

ТЕЙХОВЫЕ КИСЛОТЫ АКТИНОМИЦЕТОВ И ДРУГИХ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ

© 2006 г.

Н. В. ПОТЕХИНА

*Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова,
биологический факультет*

I. Введение. II. Структурные типы тейховых кислот. III. Биосинтез тейховых кислот. IV. Локализация тейховых кислот. V. Свойства и функции тейховых кислот. VI. Структурное разнообразие и биологическая роль тейховых кислот. VII. Заключение.

I. ВВЕДЕНИЕ

Тейховые кислоты были открыты около пятидесяти лет назад проф. Бэддели в клеточных стенках лактобацилл и стафилококков. Они представляли собой глицерин- и рибитфосфатные полимеры, несущие в качестве гликозильных заместителей глюкозу или аминсахар [1].

Принятые сокращения: ТК – тейховые кислоты; ПГ – пептидогликан; ЛТК – липотейховые кислоты; ТХУ – трихлоруксусная кислота; sn-Gro-(3-*P* – L-глицерофосфат; Pol-ol *P* – полиолфосфат; *O*-D-Ala, *O*-L-Lys или *O*-ацетил (OAc) – остатки аланина, лизина или уксусной кислоты, присоединенные сложноэфирной связью; CDP, UDP – цитидин-, уридиндифосфат; ФР – ферритин; АТ – антитела.

Моносахариды: Glc – глюкоза; Gal – галактоза; GlcNAc, GalNAc – N-ацетилированные глюкоз- и галактозамины; Man – манноза; Mad – мадуроса; L-Rha – L-рамноза; L-Rha3Me – L-3-*O*-метилрамноза; Tal – таллоза; GlcUANac₂ – диаминоглюкуроновая кислота; Rib – рибоза.

Кислоты: D-Ala – D-аланин; L-Lys – L-лизин; L-Glu – L-глутаминовая; AcOH (OAc) – уксусная; Lac – молочная; Puc – пировиноградная; Suc – янтарная; HPO₃²⁻ – ортофосфорная; HSO₃⁻ – серная.

Спирты: Gro – глицерин; Ery-ol – эритрит; Rib-ol – рибит; Man-ol – маннит; Ara-ol – арабит; *P*-EtN, *P*-Cho – фосфорилэтанолламин и фосфорилхоллин.

Адрес для корреспонденции: potekchina@hotmail.ru

Работа поддержана грантом РФФИ 04-04-49096

Почти в это же время проф. И.Б. Наумова и акад. А.Н. Белозерский обнаружили тейхоевые кислоты в клеточных стенках актиномицетов [2]. Эти работы положили начало многолетним плодотворным исследованиям ТК на кафедре микробиологии биологического факультета МГУ. Изучение различных представителей порядка *Actinomycetales* и других микроорганизмов привело к открытию новых структурных типов и структурных элементов ТК [3], чему немало способствовало применение новейших методов исследования, включая ЯМР-спектроскопию [4–6].

Тейхоевые кислоты, ковалентно связанные с пептидогликаном, являются неотъемлемой частью клеточной стенки и, таким образом, находятся в тесной связи со всеми процессами, происходящими при ее участии. К ним относятся – рост и деление клеток, связывание и резервирование катионов, необходимых для функционирования мембранных ферментов, процессы межклеточного узнавания, рецепция фагов, патогенность. Тейхоевые кислоты и другие анионные соединения клеточной стенки, вносят существенный вклад в формирование структуры полиэлектролитного геля и определяют ее механические свойства [7].

Несомненно, изучение этих уникальных природных соединений является весьма важной проблемой, имеющей несколько аспектов.

Фундаментальный аспект включает изучение структурного разнообразия биополимеров, что важно для понимания их свойств и функций в микробной клетке, механизмов взаимодействия бактерий внутри микробного сообщества и с внешней средой.

В последние десятилетия ТК стали объектами медицинских исследований. Изучение клеточных стенок патогенных микроорганизмов привело к пониманию таких важных явлений, как адгезия, вирулентность, образование биопленок на имплантированных материалах [8, 9], а также природы некоторых аутоиммунных заболеваний человека [10]. Наряду с другими компонентами клеточных стенок тейхоевые кислоты ответственны за чувствительность клетки к ряду антибиотиков и иммуномодуляторные свойства бактерий [11–13].

Практически с момента открытия ТК делались попытки использовать их в таксономии микроорганизмов. Для ряда таксонов порядка *Actinomycetales* признак «наличие ТК» дифференцирует таксоны высших порядков, таких как подпорядок и семейство [14], в то время как структура ТК может служить маркером для дифференциации актиномицетов на уровне вида [15].

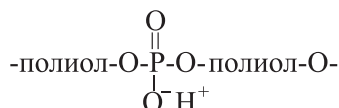
Ввиду обширности материала основное внимание будет уделено рассмотрению структурных и функциональных особенностей тейхоевых кислот актиномицетов и других грамположительных бактерий.

II. СТРУКТУРНЫЕ ТИПЫ ТЕЙХОЕВЫХ КИСЛОТ

Тейхоевые кислоты – обширная группа анионных, фосфатсодержащих биополимеров, широко распространенных в клеточных стенках грамположительных бактерий.

Со времени их открытия в 1958 году в клеточных стенках бацилл, стафилококков и лактобацилл [1] спектр их распространения был значительно расширен. Они были найдены у стрептококков, пневмококков, листерий, клостридий и актиномицетов.

Обязательными структурными элементами ТК являются полиол (многоатомный спирт) и фосфорная кислота, которая объединяет остатки полиолов посредством диэфирных связей в цепи различной длины и обуславливает их кислотные свойства:



К собственно тейхоевым кислотам относится класс полимеров, содержащих в качестве повторяющейся единицы цепи – полиолфосфаты. Обнаружены и другие варианты структур ТК, в интегральную цепь которых помимо полиольных входят гликозильные остатки. В зависимости от того, какие элементы объединяют фосфодиэфирные связи, различают четыре структурных типа ТК (типы I–IV) [3], каждый из которых включает несколько подтипов [15] (рис. 1).



Рис. 1. Структурные типы тейхоевых кислот.

■ – полиол, ● – фосфорная кислота, ◆ – гликозил.

Тип I – поли(полиолфосфат), тип II – поли(гликозилполиолфосфат), тип III – поли(полиолфосфат - гликозилфосфат), тип IV – смешанный тип (I+II тип).

Аналогами ТК клеточных стенок в мембране являются липотейхоевые кислоты (ЛТК) – полимеры, содержащие гликолипид, ковалентно связанный с гидрофильной цепью 1,3-поли(полиолфосфатной) (тип I) или поли(гликозилполиолфосфатной) (тип II) природы. Благодаря наличию гликолипидного якоря ЛТК удерживаются в мембране. Однако гидрофильная часть молекулы может проникать в толщу клеточной стенки и даже выходить на поверхность клетки, обуславливая ее антигенные и адгезивные свойства. (О ЛТК см. обзоры [16, 17]).

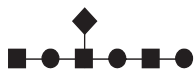
ТЕЙХОВЫЕ КИСЛОТЫ I ТИПА. ПОЛИ(ПОЛИОЛФОСФАТЫ)

В составе поли(полиолфосфатных) тейхоевых кислот обнаружены шесть полиолов: глицерин, рибит, маннит, эритрит, арабит и 6-*O*-метилгалактит, причем самым распространенным является глицерин, а два последних полиола встречаются крайне редко.

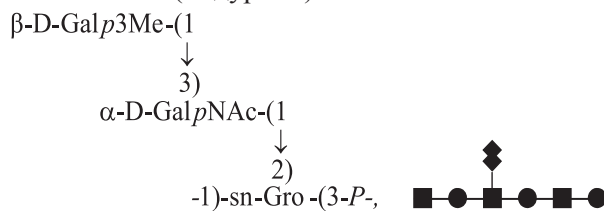
На природе полиола и положении фосфодиэфирной связи базируется подразделение структур ТК I типа на 8 подтипов. Вариации каждого подтипа включают различия в природе, положении и конфигурации гликозильных заместителей и *O*-ацильных остатков.

I-Г 1,3. Поли(глицерофосфатные) тейхоевые кислоты. Фосфодиэфирная связь объединяет ОН-группы при С-1 и С-3 соседних остатков глицерина: **-1)-sn-Gro-(3-P-**. Гидроксильные группы при С-2 глицерина могут быть свободными или связанными с остатками сахаров и/или *O*-ацильными группами.

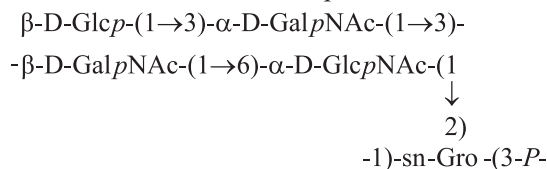
Среди углеводных заместителей особенно часто встречаются β-глюкоза и α-*N*-ацетилированные аминсахариды. Гликозильные заместители в тейхоевых кислотах этого типа, как правило, присутствуют в форме моносахарных остатков:



Однако в тейхоевой кислоте *Nonomuraea roseoviolacea* subsp. *carminata* ИНА и *N. polychroma* ИНА 2755 [3] (ранее – род *Actinomadura*) обнаружен дисахарид, состоящий из α-*N*-ацетилгалактозамина и β-3-*O*-метилгалактозы (мадурозы):



а в полностью замещенной ТК *Streptomyces sparsogenes* ВКМ Ac-1744^T [18] – тетрасахарид, состоящий из остатка глюкозы и чередующихся α- и β-связанных остатков аминсахаридов:



Тейхоевые кислоты этого подтипа наряду с гликозильными могут нести *O*-ацильные остатки. Характерной особенностью ТК бацилл, стафилококков и лактобацилл является наличие D-аланина (D-Ala), а особенностью актиномицетов – L-лизина (L-Lys) [3, 19]. Недавно в составе ТК *Brevibacterium aurantiacum* ВКМ Ac-2111^T, *Streptomyces spectabilis* INA 000606 и некоторых других стрептомицетов были обнаружены остатки *O*-L-глутаминовой кислоты [20, 21]. ТК актиномицетов также могут нести остатки уксусной [3] и/или серной кислот [22].

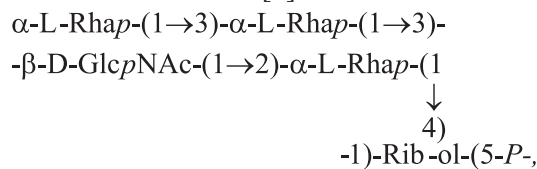
I-Г 2,3. Помимо 1,3-связанных глицеринтейхоевых кислот существуют полимеры, в которых фосфодиэфирная связь объединяет ОН-группы при С-2 и С-3 соседних глицериновых единиц: **-2)-sn-Gro-(3-P-**. ОН-группа при С-1 глицерина может оставаться либо свободной, либо замещенной углеводными компонентами, среди которых обнаружены α- и β-Glc, α-Gal и дисахарид (α-D-Galp-(1→3)-β-D-GalpNAc-) [3].

I-Р 1,5. Поли(рибитфосфатные) ТК. Фосфодиэфирная связь объединяет ОН-группы при С-1 и С-5 соседних рибитных единиц: **-1)-Rib-ol-(5-P-**. Этот тип ТК достаточно часто встречается в клеточных стенках актиномицетов, бацилл, лактобацилл, стафилококков и листерий.

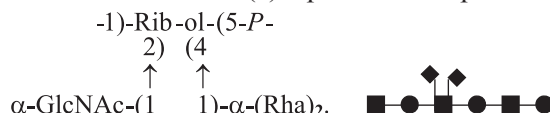
Углеводные заместители и остатки *O*-D-Ala [19] и *O*-L-Lys [3, 23, 24] обычно присоединяются по С-4(2) рибита, однако описаны случаи, когда D-Ala связывался с одним из остатков сахаров [19]. В ряде рибиттейхоевых кислот обнаружены боковые полиолфосфатные мономеры [3] и остатки органических кислот – уксусной, молочной, пировиноградной [3, 25, 26] и янтарной [23].

Самыми распространенными гликозильными заместителями в рибиттейхоевых кислотах I-Р 1,5-подтипа являются остатки β-Glc и β-GlcNAc. Другие моносахариды (α-Glc, α-Gal, α-GlcNAc, α-L-Rha и ее метилированная форма) встречаются значительно реже.

Необычный гликозильный заместитель, представляющий собой тетрасахарид, был идентифицирован в ТК *Agromyces fucosus* ssp. *hippuratus* ВКМ Ac-1352 и Ac-1353 [3]:



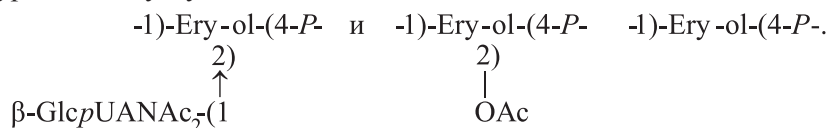
а в ТК *Listeria monocytogenes* 1/2а, 1/2в, 1/2с рибитфосфатные мономеры одновременно содержали два гликозильных заместителя: остатки N-ацетилглюкозамина по С-2(4) и рамноз-димеры по С-4(2) [27]:



Подобный тип замещения до сих пор не обнаружен в ТК других бактерий.

I-P 3,5. Поли(рибитфосфатные) ТК. Фосфодиэфирная связь объединяет ОН-группы при С-3 и С-5 рибита: **-3)-Rib-ol-(5-P-**. Данный подтип ТК не содержит гликозильных заместителей и представлен единственной структурой, обнаруженной в клеточных стенках *Nocardiopsis alba* и *N. prasina* ВКМ Ас-1880^Т [15].

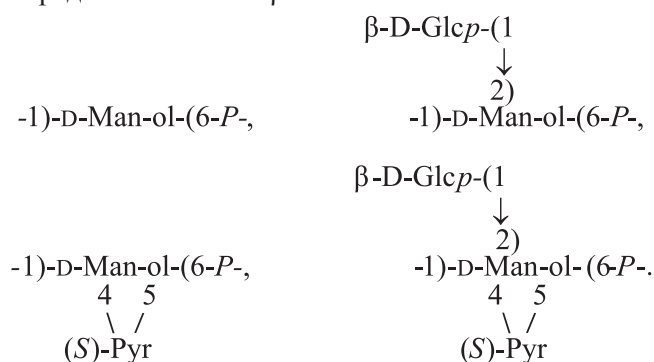
I-Э 1,4. Поли(эритритфосфатные) ТК. Фосфодиэфирная связь объединяет ОН-группы при С-1 и С-4 эритрита: **-1)-Ery-ol-(4-P-**. Впервые эритриттейхоевая кислота была обнаружена в клеточной стенке *Glycomyces tenuis* ВКМ Ас-1250^Т [3]. Полимер содержал остатки α -N-ацетилглюкозамина и уксусной кислоты. Почти одновременно эритриттейхоевые кислоты были описаны у двух штаммов *Brachybacterium* (*B. alimentarium* CNRZ 925 и *B. tyrofermentans* CNRZ 926), содержащих необычный углеводный компонент – диаминоглюкуроновую кислоту [28]. Мономерные звенья ТК *B. alimentarium* CNRZ 925 свободны или связаны с остатками уроновой и уксусной кислот:



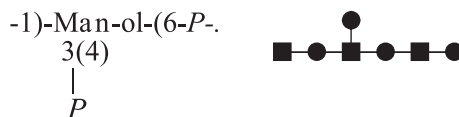
ТК *B. tyrofermentans* CNRZ 926 имеет более сложную структуру: в составе гликозильных заместителей идентифицированы N-ацетилглюкозамин и уроновая кислота. Осталось не выясненным, присутствуют ли эти остатки в форме моно- или дисахаридов. Локализация фосфодиэфирной связи в полимере точно не установлена. Вывод о 1,4-поли(эритритфосфатной) природе ТК был сделан на основании изучения фосфорных эфиров (продуктов химической деградации ТК) и не был подтвержден ЯМР-спектроскопическими методами.

I-M 1,6. Поли(маннитфосфатные) ТК. Фосфодиэфирная связь объединяет ОН-группы при С-1 и С-6 маннита: **-1)-Man-ol-(6-P-**. Ранее маннит как компонент ТК был обнаружен в клеточных стенках многих штаммов бревибактерий [29, 30], но структура первой

маннитсодержащей ТК была установлена для *Brevibacterium iodinum* NCTC 9742 [31]. В ее составе идентифицированы четыре типа мономерных звеньев [31, 32], несущих 4,5-кетально связанные остатки пировиноградной кислоты и β -глюкозы по С-2 маннита.



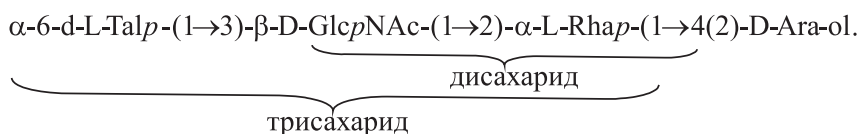
В дальнейшем были описаны структуры аналогичных полимеров с α -L-рамнозой и пировиноградной кислотой в цепи [33], а также уникальная ТК с боковыми монофосфатными остатками по С-2(4) маннита [34]:



I-M 4.6. Поли(маннитфосфатные) ТК. Фосфодиэфирная связь объединяет ОН-группы при С-4 и С-6 маннита. Данный подтип обнаружен только в клеточной стенке *Bifidobacterium bifidum* ssp. *pennsylvanicum* [35]: **-4)-Man-ol-(6-P-**. Выводы о типе фосфодиэфирной связи были сделаны на основании результатов периодатного окисления и не подтверждены методами ЯМР. Авторы предполагают, что маннитфосфат образует олигомер, состоящий примерно из 4 мономерных единиц, который выполняет функции тейхоевых кислот. Кроме того, олигомеры не экстрагировались ТХУ – обычным методом экстракции ТК, связанных фосфодиэфирными связями с пептидогликаном (см. далее). Напротив, они присоединялись фосфодиэфирными связями к полисахариду, присутствующему в клеточной стенке бифидобактерии. На сегодняшний день это пока единственное сообщение о существовании подобного подтипа полиолфосфатных соединений.

I-A. Арабитейхоевые кислоты (или олигомеры) были найдены в единственном организме – *Agromyces cerinus* ssp. *cerinus* ВКМ Ас-1340^T. Поскольку полимер не экстрагировался ни одним из приня-

тых методов экстракции, о его составе судили по продуктам деградации клеточной стенки: фосфорным эфирам арабита и гликозидам. Было выделено два гликозида, с ди- и трисахаридными остатками по С-2(4) арабита:



L-Талоза, идентифицированная в составе трисахарида, была обнаружена в ТК впервые. Локализацию фосфодиэфирной связи в полимере (если это полимер) установить не удалось, хотя присутствие дифосфата арабита в продуктах его кислотной деградации свидетельствовало в пользу поли(арабитфосфатной) природы ТК [36].

I-6MeГ. Новый тип полиола – 6-*O*-метилгалактит был обнаружен в составе ТК *Erysipelothrix rhusiopathiae* NCTC 8163^T. Обсуждается связь 6-*O*-метилгалактита с N-ацетилгалактозамином. Авторы констатируют существование необычного полиола на основании химических методов исследования углеводсодержащих фракций, выделенных из клеточной стенки, однако более точных доказательств структуры не приводится [37].

Таким образом, ТК поли(полиолфосфатной) природы демонстрируют большое разнообразие полиолов, гликозильных заместителей и остатков органических и неорганических кислот. Фосфодиэфирные связи объединяют соседние полиольные остатки в цепочки линейной структуры. ТК могут быть незамещенными, хотя чаще встречаются полимеры, несущие остатки различных моносахаридов – β -Glc, α -GlcNAc и α -GalNAc. В качестве *O*-ацильных групп обнаружены остатки уксусной, янтарной, молочной кислот, D-Ala, L-Glu и L-Lys, а также кеталь пировиноградной кислоты. Доминирующими полимерами являются глицерин- и рибит-ТК. Эритрит-, арабит-, маннит- и 6-*O*-метилгалактитсодержащие полимеры найдены в единичных случаях и структуры многих из них до конца не расшифрованы.

ТЕЙХОЕВЫЕ КИСЛОТЫ II ТИПА. ПОЛИ(ГЛИКОЗИЛПОЛИОЛФОСФАТЫ)

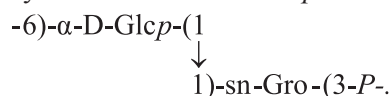
ТК II типа – это поли(гликозилполиолфосфаты). В образовании фосфодиэфирной связи принимают участие как полиольные (пока найдены только глицерин и рибит), так и сахарные остатки. Последнее, таким образом, входит в состав интегральной цепи полимера (см. рис. 1). Фосфодиэфирная связь всегда локализуется по С-3 глицерина или С-5 рибита, как следует из путей биосинтеза глицерин- и

рибит-ТК, соответственно [19]. Положение же фосфодиэфирной связи на сахарном остатке может варьировать и осуществляться по С-3, С-4 и С-6, в зависимости от этого различают 3 подтипа ТК. Гликозидная связь в полимере обычно объединяет гликозидный гидроксил сахарного и С-1 полиольного остатков, однако в ряде случаев может осуществляться по С-2 глицерина или С-2,4 рибита.

Впервые ТК такой природы были обнаружены в капсулах и клеточных стенках пневмококков [19], а затем у многих других бактерий, включая актиномицеты.

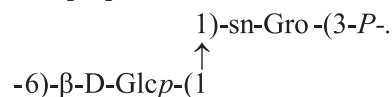
II-ГС 3,6. Поли(гликозилглицерофосфаты). Фосфодиэфирная связь объединяет С-3 глицеринового и С-6 сахарного остатков.

Первая ТК данного подтипа, содержащая в интегральной цепи α -глюкозу, найдена у *Bacillus stearothermophilus* B65 [38]:



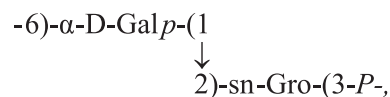
Впоследствии ее структура была подтверждена ЯМР-спектроскопическим исследованием [5]. С этого момента методы ЯМР-спектроскопии прочно вошли в практику изучения структур ТК.

Аналогичная по строению ТК, но с β -глюкозой, была первой гликозилглицерин-ТК, обнаруженной у актиномицета *Streptomyces kanamyceticus* RIA 690 [23]:



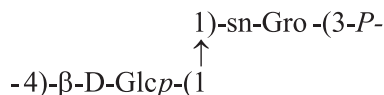
В дальнейшем были описаны различные вариации полимеров, в состав которых входили β -Gal и различные олигосахариды как линейной, так и разветвленной структуры [3, 39, 40].

Большую группу составляют ТК с локализацией гликозидной связи по С-2 глицерина. Впервые подобные полимеры были найдены у бацилл [41]:

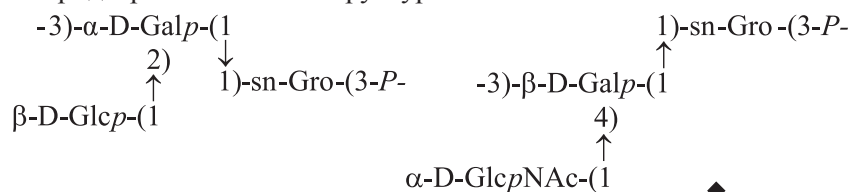


а затем и у актиномицетов [3, 26, 42, 43].

II-ГС 3,4. Фосфодиэфирная связь осуществляется по С-3 глицерина и С-4 сахарного остатка. ТК этого подтипа представлены единственной структурой с β -Glc в интегральной цепи. Они обнаружены в клеточных стенках *Streptomyces flavotricini* ВКМ Ac-1277^T [3] и *S. virginiae* ВКМ Ac-1218^T [44]:



II-ГС 3,3. Фосфодиэфирная связь осуществляется по С-3 глицерина и С-3 сахарного остатка, который в ТК этого подтипа представлен α - и β -галактозой. Однако структуры полимеров отличаются различными боковыми ответвлениями (β -Glc, β -Gal, β -Mad и α -GlcNAc), локализованными на галактозильных остатках интегральной цепи по С-2, С-4 или С-6, так что мономерное звено ТК составляют ди- и трисахариды разветвленной структуры.



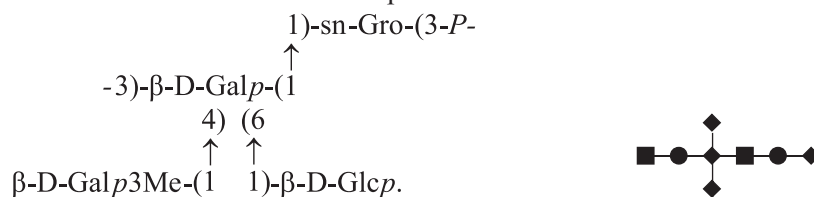
А

Б

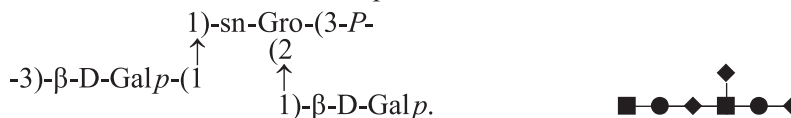
А – ТК *Bacillus licheniformis* [45] и Б – ТК *Brevibacterium linens* ВКМ Ас-2119 и GK-3 [46].

Обнаружены полимеры (с β -галактозой), у которых боковые глюкозильные [47] и аминсахарные остатки несли кеталь пировиноградной кислоты [46].

Наиболее сложная по набору различных мономерных звеньев (5!) и их составу ТК описана для *Actinomadura viridis* (ВКМ Ас-1315^Т и Ас-631) [48]. Углеводный компонент одного из мономеров представлен трисахаридом, содержащим β -мадуразу по С-4 и β -глюкозу по С-6 галактозильного остатка ко́ра ТК:



Новой структурной особенностью ТК *A. viridis* является наличие мономеров, содержащих одновременно два галактопиранозильных остатка на одном остатке глицерина, по С-1 и С-2:

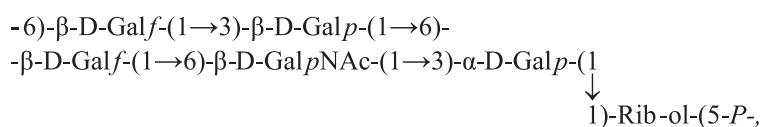


Этот минорный структурный фрагмент мог быть терминальным звеном вышеупомянутой ТК, но нельзя исключать и возможности существования нового типа тейхоевых кислот с подобным мономером в качестве компонента повторяющейся единицы цепи.

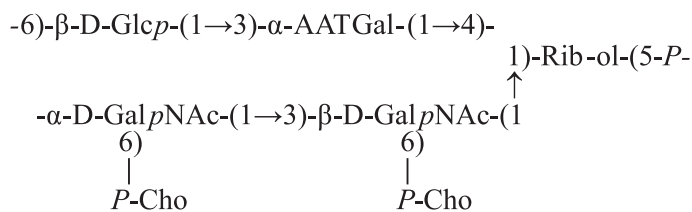
При анализе известных структур ТК актиномицетов II-ГС типа можно заметить, что подгруппа II-ГС 3,3 образована полимерами, в которых часто встречаются дисахаридные единицы, причем интегральную цепь полимера формирует только один моносахаридный остаток, а второй образует его боковое ответвление. Является ли этот факт характерной особенностью именно этого подтипа ТК – покажут дальнейшие исследования.

II-РС 5,6. Поли(гликозилрибитфосфатные) ТК. Фосфодиэфирная связь объединяет С-5 рибитного и С-6 сахарного остатков.

К настоящему времени изучена структура двух ТК, выделенных из клеточных стенок стрептококков. В интегральную цепь полимера *S. oralis* C104 входит пентасахарид линейной структуры, связанный через гликозидный гидроксил первого моносахарного остатка с С-1 рибита [3]:



а в состав тейхоевой кислоты *S. pneumoniae* R6 – тетрасахарид, несущий фосфорилхолиновые остатки [3, 49]:



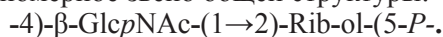
(AATGal – 2-ацетамидо-4-амино-2,4,6-тридеокси-D-Gal).

Аналогичный полимер, но содержащий вместо холина остатки этаноламина, обнаружен в клеточной стенке другого стрептококка – *S. mitis* SK598 биовар 1 – и может рассматриваться как новый вариант структуры ТК *S. pneumoniae* [50].

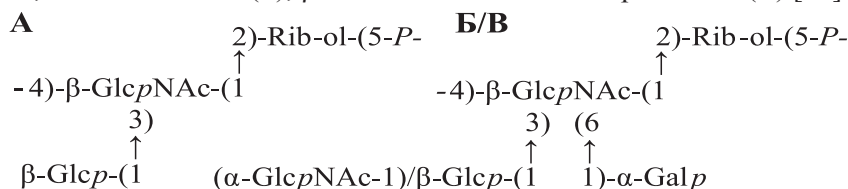
II-PC 5,3. Фосфодиэфирная связь объединяет С-5 рибитного и С-3 сахарного остатков. Полимеры этого подтипа представлены уникальной структурой ТК, обнаруженной в клеточной стенке *Agromyces cerinus* subs. *nitratus* ВКМ Ас-1351 [3]. В интегральную цепь полимера включена рибоза в фуранозной форме. Это первый случай обнаружения пентоз в составе ТК.

При анализе гликозилрибит-ТК нельзя не обратить внимания на включение в основную цепь ТК моносахаридов в фуранозной форме. К сожалению, пока трудно сказать, насколько этот факт характерен для ТК только этого подтипа. Во всяком случае, при изучении большого числа структур ТК других типов, моносахариды в фуранозной форме найдены только в глицерин-ТК *Nocardioides albus* ВКМ Ас-805^Т [47].

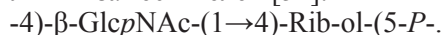
II-PC 5,4. Фосфодиэфирная связь объединяет С-5 рибитного и С-4 сахарного остатков. Все ТК этого подтипа были обнаружены в клеточных стенках нескольких серотипов *Listeria monocytogenes* [27] и содержали мономерное звено общей структуры:



ТК листерий отличаются от всех других полимеров, принадлежащих к поли(гликозилрибитфосфатам) тем, что гликозидная связь в интегральной цепи полимера осуществляется не по С-1 рибита, а по С-2. Кроме того, кор полимера имеет один или два боковых гликозильных заместителя, локализованных на остатке аминосахара: $\beta\text{-Glc}$ по С-3 в ТК серотипа 4d (А); $\beta\text{-Glc}$ и $\alpha\text{-Gal}$ по С-3 и С-6 в ТК серотипа 4в, соответственно (Б); $\beta\text{-GlcNAc}$ и $\alpha\text{-Gal}$ в ТК серотипа 4f (В) [27]:



В *L. monocytogenes* серотипа 6 была установлена структура ТК, также принадлежащая к рассматриваемой группе полимеров, однако остаток N-ацетилглюкозамина локализовался по С-4 рибита и не имел боковых гликозильных заместителей [51]:

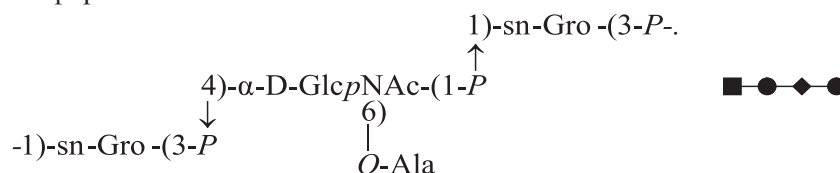


ТЕЙХОВЫЕ КИСЛОТЫ III ТИПА

ТК III типа относятся к смешанным полимерам и содержат элементы полиолфосфатов (I тип) и сахар-1-фосфатов:



Впервые ТК этого типа была обнаружена в клеточной стенке *Staphylococcus lactis* 13 [19]. Интегральная цепь полимера состояла из чередующихся звеньев глицерофосфата и N-ацетилглюкозаминил-1-фосфата. Фосфодиэфирная связь осуществлялась по С-3 глицерина и С-4 аминасахара. Каждый остаток аминасахара нес O-эфирносвязанный D-Ala:



Позднее принципиально схожие по структуре полимеры были найдены в клеточных стенках ряда других стафилококков – *S. hyicus subsp. hyicus* NCTC 10350 и *S. sciuri* DSM 20352. Они также содержали повторяющиеся последовательности – Gro-P-GlcNAc-P-, однако сахарный компонент присутствовал и как мономер, и как олигомер (от 1 до 3 остатков). Кроме того, остатки глицерофосфата были частично замещены по С-2 остатками N-ацетилглюкозамина [52].

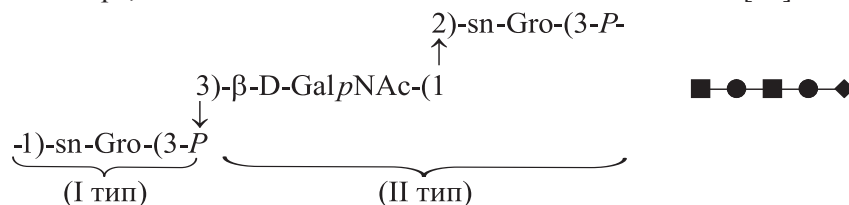
ТЕЙХОЕВЫЕ КИСЛОТЫ IV ТИПА

IV тип относится к смешанным полимерам, т. к. содержит элементы структур I и II типа:



ТК смешанной структуры были обнаружены только в клеточных стенках представителей рода *Nocardiosis* – *N. dassonvillei* subs. *dassonvillei* (18 штаммов) и двух штаммах *N. dassonvillei* subs. *albirubida* [15]. Полимеры содержали чередующиеся остатки глицерофосфата и остатки N-ацетилгалактозаминилглицерофосфата. Гликозидная связь в коре полимера осуществляется по С-2 глицерина, а фосфодиэфирная – по С-3 (подтип 3,3) или С-4 (подтип 3,4) сахарных остатков.

Структуру ТК IV типа можно продемонстрировать на примере полимера, выделенного из *N. dassonvillei* subs. *dassonvillei* [15]:



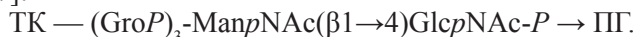
Таким образом, ТК II, III и IV типов объединяет одно общее свойство – они содержат в интегральной цепи углеводный компонент, участвующий в образовании фосфодиэфирной связи. В клеточных стенках бактерий наиболее распространены тейхоевые кислоты поли(гликозилполиолфосфатной) природы. Они чрезвычайно разнообразны и объединяют полимеры, относящиеся к шести подтипам. В интегральную цепь входят, в основном, галакто- и глюкопиранозильные остатки в β - и α -конфигурации, часто в форме дисахарида линейной или разветвленной структуры. В составе ТК II типа обнаружены остатки маннозы, рибофуранозы и галактофуранозы, не встречающиеся в поли(полиолфосфатах), в единичных случаях – остатки D-Ala, фосфорилхолина и органических кислот.

ОБЛАСТЬ СВЯЗИ ТЕЙХОЕВОЙ КИСЛОТЫ И ПЕПТИДОГЛИКАНА

Вопрос о природе связи ТК с пептидогликаном (ПГ) был поднят еще в 1963 г. Уже тогда предполагалось, что эта связь – ковалентная [53], на что указывала низкая скорость экстракции ТК из клеточной стенки с использованием ТХУ или щелочи. Изучение продуктов ферментативной деградации ПГ позволило заключить, что ТК, вероятно, присоединяется к ПГ в форме фосфодиэфира через терминальную фосфатную группу [53] к C-6 остатка муравьинской кислоты [54, 55]. Фосфодиэфирную связь первоначально рассматривали как единственное связующее звено, однако позднее выяснилось, что ТК присоединяется к ПГ через так называемый «связующий олигомер», обязательным компонентом которого является глицерофосфат [54].

Впервые структура связующего олигомера была расшифрована у *Staphylococcus aureus* H, *Bacillus subtilis* W 23 и *B. subtilis* NCIB 3610, содержащих в клеточной стенке рибит-ТК. Олигомер состоял из трех остатков глицерофосфата и одного остатка N-ацетилглюкозамина [54].

Структура связующего олигомера в клеточной стенке *S. aureus* H была затем уточнена японскими учеными, которые показали, что N-ацетилглюкозамин присутствует в олигомере в составе гексозсодержащего дисахарида, вторым элементом которого является N-ацетилманнозамин: ManpNAc(β 1 $\rightarrow$ 4)GlcNAc. Таким образом, была установлена полная структура связующего олигомера *S. aureus* H [56, 57]:



Сходные по составу связующие олигомеры обнаружены и в ТК других бактерий. Общим для всех элементов является гексозсодержащий дисахарид, структура которого достаточно стабильна, и лишь в нескольких случаях наблюдаются его незначительные вариации (табл.).

У одних бактерий «область связи» представлена только дисахаридом, у других – дисахаридом, к нередуцирующему концу которого присоединены остатки глицерофосфата, количество которых у разных видов бактерий варьирует от одного до трех (табл.).

Связующий олигомер новой структуры был обнаружен у *Listeria monocytogenes* EGD – его глицерофосфатная часть содержит два остатка глюкозы (табл.) [58].

В составе клеточных стенок стрептомицетов связующее звено изучено только у *S. chrysomallus* ВКМ Ас-628, имеющего рибит-ТК. Олигомер уникален, т.к. наряду с глицерофосфатом содержит тетрасахарид, включающий N-ацетилированные глюкоз-, фукоз-, хиновоз- и галактозамины [3].

Таким образом, присоединение ТК к ПГ у разных групп бактерий осуществляется посредством ковалентной связи через связующий олигомер, близкий по структуре к олигомеру *B. subtilis* W23: (GroP)₂-ManpNAc(β1→4)GlcPNAc-(1-P-. Видоспецифичные вариации известных структур олигомеров касаются наличия или количества остатков глицерофосфата, замещения N-ацетилглюкозамина – глюкозамином или N-ацетилманнозамина – глюкозой.

III. БИОСИНТЕЗ ТЕЙХОЕВЫХ КИСЛОТ

Современные представления о биосинтезе ТК будут рассмотрены на примере *B. subtilis* 168, поскольку принцип сборки глюкозилированного 1,3-поли(глицерофосфата) (рис. 2) является общим для ряда бактерий и включает 4 основных этапа: 1) Синтез связующего олигомера на полипренольном носителе. 2) Полимеризация поли(полиолфосфтной) цепи на липидном предшественнике. 3) Гликозилирование цепи ТК. 4) Переброска синтезированной ТК и связующего олигомера с липидного интермедиата на пептидогликан [63].

Гены биосинтеза ТК. В биосинтезе ТК могут принимать участие около 10 генов, что подтверждает важность этих полимеров для клетки. Так, у *B. subtilis* 168 были выделены и охарактеризованы 8 генов – (*tagABDFEGHO*), кодирующих ферменты, участвующие в сборке α-глюкозилированного 1,3-поли(глицерофосфата) [64]. Гены организованы в два дивергентно транскрибируемых оперона (дивергона) – *tagAB* и *tagDEF* [65, 66] и два независимых оперона: одногенный *tagO* и оперон, содержащий два гена *tag GH* [67, 68]. Регуляторные элементы дивергонов, два σ^A-контролируемые промотора, дополнительно модулируются сигналами, спаренными с клеточным делением, с фазой клеточного роста и содержанием фосфатов в среде

Таблица
Структуры области связи между тейхоевой кислотой и пептидогликаном

Название организма	Тип тейхоевой кислоты	Структура области связи	Литература
<i>Staphylococcus aureus</i>	Н	(GroP) ₃ – ManpNAc(β 1→4)GlcPNAc	56, 59
209p	1,5-поли(рибитфосфат)	(GroP) ₃ – ManpNAc(β 1→4)GlcPNAc	
D Gale	- " - " - "	- " - " - " - "	
Copenhagen	- " - " - " - "	- " - " - " - "	
<i>Bacillus subtilis</i>	W23	(GroP) ₂ – ManpNAc(β 1→4)GlcPNAc	56
AHU 1390	1,5-поли(рибитфосфат)	- " - " - " - "	
<i>Lactobacillum plantarum</i>	AHU 1413	(GroP) – ManpNAc(β 1→4)GlcPNAc	61
<i>Listeria monocytogenes</i>	EGD	GlcP(β 1→3)GlcP-(β 1→1/3)-GroP-(3/4)-	58
	1,5-поли(рибитфосфат)	- ManpNAc(β 1→4)-GlcPNAc	
<i>Streptomyces chrysomallus</i>	BKM Ac-628	(GroP) ₃ – FucpNAc-QuipNAc-β-Galp-	3
	1,5-поли(рибитфосфат)	- GlcPNAc	
<i>Bacillus coagulans</i>	AHU 1366	(GroP) ₂ – GlcP(β 1→4)GlcPNAc	42, 62
AHU 1631	Поли(глицозилглицерофосфат)	GlcP(β 1→4)GlcPNAc	
AHU 1634	- " - " - " - "	- " - " - " - "	
AHU 1638	- " - " - " - "	- " - " - " - "	
<i>Bacillus licheniformis</i>	AHU 1371	ManpNAc(β 1→4)GlcPNAc	41
<i>Bacillus subtilis</i>	AHU 1035	ManpNAc(β 1→4)GlcPNAc	41
AHU 1037	Поли(глицозилглицерофосфат)	- " - " - " - "	
AHU 1392	- " - " - " - "	- " - " - " - "	
AHU 1235	- " - " - " - "	- " - " - " - "	
<i>Bacillus cereus</i>	AHU 1030	ManpNAc(β 1→4)GlcPNAc	5
<i>Bacillus pumilis</i>	AHU 1650	ManpNAc(β 1→4)GlcPNAc	60

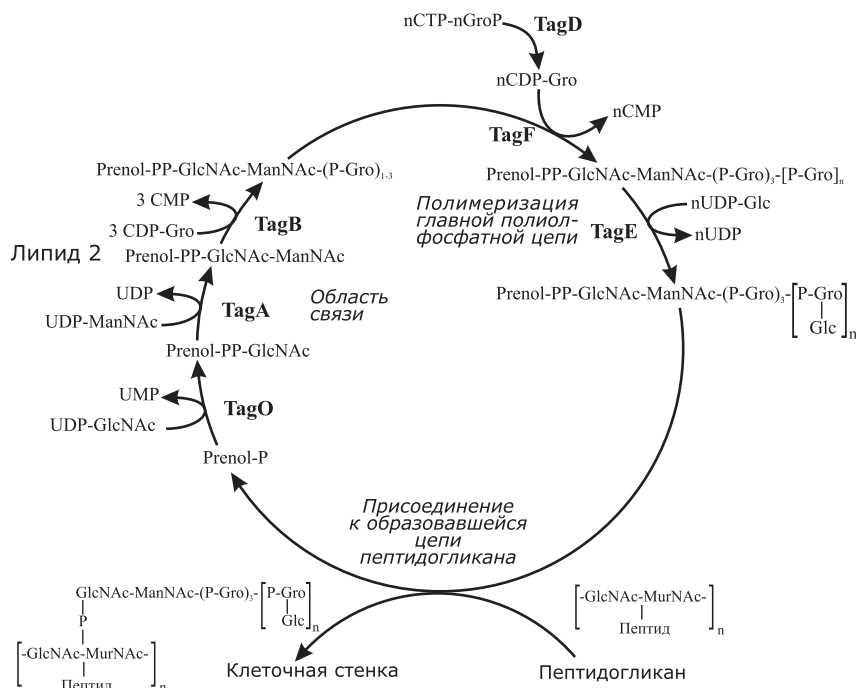


Рис. 2. Сборка гликозилированной поли(глицерофосфатной) тейхоевой кислоты *B. subtilis* 168.

TagO, TagA и TagB – ферменты синтеза связующего олигомера; TagE, TagF и TagD – ферменты синтеза ТК; prenoI-P – липидный носитель [63].

[63, 69]. Липидным носителем, на котором осуществляется весь процесс сборки, является ундекапrenoлфосфат [59, 70].

Перенос элементов поли(полиолфосфата) и связующего олигомера осуществляется с участием нуклеотидных предшественников, которые синтезируются в цитоплазме: UDP – для гликозильных и CDP – для полиольных единиц [19], причем остатки глицерина переносятся в форме sn-Gro-3-*P*-, а остатки рибита – в форме Rib-ol-5-*P*- [63, 70].

Синтез связующего олигомера осуществляется ферментами TagO, TagA и TagB путем последовательного переноса GlcNAc-1-*P* и ManNAc-1-*P* к полипrenoлфосфату с образованием липида 2 (рис. 2) [57, 59] и заканчивается добавлением к липидсвязанному дисахариду двух или трех глицерофосфатных звеньев [63].

Удлинение цепи ТК происходит в результате постепенного добавления мономеров от CDP-глицерина к конечному глицерофосфату,

дистальному по отношению к связующему олигомеру [7]. Действующие ферменты – полимеразы (поли(глицерофосфат)глицерофосфат трансферазы), кодируется *tagF* [71, 72], и глицерин-3-фосфатцитидинтрансфераза, продукт *tagD* [73] – участвуют в образовании CDP-глицерина.

Активность фермента TagD, катализирующего синтез CDP-глицерина и, таким образом, запускающего сборку поли(глицерофосфатной) цепи, регулируется концентрацией фосфата в среде роста. В условиях ограничения его концентрации происходит быстрая и необратимая инактивация фермента и включение синтеза тейхуроновых кислот [7].

Гликозилирование ТК, вероятно, сопутствует ее удлинению [7]. Глюкозилтрансфераза (TagE), продукт гена *tagE* [74], переносит глюкозильный остаток непосредственно от UDP-глюкозы к растущей полимерной цепи. В синтезе UDP-Glc, в свою очередь, задействованы два фермента: сначала фосфоглюкомутаза участвует в образовании глюкозы-1-фосфата [75], а затем UDP-глюкозилтирофосфорилаза [76] связывает ее с нуклеотидным предшественником.

Тейхоевые кислоты с сахарфосфатными мономерами в интегральной цепи синтезируются тем же путем, что и поли(полиолфосфаты), различия наблюдаются лишь в способе сборки мономерного звена. Для *B. licheniformis* ATCC 9945 было показано, что гликозилглицерофосфат первоначально собирается на отдельном липидном носителе и только после этого переносится к растущей полимерной цепи [7]. У *B. coagulans* мономерная единица формируется непосредственно на растущей цепи ТК путем чередующихся прямых переносов галактозы и глицерофосфата от нуклеотидных предшественников [7].

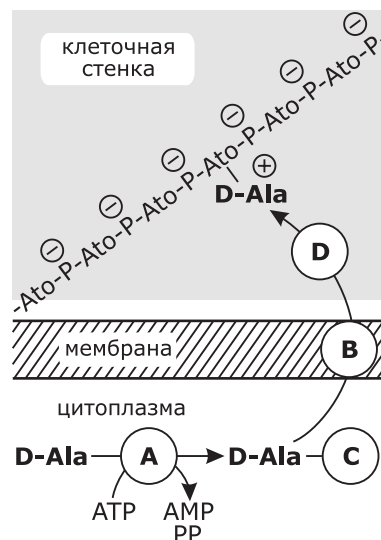
Присоединение ТК к ПГ происходит на внешней стороне мембраны. Полностью сформированная молекула ТК присоединяется к вновь синтезированному участку гликановой цепи, и только после этого весь блок переносится в клеточную стенку [7].

D-аланилирование ТК. Для ряда стафилококков и *B. subtilis* были исследованы гены *dltABCD*, кодирующие ферменты, осуществляющие D-аланилирование стеночной тейхоевой кислоты. На рис. 3 показана схема предполагаемого переноса остатков D-Ala к ТК, встроенной в клеточную стенку. Донором аминокислотных остатков выступает ЛТК [7].

Можно считать установленным, что ТК синтезируются мембранно-связанными ферментами, в результате совместного действия которых образуются CDP-глицерин и CDP-рибит. Затем полимеразы катализируют образование полимеров глицерин- и рибитфосфатов, а

Рис. 3. Схематическое изображение предполагаемого пути переноса остатков D-аланина к тейхоевой кислоте.

Ato – остатки полиола, P – фосфаты в ТК; DltA – D-Ala-D-Ala-лидаза (A), активирует D-Ala путем гидролиза АТФ с образованием пирофосфата и переносит его на D-Ala-специфический белковый носитель DltC (C). Гидрофобный белок DltB (B), вероятно, вовлекается в перенос активированного D-Ala через цитоплазматическую мембрану. Белок DltD (D), несущий предполагаемые N-терминальные сигнальные пептиды, по-видимому, катализирует перенос D-Ala от мембранного носителя и включение его в тейхоевую кислоту стенки [77].



моносахаридные остатки вводятся в полимер гликозилтрансферазами при наличии соответствующего UDP-моносахарида как донора субстрата. Одни и те же нуклеотидные предшественники переносят полиолфосфатные единицы (sn-Gro-3-P и Rib-ol-5-P) и гликозильные остатки (сахар-1-фосфаты) к месту сборки как связующего олигомера, так и тейхоевой кислоты. В клеточную стенку включается вновь синтезированный блок – «участок ПГ, ковалентно связанный с тейхоевой кислотой», после чего происходит этерификация ТК остатками D-Ala.

IV. ЛОКАЛИЗАЦИЯ ТЕЙХОЕВЫХ КИСЛОТ

Тейхоевые кислоты составляют значительную часть клеточной стенки грамположительных бактерий и их количество может достигать 60% от ее веса [15]. В связи с этим на протяжении многих лет решался вопрос о расположении данных полимеров в поверхностных слоях клетки.

Проблема локализации ТК имеет два аспекта. Основным аспектом затрагивается расположение цепей ТК в толще клеточной стенки. Второй же, скорее, связан с неравномерным распределением ТК в различных участках клеточной поверхности и в некоторой степени отражает проблему гетерогенности ТК.

Первые работы в этой области носили противоречивый характер. С одной стороны, иммунологические и рентгеноскопические исследования указывали на диффузное расположение цепей ТК [78], с другой – выявляли поверхностную локализацию полимеров, объясняющую их антигенные свойства и способность клетки к рецепции фагов [79].

При изучении стрептококков, стафилококков и бацилл ТК одновременно находили как на внутренней поверхности стенки, так и на внешней, расположенными перпендикулярно к ее поверхности [78–81].

Арчибальд [79, 82] нашел оригинальный подход к решению вопроса о локализации ТК. В экспериментах с *B. subtilis* W23, используя бактериофаг в качестве маркера, с помощью электронной микроскопии удалось проследить, что сначала фаги адсорбируются на внутренней поверхности стенки [83, 84], а затем в ходе последующего роста клетки – на ее внешней поверхности.

Этому открытию Арчибальда предшествовали работы с конкавалином А, меченным флуоресцином [80]. Этот растительный белок избирательно связывается с остатками α -D-Glc ТК и образует на поверхности клетки дискретные соли, видимые в электронный микроскоп [81]. Опыты с конкавалином А показали, что часть цепей ТК распределена внутри клеточной стенки, не образуя при этом каких-либо дискретных слоев, а часть – на поверхности.

Аналогичные данные были получены с помощью дифференциального окрашивания тейхоевых и тейхуроновых кислот. Мерад и др. [85] подтвердили, что при переходе культуры *B. subtilis* от фосфат-ограниченного к фосфат-насыщенному росту ТК равномерно распределялись по внутренней поверхности септальной области клетки (экваториальная область клетки, в которой формируется перегородка при делении). Включение вновь синтезированных молекул ТК в клеточную стенку начиналось на мембране одновременно с синтезом ПГ и происходило способом «изнутри–наружу» [7, 85–87], после чего ТК постепенно появлялась на полюсах клетки [88].

У ряда бактерий было показано, что цепи ТК и ЛТК, располагающиеся в толще клеточной стенки, перпендикулярно к поверхности, могут выходить за ее пределы, образуя так называемый «пушистый» слой [78, 80, 81, 89].

Модель клеточной стенки с внешним прилегающим к ней «пушистым» слоем (рис. 4), состоящим из «торчащих» тейхоевых и липотейхоевых кислот, представляется на современном этапе исследований наиболее вероятной. В то же время существует мнение,

что «пушистый» слой состоит из частично гидролизованного автолизинами пептидогликана [90].

Второй аспект проблемы локализации ТК связан с характером распределения полимеров по поверхности клеточной стенки. У *B. subtilis* W23 на полюсах клетки тейхоевых кислот было значительно меньше, чем в ее цилиндрической части. Это можно объяснить с позиции обновления клеточной стенки, связанного с участием автолитических ферментов, а, следовательно, и ТК [82] (см. функции ТК). При исследованиях мутантов *B. subtilis* 168 в латеральных и септальных областях клеточной стенки обнаружены ТК различной структуры [69]. Многочисленные данные свидетельствуют также о неравномерном распределении отрицательного заряда на поверхности клетки [82, 87, 88, 90, 91].

Таким образом, в различных участках клеточной поверхности находятся ТК, отличающиеся не только количественным содержанием, но и по составу [92]. Для бацилл и кокков показано, что ТК распределяются по всей толще клеточной стенки, притом отдельные части молекул выходят на поверхность клетки и образуют так называемый «пушистый слой».

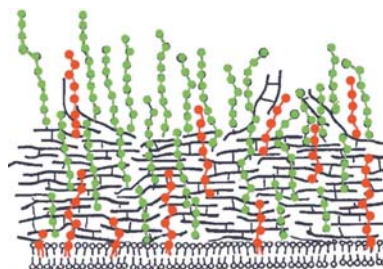


Рис. 4. Перпендикулярное расположение цепей ТК и ЛТК в клеточной стенке *Staphylococcus aureus* [63].

ПГ – обозначен черным, ТК – зеленым, ЛТК – красным.

V. СВОЙСТВА И ФУНКЦИИ ТЕЙХОЕВЫХ КИСЛОТ

По мнению проф. Бэддели, «главная функция анионных полимеров клеточной стенки, в том числе и ТК, есть функция, при которой структурные детали полимера менее важны, чем их общее свойство, а именно: наличие большого числа отрицательно заряженных центров» [19]. И действительно, клеточная стенка грамположительных бактерий, как правило, содержит один или несколько анионных полимеров, причем наиболее распространенными среди них являются тейхоевые кислоты. До сих пор не описаны мутанты, в стенках которых отсутствовали бы ТК [93]. В опытах с бациллами была продемонстрирована первостепенная роль отрицательно заряженных групп полимеров. Бактерии, выращенные на среде с ограничением по фосфору и содержащие вместо тейхоевых – тейхуроновых кис-

лоты (ТУК), нормально развивались и делились, в то время как мутанты, синтез ТУК которых был блокирован, имели нарушения в морфогенезе или погибали [94–97].

Широкое распространение и огромное разнообразие ТК в клеточных стенках грамположительных бактерий, несомненно, указывают на важность этих природных соединений в жизнедеятельности клетки [3, 93, 94, 98]. Даже при неблагоприятных условиях культивирования, когда синтезируются только жизненно необходимые соединения, синтез ТК протекает в полном объеме.

Стеночные анионные полимеры выполняют ряд функций. Их способность связывать катионы может защищать клетку от воздействия токсических металлов и обеспечивать запасание необходимых бивалентных катионов, таких как магний [99, 100]. Показано также взаимодействие между главным автолизинном N-ацетил-L-аланин-амидазой и ТК у некоторых бактерий [101], приводящее к активированию фермента. ТК, ковалентно связанные с ПГ, образуют электролитный гель, формирующий общий заряд клеточной поверхности и обеспечивающий прохождение многих процессов и биохимических реакций в клеточной стенке [7]. ТК обладают иммунологическими и адгезивными свойствами, участвуют в рецепции бактериофагов. Показана также их роль в микробной коагрегации и определении патогенных свойств некоторых микроорганизмов. Описаны и некоторые другие, малоизученные свойства ТК: связывание гидрофильных молекул в гидрофобных зонах клетки и структурные функции, такие как связывание с белками S-слоя [102, 103].

УЧАСТИЕ ТЕЙХОВЫХ КИСЛОТ В КАТИОННОМ ОБМЕНЕ

Как известно, полимеры, содержащие фосфатные группы, в силу своего анионного характера могут связывать катионы металлов. Это свойство обнаружено также у ТК, причем показано, что двухвалентные катионы связываются предпочтительнее одновалентных [19, 104]. По всей вероятности, ТК принадлежит важная роль в сохранении нормального баланса бивалентных катионов и особенно Mg^{2+} в районе цитоплазматической мембраны [19, 100, 104–107]. Возможно, это и является главной функцией ТК [99].

Хьюгес с соавт. [100] показали, что в экстрактах клеток из *Bacillus licheniformis* Mg^{2+} -зависимые ферменты предпочтительнее используют ионы, связанные с ТК. Вероятно, в интактных клетках стеночные и мембранные ТК образуют взаимодействующую систему запасаания катионов для мембраны [108], в которой двухвалентные

катионы переносятся напрямую, без промежуточного растворения во внутриклеточной жидкости. Подобный механизм прямого переноса энергетически более выгоден для клетки, чем взаимодействие ферментов с полностью гидратированными ионами [106].

Количество связанного магния может непосредственно зависеть от количества ТК в клеточной стенке [99]. В свою очередь, имеются данные о том, что клетка способна регулировать содержание ТК в зависимости от уровня ионов Mg^{2+} в культуральной среде. Так, например, в условиях его ограничения *B. subtilis* активно синтезирует ТК [19], что приводит к увеличению потенциальных участков связывания катионов.

Взаимодействие бивалентных катионов с фосфатными группами происходит в два этапа. Первый – образование ионной пары, второй – потеря одной или более молекул воды из первичной гидратированной оболочки катиона с образованием комплекса [100].

В ранних исследованиях ТК *Lactobacillus plantarum* ATCC 10241 и *Bacillus licheniformis* ATCC 9945 с использованием рентгенофото-электронной спектроскопии было установлено, что существует два различных механизма связывания ионов Mg^{2+} [109], отражающих природу ионного взаимодействия катиона и фосфатных групп тейхоевой кислоты (рис. 5, 6).

Первый способ связывания

При изучении связывающей способности глицерин-ТК *Lactobacillus buchneri* NCIB 8007 было показано, что отношение Mg/P составляет 0,4:1 [110]. Арчибальд с соавт. [111] предположили, что слабое замещение остатками D-Ala (0,21 Ala/P) в ТК препятствует взаимодействию катионов и фосфатных групп, т.к. аминокислота аланина способна нейтрализовать отрицательный заряд остатка фосфорной кислоты в цепи. Именно поэтому соотношение связанного магния и фосфора составляло 0,4:1, а не 0,5:1, как показывают теоретические расчеты. Кроме того, соотношение всех компонентов тейхоевой кислоты – (0,42 Mg^{2+} :1,0 P:0,2 Ala) – свидетельствует о присоединении одного иона магния к двум соседним фосфатным группам.

Таким образом, первый способ связывания отражает бивалентное взаимодействие Mg^{2+} с двумя соседними фосфатными группами одной полимерной цепи. Прочность ионной связи характеризуется величиной константы связывания $K = 2,7 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ [110].

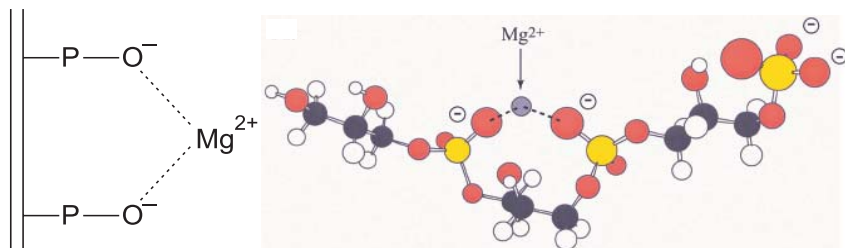


Рис. 5. Первый способ связывания Mg^{2+} и тейхоевой кислоты.

Один катион магния взаимодействует с двумя соседними фосфатными группами ТК. Р – атом фосфора, обозначен желтым; O^- – атом кислорода, обозначен красным [63, 109].

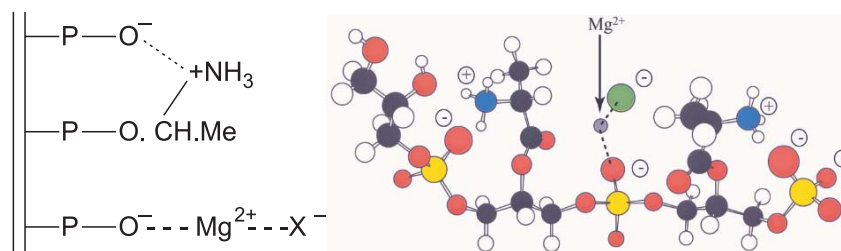


Рис. 6. Второй способ связывания Mg^{2+} и тейхоевой кислоты.

Один катион магния взаимодействует с одной фосфатной группой ТК. Р – атом фосфора, обозначен желтым; O^- – атом кислорода, обозначен красным; X^- – ион хлора или анионная группа адгезина, обозначен зеленым; NH_3^+ – аминогруппа D-аланина, обозначена синим [63, 109].

Второй способ связывания

При изучении связывания Mg^{2+} рибит-ТК *Staphylococcus aureus* Н [112] выяснилось, что константа связывания магния была значительно ниже, чем в случае глицерин-ТК. Это свидетельствовало о более слабых связях между катионами и рибиттейхоевой кислотой и, следовательно, предполагало существование другого механизма ионного взаимодействия. Соотношение Mg/P в рибит-ТК *B. subtilis* W23 [96] и *S. aureus* Н, лишенной остатков D-Ala, составляло 1 : 1, а в нативной ТК, содержащей 0,67 Ala/P (с учетом, что каждый остаток аланина нейтрализует соседнюю фосфатную группу), – 0,35 : 1. В обоих случаях соотношение показывало, что один Mg^{2+} присоединяется к одной фосфатной группе (рис. 6).

Если исходить из того же механизма связывания, что и в случае глицерин-ТК, то присоединение одного иона магния к двум соседним

фосфатным группам рибит-ТК должно сопровождаться значительным пространственным растяжением ионных связей вследствие большого расстояния между фосфатными группами. Изгиб цепи, способный сократить расстояние между анионными группами, представляется затрудненным из-за присутствия аминсахарных заместителей. Условия, при которых один Mg^{2+} присоединяется к одной фосфатной группе, не требовали пространственного растяжения полимера, поэтому логично было предположить именно такой механизм связывания, даже в отсутствие соседних остатков D-Ala [112]. Оставшаяся неиспользованной валентность катиона может быть реализована, например, связью с анионом хлора или с какими-то другими внешними анионами [109, 112].

Присоединение Mg^{2+} с использованием одной валентности характерно не только для рибит-ТК. Оно может иметь место и в глицерин-ТК, содержащих остатки D-Ala. Следует отметить, что при взаимодействии Mg^{2+} с D-Ala-содержащими глицерин-ТК создаются менее прочные связи между катионом и полимером. В случае потери ТК D-Ala обе валентности магния прочно связываются с фосфатными группами внутри полимера [109].

Таким образом, второй способ связывания отражает моновалентное взаимодействие Mg^{2+} с одной фосфатной группой ТК. Образовавшаяся ионная связь характеризуется меньшей прочностью и имеет меньшую по величине константу связывания $K=0,61 \times 10^3 M^{-1}$ [96].

Аналогичную схему коагрегации можно предположить и для связывания ТК с другими катионами, такими как Ca^{2+} и K^+ . Однако, вместо существующей связи с ионами Cl^- для катионов Ca^{2+} показано его взаимодействие с анионными центрами адгезина – поверхностного белка, участвующего в процессах адгезии (рис. 6, X – адгезин, обозначен зеленым) [109].

Как уже отмечалось, в большинстве случаев ТК предпочтительнее связываются с ионами Mg^{2+} , однако при повышенной концентрации Ca^{2+} он может конкурировать с Mg^{2+} за места связывания на ТК. Другие металлы, содержащиеся в среде, такие как K^+ и Na^+ , не оказывали влияния на процесс связывания ТК с магнием [110].

Связывание магния в клетке in vivo

Описанные выше способы взаимодействия катионов и ТК были изучены, в основном, на препаратах тейхоевых кислот. Вероятно, в нативной клеточной стенке связывание ТК с катионами происходит иначе. И действительно, определение константы ассоциации магния в клеточной стенке *S. aureus* H, содержащей рибит-ТК, показало, что она по величине близка к константе глицерин-ТК с бивалентным

связыванием магния. Следовательно, в образовании ионной связи с фосфатными группами ТК задействованы обе валентности магния, что возможно только в случае, когда Mg^{2+} соединяет анионные группы двух соседних цепей ТК, образуя между ними поперечный мостик [112]. Таким образом, в нативной клеточной стенке один ион Mg^{2+} способен связывать 2 фосфатные группы, как глицерин-ТК, так и рибит-ТК, но принадлежащие разным цепям. Показано также поперечное (по аналогии с пептидогликаном) связывание двух-валентными катионами цепей ТК и ЛТК или разных цепей ЛТК, т.к. они структурно схожи с ТК и локализованы в тех же районах клеточной стенки [109].

Подобным образом в клеточной стенке могут вести себя остатки D-Ala, образующие мостики с фосфатными группами соседних цепей ТК [112]. Это один из примеров сложного взаимодействия между двумя основными группами стеночных полимеров. Возможно, подобная связь существует между аминоклассами пептидной субъединицы ПГ и фосфатными группами ТК [63].

*Влияние остатков O-D-аланина на связывание ионов магния
тейхоевыми кислотами*

На способность тейхоевых кислот связывать ионы Mg^{2+} влияют остатки O-D-Ala, которые, по-видимому, регулируют присоединение катионов к ТК посредством прямой конкуренции за отрицательно заряженные фосфатные группы [110, 112]. Присутствие остатков D-Ala в ТК снижает связывающую способность полимера, хотя и не уменьшает константу связывания ТК и магния [95, 100, 110].

Для уточнения роли остатков O-D-Ala в процессах связывания катионов изучались ТК с различной степенью D-аланилирования [110–112]. Глицерин-ТК из *Lactobacillus luchneri* с низким содержанием D-Ala связывала 1 Mg^{2+} на каждые 2 фосфатные группы [112], т.е. незначительное количество остатков D-Ala не оказывало заметного влияния на количество присоединенного магния. Дальнейшие исследования в этой области показали, что в *Staphylococcus aureus* Н связывание магния с ТК коррелирует с соотношением Ala/P в обратной пропорциональной зависимости [111, 112].

Таким образом, в глицерин-ТК с высоким содержанием D-Ala в цепи катионы Mg^{2+} могут присоединяться только к одной фосфатной группе (второй способ связывания), т.к. соседние – могут быть нейтрализованы аминоклассами D-Ala.

Из вышесказанного следует, что остатки аланина конкурируют с катионами металлов за анионные центры полиолфосфатной цепи

и могут служить как бы регуляторным механизмом присоединения катионов к ТК.

Факторы, влияющие на содержание остатков O-D-аланина

На содержание O-эфирносвязанного D-Ala в ТК влияют условия культивирования. При низких значениях pH рост культуры *Staphylococcus aureus* Н приводил к увеличению содержания D-Ala и, следовательно, к уменьшению связывания Mg^{2+} . И, напротив, рост при 7,5 % NaCl приводил к 66% уменьшению содержания остатков D-Ala и более чем двукратному увеличению связывания магния [99].

Количество D-Ala зависит также от температуры. Повышение температуры при культивировании приводило к снижению количества остатков аминокислоты и соответствующему повышению связывающей способности ТК [112].

Ролью ТК как «ионных регуляторов» можно объяснить способность некоторых микроорганизмов переносить неблагоприятные условия и поддерживать свою жизнеспособность. В частности, при низких концентрациях Mg^{2+} в культуральной среде ТК *B. subtilis* теряют остатки D-Ala и тем самым увеличивают свою способность связывать катионы [113].

Кроме того, штаммы, имеющие значительное количество ТК, способны переносить высокие концентрации солей в окружающей среде [99]. Не исключено, что это связано с основной функцией ТК – запасанием ионов Mg^{2+} . В опытах *in vitro* повышение концентрации NaCl в среде роста приводило к сжатию клеточной стенки грамположительных бактерий [114] и изменению конфигурации ТК – от растянутой при низких концентрациях до сжатой в спираль при высоких [115]. С другой стороны, потеря клеткой O-эфирносвязанных остатков D-Ala увеличивает связывание Mg^{2+} клеточной стенкой [111] и позволяет клетке восстанавливать свою форму [114].

*Участие других полимеров клеточной стенки
в связывании катионов*

Помимо ТК способностью связывать катионы обладают и другие полимеры клеточной стенки [116]. Это в первую очередь относится к тейхуроновым кислотам [15, 101] и пептидогликану [117].

Все отрицательно заряженные группы в клеточной стенке включаются в прямое взаимодействие с катионами или участвуют в образовании комплексов с ионами металлов. При этом, по мнению Беверидж с соавт. [118], благодаря наличию механизмов тонкой регуляции ионы данного металла могут присоединяться только к

определенному участку клеточной стенки. Это позволяет клетке оптимально использовать необходимые для жизнедеятельности двухвалентные катионы в изменяющихся условиях окружающей среды.

In vivo двухвалентные катионы, связанные с ТК, могут, по-видимому, служить дополнительным стабилизирующим фактором, выполняя роль сшивок, посредством которых основные полимеры клеточной стенки, а также ЛТК, могут связываться в единый стабилизирующий и функциональный макрокомплекс.

Таким образом, изучены два способа коагрегации ТК и Mg^{2+} . При моновалентном связывании (для рибит-ТК и D-аланилированных глицерин-ТК) катион присоединяется к фосфатной группе с использованием только одной своей валентности, в то время как вторая валентность может оставаться свободной, связываться с клеточным адгезином, ионом хлора или фосфатной группой соседней цепи тейхоевой кислоты. При бивалентном связывании (характерном для деили слабоаланилированных глицерин-ТК) катион взаимодействует с двумя соседними фосфатными группами одной цепи полимера.

УЧАСТИЕ ТЕЙХОВЫХ КИСЛОТ В РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ АВТОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ

Большинство бактерий синтезируют группу ферментов, известных под названием автолизин. Помимо гидролиза пептидогликана собственной клеточной стенки [119] они участвуют в многочисленных процессах, включающих рост, обновление клеточной стенки, деление, отделение дочерних клеток, хемотаксис, секрецию протеинов, дифференциацию клеток. С ними также связывают степень патогенности, генетическую компетентность и устойчивость к бактериофагам [120–122].

Автолизины локализованы на внешней поверхности мембраны, однако в логарифмической фазе роста они связаны с клеточной стенкой. Автолизины являются универсальными ферментами бактерий, содержащих ПГ. По механизму действия автолизины делятся на три основные группы [120]:

1) Гликозидазы (N-ацетилмурамидазы) разрушают гликозидные связи в коре гликановой цепи: эндо-N-β-ацетилмурамидаза – между N-ацетилмурамовой кислотой и N-ацетилглюкозамином и эндо-N-β-ацетилглюкозамидаза – между N-ацетилглюкозамином и N-ацетилмурамовой кислотой;

2) N-Ацетилмурамил-L-аланинамидаза гидролизует связь между карбоксильной группой молочной кислоты и аминокислотой L-аланина;

3) Эндопептидазы нескольких типов разрушают пептидные связи в пептидных субъединицах (рис. 7).

Принцип связывания положительно заряженного фермента и несущего отрицательный заряд полимера лежит в основе взаимодействия автолизина и ТК, причем существенную роль в этом процессе играет плотность отрицательного заряда ТК [123].

Первые результаты в изучении регуляторной функции ТК были получены в опытах на пневмококках, а впоследствии – и на некоторых других бактериях. Участие ТК в регуляции активности автолизина подтверждено, в основном, в опытах с L-аланинамидазой – доминирующим ферментом автолитических процессов некоторых бацилл и кокков [120]. При этом выяснилось, что ТК являются активаторами, а ЛТК – ингибиторами фермента. Кроме того, были раскрыты некоторые механизмы связывания L-амидазы и ТК. Ниже эти вопросы будут рассмотрены более подробно.

*Роль тейхоевых кислот в регуляции активности
L-аланинамидазы у пневмококков*

Первые исследования, связанные с участием ТК в регуляции активности L-аланинамидазы, проводились на *Streptococcus pneumoniae*, клеточная стенка которого содержала рибит-ТК, несущую фосфорилхолиновые остатки. Такое же строение имела гидрофильная часть липотейхоевой кислоты [49]. ТК, содержащие холиновые остатки, являлись важным фактором поддержания нормальной морфологии и физиологии клетки [124]. Пневмококки, выращенные на среде, содержащей холин, включали его в состав тейхоевой кислоты и синтезировали клеточную стенку, чувствительную к автолизину. При выращивании же на среде с этаноламином (аналогом холина), который включался в состав ТК, автолитические процессы в клетке заметно изменялись. Терялась способность к лизису в стационарной фазе и генетической трансформации, ингибировалось отделение дочерних клеток, что вело к появлению длинных цепочек неразделившихся клеток. Эти данные свидетельствовали о взаимосвязи автолитических процессов со структурой ТК пневмококков и важной роли холиновых остатков в регуляции активности L-аланинамидазы. Аналогичные выводы были сделаны при анализе экспериментов, связанных с превращением этаноламина в холин при метилировании клеточной стенки в опытах *in vitro* [125] и *in vivo* [126] и при изучении мутантов, способных расти в отсутствие холина [127].

Связывание С-терминального конца L-аланинамидазы с холином ТК [128] также приводило к структурным и конформационным изменениям молекулы фермента – неактивная низкомолекулярная Е-форма переходила в активную высокомолекулярную С-форму [125, 129]. После

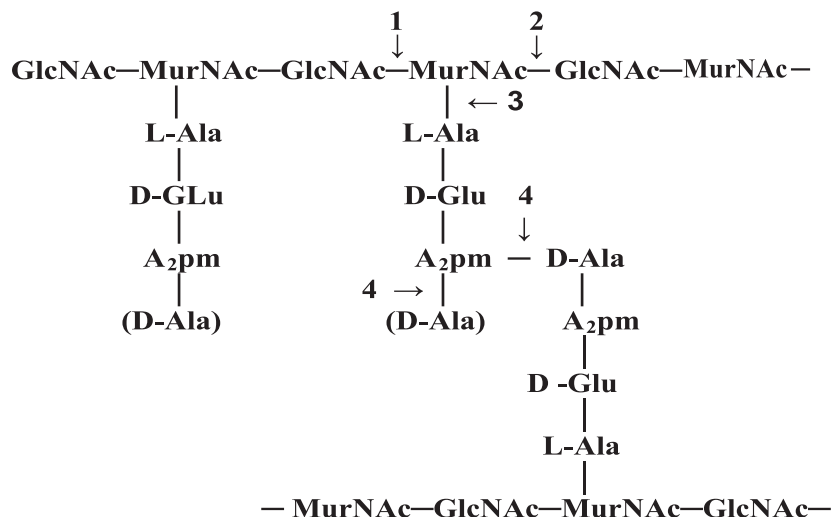


Рис. 7. Схема пептидогликана *B. subtilis*.

Стрелками показаны участки действия специфических автолизиннов: N-ацетилглюкозамидазы (1), N-ацетилмурамидазы (2), L-аланинамидазы (3), эндопептидаз (4) [7].

активации амидазы ее связь с ТК уже не являлась необходимой [130].

Регуляция работы автолитических ферментов на уровне мембраны осуществляется ЛТК и связана с ее ингибирующей функцией. Ведущая роль в процессе взаимодействия ЛТК с L-аланинамидазой также принадлежит холиновым остаткам, выполняющим роль специфических лигандов [125, 129, 131–133].

Клетка может осуществлять контроль за автолитическими процессами с помощью фосфорилхолинэстеразы, которая отщепляет фосфорилхолиновые остатки тейхоевой и липотейхоевой кислот [132, 134], создавая, таким образом, зоны, неблагоприятные для связывания фермента с ТК клеточной стенки или мембраны.

*Участие тейхоевых кислот в регуляции активности автолизиннов у *Bacillus subtilis**

Неоднократно отмечалось сродство литических ферментов к клеточной стенке *Bacillus subtilis* ATCC 6051, содержащей тейхоевые кислоты. Данные о роли ТК в этом процессе получены с помощью мутантов: изменения в структуре ТК сопровождались снижением чувствительности мутантных клеток к автолизинам [135].

Многочисленные исследования показали, что остатки D-Ala способны влиять на общий заряд ТК. При их удалении усиливался эндогенный лизис клеток и лизис под действием β -лактамных антибиотиков [63, 99, 111, 123]. Процесс автолизиса в мутантных клетках *B. subtilis* 168 с большей плотностью отрицательного заряда анионных полимеров также протекал активнее [136]. Из этого следовало, что в связывании ТК и автолизина *B. subtilis* основное значение, вероятно, принадлежит общему отрицательному заряду полимера, а роль предполагаемых «аллостерических» лигандов отводится всей молекуле ТК [101, 123].

С этой позиции можно интерпретировать результаты экспериментов со штаммами *B. subtilis*, выращенными при ограничении фосфора в среде роста. В этих условиях подавлялся синтез ТК и индуцировался синтез другого анионного полимера – тейхуроновой кислоты. Этот процесс мог идти и в противоположном направлении [94–96, 137]. Переход от ТК к ТУК не влиял на активность автолизина [97]. Вероятно, для нормального протекания автолитических процессов достаточно присутствия любого из двух анионных полимеров. В пользу этого предположения свидетельствуют также данные о влиянии силы протонного градиента на активность автолизина как в ТК-, так и в ТУК-содержащих клеточных стенках [97, 138].

Аналогичные наблюдения были получены при изучении ЛТК. Установлено, что ее ингибиторная активность у *B. subtilis* [139] и *S. aureus* была обратно пропорциональна числу остатков D-Ala на поли(рибитфосфатной) цепи [139, 140]. В связи с этим Фишер с соавт. [140] предложили рассматривать ЛТК с высокой степенью замещения D-аланильными остатками и свободную от них как неактивную и активную формы мембранного полимера, соответственно. С другой стороны, существуют данные, подвергающие сомнению факт влияния остатков D-Ala на ингибиторную функцию ЛТК [140].

Одним из факторов контроля автолитической активности может являться белок-модификатор с более низкой молекулярной массой. Связываясь с амидазой, этот белок значительно повышал ее активность в опытах *in vitro* [101, 141]. Аналогичные механизмы регуляции были обнаружены у пневмококков (см. выше) и некоторых других организмов [142].

(Исчерпывающие сведения об автолизинах *B. subtilis* можно получить в обзоре [141]).

Таким образом, изучены два механизма регуляции активности автолитических ферментов у микроорганизмов с участием тейхоевых и липотейхоевых кислот. Активация фермента происходит

после его взаимодействия с ТК клеточной стенки и изменения его конформационных свойств. В *Streptococcus pneumoniae* роль специфических лиганд на ТК выполняют остатки холина, а при взаимодействии ТК и автолизина *B. subtilis* важен общий отрицательный заряд полимера, и роль «аллостерических» лигандов отводится всей молекуле тейхоевой кислоты. Связывание автолизина с ЛТК приводит к ингибированию их активности.

УЧАСТИЕ ТЕЙХОЕВЫХ КИСЛОТ В СОЗДАНИИ И РЕГУЛЯЦИИ ПЛОТНОСТИ ОТРИЦАТЕЛЬНОГО ЗАРЯДА КЛЕТОЧНОЙ ПОВЕРХНОСТИ

Поверхностный заряд микроорганизмов

Известно, что и грамположительные, и грамотрицательные бактерии несут на своей поверхности отрицательный заряд, плотность которого выше, чем в окружающей среде. Плотность заряда варьирует от организма к организму и зависит от pH и ионного состава окружающей среды.

Это свойство бактерий используют экспериментаторы для измерения общего электрического заряда поверхности микроорганизмов или изменения поверхностных свойств клеток при взаимодействии их с вирусами, белками и антибиотиками [143].

Отрицательный заряд клеточной поверхности обуславливается анионными полимерами клеточных стенок. Это, в первую очередь, относится к ПГ – макрополимеру, общему для обеих групп микроорганизмов. Отрицательный заряд ПГ формируют карбоксильные группы γ -глутаминовой и мезо-диаминопимелиновой кислот, а также терминальные остатки D-Ala пептидных субъединиц. Значительный вклад в формирование структуры полиэлектролитного геля клеточной стенки вносят ТК и ЛТК, а также другие анионные соединения, такие как тейхуроновые кислоты и сахар-1-фосфатные полимеры. Отталкивание сходных зарядов поддерживает ПГ в растянутом состоянии, и нейтрализация этого заряда вызывает снижение общего заряда клеточной стенки и сопутствующее этому уменьшение ее пористости [7].

Сонненфелд с соавт. [87], используя положительно заряженный ферритин (ФР) для определения анионных групп на поверхности клетки, показали:

- а) отрицательный заряд клеточной стенки обеспечивается как фосфатными группами ТК, так и карбоксильными ПГ;
- б) карбоксильные группы ориентированы по направлению к внешней поверхности клеточной стенки;

в) отрицательный заряд в толще клеточной стенки распределяется асимметрично, благодаря ориентации ТК и пептидных субъединиц пептидогликана в направлении к ее внешней поверхности, поверх плоскости гликанового слоя.

Исследования ряда авторов показали, что помимо асимметрии отрицательный заряд характеризуется различной плотностью в разных участках клеточной поверхности [82, 88, 90, 92]. Это подтверждают и результаты опытов Сонненфелда с соавт. [91], обнаруживших, что меченный ФР имел большее сродство к полюсам клетки *B. subtilis*. Авторы склонны объяснять этот факт либо неравномерным распределением полимеров в различных частях палочковидной клетки, либо конформационными изменениями гликановых цепей и ТК, приводящими к экспонированию фосфатных и карбоксильных групп на полюсах. Другие авторы наблюдали предпочтительное связывание положительно заряженного цитохрома С с цилиндрической частью клетки, а не с ее полюсами [139].

Локализацией автолизина в зонах повышенного отрицательного заряда клеточной поверхности можно объяснить более быстрое обновление клеточной стенки в цилиндрических областях клетки по сравнению с полюсами [88], а также данные о различной чувствительности автолизина к различным участкам стенки и септы [91]. Следует отметить, что септа не несет заряда и не связывается с ФР. Авторы полагают, что в области септы каждой дочерней клетки заряженные группы ТК и ПГ ориентированы голова к голове и электростатическое отталкивание, возникающее при этом, может способствовать разделению дочерних клеток [91].

Физиологическая роль отрицательного заряда тейхоевых кислот

По мнению Бэддели [19], главная функция ТК – сохранять высокий поверхностный заряд клеток. Электроотрицательные свойства клеточной поверхности, способствуя отталкиванию клеток друг от друга, создают благоприятные условия для распространения бактерий в окружающей среде и более эффективного использования питательных веществ [19]. Отрицательный заряд определяет основные свойства и функции ТК, при этом одни и те же лиганды, участвующие в связывании ионов металлов, могут быть ответственны за узнавание других положительно заряженных молекул в клеточном окружении [116] – пептидов и некоторых антибиотиков, чему, вероятно, способствует перпендикулярно расположению ТК и ЛТК в клеточной стенке (рис. 4).

O-D-аланин – регулятор общего заряда клеточной поверхности

Ведущую роль в регуляции общего заряда тейхоевых и липотейхоевых кислот играет *O-D*-аланин и *O-L*-лизин (о физиологической роли остатков *D-Ala* см. обзор [63]). О важности остатков *D*-аланина свидетельствует тот факт, что они включаются в клеточную стенку *Bacillus subtilis* var. *niger*, выращенного при низком значении pH в условиях ограничения азота, когда синтезируются только N-содержащие компоненты, необходимые для роста [95].

С помощью *O-D-Ala* грамположительные бактерии способны изменять свой поверхностный заряд, регулировать лиганды связывания и контролировать электромеханические свойства клеточной стенки.

Степень аланилирования ТК является тем механизмом, с помощью которого клетка приспосабливается к изменениям условий окружающей среды, таким как повышение температуры и солевой концентрации (см. выше).

В этом аспекте рассматривается устойчивость бактерий к некоторым антибиотикам. Одним из факторов грамицидиновой резистентности *Staphylococcus aureus*, возможно, является общий отрицательный заряд ТК и ПГ. Некоторые устойчивые к грамицидину стафилококки имели клеточную поверхность с менее выраженными анионными свойствами за счет амидирования глутаминовой кислоты в ПГ и более высокой степени *D*-аланилирования ТК [144].

Со степенью этерификации тейхоевых кислот связаны, по-видимому, адгезивные и вирулентные свойства бактерий, их способность взаимодействовать с различными положительно заряженными молекулами.

Сложноэфирная связь, объединяющая остаток аминокислоты и ТК по природе – высоко энергетична (активация остатка *D-Ala* в процессе присоединения к тейхоевой кислоте происходит при участии АТФ [77], рис. 3) и по реактивности близка к аминоксил-т-РНК. Эта связь представляет потенциальный источник свободной энергии, необходимый клетке для обеспечения биохимических реакций, происходящих в стенке. Двойной оборот остатков *D-Ala* за время удвоения клеток *S. aureus* в процессе деления свидетельствует в поддержку этого предположения [145].

**РОЛЬ ТЕЙХОЕВЫХ КИСЛОТ В АДГЕЗИИ
И ВИРУЛЕНТНОСТИ БАКТЕРИЙ**

Некоторые анионные полимеры клеточных стенок бактерий участвуют в процессах межклеточной адгезии. Эти процессы основаны на ионном взаимодействии белка адгезина одной клетки со специфическими рецепторами другой. Такими рецепторами могут

быть тейхоевые кислоты [146].

Адгезия является необходимым условием начального этапа большинства инфекций, вызываемых рядом грамположительных бактерий. Из множества факторов, участвующих в адгезии (у стрептококков группы А выявлено, по крайней мере, 17 компонентов клеточной поверхности, обеспечивающих тканевой тропизм [147]), важнейшая роль принадлежит липотейхоевым кислотам. Именно они обеспечивают прилипание патогенных бактерий к эпителиальным эукариотическим клеткам и, таким образом, являются фактором вирулентности [147, 148]. Обработка эпителиальных клеток щёк ротовой полости раствором ЛТК стрептококков группы А тип 29М снижала адгезию этих бактерий к эпителию и, следовательно, снижала риск заболевания [149].

При изучении *Streptococcus pyogenes* (стрептококк группы А) было показано, что адгезия может проходить в два этапа. На первом этапе фибронектины клеток хозяина узнают липотейхоевую кислоту бактерий, а на втором – включаются бактериальные адгезины, осуществляющие взаимодействие стрептококка и клеток хозяина [147].

Для ряда бактерий *Lysteria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* [150–152] и *S. pyogenes* [153] установлена связь между их вирулентностью и D-аланилированием ЛТК. Общий заряд ЛТК является важным фактором адгезии. Инактивация *dlt* в *L. monocytogenes*, приводящая к потере остатков D-Ala липотейхоевой кислотой, весьма ослабляла вирулентность этого организма для мышей [150]. Та же закономерность наблюдалась и для других бактерий – увеличение плотности отрицательного заряда поверхности вызывало ослабление адгезии мутантных клеток.

Процессы адгезии у патогенных бактерий связаны, в основном, с ЛТК, хотя в отдельных случаях прилипание осуществляется за счет тейхоевых кислот клеточной стенки. Предполагается, что тейхоевые кислоты *S. aureus* участвуют в связывании бактерии с эпителиальными клетками носовой полости [154], а ТК *Staphylococcus epidermidis*, возможно, играют роль в связывании стафилококка с фибронектинами макроорганизма на ранних стадиях патогенеза [9].

Говоря о вирулентности, нельзя не отметить, что ЛТК обладают выраженным токсическим действием и при введении в организм человека и животных могут вызвать септический шок, воспаление в тканях и другие нарушения [155, 156]. Освобождение ЛТК в процессе развития инфекции происходит либо в ходе естественного лизиса бактериальных клеток, либо под действием β-лактамов антибиотиков [155–157].

ТК клеточных стенок не обладают токсическим действием или проявляют его в меньшей степени, чем ЛТК [158].

*Роль тейхоевых кислот в связывании положительно
заряженных пептидов*

На анионных свойствах клеточной поверхности, определяемых, в частности, ТК, основаны некоторые механизмы действия защитных систем человека и животных. Многие животные и человек при инфицировании бактериями начинают вырабатывать положительно заряженные пептиды в качестве компонентов их природного иммунитета. Мутанты *S. aureus* и *S. xylosus* с повышенной чувствительностью к иммунным пептидам, а также низину и галидермину имели и более высокий отрицательный заряд на поверхности клеток вследствие потери остатков D-Ala тейхоевыми кислотами. Эти мутанты связывали и менее анионные иммунные пептиды, и с более высоким положительным зарядом.

D-аланилирование ТК, распространенное у многих патогенных бактерий, очевидно, во многом определяет их резистентность к защитным системам человека и животных [77].

Аналогичные выводы были сделаны и при изучении грамотрицательных бактерий: уменьшение анионных свойств липополисахаридов повышало устойчивость бактерий к положительно заряженным пептидам [159].

Ранее Дойль с соавт. [102] отмечали способность ТК взаимодействовать с некоторыми макромолекулами клетки и, в частности, с белками. Возможно, одной из малоизученных функций ТК является связывание гидрофильных молекул в гидрофобных зонах клеточной поверхности.

Недавно были получены данные, свидетельствующие о нековалентном связывании ТК *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 с положительно заряженными белками S-слоя [92]. Областью связи служит N-терминальный конец белковой молекулы [103]. Эти данные можно рассматривать как участие ТК в стабилизации клеточной поверхности.

Роль тейхоевых кислот в образовании биопленок

Staphylococcus aureus является частой причиной инфекций, связанных с колонизацией имплантированных биоматериалов. Молекулярная основа первичной адгезии бактерий к искусственным поверхностям (ИП) до конца не ясна. Однако известно, что ключевая роль в первой ступени образования биопленок принадлежит ТК. На процессы

взаимодействия между тейхоевыми кислотами с ИП влияют ионные силы и силы Вандерваальса, которые могут быть как притягивающими, так и отталкивающими [8]. Даже в случае одинакового заряда ТК и ИП силы Вандерваальса способны преодолеть отталкивание и привести к адгезии [160, 161]. Значительное повышение общего отрицательного заряда клеточной поверхности мутантов *S. aureus* за счет потери тейхоевыми кислотами остатков D-Ala приводило к усилению отталкивающих сил, и бактериальные пленки на полистироле и стекле не образовывались [162, 163]. Вероятно, возникающие при этом электростатическое отталкивание препятствует адгезии. Следовательно, остатки D-Ala, нейтрализующие общий отрицательный заряд, способствуют образованию стафилококками фиксированных пленок на искусственных поверхностях [163]. Понимание этих механизмов стимулирует создание новых биоимплантантов с повышенными электроотрицательными свойствами, такими как тефлон, ионизированный пластик или гепаринизированные поверхности [164–166].

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ТЕЙХОЕВЫХ И ЛИПОТЕЙХОЕВЫХ КИСЛОТ

Сразу после открытия ТК стало очевидно, что они обладают антигенными свойствами. Бэддели и Дэвидсон [167] при изучении большой группы молочнокислых бактерий, содержащих глицерин- и рибит-ТК, отметили корреляцию между природой ТК клеточной стенки и серологическими свойствами бактерий. Лактобациллы группы D содержали рибит-ТК, группы E и A – глицерин-ТК, а группы B, C и F – не содержали их вовсе. Аналогичные результаты, полученные в это же время другими авторами для пневмококков и стрептококков группы A и D, позволяют заключить, что природа полиола и гликозильных заместителей в составе ТК может определять антигенные свойства бактерий [168].

Многочисленные исследования ТК большой группы микроорганизмов – стафилококков, бацилл, пневмококков, лактобацилл и листерий – показали, что все они обладают антигенными свойствами и способны вызывать в организме животного иммунный ответ [11, 13, 167]. В одних случаях антигенами могут быть ТК клеточных стенок, в других – ЛТК, иммунологические свойства которых интенсивно изучаются в последние десятилетия [169, 170].

Иммунный ответ с образованием антител (АТ) к тейхоевым кислотам в организме животного в первую очередь определяется их поверхностной локализацией в клетке бактерии. На поверхностную локализацию полимеров указывали реакции клеток с антителами,

специфическими для ТК и ЛТК [171]. Модель клеточной стенки, представленная на рис. 1, легко объясняет серологические свойства многих бактерий, в том числе – обусловленные ЛТК. Инъекции кроликам стеночных препаратов из *Lactobacillus plantarum* и *L. casei* приводили к образованию АТ, специфичных для мембранных компонентов. Клеточная стенка *L. plantarum*, даже обработанная трипсином, содержала ЛТК в количестве, достаточном для возникновения иммунного ответа [11]. Результаты этих экспериментов могли свидетельствовать о проникновении ЛТК в клеточную стенку. Поэтому образование АТ, реагирующих с глицерин-ТК, после инъекции животным препаратов клеточных стенок, не всегда означает, что поли(глицерофосфаты) присутствуют в ней как стеночные полимеры [11].

Вторым важным условием иммунного ответа является естественное окружение ТК в интактной клетке или клеточной стенке, поскольку очищенные препараты тейхоевых кислот не иммуногенны [11].

Молекула ТК содержит несколько структурных элементов, которые могут служить иммунологическими детерминантами: углеводные заместители, остатки D-Ala и сам полиолфосфатный остов молекулы [172].

Глицерофосфатная последовательность служит основной детерминантой в ЛТК *L. casei*, не содержащей гликозильных заместителей, как и в тейхоевых кислотах стрептококков группы А [172].

В большинстве случаев ТК несут гликозильные заместители, и, если последние являются иммунодоминантами, тейхоевые кислоты могут быть использованы в серологической классификации. Антитела к ЛТК из группы D и N стрептококков, группы F лактобацилл и ряда стафилококков специфичны к углеводным заместителям [172]. Для *Listeria monocytogenes* серотип 4в [13] и лактобацилл группы F серологическую специфичность определяли галактозильные, для различных штаммов *Staphylococcus aureus* – α - и β -N-ацетилглюкозаминильные, а для *L. plantarum* – α -глюкозильные остатки тейхоевых кислот [172].

Какие антитела будут образовываться – специфичные для полиолфосфатных цепей или углеводных заместителей – зависит от степени замещенности гидроксильных групп полиольных единиц тейхоевой кислоты и индивидуальных особенностей инфицированных животных [11]. Кроме того, ТК одного микроорганизма способны индуцировать образование нескольких антител, специфичных к разным детерминантам. Однако активность АТ, специфичных к полиолфосфату, определяется степенью его замещенности углеводными остатками. Чем выше степень замещенности, тем меньше антител образуется к

полиолфосфатной цепи [173]. Так, антисыворотка к ТК *Staphylococcus simulans* ССМ 2705, замещенной на 20–25% сахарными остатками, содержит в основном антитела к глицерофосфату (глицерофосфат в данном случае является иммунодоминантой) и лишь небольшое количество антител, специфичных к углеводным детерминантам. Такая антисыворотка будет перекрестно реагировать с тейхоевыми кислотами, содержащими аналогичные детерминанты.

Перекрестные реакции наблюдались между антителами к ТК *L. plantarum*, являющейся поли(гликозилглицерофосфатом) с боковыми гликозильными остатками, и ЛТК, замещенной α -глюкозой [172]. В обоих случаях, несмотря на различный тип полимеров (II и I, соответственно), иммунологическими детерминантами являлись гликозильные остатки в α -конфигурации.

Наличие перекрестных реакций между антисыворотками к ТК стрептококка группы А и тейхоевой кислотой лактобацилл, которые ингибировались поли(глицерофосфатом), свидетельствовали о том, что антигенной детерминантой являлась глицерин-ТК [11]. Она отвечала за перекрестные реакции преципитации не только между разными серотипами стрептококков, но и между разными видами грамположительных бактерий. Таким образом, в основе перекрестных реакций всегда лежит наличие общих антигенов.

Общим антигеном могут быть как гликозильные остатки, так и полиолфосфатная цепь. У лактобацилл группы D, штаммов *S. aureus* и микрококков биотипов 2–5,7 общим антигеном выступает рибит-ТК клеточной стенки [172]. Однако для большинства бактерий общим антигеном является поли(глицерофосфатная) цепь, поскольку ТК этого типа наиболее распространены в стенках грамположительных бактерий [172].

Антитела к ЛТК *Lactobacillus casei*, не содержащей гликозильных заместителей, специфичны к глицерофосфатной последовательности, но могут реагировать с любыми другими поли(глицерофосфатными) ТК [172], включая несущие гликозильные заместители. Аналогичным образом ЛТК, содержащие углеводные заместители, могут вызывать образование АТ, реагирующих с глицерофосфатным остовом. При изучении пространственной структуры гликозилированной ТК было установлено, что молекула может принимать конфигурацию, при которой сахарные остатки располагаются по одну сторону поли(глицерофосфатной) цепи. Антитела, таким образом, могут реагировать как с гликозильной стороной – специфические для гликозильных заместителей, так и с глицерофосфатной стороной – специфические для глицерофосфатной цепи [11, 172].

Антитела к D-Ala, также являющемуся общим антигеном, встречаются редко, вероятно, из-за лабильности O-эфирной связи [172], однако они были получены для стрептококков группы А и *Staphylococcus aureus* phage type 187. В тоже время для *Lactobacillus plantarum* NCIB 7220 и некоторых стафилококков иммунологическая активность остатков D-аланина не обнаружена [172, 173].

Групповым антигеном является иммунологическая детерминанта, общая для группы микроорганизмов, объединенных на основании других сходных характеристик. Групповым антигеном может быть полиолфосфатная цепь, но, как правило, это – гликозильный остаток в α - или β -конфигурации как на ТК, так и на ЛТК. Термин «групповые антигены» означает, что ТК может реагировать с антисывороткой, образованной к ТК, несущей ту же серологическую детерминанту или детерминанты любого другого представителя группы. По этому принципу стрептококки, лактобациллы, микрококки, стафилококки и листерии подразделяются на различные серотипы [11, 172]. Таким образом, иммунодоминанта, общая для ТК группы бактерий, может служить маркером в серологической классификации некоторых видов.

Приведенные данные с несомненностью свидетельствуют, что ТК и особенно ЛТК являются активными иммуногенами. Практически любой элемент структуры может выступать в роли иммунологической детерминанты: полиолфосфатный остов, гликозильный заместитель, остаток D-аланина. В связи с этим тейхоевая кислота одного организма способна вызывать образование нескольких специфичных АТ. Этот феномен объясняет существование перекрестных реакций не только между близкими видами, но и между разными группами грамположительных бактерий. Тем не менее, наличие общей иммунодоминанты в тейхоевых кислотах группы бактерий, имеющих другие сходные признаки, лежит в основе серологической классификации.

РЕЦЕПЦИЯ ФАГОВ

Многие бактериофаги при связывании с клеткой проявляют специфичность к некоторым макромолекулами клетки. Важную роль при этом играет окружение макромолекулы, обеспечиваемое целостностью клетки или клеточной стенки [12]. В состав рецепторов для многих фагов, инфицирующих грамположительные бактерии, входят пептидогликан и тейхоевые кислоты [12, 174], но именно последние определяют специфичность связывания. После замены ТК на ТУК при фосфатном голодании клетки фаги SP 50 [79, 83] и SP59 теряют способность инфицировать *Bacillus subtilis* W23, восстановление ТК в клеточной стенке возвращает клетке чувствительность к фагу [82, 83].

Поверхностная локализация ТК и ЛТК является важным и необходимым условием, обеспечивающим способность клетки к фаговой рецепции [87].

На протяжении многих лет свойство бактерий связываться с различными фагами, успешно использовалось для изучения локализации и конформации стеночных полимеров, биосинтеза, а также роста и обновления клеточной стенки [82, 83]. Однако точная природа рецепции фага до сих пор остается неясной. При изучении некоторых бактерий и их мутантов (либо не содержащих ТК, либо несущих изменения в их структуре) выяснилось, что некоторые бактериофаги реагировали на гликозильные заместители ТК, другим же для адсорбции было достаточно присутствия в клетке только поли(глицерофосфатных) цепей.

Гликозильные заместители ТК играют определяющую роль в рецепции литических фагов *Listeria monocytogenes* серотип 1/2a (остатки N-ацетилглюкозамина) [175], 12 штаммов *B. subtilis* 168 и *Staphylococcus epidermidis* (глюкозильные остатки) [12]. Потеря углеводных компонентов тейхоевой кислотой у мутантов приводила к устойчивости клеткок к фагам. Для *S. aureus* было показано, что фаг проявлял специфичность только к природе сахарного остатка, одинаково связываясь как с α -, так и с β -гликозилированной тейхоевой кислотой [176].

Ряд данных свидетельствовал о роли глицерофосфатного остова молекулы ТК в фаговой рецепции. Эксперименты с *S. aureus* Copenhagen и *S. aureus* H [12] и их мутантами показали, что потеря N-ацетилглюкозамина, так же как потеря тейхоевых кислот в целом, снижали способность клеток к рецепции ряда типовых фагов. Однако фаг К связывался с мутантами, в ТК которых отсутствовали остатки N-ацетилглюкозамина, что указывало на неспецифичность связывания данного фага с клеткой, главным условием которого являлось наличие в ее клеточной стенке поли(глицерофосфата). Аналогичные данные были получены при изучении инфицирования фагом К группы коагулаз-негативных штаммов стафилококков, клеточная стенка которых содержала глицеринтейхоевую кислоту. При этом наблюдалось определенное сходство с антигенными свойствами ТК: поли(глицерофосфатная) цепь являлась общим рецептором для связывания с фагами, в то время как сахарные остатки определяли его специфичность. Логично предположить, что фаги, специфичные для глицерофосфатной цепи, могут узнавать и гидрофильные цепи липотейхоевой кислоты.

В отличие от вышеописанных случаев в рецепции пневмококкового бактериофага Dp-1 роль специфического адсорбента играют, по-видимому, не гликозильные остатки, а остатки холина на рибит-ТК [177, 178].

Способность клетки адсорбировать определенные виды бактериофагов может быть использована при подразделении штаммов некоторых видов бактерий на группы. По этому признаку штаммы *B. subtilis* 168 образуют от четырех до шести групп [179].

Следует заметить, что рецепцию фагов, по-видимому, нельзя относить к основным функциям тейхоевых кислот, т.к. обычно подобное инфицирование неблагоприятно для бактерии и приводит к ее гибели. Однако рецепция фагов может иметь важное значение в бактериальной эволюции, т.к. способствует обновлению генетического материала. (Проблемы фаговой рецепции грамположительных бактерий подробно освещены в обзорах [12, 177, 178].)

Таким образом, ТК наряду с ПГ формируют участки фаговой рецепции на поверхности клетки. В отдельных случаях для адсорбции фага бывает достаточно присутствия в клетке тейхоевых кислот поли(глицерофосфатной) природы, однако специфичность связывания, как правило, определяют ее гликозильные заместители.

VI. СТРУКТУРНОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ ТЕЙХОЕВЫХ КИСЛОТ

Изучение структур ТК является первым и необходимым этапом, дающим ключ к пониманию свойств и функций этих биополимеров в клетке. ТК актиномицетов проявляют бесконечно большое разнообразие, и его трудно объяснить лишь с точки зрения физиологических функций полимеров. Известно, что определяющую роль в коагрегации катионов, связывании автолизина, а также в патогенных и адгезивных свойствах бактериальной клетки играет отрицательный заряд ТК, обусловленный наличием фосфатных групп. В то же время роль отдельных структурных элементов этих полимеров пока изучена недостаточно, хотя и установлено, что они влияют на функциональную активность и некоторые биологические свойства ТК.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РОЛЬ АЦИЛЬНЫХ ОСТАТКОВ ТК

Для бацилл и кокков достаточно хорошо доказано участие остатков *O*-D-аланина в регуляции общего отрицательного заряда как самой ТК, так и клеточной поверхности в целом [63]. Холиновые остатки

ТК пневмококков являются лигандами связывания с автолизинами. *O*-ацетильные остатки, характерные элементы ТК актиномицетов, возможно, играют роль консервантов энергии в силу высокой энергетической *O*-эфирной связи [23]. И, кроме того, ацетильные остатки связаны с регуляцией заряда клеточной поверхности, т.к. могут участвовать в процессах ацетилирования или деацетилирования остатков аминокислот и мурамовой кислоты ПГ. Для бацилл и стрептомицетов показано изменение степени ацетилированности ПГ в процессе роста культуры [7, 180]. Не исключено, что ТК в этих процессах могут выступать либо донором, либо акцептором ацетильных групп, служащих субстратами для ацилаз или деацилаз.

Кроме того, широкое распространение *N*-ацетилированных аминокислот в ТК различных групп бактерий может быть связано с их регуляторной функцией, аналогичной функции остатков *O*-D-Ala. Деацетилирование аминокислоты ведет к снижению общей плотности отрицательного заряда ТК.

При изучении бревибактерий, проявляющих галотолерантные свойства [181], выяснилось, что клеточные стенки каждого штамма содержат несколько анионных полимеров, при этом плотность отрицательного заряда одного из полимеров повышена за счет присутствия остатков пировиноградной, янтарной, глутаминовой и ортофосфорной кислот [21, 31, 32–34, 46].

Аналогичная корреляция была описана ранее для алкалофильной бациллы *Bacillus* sp. C-125, содержащей в клеточной стенке три анионных полимера – полиглюкуроновую, тейхуроновую и полиглютаминовую кислоты [182]. В обоих случаях особенности состава клеточной стенки отражают, по-видимому, физиологические свойства бактерий, в частности, их способность жить в экстремальных условиях.

Из литературных данных известно, что при повышенной концентрации ионов Na^+ в культуральной среде уменьшается связывание ионов магния тейхоевыми кислотами [99]. На это изменение клетка отвечает повышением электроотрицательности тейхоевых кислот – полимеры теряют остатки D-Ala, освобождая, таким образом, дополнительные участки для связывания катионов. Изучение физико-химических свойств тейхоевых кислот показало, что молекула полимера способна принимать различную пространственную конфигурацию: от сжатой в спираль при высоких концентрациях NaCl до растянутой – при низких [115]. Основываясь на этих данных, можно предположить, что в клеточной стенке галотолерантной (или галофильной) бактерии молекула тейхоевой кислоты находится в конфигурации спирали

или иной сжатой форме. Наличие нескольких анионных полимеров в стенке, а также повышенное количество отрицательно заряженных групп на ТК или другом полимере позволяют клетке компенсировать потери в способности захватывать ионы магния из окружающей среды, связанные с конформацией молекулы.

Возможно и другое предположение, объясняющее присутствие дополнительных отрицательно заряженных групп в клеточной стенке галофильных бактерий. Изучение мутантов алкалифильной бактерии *Bacillus* sp. C-125, различающихся количественным содержанием трех различных анионных полимеров в клеточной стенке, показало, что способность бацилл выживать в щелочных условиях напрямую зависит от состава и соотношения этих полимеров. Авторы полагают, что способность клетки нейтрализовать вредное воздействие ионов гидроксила связана с анионными группами полимеров [182]. Исходя из этих данных, можно предположить, что усиленный отрицательный заряд стеночных полимеров бревибактерий помогает клетке минимизировать воздействие на нее ионов Cl^- .

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РОЛЬ ГЛИКОЗИЛЬНЫХ ЗАМЕСТИТЕЛЕЙ ТК

У некоторых бактерий гликозильные заместители ТК играют важную роль в межклеточной коагрегации и связывании с фагами, известна и их иммунологическая активность. О важности гликозильных остатков свидетельствует тот факт, что свободные поли(полиолфосфатные) цепи ТК встречаются в клеточных стенах грамположительных бактерий довольно редко. В то же время отсутствие гликозильных заместителей на ТК у мутантов не влечет за собой заметных нарушений в морфологии и физиологии клетки, тогда как полная потеря способности синтезировать ТК является для мутантной клетки летальной. Возможно, гликозильные остатки не являются для клетки жизненно необходимыми элементами структуры ТК, но выполняют функции еще не выясненные до конца. Одна из таких функций может быть связана с конформационными свойствами молекулы, что, в свою очередь, отражается на ее физико-химических свойствах.

Так, в ТК ряда актиномадур и стрептомицетов в качестве гликозильных заместителей обнаружены остатки *O*-метилованных сахаров [3, 26, 48]. Для *A. madura* было показано, что количество мадурозы в ТК варьирует в партиях мицелия, выращенного в разных опытах. В связи с этим возникает вопрос, включается ли метилированный сахар в ТК при биосинтезе полимера или происходит постсинтетическое метилирование гликозильных остатков.

С одной стороны, известно, что в клеточную стенку переносится уже полностью собранная цепь ТК, а с другой – присутствие в клеточной стенке некоторых ферментов, например, ацилирующих и деацелирующих аминсахарные остатки ПГ [7], позволяет допустить и существование фермента, метилирующего остатки сахаров. Это предположение кажется наиболее вероятным, т.к. в составе тейхоевых кислот нескольких актиномицетов одновременно присутствовали как моносахарид, так и его метилированное производное. Метилирование сахарных остатков можно рассматривать как механизм, регулирующий гидрофобные свойства молекулы и, соответственно, тех участков клеточной поверхности, где локализуется полимер.

Гетерогенность тейхоевых кислот

В клеточных стенках некоторых микроорганизмов может присутствовать до трех различных по структуре тейхоевых кислот [15, 29, 30, 32, 40, 43, 46, 47].

Анализ данных по гетерогенному составу ТК показывает, что набор полимеров, одновременно присутствующих в клеточной стенке, всегда включает 1,3-поли(глицерофосфаты), причем они могут быть как доминирующими, так и минорными компонентами. Поли(глицерофосфаты) встречаются наряду с рибит-, манниттейхоевыми кислотами или поли(гликозилглицерофосфатами). До сих пор не были описаны случаи одновременного присутствия рибит- и манниттейхоевых кислот или рибит- и гликозилглицерофосфатных. Поли(глицерофосфаты) являются самыми распространенными ТК клеточных стенок грамположительных бактерий. Вероятно, это свидетельство того, что пути их биосинтеза являются наиболее древними.

В клетках одних бактерий сохранился весь процесс сборки 1,3-поли(глицерофосфата) как основной ТК, у других – в качестве рудимента, для минорной ТК. Интересно, что одни и те же ферменты и нуклеотидные предшественники участвуют как в биосинтезе поли(глицерофосфата), так и в синтезе глицерофосфатных единиц области связи [7] рибиттейхоевых кислот (табл.), а также – области связи тейхуроновых кислот и сахар-1-фосфатных полимеров [3].

Эволюция ТК могла идти как по пути изменения полиольного остатка (глицерин, эритрит, рибит, маннит), так и по линии усложнения полимерной цепи с включением различных по природе гликозильных заместителей и ацильных остатков. Этим, очевидно, и можно объяснить тот факт, что наиболее сложные в плане клеточной организации актиномицеты имеют и наиболее сложные по структуре тейхоевые кислоты.

Сосуществование нескольких тейхоевых кислот в одной клеточной стенке вероятнее всего связано с разграничением их физиологических функций, определяемых в основном, плотностью отрицательного заряда каждого полимера [3, 92].

VII. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проблема разнообразия и гетерогенности ТК клеточных стенок микроорганизмов имеет полувековую давность, начиная с работ Бэддели и Армстронга и Наумовой и Белозерского [1, 2]. Исследование структур ТК получило новое развитие в 70–80-х годах 20 века благодаря использованию методов ядерно-магнитного резонанса. Обобщение имеющихся данных позволило выделить 4 структурных типа этих полимеров, отличающихся по природе фосфодиэфирных связей в интегральной цепи, и более 20 структурных элементов, среди которых 6 полиолов, различные моносахариды, остатки органических и неорганических кислот, аминокислоты и аминокиспирты.

Несмотря на значительное структурное разнообразие ТК, большинство исследователей полагают, что главным объединяющим свойством этих полимеров является их полианионный характер, который и служит отправной точкой для проявления широкого спектра их функций и свойств. ТК связаны с катионным обменом и работой автолитических ферментов, обладают иммунологическими и адгезивными свойствами, участвуют в рецепции бактериофагов, играют роль в микробной коагрегации, определяют патогенные свойства некоторых микроорганизмов.

Функциональная роль многочисленных структурных элементов ТК изучена лишь в отдельных случаях. Однозначно показана роль остатков D-аланина в регуляции общего отрицательного заряда как самой ТК, так и клеточной поверхности в целом [63] и холиновых остатков ТК пневмококков – лигандов связывания с автолизинами [125]. Во всех остальных изученных случаях структурные элементы ТК, наряду с самими полимерами, определяют иммунологические и адсорбционные свойства клетки.

Клеточные стенки некоторых организмов одновременно содержат несколько ТК. При этом, набор ТК, одновременно присутствующих в клеточной стенке, всегда включает в себя 1,3-поли(глицерофосфаты), которые могут быть и доминирующими и минорными компонентами и являются самыми распространенными ТК грамположительных бактерий. Совместно с поли(глицерофосфатами) встречаются рибит-,

маннит-, а также гликозилглицерофосфатные ТК. Гетерогенность ТК связывают с разграничением их физиологических функций в различных участках клеточной поверхности, в основе которых могут лежать структурные различия полимеров, определяющие конформацию молекулы и величину ее отрицательного заряда.

Интерес к ТК, подкрепленный информацией об их структурах, привлекает исследователей все новых и новых областей знаний, в частности, медицины, при разработке вакцин и биотрансплантатов.

В последние десятилетия ТК обратили на себя внимание систематиков в надежде найти новые относительно стабильные характеристики актиномицетов, полезные для классификации и идентификации микроорганизмов на родовом и, особенно, видовом уровнях. Вовлечение ТК в жизненно важные функции клетки, огромное структурное разнообразие, а также широкое распространение среди грамположительных бактерий и, в частности, в актиномицетах, предопределяло их значимость как потенциальных хемотаксономических признаков.

Ранее было замечено, что виды внутри рода содержат различные по структуре ТК [184]. Эти данные легли в основу гипотезы о видоспецифичности ТК, предложенной И.Б. Наумовой и др. [15], которая успешно подтверждается на примере ряда родов порядка *Actinomycetales* – *Artrobacter*, *Actinomadura*, *Nonomuraea*, *Brevibacterium*, *Glycomyces*, *Nocardiosis*, *Streptomyces*, *Nocardioides* и *Agromyces* [3, 15, 43]. Результаты, полученные на достаточно большом материале, позволяют констатировать видовую специфичность ТК актиномицетов и возможность использования их в качестве дополнительного видового таксономического признака.

Таким образом, информация о тейхоевых кислотах расширяет рамки возможностей изучения метаболических процессов, связанных с биосинтезом тейхоевых кислот, физиологической роли структурных элементов этих полимеров, причин и роли гетерогенности ТК в жизнедеятельности бактериальной клетки, а также предоставляет возможность использовать ТК в качестве видоспецифических маркеров в порядке *Actinomycetales*.

Автор посвящает этот обзор памяти своего Учителя – профессора Ирины Борисовны НАУМОВОЙ, открывшей тейхоевые кислоты в актиномицетах и посвятившей их изучению более сорока лет.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Armstrong, J.J., Baddiley, J., Buchanan, J.G., Carss, B., Greenberg, G.R.* (1958) *J. Chem. Soc.*, 4344–4354.
2. *Наумова И.Б., Белозерский А.Н., Шафикова Ф.А.* (1962) Докл. АН СССР, **143**, 730–734.
3. *Наумова И.Б., Шапков А.С.* (1997) Биохимия, **62**, 947–982.
4. *De Boer, W.R., Krussen, F.J., Wouters, J.T.M.* (1976) *Eur. J. Biochem.*, **62**, 1–6.
5. *De Boer, W.R., Wouters, J.T.M., Anderson, A.J., Archibald, A.R.* (1978) *Eur. J. Biochem.*, **85**, 433–436.
6. *Shashkov, A.S., Zaretskaya, M.Sh., Yarotsky S.V., Naumova, I.B., Chizhov, O.S., Shabarova, Z.A.* (1979) *Eur. J. Biochem.*, **102**, 477–481.
7. *Archibald, A.R., Hancock, I.C., Harwood, C.R.* (1993) In: *Cell wall structure, synthesis, and turnover* / A.L. Sonenshein, J.A. Hoch, and R. Losick eds., American Society for Microbiology, Washington, D.C. pp. 381–410.
8. *Rijnaarts, H.H.M., Norde, W., Bouwer, E.J., Lyklema, J., Zehnder, A.J.B.* (1995) *Colloids Surf. B: Biointerface*, **4**, 5–22.
9. *Hussain, M., Heilmann, C., Peters, G., Herrmann, M.* (2001) *Microb. Pathog.*, **31**, 261–270.
10. *Дерябин П.Н., Каральник В.В.* (1983) ЖМЭИ, **9**, 26–29.
11. *Wicken, A.J., Knox, K.W.* (1975) *Science*, **187**, 1161–1167.
12. *Archibald, A.R.* (1980) *Receptors and Recognition*, **7**, 10–17.
13. *Clark, E.E., Wesley, I., Fiedler, F., Promadej, N., Kathariou, S.* (2000) *J. Clin. Microbiol.*, **38**, 856–859.
14. *Евтушенко Л.И.* (2003) Актинобактерии: развитие систематики на примере семейств порядка Actinomycetales: Дисс. док. биол. наук. Пушино: ИБФМ им. Г.К. Скрыбина, стр. 173–174.
15. *Naumova, I.B., Shashkov, A.S., Tul'skaya, E.M., Streshinskaya, G.M., Kozlova, Y.I., Potekhina, N.V., Evtushenko, L.I., Stackebrandt, E.* (2001) *FEMS Microbiol. Rev.*, **25**, 269–284.
16. *Fischer, W.* (1988) *Adv. Microb. Physiol.*, **29**, 233–302;
17. *Fischer, W.* (1994) *Med. Microbiol. Immunol.*, **183**, 61–76
18. *Шапков А.С., Тульская Е.М., Грачев А.А., Евтушенко Л.И., Буюева О.В., Наумова И.Б.* (1998) Биохимия, **63**, 1288–1294.
19. *Baddiley, J.* (1972) *Essays Biochem.*, **8**, 35–77.
20. *Shashkov, A.S., Streshinskaya, G.M., Senchenkova, S.N., Kozlova, Yu.I., Alferova, I.V., Terekhova, L.P., Evtushenko, L.I.* (2006) *Carbohydr. Res.*, **341**, 796–802.
21. *Потехина Н.В., Шапков А.С., Сенченкова С.Н., Евтушенко Л.И.*, неопубликованные данные.
22. *Стрешиная Г.М., Шапков А.С., Усов А.И., Евтушенко Л.И., Наумова И.Б.* (2002) Биохимия, **67**, 939–947.
23. *Naumova, I.B.* (1988) *Microbiol. Sci.*, **5**, 275–279
24. *Стрешиная Г.М., Козлова Ю.И., Шапков А.С., Евтушенко Л.И., Наумова И.Б.* (2003) Микробиология, **72**, 510–515.
25. *Стрешиная Г.М., Тульская Е.М., Шапков А.С., Евтушенко Л.И., Таран В.В., Наумова И.Б.* (1998) Биохимия, **63**, 230–234.
26. *Стрешиная Г.М., Козлова Ю.И., Алфёрова И.В., Шапков А.С., Ев-*

- тушенко Л.И. (2005) Микробиология, **74**, 48–54.
27. Fiedler, F. (1988) *Infection.*, **16**, 92–97.
28. Schubert, K., Reiml, D., Accolas, J.-P., Fiedler, F. (1993) *Arch. Microbiol.*, **160**, 222–228.
29. Fiedler, F., Schäffler, M.J., Stackebrandt, E. (1981) *Arch. Microbiol.*, **129**, 85–93.
30. Fiedler, F., Bude, A. (1989) *J. Gen. Microbiol.*, **135**, 2837–2846.
31. Anderton, W.J., Wilkinson, S.G. (1985) *Biochem. J.*, **226**, 587–599.
32. Потехина Н.В., Евтушенко Л.И., Сенченкова С.Н., Шапков А.С., Наумова И.Б. (2004) *Биохимия*, **69**, 1659–1666.
33. Potekhina, N.V., Shashkov, A.S., Evtushenko, L.I., Senchenkova, S.N., Naumova, I.B. (2003) *Carbohydr. Res.*, **338**, 2745–2749.
34. Potekhina, N.V., Shashkov, A.S., Evtushenko, L.I., Gavrish, E.Y., Senchenkova, S.N., Usov, A.I., Naumova, I.B., Stackebrandt, E. (2003a) *Eur. J. Biochem.*, **270**, 4420–4425.
35. Veerkamp, J.H., Hoelen, G.J.M., Op Den Camp, H.J.M. (1983) *Biochim. Biophys. Acta*, **755**, 439–451.
36. Shashkov, A.S., Streshinskaya, G.M., Gnizozub, V.A., Evtushenko, L.I., Naumova, I.B. (1995) *FEBS Lett.*, **371**, 163–166.
37. Schubert, K., Fidler, F. (2001) *System. Appl. Microbiol.*, **24**, 26–30.
38. Alistar, J., Anderson, A.J., Archibald, A.R. (1975) *Biochem. J.*, **151**, 15–20.
39. Козлова Ю.И., Стрешинская Г.М., Шапков А.С., Евтушенко Л.И., Наумова И.Б. (2000) *Биохимия*, **65**, 1432–1439.
40. Kojima, N., Uchikawa, K., Araki, Y., Ito, E. (1986) *Eur. J. Biochem.*, **155**, 521–526.
41. Kaya, S., Yokoyama, K., Araki, Y., Ito, E. (1984) *J. Bacteriol.*, **158**, 990–996.
42. Kaya, S., Araki, Y., Ito, E. (1985) *Eur. J. Biochem.*, **147**, 41–46.
43. Shashkov, A.S., Streshinskaya, G.M., Evtushenko, L.I., Naumova, I.B. (2001) *Carbohydr. Res.*, **336**, 237–242.
44. Шапков А.С., Козлова Ю.И., Стрешинская Г.М., Козлова Ю.И., Космачевская Л.Н., Буева О.В., Евтушенко Л.И., Наумова И.Б. (2001) *Микробиология*, **70**, 477–486.
45. Schipper, D. (1995) *Carbohydr. Res.*, **279**, 75–82.
46. Шапков А.С., Потехина Н.В., Евтушенко Л.И., Наумова И.Б. (2004) *Биохимия*, **69**, 609–616.
47. Шапков А.С., Тульская Е.М., Евтушенко Л.И., Наумова И.Б. (1999) *Биохимия*, **64**, 1544–1549.
48. Shashkov, A.S., Potekhina, N.V., Naumova, I.B., Evtushenko, L.I., Widmalm, G. (1999) *Eur. J. Biochem.*, **262**, 688–695.
49. Fischer, W., Behr, T., Hartmann, R., Peter-Katalinic, J., Egge, H. (1993) *Eur. J. Biochem.*, **215**, 851–857.
50. Bergström, N., Jansson, P.E., Kilian, M., Sørensen, U. B. S. (2003) *Eur. J. Biochem.*, **270**, 2157–2162.
51. Uchikawa, K., Sekikawa, I., Azuma, I. (1986) *J. Biochem. (Tokyo)*, **99**, 315–327.
52. Endl, J., Seidle, P.H., Fiedler, F., Schleifer, K.H. (1983) *Arch. Microbiol.*, **135**, 215–223.
53. Strominger, J.L., Ghuysen, J.M. (1963) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **12**, 418–424.
54. Coley, J., Tarelli, E., Archibald, A.R., Baddiley, J. (1978) *FEBS Lett.*, **88**, 1–9.

55. Sasaki, Y., Araki, Y., Ito, E. (1983) Eur. J. Biochem., **132**, 207–213.
56. Kojima, N., Araki, Y., Ito, E. (1985) J. Bacteriol., **161**, 299–306.
57. Harrington, C.R., Baddiley, J. (1985) Eur. J. Biochem., **153**, 639–645.
58. Kaya, S., Araki, Y., Ito, E. (1985) Eur. J. Biochem., **146**, 517–522.
59. Yokoyama, K., Mizuguchi, H., Araki, Y., Kaya, S., Ito, E. (1989) J. Bacteriol., **171**, 940–946.
60. Kojima, N., Iida, J., Araki, Y., Ito, E. (1985) Eur. J. Biochem., **149**, 331–336.
61. Kojima, N., Araki, Y., Ito, E. (1985) Eur. J. Biochem., **148**, 29–34.
62. Kojima, N., Uchikawa, K., Araki, Y., Ito, E. (1985) J. Biochem. (Tokyo), **97**, 1085–1092.
63. Neuhaus, F.C., Baddiley, J. (2003) Microbiol. Mol. Biol. Rev., **67**, 686–723.
64. Pooley, H.M., Karamata, D. (1994) New Compr. Biochem., **27**, 187–198.
65. Honeyman, A. L., Stewart, G. C. (1989) Mol. Microbiol., **3**, 1257–1268.
66. Mauël, C., Young, M., Karamata, D. (1991) J. Gen. Microbiol., **137**, 929–941.
67. Lazarevic, V., Karamata, D. (1995) Mol. Microbiol., **16**, 345–355.
68. Soldo, B., Lazarevic, V., Karamata, D. (2002) Microbiology, **148**, 2079–2087.
69. Mauël, C., Bauduret, A., Chervet, C., Beggah, S., Karamata, D. (1995) Microbiology, **141**, 2379–2389.
70. Hancock, I.C., Baddiley, J. (1985) In: The enzymes of biological membranes / A.Martonosi, ed., vol. 2, 2nd ed., Plenum Press, New York, N.Y. pp. 279–307.
71. Pooley, H.M., Abellan, F.X., Karamata, D. (1992) J. Bacteriol., **174**, 646–649.
72. Schertzer, J.W., Brown, E.D. (2003) J. Biol. Chem., **278**, 18002–18007.
73. Park, Y.S., Sweitzer, T.D., Dixon, J.E., Kent, C. (1993) J. Biol. Chem., **268**, 16648–16654.
74. Glaser, L., Burger, M.M. (1964) J. Biol. Chem., **239**, 3187–3191.
75. Maino, V.C., Young, F.E. (1974) Eur. J. Biochem., **249**, 5169–5175.
76. Pooley, H.M., Paschoud, D., Karamata, D. (1987) J. Gen. Microbiol., **133**, 3481–3493.
77. Peschel, A., Otto, M., Jack, R.W., Kalbacher, H., Jung G., Götz F. (1999) J. Biol. Chem., **274**, 8405–8410.
78. Наумова И.Б. (1979) Усп. биол. химии, **20**, 128–151.
79. Archibald, A.R. (1976) J. Bacteriol., **127**, 956–960.
80. Birdsell, D. C., Doyle, R. J., Morgens-tern, M. (1975) J. Bacteriol., **121**, 726–734.
81. Doyle, R.J., McDannel, M.L., Helman, J.R., Streips, U.N. (1975) J. Bacteriol., **122**, 152–158.
82. Archibald, A.R. Coapes, H.E. (1976) J. Bacteriol., **125**, 1195–1206.
83. Anderson, A.J., Green, R.S., Sturman, A.J., and Archibald, A.R. (1978) J. Bacteriol., **136**, 886–899.
84. Archibald, A. R. (1985) Biochem. Soc. Trans., **13**, 990–992.
85. Merad, T., Archibald, A.R., Hancock, I.C., Harwood, C.R., Hobot, J.A. (1989) J. Gen. Microbiol., **135**, 645–655.
86. Koch, A. L., Doyle, R. J. (1985) J. Theor. Biol., **117**, 137–157.
87. Sonnenfeld, E.M., Beveridge, T.J., Koch, A.L., Doyle, R.J. (1985) J. Bacteriol., **163**, 1167–1171.

88. *Clarke-Sturman, A.J., Archibald, A.R., Hancock, I.C., Harwood, C.R., Merad, T., Hobot, J.A.* (1989) *Gen. Microbiol.*, **135**, 657–665.
89. *Morata de Ambrosini, V., Gonzalez, S., de Ruiz Holgado, A.P., Oliver, G.* (1998) *J. Food. Prot.*, **61**, 557–62.
90. *Graham, L.L., Beveridge, T.J.* (1994) *J. Bacteriol.*, **176**, 1413–1421.
91. *Sonnenfeld, E.M., Beveridge, T.J., Doyle, R.J.* (1985) *Can. J. Microbiol.*, **31**, 875–877.
92. *Seltmann, G., Holst, O.* (2002) In: *The Bacterial Cell Wall / Hardcover*, eds, Springer-Verlag, New York, Incorporated.
93. *Karamata, D., Pooley, H.M., Monod, M.* (1987) *Mol. Gen. Genet.*, **207**, 73–81.
94. *Ellwood, D.C., Tempest, D.W.* (1969) *Biochem. J.*, **111**, 1–5.
95. *Ellwood, D.C., Tempest, D.W.* (1972) *Adv. Microb.*, **7**, 83–117.
96. *Heckels, J.E., Lambert, P.A., Baddiley, J.* (1977) *Biochem. J.*, **162**, 359–365.
97. *Calamita, H.G., Doyle, R.J.* (2002) *Mol. Microbiol.*, **44**, 601–606.
98. *Mendelson, N.H.* (1982) *Microbiol. Rev.*, **46**, 341–375.
99. *Heptinstall, J., Heptinstall, S., Archibald, A.R., Baddiley, J.* (1970) *Nature*, **225**, 519–521.
100. *Hughes, A.H., Hancock, I. C., Baddiley, J.* (1973) *Biochem. J.*, **132**, 83–93.
101. *Herbold, D.R., Glaser, L.* (1975) *J. Biol. Chem.*, **250**, 7231–7238.
102. *Doyle, R.J., Chatterjee, A.N., Streips, U.N., and Young, F.E.* (1975) *J. Bacteriol.*, **124**, 341–347.
103. *Smit, E. and Pouwels, P.H.* (2002) *J. Bacteriol.*, **184**, 4617–4619.
104. *Archibald, A.R.* (1974) *Adv. Microb. Physiol.*, **11**, 53–95.
105. *Archibald, A.R.* (1988) In: *Bacterial cell wall structure and the ionic environment / R. Whittenbury, G.W. Gould et al., eds.*, Bath University Press, Bath, United Kingdom, pp. 159–173.
106. *Lambert, P.A., Hancock, I.C., and Baddiley, J.* (1977) *Biochim. Biophys. Acta*, **472**, 1–12.
107. *Beveridge, T.J., Forsberg, C.W., and Doyle, R.J.* (1982) *J. Bacteriol.*, **150**, 1438–1448.
108. *Owen, P. Freer, J.H.* (1972) *Biochem. J.*, **129**, 907–917.
109. *Baddiley, J.* (2000) *Microbiology*, **146**, 1257–1258.
110. *Lambert, P.A., Hancock, I.C., Baddiley, J.* (1975) *Biochem. J.*, **149**, 519–524.
111. *Archibald, A.R., Baddiley, J., Heptinstall, S.* (1973) *Biochim. Biophys. Acta*, **291**, 629–634.
112. *Lambert, P.A., Hancock, I.C., Baddiley, J.* (1975) *Biochem. J.*, **151**, 671–676.
113. *Tempest, D.W.* (1969) *Society for Gener. Microbiol. April.*, 87–111.
114. *Ou, L.T., Marquis, R.E.* (1970) *J. Bacteriol.*, **101**, 92–101.
115. *Doyle, R.J., McDannel, M.L., Streips, U.N., Birdsell, D.C., Young, F.E.* (1974) *J. Bacteriol.*, **118**, 606–615.
116. *Shungu, D.L., Cornett, J.B., Shockman, G.D.* (1980) *J. Bacteriol.*, **142**, 741–746.
117. *Doyle, R.J.* (1989) In: *Metal ions bacteria / T.J. Beveridge and R.J. Doyle eds.*, John Wiley & Sons, Inc., New York, N.Y., pp. 275–293.
118. *Beveridge, T.J., Murray, R.G.E.* (1976) *J. Bacteriol.*, **127**, 502–1518.
119. *Shockman, G.D., Høltje, J.V.* (1994) In: *Bacterial Cell Wall / J.-M. Ghuyssen & R. Hakenbeck, eds.*, Amsterdam: Elsevier., pp. 131–166.

120. Holme, T. (1972) *J. Appl. Chem. And Biotechnol.*, **22**, 391–399.
121. Foster, S. J. (1994) *J. Appl. Bacteriol.*, **76**, 25S–39S.
122. Blackman, S.A., Smith, T.J. and Foster, S.J. (1998) *Microbiology*, **144**, 73–82.
123. Wecke, J., Perego, M., Fischer, W. (1996) *Microb. Drug Resist.*, **2**, 123–129.
124. Horne, D.S., and Tomasz, A. (1993) *J. Bacteriol.*, **175**, 1717–22.
125. Höltje, J.V., Tomasz, A. (1975) *J. Biol. Chem.*, **250**, 6072–6076.
126. Tomasz, A., Westphal, M., Briles, E.B., Fletcher, P. (1975) *J. Supramol. Structure*, **3**, 1–16.
127. Yother, J., Leopold, R., White, J., Fischer, W. (1998) *J. Bacteriol.*, **180**, 2093–2101.
128. Usobiaga, P., Medrano, F.J., Gasset, M., Garcia, J.L., Saiz, J.L., Rivas, G., Laynez, J., Menendez, M. (1996) *J. Biol. Chem.*, **271**, 6832–6838.
129. Giudicelli, S., Tomasz, A. (1984) *J. Bacteriol.*, **158**, 1188–1190.
130. Höltje, J.V., Tomasz, A. (1976) *J. Biol. Chem.*, **251**, 4199–207.
131. Höltje, J.V., Tomasz, A. (1975) *J. Bacteriol.*, **124**, 1023–1027.
132. Höltje, J.V., Tomasz, A. (1975) *Natl. Acad. Sci. USA*, **72**, 1690–1694.
133. Horne, D.S., Tomasz, A. (1985) *J. Bacteriol.*, **161**, 18–24.
134. de las Rivas, B., Garcia, J.L., Lopez, R., Garcia, P. (2001) *Microb. Drug Resist.*, **7**, 213–222.
135. Boylan, R. J., Mendelson, N. H., Brooks, D., Young, F. E. (1972) *J. Bacteriol.*, **110**, 281–290.
136. Atrih, A., Bacher, G., Allmaier G., Williamson, M. P., Foster, S. J. (1999) *J. Bacteriol.*, **181**, 3956–3968.
137. Lang, W.K., Archibald, A.R. (1982) *FEMS Microbiol.*, **13**, 93–97.
138. Kemper, M.A., Urrutia, M.M., Beveridge, T.J., Koch, A.L., Doyle, R.J. (1993) *J. Bacteriol.*, **175**, 5690–5696.
139. Wecke, J., Madela, K., Fischer, W. (1997) *Microbiology*, **143**, 2953–2960.
140. Fischer, W., Rösel, P., Koch, H.U. (1981) *J. Bacteriol.*, **146**, 467–475.
141. Smith, T.J., Blackman, S.A., Foster, S.J. (2000) *Microbiology*, **146**, 249–262.
142. Joseph, R., Shockman, G.D. (1976) *J. Bacteriol.*, **127**, 1482–1493.
143. Bayer, M.E., Sloyer, J.L.Jr. (1990) *J. Gen Microbiol.*, **136**, 867–874.
144. Орлова Т.И., Булгакова В.Г., Полин А.Н. (2003) *Антибиотики и химиотер.*, **49**, 11–15.
145. Haas, R., Koch, H.U., Fischer, W. (1984) *FEMS Microbiol. Lett.*, **21**, 27–31.
146. Abeygunawardana, C., Bush, C.A. Cisar, J.O. (1991) *Biochemistry*, **30**, 8568–8577.
147. Courtney, H.S., Hastly, D.L., Dale, J.B. (2002) *Ann. Med.*, **34**, 77–87.
148. Beachey, E.H., Courtney, H.S. (1987) *Rev. Infect. Dis.*, **9**, 475–481.
149. Дмитриева Н.Ф., Вылегжанина Е.С., Грабовская К.Б., Битко С.А., Наумова И.Б. (1986) *Вестник АМН СССР*, **7**, 30–34.
150. Abachin, E., Poyart, C., Pellegrini, E., Milohanic, E., Fiedler, F., Berche, P., Trieu-Cuot, P. (2002) *Mol. Microbiol.*, **43**, 1–14.
151. Collins, L.V., Kristian, S.A., Weidenmaier, C., Faigle, M., van Kessel, K.P.M., van Strijp, J.A.G., Götz, F., Neumeister, B., Peschel, A. (2002) *J. Infect. Dis.*, **186**, 214–219.
152. Poyart, C., Pellegrini, E., Marceau, M., Baptista, M., Jaubert, F., Lamy,

- M.-C., Trieu-Cuot, P. (2003) *Mol. Microbiol.*, **49**, 1615–1625.
153. Sela, S., Marouni, M.J., Perry, R., Barzilai, A. (2000) *FEMS Microbiol. Lett.*, **193**, 187–193
154. Aly, R., Shinefield, H. R., Litz, C., Maibach, H. I. (1980) *R. J. Infect. Dis.*, **141**, 463–465.
155. Ginsburg, I. (2002) *Lancet. Infect. Dis.*, **2**, 171–179.
156. Nau, R. Eiffert, H. (2002) *Clinical Microbiology Reviews*, **15**, 95–110.
157. Fischer, H. Tomasz A. (1984) *J. Bacteriol.*, **157**, 507–513.
158. Majcherczyk, P.A., Rubli, E., Heumann, D., Glauser, M.P., Moreillon, P. (2003) *Infect. Immun.*, **71**, 3707–3713.
159. Nummala, K., Kilpelainen, I., Zahringer, U., Vaara, M., Helander, I.M. (1995) *Mol. Microbiol.*, **16**, 271–278.
160. Loosdrecht, C.M.M., Lyklema, J., Norde, W., Schraa, G., Zehnder, A.J.B. (1987) *Appl. Environ. Microbiol.*, **53**, 1893–1897
161. Loosdrecht, C.M.M., Lyklema, J., Norde, W., Schraa, G., Zehnder, A.J. (1987) *Appl. Environ. Microbiol.*, **53**, 1898–1901.
162. Gross, M., Cramton, S.E., Götz, F., Peschel, A. (2001) *Infect. Immun.*, **69**, 3423–3426.
163. Götz, F. (2002) *Mol. Microbiol.*, **43**, 1367–1378.
164. Hogt, A.H., Dankert, J., Feijen, J. (1986) *J. Biomed. Mater. Res.*, **20**, 533–545.
165. Jansen, B., Kohnen, W. (1995) *J. Ind. Microbiol.*, **15**, 391–396.
166. Homma, H., Nagaoka, S., Mezawa, S., Matsuyama, T., Masuko, E., Ban, N., Watanabe, N., Niitsu, Y. (1996) *J. Gastroenterol.*, **31**, 836–843.
167. Baddiley, J., Davison, A. L. (1961) *J. Gen. Microbiol.*, **24**, 295–299.
168. Наумова И.Б. (1964) *Усп. биол. химии*, **6**, 199–214.
169. Knox, K. W., Wicken, A. J. (1977) *Microbiology*, 256–359
170. Yokoyama, Y., Harabuchi, Y. (2002) *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.*, **63**, 199–207.
171. van Driel, D., Wicken, A.J., Dickson, M.R., Knox, K.W. (1973) *J. Ultrastruct. Res.*, **43**, 483–497.
172. Knox, K. W., Wicken, A. J. (1973) *Bacteriol. Rev.*, **37**, 215–257.
173. Hausmann, E., Luderitz, O., Knox, K., Wicken, A.J., Weinfeld, N. (1975) *J. Dent. Res.*, **54**, 94–99.
174. Wendlinger, G., Loessner, M.J., Scherer, S. (1996) *Microbiology*, **142**, 85–92.
175. Tran, H.L., Fiedler, F., Hodgson, D. A., Kathariou, S. (1999) *Appl. Environ. Microbiol.*, **65**, 4793–4798.
176. Chatterjee, A.N. (1969) *J. Bacteriol.*, **98**, 519–527.
177. Lopez, R., Garcia, E., Garcia, P., Ronda, C., Tomasz, A. (1982) *J. Bacteriol.*, **151**, 581–90
178. Garcia, P., Martin, A.C., Lopez, R. (1997) *Microb. Drug. Resist.*, **3**, 165–176.
179. Jacobson, E.D., Landman, O.E. (1975) *J. Bacteriol.*, **124**, 445–448
180. Стрешинская Г.М., Наумова И.Б., Панина Л.И. (1979) *Микробиология*, **48**, 814–819.
181. Гавриш Е.Ю., Краузова В.И., Потехина Н.В., Карасев С.Г., Плотникова Е.Г., Коростелева Л.А., Евтушенко Л.И. (2004) *Микробиология*, **73**, 211–217.
182. Aono, R. (1990) *Biochem. J.*, **270**, 363–367.

183. *Aono, R., Ohtani, M.* (1990) *Biochem J.*, **266**, 933–936.
184. *Davison, A.L., Baddiley, J.* (1963) *Gen. Microbiol.*, **32**, 271–276.