

АДСОРБЦИЯ БАКТЕРИОФАГОВ НА КЛЕТКАХ БАКТЕРИЙ

© 2017 г. А. В. ЛЕТАРОВ^{1,2,*}, Е. Е. КУЛИКОВ^{1,3}

¹ *Институт микробиологии им. С.Н.Виноградского,
Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные
основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва;*

² *Московский государственный университет имени
М.В.Ломоносова, биологический факультет, Москва*

³ *Московский Физико-Технический Институт,
департамент молекулярной и биологической физики, Москва*

I. Введение. II. Природа фаговых рецепторов бактериальных клеток. III. Рецептор-узнающие белки бактериофагов. IV. Рецепция бактериофагов на клетках хозяина – общие вопросы. V. Кинетика адсорбции. VI. Последовательность событий при инфицировании клетки фагами. VII. Адаптация бактериальных клеток к действию бактериофагов. VIII. Адаптации адсорбционных аппаратов бактериофагов. IX. Заключение.

I. ВВЕДЕНИЕ

Прокариоты – бактерии и археи – являются важнейшим компонентом подавляющего большинства природных экосистем Земли в течение всей истории биосферы. Именно прокариотические формы жизни подготовили нашу планету для жизни эукариот, и продолжают поддерживать жизнь на Земле своим участием в разнообразных биогеохимических циклах [1]. В эукариотических организмах клетки бактерий-симбионтов необходимы для множества процессов, включая питание и защиту организма-хозяина [2–5]. Все известные на сегодня группы прокариот обладают вирусами – бактериофагами и вирусами архей, способными специфически инфицировать их клетки [6]. Вирусная инфекция приводит к глубоким изменениям в различных аспектах жизни микроорганизмов, включая их физиологию, экологию и популяционную динамику микробных сообществ. Именно бактериофаги являются естественным регулятором численности бактерий, их внутри- и межвидового разнообразия, действуя как селективный бактерицидный агент, перераспределяющий ресурсы между различными бактериальными

*Адрес для корреспонденции: letarov@gmail.com

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 15-15-00134.

популяциями. Это особенно важно в водных экосистемах, где доступность растворенного органического вещества ограничивает рост большинства гетеротрофных бактерий [7–9]. Фаговый лизис оказывает воздействие и на пространственное распределение клеток – например, через влияние на свойства и седиментацию бактериальных агрегатов [10]. Вирусная инфекция также действует как селектирующий фактор естественного отбора, поддерживающий высокое разнообразие поверхностных структур и внутриклеточных противовирусных систем бактерий и архей [11–13]. Бактериофаги и вирусы архей оказывают и непосредственное воздействие на эволюцию геномов своих хозяев – умеренные фаги, способные к интеграции в геном инфицированной клетки и прямому переносу генетической информации; также трансдуцирующие вирулентные фаги, и фаги-транспозоны [14]. Несомненно, количественно доминирующей группой вирусов прокариот являются так называемые хвостатые фаги (порядок Caudovirales). К этой группе относится до 95% охарактеризованных в настоящее время изолятов вирусов прокариот [15].

Одним из ключевых аспектов функционирования бактериофагов оказывается способность фаговой частицы к высокоспецифическому аффинному взаимодействию с определёнными консервативными структурами поверхности бактериальных клеток, обладающих биохимическим и физиологическим потенциалом для репликации или интеграции генома данного бактериофага [16, 17].

Адсорбция фаговой частицы на бактерии приводит к активации у вириона молекулярных механизмов инфекции (сокращения хвоста, эжекции ДНК и пр.), и именно взаимодействие белков адсорбционного аппарата бактериофага с рецепторными структурами поверхности бактериальной клетки необходимо для конформационного запуска фаговой инфекции [18–20]. Таким образом, специфичность адсорбции фагового вириона, а также кинетика адсорбции в первую очередь определяют, будет ли данный штамм хозяина чувствителен к соответствующему бактериофагу, а также в какой мере может быть эффективен контроль численности популяции этого штамма со стороны фаговой популяции. Последнее обстоятельство особенно важно не только для моделирования экологической динамики в естественных микробных сообществах, но и для практических приложений, среди которых в первую очередь нужно упомянуть борьбу с фаговой инфекцией на пищевых и микробиологических производствах [21] и фаговую терапию бактериальных инфекций, которая в настоящее время рассматривается в качестве важной альтернативы антибактериальной химиотерапии. Фаговая терапия в ряде

случаев позволяет решить проблемы лечения инфекций, вызванных возбудителями с высокой резистентностью к имеющимся антибактериальным препаратам [22]. Особенности адсорбции бактериофагов на клетки бактерий-хозяев, а также возникающим при этом биологическим эффектам, посвящён данный обзор.

II. ПРИРОДА ФАГОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КЛЕТОК

Разнообразие рецепторов бактериофагов определяется структурой поверхностных слоев клеток – хозяев. Примеры рецепторов различных бактериофагов можно найти в табл. У эубактерий доминируют два основных типа устройства клеточной стенки – Грам-положительный и Грам-отрицательный типы (Гр+, Гр-)[23].

У микобактерий, например, у возбудителя туберкулёза *Mycobacterium tuberculosis* имеется особое устройство клеточной стенки. Эти микроорганизмы принадлежат к ветви Гр+ бактерий, но имеют дополнительные слои клеточной стенки, сходные по некоторым свойствам со внешней мембраной [24]. У микоплазм клеточная стенка отсутствует и их фаги узнают, по-видимому, в качестве рецепторов молекулы, расположенные непосредственно на поверхности цитоплазматической мембраны.

ФАГОВЫЕ РЕЦЕПТОРЫ У ГРАМ-ОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ

Липополисахариды

Наилучшим образом на сегодня исследованы фаговые рецепторы у грам – отрицательных бактерий. Поверхность грам-отрицательной клетки образована внешней мембраной (ОМ) клеточной оболочки.

Если внутренний листок ОМ сложен в основном фосфолипидами, аналогичными фосфолипидам цитоплазматической мембраны (ЦПМ), то во внешнем листке представлены преимущественно липополисахариды (ЛПС) – конъюгаты липидов и полисахаридов (рис. 1).

Молекула ЛПС состоит из сильно полярного фосфолипида А (наиболее консервативной части), кор-олигосахарида, делящегося на внутренний и внешний кор, а также О-антигена [25].

Липид А является жизненно важным компонентом ОМ [26]. Мутанты большинства видов грам-отрицательных бактерий, неспособные к его синтезу, нежизнеспособны (исключение составляют некоторые мутанты *Haemophilus influenzae*). Наличие как минимум части внутреннего кор-ПС (одного или двух остатков Kdo (кетодезоксиоктулозоната) у *E. coli*) также необходимо для поддержания жизнеспособности. О-полисахарид (ОПС, О-антиген), напротив, не

Таблица. Примеры рецепторов некоторых бактериофагов
(«?» означает, что соответствующий рецептор или признак бактериофага не известен или отсутствует в публикациях)

Бакте- риофаг	Сем.	Род/группа	Хозяин	Первичный рецептор	Вторичный рецептор	Примечание	Ссылка
1	2	3	4	5	6	7	8
T1	S	T1-подобные	<i>E. coli</i>	?	FhuA (требу- ется TonB)	Возможно получение мутантов как хо- зяина, не требующего энергии, переда- ваемой TonB, так и фага, не зависящего от белка FhuA.	[166]
T4	M	T4-подобные	<i>E. coli, Shigella</i>	OmpC	Кор ЛПС	Фосфолипиды внутренней мембраны могут быть третьим рецептором. Фаг взаимодействует с муцином слизи через белок Нос.	[151]
T5	S	T5- подобные	<i>E. coli</i>	ЛПС О-антиген (полиманноза) – опционально	FhuA		[167]
BE23	S	T5- подобные	<i>E. coli</i>	ЛПС?	BtuB		[167]
Lambda	S	Лямбдоиды (лямбда-подоб- ные)	<i>E. coli</i>	OmpC	LamB		[90]
P22	P	Лямбдоиды (P22-подоб- ные)	<i>E. coli</i>	ЛПС О-антиген	LPS ?	Обратимая и необратимая адсорбция зависят от ЛПС	[168]
Sf6	P	?	<i>Shigella flexneri</i>	ЛПС	OmpA, OmpC	Петли 2,4 OmpA	[107, 169]
N4	P	N4-подобные	<i>E. coli</i>	?	NfrA	Низкая представленность рецептора; взаимодействие через белок несократи- мого хвоста (grb5)	[101]
G7C	P	N4-подобные	<i>E. coli</i> 4s	ЛПС О-антиген O22-подобные	Неизвестен (OmpA и ?)	Актилирование ЛПС необходимо, ре- цептор-узнающий белок фага – фермент деацетилаза	[102]

Продолжение табл. см. на сл. стр.

Продолжение табл.

1	2	3	4	5	6	7	8
AI63	P	N4-подобные	<i>E. coli</i> 4s	ЛПС О-антиген	Неизвестен (OmpA и ?)	Родственный G7C, деполимеризация вместо деацетилазной отменяет строгую зависимость от ацетилирования.	наши неопубликованные данные
CP81 и родственные фаги	M	?	<i>Campylobacter jejuni</i> NCTC12658	Экзополисахарид, модификация типа MeOPN важна для некоторых фагов.	?	Фаг F341 (CP81-подобный) может инфицировать мутант хозяина без экзополисахарида, адсорбируясь на жгутики.	[44]
CP220 и родственные фаги	M	?	<i>Campylobacter jejuni</i> NCTC12658	Подвижный жгутик	?	Необходима подвижность	[44]
NCTC12673			<i>Campylobacter jejuni</i>	Гликозилированный флагеллин	?		[170]
VP5	?	?	<i>Vibrio cholera</i> O1 El Tor	?	OmpW		[171]
phiR1-37	?	?	<i>Yersinia similis</i> O9 и другие <i>Yersinia</i>	ЛПС О-антиген	?		[172]
SSU5	S		<i>Salmonella enterica</i> , <i>Shigella</i> , <i>E. coli</i> K-12	ЛПС внешний кор	?		[173]
SI6	M	T4-подобные	<i>Salmonella</i>	OmpC	?		[174]
VP4			<i>Vibrio cholera</i> O1 El Tor	ЛПС О-антиген	?		[171]
phiX216	M	P2-подобные	<i>Burkholderia mallei</i> , <i>B. pseudomallei</i>	ЛПС О-антиген B. mallei	?	Есть указания на то, что у <i>B. pseudomallei</i> phiX216 использует другой первичный рецептор	[175]
SPC35	S	T5-подобные	<i>Salmonella enterica</i> serovar <i>Typhimurium</i>	ЛПС О-антиген	BtuB	Гликозилирование О-антигена блокирует адсорбцию фага, но при отсутствии О-антигена достаточно наличия BtuB	[176]

Продолжение табл. см. на сл. стр.

Продолжение табл. см. на сл. стр.

1	2	3	4	5	6	7	8
SPN10H (и 6 других изолятов)	S	T5-подобные	<i>S. enterica</i> serovar Typhimurium	ЛПС?	BtuB		[47]
SPN2T (и 10 других изолятов)	S	?	<i>S. enterica</i> serovar Typhimurium	Жгутик	?		[47]
SPN1S (и 6 других изолятов)	P	?	<i>S. enterica</i> serovar Typhimurium	ЛПС	?		[47]
phiA1122	P	T7-подобные	<i>Yersinia pestis</i> , <i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	?	Hep/Glc-Kdo/Ко регионы кора ЛПС		[177]
phiCb13 и phiCbK	S	?	<i>Caulobacter crescentus</i>	Жгутик	Портал пили	Фибриллярные структуры, расположенные на головке фага, взаимодействуют с подвижным жгутиком. Вирион «накручивается» на жгутик и транспортируется к полюсу клетки, где взаимодействует хвостом с порталом пили.	[97]
Mlo1	S	?	<i>Mesorhizobium loti</i>	ЛПС	ЛПС (?)	Очищенный ЛПС инактивирует фаг, так что ЛПС может являться частью вторичного рецептора.	[178]
ST27, ST29, ST35 (и, вероятно, ещё 14 неохарактеризованных фагов)	?	Неизвестно	<i>S. enterica</i> var. Typhimurium	?	TolC	Есть указания на то, что для использования фагом для проникновения в клетку белка TolC требуются и другие белки эффлюкс-насоса AcrAB-TolC	[179]
IMM-01	S	?	Энтеротоксигенные <i>E. coli</i> (ETEC)	?	CS7 фактор колонизации (пиль)		[180]

Окончание табл. см. на сл. стр.

Окончание табл.

1	2	3	4	5	6	7	8
VP3	P	T7-подобные	<i>V. cholera</i> O1 El Tor	ЛПС кор		Для чувствительности к фагам необходимо присутствие тиоредоксина	[181]
EP57	S	T5-подобные	<i>S. enterica</i> , <i>E. coli</i>	?	BtuB		[182]
37 изолятов лямблидных фагов из фекалий	?	Лямблиды	<i>E. coli</i> (?)	?	FhuA		[183]
H8	S	T5-подобные	<i>S. enterica</i> var Enteritidis	?	BtuB		[184]
OJ367	?	?	<i>Salmonella derby</i>	?	45 KDa Omp		[185]
DMS3	S	?	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	?	Пили IV типа		[186]
TLS	M	T-чётные	<i>E. coli</i>	ToIC?			[187]
Gifsy1, Gifsy2	?	?	<i>S. enterica</i> var Typhimurium	?	OmpC		[188]
K139	?	Каппа	<i>V. cholerae</i> o1 El Tor	ЛПС O-антиген	?		[189]
K20	M	T-чётные	<i>E. coli</i>	OmpF и кор LPS			[190]
phiCr30	S	?	<i>C. crescentus</i>	RsaA 130K белок S-слоя	?		[58]
AP50	Tect.	?	<i>Bacillus anthracis</i>	Sap белок S-слоя	?		[57]
CNRZ 832-B1	M	?	<i>Lactobacillus helveticus</i>	SlpH белок S-слоя	?		[191]
SPP1	S	SPP1	<i>Bacillus subtilis</i>	Гликозилированные поли(Gro-P) тейхоевые кислоты клеточной стенки	YueB	YueB – компонент системы секреции типа 7 T7SS	[55, 192]
A118, P35	S		<i>Listeria monocytogenes</i>	Серovar-специфичные тейхоевые кислоты клеточной стенки	?		[51]

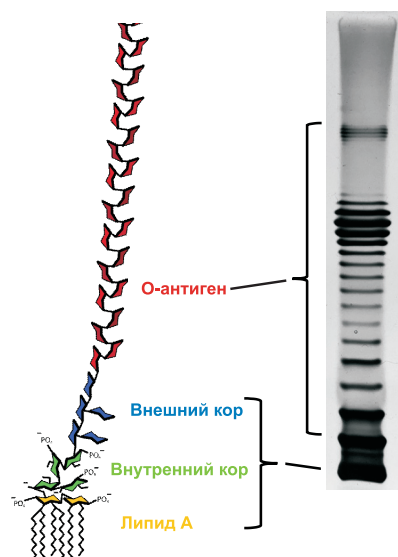


Рис. 1. Строение молекул липополисахаридов (использовано изображение © CC BY-SA 3.0).

является необходимым для жизнеспособности клетки в лабораторных условиях, несмотря на то, что полисахаридные остатки существенно повышают гидрофильность внешней поверхности бактерий. Мутанты, неспособные к синтезу ОПС, называются R (rough) мутантами из-за того, что они часто имеют менее правильную форму колоний и суховатую консистенцию биомассы, в отличие от S (smooth) штаммов, синтезирующих нормальные ОПС. Структуры звеньев ОПС у многих организмов крайне переменчивы. Так, у кишечной палочки различают уже около 200 О-серотипов, что, возможно, связано с селекцией бактерий со стороны иммунной системы (для патогенных штаммов) и бактериофагов. В то же время известно только 5 вариантов структуры кор-ОС [27]. О-антигены грам-отрицательных бактерий часто распознаются фагами в качестве первичных рецепторов [28]. Зачастую ОПС эффективно маскируют нижележащие структуры, и фагам необходимо сначала осуществить связывание с О-антигеном и, в некоторых случаях, ферментативную деградацию этой структуры, чтобы обеспечить доступ к вторичным рецепторам. Кор ЛПС также может служить рецептором бактериофагов, причем он может использоваться как в качестве первичного, так и в качестве вторичного рецептора. Некоторые фаги, например фаг *Salmonella enterica* P22, могут использовать ЛПС и в качестве первичного, и в качестве вторичного рецепторов [29, 30].

Капсульные полисахариды, экзополисахариды и иные полисахаридные молекулы

Многие грам-отрицательные, а также грам-положительные бактерии продуцируют полисахаридный материал, образующий морфологически оформленный слой над поверхностью клеточной стенки – капсулу, либо менее плотно связанный с клетками – экзополисахариды (которые, в частности, могут выполнять роль главного компонента

матрикса биопленок). Капсульные и экзо-полисахариды имеют обычно более длинные углеводные цепочки, чем ОПС. Они могут быть связаны с липидами внешней мембраны, но часто утрачивают непосредственную ковалентную связь с клеткой. Как организована тонкая структура бактериальных капсул, в настоящее время не известно. Структуры повторяющихся звеньев капсульных ПС (К-антигена) также весьма вариабельны, хотя обычно в меньшей степени, чем структуры ОПС. У *E. coli* имеются штаммы, продуцирующие в качестве К-антигена полисиаловую кислоту и хондроитин-подобные полисахариды, мимикрирующие под полисахариды клеток млекопитающих, также у бактерий часто встречается продукция колановой кислоты [31, 32]. У *Klebsiella pneumoniae* насчитывается более 80 типов К-антигена, являющегося одним из важных факторов патогенности этого опасного возбудителя госпитальных инфекций. Капсульные полисахариды очень эффективно экранируют поверхность клетки от бактериофагов, но могут использоваться в качестве первичного рецептора [33].

Помимо ОПС, К-антигена и экзо-ПС, некоторые бактерии образуют дополнительные типы полисахаридов, как например, общий антиген энтеробактерий (ЕСА – enterobacterial common antigen). Этот полисахарид консервативен у различных представителей *Enterobacteriaceae*, но ограничен данным семейством [34, 35]. Длина цепи ЕСА обычно сравнима с ОПС или несколько меньше. Этот полисахарид может быть заякорен во внешней мембране за счет ковалентной связи с фосфолипидом, но иногда может прикрепляться к кор-ПС ЛПС вместо О-антигена. У некоторых штаммов имеется также кольцевая форма ЕСА. В настоящее время данные о возможности использования ЕСА в качестве фагового рецептора отсутствуют.

Порины и другие белки внешней мембраны

Внешняя мембрана грам-отрицательных бактерий легко проницаема для воды, ионов и большинства низкомолекулярных соединений благодаря наличию в ней большого количества интегральных мембранных белков – поринов. В отличие от мембранных белков ЦПМ, богатых трансмембранными альфа-спиральными структурами, порины ОМ построены в основном из бета-структурных элементов, образующих подобие бочонка, при этом центральное отверстие оказывается проницаемым для определённых низкомолекулярных веществ [36] (рис.2).

Петлевидные участки вторичной структуры поринов, соединяющие трансмембранные сегменты с внешней стороны мембраны, могут служить рецепторами для фагов [36, 37].

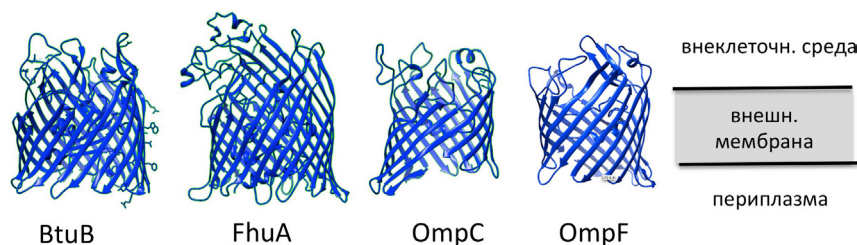


Рис. 2. Примеры структур поринов внешней мембраны *E. coli*, которые используются в качестве рецепторов бактериофагами (использовано изображение © CC BY-SA 3.0).

Порины могут служить как первичными, так и вторичными рецепторами.

В некоторых случаях белки специфических транспортных систем могут быть связаны с ЦПМ через периплазматические белки – переносчики энергии. Для некоторых фагов доставляемая таким путем энергия необходима для успешной интернализации вирусной ДНК, в других случаях достаточно одного лишь белка внешней мембраны, выступающего в качестве рецептора. Интересно, что в качестве рецепторов используются не только хорошо представленные порины, такие, как OmpA, синтезируемый у *E. coli* в количестве до 10^5 копий на клетку [38], но и редкие – такие, как NfrA (рецептор фага N4), присутствующий в числе около 5 копий на клетку [39]. Представленность белков на поверхности клетки вносит ощутимый вклад в кинетику адсорбции частиц бактериофага, при этом для успешной инфекции теоретически достаточно всего одной молекулы рецептора.

Липопотеины из-за своей естественной гидрофобности редко встречаются на поверхности большинства грам-отрицательных бактерий, располагаясь в основном на периплазматической стороне ОМ и ЦПМ, однако у некоторых спирохет они присутствуют в значительном количестве. Тем не менее, некоторые амфипатические липопотеины экспонированы на поверхности даже у энтеробактерий; так, у *E. coli* экспонированы могут быть 4 из 92 известных липопотеинов внешней мембраны [40]. Существуют также многочисленные декорирующие белки поверхности внешней мембраны, которые иногда называют поверхностными липопотеинами [41], которые могут играть роль в связывании различных внеклеточных лигандов и могут иметь значение в патогенезе инфекций, вызванных Гр- бактериями. Теоретически липопотеины тоже могут использоваться в качестве рецепторов бактериофагами, однако убедительных данных о таких системах нет.

Имеются данные, что некоторые поверхностные адгезины бактерий, в частности Ag43 у *E. coli*, стимулируют адсорбцию фагов в присутствии ингибирующих этот процесс желчных солей – естественных амфифильных поверхностно-активных веществ [42], но данных о специфическом узнавании таких структур фагами также не имеется.

Пили, жгутики и прочие выросты на поверхности ОМ

Пили и жгутики достаточно часто используются в качестве рецепторов бактериофагов. При этом в большинстве случаев сами жгутиковые нити и трубчатые структуры пилей служат первичными рецепторами. Многие фаги используют вращение жгутиков для транспорта фаговой частицы к клеточной поверхности [43–48]. Портальные структуры пилей могут служить вторичными рецепторами.

РЕЦЕПТОРЫ ФАГОВ ГРАМ-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ

Клеточная стенка Гр⁺ бактерий состоит из многослойного пептидогликана, в толще которого располагаются тейхоевые кислоты [49]. Тейхоевые кислоты клеточной стенки составляют до 50% общей массы стенки. Тейхоевые кислоты могут быть ковалентно связаны с липидами ЦПМ (липотейхоевые кислоты), а также образовывать ковалентные и нековалентные связи с пептидогликаном [50]. Тейхоевые кислоты очень часто служат рецепторами для бактериофагов [16, 51–56]. Так же, как и у Гр⁻ бактерий, роль фаговых рецепторов могут выполнять капсульные и прочие поверхностные полисахариды, а также поверхностные белки грам-положительных клеток. S-слой – паракристаллический слой белковых субъединиц, покрывающих клеточную поверхность – структура, свойственная многим штаммам как Гр⁺, так и Гр⁻ бактерий. Хотя представленность субъединиц S-слоя на поверхности очень велика (для крупной клетки, такой как *B. anthracis* – порядка 10⁵ субъединиц), данных об использовании этой структуры бактериофагами очень немного (табл.). Показано, что S-слой является рецептором как минимум для фага (тективируса) AP50 *B. anthracis* [57], для сифовируса phiCr30 *C. crescentus* [58] и для миовируса CNRZ 832-B1 *Lactobacillus helveticus* [59] (см. в табл.). Видимо, фаги специфичные к S-слою, часто избегают внимания исследователей, поскольку при длительном культивировании в лаборатории многие штаммы бактерий утрачивают эту структуру, и поэтому встречаемость подобных вирусов в природе может быть выше.

РЕЦЕПТОРЫ ФАГОВ МИКОБАКТЕРИЙ

Рецепторы фагов микобактерий изучены в очень незначительной степени. Хотя микобактерии относятся к филогенетической ветви Gr⁺ организмов, структура их клеточной стенки существенно отличается от остальных Gr⁺ микробов (Рис. 3).

Основная масса клеточной стенки *M. tuberculosis* состоит из ковалентно связанных пептидогликана, арабино-галактана и миколовой кислот, которые образуют так называемый микол-арабиногалактан-пептидогликановый комплекс (mAGP). Помимо mAGP в составе клеточной стенки присутствуют несколько вариантов различных свободных, не связанных ковалентно липидов, в том числе гликолипиды, пептидогликолипиды, сульфолпиды, фенольные гликолипиды и др. Молекулы миколовой кислоты, ковалентно связанные с арабиногалактаном, и молекулы свободных липидов образуют на поверхности клетки липидный бислой, в сущности представляющий собой внешнюю мембрану клетки (микобактериальная внешняя мембрана). Эта мембрана включает также белки, структурная организация которых близка к поринам грам-отрицательных бактерий [60].

Поверх внешней мембраны клетки микобактерий часто окружены капсулами.

Вся толща клеточной стенки пронизывается молекулами липоарабиноманнана – липополисахарида, заякоренного во внешней листке цитоплазматической мембраны.

По имеющимся данным, рецепторами фагов микобактерий чаще являются липидные соединения клеточной стенки. Так, фаг I3 *M. smegmatis* использует в качестве рецептора молекулы гликопептида – соединения, представляющего собой тетрапептид, ковалентно соединенный с липидными «хвостами» и остатком метилрамнозы [61]. Однако, для подавляющего большинства микобактериофагов рецепторы пока не идентифицированы.

III. РЕЦЕПТОР-УЗНАЮЩИЕ БЕЛКИ БАКТЕРИОФАГОВ

Адсорбционный аппарат фагов включает себя белковые адгезины или рецептор-распознающие белки (RBP – receptor binding proteins), а также другие компоненты вириона, воспринимающие сигнал от связывания RBP и отвечающие на них определенными конформационными перестройками. В него также входят дополнительные компоненты, участвующие у некоторых вирусов в модуляции работы адсорбционного аппарата. У хвостатых фагов адсорбционным аппаратом в широком

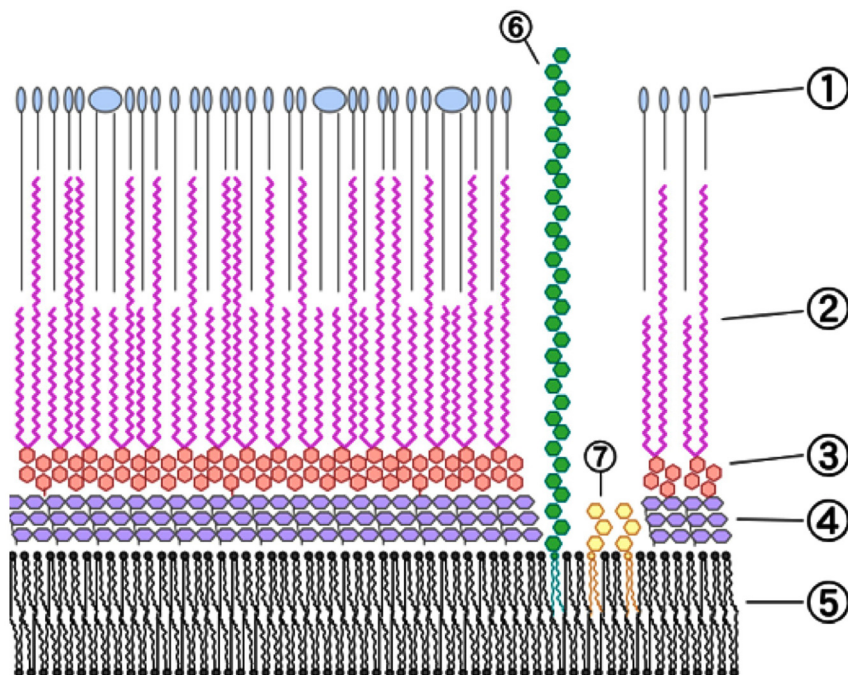


Рис. 3. Структура оболочки *M. tuberculosis*.

1 – внешние липиды, 2 – миколовые кислоты, 3 – полисахарид (арабиногалактан), 4 – пептидогликан, 5 – плазматическая мембрана, 6 – липоарабиноманнан (ЛАМ), фосфатидил-инозитолманнозид (использовано изображение © CC BY-SA 3.0).

смысле термина можно считать весь фаговый хвост вместе с некоторыми белками капсида, участвующими в проникновении ДНК через поверхностные структуры клетки и, вероятно, способных также взаимодействовать с определёнными рецепторными структурами на поверхности бактерий (декорирующие белки).

АДГЕЗИНЫ ФАГОВ И ИХ РАСПОЛОЖЕНИЕ

В большинстве случаев, распознавание первичных, как и вторичных рецепторов, осуществляется адгезинами фагового хвоста. У фагов Грам-отрицательных бактерий с длинными хвостами адгезины имеют в большинстве случаев фибриллярную природу. В основе фаговых фибрилл всегда имеется один или несколько тримерных белков, полипептидные цепи которых расположены параллельно и образуют спиральную структуру.

Как правило, такие белки имеют один или несколько элементов бета-спирали [62–66], см. также [67] и ссылки в этой работе.

N-концевые домены фибрилл предназначены для присоединения к вириону или, в случае составных фибрилл, к более проксимальным элементам. С-концевые домены обращены от вириона и могут образовывать рецептор-узнающие центры либо присоединяют отдельный рецептор-узнающий белок, который может иметь иную степень олигомерности (чаще всего мономер).

У сифовирусов грам-отрицательных хозяев, как правило, имеется осевая (центральная) фибрилла хвоста, которая предназначена для узнавания вторичного рецептора [19]. Как правило, эта фибрилла формируется единственным белком. У фага лямбда это продукт гена J. На С-конце этой фибриллы имеется домен, распознающий белок-транспортёр мальтозы LamB [68]. У фага T5 центральная фибрилла, сформированная белком pb4 на С-конце, несет мономер рецептор-связывающего белка pb5 [69].

Боковые фибриллы хвоста сифовирусов обычно необходимы для опознавания первичных рецепторов, причем их связывание не является абсолютно необходимым для взаимодействия со вторичным рецептором. Поэтому при продолжительном культивировании бактериофага на лабораторных штаммах боковые фибриллы часто утрачиваются благодаря отбору линий фагов с инактивированными генами фибрилл, так как инфицирование клеток возможно и напрямую, путем взаимодействия осевой фибриллы с соответствующим рецептором. Так, у многих лабораторных штаммов фага лямбда боковые фибриллы не образуются из-за мутации гена *stf* [70]. У сифовирусов *E.coli* мишенью боковых фибрилл обычно являются О-полисахариды ЛПС. Константа адсорбции на штаммах, продуцирующих распознаваемые фибриллами ОПС, значительно возрастает по сравнению с R-мутантами [71]. Более того, на многих штаммах ОПС полностью экранирует поверхностные рецепторы ОМ, что делает невозможным инфекцию без участия боковых фибрилл.

У миовирусов, как например у Т-четных фагов, длинные хвостовые фибриллы (ДХФ), располагающиеся на базальной пластинке, также выполняют функции распознавания первичных рецепторов.

У подовирусов также встречаются фибриллярные адгезины, как, например, у фага T7, однако более распространены белки, имеющие форму хвостовых шипов. Шипы бактериофагов в структурном плане также обычно представляют собой параллельные гомотримеры, но в отличие от фибрилл построены в основном из глобулярных доменов (рис. 4). Довольно часто хвостовые шипы обладают ферментативной активностью, позволяющей преодолевать полисахаридные слои оболочки клетки.

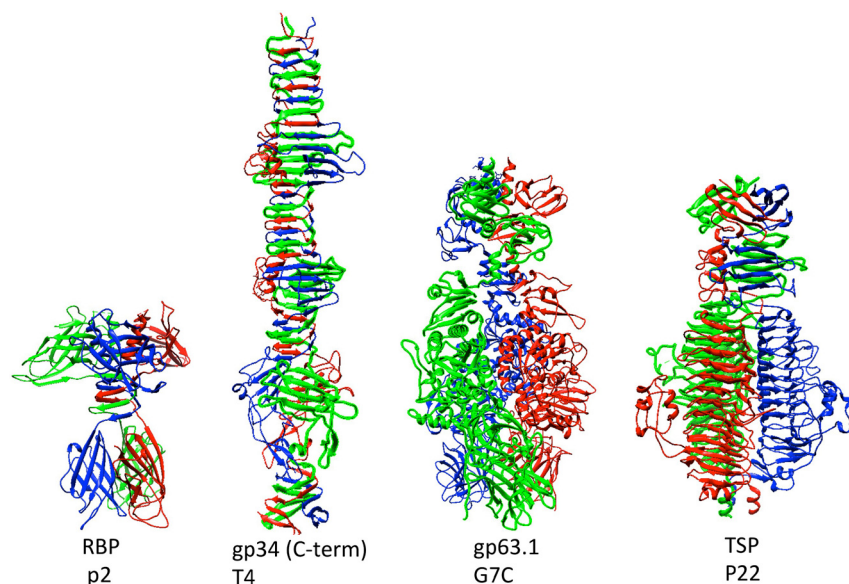


Рис. 4. Структуры рецептор-узнающего белка (RBP) лактофага p2, С-концевого фрагмента проксимальной половины ДХФ фага T4, содержащей элементы β -спирали, RBP фага G7C gp 63.1, обладающего ацетил-эстеразной активностью, модифицирующий О-антиген *E. coli* и белка хвостового шипа фага *Salmonella* P22, имеющего энзиматическую активность О-антиген-деполимеразы (ферментативный домен также имеет структуру β -спирали).

До недавнего времени адгезины в форме хвостовых шипов считались исключительным атрибутом подовирусов, но теперь обнаружены бактериофаги и других семейств, несущие такие белки. Так, миовирус энтеробактерий Vi-I и родственные ему фаги (Det7, CBA120 и др.) имеют разветвленные адгезины в виде фибрилл, несущих несколько различных типов шипов. На электронных микрофотографиях такие адгезины выглядят похожими на ладонь с растопыренными пальцами.

У T5-подобных колифагов DT57C и DT571/2 LTF имеют разветвленное строение: к длинному фибриллярному белку LtfA присоединяется более короткий белок LtfB. Оба этих белка несут по рецептор-распознающему центру, специфически взаимодействующему с определенным типом О-антигена. В результате фаг инфицирует хозяев с двумя типами О-антигена. LtfA фага DT57C опознает *E. coli* O22, а фага DT571/2 – *E. coli* O87, белки LtfB у этих фагов идентичны и узнают серотип O81 [72].

По-видимому, и у большинства других фагов разветвленные адгезины служат для расширения спектра хозяев фага, узнавая различные рецепторы. Однако нельзя исключить, что в некоторых случаях такие структуры необходимы для увеличения количества центров связывания, чтобы увеличить сродство фага к поверхности клетки за счет эффекта avidности.

Разветвленные адгезины обнаружены также и у подовирусов, например, у колифагов K1-5, phiEco32, G7C ([73, 74], P. Leiman, личное сообщение). При этом у последнего оба образующих разветвленный адгезин белка необходимы для инфекции клетки, узнавая первичный и вторичный рецепторы.

Шесть хвостовых фибрилл фага BPP1 возбудителя коклюша *Bordetella pertussis* несут на своей оконечности два соединенных между собой тримера рецептор-узнающего белка Mtd, что придает дистальной части фибриллы вид уплощенной лопасти [75]. У этого фага имеется оригинальная система повышения вариативности адгезина с помощью механизма ретрохоминга.

Описанные здесь варианты не исчерпывают структурного разнообразия адгезинов даже фагов Гр- бактерий.

По данным электронной и криоэлектронной микроскопии описано достаточно большое количество разнообразной морфологии выростов базальных пластинок различных фагов, которые, по-видимому, также способны выполнять функции адгезинов.

Для фагов Гр+ хозяев (кроме миовирусов) классические фибриллярные адгезины менее характерны. В большинстве случаев они несут рецептор-узнающие белки, по организации сходные с хвостовыми шипами. Некоторые сифовирусы Гр+ бактерий имеют подобие базальной пластинки, на которой размещены от 6 до 18 тримеров рецептор-узнающих белков [76, 77] сходных скорее с хвостовыми шипами.

У фага *Lactobacillus* J-1 и ряда других лактофагов классические рецептор-связывающие белки вообще отсутствуют, а их функции выполняют «дополнительные» полисахарид-связывающие домены, присутствующие в Dit белке, формирующем нижнее кольцо базальной структуры хвоста [78].

Тем не менее, у ряда фагов сифовирусов *Clostridium difficile* обнаружены гены фибриллярных адгезинов, участвующих в распознавании клеточной поверхности (M.R.J. Clokie, Leicester University, личное сообщение).

IV. РЕЦЕПЦИЯ БАКТЕРИОФАГОВ НА КЛЕТКАХ ХОЗЯИНА – ОБЩИЕ ВОПРОСЫ

Специфическая адсорбция бактериофагов – это реализация одной из главных функций вириона: обеспечить опознавание пригодной для репликации вируса клетки-хозяина и доставку нуклеиновой вирусной кислоты в эту клетку. С химической точки зрения адсорбция бактериофагов представляет специфическое, обычно нековалентное связывание фаговых рецептор-узнающих белков (вирусных адгезинов) с определенными молекулами на поверхности бактериальной клетки, называемыми рецепторами фага.

Молекулярное узнавание рецептора адгезином происходит на основании достаточно точного стерического соответствия рецептор-узнающего центра фагового адгезина и определенной части молекулы-рецептора [79, 80]. Таким образом непосредственное участие в опознавании фаговым адгезином принимает не вся молекула рецептора, но ее сравнительно небольшой участок, стерически соответствующий рецептор-связывающему центру вирусного белка (аналогично распознаванию антителами отдельных эпитопов на поверхности крупных молекул антигена). После первичного опознавания, видимо, наступает индуцированное соответствие структур адгезина и рецептора, приводящее к появлению конформационного сигнала, активирующего фаговую инфекцию и последующие молекулярные перестройки вириона, ведущие в конечном итоге к инфицированию клетки.

Так, например, белок-адгезин Oad (pb5) фага T5 связывается с коротким участком примерно в 7 а.к. в одной из петель белка FhuA, белка транспортера сидерофоров внешней мембраны *E. coli* [81]. Это примерно соответствует размеру типового эпитопа, узнаваемого антителами, и позволяет вести узнавание с высокой степенью специфичности (теоретически $1/20^7$). Бактериофаги, распознающие полисахариды поверхности бактериальной клетки, обычно опознают последовательности из 2–3 остатков моносахаридов благодаря наличию в структуре их адгезинов лектиновых доменов [82, 83]. Высокая степень молекулярного соответствия адгезина и рецептора позволяет достичь достаточно прочного связывания за счет электростатических, водородных и дисперсионных взаимодействий. Транзитное ковалентное связывание возможно в случае процессивных адгезинов, обладающих собственной ферментативной активностью и химически модифицирующих рецептор (гликозидазы, пептидазы и пр.) [84–86]. Специфичность молекулярного узнавания рецепторов в значительной мере ограничивает спектр хозяев, которые инфицируются данным бактериофагом, одновременно служа некоторой

гарантией того, что фаговая ДНК будет доставлена в клетки, способные поддерживать размножение вируса. За счет того, что непосредственное распознавание затрагивает лишь небольшой участок поверхностной молекулы рецептора, адсорбционная специфичность фагов может быть довольно узкой – в пределах определённой группы близких по поверхностным структурам бактериальным штаммов. Чем более консервативную структуру узнает определенный бактериофаг, тем шире будет специфичность его адсорбции, которая может, однако, ограничиваться маскированием соответствующего рецептора другими структурами или наличием у клеток механизмов устойчивости, блокирующих стадии инфекции после адсорбции.

Как правило, взаимодействие фага с поверхностью клетки может быть разделено на две фазы: обратимую и необратимую адсорбцию [17, 87, 88]. Обратимая адсорбция обеспечивает первичное опознавание клетки, иногда менее специфичное по сравнению с необратимой адсорбцией. На этой стадии возможна диссоциация фаговой частицы с поверхности клетки с сохранением жизнеспособности вирусной частицы. Переход к необратимой адсорбции обычно требует дополнительного связывания фагового белка с тем или иным вторичным рецептором, для чего могут использоваться те же самые или иные RBP, чем послужившие для обратимого связывания. После распознавания вторичного рецептора происходят перестройки структуры вириона, необходимые для организации канала для доставки генома фага через оболочки клетки и эжекции нуклеиновой кислоты. Механизмы взаимодействия с рецепторами клетки хвостатых фагов мы рассмотрим далее.

V. КИНЕТИКА АДСОРБЦИИ

Адсорбцию бактериофагов можно оценить по падению биологического титра бактериофага в растворе благодаря его адсорбции на внесённые клетки. Для определения такой зависимости фаг смешивают с клетками при большом избытке последних (низкой множественности инфекции), после чего через различные промежутки времени инфицированные клетки удаляют центрифугированием или убивают хлороформом, а оставшиеся свободные частицы бактериофага титруют с помощью посева на чашки [89]. Типичная кривая адсорбции бактериофага представлена на рис. 5.

В первом приближении адсорбция фагов имеет кинетику второго порядка [16, 87], при которой скорость реакции зависит от концент-

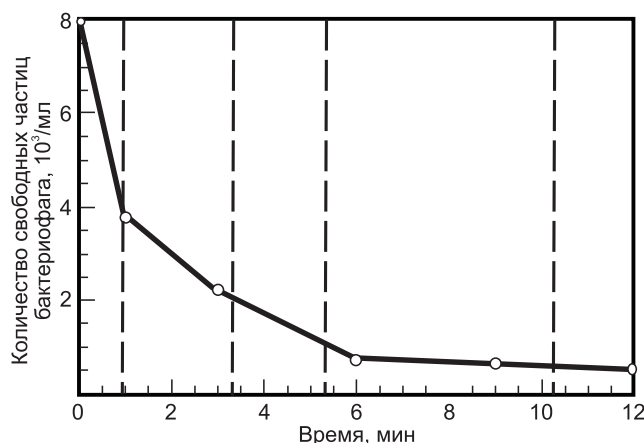


Рис. 5. Зависимость концентрации свободных частиц бактериофага G7C от времени. Концентрация клеток хозяина около 10^7 БОЕ/мл.

раций адсорбента и адсорбата – в нашем случае фагов и бактерий – взятых в первой степени:

$$-dP/dt = K[B][P],$$

где K (мл/мин) – константа адсорбции, зависящая только от температуры (а также физиологического состояния клеток и состава среды), $[B]$ и $[P]$ – текущие концентрации бактерий и клеток в момент времени t . Из этого дифференциального уравнения следует, что при большом избытке бактериальных клеток, когда их концентрация в ходе эксперимента не меняется,

$$K = B \times t \times \ln(P_0/P),$$

где B – концентрация бактериальных клеток, t – время в мин от начала эксперимента, P_0 – исходная концентрация фага в момент $t = 0$, P – концентрация свободного фага в момент t . Характерные значения K для большинства фагов – порядка 10^{-9} мл/мин. Более высокие константы до 10^{-8} мл/мин или чуть более характерны для вирусов, использующих в качестве рецепторов очень высоко представленные на поверхности клетки молекулы, например полисахариды, так что практически любые случайные соударения фаговой частицы и клетки ведут к успешной инфекции [17]. Низкие значения константы адсорбции – порядка 10^{-11} мл/мин характерны для нитчатых фагов, адсорбирующихся на конце половых пилей бактериальной клетки, а также для некоторых других фагов, использующих

низко представленные рецепторы, либо имеющих низкое сродство к фаговым рецепторам (например, из-за мутационного изменения последних) [90].

Из приведенного выше уравнения изотермы адсорбции можно вывести ряд существенных следствий. Так, при достаточно низкой концентрации фагов и бактерий – хозяев время, за которое произойдет инфицирование определенной доли клеток, необходимой для заданного увеличения популяции фага, может быть значительно больше собственно латентного периода. Соответственно, в эксперименте мы сможем наблюдать рост фаговой популяции лишь при достижении некоторой критической плотности популяции хозяев. Например, если мы можем зафиксировать рост фага при увеличении числа б.о.е. в 2 раза между двумя последовательными определениями, которые мы производим, например, один раз в час, то для успешной регистрации роста фага необходимо, чтобы за время $(1-t)$ адсорбировалось не менее $1/n$ всех фаговых частиц, где t – длина латентного периода, ч., а n – выход фага на 1 инфицированную клетку. Не сложно подсчитать, что при типичном значении константы адсорбции 10^{-9} мл/мин⁻¹, латентном периоде в 20 мин и выходе фага 100 частиц на клетку, необходимая плотность бактериальной популяции составит около 3×10^5 кл/мл⁻¹. Это объясняет наблюдаемые в эксперименте кажущиеся пороговые концентрации бактерий, необходимые для начала роста фага [91, 92]. Аналогично, если мы зададимся целью остановить рост бактериальной популяции, то необходимо, чтобы за время генерации бактерий не менее 50% были инфицированы. Соответственно, при времени генерации 20 мин. мы получим пороговую концентрацию фага около $1,8 \times 10^7$ частиц/мл⁻¹. Результаты этих подсчетов весьма контр-интуитивны, поскольку широко известно, что попадание даже одной частицы фага в пробирку с растущей культурой, содержащей миллионы клеток, может вызвать массовый лизис бактерий. Однако противоречие лишь кажущееся – в условиях такого эксперимента фаги практически не разрушаются и не выносятся за пределы системы, поэтому их концентрация быстро растет. На практике после добавления небольшого количества фага к культуре рост бактерий продолжается еще некоторое время, пока концентрация вируса не превысит пороговое значение. Для обозначения пороговой концентрации клеток, необходимой для видимого роста фага, был предложен термин «порог размножения» (multiplication treshold), а для пороговой концентрации фага – «порог затопления» (inundation threshold) [93].

Исходя из приведенных выше вычислений также следует, что часто применяемая величина множественности инфекции (количество

фагов на одну клетку) имеет смысл лишь в условиях высокой концентрации фагов и клеток. Действительно, если абсолютные концентрации низки, то даже при формально высоком отношении числа вирусных частиц к числу клеток в системе, эффективная множественность инфекции за заданное время может быть весьма мала.

Необходимо также отметить, что пороговые концентрации фагов и бактерий крайне важно учитывать при использовании фаговой инфекции как средства биологического контроля микробных популяций, в том числе – при фаговой терапии бактериальных инфекций [93, 94] при использовании фаговых препаратов для деконтаминации или сохранения пищевой продукции [95, 96] и в иных подобных приложениях.

VI. ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ СОБЫТИЙ ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ КЛЕТКИ ФАГАМИ

В деталях ранние стадии инфекции известны лишь для немногих фагов грам-отрицательных бактерий.

Как было отмечено выше, при достаточно низких концентрациях бактерий-хозяев, которые наблюдаются во многих природных экосистемах, частота встреч фаговых частиц и чувствительных клеток может быть весьма низкой. Поэтому некоторые фаги используют стратегию адсорбции, при которой сначала происходит взаимодействие, направленное на то, чтобы просто удержать вирион вблизи клетки хозяина. В отличие от классического взаимодействия с первичными рецепторами, описанного ниже, эти взаимодействия, по-видимому, не имеют прямой функциональной связи с окончательным распознаванием хозяина и инициацией инфекции.

Хотя подавляющее большинство рецептор-узнающих белков ассоциировано с хвостами фагов (у подовирусов они обычно образуют кольцо вокруг хвоста, присоединяющееся непосредственно к шейке фаговой частицы), в отдельных случаях в адсорбции могут участвовать и белки капсида. Так, у сифовируса phiCb13 *Caulobacter crescentus* имеются нитевидные выросты декорирующего белка головки, расположенные в вершинах его икосаэдрического капсида. Эти нити взаимодействуют с флагеллином жгутиков подвижных клеток *C. crescentus* и обматываются вокруг жгутиковой нити таким образом, что вращение жгутика приводит к опусканию фаговой частицы к поверхности клетки подобно гайке, скручивающейся по нарезке болта [97].

В районе полюса клетки фаг распознает вторичный рецептор (портальную структуру пили) за счет «обычных» адгезинов, расположенных на базальной структуре его хвоста. Следует отметить, что у многих иных фагов, использующих вращение жгутика, соответствующие адгезины расположены на базальной структуре хвоста.

У декорирующего белка Нос, занимающего центры гексамеров капсидного белка фага Т4, также была обнаружена способность к связыванию полисахаридных лигандов, однако ими оказались не рецепторы на поверхности бактерий, а полисахарид муцин – компонент слизи, секретируемой кишечником [98]. Предположительно это приводит к концентрированию фаговых частиц в пристеночном слое кишечника, где содержание метаболически активных хозяев (*E. coli*) значительно выше. Интересно, что белок Нос относится к числу фаговых белков, содержащих иммуноглобулин-подобные домены [99, 100]. Такие домены обнаружены у многих фагов и всегда расположены таким образом, чтобы быть экспонированными во внешнюю среду. Например, такие домены найдены на многих декорирующих белках головки, как у фагов Т4, Т5, на белках трубки хвоста у фагов лямбда и Т5, на концах воротничковых нитей бакенбард фага RB43 и на иных белках вирионов. Ig-подобные домены часто бывают весьма вариабельны по своей последовательности даже у близкородственных фагов, что наводит на мысль о том, что они служат средством адаптации к конкретным условиям среды обитания. До открытия связывания белка Нос с муцином функция этих доменов была неизвестна. Теперь имеются основания полагать, что по меньшей мере часть из них может распознавать какие-то биомолекулы, увеличивая концентрацию фагов вблизи потенциальных хозяев.

В более типичном случае, однако, обратимая и необратимая адсорбция осуществляются адгезинами, ассоциированными с хвостом фага и являют собой стадии процесса инфицирования клетки. В соответствии с двухстадийным характером адсорбции у большинства бактериофагов различают распознавание первичных и вторичных рецепторов. У некоторых бактериофагов узнавание первичных и вторичных рецепторов функционально разобщено: связывание с первичным рецептором у них необходимо, по-видимому, лишь для закрепления фага на поверхности клетки, увеличивающего вероятность успешного инфицирования при каждом столкновении с клеткой. Это связывание не является функционально необходимым для узнавания вторичного рецептора и инфекции, так что при отсутствии поверхностных структур клетки, маскирующих вторичный рецептор, инфекция может происходить напрямую, без участия адгезинов, узнающих первичный рецептор.

Так, например, фаг N4 может напрямую связываться со своим белковым рецептором NfrA посредством белка pg65, образующего подобие чехла вокруг короткого хвоста этого подовируса [101]. Этот несократимый чехол выполняет функцию рецептора, узнающего порин NfrA (Choi et al. JMB 2008). Интересно, что у большинства других N4-подобных фагов эту функцию выполняют белки шипов (Chan et al 2014, см. также Prokhoroff et al. 2017). При этом многие такие фаги реализуют иную стратегию (см. ниже).

T5-подобные вирусы также могут инфицировать лишенные поверхностного О-полисахарида штаммы бактерий за счет прямого узнавания белков-поринов внешней мембраны фаговым адгезином Oad (pb5) [81]. Однако, даже при такой стратегии, узнавание первичного рецептора классическими адгезинами, связанными с хвостом фага часто играют определяющую роль в обеспечении контакта соответствующего RBP со вторичным рецептором. Так, при инфекции T5-подобными колифагами DT57C и DT571/2 штаммов *E. coli*, лишенных О-антигена, функция боковых хвостовых фибрилл (LTF) не задействована, и мутанты фага, лишенные этой структуры, инфицируют клетки не хуже вирусов дикого типа. Однако, О-антигены многих серотипов обеспечивают 100% экранирование конечного рецептора (BtuB) что приводит к полной устойчивости несущих их клеток к данным фагам. В то же время специфическое распознавание О-антигена рецептор-связывающими доменами LTF обеспечивает эффективное заражение соответствующих штаммов [72] (рис. 6).

В других случаях связывание с первичным рецептором является необходимым для инфекции. При мутационной инактивации первичного рецептора бактериальный штамм становится устойчивым. В этом случае говорят, что фаг является зависимым от первичного рецептора [18, 102].

Такое явление наблюдается преимущественно у миовирусов, у которых связывание с первичным рецептором формирует конформационный сигнал для перестройки базальной пластинки и сокращения хвоста [64, 103, 104]. Также такие взаимоотношения описаны для подовирусов, в том числе и тех, которые обладают ферментативно-активными адгезинами [18, 73, 103, 105, 106].

Интересно, что внутри группы близких вирусов стратегия адсорбции может сильно отличаться. У N4 – подобного фага G7C и многих иных родственных фагов (в отличие от фага N4, описанного выше) связывание вторичного рецептора невозможно без предварительного распознавания первичного, то есть успешность фаговой инфекции полностью зависит от наличия у клетки обоих типов рецепторов

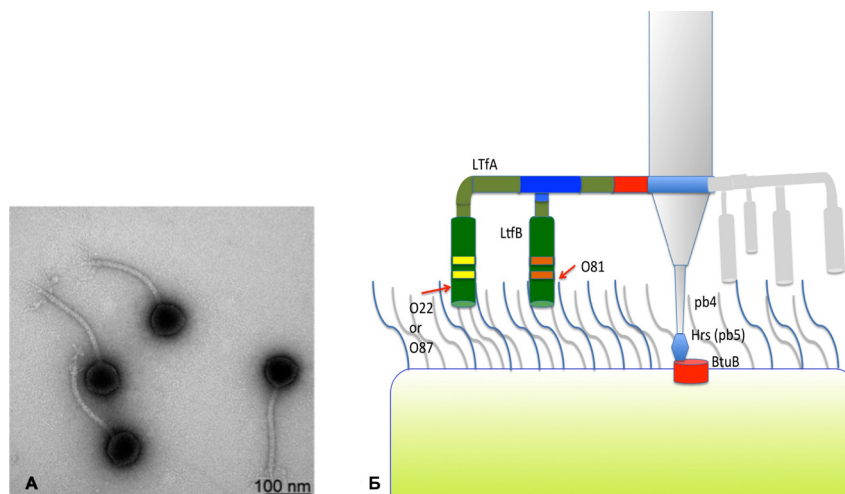


Рис. 6. А. Морфология частиц фага DT571/2 (морфология фага DT57C идентична); Б. Модель организации LTF и их взаимодействие с О-антигенами. Разветвленная фибрилла состоит из тримеров белков LtfA и LtfB. Рецептор-узнающие участки LtfA фагов DT571/2 и DT57C связываются с О-антигенами типов O87 и O22 соответственно; Одинаковые по специфичности белки LtfB дают обоим фagam возможность инфицировать хозяина с О-антигеном типа O81. С изменениями из [72].

[74, 102]. Имеющиеся данные косвенно указывают, что связывание RBP таких подовирусов с первичным рецептором генерирует конформационный сигнал, переводящий аппарат хвоста в некое «введенное» состояние, в котором он может взаимодействовать со вторичным рецептором. У фага G7C связывание с первичным рецептором – О-антигеном – является необходимой стадией инфекции [102], при этом в процессе инфекции энзиматически активный RBP фага деацетирует О-полисахарид (ОПС), удаляя единственную ацетильную группу на 6 остатков повторяющегося звена ОПС. По не вполне понятным причинам эта реакция обеспечивает проникновение фага к неидентифицированным вторичным рецепторам и успешную инфекцию клеток. При этом штамм, у которого О-ацетилирование О-антигена ингибировано в результате мутации гена ацетилазы *wclK*, оказывается устойчивым к фагу G7C [102] и не взаимодействует с рекомбинантным RBP (пг 63.1) вируса [74]. Также полной резистентностью к фагу обладают штаммы, полностью потерявшие О-антиген. По косвенным данным N.S. Prokhorov и коллеги [74] предположили, что реакция деацетилирования происходит процессивно, обеспечивая

транспорт вириона к поверхности мембраны и его активацию. Последнее обстоятельство находит свое выражение в том, что фаг может быть инактивирован препаратом ЛПС, но только в случае, если препарат получен с помощью жесткой фенольной экстракции. ЛПС, полученные с помощью обработки протеазой К, фаг не инактивируют. В то же время препараты везикул внешней мембраны, выделение которой не включает агрессивных процедур, инактивируют фаг очень эффективно. На основании этих результатов предложена следующая модель: взаимодействие пг 63.1 фага G7C обеспечивает проникновение хвоста фага к неидентифицированному вторичному рецептору (предположительно, одному из белков внешней мембраны), одновременно происходит конформационное изменение аппарата хвоста фага, которое необходимо для распознавания конечного рецептора. При длительном контакте с концентрированными препаратами ЛПС может приводить к началу освобождения ДНК и без контакта со вторичным рецептором. Эти данные согласуются с результатами крио-электронной реконструкции фага G7C (С. Назаров, EPFL, Швейцария, личное сообщение) частиц бактериофага, лишенных пг 63.1, полученных в работе [74] с помощью инфекции соответствующим амбер-мутантом непермиссивного хозяина. У этих частиц, в отличие от фага дикого типа, наблюдается морфологическое изменение (открытие) дистального конца трубчатого хвоста. Конформационный сигнал от связывания gr63.1 с О-антигеном передается через второй RBP белок фага gr66, через который gr63.1 присоединяется к вириону (рис. 7).

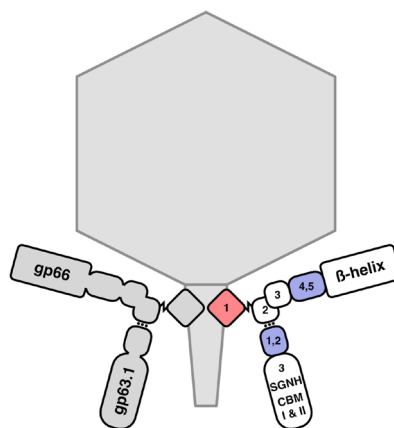


Рис. 7. Схема организации разветвленных адгезинов фага G7C, сформированных gr 66 и gr 63.1 по [64].

Рис. 7. Схема организации разветвленных адгезинов фага G7C, сформированных gr 66 и gr 63.1 по [64].

Крайне интересно, что домен пг66, к которому присоединяется gr63.1, по данным биоинформатического анализа является сходным с доменами gr10 бактериофага T4 [64], который выполняет у этого фага аналогичную роль, обеспечивая присоединение коротких и, через адапторный белок gr9, длинных хвостовых фибрилл (ДХФ). Этот белок передает сигнал от связывания ДХФ с рецепторами ко внутренним белкам базальной пластинки, что приводит к ее перестройке и сокращению хвоста.

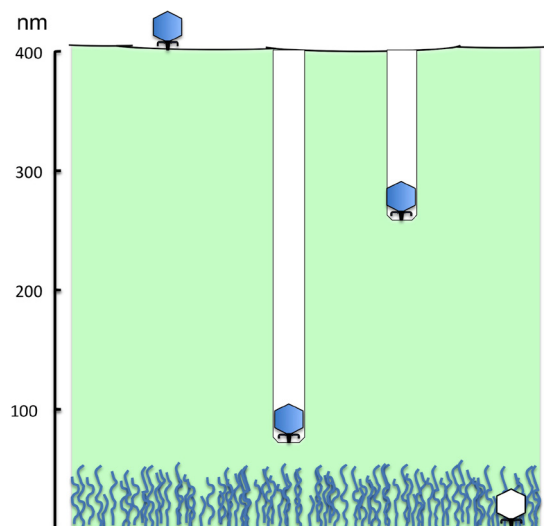


Рис. 8. Проникновение К-специфичных колифагов к поверхности клетки за счет процессивного гидролиза К-полисахарида энзиматически активными хвостовыми шипами. (По [73]).

Подобно фагу G7C, при инфекции фагом Sf6 клеток *Salmonella* также происходит активация частицы первичным рецептором. Показано, что его рецепторами являются ЛПС и белки OmpA и OmpC [107]. Однако инактивация фага препаратами белковых рецепторов происходит эффективно лишь в присутствии ЛПС.

В тех случаях, когда поверхность бактериальной клетки защищена достаточно мощным слоем экзополисахаридов, адсорбции фага на поверхности предшествует узнавание ЭПС белками фагов и энзиматическая деградация этих молекул [86]. По-видимому, для преодоления действительно толстых капсул или межклеточного матрикса биопленок у бактериофагов нет альтернативных решений. Для проникновения сквозь капсулы, по-видимому, используется процессивная реакция гидролиза, при которой разрыв следующих связей или молекул полимера происходит без диссоциации вируса. Это приводит к направленному движению частицы вглубь полисахаридного слоя. Фаг K1, инфицирующий K1-капсульные штаммы *E. coli* за счет последовательной работы своих 6 энзиматически активных хвостовых шипов, фактически осуществляет бурение «колодца» сквозь капсулу, хорошо различимого на электронных микрофотографиях (рис. 8). Достигнув поверхности клетки, фаг связывается со следующим рецептором.

Нужно отметить, что во многих случаях капсулы являются первичным рецептором, необходимым для инфекции. Так, например, упомянутый выше фаг K1 [108, 109], а также многие фаги гипермукоидных штаммов *Klebsiella* для успешной инфекции нуждаются в наличии определенного типа капсульных полисахаридов [110, 111].

При отсутствии бактериальных штаммов, лишенных массивных капсул соответствующими фагами, инфекция начинается непосредственно со взаимодействия с первичным рецептором, расположенным вблизи поверхности клетки. Но и в этом случае поверхностные полисахариды (например, О-антиген), часто подвергаются ферментативному гидролизу фаговыми белками. Такая стратегия более характерна для подовирусов, хотя энзиматически активные адгезины обнаружены и у некоторых представителей семейства *Myoviridae* [86, 112].

Первичная адсорбция многих фагов происходит преимущественно вблизи полюсов палочковидных клеток, что, вероятно, связано с неравномерным расположением белковых рецепторов на поверхности бактерий [113]. У некоторых из фагов после адсорбции происходит латеральное смещение вдоль поверхности клеток за счет диссоциации адгезинов и повторного связывания с соседними молекулами рецепторов. Такое поведение свойственно фагам, узнающим высокопредставленные на поверхности рецепторы. В результате перемещения фаги также часто мигрируют в окополярные области клетки. Латеральные перемещения фага T7 были реконструированы по данным криоэлектронной томографии инфицирующих миниклетки *E. coli* фаговых частиц [114]. Этот процесс напоминает танец, в котором фаг попеременно связывается с рецептором (кор-ОС) то одной, то другой из своих 6 фибрилл, пока наконец не произойдет узнавание неизвестного вторичного рецептора и эжекция ДНК. Фаг лямбда, который при инфицировании лабораторных штаммов *E. coli* узнает непосредственно вторичный рецептор – транспортер мальтозы LamB – также перемещается вдоль клеточной поверхности, по-видимому, мигрируя от одной молекулы LamB к другой, пока не произойдет необратимого связывания [68].

Сценарий событий, происходящих после связывания вторичного рецептора, достаточно ясен лишь для миовирусов. После связывания адгезинов базальной пластинки (как правило, фибриллярных) с рецепторами на поверхности клетки, происходит перестройка базальной пластинки [20, 103] и сокращение чехла хвоста. В результате этого внутренняя трубка хвоста погружается вглубь клеточной стенки и достигает поверхности плазматической мембраны. У фагов

Грам-отрицательных микроорганизмов на конце трубки присутствует белок или белковый комплекс, имеющий вид жесткой иглы, у основания которой могут иметься пептидогликан-гидролазные домены. Например, у фага Т4 это устройство (cell puncturing device; [64]) состоит из тримера пг 5, имеющего лизоцимный домен и образующего на С-конце жесткую тримерную β -спираль (иглу) и мономера пг 5.4 формирующего острие иглы.

Фаги грам-положительных бактерий также имеют пептидогликан-гидролазы, ассоциированные с пробкой базальной пластинки, которая при сокращении хвоста образует наконечник трубки. Детальное описание механизма перестройки базальной пластинки и молекулярных событий, лежащих в основе сокращения хвоста, можно найти в работах [20, 64].

Существуют как минимум две стратегии взаимодействия миовирусов с рецепторами клетки. У фага Т4 и многочисленных родственных ему вирусов [115, 116] имеются два набора фибриллярных адгезинов: шесть длинных хвостовых фибрилл (ДХФ), присоединенных к углам базальной пластинки, и шесть коротких хвостовых фибрилл (КХФ), сложенных под базальной пластинкой. Связывание ДХФ является сигналом для начала перестройки базальной пластинки, которое сопровождается разворачиванием коротких хвостовых фибрилл, прочно закрепляющих базальную пластинку на поверхности клетки [20, 64] [103] и препятствующих отталкиванию фага при сокращении хвоста. Таким образом, Т4-подобный фаг распознает два типа рецепторов. ДХФ фага Т4, например, связываются с белком OmpC, а КХФ взаимодействуют с ЛПС [117]. У фага Р1 короткие хвостовые фибриллы отсутствуют, поэтому удержание вируса около поверхности клетки обеспечивается за счет связывания нескольких ДХФ с коровым полисахаридом ЛПС хозяина, служащим сигналом для начала сокращения хвоста. Интересно, что у этого фага происходит отталкивание базальной пластинки от поверхности клетки от расстояния примерно 53 нм в момент начала сокращения до 90 нм у фагов с полностью сокращенным хвостом. Эти 37 нм, по-видимому, выбираются за счет упругого распрямления ДХФ, собранных из соединенных под углом половинок (как и у Т4). В результате, хотя длинный (220 нм) чехол хвоста фага Р1 сокращается на 125 нм, проникновение трубки хвоста вглубь стенки клетки ограничено примерно 30 нм, что приблизительно соответствует расстоянию до поверхности ЦПМ [104].

По-видимому, у миовирусов, которые инфицируют хозяев с массивной капсулой, реализуется более сложная стратегия. Узнавание

капсульного полисахарида и его деградация энзиматически активными адгезинами может являться необходимым этапом инфекции [111], но при этом перестройка базальной пластинки и сокращение хвоста происходит, вероятно, в результате взаимодействия с рецептором, расположенным непосредственно на поверхности клетки. Детали данной стратегии пока не расшифрованы.

У подовирусов Грам-отрицательных хозяев эжекции ДНК предшествует эжекция внутренних белков капсида, которые образуют канал через периплазматическое пространство. Обычно среди этих белков имеются молекулы с пептидогликан-гидролазными доменами, обеспечивающими образование отверстия в муреиновом слое клеточной оболочки. Экспериментально существование такого канала показано для фага T7 [114]. Он сформирован белками pg14, pg15 и pg16, которые до инфекции располагаются внутри капсида и формируют внутреннее тело [118]. Другие подовирусы также, повидимому, имеют внутренние белки, обеспечивающие транспериплазматический транспорт геномной ДНК. У фага P22 эжекция внутренних белков также предшествует эжекции ДНК, что позволяет предположить, что они также функционируют для создания транспериплазматического канала [119]. Один или несколько таких белков должны иметь пептидогликан-гидролазную активность [120] для преодоления ригидного слоя клеточной оболочки. У N4-подобных фагов эжектируемый белок представляет собой РНК-полимеразу, обеспечивающую транскрипцию ранних генов (глава кн 2006, [39]. В клетку доставляется около 6 копий этого белка. Моно-субъединичная вирионная РНК-полимераза (вРНКП) представляет собой очень большой белок, насчитывающий более 3000 а.к. В настоящее время это крупнейший полипептид, транспортируемый через трансмембранные системы у прокариот. Примечательно, что для полимеразной активности вРНКП достаточно фрагмента белка размером около 1000 а.к. [121]. Логично предположить, что одновременно с ферментативной функцией вРНКП может играть роль структурного белка транспериплазматического канала.

Тонкая структура канала у подовирусов пока не известна, однако предположительно она подобна каналу, формируемому пилотным белком фага phiX174, принадлежащего к сем. Microviridae. Этот белок образует десяти-тяжевую альфа-спиральную структуру coiled coil, внутри которой имеется достаточного размера канал, чтобы обеспечить прохождение молекулы ДНК [122]. На обоих концах полипептидные цепи имеют трансмембранные домены, которые заякоривают белок во внешней и внутренней мембранах клетки хозяина.

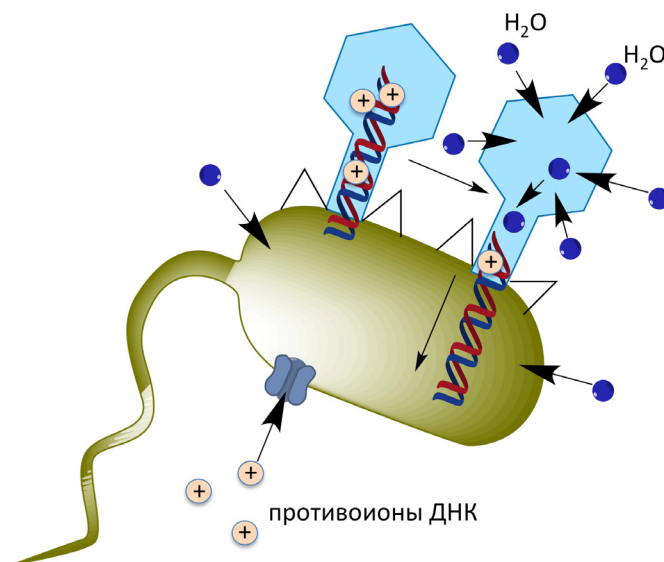
Механизмы проникновения в клетку подовирусов грам-положительных хозяев изучены плохо. У фага *Bacillus subtilis* φ29 белок gp9, образующий нижнюю утолщенную часть короткого трубчатого хвоста, имеет гидрофобные петли, расположенные внутри канала хвоста рядом с его дистальным концом. В момент инфекции петли поворачиваются и выходят наружу, погружаясь своими гидрофобными альфа-спиралями в цитоплазматическую мембрану клетки [123]. Вероятно, для инфекции фаг нуждается в присутствии пор в массивной клеточной оболочке, через которые его хвост может достичь поверхности мембраны. Высказывались предположения, что аналогичные ассоциирующиеся с мембраной петли могут быть задействованы и во взаимодействии конца трубки хвоста многих миовирусов, например T4, с цитоплазматической мембраной клетки [123].

У сифовирусов также предполагается образование канала, формируемого эжектируемыми белками. Важную роль в этом процессе играет белок-рулетка, располагающийся в канале хвоста (tape measure protein, TMP)[18]. Многие TMP белки обладают пептидогликан-гидролазной активностью и могут вызывать слияние мембран. Так, у фага T5 после взаимодействия адгезина pb5, расположенного на конце осевой фибриллы хвоста, с рецептором – порином FhuA, происходит деформация осевой фибриллы (pb4) и ее погружение в мембрану рядом с молекулой рецептора. Вслед за этим происходит выход белка TMP (pb2) и его погружение в мембрану. При этом возникает канал, пересекающий периплазматическое пространство клетки. Преодоление муреинового слоя обеспечивается энзиматической активностью белка pb2 [69].

Имеются данные, свидетельствующие, что для успешной инфекции TMP некоторых фагов могут взаимодействовать с периплазматическими белками хозяина (то есть, фактически имеется дополнительный периплазматический рецептор) [124].

После установления канала осуществляется транспорт геномной ДНК фага в клетку.

Механизмы, обеспечивающие эжекцию ДНК из головки бактериофага в клетку, не до конца понятны. Начало эжекции является, по-видимому, чисто физико-химическим процессом. Выброс ДНК из частиц T4 можно индуцировать *in vitro*, этот процесс происходит очень быстро – за несколько десятков секунд 168 т.п.н. геномной ДНК выбрасываются через канал хвоста. *In vivo* интернализация ДНК фага T4 занимает несколько минут и зависит от мембранного потенциала клетки [125](Среди источников энергии, обеспечивающих транспорт ДНК из капсида в цитоплазму называют давление ДНК, создаваемое



из-за очень высокой плотности упаковки заряженной полимерной молекулы. Вероятно, именно эта сила отвечает на начало выхода ДНК из капсида. Однако по мере опустошения головки должно было бы наблюдаться замедление транспорта ДНК, чего в реальности не происходит. Дополнительным источником энергии может быть осмотический градиент, возникающий из-за того, что определенное количество воды тратится на регидратацию декомпактизируемой ДНК, а также из-за перемещения противоионов, компенсирующих заряд ДНК. Предполагают, что вследствие проникновения в клетку бактерии части молекулы ДНК, возникает дополнительный осмотический градиент, по которому вслед за ДНК в клетку проникает некоторое количество воды. Молекулы воды могут диффундировать как сквозь мембрану, так и через стенку капсида фага. Проникающая в капсид вода вытесняет ДНК и, возможно, транспортируется вместе с ней по каналу хвоста, обеспечивая таким образом завершение вхождения всей молекулы ДНК в цитоплазму (рис. 9).

Физико-химические механизмы обладают достаточным потенциалом для транспорта фаговой ДНК и, вероятно, полностью обеспечивают этот процесс у большинства фагов (например, у T4, лямбда). Но некоторые вирусы все же используют двухстадийную стратегию интернализации генома. После входа первых нескольких

процентов ДНК процесс приостанавливается. После этого происходит транскрипция ранних или предранних генов, расположенных на вошедшем в клетку сегменте генома. Продукты этих генов обеспечивают «захват» фагом метаболизма клетки. Так, у фага Т7 на левом конце генома имеются гены ингибиторов систем рестрикции-модификации клетки хозяина, а фаг Т5 вызывает деградацию клеточной ДНК еще до завершения полной интернализации фагового генома. Полное проникновение ДНК требует активности фаговых белков, экспрессирующихся с «лидерного» сегмента генома и зависит от метаболической энергии клетки. У фага Т7 мотором, проталкивающим ДНК в клетку, является Т7-РНК-полимераза. Поэтому все гены этого вируса расположены в одной ориентации (против направления входа ДНК). У фага N4 транскрипция ранних генов с помощью собственной РНК-полимеразы, проникающей в клетку вместе с ДНК, также может вносить вклад в процесс транспорта генома, но для завершения этого процесса требуется участие других механизмов. Детали и возможное разнообразие механизмов активного транспорта ДНК ранними фаговыми белками пока не известны. Стоит заметить, однако, что у многих фагов с таким механизмом интернализации генома можно получить мутантов, вводящих всю ДНК сразу (что часто ведет к снижению выживаемости фагов при инфекции) [125], так что активный транспорт ДНК у этих вирусов является скорее всего адаптивным приобретением, а не способом компенсировать энергетическую недостаточность физико-химических механизмов проникновения генома.

VII. АДАПТАЦИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КЛЕТОК К ДЕЙСТВИЮ БАКТЕРИОФАГОВ

Одной из стратегий бактерий, используемых для модуляции адсорбции бактериофагов на их клетки, оказывается блокирование рецепторов, происходящего посредством изменения структуры или конформации рецепторных молекул. Например, золотистый стафилококк *Staphylococcus aureus* производит белок А, заякоренный во внешней мембране и способный специфически связывать домен Fc иммуноглобулинов класса G [126]. Было показано, что адсорбция фагов улучшается при снижении уровня экспрессии клетками белка А, что указывает на маскирование фаговых рецепторов этим белком [127]. Бактериофаг Т5, инфицирующий кишечную палочку, производит липопроtein Llp, способный блокировать рецептор фага – белок транспорта феррихром-железа FhuA. Белок Llp экспрес-

сируется в самом начале жизненного цикла бактериофага, что позволяет предотвратить суперинфекцию клеток, а также препятствует инаktivации потомства бактериофага посредством связывания с обломками клеток после выхода фага [128]. Некоторые бактерии способны нести плазмиды, содержащие гены белков, способных маскировать или изменять конформацию рецепторов фагов – например, кодируемый плазмидой F белок-транспортёр TraT, встраивающийся во внешнюю мембрану, способен маскировать рецептор OmpT, необходимый для инфекции широким спектром T-чётных бактериофагов *E. coli* [129].

Фазовая вариация – ещё один механизм изменения структур клеточной поверхности у некоторых бактерий, например, *Bordetella spp.*, необходимый для успешной колонизации этими бактериями различных ниш [130]. Продукция этими клетками различных токсинов, факторов адгезии и вирулентности находится под контролем двухкомпонентной системы BvgAS. Клетки в состоянии Bvg+ экспрессируют факторы колонизации и вирулентности, включающие системы секреции и белки, служащие фаговыми рецепторами (например, белок-транспортёр Prn) [131]. Клетки в состоянии Bvg- не экспрессируют этот белок, что снижает примерно в миллион раз эффективность посева фагов на такие клетки [132]. Несмотря на отсутствие первичного рецептора фага, фаговая инфекция всё же происходит, хотя с весьма низкой эффективностью – это указывает на то, что у фагов *Bordetella* (например, BPP-1) существует механизм, способный преодолевать отсутствие первичного рецептора на клеточной поверхности.

Синтез структурированных внеклеточных биополимеров некоторыми бактериями может повышать выживаемость бактерий в различных экологических нишах, защищая их от неблагоприятных физико-химических факторов, одновременно предоставляя физический барьер между фагом и бактериальным поверхностным рецептором [133–137]. Помимо капсульных полисахаридов, можно упомянуть также полиальгинаты, продуцируемые некоторыми видами рода *Pseudomonas* [135], и гиалуронаты, продуцируемые некоторыми патогенными стрептококками [138]. Интересно, что геномы многих видов стрептококков содержат профаги, кодирующие фермент гиалуронидазу, способную деградировать не только поверхностный гиалуронат бактериальных клеток, но и гиалуронат соединительных тканей поражённого патогеном организма, что способствует более глубокой колонизации организма патогенными микробами [139]. Гиалуроновый слой на поверхности бактерий препятствует инфекции

клеток большинством вирулентных фагов, но позволяет умеренным фагам стрептококков, экспрессирующих на несколько порядков большее количество гиалуронидазы, преодолевать физический барьер [140, 141].

Свободные биомолекулы, а также их комплексы, в норме присутствующие в среде с высокой плотностью микробной жизни, способны взаимодействовать с фаговыми рецепторами, маскируя или аттенуируя их. Например, микроцин J25, производимый некоторыми клетками *E. coli* при голодании, способен специфически связываться с уже известным нам белком-транспортёром железа FhuA, одновременно используемым в качестве рецептора многими колифагами, и предотвращать фаговую инфекцию. Этот микроцин используется клетками как сигнал голодания, и ингибирует рост филогенетически родственных штаммов бактерий, одновременно предотвращая гибель клеток из-за фагов благодаря конкурентному ингибированию адсорбции фага [142].

Все указанные системы адаптации клеток бактерий к наличию фагов в среде отличаются тем, что для поддержания их в активном состоянии требуется существенное количество энергии и метаболитов, кроме того, физический барьер вокруг клетки затрудняет и массообмен бактерии с окружающей средой. С этой точки зрения фазовые вариации оказываются, по-видимому, максимально эффективным механизмом транзитной резистентности бактерий к бактериофагам, позволяющим одновременно решать и другие задачи биологии бактерий.

VIII. АДАПТАЦИИ АДСОРБЦИОННЫХ АППАРАТОВ БАКТЕРИОФАГОВ

Специфичность адсорбции фагов является одним из наиболее значимых факторов, определяющих спектр хозяев этих вирусов, поэтому большая часть экологических адаптаций фагов в природных микробных сообществах происходит за счет микроэволюционных изменений адсорбционного аппарата. Однако в некоторых случаях необходимо обеспечить преимущественную инфекцию клеток, находящихся в наиболее приемлемом для репликации вируса физиологическом состоянии или фазе жизненного цикла. Для этого у некоторых фагов могут существовать простейшие молекулярные сенсоры условий среды, изменяющие активность адсорбционного аппарата. Эти механизмы носят название фенотипических адаптаций. Надо отметить, что наличие специализированных механизмов фенотипической адаптации адсорбционного аппарата является доста-

точно экзотическим свойством, присущим лишь немногим фагам, поэтому основную роль в адаптацию фагового адсорбционного аппарата к текущей экологической ситуации играют микроэволюционные процессы, основанные на случайной и/или запрограммированной изменчивости генов рецептор-узнающих белков.

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ФАГОВЫХ АДГЕЗИНОВ.

Так же, как и остальные гены бактериофагов, гены рецептор-узнающих белков подвергаются естественным мутациям. Точечные замены аминокислот в некоторых случаях могут сильно изменять сродство к рецепторам. В некоторых случаях образование новой специфичности с соответствующим изменением спектра хозяев фага удается наблюдать даже в лабораторных эволюционирующих микрокосмах. Так, например, совместное культивирование вирулентного мутанта фага лямбда и *E. coli* привело к отбору устойчивых бактерий, а затем вариантов фага, узнающих новый рецептор. Вместо белка LamB, отвечающего за транспорт мальтозы, некоторые генетические линии фага приобрели способность узнавать порин OmpF [143, 144]. Для этого оказалось необходимо накопить несколько точечных мутаций. Аналогично T4-подобный фаг PP01, инфицирующий *E. coli* O157:H7, узнающий своими ДХФ порин OmpC, адаптировался к узнаванию неидентифицированного альтернативного первичного рецептора, что дало фагу способность расти на штаммах, лишенных белка OmpC [145]. Для такого изменения специфичности оказалось достаточно 2–3 (в разных клонах) аминокислотных замен в рецептор-узнающем белке p38. Подобного рода примеры описаны и для большого числа прочих фагов.

Помимо точечных замен в вариативность рецептор-узнающих белков значительный вклад вносят рекомбинационные события (модульный механизм эволюции) [146]. Благодаря единому плану строения основных типов фаговых адгезинов гены этих белков способны рекомбинировать с образованием вполне функциональных химерных молекул. Так, фибриллярные белки фагов, как правило, содержат значительное количество бета-спиралей. В случае типичных тримерных фибрилл бета-спиральная структура представляет из себя трехгранную призму, каждая грань которой образована бета-слоем одной из трех полипептидных цепей. Эта призма скручена относительно своей продольной оси [147]. Структуры типа альфа-спирального coiled coil в фаговых фибриллах почти не встречаются (за исключением воротничковых нитей Т-четных бактериофагов) [148]. Таким образом, поскольку фибриллярные структуры построены из повторяющихся белковых мотивов, устроенных

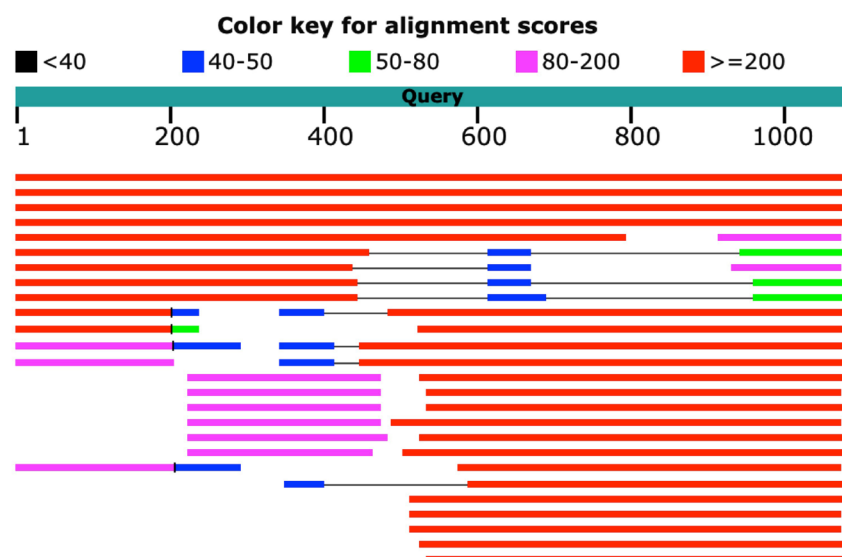


Рис. 10. Результат анализа последовательности белка боковой фибриллы фага DT57C LtfA (AJA41628.1) с помощью программы BlastP на сайте ncbi.nlm.nih.gov.

Длина последовательности 1076 а.а. Цветные линии обозначают сходство определенных частей этой последовательности с другими белками (преимущественно это белки бактериофагов). Цвет обозначает степень достоверности сходства последовательностей (score), убывающей от красного к черному. Подробнее – см. на указанном сайте.

похожим образом в различных белках, между ними возникает большое число рекомбинационных событий. Сам общий план строения в виде параллельного гомотримера подразумевает, что третичные и четвертичные контакты аминокислотных остатков в таких белках фактически лимитированы близкорасположенными в последовательности той же цепи белка аминокислотами либо аминокислотами в аналогичных позициях соседних цепей. Поэтому при рекомбинациях образующиеся химерные структуры сохраняют почти все третичные и четвертичные взаимодействия и часто оказываются вполне функциональными. Аналогичное рассуждение применимо и к белкам шипов, в которых рекомбинации достаточно свободно могут происходить по участкам, разделяющим глобулярные домены. В результате большинство последовательностей фаговых адгезинов имеют мозаичное происхождение (являются природными химерными белками), что легко выявляется при сравнении с базами данных, например, с помощью алгоритма blastP (рис. 10).

Описанные рекомбинации часто приводят к изменению спектра хозяев фага. Например, классический объект молекулярной биологии фаг Т4 имеет нетипичную для большинства Т-четных фагов структуру дистальной части дистальной половинки ДХФ. Если у фагов Т2 и Т6 (и многих иных) С-концевая часть пг 37, формирующего последние две трети дистальной половинки ДХФ, приспособлена для взаимодействия с пг38, который, собственно, и несет рецептор-узнающий участок, то у Т4 С-концевой фрагмент гена 37 и ген 38 заменены на аналогичный участок фибриллы лямбда-подобного фага и необходимый для успешного фолдинга этого белка шаперон, соответственно [149, 150]. В результате у Т4 пг38 (приобретенный в результате модульного переноса шаперон) не входит в состав вирусной частицы, а рецептор-узнающий участок расположен непосредственно на С-конце пг37. Высокий уровень сходства нуклеотидных последовательностей фага Т4 и фагов Т2 и Т6 свидетельствует, что эта замена модуля произошла в очень недавнем эволюционном прошлом. Аналогично, описано множество рекомбинационных событий внутри пг37 между различными Т4-подобными фагами, приводившие также к переносу альтернативных аллельных вариантов гена 38, что, очевидно, сопровождается сменой специфичности адсорбции [150–152]. В настоящее время еще не исследован должным образом вопрос, насколько значительный вклад такие рекомбинационные события вносят в текущую взаимную адаптацию фаговых и бактериальных популяций в реальных природных сообществах, на отрезках времени, сопоставимых с естественными циклами этих сообществ (в большинстве случаев от дней до нескольких лет). По некоторым данным применительно колифагам в кишечных экосистемах это может быть действительно так. Например, у небольшой группы изолятов N4-подобных фагов, полученных из фекалий лошадей, содержащихся на одной и той же конюшне в течение семилетнего периода, нами были описаны множественные замены рецептор-узнающих участков двух белков хвостовых шипов, в том числе – замена ферментативно активного домена (деацетилазы и деполимеразы О-антигена) ([153] и наши неопубликованные данные). По-видимому, вклад дивергенции в следствие накопления мутаций и модульных механизмов может существенно различаться в зависимости от уровня доступности пула соответствующих генов для бактериофагов, который в свою очередь, зависит от биологического разнообразия бактерий и фагов в сообществе, а также от особенностей экологических взаимоотношений в нем.

Изменчивость фаговых адгезинов может определяться не только стохастическими процессами мутирования или случайными реком-

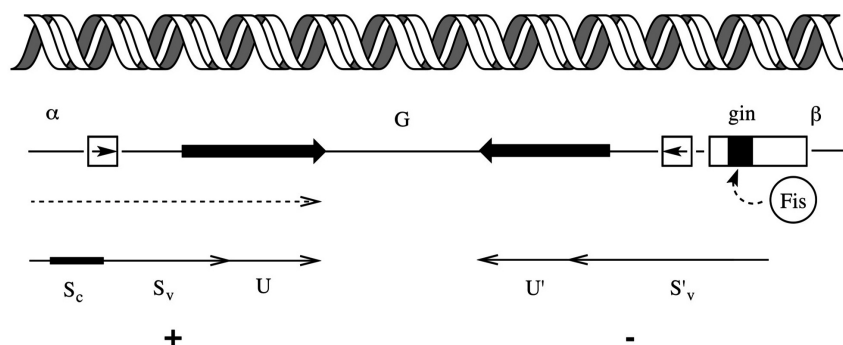


Рис. 11. Механизм переключения хозяйской специфичности у фага Мю за счет инверсии геномного сегмента. Пояснения в тексте.

бинациями. У некоторых вирусов имеются специально запрограммированные механизмы, увеличивающие вариативность рецептор-узнающих белков. У фага Мю, который представляет собой умеренный фаг-транспозон *E. coli*, имеется инвертируемый сегмент генома, называемый G-сегментом (рис. 11). G-сегмент кодирует два альтернативных варианта С-концевого домена гена рецептор-узнающей фибриллы *Sv* и *S'v* (ортолог гена боковых фибрилл фага лямбда *stf*), а также два варианта шаперона *U* (ортолог гена *tfa* фага лямбда) – соответственно *U* и *U'*.

Инвертируемый сегмент фланкирован сайтами узнавания сайт-специфической рекомбиназы *Gin*. Взаимное расположение транскрибируемого гена *S* и G-сегмента таково, что при его инверсии происходит подстановка той или иной версии С-концевого сегмента в активную копию гена. Вместе с ним «подключается» и своя копия шаперона *U*. Поскольку сайт-специфическая рекомбинация – процесс точный, сбой рамки считывания не происходит. В результате в популяции фага Мю всегда присутствует небольшая доля частиц, несущих адгезин для узнавания альтернативного круга хозяев. В положении *G+*, когда в активном локусе находится вариант *Sv+U*, фаг может инфицировать *E. coli* K12 и *Salmonella arizonae*, тогда как в ориентации *G-* фаг способен расти на штаммах *Citrobacter freundii*, *Shigella sonnei*, *Erwinia* и *Enterobacter* [154, 155]. Модули подобного типа, получившие название шаффлоны (от shuffle), встречаются и у других фагов, хотя не всегда они связаны с фазовыми вариациями спектра хозяев. Шаффлоны встречаются и у бактерий, контролируя фазовые вариации различных признаков, например, тип антигена жгутиков (флагеллина) [156].

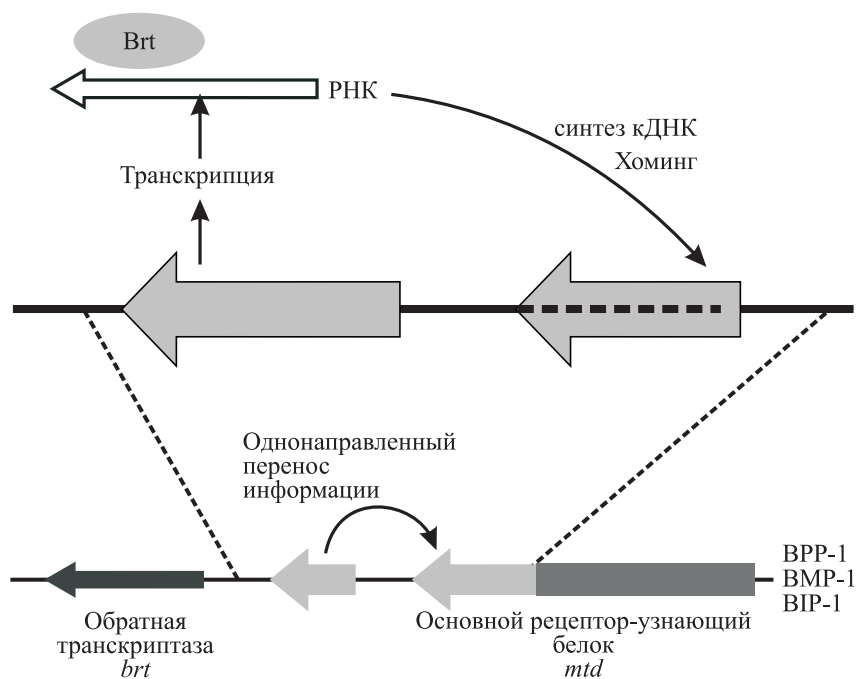


Рис. 12. Повышение вариативности гена адгезина Mtd фага BPP1 с помощью ретрохоминга.

У фагов *Bordetella pertussis* BPP1, BMP1 и VIP1 для увеличения вариативности адгезина используется механизм обратного ретрохоминга, в котором в качестве генератора изменчивости используется высокая частота ошибок при обратной транскрипции (рис. 12).

В геноме этого вируса имеется активный локус *mtd* (от major tropism determinant) и дополнительно локус TR (template region), кодирующий С-концевой сегмент белка Mtd. Эта дополнительная копия участка гена транскрибируется и затем с помощью кодируемой фагом обратной транскриптазы Brt превращается в кДНК [132]. С помощью рекомбинационного ретрохоминга (описание этого механизма можно найти в обзоре [157]).

Копия кДНК с некоторой частотой замещает последовательность С-концевого участка гена *mtd*. Для этого процесса требуются белки bRT и bAvd [157]. В результате, поскольку при обратной транскрипции в определенных нуклеотидных положениях (некоторые остатки аденина) с высокой частотой происходят ошибки, образуются новые

варианты гена *mtd*, определяющие другой вариант хозяйской специфичности. В основном эти фазовые вариации необходимы фагу для приспособления для инфекции хозяина в организме человека или во внешней среде, поскольку основной фаговый рецептор – пертактин (Prn) экспрессируется только в организме под контролем двухкомпонентной системы BvgAS, во внешней среде фаг вынужден переключаться на иные рецепторы.

Такие системы получили наименование DGR элементов (diversity generating retron element). Они имеют несколько меньшее распространение, чем шаффлоны [157]. Похожие DGR обнаружены у некоторых Мю-подобных профагов *Syntrophobotulus glycolicus* [158]. Интересно, однако, что по данным метагеномики DRGE весьма распространены у фагов, ассоциированных с кишечным микробиомом человека, где они определяют вариативность некоторых белков, среди которых найдено много белков, имеющих иммуноглобулин-подобные домены [159, 160]. Как уже отмечалось выше, фаговые Ig-подобные домены всегда экспонированы на поверхность и, по меньшей мере у T4, служат для связывания с различными молекулами, увеличивая вероятность встречи с клетками хозяев (у T4 белок hoc узнает муцин слизи кишечника [98], но вполне возможно, что какие-то из Ig-подобных доменов фагов узнают дополнительные рецепторы и на самих бактериальных клетках).

ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ АДАПТАЦИИ АДСОРБЦИОННЫХ АППАРАТОВ БАКТЕРИОФАГОВ

Изменения хозяйского спектра или скорости адсорбции в результате структурных перестроек белкового комплекса адсорбционного аппарата, не связанных с мутированием соответствующих генов, представляют собой фенотипические адаптации. Примеров таких механизмов известно очень немного, но, возможно, более пристальное изучение явлений модуляции адсорбции у различных фагов изменить наши представления о степени распространенности таких явлений.

Так называемый молекулярный сенсор бактериофага T4 и ряда родственных ему вирусов является уже практически классическим примером фенотипической адаптации вируса. T4 почти не адсорбируется при низких значениях pH, низкой ионной силе. Искусственно заблокировать переход можно добавлением полиэтилен-гликоля (6% ПЭГ 6000). У фага T2 активация адсорбции требует присутствия свободной аминокислоты триптофана.

Хотя этот феномен исследуется с 1970-х, точный механизм работы сенсора не понятен. До недавнего времени считалось, что ДХФ

свободной частицы фага могут находиться в двух альтернативных состояниях: опущенном (down) и поднятом (up), прижатом к сократимому чехлу хвоста ([148]. Предполагали, что в положении «down» ДХФ компетентны для взаимодействия с рецептором, тогда как в положении «up» они не активны. В положении «up» проксимальная половинка фибриллы образует контакты с белком чехла пг18, а дистальная – с головкой фага [161]. Кроме того дистальная половинка образует два контакта с фибритином (пг *wac*) – белком воротничка и воротничковых фибрилл. Частица фага Т4 включает 12 тримерных молекул фибритина (а не 6, как считали до недавнего времени) построенных в основном из альфа-спиральной coiled coil структуры. Шесть молекул фибритина изгибаются вниз и видны как воротничковые нити. Они контактируют с ДХФ в районе ее колена, связываясь своими С-концевыми участками с белком пг36, другие 6 изогнуты в перпендикулярной оси хвоста плоскости и формируют воротничок, взаимодействующий с более дистальным участком ДХФ, сформированным пг37 [161]. Какой из этих многочисленных контактов проявляет чувствительность к факторам среды, пока не ясно. В некоторых работах функция сенсорного элемента приписывалась фибритину, но по последним данным можно предположить, что он скорее способствует переходу down → up, чем контролирует освобождение ДХФ. Появляющиеся данные крио-электронной томографии свидетельствуют, что у подавляющего большинства частиц ДХФ находятся в поднятом состоянии (во всяком случае, в специфических условиях эксперимента). Это может означать, что модель работы сенсора нуждается в модификации. Например, речь может идти не о физическом переходе up → down у свободных частиц, а о большей или меньшей стабилизации положения up, что запрещает или разрешает разворот ДХФ в момент инфекции. Интересно, что переход фибрилл в опущенное положение лишь в момент контакта с клеточной поверхностью описан и у фага Т7. До момента адсорбции его фибриллы прижаты к капсиду [103]. Можно предположить, что молекулярный сенсор Т-чётных фагов контролирует не изменение положения ДХФ у свободных частиц, а возможность их развертывания после первичного обратимого контакта с поверхностью клетки.

В чем-то похожий механизм работает у сифовируса р2 *Lactococcus lactis*. Шесть его рецептор-узнающих белков (тримеров, сходных с хвостовыми шипами) могут поворачиваться на базальной пластинке почти на 200° в ответ на повышение концентрации ионов Ca^{2+} , переходя из ориентации «вверх» к ориентации «вниз», пригодной для взаимодействия с рецептором.

Возможно, этот механизм позволяет активировать адсорбционный аппарат вблизи поверхности клетки, где концентрация ионов Ca^{2+} выше из-за присутствия отрицательно заряженных тейхоевых кислот клеточной стенки. Также возможно, что такой механизм обеспечивает преимущественную инфекцию клеток, находящихся в молоке, тогда как во внешней среде, где бактерии-хозяева переживают неблагоприятные условия, фаг «предпочитает» оставаться в свободном состоянии [66, 77].

Два других лактофага Tr901-1 и Tuc2009 также обладают довольно своеобразным адсорбционным аппаратом, способным фенотипически адаптироваться к инфекции клеток, находящихся в логарифмической либо в стационарной фазе. Их круглые базальные пластинки несут 6 рецептор-узнающих комплексов, называемых «треножниками» (tripod), поскольку они включают по 3 тримера собственно RBP (BppL), которые объединяются вместе белками BppU и BppA. Всего таким образом базальная пластинка несет 18 тримеров RBP, что обеспечивает усиление адсорбции за счет эффекта avidности. Помимо RBP во взаимодействии с клеткой принимает участие белок Tal (tail associated lysin), образующий короткую и толстую центральную фибриллу. Свое название этот белок получил из-за наличия на его С-конце домена с пептидогликан-гидролазной активностью (пептидазой), прокладывающего путь через толстую клеточную оболочку *Lactococcus lactis*. Однако, как выяснилось, этот домен существенно необходим лишь для инфекции клеток, находящихся в стационарной фазе, уплотненный пептидогликан которых максимально перешит пептидными мостиками. У некоторых частиц в популяции белок Tal автопроцессируется за счет активности имеющегося в нем пептидазного домена. При этом С-концевая часть с пептидогликан-гидролизующим доменом удаляется. Как ни удивительно, фаги с укороченным белком Tal адсорбируются заметно быстрее, но они значительно хуже способны инфицировать клетки, близкие к стационарной фазе [162].

Возможно, что наряду с этими весьма специфическими молекулярными механизмами существует ряд «скрытых» механизмов фенотипической адаптации, свойственные гораздо более широкому спектру фагов. На кривых адсорбции большинства бактериофагов (см. например, рис. 3, [153]) можно различить две фазы: относительно быструю, для которой обычно и вычисляют константы адсорбции, и медленную, в некоторых случаях переходящую фактически в плато [16]. В реальности эти фазы перекрываются, то есть в исходной популяции фага есть преобладающая фракция, адсорбирующаяся быстро

и минорная фракция, обладающая сильно замедленной кинетикой адсорбции. Тем не менее, фаги из «медленной» или «остаточной» фракции являются жизнеспособными и образуют нормальные бляшки при высевании образцов. Для некоторых систем фаг-хозяин, например для фага лямбда и *E.coli* K-12 было показано, что потомство «медленной» фракции обладает такими же свойствами, что и исходный фаг, то есть различия в скоростях адсорбции не связано с мутациями каких либо генов [163]. Повидимому, это верно для подавляющего большинства фагов, хотя для фага T4 было показано, что указанный феномен объясняется (по меньшей мере частично) возникновением определенных, часто возникающих мутаций в гене 37 (дистальная половинка ДХФ)[164].

У некоторых фагов высота плато может быть значительно выше, чем у фага лямбда или фага G7C, и достигать десятков процентов неадсорбировавшихся частиц. Так, у фага Alt63, близкородственного фагу G7C, но отличающемуся от него вариантом белка, узнающего первичный рецептор (О-антиген), высота плато достигает 40–80%, но, что особенно интересно, зависит от плотности культуры клеток, используемой в эксперименте (чем меньше клеток, тем выше плато). Механизм такой зависимости пока не расшифрован. Механизмы образований «медленной» фракции у других фагов, за исключением T4, также не понятны. В некоторых случаях это может объясняться присутствием неполного комплекта RBP в результате aberrаций сборки или повреждения частиц. В случае фага лямбда, адсорбирующегося на *E.coli* K-12 посредством единственной осевой фибриллы, такое объяснение явно не приемлемо. Высказывались предположения, что белок J осевой фибриллы фага лямбда может обладать двумя различными структурными конформациями – нативной, достигаемой на магистральном пути фолдинга и aberrантной, отражающей локальный энергетический минимум, в который попадает часть молекул в процессе сворачивания [163]. Наконец, возможно относительно прочное, но обратимое связывание адгезинов с блокирующими молекулами, например, фрагментами рецепторов.

Адаптивное значение «остаточной» фракции по-видимому состоит в резервировании некоторой части фаговой популяции на случай возникновения условий, крайне неблагоприятных для репликации вируса в клетках. Так, фаг лямбда способен адсорбироваться на клетках, находящихся в стационарной фазе, но продукции вируса при этом не происходит и фаг гибнет. Наличие «остаточной» фракции частиц позволяет вирусу в условиях эксперимента пережить выход культуры в стационарную фазу. В некотором смысле феномен «остаточной

фракции» похож на феномен клеток-персистеров, клеток с практически подавленным метаболизмом, которые возникают с небольшой частотой в популяциях многих бактерий [165]. Эти временно «спящие» клетки не размножаются, но оказываются толерантными к воздействию большинства антибиотиков, так как нарушаемые антибиотиками процессы биосинтеза у них практически отключены. В отличие от резистентных мутантов, потомство клеток-персистеров обладает такой же чувствительностью к антибиотикам, что и исходный штамм.

IX. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Событие адсорбции – кульминационный этап существования свободной вирусной частицы, на котором реализуется запас свободной энергии, заложенный в структуре вириона в процессе морфогенеза. У бактериофагов адсорбционная специфичность является, по-видимому, ведущим фактором, ограничивающим спектр доступных хозяев. С первого взгляда может показаться, что сужение этого спектра за счет распознавания достаточно вариабельных структур – неудачное решение, выработанное под давлением каких-то дополнительных селектирующих факторов. Однако если принять во внимание, что размеры рецептор – узнающих участков фаговых адгезинов охватывают лишь считанные единицы углеводных или аминокислотных остатков рецептора, при этом при соударении фаговой частицы с клеткой вирус проводит лишь около 5 мс на достаточно близком расстоянии, из которых лишь около 1.6 мс он повернут в сторону клетки своим адсорбционным аппаратом (см. обзор Storms, Sauvageau [17]), эффективность распознавания поверхности клеток, обеспечивающая у некоторых фагов значение константы адсорбции, близкие к максимально возможным (около 10^{-8} мл/мин), не вызывает сомнений. Не смотря на сходный большое разнообразие адсорбционных аппаратов фагов и входящих в них белков, сходный план их строения создает огромные возможности комбинаторной изменчивости, в том числе за счет рекомбинаций между весьма далекими вирусными геномами. Это позволяет рассчитывать на создание эффективных искусственных систем управления хозяйской специфичностью бактериофагов, в первую очередь актуальных для разработки средств фаговой терапии нового поколения и для иных приложений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Knoll, A.H. (2015) Paleobiological perspectives on early microbial evolution, *Cold Spring Harbor Perspect. Biol.*, **7**, a018093.
2. Postler, T.S., Ghosh, S. (2017) Understanding the holobiont: how microbial metabolites affect human health and shape the immune system, *Cell Metab.*, **26**, 110–130.
3. Putnam, H.M., Barott, K.L., Ainsworth, T.D., Gates, R.D. (2017) The vulnerability and resilience of reef-building corals, *Curr. Biol.*, **27**, R528–R540.
4. Martin, F.M., Uroz, S., Barker, D.G. (2017) Ancestral alliances: plant mutualistic symbioses with fungi and bacteria, *Science*, **356**, eaad4501.
5. Takeshita, K., Kikuchi, Y. (2017) *Riptortus pedestris* and *Burkholderia* symbiont: an ideal model system for insect-microbe symbiotic associations, *Res. Microbiol.*, **168**, 175–187.
6. Clokie, M.R., Millard, A.D., Letarov, A.V., Heaphy, S. (2011) Phages in nature, *Bacteriophage*, **1**, 31–45.
7. Sime-Ngando, T. (2014) Environmental bacteriophages: viruses of microbes in aquatic ecosystems, *Front. Microbiol.*, **5**, 355.
8. Weinbauer, M.G. (2004) Ecology of prokaryotic viruses, *FEMS Microbiol. Rev.*, **28**, 127–181.
9. Weinbauer, M.G., Rassoulzadegan, F. (2004) Are viruses driving microbial diversification and diversity?, *Environ. Microbiol.*, **6**, 1–11.
10. Weinbauer, M.G., Bettarel, Y., Cattaneo, R., Luef, B., Maier, C., Motegi, C., Peduzzi, P., Mari, X. (2009) Viral ecology of organic and inorganic particles in aquatic systems: avenues for further research, *Aquat. Microb. Ecol.*, **57**, 321–341.
11. Shabbir, M.A., Hao, H., Shabbir, M.Z., Wu, Q., Sattar, A., Yuan, Z. (2016) Bacteria vs. bacteriophages: parallel evolution of immune arsenals, *Front. Microbiol.*, **7**, 1292.
12. Dy, R.L., Richter, C., Salmond, G.P., Fineran, P.C. (2014) Remarkable mechanisms in microbes to resist phage infections, *Annu. Rev. Virol.*, **1**, 307–331.
13. Samson, J.E., Magadan, A.H., Sabri, M., Moineau, S. (2013) Revenge of the phages: defeating bacterial defences, *Nat. Rev. Microbiol.*, **11**, 675–687.
14. Touchon, M., Moura de Sousa, J.A., Rocha, E.P. (2017) Embracing the enemy: the diversification of microbial gene repertoires by phage-mediated horizontal gene transfer, *Curr. Opin. Microbiol.*, **38**, 66–73.
15. King, A.M.Q., Adams, M.J., Carstens, E.B., Lefkowitz, E.J. (2012). *Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses. Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. London; Waltham, MA; San Diego, CA: Academic Press.
16. Bertozzi Silva, J., Storms, Z., Sauvageau, D. (2016) Host receptors for bacteriophage adsorption, *FEMS Microbiol. Lett.*, **363**, fnw002.
17. Storms, Z.J., Sauvageau, D. (2015) Modeling tailed bacteriophage adsorption: Insight into mechanisms, *Virology*, **485**, 355–362.
18. Casjens, S.R., Molineux, I.J. (2012) Short noncontractile tail machines: adsorption and DNA delivery by podoviruses, *Adv. Exp. Med. Biol.*, **726**, 143–179.
19. Davidson, A.R., Cardarelli, L., Pell, L.G., Radford, D.R., Maxwell, K.L. (2012) Long noncontractile tail machines of bacteriophages, *Adv. Exp. Med. Biol.*, **726**, 115–142.
20. Leiman, P.G., Shneider, M.M. (2012) Contractile tail machines of bacterio-

- phages, *Adv. Exp. Med. Biol.*, **726**, 93–114.
21. Mahony, J., van Sinderen, D. (2015) Novel strategies to prevent or exploit phages in fermentations, insights from phage-host interactions, *Curr. Opin. Biotechnol.*, **32**, 8–13.
 22. Letarov, A.V., Golomidova, A.K., Tarasyan, K.K. (2010) Ecological basis for rational phage therapy, *Acta naturae*, **2**, 60–72.
 23. Auer, G.K., Weibel, D.B. (2017) Bacterial cell mechanics, *Biochemistry*, **56**, 3710–3724.
 24. Jankute, M., Cox, J.A., Harrison, J., Besra, G.S. (2015) Assembly of the mycobacterial cell wall, *Annu. Rev. Microbiol.*, **69**, 405–423.
 25. Knirel, Y.A., Valvano, M.A. (2011). *Bacterial lipopolysaccharides: structure, chemical synthesis, biogenesis, and interaction with host cells*. Wien: Springer.
 26. Steimle, A., Autenrieth, I.B., Frick, J.S. (2016) Structure and function: Lipid A modifications in commensals and pathogens, *Int. J. Med. Microbiol.*, **306**, 290–301.
 27. Amor, K., Heinrichs, D.E., Fridrich, E., Ziebell, K., Johnson, R.P., Whitfield, C. (2000) Distribution of core oligosaccharide types in lipopolysaccharides from *Escherichia coli*, *Infect. Immun.*, **68**, 1116–1124.
 28. Nikaido, H., Vaara, M. (1985) Molecular basis of bacterial outer membrane permeability, *Microbiol. Rev.*, **49**, 1–32.
 29. Andres, D., Baxa, U., Hanke, C., Seckler, R., Barbirz, S. (2010) Carbohydrate binding of *Salmonella* phage P22 tailspike protein and its role during host cell infection, *Biochem. Soc. Trans.*, **38**, 1386–1389.
 30. Andres, D., Hanke, C., Baxa, U., Seul, A., Barbirz, S., Seckler, R. (2010) Tailspike interactions with lipopolysaccharide effect DNA ejection from phage P22 particles in vitro, *J. Biol. Chem.*, **285**, 36768–36775.
 31. Ranjit, D.K., Young, K.D. (2016) Colanic acid intermediates prevent de novo shape recovery of *Escherichia coli* spheroplasts, calling into question biological roles previously attributed to colanic acid, *J. Bacteriol.*, **198**, 1230–1240.
 32. Ren, G., Wang, Z., Li, Y., Hu, X., Wang, X. (2016) Effects of lipopolysaccharide core sugar deficiency on colanic acid biosynthesis in *Escherichia coli*, *J. Bacteriol.*, **198**, 1576–1584.
 33. Porter, N.T., Martens, E.C. (2017) The critical roles of polysaccharides in gut microbial ecology and physiology, *Annu. Rev. Microbiol.*, doi:10.1146/annurev-micro-102215-095316.
 34. Kuhn, H.M., Meier-Dieter, U., Mayer, H. (1988) ECA, the enterobacterial common antigen, *FEMS Microbiol. Rev.*, **4**, 195–222.
 35. Gozdziejewicz, T.K., Lugowski, C., Lukasiewicz, J. (2014) First evidence for a covalent linkage between enterobacterial common antigen and lipopolysaccharide in *Shigella sonnei* phase II ECALPS, *J. Biol. Chem.*, **289**, 2745–2754.
 36. Slusky, J.S. (2016) Outer membrane protein design, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **45**, 45–52.
 37. Power, M.L., Ferrari, B.C., Littlefield-Wyer, J., Gordon, D.M., Slade, M.B., Veal, D.A. (2006) A naturally occurring novel allele of *Escherichia coli* outer membrane protein A reduces sensitivity to bacteriophage, *Appl. Environ. Microbiol.*, **72**, 7930–7932.
 38. Smith, S.G., Mahon, V., Lambert, M.A., Fagan, R.P. (2007) A molecular Swiss army knife: OmpA structure, function and expression, *FEMS Microbiol. Lett.*, **273**, 1–11.
 39. Choi, K.H., McPartland, J., Kaganman, I., Bowman, V.D., Rothman-Denes, L.B., Rossmann, M.G. (2008) Insight into DNA and protein transport in double-stranded DNA viruses: the structure of bacteriophage N4., *J. Mol. Biol.*, **378**, 726–736.

40. Szewczyk, J., Collet, J.F. (2016) The journey of lipoproteins through the cell: one birthplace, multiple destinations, *Adv. Microb. Physiol.*, **69**, 1–50.
41. Hooda, Y., Lai, C.C.L., Moraes, T.F. (2017) Identification of a large family of slam-dependent surface lipoproteins in gram-negative bacteria, *Front. Cell Infect. Microbiol.*, **7**, 207.
42. Wegrzyn, G., Thomas, M.S. (2002) Modulation of the susceptibility of intestinal bacteria to bacteriophages in response to Ag43 phase variation – a hypothesis, *Med. Sci. Monit.*, **8**, HY15–18.
43. Baldvinsson, S.B., Sorensen, M.C., Vegge, C.S., Clokie, M.R., Brondsted, L. (2014) Campylobacter jejuni motility is required for infection of the flagellotropic bacteriophage F341, *Appl. Environ. Microbiol.*, **80**, 7096–7106.
44. Sorensen, M.C., Gencay, Y.E., Birk, T., Baldvinsson, S.B., Jackel, C., Hammerl, J.A., Vegge, C.S., Neve, H., Brondsted, L. (2015) Primary isolation strain determines both phage type and receptors recognised by Campylobacter jejuni bacteriophages, *PLoS One*, **10**, e0116287.
45. Choi, Y., Shin, H., Lee, J.H., Ryu, S. (2013) Identification and characterization of a novel flagellum-dependent Salmonella-infecting bacteriophage, iEPS5, *Appl. Environ. Microbiol.*, **79**, 4829–4837.
46. Lee, T.J., Schwartz, C., Guo, P. (2009) Construction of bacteriophage phi29 DNA packaging motor and its applications in nanotechnology and therapy, *Ann. Biomed. Eng.*, **37**, 2064–2081.
47. Shin, H., Lee, J.H., Kim, H., Choi, Y., Heu, S., Ryu, S. (2012) Receptor diversity and host interaction of bacteriophages infecting Salmonella enterica serovar Typhimurium, *PLoS One*, **7**, e43392.
48. Yen, J.Y., Broadway, K.M., Scharf, B.E. (2012) Minimum requirements of flagellation and motility for infection of Agrobacterium sp. strain H13-3 by flagellotropic bacteriophage 7-7-1, *Appl. Environ. Microbiol.*, **78**, 7216–7222.
49. Siegel, S.D., Liu, J., Ton-That, H. (2016) Biogenesis of the Gram-positive bacterial cell envelope, *Curr. Opin. Microbiol.*, **34**, 31–37.
50. van der Es, D., Hogendorf, W.F., Overkleef, H.S., van der Marel, G.A., Codee, J.D. (2017) Teichoic acids: synthesis and applications, *Chem. Soc. Rev.*, **46**, 1464–1482.
51. Biemann, R., Habann, M., Eugster, M.R., Lurz, R., Calendar, R., Klumpp, J., Loessner, M.J. (2015) Receptor binding proteins of Listeria monocytogenes bacteriophages A118 and P35 recognize serovar-specific teichoic acids, *Virology*, **477**, 110–118.
52. Chang, Y., Shin, H., Lee, J.H., Park, C.J., Paik, S.Y., Ryu, S. (2015) Isolation and genome characterization of the virulent Staphylococcus aureus bacteriophage SA97, *Viruses*, **7**, 5225–5242.
53. Uchiyama, J., Takemura-Uchiyama, I., Kato, S., Sato, M., Ujihara, T., Matsui, H., Hanaki, H., Daibata, M., Matsuzaki, S. (2014) In silico analysis of AHJD-like viruses, Staphylococcus aureus phages S24-1 and S13', and study of phage S24-1 adsorption, *Microbiology Open*, **3**, 257–270.
54. Xia, G., Corrigan, R.M., Winstel, V., Goerke, C., Grundling, A., Peschel, A. (2011) Wall teichoic Acid-dependent adsorption of staphylococcal siphovirus and myovirus, *J. Bacteriol.*, **193**, 4006–4009.
55. Baptista, C., Santos, M.A., Sao-Jose, C. (2008) Phage SPP1 reversible adsorption to Bacillus subtilis cell wall teichoic acids accelerates virus recognition of membrane receptor YueB, *J. Bacteriol.*, **190**, 4989–4996.

56. Ainsworth, S., Sadovskaya, I., Vinogradov, E., Courtin, P., Guerardel, Y., Mahony, J., Grard, T., Cambillau, C., Chapot-Chartier, M.P., van Sinderen, D. (2014) Differences in lactococcal cell wall polysaccharide structure are major determining factors in bacteriophage sensitivity, *MBio*, **5**, e00880–00814.
57. Plaut, R.D., Beaver, J.W., Zemansky, J., Kaur, A.P., George, M., Biswas, B., Henry, M., Bishop-Lilly, K.A., Mokashi, V., Hannah, R.M., Pope, R.K., Read, T.D., Stibitz, S., Calendar, R., Sozhamannan, S. (2014) Genetic evidence for the involvement of the S-layer protein gene *sap* and the sporulation genes *spo0A*, *spo0B*, and *spo0F* in Phage AP50c infection of *Bacillus anthracis*, *J. Bacteriol.*, **196**, 1143–1154.
58. Edwards, P., Smit, J. (1991) A transducing bacteriophage for *Caulobacter crescentus* uses the paracrystalline surface layer protein as a receptor, *J. Bacteriol.*, **173**, 5568–5572.
59. Callegari, M.L., Riboli, B., Sanders, J.W., Cocconcelli, P.S., Kok, J., Venema, G., Morelli, L. (1998) The S-layer gene of *Lactobacillus helveticus* CNRZ 892: cloning, sequence and heterologous expression, *Microbiology*, **144**, 719–726.
60. Abrahams, K.A., Besra, G.S. (2016) Mycobacterial cell wall biosynthesis: a multifaceted antibiotic target, *Parasitology*, doi: 10.1017/S0031182016002377, 1–18.
61. Chen, J., Kriakov, J., Singh, A., Jacobs, W.R., Jr., Besra, G.S., Bhatt, A. (2009) Defects in glycopeptidolipid biosynthesis confer phage I3 resistance in *Mycobacterium smegmatis*, *Microbiology*, **155**, 4050–4057.
62. Garcia-Doval, C., Caston, J.R., Luque, D., Granell, M., Otero, J.M., Llamas-Saiz, A.L., Renouard, M., Boulanger, P., van Raaij, M.J. (2015) Structure of the receptor-binding carboxy-terminal domain of the bacteriophage T5 L-Shaped tail fibre with and without its intra-molecular chaperone, *Viruses*, **7**, 6424–6440.
63. Granell, M., Namura, M., Alvira, S., Kanamaru, S., van Raaij, M.J. (2017) Crystal structure of the carboxy-terminal region of the bacteriophage T4 proximal long tail fiber protein Gp34, *Viruses*, **9**(7), 168.
64. Taylor, N.M., Prokhorov, N.S., Guerrero-Ferreira, R.C., Shneider, M.M., Browning, C., Goldie, K.N., Stahlberg, H., Leiman, P.G. (2016) Structure of the T4 baseplate and its function in triggering sheath contraction, *Nature*, **533**, 346–352.
65. Koc, C., Xia, G., Kuhner, P., Spinelli, S., Roussel, A., Cambillau, C., Stehle, T. (2016) Structure of the host-recognition device of *Staphylococcus aureus* phage varphi11, *Sci. Rep.*, **6**, 27581.
66. Sciara, G., Bebeacua, C., Bron, P., Tremblay, D., Ortiz-Lombardia, M., Lichiere, J., van Heel, M., Campanacci, V., Moineau, S., Cambillau, C. (2010) Structure of lactococcal phage p2 baseplate and its mechanism of activation, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 6852–6857.
67. Garcia-Doval, C., van Raaij, M.J. (2012) Structure of the receptor-binding carboxy-terminal domain of bacteriophage T7 tail fibers, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 9390–9395.
68. Chatterjee, S., Rothenberg, E. (2012) Interaction of bacteriophage λ with its *E. coli* receptor, LamB, *Viruses*, **4**, 3162–3178.
69. Zivanovic, Y., Confalonieri, F., Ponchon, L., Lurz, R., Chami, M., Flayhan, A., Renouard, M., Huet, A., Decottignies, P., Davidson, A.R., Breyton, C., Boulanger, P. (2014) Insights into bacteriophage T5 structure from analysis of its morphogenesis genes and protein components, *J. Virol.*, **88**, 1162–1174.
70. Gallet, R., Shao, Y., Wang, I.N. (2009) High adsorption rate is detrimental to bacteriophage fitness in a

- biofilm-like environment, *BMC Evol. Biol.*, **9**, 241.
71. Heller, K., Braun, V. (1979) Accelerated adsorption of bacteriophage T5 to *Escherichia coli* F, resulting from reversible tail fiber-lipopolysaccharide binding, *J. Bacteriol.*, **139**, 32–38.
72. Golomidova, A.K., Kulikov, E.E., Prokhorov, N.S., Guerrero-Ferreira, R., Knirel, Y.A., Kostyukova, E.S., Tarasyan, K.K., Letarov, A.V. (2016) Branched lateral tail fiber organization in T5-like bacteriophages DT57C and DT571/2 is revealed by genetic and functional analysis, *Viruses*, **8**(1), 26.
73. Leiman, P.G., Battisti, A.J., Bowman, V.D., Stummeyer, K., Muhlenhoff, M., Gerardy-Schahn, R., Scholl, D., Molineux, I.J. (2007) The structures of bacteriophages K1E and K1-5 explain processive degradation of polysaccharide capsules and evolution of new host specificities, *J. Mol. Biol.*, **371**, 836–849.
74. Prokhorov, N.S., Riccio, C., Zdorovenko, E.L., Shneider, M.M., Browning, C., Knirel, Y.A., Leiman, P.G., Letarov, A.V. (2017) Function of bacteriophage G7C esterase tailspike in host cell adsorption, *Mol. Microbiol.*, doi:10.1111/mmi.13710.
75. Dai, W., Hodes, A., Hui, W.H., Gingery, M., Miller, J.F., Zhou, Z.H. (2010) Three-dimensional structure of tropism-switching *Bordetella* bacteriophage, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 4347–4352.
76. Veasler, D., Spinelli, S., Mahony, J., Lichiere, J., Blangy, S., Bricogne, G., Legrand, P., Ortiz-Lombardia, M., Campanacci, V., van Sinderen, D., Cambillau, C. (2012) Structure of the phage TP901-1 1.8 MDa baseplate suggests an alternative host adhesion mechanism, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 8954–8958.
77. Bebeacua, C., Tremblay, D., Farenc, C., Chapot-Chartier, M.P., Sadovskaya, I., van Heel, M., Veasler, D., Moineau, S., Cambillau, C. (2013) Structure, adsorption to host, and infection mechanism of virulent lactococcal phage p2, *J. Virol.*, **87**, 12302–12312.
78. Dieterle, M.E., Spinelli, S., Sadovskaya, I., Piuri, M., Cambillau, C. (2017) Evolved distal tail carbohydrate binding modules of *Lactobacillus* phage J-1: a novel type of anti-receptor widespread among lactic acid bacteria phages, *Mol. Microbiol.*, **104**, 608–620.
79. Steinbacher, S., Baxa, U., Miller, S., Weintraub, A., Seckler, R., Huber, R. (1996) Crystal structure of phage P22 tailspike protein complexed with *Salmonella* sp. O-antigen receptors, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**, 10584–10588.
80. Lubkowski, J., Hennecke, F., Pluckthun, A., Wlodawer, A. (1999) Filamentous phage infection: crystal structure of g3p in complex with its coreceptor, the C-terminal domain of TolA, *Structure*, **7**, 711–722.
81. Mondigler, M., Holz, T., Heller, K.J. (1996) Identification of the receptor-binding regions of pb5 proteins of bacteriophages T5 and BF23, *Virology*, **219**, 19–28.
82. Broeker, N.K., Barbirz, S. (2017) Not a barrier but a key: How bacteriophages exploit host's O-antigen as an essential receptor to initiate infection, *Mol. Microbiol.*, **105**(3), 353–357.
83. Zacheus, M.V., Broeker, N.K., Lundborg, M., Uetrecht, C., Barbirz, S., Widmalm, G. (2012) Structural studies of the O-antigen polysaccharide from *Escherichia coli* TD2158 having O18 serogroup specificity and aspects of its interaction with the tailspike endoglycosidase of the infecting bacteriophage HK620, *Carbohydr. Res.*, **357**, 118–125.
84. Fischetti, V.A. (2010) Bacteriophage endolysins: a novel anti-infective to control Gram-positive pathogens, *Int. J. Med. Microbiol.*, **300**, 357–362.

85. Fischetti, V.A. (2005) Bacteriophage lytic enzymes: novel anti-infectives, *Trends Microbiol.*, **13**, 491–496.
86. Pires, D.P., Oliveira, H., Melo, L.D., Sillankorva, S., Azeredo, J. (2016) Bacteriophage-encoded depolymerases: their diversity and biotechnological applications, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **100**, 2141–2151.
87. Delbruck, M. (1940) The growth of bacteriophage and lysis of the host, *J. Gen. Physiol.*, **23**, 643–660.
88. Krueger, A.P. (1931) The sorption of bacteriophage by living and dead susceptible bacteria : I. Equilibrium conditions, *J. Gen. Physiol.*, **14**, 493–516.
89. Clokie, M.R.J., Kropinski, A.M. (2009). *Bacteriophages: methods and protocols*. New York: Humana Press.
90. Gallet, R., Kannoly, S., Wang, I.N. (2011) Effects of bacteriophage traits on plaque formation, *BMC microbiology*, **11**, 181.
91. Wiggins, B.A., Alexander, M. (1985) Minimum bacterial density for bacteriophage replication: implications for significance of bacteriophages in natural ecosystems, *Appl. Environ. Microbiol.*, **49**, 19–23.
92. Kasman, L.M., Kasman, A., Westwater, C., Dolan, J., Schmidt, M.G., Norris, J.S. (2002) Overcoming the phage replication threshold: a mathematical model with implications for phage therapy, *J. Virol.*, **76**, 5557–5564.
93. Abedon, S. (2011) Phage therapy pharmacology: calculating phage dosing, *Adv. Appl. Microbiol.*, **77**, 1–40.
94. Payne, R.J., Jansen, V.A. (2001) Understanding bacteriophage therapy as a density-dependent kinetic process, *J. Theor. Biol.*, **208**, 37–48.
95. Kazi, M., Annapure, U.S. (2016) Bacteriophage biocontrol of foodborne pathogens, *J. Food Sci. Technol.*, **53**, 1355–1362.
96. Sulakvelidze, A. (2013) Using lytic bacteriophages to eliminate or significantly reduce contamination of food by foodborne bacterial pathogens, *J. Sci. Food Agric.*, **93**, 3137–3146.
97. Guerrero-Ferreira, R.C., Viollier, P.H., Ely, B., Poindexter, J.S., Georgieva, M., Jensen, G.J., Wright, E.R. (2011) Alternative mechanism for bacteriophage adsorption to the motile bacterium *Caulobacter crescentus*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 9963–9968.
98. Barr, J.J., Auro, R., Furlan, M., Whiteson, K.L., Erb, M.L., Pogliano, J., Stotland, A., Wolkowicz, R., Cutting, A.S., Doran, K.S., Salamon, P., Youle, M., Rohwer, F. (2013) Bacteriophage adhering to mucus provide a non-host-derived immunity, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**, 10771–10776.
99. Fraser, J.S., Maxwell, K.L., Davidson, A.R. (2007) Immunoglobulin-like domains on bacteriophage: weapons of modest damage?, *Curr. Opin. Microbiol.*, **10**, 382–387.
100. Fraser, J.S., Yu, Z., Maxwell, K.L., Davidson, A.R. (2006) Ig-like domains on bacteriophages: a tale of promiscuity and deceit, *J. Mol. Biol.*, **359**, 496–507.
101. McPartland, J., Rothman-Denes, L.B. (2009) The tail sheath of bacteriophage N4 interacts with the *Escherichia coli* receptor, *J. Bacteriol.*, **191**, 525–532.
102. Chan, J.Z., Millard, A.D., Mann, N.H., Schafer, H. (2014) Comparative genomics defines the core genome of the growing N4-like phage genus and identifies N4-like Roseophage specific genes, *Front. Microbiol.*, **5**, 506.
103. Knirel, Y.A., Prokhorov, N.S., Shashkov, A.S., Ovchinnikova, O.G., Zdorovenko, E.L., Liu, B., Kostryukova, E.S., Larin, A.K., Golomidova, A.K., Letarov, A.V.

- (2015) Variations in O-antigen biosynthesis and O-acetylation associated with altered phage sensitivity in *Escherichia coli* 4s, *J. Bacteriol.*, **197**, 905–912.
104. Hu, B., Margolin, W., Molineux, I.J., Liu, J. (2015) Structural remodeling of bacteriophage T4 and host membranes during infection initiation, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **112**, E4919–E4928.
 105. Liu, J., Chen, C.Y., Shiomi, D., Niki, H., Margolin, W. (2011) Visualization of bacteriophage P1 infection by cryo-electron tomography of tiny *Escherichia coli*, *Virology*, **417**, 304–311.
 106. Andres, D., Hanke, C., Baxa, U., Seul, A., Barbirz, S., Seckler, R. (2010) Tailspike interactions with lipopolysaccharide effect DNA ejection from phage P22 particles in vitro, *J Biol Chem*, **285**, 36768–36775.
 107. Molineux, I.J. (2006). The T7 group. In Calendar, R. (Ed.), *The bacteriophages* (2nd ed., pp. 277–301). Oxford ; New York: Oxford University Press.
 108. Parent, K.N., Erb, M.L., Cardone, G., Nguyen, K., Gilcrease, E.B., Porcek, N.B., Pogliano, J., Baker, T.S., Casjens, S.R. (2014) OmpA and OmpC are critical host factors for bacteriophage Sf6 entry in *Shigella*, *Mol. Microbiol.*, **92**, 47–60.
 109. Scholl, D., Adhya, S., Merril, C. (2005) *Escherichia coli* K1's capsule is a barrier to bacteriophage T7, *Appl. Environ. Microbiol.*, **71**, 4872–4874.
 110. Scholl, D., Merril, C. (2005) The genome of bacteriophage K1F, a T7-like phage that has acquired the ability to replicate on K1 strains of *Escherichia coli*, *J. Bacteriol.*, **187**, 8499–8503.
 111. Zhan, L., Wang, S., Guo, Y., Jin, Y., Duan, J., Hao, Z., Lv, J., Qi, X., Hu, L., Chen, L., Kreiswirth, B.N., Zhang, R., Pan, J., Wang, L., Yu, F. (2017) Outbreak by hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae* ST11 isolates with carbapenem resistance in a tertiary hospital in China, *Front. Cell Infect. Microbiol.*, **7**, 182.
 112. Pan, Y.J., Lin, T.L., Chen, C.C., Tsai, Y.T., Cheng, Y.H., Chen, Y.Y., Hsieh, P.F., Lin, Y.T., Wang, J.T. (2017) *Klebsiella* phage PhiK64-1 encodes multiple depolymerases for multiple host capsular types, *J. Virol.*, **91**(6), e02457-16.
 113. Drulis-Kawa, Z., Majkowska-Skrobek, G., Maciejewska, B. (2015) Bacteriophages and phage-derived proteins--application approaches, *Curr. Med. Chem.*, **22**, 1757–1773.
 114. Edgar, R., Rokney, A., Feeney, M., Semsey, S., Kessel, M., Goldberg, M.B., Adhya, S., Oppenheim, A.B. (2008) Bacteriophage infection is targeted to cellular poles, *Mol. Microbiol.*, **68**, 1107–1116.
 115. Hu, B., Margolin, W., Molineux, I.J., Liu, J. (2013) The bacteriophage t7 virion undergoes extensive structural remodeling during infection, *Science*, **339**, 576–579.
 116. Comeau, A.M., Bertrand, C., Letaurov, A., Tétart, F., Krisch, H.M. (2007) Modular architecture of the T4 phage superfamily: a conserved core genome and a plastic periphery., *Virology*, **362**, 384–396.
 117. Desplats, C., Krisch, H.M. (2003) The diversity and evolution of the T4-type bacteriophages, *Res. Microbiol.*, **154**, 259–267.
 118. Mosig, G., Eiserling, F. (2006). T4 and related phages: structure and development. In Calendar, R. (Ed.), *The bacteriophages* (2nd ed., pp. 225–267). Oxford ; New York: Oxford University Press.
 119. Leptihn, S., Gottschalk, J., Kuhn, A. (2016) T7 ejectosome assembly: A story unfolds, *Bacteriophage*, **6**, e1128513.

120. Jin, Y., Sdao, S.M., Dover, J.A., Porcek, N.B., Knobler, C.M., Gelbart, W.M., Parent, K.N. (2015) Bacteriophage P22 ejects all of its internal proteins before its genome, *Virology*, **485**, 128–134.
121. Moak, M., Molineux, I.J. (2004) Peptidoglycan hydrolytic activities associated with bacteriophage virions, *Mol. Microbiol.*, **51**, 1169–1183.
122. Davydova, E.K., Kazmierczak, K.M., Rothman-Denes, L.B. (2003) Bacteriophage N4-coded, virion-encapsulated DNA-dependent RNA polymerase, *Methods Enzymol.*, **370**, 83–94.
123. Sun, L., Rossmann, M.G., Fane, B.A. (2014) High-resolution structure of a virally encoded DNA-translocating conduit and the mechanism of DNA penetration, *J. Virol.*, **88**, 10276–10279.
124. Xu, J., Gui, M., Wang, D., Xiang, Y. (2016) The bacteriophage varphi29 tail possesses a pore-forming loop for cell membrane penetration, *Nature*, **534**, 544–547.
125. Cumby, N., Reimer, K., Mengin-Lecreulx, D., Davidson, A.R., Maxwell, K.L. (2015) The phage tail tape measure protein, an inner membrane protein and a periplasmic chaperone play connected roles in the genome injection process of E. coli phage HK97, *Mol. Microbiol.*, **96**, 437–447.
126. Molineux, I.J., Panja, D. (2013) Popping the cork: mechanisms of phage genome ejection, *Nat. Rev. Microbiol.*, **11**, 194–204.
127. Foster, T.J. (2005) Immune evasion by staphylococci, *Nat. Rev. Microbiol.*, **3**, 948–958.
128. Nordstrom, K., Forsgren, A. (1974) Effect of protein A on adsorption of bacteriophages to *Staphylococcus aureus*, *J. Virol.*, **14**, 198–202.
129. Pedruzzi, I., Rosenbusch, J.P., Locher, K.P. (1998) Inactivation in vitro of the *Escherichia coli* outer membrane protein FhuA by a phage T5-encoded lipoprotein, *FEMS Microbiol. Lett.*, **168**, 119–125.
130. Riede, I., Eschbach, M.L. (1986) Evidence that TraT interacts with OmpA of *Escherichia coli*, *FEBS Lett.*, **205**, 241–245.
131. Uhl, M.A., Miller, J.F. (1996) Integration of multiple domains in a two-component sensor protein: the *Bordetella pertussis* BvgAS phosphorelay, *EMBO J.*, **15**, 1028–1036.
132. Beier, D., Fuchs, T.M., Graeff-Wohlleben, H., Gross, R. (1996) Signal transduction and virulence regulation in *Bordetella pertussis*, *Microbiologia*, **12**, 185–196.
133. Liu, M., Deora, R., Doulatov, S.R., Gingery, M., Eiserling, F.A., Preston, A., Maskell, D.J., Simons, R.W., Cotter, P.A., Parkhill, J., Miller, J.F. (2002) Reverse transcriptase-mediated tropism switching in *Bordetella* bacteriophage, *Science*, **295**, 2091–2094.
134. Stummeyer, K., Schwarzer, D., Claus, H., Vogel, U., Gerardy-Schahn, R., Muhlenhoff, M. (2006) Evolution of bacteriophages infecting encapsulated bacteria: lessons from *Escherichia coli* K1-specific phages, *Mol. Microbiol.*, **60**, 1123–1135.
135. Kennedy, L., Sutherland, I.W. (1994) Gellan lyases – novel polysaccharide lyases, *Microbiology*, **140**, 3007–3013.
136. Sutherland, I.W. (1995) Polysaccharide lyases, *FEMS Microbiol. Rev.*, **16**, 323–347.
137. Sutherland, I.W. (1987) Xanthan lyases – novel enzymes found in various bacterial species, *J. Gen. Microbiol.*, **133**, 3129–3134.
138. Sutherland, I.W., Hughes, K.A., Skillman, L.C., Tait, K. (2004) The interaction of phage and biofilms, *FEMS Microbiol. Lett.*, **232**, 1–6.
139. Hynes, W.L., Hancock, L., Ferretti, J.J. (1995) Analysis of a second bac-

- teriophage hyaluronidase gene from *Streptococcus pyogenes*: evidence for a third hyaluronidase involved in extracellular enzymatic activity, *Infect. Immun.*, **63**, 3015–3020.
140. McClean, D. (1941) Studies on diffusing factors: The hyaluronidase activity of testicular extracts, bacterial culture filtrates and other agents that increase tissue permeability, *Biochem. J.*, **35**, 159–183.
141. Kjems, E. (1955) Studies on streptococcal bacteriophages. I. Technique of isolating phage-producing strains, *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, **36**, 433–440.
142. Benchetrit, L.C., Gray, E.D., Wannamaker, L.W. (1977) Hyaluronidase activity of bacteriophages of group A streptococci, *Infect. Immun.*, **15**, 527–532.
143. Destoumieux-Garzon, D., Duquesne, S., Peduzzi, J., Goulard, C., Desmadril, M., Letellier, L., Rebuffat, S., Boulanger, P. (2005) The iron-siderophore transporter FhuA is the receptor for the antimicrobial peptide microcin J25: role of the microcin Val11-Pro16 beta-hairpin region in the recognition mechanism, *Biochem. J.*, **389**, 869–876.
144. Meyer, J.R., Dobias, D.T., Weitz, J.S., Barrick, J.E., Quick, R.T., Lenski, R.E. (2012) Repeatability and contingency in the evolution of a key innovation in phage lambda, *Science*, **335**, 428–432.
145. Burmeister, A.R., Lenski, R.E., Meyer, J.R. (2016) Host coevolution alters the adaptive landscape of a virus, *Proc. R. Soc. Lond., Ser. B: Biol. Sci.*, **283**, 20161528.
146. Morita, M., Fischer, C.R., Mizoguchi, K., Yoichi, M., Oda, M., Tanji, Y., Unno, H. (2002) Amino acid alterations in Gp38 of host range mutants of PP01 and evidence for their infection of an ompC null mutant of *Escherichia coli* O157:H7, *FEMS Microbiol. Lett.*, **216**, 243–248.
147. Sandmeier, H. (1994) Acquisition and rearrangement of sequence motifs in the evolution of bacteriophage tail fibres, *Mol. Microbiol.*, **12**, 343–350.
148. Buth, S.A., Menin, L., Shneider, M.M., Engel, J., Boudko, S.P., Leiman, P.G. (2015) Structure and biophysical properties of a triple-stranded beta-helix comprising the central spike of bacteriophage T4, *Viruses*, **7**, 4676–4706.
149. Letarov, A., Manival, X., Desplats, C., Krisch, H.M. (2005) gpwac of the T4-type bacteriophages: structure, function, and evolution of a segmented coiled-coil protein that controls viral infectivity, *J. Bacteriol.*, **187**, 1055–1066.
150. George, D.G., Yeh, L.S., Barker, W.C. (1983) Unexpected relationships between bacteriophage lambda hypothetical proteins and bacteriophage T4 tail-fiber proteins, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **115**, 1061–1068.
151. Trojet, S.N., Caumont-Sarcos, A., Perrody, E., Comeau, A.M., Krisch, H.M. (2011) The gp38 adhesins of the T4 superfamily: a complex modular determinant of the phage's host specificity, *Genome Biol. Evol.*, **3**, 674–686.
152. Tetart, F., Desplats, C., Kutateladze, M., Monod, C., Ackermann, H.W., Krisch, H.M. (2001) Phylogeny of the major head and tail genes of the wide-ranging T4-type bacteriophages, *J. Bacteriol.*, **183**, 358–366.
153. Yoichi, M., Abe, M., Miyanaga, K., Unno, H., Tanji, Y. (2005) Alteration of tail fiber protein gp38 enables T2 phage to infect *Escherichia coli* O157:H7, *J. Biotechnol.*, **115**, 101–107.
154. Kulikov, E., Kropinski, A.M., Golomidova, A., Lingohr, E., Govorun,

- V., Serebryakova, M., Prokhorov, N., Letarova, M., Manykin, A., Strotskaya, A., Letarov, A. (2012) Isolation and characterization of a novel indigenous intestinal N4-related coliphage vB_EcoP_G7C, *Virology*, **426**, 93–99.
155. Plasterk, R.H., Brinkman, A., van de Putte, P. (1983) DNA inversions in the chromosome of *Escherichia coli* and in bacteriophage Mu: relationship to other site-specific recombination systems, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **80**, 5355–5358.
156. Grundy, F.J., Howe, M.M. (1984) Involvement of the invertible G segment in bacteriophage mu tail fiber biosynthesis, *Virology*, **134**, 296–317.
157. Johnson, R.C. (1991) Mechanism of site-specific DNA inversion in bacteria, *Curr. Opin. Genet. Dev.*, **1**, 404–411.
158. Guo, H., Arambula, D., Ghosh, P., Miller, J.F. (2014) Diversity-generating Retroelements in Phage and Bacterial Genomes, *Microbiol. Spectr.*, **2**(6), doi:10.1128/microbiolspec.MDNA3-0029-2014.
159. Toussaint, A. (2013) Transposable Mu-like phages in Firmicutes: new instances of divergence generating retroelements, *Res. Microbiol.*, **164**, 281–287.
160. Ye, Y. (2014) Identification of diversity-generating retroelements in human microbiomes, *Int. J. Mol. Sci.*, **15**, 14234–14246.
161. Minot, S., Grunberg, S., Wu, G.D., Lewis, J.D., Bushman, F.D. (2012) Hypervariable loci in the human gut virome, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 3962–3966.
162. Fokine, A., Zhang, Z., Kanamaru, S., Bowman, V.D., Aksyuk, A.A., Arisaka, F., Rao, V.B., Rossmann, M.G. (2013) The molecular architecture of the bacteriophage T4 neck, *J. Mol. Biol.*, **425**, 1731–1744.
163. Stockdale, S.R., Mahony, J., Courtin, P., Chapot-Chartier, M.P., van Pijkeren, J.P., Britton, R.A., Neve, H., Heller, K.J., Aideh, B., Vogensen, F.K., van Sinderen, D. (2013) The lactococcal phages Tuc2009 and TP901-1 incorporate two alternate forms of their tail fiber into their virions for infection specialization, *J. Biol. Chem.*, **288**, 5581–5590.
164. Gallet, R., Lenormand, T., Wang, I.N. (2012) Phenotypic stochasticity protects lytic bacteriophage populations from extinction during the bacterial stationary phase, *Evolution*, **66**, 3485–3494.
165. Storms, Z.J., Sauvageau, D. (2014) Evidence that the heterogeneity of a T4 population is the result of heritable traits, *PLoS One*, **9**, e116235.
166. Fisher, R.A., Gollan, B., Helaine, S. (2017) Persistent bacterial infections and persister cells, *Nat. Rev. Microbiol.*, **15**, 453–464.
167. Langenscheid, J., Killmann, H., Braun, V. (2004) A FhuA mutant of *Escherichia coli* is infected by phage T1-independent of TonB, *FEMS Microbiol. Lett.*, **234**, 133–137.
168. Sayers, J. (2006). Bacteriophage T5. In Calendar, R. (Ed.), *The Bacteriophages* (2nd ed., pp. 268–276). Oxford ; New York: Oxford University Press.
169. Andres, D., Roske, Y., Doering, C., Heinemann, U., Seckler, R., Barbirz, S. (2012) Tail morphology controls DNA release in two *Salmonella* phages with one lipopolysaccharide receptor recognition system, *Mol. Microbiol.*, **83**, 1244–1253.
170. Porcek, N.B., Parent, K.N. (2015) Key residues of *S. flexneri* OmpA mediate infection by bacteriophage Sf6, *J. Mol. Biol.*, **427**, 1964–1976.
171. Javed, M.A., van Alphen, L.B., Sacher, J., Ding, W., Kelly, J., Nargang, C., Smith, D.F., Cummings,

- R.D., Szymanski, C.M. (2015) A receptor-binding protein of *Campylobacter jejuni* bacteriophage NCTC 12673 recognizes flagellin glycosylated with acetamidino-modified pseudaminic acid, *Mol. Microbiol.*, **95**, 101–115.
172. Xu, D., Zhang, J., Liu, J., Xu, J., Zhou, H., Zhang, L., Zhu, J., Kan, B. (2014) Outer membrane protein OmpW is the receptor for typing phage VP5 in the *Vibrio cholerae* O1 El Tor biotype, *J. Virol.*, **88**, 7109–7111.
 173. Beczala, A., Ovchinnikova, O.G., Datta, N., Mattinen, L., Knapska, K., Radziejewska-Lebrecht, J., Holst, O., Skurnik, M. (2015) Structure and genetic basis of *Yersinia similis* serotype O:9 O-specific polysaccharide, *Innate Immun.*, **21**, 3–16.
 174. Kim, M., Kim, S., Park, B., Ryu, S. (2014) Core lipopolysaccharide-specific phage SSU5 as an Auxiliary Component of a Phage Cocktail for *Salmonella* biocontrol, *Appl. Environ. Microbiol.*, **80**, 1026–1034.
 175. Marti, R., Zurfluh, K., Hagens, S., Pianezzi, J., Klumpp, J., Loessner, M.J. (2013) Long tail fibres of the novel broad-host-range T-even bacteriophage S16 specifically recognize *Salmonella* OmpC, *Mol. Microbiol.*, **87**, 818–834.
 176. Kvitko, B.H., Cox, C.R., DeShazer, D., Johnson, S.L., Voorhees, K.J., Schweizer, H.P. (2012) phiX216, a P2-like bacteriophage with broad *Burkholderia pseudomallei* and *B. mallei* strain infectivity, *BMC Microbiol.*, **12**, 289.
 177. Kim, M., Ryu, S. (2012) Spontaneous and transient defence against bacteriophage by phase-variable glucosylation of O-antigen in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, *Mol. Microbiol.*, **86**, 411–425.
 178. Kiljunen, S., Datta, N., Dentovskaya, S.V., Anisimov, A.P., Knirel, Y.A., Bengoechea, J.A., Holst, O., Skurnik, M. (2011) Identification of the lipopolysaccharide core of *Yersinia pestis* and *Yersinia pseudotuberculosis* as the receptor for bacteriophage phiA1122, *J. Bacteriol.*, **193**, 4963–4972.
 179. Turska-Szewczuk, A., Pietras, H., Pawelec, J., Mazur, A., Russa, R. (2010) Morphology and general characteristics of bacteriophages infectious to *Robinia pseudoacacia mesorhizobia*, *Curr. Microbiol.*, **61**, 315–321.
 180. Ricci, V., Piddock, L.J. (2010) Exploiting the role of TolC in pathogenicity: identification of a bacteriophage for eradication of *Salmonella* serovars from poultry, *Appl. Environ. Microbiol.*, **76**, 1704–1706.
 181. Begum, Y.A., Chakraborty, S., Chowdhury, A., Ghosh, A.N., Nair, G.B., Sack, R.B., Svennerholm, A.M., Qadri, F. (2010) Isolation of a bacteriophage specific for CS7-expressing strains of enterotoxigenic *Escherichia coli*, *J. Med. Microbiol.*, **59**, 266–272.
 182. Zhang, J., Li, W., Zhang, Q., Wang, H., Xu, X., Diao, B., Zhang, L., Kan, B. (2009) The core oligosaccharide and thioredoxin of *Vibrio cholerae* are necessary for binding and propagation of its typing phage VP3, *J. Bacteriol.*, **191**, 2622–2629.
 183. Hong, J., Kim, K.P., Heu, S., Lee, S.J., Adhya, S., Ryu, S. (2008) Identification of host receptor and receptor-binding module of a newly sequenced T5-like phage EPS7, *FEMS Microbiol. Lett.*, **289**, 202–209.
 184. Hernandez-Sanchez, J., Bautista-Santos, A., Fernandez, L., Bermudez-Cruz, R.M., Uc-Mass, A., Martinez-Penafiel, E., Martinez, M.A., Garcia-Mena, J., Guarneros, G., Kameyama, L. (2008) Analysis of some phenotypic traits of feces-borne temperate lambdoid bacte-

- riophages from different immunity groups: a high incidence of *cot+*, *FhuA*-dependent phages, *Arch. Virol.*, **153**, 1271–1280.
185. Rabsch, W., Ma, L., Wiley, G., Najar, F.Z., Kaserer, W., Schuerch, D.W., Klebba, J.E., Roe, B.A., Laverde Gomez, J.A., Schallmey, M., Newton, S.M., Klebba, P.E. (2007) *FepA*- and *TonB*-dependent bacteriophage H8: receptor binding and genomic sequence, *J. Bacteriol.*, **189**, 5658–5674.
186. Ko, Y.T. (2005) The receptor of an oyster juice-borne coliphage OJ367 in the outer membrane of *Salmonella derby*, *J. Microbiol. Immunol. Infect.*, **38**, 399–408.
187. Budzik, J.M., Rosche, W.A., Rietsch, A., O'Toole, G.A. (2004) Isolation and characterization of a generalized transducing phage for *Pseudomonas aeruginosa* strains PAO1 and PA14, *J. Bacteriol.*, **186**, 3270–3273.
188. German, G.J., Misra, R. (2001) The *TolC* protein of *Escherichia coli* serves as a cell-surface receptor for the newly characterized TLS bacteriophage, *J. Mol. Biol.*, **308**, 579–585.
189. Ho, T.D., Slauch, J.M. (2001) *OmpC* is the receptor for Gifsy-1 and Gifsy-2 bacteriophages of *Salmonella*, *J. Bacteriol.*, **183**, 1495–1498.
190. Nesper, J., Kapfhammer, D., Klose, K.E., Merkert, H., Reidl, J. (2000) Characterization of vibrio cholerae O1 antigen as the bacteriophage K139 receptor and identification of IS1004 insertions aborting O1 antigen biosynthesis, *J. Bacteriol.*, **182**, 5097–5104.
191. Traurig, M., Misra, R. (1999) Identification of bacteriophage K20 binding regions of *OmpF* and lipopolysaccharide in *Escherichia coli* K-12, *FEMS Microbiol. Lett.*, **181**, 101–108.
192. Sechaud, L., Rousseau, M., Fayard, B., Callegari, M.L., Quenee, P., Accolas, J.P. (1992) Comparative study of 35 bacteriophages of *Lactobacillus helveticus*: morphology and host range, *Appl. Environ. Microbiol.*, **58**, 1011–1018.
193. Sao-Jose, C., Baptista, C., Santos, M.A. (2004) *Bacillus subtilis* operon encoding a membrane receptor for bacteriophage SPP1, *J. Bacteriol.*, **186**, 8337–8346.