома). Фрагменти капсули F1 *Y. pestis* слухаються в культуральну середовище [43], активують перитонеальні макрофаги *in vitro* і індукують продукцію провоспалительних цитокінів, TNF-α, IL-1 і IL-6, вдали від місця інфекції, дезорієнтують імунну систему [42].

Дальніші дослідження відкриті нами сімейства поліадгезинів, які виконують функцію бактеріального зброї для захоплення, нейтралізації і дезорієнтації імунної системи господаря, відкривають нові перспективи для конструювання вакцин і антимікробних препаратів, а також їх використання для діагностики тяжелих захворювань, викликаних ГОБ патогенами [49, 56, 57].

Список литературы

1. Завьялов В. П. Полиадгезины патогенных бактерий как оружие для захвата, нейтрализации и дезориентации иммунной системы хозяина / В. П. Завьялов // Природничий альманах. – 2013. – № 18. – С. 15–24.
2. Anderson K. L. An atomic resolution model for assembly, architecture, and function of the Dr adhesions / K. L. Anderson, J. Billington, D. Pettigrew [et al.] // Mol. Cell. – 2004a. – Vol. 101. – P. 647–657.
3. Anderson K. L. Complete resonance assignments of a 'donor-strand complemented' AfaE: the afimbrial adhesin from diffusely adherent *E. coli* / K. L. Anderson, E. Cota, P. Simpson [et al.] // J. Biomol. NMR. – 2004b. – Vol. 29. – P. 409–410.
4. Berry A. A. Structural insight into host recognition by aggregative adherence fimbriae of enteroaggregative *Escherichia coli* / A. A. Berry, Y. Yang, N. Pakharukova [et al.] // PLoS Pathog. – 2014. – Vol. 10. – e1004404.
5. Bork P. The immunoglobulin fold: structural classification, sequence patterns and common core / P. Bork, L. Holm, C. Sander // J. Mol. Biol. – 1994. – Vol. 242. – P. 309–320.
6. Chapman D. A. G. Structure and functional significance of the FGL sequence of the periplasmic chaperone, Caf1M, of *Yersinia pestis* / D. A. G. Chapman, A. V. Zavialov, T. V. Chernovskaya [et al.] // J. Bacteriol. – 1999. – Vol. 181. – P. 2422–2429.
7. Choudhury D. X-ray structure of the FimC-FimH chaperone–adhesin complex from uropathogenic *Escherichia coli* / D. Choudhury, A. Thompson, V. Stojanoff [et al.] // Science. – 1999. – Vol. 285. – P. 1061–1066.
8. Cornelis G. R. The type III secretion injectisome, a complex nanomachine for intracellular 'toxin' delivery / G. R. Cornelis // Biol. Chem. – 2010. – Vol. 391. – P. 745–751.
9. Cornelis G. R. The *Yersinia* Yop virulon: a bacterial system for subverting eukaryotic cells / G. R. Cornelis, H. Wolf-Watz // Mol. Microbiol. – 1997. – Vol. 23. – P. 861–867.
10. Cota E. Letter to the editor: complete resonance assignments of the 'donor-strand complemented' AfaD: the afimbrial invasin from diffusely adherent *E. coli* / E. Cota, H. A. Chen, K. L. Anderson [et al.] // J. Biomol. NMR. – 2004. – Vol. 29. – P. 411–412.
11. Cota E. The solution structure of the invasive tip complex from Afa/Dr fibrils / E. Cota, C. Jones, P. Simpson [et al.] // Mol. Microbiol. – 2006. – Vol. 62. – P. 356–366.
12. De Jong B. The comparative burden of salmonellosis in the European Union member states, associated and candidate countries / B. De Jong, B. Ekdahl // BMC Public Health. – 2006. – Vol. 6. – P. 4.
13. DeLano W. L. Unraveling hot spots in binding interfaces: progress and challenges / W. L. DeLano // Curr. Opin. Struct. Biol. – 2002. – Vol. 12. – P. 14–20.
14. Di Yu X. Large is fast, small is tight: determinants of speed and affinity in subunit capture by a periplasmic chaperone / X. Di Yu, L. J. Fooks, E. Moslehi-Mohebi [et al.] // J. Mol. Biol. – 2012b. – Vol. 417. – P. 294–308.
15. Diepold A. Deciphering the assembly of the *Yersinia* type III secretion injectisome / A. Diepold, M. Amstutz, S. Abel [et al.] // EMBO J. – 2010. – Vol. 29. – P. 1928–1940.
16. Felek S. Three *Yersinia pestis* adhesins facilitate Yop delivery to eukaryotic cells and contribute to plague virulence / S. Felek, T. M. Tsang, E. S. Krukons // Infect. Immun. – 2010. – Vol. 78. – P. 4134–4150.
17. Fronzes R. Architectures and biogenesis of non-flagellar protein appendages in Gram-negative bacteria / R. Fronzes, H. Remaut, G. Waksman // EMBO J. – 2008. – Vol. 27. – P. 2271–2280.
18. Galyov E. E. Nucleotide sequence of the *Yersinia pestis* gene encoding F1 antigen and the primary structure of the protein / E. E. Galyov, O. Y. Smirnov, A. V. Karlyshev [et al.] // FEBS Lett. – 1990. – Vol. 277. – P. 230–232.
19. Galyov E. E. Expression of the envelope antigen F1 of *Yersinia pestis* is mediated by the product of caf1M gene having homology with the chaperone PapD of *Escherichia coli* / E. E. Galyov, A. V. Karlyshev, T. V. Chernovskaya [et al.] // FEBS Lett. – 1991. – Vol. 286. – P. 79–82.
20. Giske C. G. Clinical and economic impact of common multidrug-resistant Gram-negative bacilli / C. G. Giske, D. L. Monnet, O. Cars [et al.] // Antimicrob. Agents Ch. – 2008. – Vol. 52. – P. 813–821.
21. Hung D. L. Molecular basis of two subfamilies of immunoglobulin-like chaperones / D. L. Hung, S. D. Knight, R. M. Woods [et al.] // EMBO J. – 1996. – Vol. 15. – P. 3792–3805.
22. Jacob-Dubuisson F. Chaperone assisted self-assembly of pili independent of cellular energy / F. Jacob-Dubuisson, R. Striker, S. J. Hultgren // J. Biol. Chem. – 1994. – Vol. 269. – P. 12447–12455.
23. Jedrzejczak R. Structure of DraD invasin from uropathogenic *Escherichia coli*: a dimer with swapped beta-tails / R. Jedrzejczak, Z. Dauter, M. Dauter [et al.] // Acta Crystallogr. D. – 2006. – Vol. 62. – P. 157–164.
24. Karlyshev A. V. caf1R gene and its role in the regulation of capsule formation of *Y. pestis* / A. V. Karlyshev, E. E. Galyov, V. M. Abramov, V. P. Zav'yalov // FEBS Lett. – 1992a. – Vol. 305. – P. 37–40.
25. Karlyshev A. V. A new gene of the f1 operon of *Y. pestis* involved in the capsule biogenesis / A. V. Karlyshev, E. E. Galyov, O. Y. Smirnov [et al.] // FEBS Lett. – 1992b. – Vol. 297. – P. 77–80.
26. Karlyshev A. V. Structure and regulation of a gene cluster involved in capsule formation of *Y. pestis* / A. V. Karlyshev, E. E. Galyov, O. Y. Smirnov [et al.] // Biological Membranes : Structure, Biogenesis and Dynamic, NATO-ASI Series. – New York, NY: Springer-Verlag, 1994. – Vol. H-82 (Op den Kamp JAF, ed). – P. 321–330.
27. Knight S. D. Bacterial adhesins: structural studies reveal chaperone function and pilus biogenesis / S. D. Knight, J. Berglund, D. Choudhury // Curr. Opin. Chem. Biol. – 2000. – Vol. 4. – P. 653–660.
28. Korotkova N. A subfamily of Dr adhesions of *Escherichia coli* bind independently to decay-accelerating factor and the N-domain of carcinoembryonic antigen / N. Korotkova, E. Cota, Y. Lebedin [et al.] // J. Biol. Chem. – 2006a. – Vol. 281. – P. 29120–29130.
29. Korotkova N. Crystal structure and mutational analysis of the DaaE adhesin of *Escherichia coli* / N. Korotkova, I. Le Trong, R. Samudrala [et al.] // J. Biol. Chem. – 2006b. – Vol. 281. – P. 22367–22377.

30. MacIntyre S. An extended hydrophobic interactive surface of *Yersinia pestis* Caf1M chaperone is essential for subunit binding and F1 capsule assembly / S. MacIntyre, I. M. Zyrianova, T. V. Chernovskaya [et al.] // Mol. Microbiol. – 2001. – Vol. 39. – P. 12–25.
31. Pakharukova N. Structural insight into archaic and alternative chaperone-usher pathways reveals a novel mechanism of pilus biogenesis / N. Pakharukova, J. A. Garnett, M. Tuittila [et al.] // PLoS Pathog. – 2015. – Vol. 11. – P. e1005269.
32. Pettigrew D. High resolution studies of the Afa/Dr adhesin DraE and its interaction with chloramphenicol / D. Pettigrew, K. L. Anderson, J. Billington [et al.] // J. Biol. Chem. – 2004. – Vol. 279. – P. 46851–46857.
33. Phan G. Crystal structure of the FimD usher bound to its cognate FimC-FimH substrate / G. Phan, H. Remaut, T. Wang [et al.] // Nature. – 2011. – Vol. 474. – P. 49–53.
34. Rasko D. A. Origins of the *E. coli* strain causing an outbreak of hemolytic-uremic syndrome in Germany / D. A. Rasko, D. R. Webster, J. W. Sahl [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2011. – Vol. 365. – P. 709–717.
35. Remaut H. Donor-strand exchange in chaperone-assisted pilus assembly proceeds through a concerted β strand displacement mechanism / H. Remaut, R. J. Rose, T. J. Hannan [et al.] // Mol. Cell. – 2006. – Vol. 22. – P. 831–842.
36. Remaut H. Fiber formation across the bacterial outer membrane by the chaperone/usher pathway / H. Remaut, C. Tang, N. Henderson [et al.] // Cell. – 2008. – Vol. 133. – P. 640–652.
37. Roy S. P. Crystal structure of enterotoxigenic *Escherichia coli* colonization factor CS6 reveals a novel type of functional assembly / S. P. Roy, M. M. Rahman, X. D. Yu [et al.] // Mol. Microbiol. – 2012. [Epub ahead of print].
38. Sauer F. G. Structural basis of chaperone function and pilus biogenesis / F. G. Sauer, K. Futterer, J. S. Pinkner [et al.] // Science. – 1999. – Vol. 285. – P. 1058–1061.
39. Sauer F. G. Chaperone-assisted pilus assembly and bacterial attachment / F. G. Sauer, M. Barnhart, D. Choudhury [et al.] // Curr. Opin. Struc. Biol. – 2000. – Vol. 10. – P. 548–556.
40. Sauer F. G. Chaperone priming of pilus subunits facilitates a topological transition that drives fiber formation / F. G. Sauer, J. S. Pinkner, G. Waksman [et al.] // Cell. – 2002. – Vol. 111. – P. 543–551.
41. Sauer F. G. Fiber assembly by the chaperone-usher pathway / F. G. Sauer, H. Remaut, S. J. Hultgren [et al.] // Biochim. Biophys. Acta. – 2004. – Vol. 1694. – P. 259–267.
42. Sharma R. K. Phosphorylation of p42/44 MAP kinase is required for rF1-induced activation of murine peritoneal macrophages / R. K. Sharma, A. Sodhi, H. V. Batra [et al.] // Mol. Immunol. – 2005. – Vol. 42. – P. 1385–1392.
43. Soliakov A. The structure of *Yersinia pestis* Caf1 polymer in free and adjuvant bound states / A. Soliakov, J. R. Harris, A. Watkinson [et al.] // Vaccine. – 2010. – Vol. 28. – P. 5746–5754.
44. Thanassi D. G. The chaperone/usher pathway: a major terminal branch of the general secretory pathway / D. G. Thanassi, E. T. Saulino, S. J. Hultgren // Curr. Opin. Microbiol. – 1998. – Vol. 1. – P. 223–231.
45. Velan B. Discordance in the effects of *Yersinia pestis* on dendritic cell functions: induction of maturation and paralysis of migration / B. Velan, E. Bar-Haim, A. Zauberman [et al.] // Infect. Immun. – 2006. – Vol. 74. – P. 6365–6376.
46. Verger D. Crystal structure of the P pilus rod subunit PapA / D. Verger, E. Bullitt, S. J. Hultgren [et al.] // PLoS Pathogens. – 2007. – Vol. 3. – P. e73.
47. Viboud G. I. *Yersinia* outer proteins: role in modulation of host cell signaling responses and pathogenesis / G. I. Viboud, J. B. Bliska // Ann. Rev. Microbio. – 2005. – Vol. 59. – P. 69–89.
48. Waksman G. Structural biology of the chaperone-usher pathway of pilus biogenesis / G. Waksman, S. J. Hultgren // Nat. Rev. Microbiol. – 2009. – Vol. 7. – P. 765–774.
49. Zavialov A. V. A novel self-capping mechanism controls aggregation of periplasmic chaperone Caf1M / A. V. Zavialov, S. D. Knight // Mol. Microbiol. – 2007. – Vol. 64. – P. 153–164.
50. Zavialov A. FGL chaperone-assembled fimbrial polyadhesins: anti-immune armament of Gram-negative bacterial pathogens / A. Zavialov, G. Zav'yalova, T. Korpela, V. Zav'yalov // FEMS Microbiol. Rev. – 2007. – Vol. 31. – P. 478–514.
51. Zavialov A. V. Donor strand complementation mechanism in the biogenesis of non-pilus systems / A. V. Zavialov, J. Kersley, T. Korpela [et al.] // Mol. Microbiol. – 2002. – Vol. 45. – P. 983–995.
52. Zavialov A. V. Structure and biogenesis of the capsular F1 antigen from *Yersinia pestis*: preserved folding energy drives fiber formation / A. V. Zavialov, J. Berglund, A. F. Pudney [et al.] // Cell. – 2003. – Vol. 113. – P. 587–596.
53. Zavialov A. V. Resolving the energy paradox of chaperone-mediated fibre assembly / A. V. Zavialov, V. M. Tischenko, L. J. Fooks [et al.] // Biochem. J. – 2005. – Vol. 389. – P. 685–694.
54. Zav'yalov V. P. Modelling of steric structure of a periplasmic molecular chaperone Caf1M of *Yersinia pestis*, a prototype member of a subfamily with characteristic structural and functional features / V. P. Zav'yalov, G. A. Zav'yalova, A. I. Denesyuk [et al.] // FEMS Immunol. Med. Microbiol. – 1995. Vol. 11. – P. 19–24.
55. Zav'yalov V. P. Influence of the conserved disulphide bond exposed to the putative binding pocket, on the structure and function of the immunoglobulin-like periplasmic molecular chaperone, Caf1M, of *Yersinia pestis* / V. P. Zav'yalov, T. V. Chernovskaya, D. A. G. Chapman [et al.] // Biochem. J. – 1997. – Vol. 324. – P. 571–578.
56. Zav'yalov V. Adhesive organelles of Gram negative pathogens assembled with the classical chaperone/usher machinery: structure and function from a clinical standpoint / V. Zav'yalov, A. Zavialov, G. Zav'yalova [et al.] // FEMS Microb. Rev. – 2010. – Vol. 34. – P. 317–378.
57. Zav'yalov V. Fimbrial polyadhesins: anti-immune armament of *Yersinia* / V. Zav'yalov // Adv. Exp. Med. Biol. – 2012. – Vol. 954. – P. 183–201.
58. Zav'yalov V. Polyadhesins: an armory of Gram-negative pathogens for penetration through the immune shield / V. Zav'yalov // Biotechnologia acta. – 2013a. – Vol. 6. – P. 144–161.

59. Zav'yalov V. Polyadhesins: an armory of Gram-negative pathogens for penetration through the immune shield. In book: "Biochemistry and Biotechnology for Modern Medicine" / V. Zav'yalov; Editor S. Komisarenko. – Kyiv : Publishing House Moskalenko OM. , 2013b. – P. 539–585.

УДК 579. 84

ПОЛІАДГЕЗИНИ : ПРОТИІМУННА ЗБРОЯ ПАТОГЕННИХ БАКТЕРІЙ

Зав'ялов В. П.

Резюме. Швидка поява нових і лікування стійких грамнегативних бактерій (ГНБ) стало серйозною загрозою для здоров'я населення. Недавній спалах нової інфекції O104H4 в Німеччині, яка продукує дизентерійний токсин, ілюструє цю проблему. Для колонізації тканини господаря, більшість патогенних ГНБ експресують поверхневі адгезивні органели. Німецький штам використовує агрегатну прихильність фімбрії I (AAF / I) для кріплення до слизової оболонки кишківника і викликає запалення. AAF / I належить до виявленого нами сімейства фімбріальних поліадгезинів. Поліадгезини патогенних ГНБ функціонують в якості зброї для захоплення, нейтралізації і дезорієнтації імунної системи господаря. Багато фімбріальних поліадгезинів, у тому числі AAF / I, являються імунозахисними, та є мішенями для конструювання вакцин і антимікробних ліків. Раніше, в наших структурних дослідженнях запропоновано новий підхід до побудови добре розчинних мономерних субодиноць фімбріальних поліадгезинів. Такий підхід полегшує конструкцію потенційних молекулярних вакцин проти кількох інфекційних захворювань.

Ключові слова: патогенні бактерії, поліадгезини, протиімунна зброя.

UDC 579. 84

Polyadhesins: Anti-Immune Armament of Pathogenic Bacteria

Zav'yalov V. P.

Abstract. The rapid emergence of new and treatment-resistant Gram-negative bacteria (GNB) has become a major threat to public health. The recent outbreak of new Shiga-toxin-producing *E. coli* O104H4 infection in Germany illustrates this problem. To colonize host tissues, most pathogenic GNB express surface adhesive organelles. The German strain uses aggregative adherence fimbriae I (AAF/I) to anchor to the intestinal mucosa and induce inflammation. AAF/I belong to the discovered by us family of fimbrial polyadhesins. Polyadhesins of pathogenic GNB are functioning as an armament for hijacking, neutralization and misleading of host immune system. Many fimbrial polyadhesins, including AAF/I, are immunoprotective, which makes them attractive vaccine candidates. Previously, our structural studies suggested a new approach to construction of highly soluble monomeric subunits of fimbrial polyadhesins. This approach facilitates design of potential molecular vaccines against several infectious diseases.

Keywords: pathogenic bacteria, polyadhesins, anti-immune armament.

Стаття надійшла 09.12.2015 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування