

DOI: 10.7868/S3034574X26020147
УДК 579.61:575.113.1:577.21:57.088.2

Оригинальная статья

МОДУЛЯТОР ФЕРМЕНТАТИВНОГО ЛИЗИСА КЛЕТОЧНЫХ СТЕНОК НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ДНК

К. Жасем¹, Р.З. Хайруллин^{2,3}, С.Н. Куликов^{2,*}

¹ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Казань, Российская Федерация

²ФБУН КНИИЭМ Роспотребнадзора, Казань, Российская Федерация

³ФГБОУ ВО «КНИТУ», Казань, Российская Федерация

*E-mail: kuliks@yandex.ru

Аннотация. С целью повышения эффективности извлечения ДНК из грам-положительных стафилококков был разработан модифицированный способ, основанный на ферментативном расщеплении клеточных стенок бактерий. В качестве объекта использовались клетки *Staphylococcus aureus*, клеточные стенки которого характеризуются повышенной устойчивостью к действию литических ферментов за счет большого количества пептидных сшивок в пептидогликановом слое. Для лизиса клеточных стенок стафилококка использовали известный фермент — лизостафин, а в качестве модулятора лизиса — высокомолекулярный хитозан. За счет поликатионных свойств хитозан связывается с компонентами клеточных стенок бактерий, в том числе с отрицательно-заряженными тейхоевыми кислотами. Благодаря этому происходит два параллельных процесса — высвобождение из комплекса с полианионной кислотой собственных бактериальных автолизинов, а также уменьшение эффекта связывания с тейхоевыми кислотами добавляемого лизостафина. При добавлении высокомолекулярного хитозана наблюдается усиление лизиса клеток *Staphylococcus aureus* лизостафином, которое фиксируется по резкому ускорению падения величины оптической плотности бактериальной культуры. Одновременно с этим уменьшается количество живых клеток в суспензии и увеличение выхода нуклеиновой кислоты. Использование хитозанового полимера при ферментативном лизисе клеточных стенок *Staphylococcus aureus* позволяет получить ДНК из минимального количества исходной биомассы с целью ее использования для полногеномного секвенирования по нанопоровой технологии.

Ключевые слова: хитозан, лизостафин, клеточная стенка бактерий, лизис клеточной стенки, выделение бактериальной ДНК

Финансирование. Исследование проведено в рамках Госзадания № 126022517948-7.

Конфликт интересов. Авторы данной работы заявляют, что у них отсутствует конфликт интересов.

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи.

Ссылка для цитирования: Жасем К., Хайруллин Р.З., Куликов С.Н. Модулятор ферментативного лизиса клеточных стенок на основе хитозана для выделения бактериальной ДНК. *Прикладная биохимия и микробиология / Applied biochemistry and microbiology*. 2026. Т. 62. № 2. С. 307–314.
<https://doi.org/10.7868/S3034574X26020147>

CHITOSAN-BASED ENZYMATIC CELL WALL LYSIS MODULATOR FOR BACTERIAL DNA ISOLATION

K.Jasem¹, R.Z. Khayrullin^{2,3}, S.N. Kulikov^{2,*}

¹*Kazan (Volga region) Federal University, Kazan, Russian Federation*

²*Kazan Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Kazan, Russian Federation*

³*Kazan National Research Technological University, Kazan, Russian Federation*

*E-mail: kuliks@yandex.ru

Abstract. To improve the efficiency of DNA extraction from Gram-positive staphylococci, a modified method based on enzymatic digestion of bacterial cell walls was developed. *Staphylococcus aureus* cells were used as the test sample, as their cell walls are characterized by increased resistance to lytic enzymes due to the large number of peptide cross-links in the peptide glycan layer. A well-known enzyme, lysostaphin, was used to lyse the staphylococcal cell walls, and high-molecular-weight chitosan was used as a lysis modulator. Due to its polycationic properties, chitosan binds to bacterial cell wall components, including negatively charged teichoic acids. This results in two parallel processes: the release of the bacterial autolysins from the complex with polyanionic acid and a reduction in the binding effect of the added lysostaphin to teichoic acids. The addition of high-molecular-weight chitosan enhances *Staphylococcus aureus* cell lysis by lysostaphin, as evidenced by a sharp acceleration in the decline in the bacterial culture's optical density. This is accompanied by a decrease in the number of viable cells in the suspension and an increase in nucleic acid yield. Using chitosan polymer in enzymatic lysis of *Staphylococcus aureus* cell walls allows DNA to be obtained from a minimal amount of initial biomass for use in whole-genome sequencing using nanopore technology.

Keywords: chitosan, lysostaphin, bacterial cell wall, cell wall lysis, bacterial DNA isolation

Funding. The study was conducted within the framework of State Assignment No. 126022517948-7.

Conflict of interests. The authors of this work declare that they have no conflict of interest.

Authors contribution. All authors made a significant contribution to the development of the concept, conduct of the study, and preparation of the article.

For Citation: Jasem K., Khayrullin R.Z., Kulikov S.N. Chitosan-based enzymatic cell wall lysis modulator for bacterial DNA isolation. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya / Applied biochemistry and microbiology*. 2026;62(2):307–314. (In Russ.) <https://doi.org/10.7868/S3034574X26020147>

Прогресс в области высокопроизводительных омиксных технологий является причиной того, что анализ генома и транскриптома, данные микробиома и экспресс-диагностика инфекционных заболеваний на основе ДНК становятся важными инструментами в микробиологических исследованиях. Высокоэффективными методами секвенирования нуклеиновых кислот является методы с использованием нанопоровых технологий, которая позволяет избежать стадий ПЦР-амплификации и химического мечения образца ДНК. Важной характеристикой метода является то, что возможно секвенирование неизвестного генетического материала, к которому невозможно или не нужно подбирать праймеры. Возможности метода включают сравнительно доступное генотипирование, быстрый анализ и отображение результатов в реальном времени. Степень успешности результатов этих анализов сильно зависит от надежного выделения высококачественных нуклеиновых кислот (или иных внутриклеточных компонентов) из различных микроорганизмов [1]. Главным препятствием для получения внутриклеточных компонентов из бактерий становятся их клеточные стенки, которые демонстрируют значительные различия в химической структуре в зависимости от вида. Исследования показали значительное разнообразие в тонкой структуре клеточных стенок бактерий и, следовательно, их различную чувствительность к антибиотикам и бактериолитикам [2]. Клеточные стенки бактерий родов *Streptococcus* и *Staphylococcus* являются одними из самых устойчивых к разрушающему действию литических агентов, применяемых для выделения из них нуклеиновых кислот, в особенности если требуется получать генетический материал с наименьшей степенью фрагментации [3]. Одними из наиболее важных компонентов клеточной стенки являются полисахаридные структуры, включая пептидогликан, липополисахарид и внеклеточные полисахариды. Получение геномной ДНК или тотальной РНК из трудно поддающихся лизису бактерий может быть крайне неэффективным по сравнению с легко лизирующимися бактериальными клетками.

В настоящее время существуют различные методы лизиса бактерий: химические, ферментативные, механические или их комбинации. Основные области применения бактериолитических ферментов связаны с извлечением нуклеиновых кислот из чувствительных бактерий и сферопластикой для трансформации клеток. Часто применяемый лизоцим способен расщеплять углеводные связи в муреине грамположительных бактерий, однако он практически не эффективен в отношении стафилококков, для которых в связи с этим используют ферменты, расщепляющие многочисленные поперечно-сшивающие пентаглициновые мостики [4]. Существуют и бактериальные объекты, которые до сих пор представляют собой «крепкий орешек» для

литического действия ферментов, такие как споры *Bacillus* и клетки *Mycobacterium tuberculosis*. Методы химического и механического лизиса могут быть эффективны для микроорганизмов с особо прочными клеточными оболочками, но их применение имеет определенные ограничения, включая необходимость в специализированном оборудовании, различную эффективность экстракции, нагрев образцов, а самое главное — высоковероятную деструкцию целевых клеточных продуктов, в особенности таких длинных линейных полимерных структур, как нуклеиновые кислоты.

В связи с этим совершенствование методов извлечения минимально деградированной ДНК из клеток бактерий посредством мягкого, но эффективного разрушения клеточных стенок является актуальной задачей. Одним из таких подходов является модификация ферментативного лизиса бактериальных клеточных стенок за счет использования модуляторов, которые обладают антибактериальной активностью благодаря различным механизмам воздействия на микроорганизмы. В их число входят ряд антимикробных пептидов, а также пептидных антибиотиков, которые вызывают лизис клеточных стенок бактерий посредством активации собственных бактериальных эндолизиннов, содержащихся как в клеточной стенке, так и в цитоплазме [5]. Последнее возможно благодаря взаимодействию антимикробных пептидов с цитоплазматической мембраной и нарушением ее целостности и барьерных функций.

В качестве альтернативы антибактериальным пептидам, получение которых требует значительных затрат, возможно использование непептидных модуляторов действия бактериолитических ферментов. В качестве одного из таких модуляторов может служить аминополисахарид — олигохитозан [6]. Антибактериальные свойства данного соединения давно известны, однако благодаря значительному прогрессу в области получения олигомерных форм хитозана в последнее время стало возможным получение данных веществ с заданной химической структурой, которая значительно влияет на проявление им биологической активности [7, 8]. Известно, что олигохитозаны способны проникать во внутренние структуры клеток бактерий несмотря на то, что типичный размер пор в клеточных стенках грамположительных бактерий не превышает 8 нм [9]. Такое проникновение обусловлено тем, что положительно заряженный хитозан связывается с отрицательно заряженными структурами клеточных стенок — тейхоевыми кислотами, что способствует неконтрольному высвобождению бактериальных автолизиннов, которые начинают расщеплять муреин. Поскольку тейхоевые кислоты пронизывают клеточную стенку от внешних ее слоев до внутренних, вплоть до цитоплазматической мембраны, считается, что олигохитозаны достаточно легко поступают внутрь бактериальных

клеток, что способствует более эффективному разрушению клеточных стенок в процессе антибактериального действия [10].

Цель настоящей работы — оценка влияния хитозана в качестве модулятора лизиса бактериальных клеток при извлечении из них высокомолекулярной ДНК.

МЕТОДИКА

Использовали высокомолекулярный хитозан краба со средневязкостной молекулярной массой (M_w) 600000 Да и степенью дезацетилирования 85 % (ООО «Биопрогресс», Россия). Для приготовления рабочего раствора хитозан растворяли в 1,0 М растворе уксусной кислоты и осаждали 0,5 М гидроксидом натрия. Осадок отделяли центрифугированием при 2000g, ресуспендировали в воде и растворяли, добавляя 0,1 М соляную кислоту. После полного растворения переосажденного хитозана рН раствора доводили до 6,5 0,5 М гидроксидом натрия и стерилизовали в автоклаве в течение 15 мин.

В работе использовали штамм *Staphylococcus aureus* ATCC 35591, который хранили в полужидком мясо-пептонном агаре (МПА), при 4 °С. Рабочие культуры бактерий хранили на МПА при 4 °С. Для приготовления 18-часовой культуры бактерий в колбу объемом 100 мл, содержащую 20 мл мясопептонного бульона (МПБ), добавляли 5 % (об./об.) суспензии бактериальной культуры и инкубировали на качалке (150 об./мин) при 37 °С.

Использовали лизоцилин из *S. staphylolyticus* (Sigma, США), содержащий 60 % белка со специфической активностью 500 Е/мг белка.

Оценку лизирующей активности лизоцилина и влияние на этот процесс хитозана проводили в соответствии с модифицированным методом [11]. Количество фермента было подобрано таким образом, чтобы в течение 30 мин оптическая плотность клеточной суспензии уменьшалась примерно на одну треть от первоначального значения. В лунки 96-луночного плоскодонного планшета вносили различные концентрации хитозана в 0,05 М Na-фосфатном буфере, рН 7,4, приготовленные методом двойных разведений, и в каждую лунку добавляли в качестве субстрата суспензию живых клеток *S. aureus*, оптическая плотность (ОП) которых при 620 нм была в пределах 0,295–0,300 (8×10^7 КОЕ/мл), и лизоцилин до конечной концентрации 1,0 Е/мл. Полученную смесь инкубировали в термощейкере «Elmi» ST-3 (Латвия) при 350 об./мин и 37 °С. Оптическую плотность измеряли при 620 нм на планшетном фотометре «Эфос» 9305 («Эконикс», Россия).

Количество живых клеток *S. aureus* подсчитывали после посева суспензии на чашки Петри с МПА и инкубации в течение 24 ч при 37 °С.

После ферментативной реакции суспензию бактерий центрифугировали для осаждения клеток и крупных фрагментов клеточных стенок при 15000 g и 8 °С в течение 15 мин. Раствор после центрифугирования использовали для выделения ДНК. Экстракцию ДНК проводили с помощью фенол-хлороформного метода. Концентрацию полученных нуклеиновых кислот определяли флуориметрическим методом на приборе Qubit 4 (Thermo Fisher Scientific, США). Для оценки длины фрагментов ДНК проводили электрофорез в 0,8 % агарозном геле.

Опыты проводили в трехкратной повторности. Результаты статистически обрабатывали с помощью компьютерной программы Microsoft Office Excel. Данные представляли в виде среднего значения \pm среднеквадратическое отклонение. Для оценки достоверности различий между результатами в вариантах опыта использовали t-критерий Стьюдента для множественных сравнений. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез был принят за $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Ферментативная активность лизоцилина определялась стандартным методом по изменению ОП суспензий живых или инактивированных клеток микроорганизмов или компонентов их клеточных стенок [12–14]. В настоящей работе в качестве субстрата лизоцилина использовались живые клетки *S. aureus*. На рис. 1 приведены результаты влияния поликатиона на разрушение стафилококковых клеток лизоцилином. Из рис. 1 видно, что присутствие поликатиона усилило действие лизоцилина, поскольку ОП суспензии бактерий по сравнению с вариантом без добавления полимера была ниже. Степень снижения ОП зависела от концентрации полимера: в присутствии 0,39 мкг/мл хитозана лизис клеток усиливался в незначительной мере, достигая максимума при его концентрации 3,1 мкг/мл. Дальнейшее увеличение концентрации хитозана не только было неэффективным, но даже приводило к повышению ОП, что может свидетельствовать об агрегации клеток поликатионом.

На рис. 2 представлены результаты влияния хитозана в концентрации 3,1 мкг/мл на количество живых клеток бактерий. Было установлено, что в результате инкубации суспензии живых клеток с хитозаном (25 мкг/мл) в течение 30 мин их количество снизилось до $3,1 \times 10^8$ КОЕ/мл, что составляло 56 % от контроля. При действии лизоцилина количество живых клеток уменьшалось до $2,8 \times 10^6$ КОЕ/мл, а при внесении 25 мкг/мл хитозана только до $2,8 \times 10^7$ КОЕ/мл. Таким образом, сочетание лизоцилина и полимера (в данной концентрации) существенно снижало количество живых клеток *S. aureus*.

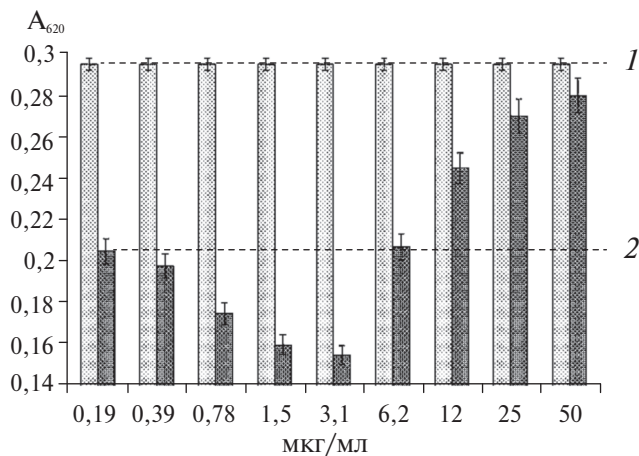


Рис. 1. Влияние хитозана на лизис клеток *S. aureus* в отсутствии и присутствии лизостафина: 1 — хитозан, 2 — хитозан + лизостафин. Верхняя пунктирная линия — ОП бактериальной суспензии до добавления лизостафина, нижняя — после инкубации с лизостафином

Fig. 1. Effect of chitosan on *S. aureus* cell lysis in the absence and presence of lysostaphin: 1 — chitosan, 2 — chitosan + lysostaphin. Upper dotted line — OD of bacterial suspension before addition of lysostaphin, lower — after incubation with lysostaphin

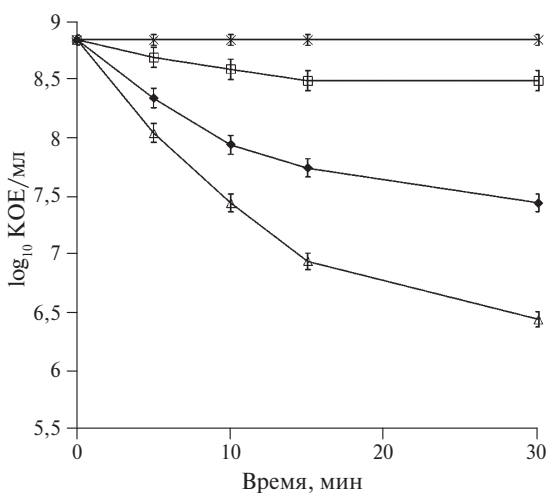


Рис. 2. Количество живых клеток *S. aureus* после действия свободного лизостафина (1), хитозана 3,1 мкг/мл (2) и их смеси (3), 4 — контроль

Fig. 2. The number of living *S. aureus* cells after exposure to free lysostaphin (1), chitosan 3.1 µg/ml (2) and their mixture (3), 4 — control

В табл. 1 представлены концентрации ДНК, которая была получена из надосадочной жидкости после инкубации суспензии клеток *S. aureus* с лизостафином и с добавлением различного количества высокомолекулярного хитозана. Самое значительное уменьшение ОП суспензии (рис. 1) при концен-

трации хитозана 3,1 мкг/мл позволяло выделить из надосадочной жидкости максимальное количество ДНК — 37 нг/мкл через 30 мин инкубации (табл. 1). Дальнейшая инкубация позволяла получить дополнительное количество ДНК, но скорость увеличения концентрации выделенной нуклеиновой кислоты со временем значительно снижалась. При уменьшении концентрации хитозана в инкубационной смеси выход ДНК снижался и приближался к цифрам, близким к контролю с лизостафином без хитозанового полимера. Высокая концентрация поликатиона в смеси (более 6 мкг/мл) препятствовала выделению ДНК. По всей видимости это связано с эффектом сильной агломерации клеток стафилококка и возникновением препятствий в связи с этим как действию фермента, так и выходу ДНК, которая также могла связываться с избытком хитозана в силу противоположности их зарядов.

Электрофорез полученной ДНК в геле позволил подтвердить зависимость концентрации нуклеиновой кислоты от количества хитозана в инкубационной смеси с лизостафином (рис. 3). Также в геле после электрофореза отчетливо наблюдалась бактериальная ДНК с длиной более 10 тыс. п.н. и незначительное количество более мелких фрагментов. Это позволяет сделать вывод, что ДНК, выделенная из клеток стафилококка золотистого таким методом, имела длину, которая необходима для эффективного проведения последующего секвенирования на нанопоровом секвенаторе.

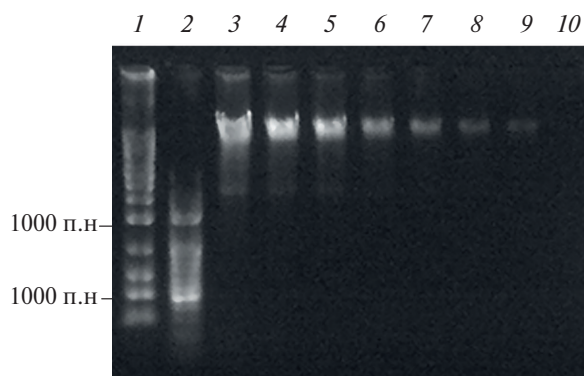


Рис. 3. Электрофорез ДНК, выделенный из *S. aureus* после воздействия лизостафина и хитозана (3,1 мкг/мл): 1, 2 — маркеры ДНК, 3 — хитозан + лизостафин (60 мин); 4 — хитозан + лизостафин (45 мин); 5 — хитозан + лизостафин (30 мин); 6 — хитозан + лизостафин (20 мин); 7 — хитозан + лизостафин (15 мин); 8 — хитозан + лизостафин (10 мин); 9 — хитозан + лизостафин (5 мин); 10 — хитозан + лизостафин (0 мин)

Fig. 3. Electrophoresis of DNA isolated from *S. aureus* after exposure to lysostaphin and chitosan (3.1 µg/ml): 1, 2 — DNA markers, 3 — chitosan + lysostaphin (60 min); 4 — chitosan + lysostaphin (45 min); 5 — chitosan + lysostaphin (30 min); 6 — chitosan + lysostaphin (20 min); 7 — chitosan + lysostaphin (15 min); 8 — chitosan + lysostaphin (10 min); 9 — chitosan + lysostaphin (5 min); 10 — chitosan + lysostaphin (0 min)

Таким образом, в настоящей работе было установлено, что высокомолекулярный хитозан может выступать как модулятор ферментативно-

го лизиса клеточных стенок стафилококков для получения бактериальной длинноцепочечной ДНК.

Таблица 1. Концентрация ДНК (нг/мкл) в зависимости от времени инкубации и концентрации хитозана

Table 1. DNA concentration (ng/ μ l) depending on incubation time and chitosan concentration

Время инкубации, мин	Концентрация хитозана, мкг/мл				
	0	0,39	3,1	6,2	12
0	0	0	0	0	0
5	2	2	3	1	0
10	6	6	9	5	2
15	11	12	25	7	1
20	17	18	31	12	1
30	23	25	37	16	2
45	25	27	39	17	2
60	27	30	42	18	2

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Sheka D., Alabi N., Gordon P.M.K.* Oxford nanopore sequencing in clinical microbiology and infection diagnostics // Briefings in Bioinformatics. 2001. V. 22. № 6. <https://doi.org/10.1093/bib/bbaa403>
2. *Dmitriev B.A., Toukach F.V., Holst O. et al.* Tertiary Structure of Staphylococcus aureus Cell Wall Murein // J. Bacteriol. 2004. V. 186. № 21. P. 7141–7148. <https://doi.org/10.1128/jb.186.21.7141-7148.2004>
3. *Salazar O., Asenjo J.A.* Enzymatic lysis of microbial cells // Biotechnol Lett. 2007. V. 29. № 7. P. 985–994. <https://doi.org/10.1007/s10529-007-9345-2>
4. *Pushkaran A.C., Nataraj N., Nair N. et al.* Understanding the Structure–Function Relationship of Lysozyme Resistance in Staphylococcus aureus by Peptidoglycan O-Acetylation Using Molecular Docking, Dynamics, and Lysis Assay // J. Chem. Inf. Model. 2015. V. 55. № 4. P. 760–770. <https://doi.org/10.1021/ci500734k>
5. *Cho H.-s., Choi M., Lee Y. et al.* High-Quality Nucleic Acid Isolation from Hard-to-Lyse Bacterial Strains Using PMAP-36, a Broad-Spectrum Antimicrobial Peptide // Int. J. Mol. Sci. 2021. V. 22. № 8. P. 4149. <https://doi.org/10.3390/ijms22084149>
6. *Kulikov S.N., Khairullin R.Z., Varlamov V.P.* Influence of polycations on antibacterial activity of lysostaphin // Applied Biochemistry and Microbiology. 2015. V. 51, № 6. P. 683–687. <https://doi.org/10.1134/S0003683815060083>
7. *Куликов С.Н., Варламов В.П.* Роль структуры в элиситорной активности хитозана // Ученые записки Казанского государственного университета. Серия: Естественные науки. 2008. Т. 150. № 2. С. 43–58.
8. *Куликов С.Н., Тюрин Ю.А., Фассахов Р.С. и др.* Антибактериальная и антимикотическая активность хитозана: механизмы действия и роль структуры // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2009. № 5. С. 91–97.
9. *Raafat D., Barga K., Haas A. Sahl H.-G.* Insights into the Mode of Action of Chitosan as an Antibacterial Compound // Appl Environ Microbiol. 2008. V. 74. № 12. P. 3764–3773. <https://doi.org/10.1128/AEM.00453-08>
10. *Yan D., Li Y., Liu Y. et al.* Antimicrobial Properties of Chitosan and Chitosan Derivatives in the Treatment of Enteric Infections // Molecules. 2021. V. 26. № 23. P. 7136. <https://doi.org/10.3390/molecules26237136>
11. *Куликов С.Н., Шумкова Ю.А.* Влияние хитозана на лизис клеток стафилококков лизостафином // Бюллетень Экспериментальной Биологии и Медицины. 2014. Т. 157. № 2. С. 207–210. <https://doi.org/10.1007/s10517-014-2535-8>
12. *Graham S., Coote P.J.* Potent, synergistic inhibition of Staphylococcus aureus upon exposure to a combination of the endopeptidase lysostaphin and the cationic peptide ranalexin // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2007. V. 59. № 4. P. 759–762. <https://doi.org/10.1093/jac/dkl539>
13. *Rabea E.I., Badawy M.E., Stevens C.V. et al.* Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action // Biomacromolecules. 2003. V. 4. № 6. P. 1457–1465. <https://doi.org/10.1021/bm034130m>

14. Blagodatskikh I.V., Kulikov S.N., Vyshivannaya O.V. et al. Influence of glucosamine on oligochitosan solubility and antibacterial activity // *Carbohydrate Research*. 2013. V. 381. P. 28–32. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2013.08.012>

RERERENCES

1. Sheka D., Alabi N., Gordon P.M.K. Oxford nanopore sequencing in clinical microbiology and infection diagnostics. *Brief Bioinform.* 2001. V. 22. № 6. <https://doi.org/10.1093/bib/bbaa403>
2. Dmitriev B.A., Toukach F.V., Holst O. et al. Tertiary Structure of Staphylococcus aureus Cell Wall Murein. *J. Bacteriol.* 2004. V. 186. № 21. P. 7141–7148. <https://doi.org/10.1128/jb.186.21.7141-7148.2004>
3. Salazar O., Asenjo J.A. Enzymatic lysis of microbial cells. *Biotechnol Lett.* 2007. V. 29. № 7. P. 985–994. <https://doi.org/10.1007/s10529-007-9345-2>
4. Pushkaran A.C., Nataraj N., Nair N. et al. Understanding the Structure–Function Relationship of Lysozyme Resistance in Staphylococcus aureus by Peptidoglycan O-Acetylation Using Molecular Docking, Dynamics, and Lysis Assay. *J. Chem. Inf. Model.* 2015. V. 55. № 4. P. 760–770. <https://doi.org/10.1021/ci500734k>
5. Cho H.-s., Choi M., Lee Y. et al. High-Quality Nucleic Acid Isolation from Hard-to-Lyse Bacterial Strains Using PMAP-36, a Broad-Spectrum Antimicrobial Peptide. *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. № 8. P. 4149. <https://doi.org/10.3390/ijms22084149>
6. Kulikov S.N., Khairullin R.Z., Varlamov V.P. Influence of polycations on antibacterial activity of lysostaphin. *Applied Biochemistry and Microbiology.* 2015. V. 51, № 6. P. 683–687. <https://doi.org/10.1134/S0003683815060083>
7. Kulikov S.N., Varlamov V.P. The Role of Chitosan Chemical Structure in Its Elicitor Activity. *Scientific Notes of Kazan State University. Series: Natural Sciences.* 2008. V. 150. № 2. P. 43–58. (In Russ.)
8. Kulikov S.N., Tyurin Yu.A., Fassakhov R.S. et al. Antibacterial and antimycotic activity of chitosan: mechanisms of action and the role of structure. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology.* 2009. № 5. P. 91–97. (In Russ.)
9. Raafat D., Barga K., Haas A. Sahl H.-G. Insights into the Mode of Action of Chitosan as an Antibacterial Compound. *Appl Environ Microbiol.* 2008. V. 74. № 12. P. 3764–3773. <https://doi.org/10.1128/AEM.00453-08>
10. Yan D., Li Y., Liu Y. et al. Antimicrobial Properties of Chitosan and Chitosan Derivatives in the Treatment of Enteric Infections. *Molecules.* 2021. V. 26. № 23. P. 7136. <https://doi.org/10.3390/molecules26237136>
11. Kulikov S.N., Shumkova Y.A. Effect of Chitosan on Lysostaphin Lysis of Staphylococcal Cells. *Bull Exp Biol Med.* 2014. V. 157. № 2. P. 243–245. <https://doi.org/10.1007/s10517-014-2535-8>
12. Graham S., Coote P.J. Potent, synergistic inhibition of Staphylococcus aureus upon exposure to a combination of the endopeptidase lysostaphin and the cationic peptide ranalexin. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 2007. V. 59. № 4. P. 759–762. <https://doi.org/10.1093/jac/dkl539>
13. Rabea E.I., Badawy M.E., Stevens C.V. et al. Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. *Biomacromolecules.* 2003. V. 4. № 6. P. 1457–1465. <https://doi.org/10.1021/bm034130m>
14. Blagodatskikh I.V., Kulikov S.N., Vyshivannaya O.V. et al. Influence of glucosamine on oligochitosan solubility and antibacterial activity. *Carbohydrate Research.* 2013. V. 381. P. 28–32. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2013.08.012>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Кhaled Jasem — аспирант кафедры микробиологии ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» Казань, Российская Федерация

E-mail: khaled.jasem0968@gmail.com
<http://orcid.org/0009-0004-2811-3012>

Хайруллин Руслан Зуфарович — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории иммунологии и разработки аллергенов, ФБУН КНИИЭМ Роспотребнадзора, доцент кафедры промышленной безопасности ФГБОУ ВО «КНИТУ», Казань, Российская Федерация

E-mail: KhayrullinRZ@corp.knrtu.ru
<http://orcid.org/0000-0002-4214-012X>

ABOUT THE AUTHORS

K. Jasem — postgraduate student of the Department of Microbiology, Kazan (Volga region) Federal University, Kazan, Russian Federation

E-mail: khaled.jasem0968@gmail.com
<http://orcid.org/0009-0004-2811-3012>

Khayrullin, Ruslan Z.— Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Immunology and Allergen Development, Kazan Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Associate Professor at the Department of Industrial Safety, Kazan National Research Technological University, Kazan, Russian Federation

E-mail: KhayrullinRZ@corp.knrtu.ru
<http://orcid.org/0000-0002-4214-012X>

Куликов Сергей Николаевич — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунологии и разработки аллергенов, ФБУН КНИИЭМ Роспотребнадзора, Казань, Российская Федерация
E-mail: kuliks@yandex.ru
<http://orcid.org/0000-0001-6260-2363>

Поступила в редакцию 11.11.2025
После доработки 01.12.2025
Принята к публикации 05.12.2025

Kulikov, Sergey N. — Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher, Laboratory of Immunology and Allergen Development, Kazan Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Kazan, Russian Federation
E-mail: kuliks@yandex.ru
<http://orcid.org/0000-0001-6260-2363>

Received November 11, 2025
Revised December 01, 2025
Accepted December 05, 2025