

УДК 579.0:570.16:570.23

РОЛЬ АДЕНИЛАТЦИКЛАЗЫ И α АМФ В КОНТРОЛЕ ВИРУЛЕНТНОСТИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПАТОГЕНОВ ЖИВОТНЫХ, ФИТОПАТОГЕНОВ И МУТУАЛИСТОВ РАСТЕНИЙ (ОБЗОР)

© 2025 г. Л. А. Ломоватская¹, *, А. М. Гончарова¹

¹Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук (СИФИБР СО РАН), Иркутск, 664033 Россия

*e-mail: LidaL@sifibr.irk.ru

Поступила в редакцию 21.01.2025 г.

После доработки 11.02.2025 г.

Принята к публикации 03.03.2025 г.

По имеющимся на сегодняшний день сведениям, у всех типов микроорганизмов присутствуют общие механизмы регуляции активности факторов вирулентности вторичным мессенджером α АМФ. Лучше всего они исследованы у патогенов человека и животных. В то же время микроорганизмы, отличающиеся по специализации и условиям обитания, например фитопатогены и мутуалисты, имеют механизмы, подконтрольные α АМФ и аденилатциклазам, принципиально отличные от таковых у патогенов животных. Изученность этих процессов у микроорганизмов различной специализации неодинакова. В обзоре предпринята попытка систематизировать имеющиеся данные литературы и провести их сравнительный анализ.

Ключевые слова: аденилатциклазы, α АМФ, факторы вирулентности, бактериальные патогены животных, фитопатогены, мутуалисты

DOI: 10.7868/S3034574X25050025

Сигнальные молекулы играют важную роль в межклеточных коммуникациях и регуляции метаболизма микроорганизмов. Гормоноподобные ацилглюкозамин, лактоновые аутоиндукторы контролируют чувство кворума (QS) грамотрицательных бактерий, а у грамположительных бактерий используются секретлируемые пептиды. Эти соединения, диффундируя через мембраны клеток бактерий из внеклеточной среды, прямо или косвенно контролируют экспрессию генов [1]. К другим медиаторам относятся циклические нуклеотиды, α АМФ, α -ди-АМФ, гуанозинпентафосфат и гуанозинтетрафосфат (ppGpp) [2, 3], а также ионы кальция, инозитолтрифосфат и диацилглицерин [4]. Перечисленные сигнальные молекулы с помощью других компонентов сложной сигнальной сети взаимодействуют с бактериальным геномом. Например, многим видам бактерий α -ди-АМФ необходим для их жизнеобеспечения на богатой питательной среде. Недавние исследования показали, что α -ди-АМФ связывается с большим количеством белков и транскрипционных факторов, которые часто участвуют в калиевом

и осмотическом гомеостазе [3]. Таким образом, α -ди-АМФ необходим в регуляции гомеостаза бактериальной клетки. Между α -ди-АМФ и α АМФ существует перекрестная регуляция, которая обычно осуществляется посредством контроля транскрипции эффекторов или генов ферментов метаболизма другого [5]. Вторичные мессенджеры (p)ppGpp являются необходимыми регуляторами роста бактерий: избыток этих молекул приводит к подавлению выработки РНК, ДНК и белков [2], тем самым снижая скорость размножения бактерий, а их недостаток делает клетку более уязвимой к пищевому стрессу [2]. Кроме того, эти молекулы, взаимодействуя с другими вторичными мессенджерами, способны вмешиваться в регуляцию углеводного обмена у бактерий [2]. Показано, что ppGpp, ацетилируя комплекс α АМФ-CRP (α АМФ-связывающий белок), могут его модифицировать, что играет важную роль в экспрессии *lac*-генов в отсутствие глюкозы, например, у *Escherichia coli* [2]. Это позволяет не только тонко и своевременно реагировать на изменения окружающей среды, но

и контролировать и модулировать активность различных факторов вирулентности [2, 5].

цАМФ – вторичный мессенджер аденилатциклазной сигнальной системы, а аденилатциклаза (АЦ) – фермент, его синтезирующий, также считается индуктором, участвующим в регуляции метаболизма и механизмах патогенности бактерий [3, 6]. Однако, несмотря на выявленные общие свойства и структуру многих факторов вирулентности патогенов животных и растений, а также симбионтов [7], подавляющее большинство данных о роли цАМФ и аденилатциклазы бактерий в процессах адгезии, формировании биопленок и экспрессии факторов вирулентности относится к патогенам животных, о чем написано несколько подробных обзоров [4, 8]. В тоже время о подобных механизмах взаимодействия растительных патогенов и мутуалистов информация почти отсутствует. В связи с этим целью настоящего обзора является сравнительная оценка роли цАМФ и аденилатциклазы бактериальных патогенов животных, растений, а также мутуалистов в контроле и модуляции всех этапов инфекционного процесса.

К настоящему времени накапливается все больше данных, свидетельствующих о том, что стратегии вирулентности бактериальных патогенов животных и растений имеют гораздо больше сходства между собой, чем предполагалось ранее [7, 9].

Так, показано, что штамм PA14 *Pseudomonas aeruginosa* (синегнойная палочка) в результате мутагенеза приобрел способность инфицировать не только мышей, но и арабидопсис. Авторы полагают, что у данного штамма присутствуют некие белковые факторы вирулентности, общие для патогенов животных и растений [10, 11]. Еще одним подтверждением существования общих механизмов вирулентности, присущих патогенам животных и растений, являются результаты экспериментов по взаимодействию *Yersinia pseudotuberculosis* с растениями картофеля *in vitro*. Было показано, что инокуляция в район корневой системы патогенных для человека бактерий приводила к их распространению по стеблям и листьям с сохранением жизнеспособности и сопровождалась заметным ингибированием роста растений [12]. Бактериальные мутуалисты растений, например симбиотические азотфиксаторы, на ранних этапах взаимодействия также проявляют свойства фитопатогенов, активируя ряд факторов вирулентности, что позволяет им не только проникать в растения, но и успешно подавлять их иммунитет [13–16].

Вторичные мессенджеры микроорганизмов, независимо от специализации последних, активно функционируют на всех этапах патогенного процесса. Эти этапы включают адгезию, формирование биопленок, узнавание, экспрессию факторов вирулентности и др.

В аденилатциклазной сигнальной системе (АСС) стартовым ферментом является АЦ, синтезирующая цАМФ. Для поддержания необходимого уровня цАМФ у бактерий, так же как и у эукариот, имеется фосфодиэстераза, превращающая цАМФ в нециклическую форму. Кроме того, белок ToIC способствует транспорту цАМФ через внешнюю мембрану грамотрицательных бактерий, например *Escherichia coli* [16].

В обзоре, кроме цАМФ, будет рассмотрена роль аденилатциклазы в патогенности различных видов бактерий, поскольку они имеют еще и самостоятельное значение как фактор вирулентности у патогенов животных [17].

КЛАССИФИКАЦИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ АДЕНИЛАТЦИКЛАЗ

АЦ живых организмов делятся на шесть классов, значительно различающихся по первичной структуре, и представляют собой трансмембранные, мембраносвязанные и растворимые формы [16]. Интересно, что большая часть АЦ патогенов животных, фитопатогенов и мутуалистов входят в третий, самый обширный класс, названный универсальным, поскольку к нему относятся и АЦ млекопитающих (табл. 1).

Как видно из табл. 1, основные сведения о структуре АЦ бактерий были получены более 10 лет назад, однако по-прежнему остается много вопросов о принадлежности АЦ к тем или иным классам у различных видов бактерий, отличающихся по специализации. Интенсивное развитие и создание новых методов биоинформатики позволяет надеяться, что такое положение не является окончательным и в ближайшие годы позиции с вопросительными знаками будут заполнены.

У некоторых видов бактерий АЦ представлены множественными формами, принадлежащими к одному, III классу, как, например, у *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium smegmatis* и *Escherichia coli* [22, 26]. Ранее предполагалось, что такое разнообразие форм АЦ необходимо для поддержания метаболизма и вирулентности в разнообразных условиях жизни (изменение pH, голодание, температура), что особенно актуально для патогенов. Однако, по некоторым данным, даже в измененных условиях только половина всех форм АЦ у представителей микобактерий, куда в основном входят патогены животных, транскрибируется одновременно. На этом основании авторы делают вывод, что механизм регуляции активности различных форм АЦ осуществляется в основном на посттрансляционном уровне [22, 26]. В связи с этим представляется, что регуляция активности АЦ происходит на уровне целых молекул, затрагивая их конформацию, и, как следствие, влияет на изменение кинетических параметров. В то же время присутствие АЦ, различия в активности

Таблица 1. Классы бактериальных аденилатциклаз

Класс АЦ	Патогены животных	Фитопатогены	Симбиотические азотфиксаторы, мутуалисты	Источник литературы
Класс I (энтеробактериальный)	<i>Escherichia coli</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>Vibrio cholera</i>	<i>Erwinia chrysanthemi</i>	?	[6]
Класс II (токсический)	<i>Bacillus anthracis</i> , <i>Bordetella pertussis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Vibrio vulnificus</i>	?	?	[18, 19]
Класс III (универсальный)	<i>Corynebacterium liquefaciens</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Rhizobium meliloti</i> , <i>Sinorhizobium meliloti</i>	[20–22]
Класс IV	<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Yersinia pestis</i> , <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	?	?	[16, 23]
Класс V	<i>Prevotella ruminicola</i>	?	?	[24]
Класс VI	?	?	<i>Rhizobium etli</i> , <i>Mesorhizobium loti</i> , <i>Sinorhizobium meliloti</i>	[25]

* Знак вопроса означает отсутствие сведений.

которых зависят от окружающих условий, указывает на узкую специализацию микроорганизмов и существенную роль этого фермента в их адаптации к условиям обитания.

Это можно проиллюстрировать на примере *Aeromonas hydrophila*, оптимум функционирования АЦ которого находится при pH 9.5 и температуре 65°C [19].

В отличие от патогенов животных, у *Sinorhizobium meliloti*, микросимбионта растений, транскриптомный анализ показал, что из 26 АЦ на начальных этапах симбиоза активируются только три: *суаD_p*, *суаF₄* и *SMa* [27]. Причем только эти АЦ у данного вида микроорганизма принадлежат к новому уникальному классу VI (табл. 1) [25]. К сожалению, их роль в растительно-микробном взаимодействии до сих пор не ясна. Возможно, что по мере совершенствования методов секвенирования генов и биоинформатики представители всех классов АЦ будут обнаружены у известных на данный момент прокариот, различающихся по специализации.

Регуляция и контроль активности АЦ микроорганизмов представляются весьма важным шагом в координации экспрессии генов вирулентности. Есть несколько путей, через которые АЦ микроорганизмов непосредственно или опосредованно регулируют и контролируют их патогенность. Так, у *Pseudomonas aeruginosa* хемосенсорная система

Сhp является регулятором активности одной из аденилатциклаз СуаВ и контролирует тем самым уровень цАМФ в клетке [4, 10]. Некоторые АЦ патогенов животных представляют самостоятельные факторы вирулентности: АЦ возбудителей болезней человека (*Bacillus anthracis*, *Bordetella pertussis*) непосредственно секретируются в клетки хозяина, где разрушают *status quo* его метаболизма путем избыточного продуцирования цАМФ. Причем, активация этих АЦ (ЕF и Суа А соответственно) происходит только при связывании с кальмодулином эукариота [28, 29]. Для фитопатогенов непосредственное участие АЦ в инфекционном процессе почти не исследовано, но, по имеющимся косвенным данным, можно предположить, что они также могут играть существенную роль в фитопатогенезе. Основанием для такого предположения служат результаты экспериментов по выявлению роли некоторых эффекторных белков фитопатогенов и микросимбионтов в инфицировании и вирулентности [4]. Для этого была создана генетическая конструкция, представляющая собой комплекс гена *СуаА* из *B. pertussis* и гена исследуемого белка, в частности *HopPtoQ bkb* (фитобактериальный эффекторный белок из *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* или *Erwinia carotovora* sp. *atroseptica*) или ген *NopP Sinorhizobium fredii*. Исследования показали, что добавление *СуаА* в конструкцию не только позволяет транспортироваться эффекторному белку в растительную клетку, но и вызывает существен-

ное повышение уровня цАМФ в ней как в случае с фитопатогеном, так и с симбионтом, поскольку SuaA активируется растительным кальмодулином [30]. Кроме того, по данным [31] у фитопатогена *Pseudomonas siringae* pv. *pisi* имеется растворимая АЦ (рАЦ), которая секретируется в культуральную жидкость бактерий и ее активность возрастает при культивировании с растительным гомогенатом. Можно предположить, что рАЦ выступает в качестве самостоятельного фактора вирулентности, возможно, с участием системы секреции третьего типа (Т3SS) и присутствует в культуральной жидкости в малоактивной форме [31].

Совокупность представленных данных указывает как на сходство в строении АЦ патогенов животных и растений (возможно растворимой АЦ), так и на вероятную их роль в фитопатогенных и мутуалистических взаимоотношениях. Кроме того, мутуалисты растений, в частности, азотфиксирующие бактерии, используют АЦ в регуляции взаимоотношений с макропартнерами, то есть с бобовыми растениями. Благодаря наличию дополнительных рецепторных доменов в молекулах АЦ (SuaD1, SuaD2 и SuaK) *Sinorhizobium meliloti*, являющегося микросимбионтом для *Medicago sativa*, происходит активация этих ферментов неизвестным у растений сигналом, присутствующим в развивающихся клубеньках. Уровень синтезирующегося при этом цАМФ, через ряд каскадных реакций модулирует количество клубеньков на корнях макросимбионта. Инактивация такого каскада приводит к развитию гиперклубенькового фенотипа, сопряженного с неэффективным симбиозом [32]. Недавно в работе [33] также были получены новые данные о роли АЦ ризобий (*Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*) во взаимодействии с растением-хозяином, горохом, на начальных этапах азотфиксирующего симбиоза. Было показано, что в клетках планктонной культуры и в биопленках бактерий нарингенин (индуктор Nod-факторов бактерий, Nodulation Factors) активировал аденилатциклазу, возможно с помощью рецепторного механизма. Это представляется важным, поскольку в регуляции бобово-ризобияльного симбиоза цАМФ, продукт активности АЦ, играет существенную роль, что будет подробно обсуждаться ниже.

РОЛЬ цАМФ В КОНТРОЛЕ QS, ФОРМИРОВАНИИ И ПЛОТНОСТИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ БИОПЛЕНК

Известно, что в природных экосистемах бактерии в основном существуют не в виде свободно плавающих клеток, а образуют прикрепленные к субстрату сообщества — биопленки (biofilms) [34]. Способность бактерий формировать биопленки сама по себе уже является существенным фактором их патогенности, и кроме того, именно в состоянии биопленок в максимальной степени проявляются

разнообразные факторы вирулентности [34]. Формирование и эффективное функционирование биопленок осуществляется с помощью кворум сенсинга (QS) — процесса межклеточной коммуникации бактерий, который включает в себя производство, обнаружение и ответ на внеклеточные сигнальные молекулы, называемые аутоиндукторами (AI). Грамположительные бактерии в качестве AI используют аутоиндуцирующие пептиды (AIP), которые после образования в клетке секретируются в среду роста [35]. Когда внеклеточная концентрация AIP становится достаточно высокой, происходит их связывание мембранным двухкомпонентным гистидинкиназным рецептором. При этом активируется киназа рецептора, он аутофосфорилируется и передает фосфат родственному цитоплазматическому регулятору ответа. Фосфорилированный регулятор ответа активирует транскрипцию генов в QS-регулоне [35]. Грамотрицательные бактерии обычно используют ацилгомосеринлактоны (AHL) в качестве AI и обнаруживаются партнерскими факторами транскрипции цитоплазматических рецепторов типа LuxR [35]. В настоящее время известно несколько типов AI, например AI2, AI3 и др. Так, семейство AI, основанное на модифицированных формах 4,5-дигидрокси-2,3-пентандиона, именуемых аутоиндуктором 2 (AI-2) и пиразинового AI 3,5-диметилпиразин-2 (DPO) [35], хорошо известны у грамотрицательных и грамположительных бактерий. Их функцией является обеспечение межвидовых коммуникаций [35, 36]. Кроме того, к аутоиндукторам грамотрицательных бактерий относятся индол и некоторые гормоны, синтезируемые организмом хозяина [37].

Тема аутоиндукторов бактерий весьма актуальна и перспективна для изучения, и она подробно обсуждается в ряде обзоров [36–38], однако в рамках данной статьи необходимо обсудить участие цАМФ в регуляции QS.

К настоящему времени установлено, что многие внешние стимулы влияют на внеклеточные уровни широкого спектра аутоиндукторов, причем источники углерода являются одними из самых важных регуляторов [36]. В связи с этим следует упомянуть систему LuxI/LuxR, так называемую классическую систему QS с некоторыми модификациями, характерную практически для всех видов бактерий [36]. На примере QS-регуляции *Vibrio fischeri* было показано, что в процессе участвуют два основных регуляторных компонента: белок LuxI — синтаза ацилгомосеринлактона (катализирует синтез AI) и LuxR — белок. Последний образует димер, присоединяет AI, в результате чего изменяется его конфигурация, а затем этот комплекс, связываясь с промотором *lux*-оперона, активирует его транскрипцию, что приводит к синтезу люциферазы и эмиссии света [36]. Как было показано на примере *E. coli*, эта система LuxI/LuxR может подвергаться катаболитной репрессии через ком-

плекс цАМФ-CRP (транскрипционный фактор, цАМФ-рецепторный белок), который напрямую стимулирует транскрипцию оперона *lsr* и косвенно подавляет экспрессию *luxS*, кодирующего синтез AI-2 [38]. Показано, что цАМФ-CRP действует как глобальный контроллер, тогда как LsrR (белок, с которым связывается в клетке AI-2) функционирует как специфический контроллер [38]. Когда глюкоза или другие сахара присутствуют в питательной среде, низкие внутриклеточные уровни цАМФ и CRP приводят к низкому уровню транскрипции оперона *lsr*. В частности, показано, что сАМФ-CRP связывается с промотором *lsr* и работает с репрессором LsrR для регулирования поглощения AI-2 [39]. Выяснение участия цАМФ-CRP в аутоиндукции *E. coli* влияет на многие области, включая рост бактерии в процессах ферментации [40].

Помимо аутоиндукторов, значительная роль в формировании биопленок принадлежит цАМФ [41]. Так, показано, что цАМФ регулирует переход обратимого прикрепления *P. aeruginosa* к необратимому. Это связано с тем, что в бактериальном планктоне при избыточном уровне цАМФ снижается гидрофобность клеток [41], что способствует их необратимому прикреплению к субстрату. На модели *Serratia marcescens* показано, что сверхэкспрессия генов фосфодиэстеразы, приводящая к снижению уровня цАМФ, также увеличивала плотность биопленки за счет активации фимбрий I типа [42]. Следует отметить, что, по-видимому, существуют различия в оптимальной концентрации цАМФ для эффективного пленкообразования у патогенов, фитопатогенов и мутуалистов. По данным работы [43], плотность биопленок *P. siringae* pv. *pisi* и *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* уменьшалась при снижении внутри- и внеклеточного уровня цАМФ.

ОБЩИЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ цАМФ АКТИВНОСТИ ФАКТОРОВ ВИРУЛЕНТНОСТИ ПАТОГЕНОВ ЖИВОТНЫХ И РАСТЕНИЙ

Основной функцией цАМФ в бактериальной клетке, так же как и у эукариот, является регуляция экспрессии генов в изменяющихся условиях существования [3, 26]. Изменения в уровне этого вторичного мессенджера сопряжены с активностью транскрипционных факторов из семейства CRP (цАМФ-рецепторных белков) [44]. Другое название этих белков – CAP (catabolite gene activator protein). CRP представляют собой гомодимеры, в которых каждая субъединица выполняет специфические функции. До недавнего времени считалось, что цАМФ-зависимые CRP (CRP-cAMP) связываются с межгенными сайтами для CRP в соответствии с классической генной регуляцией, однако позже появились данные о том, что CRP-цАМФ также связывается со многими внутригенными сайтами, где

выполняет роль хромосомного организатора или ассоциированного с ядром белка NAP [44]. Интересно, что Clp *P. syringae* pv. *tabaci* является ортологом CRP *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, который, в свою очередь, гомологичен CRP *E. coli* и Vfr (регулятор факторов вирулентности) *P. aeruginosa* [45]. Это указывает на идентичность глобальных механизмов регуляции вирулентности как у патогенов животных, так и у фитопатогенов. Классическим примером регуляции метаболизма бактерий с помощью CRP является феномен каталитической репрессии, впервые выявленный у *E. coli*. Как показали исследования, при голодании (отсутствии глюкозы в среде для роста) у *E. coli* возрастал уровень цАМФ, тогда как при восстановлении нормального уровня этого углевода концентрация цАМФ сильно снижалась [16]. Сущность этого процесса состоит в ингибировании катаболитом транскрипции генов, детерминирующих синтез ферментов, необходимых для катаболизма лактозы или других энергетических субстратов, когда в среде присутствует глюкоза как более эффективный источник энергии. Если образование целого ряда индуцибельных ферментов зависит от этого нуклеотида, то мутанты по аденилатциклазе не могут усваивать источники углевода и энергии, катаболизм которых обеспечивается соответствующими ферментами. Действительно, были выделены мутанты, неспособные одновременно ферментировать лактозу, мальтозу, арабинозу, маннит, сорбит и другие соединения. Оказалось, что существует два класса такого рода мутантов. У одних под влиянием экзогенного цАМФ усвоение всех перечисленных сахаров восстанавливалось, у других – никакого эффекта не проявлялось. У мутантов первого класса (*Sya*) была резко снижена активность аденилатциклазы. Мутанты второго класса (*Crp*) синтезировали цАМФ в избыточном количестве, однако у них отсутствовал или был поврежден CRP, который взаимодействует с цАМФ и необходим для активации этим нуклеотидом синтеза катаболических ферментов [46].

Соответственно, для различных по специализации и условиям обитания видов бактерий необходим индивидуальный, строго определенный уровень цАМФ для активации CRP. Так, возбудитель туберкулеза *Mycobacterium tuberculosis* способен проявлять свою вирулентность только при уровне внутриклеточного цАМФ не ниже 4 мМ, поскольку чувствительность CRP к цАМФ у этого возбудителя очень низкая. В то же время почвенная непатогенная бактерия *Pseudomonas putida* синтезирует цАМФ в сверхнизких концентрациях, которые ниже порога определения. Однако CRP этой бактерии обладает очень высоким сродством к цАМФ, что обуславливает возможность негативной регуляции экспрессии генов этим нуклеотидом. *E. coli* занимает промежуточное положение, ее CRP обладает средней по уровню степенью сродства к цАМФ. Следует заметить, что CRP всех трех бактерий, вы-

полная одинаковую функцию, отличаются по первичной структуре. У CRP *Mycobacterium tuberculosis* только 32% аминокислотных остатков идентичны CRP *E. coli*, причем совпадают четыре из шести цАМФ-активных аминокислотных остатков в сенсорном домене. Однако гомология у *P. putida* с *E. coli* выше и составляет уже 63% аминокислотных остатков и имеет соответствие пяти из шести цАМФ-активных остатков [16]. Возникает вопрос: с чем связаны столь сильные различия в концентрации внутриклеточного цАМФ и уровне сродства CRP к цАМФ? Предполагается, что немаловажная роль в этом принадлежит аденилатциклазам и фосфодиэстеразам этих видов бактерий. У *M. tuberculosis* имеется не менее 16 АЦ и только одна фосфодиэстераза с очень низким уровнем активности. Полагают, что такое количество АЦ связано с особенностями условий жизни этой бактерии в организме эукариот, где АЦ выполняют функцию сенсоров и факторов вирулентности и, таким образом, играют весьма существенную роль в регуляции метаболизма *M. tuberculosis*. *E. coli* существенно отличается по условиям жизни и специализации, так же как и *P. putida*, которая вообще не относится к патогенам и обитает в наиболее стабильных условиях. Соответственно, у каждой из них имеется всего одна АЦ, а также одна фосфодиэстераза [16, 26]. Вполне возможно, что специализация бактерий, а именно паразитизм, усложняют их сигналинг.

Кроме транскрипционных факторов CRP, к сигнальной сети, регулируемой аденилатциклазной системой, относятся ранее упомянутые глобальные регуляторы факторов вирулентности Vfr (virulence factor regulator) [47]. Через Vfr, в частности, осуществляется регуляция движения, продукция токсина пиоцинина, а также регуляция чувства кворума (QS) и репрессии биосинтеза флагеллярных белков у патогенов животных [9, 17], фитопатогенов (*P. syringae* pv. *tabaci*). Под контролем аналогичного регулятора Vfr находятся гены, кодирующие элементы систем секреции III и IV типов (харпины и пили, а также жгутики соответственно) [45].

В продолжение темы катаболической репрессии необходимо рассмотреть контроль системами межклеточной коммуникации активности факторов вирулентности, присущих только фитопатогенам. К ним относятся ферменты, разрушающие клеточные стенки растений, пектиназы и целлюлазы. Представителями таких бактерий являются *Pectobacterium carotovorum* ssp. *carotovorum*, *Dickeya dadantii*, *Erwinia chrysanthemi* и другие [48, 49]. Ранее в работе [31] было показано, что тАЦ можно расщиповать, как источник цАМФ, контролирует активность экзопектиназы и экзоцеллюлазы фитопатогена *P. syringae* pv. *pisi* и муталиста *R. leguminosarum* bv. *viciae*. Многими исследователями показано, что механизм регуляции активности пектиназ заключается в активации транскрипции цАМФ-СгР

генов *pelC*, *pelE*, *pelD*, *kdgTP* и *oglP* через связывание с участками РНК-полимеразы. Только для гена *PecA* цАМФ-СгР является негативным регулятором. Антагонистом цАМФ-СгР является KdgR (2-keto-3-deoxygluconate repressor) – белок-репрессор генов, кодирующих пектолитические ферменты. Оба специфических белка конкурируют за один и тот же участок ДНК при связывании с целевым геном [49]. Кроме того, KdgR конкурирует и с РНК-полимеразой за участки связывания ДНК. Интересно, что репрессивный эффект KdgR устраняется в результате его связывания с 2-кето-3-дезоксиглюконатом (КДГ), продуктом расщепления клеточной стенки растения-хозяина [48]. При этом конформация KdgR меняется и в результате репрессия целевых генов снимается. Активность KdgR косвенно также зависит от концентрации цАМФ, поскольку именно этот вторичный мессенджер, как уже обсуждалось выше, активировать гены пектиназ, от которых зависит синтез КДГ [48]. Гомологи KdgR представлены в *Erwinia caroto-vora* susp. *carotovora*, *Erwinia chrysanthemi*, а также *E. coli*, а ортологи этого гена имеются у *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* [50]. Интересно, что в первой группе фитопатогенных бактерий этот белок-репрессор наряду с ферментами, деградирующими клеточную стенку, ингибирует активность генов *hrp*, отвечающих за реакцию сверхчувствительности в растениях устойчивых сортов. В то же время у *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ортолог гена *kdgR* репрессирует только активность генов *hrp* [50]. Очень близким по структуре к KdgR является белок-регулятор экзоферментов RexZ – репрессор пектинового катаболического пути, который также регулируется комплексом цАМФ-СгР и найден пока только у членов семейства *Erwinia* [51]. Таким образом, у растительных патогенов, в соответствии с их специализацией, имеются некоторые дополнительные компоненты глобальной регуляторной сети, управляющей вирулентностью через аденилатциклазную сигнальную систему.

РОЛЬ АДЕНИЛАТЦИКЛАЗ И цАМФ В КОНТРОЛЕ ВИРУЛЕНТНОСТИ АЗОТФИКСИРУЮЩИХ МИКРОСИМБИОНТОВ РАСТЕНИЙ

Азотфиксирующие бактерии, представляющие несколько классов симбиотических микроорганизмов, на ранних этапах взаимодействия проявляют свойства фитопатогенов, для чего они используют ряд факторов вирулентности [52, 53]. Нуклеотидциклазы играют существенную роль не только в регуляции механизмов их вирулентности, но и в других процессах, включая ранние стадии инфицирования, а также формирование и количество клубеньков [27].

Как известно, на ранних этапах инфицирования существенная роль принадлежит экзополи-

сахаридам (ЭПС) микроорганизмов [46]. Кроме защитных и адгезивных функций, ЭПС выполняют и роль сигнальных молекул, необходимых при установлении контакта с растением-хозяином. В регуляции синтеза ЭПС принимает участие цАМФ. Дефицитные по активности АЦ штаммы *Rhizobium meliloti* отличались повышенным уровнем синтеза ЭПС, что негативно отражалось на эффективности симбиотической азотфиксации [54]. У *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* этот вторичный мессенджер активирует транскрипционный фактор RosR, который, в свою очередь, позитивно регулирует активность гена *pssA*, кодирующего глюкозилтрансферазу, участвующую в синтезе ЭПС [55, 56]. Данный транскрипционный фактор имеет несколько цАМФ-СгР связывающих сайтов в промоторах P₁ и P₂. Таким образом, активность RosR зависит от уровня цАМФ в клетке [55, 56]. На примере модельной системы *Sinorhizobium meliloti*–*Medicago sativa* показано, что на ранних этапах взаимодействия у бактерий активируется сигнальный регуляторный каскад, состоящий из трех рецепторо-подобных аденилатциклаз, СгР-регулятора транскрипции и целевого гена. Каскад специфически активируется растительным сигналом в период органогенеза клубенька, а его инактивация приводит к гипернодуляции и абортации инфекционных нитей [57].

В остальном же информация о роли цАМФ и АЦ микроорганизмов в регуляции симбиотических взаимоотношений с растениями весьма ограничена. Есть сведения, что штамм *Rhizobium meliloti* с “выключенной” АЦ был не способен формировать клубеньки [54]. В то же время у рецептороподобных АЦ с помощью инсерции

Tn5 было показано, что не все присутствующие у бактерий АЦ в одинаковой степени контролируют симбиотическое взаимодействие. Предполагается, что ведущая роль в этом процессе принадлежит АЦ Sua3, каталитический домен которой обладает сходством с соответствующим доменом некоторых грамположительных бактерий [58].

Несмотря на то, что наибольшее количество работ по регуляции активности факторов вирулентности с помощью цАМФ и аденилатциклаз бактерий было представлено в начале этого века [7, 11, 16], эта тема не теряет актуальности и сегодня. Во многом это связано с неодинаковой степенью изученности этой проблемы у бактерий различной специализации. Лучше всего исследованы механизмы контроля факторов вирулентности патогенов человека и животных, таких как, например, *P. aeruginosa* или *M. tuberculosis* [8, 19]. Это легко объяснимо, так как они представляют непосредственную угрозу жизни и здоровью человека. Однако ухудшение глобальной экологической ситуации в мире и, соответственно, интенсивное распространение фитопатогенов требует более пристального изучения механизмов контроля их факторов вирулентности. На этом фоне мутуалистические бактерии, в частности симбиотические микросимбионты растений, также представляют весьма существенный интерес, поскольку, с одной стороны, проявляют черты фитопатогенов на ранних этапах взаимодействия с растениями [52, 53], а с другой стороны, обладают собственными уникальными метаболическими путями, позволяющими регулировать эффективность сим-

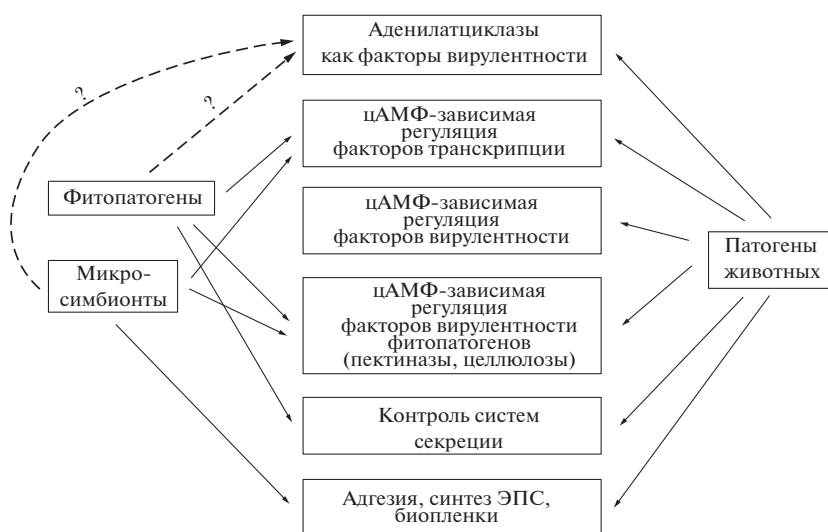


Рис. 1. Участие цАМФ и аденилатциклаз в контроле вирулентности бактерий различной специализации, множественные роли цАМФ и АЦ патогенов, фитопатогенов и симбиотических азотфиксаторов (микросимбионты) в обеспечении различных этапов их вирулентности. Пунктирные линии и знаки вопроса означают отсутствие информации.

биоза [54, 57, 59]. Представленная схема (рис. 1) иллюстрирует участие цАМФ и аденилатциклаза в различных процессах у бактерий, отличающихся по специализации. Видно, что многие процессы, подконтрольные цАМФ, реализуются у бактерий, различающихся по образу жизни. На сегодняшний день установлено, что на начальных этапах инфекционного процесса цАМФ регулирует интенсивность адгезии и плотность образуемых биопленок у всех видов бактерий независимо от специализации [5]. Кроме того, эта сигнальная молекула модулирует экспрессию некоторых генов путем активации соответствующих факторов транскрипции [44], а также контролирует факторы вирулентности практически у всех видов бактерий, хотя набор этих самых факторов может принципиально отличаться у патогенов животных и фитопатогенов [7, 60]. Остается неясно, может ли аденилатциклаза служить самостоятельным фактором вирулентности у фитопатогенов и мутуалистов растений. Предпосылки для решения этого вопроса уже есть и представлены в работах [30, 31], поэтому в ближайшем будущем можно ожидать новых, интересных сообщений.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено в рамках государственного задания Минобрнауки России для Федерального государственного бюджетного учреждения науки Сибирского института физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук (№ проекта в гос. задании – 0277-2025-0002 Рег. № НИОКТР – 125021902466-4).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ.

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Jimenez P.N., Koch G., Thompson J.A., Xavier K.B., Cool R.H., Quaxb W.J. // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2012. V. 76. № 1. P. 46–65. <https://doi.org/10.1128/MMBR.05007-11>
2. Stülke J., Krüger L. // *Annu. Rev. Microbiol.* 2020. V. 74. P. 59–79.
3. Liu C., Shi R., Jensen M.S., Zhu J., Liu J., Liu X. et al. // *mLife.* 2024. V. 3. P. 42–56. <https://doi.org/10.1128/MMBR.05007-11>
4. He K., Bauer C.E. // *Trends Microbiol.* 2014. V. 22. P. 389–398. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2014.01.003>
5. Liu C., Sun D., Liu J., Chen Y., Zhou X., Ru Y., Zhu J., Liu W. // *Nature Communications.* 2022. V. 13. Article 1493.
6. Khannpnavar B., Mehta V., Qi C., Korkhov V. // *Curr. Opin. Struct. Boil.* 2020. V. 63. P. 34–41. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2020.03.003>
7. Büttner D., Bonas U. // *Plant Biol.* 2003. V. 6. P. 312–319. [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(03\)00064-5](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(03)00064-5)
8. Fulcher N.B., Holliday P.M., Klem E., Cann M.J., Wolfgang M.C. // *Mol. Microbiol.* 2010. V. 76. P. 889–904.
9. McDonough K.A., Rodriguez A. // *Nature Rev. Microbiol.* 2012. V. 10. P. 27–38. <http://10.1038/nrmicro2688>
10. Rahme L.G., Ausubel F.M., Cao H., Drenkard E., Goumnerov B.C., Lau G.W. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2000. V. 97. P. 8815–8821.
11. Cao H., Baldini R.L., Rahme, L.G. // *Annu. Rev. Phytopathol.* 2001. V. 39. P. 259–284.
12. Романенко А.С., Маркова Ю.А., Климов В.Т., Чеснокова М.В., Духанина А.В., Иванова Л.К., Салеев Р.К. // Доклады АН. 2006. Т. 411. № 3. С. 424–426.
13. Kereszt A., Mergaert P., Maróti G., Kondorosi E. // *Microbiol.* 2011. V. 14. P. 76–81. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2010.12.002>
14. Kamar K., Ardisson S., Kobayashi H., Saa M.M., Schumpp O., Broughton W.J., Deakin W.J. // *Mol. Microbiol.* 2009. V. 71. P. 92–106. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2008.06507.x>
15. Okazaki S., Kaneko T., Sato S., Saeki K. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2013. V. 110. P. 17131–17136.
16. Green J., Stapleton M.R., Smith L. J., Artymiuk P.J., Kahramanoglou C., Hunt D.M. // *Microbiol.* 2014. V. 18. P. 1–7.
17. Wolfgang M.C., Lee V.T., Gilmore M. E., Lory S. // *Dev. Cell.* 2003. V. 4. P. 253–263.
18. Drum C.L., Yan S.Z., Bard J., Shen Y.Q., Lu, D., Soelaiman S. et al. // *Nature.* 2002. V. 415. P. 396–402. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2010.07135.x>
19. Baker D.A., Kelly J.M. // *Mol. Microbiol.* 2006. V. 52. P. 1229–1242. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2004.04067.x>
20. Teixeira Nunes M., Retaillieu P., Raoux-Barbot D., Comisso M., Missinou A.A., Velours C., Renault L. // *PLoS Pathogens.* 2023. V. 19. №. 9. P. e1011654. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1011654>
21. Linder J., Hupfeld E., Weyand M., Steegborn C., Moniot S. // *J. Structural Biol.* 2020. V. 211. №. 2. P. 107534. <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2020.107534>
22. Harkova L.G., de Dios R., Rubio Valle A., Pérez Pulido A.J., McCarthy R.R. // *PLoS Pathogens.* 2024. V. 20. №. 9. P. 342–354. 012529. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1012529>
23. Regmi A., Tague J.G., Boas Lichty K.E., Boyd E.F. // *Appl. Environ. Microb.* 2023. V. 89. №. 1. P. e01874–e01922. <http://10.1128/aem.01874-22>

24. *Cotta M.A., Whitehead T.R., Wheeler M.B.* // FEMS Microbiol. Lett. 1998. V. 164. P. 257–260.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1998.tb13095.x>
25. *Télliez-Sosa J., Soberón N., Vega-Segura A., Torres-Márquez M.E., Cevallos M.A.* // J. Bacteriol. 2002. V. 184. P. 3560–3568.
<https://doi.org/10.1128/JB.184.13.3560-3568.2002>
26. *Casey S., Ford M., Gazdik M.* // Peer J. 2014. V. 298. P. 1–13.
<https://doi.org/10.7717/peerj.298/fig-1>
27. *Ampe F., Kiss E., Sabourdy F., Batut J.* // Genome Biol. 2003. V. 4. P. 1–15.
<https://doi.org/genomebiology.com/2003/4/2/R15>
28. *Nunes T., Retailleau P., Raoux-Barbot D., Comisso M., Missinou A.A., Velours C. et al.* // PLOS Pathogens. 2023.
<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1011654>
29. *Krol E., Werel L., Essen L. O., Becker A.* // Microlife. 2023. V. 4. P. 1–12.
<https://doi.org/10.1093/femsml/uqad024>
30. *Voegele A., Sadi M., O'Brien D.P., Gehan P., Raoux-Barbot D., Davi M., Chenal A.* // Advanced Science. 2021. V. 8. №. 9. P. 2003630.
<https://doi.org/10.1002/advs.202003630>
31. *Ломоватская Л.А., Романенко А.С., Рыкун О.В.* // Микробиология. 2015. Т. 84. №. 4. С. 404–410.
<https://doi.org/10.7868/S0026365615040114>
32. *Tian C.F., Garnerone A.-M., Mathieu-Demazière C., Masson-Boivin C., Batut J.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2012. V. 109. P. 6751–6756.
33. *Гончарова А.М., Ломоватская Л.А.* // Прикл. биохимия и микробиол. 2023. Т. 59. № 2. С. 200–207.
<https://doi.org/10.31857/S0555109923020113>
34. *Wang X., Liu M., Yu C., Li J., Zhou X.* // Molecular Biomedicine. 2023. V. 4. №. 1. P. 49–74.
<https://doi.org/10.1186/s43556-023-00164-w>
35. *Papenfort K., Bassler B.* // Nat. Rev. Microbiol. 2016. V. 11. P. 576–588.
<https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.89>
36. *Wang L., Hashimoto Y., Tsao C.-Y., Valdes J.J., Bentley W.E.* // J. Bacteriol. 2005. V. 187. P. 2066–2076.
<https://doi.org/10.1128/JB.187.6.2066-2076.2005>
37. *Ларюшина И.Э.* // Животноводство и кормопроизводство. 2020. Т. 103. № 4. С. 160–172.
38. *Duddy O.P., Bassler B.L.* // PLoS Pathog. 2021. V. 17. e1009074.
<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1009074>
39. *Ro C., Cashe M., Fernández-Coll L.* // PLoS One. 2021. V. 16. e0259067.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0259067>
40. *Mayer C., Borges A., Flament-Simon S.-C., Simões M.* // FEMS Microbiol. Rev. 2023. V. 47. P. 238–245.
41. *Ono K., Oka R., Toyofuku M., Sakaguchi A., Da M., Yoshida S., Nomura N.* // Microbes Environ. 2014. V. 29. P. 104–106.
<https://doi.org/10.1264/jsme2.ME13151>
42. *Kalivoda E., Brothers K., Stella M., Schmitt M., Shanks R.* // PLoS One. 2013. V. 8. P. 1–11.
43. *Ломоватская Л.А., Макарова Л.Е., Кузакова О.В., Романенко А.С., Гончарова А.М.* // Прикл. биохимия микробиология. 2016. Т. 52. № 3. С. 306–311.
44. *Tian Z., Xiang F., Peng K., Qin Z., Feng Y., Huang B. et al.* // Animals. 2024. V. 14. P. 1–15.
<https://doi.org/10.3390/ani14030437>
45. *Taguchi F., Ichinose Y.* // Mol. Plant Pathol. 2013. V. 14. P. 279–292.
<https://doi.org/10.1111/mpp.12003>
46. *Lin C.T., Chen Y.C., Jinn T.R., Wu C.C., Hong Y.M., Wu W.H.* // PLoS One. 2013. P. 11–14.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054430>
47. *Serate J., Roberts G.P., Berg O., Youn H.* // J. Bacteriol. 2011. V. 193. P. 4859–4868.
<https://doi.org/10.1128/JB.00352-11>
48. *Liu Y., Jiang G., Cui Y., Mukherjee A., Ma W.L., Chatterjee A.K.* // J. Bacteriol. 1999. V. 181. P. 2411–2421.
<https://doi.org/10.1128/jb.181.8.2411-2421.1999>
49. *Nasser W., Robert-Baudouy J., Reverchon S.* // Mol. Microbiol. 1997. V. 26. P. 1071–1082.
50. *Lu Y., Rashidul I.M., Hirata H., Tsuyumu S.* // J. Bacteriol. 2011. V. 193. P. 6674–6682.
<https://doi.org/10.1128/JB.05714-11>
51. *Thomson N.R., Nasser W., McGowan S., Sebahia M., Salmond G.P.C.* // Microbiol. 1999. V. 145. P. 1531–1545.
52. *Tampakaki A.* // Front. Plant Sci. 2014. V. 27. P. 1–19.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00114>
53. *Soto M., Sanjuan J., Olivares J.* // Microbiology. 2006. V. 152. P. 3167–3174.
<https://doi.org/10.1099/mic.0.29112-0>
54. *Bianchini G.M., Carricart V.C., Flawia M.M., Sanchez-Rivas Bonarek C.* // World J. Microbiol. Biotechnol. 1993. V. 9. P. 168–173.
55. *Janczarek M., Skorupska A.* // Microbiol. Lett. 2009. V. 291. P. 119–125.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2008.01443.x>
56. *Janczarek M., Urbanik-Sypniewska T.* // J. Bacteriol. 2013. V. 195. P. 3412–3423.
<https://doi.org/10.1128/JB.02213-12>
57. *Tian C.F., Garnerone A.M., Mathieu-Demazière C., Masson-Boivin C., Batut J.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2012. V. 109. № 17. P. 6751–6756.
58. *Sharypov L.A., Yurgel S.N., Keller M., Simarov B.V., Pühler A., Becker A.* // Mol. Gen. Genet. 1999. V. 261. P. 1032–1044.
59. *Zhang X., Wu J., Kong Z.* // Plant Commun. 2024. V. 5. 101045.
<https://doi.org/10.1016/j.xplc.2024.101045>
60. *Asif M., Xie X., Zhao Z.* // Phytopathology Research. 2025. V. 7.
<https://doi.org/10.1186/s42483-024-00304-2>

The Role of Adenylate Cyclase and cAMP in Controlling the Virulence of Animal Bacterial Pathogensrole Phytopathogens and Plant Mutuals

L. A. Lomovatskaya^{a, *}, A. M. Goncharova^a

^a*Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry of the Siberian Branch of the Russian Academy of Science,
Irkutsk, 664033 Russia*

**e-mail: LidaL@sifibr.irk.ru*

According to the information available today, all types of microorganisms have common mechanisms for regulating the activity of virulence factors by the secondary messenger cAMP. They have been best studied in human and animal pathogens. At the same time, microorganisms that differ in specialization and habitat conditions, such as phytopathogens and mutualists, have mechanisms controlled by cAMP and adenylate cyclases that are fundamentally different from those in animal pathogens. The level of study of these processes in microorganisms of different specializations is uneven. The review attempts to systematize the available literature data and conduct a comparative analysis.

Keywords: adenylate cyclases, cAMP, virulence factors, bacterial animal pathogens, phytopathogens, mutualists