

5,7-ДИАМИНО-3,5,7,9-ТЕТРАДЕЗОКСИНОН-2-УЛОЗОНОВЫЕ КИСЛОТЫ В КАПСУЛЬНЫХ ПОЛИСАХАРИДАХ *Acinetobacter baumannii*

Обзор

© 2023 Ю.А. Книрель^{1*}, А.А. Касимова¹, Н.П. Арбатский¹, М.М. Шнейдер²,
А.В. Попова³, Ф.А. Бровко⁴, А.С. Шашков¹, С.Н. Сенченкова¹,
А.В. Перепелов¹, А.М. Шпирт¹

¹ Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН,
117913 Москва, Россия; электронная почта: yknirel@gmail.com

² Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
117997 Москва, Россия

³ Государственный исследовательский центр прикладной микробиологии и биотехнологии,
142279 Оболенск, Московская обл., Россия

⁴ Филиал Института биоорганической химии
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 142290 Пущино, Московская обл., Россия

Поступила в редакцию 18.12.2022

После доработки 16.01.2023

Принята к публикации 19.01.2023

Защищая бактерии от внешних антимикробных факторов, полисахаридная капсула, окружающая бактериальную клетку, играет важную роль в патогенезе инфекционных заболеваний, вызываемых условно-патогенным микроорганизмом *Acinetobacter baumannii*. Структуры капсульных полисахаридов (КПС), продуцируемых индивидуальными изолятами *A. baumannii*, и соответствующие генные кластеры биосинтеза КПС отличаются значительным разнообразием, и в то же время многие из них являются родственными друг другу. Особенностью КПС многих типов *A. baumannii* является присутствие в их составе 5,7-диамино-3,5,7,9-тетрадезоксинон-2-улозоновых кислот. Три из этих высших сахаров – ацинетаминовая кислота (L-глицеро-L-альтро-изомер), 8-эпиацинетаминовая кислота (D-глицеро-L-альтро-изомер) и 8-эпипсевдааминовая кислота (D-глицеро-L-манно-изомер) – в других природных углеводах до настоящего времени не обнаружены. Эти моносахариды несут N-ацильные заместители в положениях 5 и 7, и в КПС некоторых типов *A. baumannii* в положении 7 псевдааминовой кислоты (L-глицеро-L-манно-изомер) и легионаминовой кислоты (D-глицеро-D-галакто-изомер) альтернативно присутствуют N-ацетильная или N-(3-гидроксипропаноильная) группа. При этом псевдааминовая кислота несет (R)-изомер 3-гидроксипропаноильной группы, а легионаминовая кислота – (S)-изомер. В настоящем обзоре рассмотрены строение и генетика биосинтеза КПС *A. baumannii*, содержащих ди-N-ацильные производные 5,7-диамино-3,5,7,9-тетрадезоксинон-2-улозоновых кислот.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: *Acinetobacter baumannii*, капсульный полисахарид, бактериальный полисахарид, капсула, ацильная группа, высший моносахарид, нонулозоновая кислота.

DOI: 10.31857/S0320972523020069, EDN: QGLOGL

ВВЕДЕНИЕ

Род бактерий *Acinetobacter* принадлежит к семейству Moraxellaceae порядка Pseudomonadales класса Gammaproteobacteria (тип Proteo-

bacteria). Он включает условно-патогенный грамотрицательный микроорганизм *Acinetobacter baumannii*, который является глобально распространенным возбудителем внутрибольничных инфекций, отличающихся высокой

Принятые сокращения: ДТНК – 5,7-диамино-3,5,7,9-тетрадезоксинон-2-улозоновая кислота; КПС – капсульный полисахарид; Ac – ацетил; Aci – ацинетаминовая кислота; CMP – цитозинмонофосфат; Leg – легионаминовая кислота; Pse – псевдааминовая кислота; RHb – (R)-3-гидроксипропаноил; SHb – (S)-3-гидроксипропаноил; UDP – уридиндифосфат; 8eAci – 8-эпиацинетаминовая кислота; 8eLeg – 8-эпиацинетаминовая кислота; 8ePse – 8-эпипсевдааминовая кислота.

* Адресат для корреспонденции.

летальностью. Вызывая пневмонию, септицемию, менингит и будучи ответственными за раневые инфекции и инфекционные заболевания мочевыводящих путей, эти бактерии стали серьезной угрозой здоровью человека во всем мире. Интерес к изучению *A. baumannii* и созданию вакцин для защиты от этих бактерий постоянно возрастает.

Одним из основных факторов вирулентности *A. baumannii* является полисахаридная капсула, которая окружает бактериальную клетку и обеспечивает устойчивость бактерий к защитным механизмам хозяина, включая врожденный иммунитет. Тип бактерий определяется структурой капсульного полисахарида (КПС). В последнее время опубликован ряд статей и обзоров, в которых обсуждаются различные аспекты изучения КПС *A. baumannii* [1–3].

Клинические изоляты *A. baumannii* отличаются множественной антибиотикорезистентностью. В связи с этим в качестве альтернативного подхода для борьбы с инфекционными заболеваниями, вызываемыми этими бактериями, рассматривается вакцинация. Для этой цели используются гликовакцины на основе КПС и их фрагментов, полученных расщеплением полисахаридов деполимеразами специфических бактериофагов [4] или химическим синтезом [5]. Бактериофаги и их комбинации (коктейли) сами могут использоваться для контроля вирулентных штаммов *A. baumannii* [6].

Капсульные полисахариды *A. baumannii* построены из повторяющихся олигосахаридов (К-звеньев), которые включают от трех до пяти моносахаридных остатков. Биосинтез КПС осуществляется по полимеразе (Wzy)-зависимому пути, который начинается со сборки

К-звена на липидном (ундекапренилдифосфатном) носителе, связанном с внутренней мембраной. В этом процессе участвует иницирующая трансфераза Itr, присоединяющая к липиду первый моносахарид К-звена, и гликозилтрансферазы, создающие затем специфические связи между моносахаридными компонентами внутри К-звена. Затем продукт (К-звено, связанное с липидом) переносится транслоказой Wzx в периплазматическое пространство, где К-звенья связываются друг с другом полимеразой Wzy, и готовый КПС переносится на клеточную поверхность с помощью белков Wza, Wzb и Wzc [1].

В хромосомных К-локусах *A. baumannii* присутствуют более 200 различных комбинаций генов [7], каждая из которых ответственна за синтез и экспорт КПС с определенной структурой. Следствием генетического разнообразия является широкое разнообразие структур КПС этих бактерий. Они варьируются по типам входящих в их состав моносахаридов и неуглеводных компонентов и по типам связей между моносахаридами внутри К-звеньев и между К-звеньями.

Капсульные полисахариды многих типов *A. baumannii* содержат различные изомеры 5,7-диамино-3,5,7,9-тетрадезоксинон-2-улозоновой кислоты (ДТНК), известные как компоненты ряда других бактериальных полисахаридов и гликопротеинов. В недавно опубликованных обзорах обсуждались химические свойства ДТНК, методы выделения этих моносахаридов, их идентификации и химического синтеза [8, 9].

Два изомера ДТНК — псевдаминовая и легионаминовая кислоты, имеющие L-глицеро-L-манно- и D-глицеро-D-галакто-конфигурацию соответственно, — были впервые найдены

Таблица 1. Присутствие 5,7-диамино-3,5,7,9-тетрадезоксинон-2-улозоновых кислот в капсульных полисахаридах *Acinetobacter baumannii*

Тривиальное название и аббревиатура	Конфигурация	Впервые найдена в бактериях	Присутствует в КПС капсульного типа*
Псевдаминовая кислота, Pse	L-глицеро-L-манно	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	K2, K6, K16, K33, K42, K46, K90, K93, K121, K218
8-Эпипсевдаминовая кислота, 8ePse	D-глицеро-L-манно	<i>A. baumannii</i>	K135
Легионаминовая кислота, Leg	D-глицеро-D-галакто	<i>Legionella pneumophila</i>	K5, K7, K8, K27, K44, K54, K63
8-Эпилегионаминовая кислота, 8eLeg	L-глицеро-D-галакто	<i>P. aeruginosa</i>	K49
Ацинетаминовая кислота, Aci	L-глицеро-L-альтро	<i>A. baumannii</i>	K12, K13
8-Эпиацинетаминовая кислота, 8eAci	D-глицеро-L-альтро	<i>A. baumannii</i>	K73

Примечание. * Структуры КПС приведены в табл. 2.

в полисахаридах *Pseudomonas aeruginosa* и *Legionella pneumophila* и получили тривиальные названия по родовым названиям этих бактерий (табл. 1). Впоследствии в бактериальных углеводах были обнаружены также эпимеры легионаминовой кислоты по С-4 и С-8 (D-глицеро-D-тало- и L-глицеро-D-галакто-изомеры соответственно).

Недавно в КПС *A. baumannii* найдены еще три представителя ДТНК (табл. 1). Один из них — ацинетаминовая кислота (L-глицеро-L-альтро-изомер) получил название, указывающее на род бактерий *Acinetobacter*, где он был обнаружен впервые [10]. Два других новых высших моносахарида являются эпимерами по С-8 ацинетаминовой кислоты (D-глицеро-L-альтро-изомер) [11, 12] и псевдаминовой кислоты (D-глицеро-L-манно-изомер) [13, 14].

Генные кластеры биосинтеза КПС *A. baumannii*, содержащих ДТНК, включают модуль генов для синтеза цитозинмонофосфатактивированной формы этих высших моносахаридов.

В настоящем обзоре впервые рассмотрены вместе строение и генетика биосинтеза КПС *A. baumannii*, содержащих ди-N-ацильные производные 5,7-диамино-3,5,7,9-тетрадезоксинон-2-улозоновых кислот.

СОСТАВ И СТРОЕНИЕ КАПСУЛЬНЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ *A. baumannii*, СОДЕРЖАЩИХ 5,7-ДИАМИНО-3,5,7,9-ТЕТРАДЕЗОКСИНОН-2-УЛОЗОНОВЫЕ КИСЛОТЫ

Псевдаминовая кислота (Pse) и легионаминовая кислота (Leg) являются наиболее распространенными высшими моносахаридами в составе КПС *A. baumannii* (табл. 1). Кроме них, в полисахаридах некоторых штаммов идентифицированы ацинетаминовая кислота (Aci) и эпимеры всех трех моносахаридов по С-8 (8eAci, 8eLeg и 8ePse). Ацинетаминовая, 8-эпиацинетаминовая и 8-эпипсевдаминовая кислоты до настоящего времени в других природных углеводах обнаружены не были, и, таким образом, они являются уникальными для бактерий *A. baumannii*.

Наиболее распространенным заместителем аминогрупп в положениях 5 и 7 ДТНК является ацетильная группа (Ac), но в КПС некоторых капсульных типов на остатке Pse или Leg в положении 7 присутствуют различные ацильные заместители (табл. 2). Так, в КПС капсульных типов K8, K27 и K44 на аминогруппе в положении 5 остатка легионаминовой

кислоты находится ацетильная группа, а на другой аминогруппе — ацетильная или 3-гидроксисибутаноильная группа при доминировании последней (табл. 2). Аналогично, в КПС капсульных типов K42 и K93 присутствуют 5,7-ди-N-ацетильное и 5-N-ацетил-7-N-(3-гидроксисибутаноильное) производные псевдаминовой кислоты [20, 24]. Эти вариации ацильных заместителей, по-видимому, являются следствием нестрогой специфичности соответствующих ацилтрансфераз по отношению к донору ацильной группы. Отметим также, что псевдаминовая кислота несет остаток (R)-3-гидроксисибутановой кислоты (RNB), а легионаминовая кислота — остаток (S)-3-гидроксисибутановой кислоты (SNB).

О-Ацетилирование — модификация, обязанная присутствию в бактериальном геноме функционального гена ацилтрансферазы. Так, остатки Leg5Ac7Ac и Pse5Ac7Ac О-ацетилированы в положении 4 в КПС капсульных типов K5 и K46 соответственно [21, 25], тогда как близкородственные по структуре КПС типов K7, K90 и K218 включают неацетилированные формы этих моносахаридов [22, 23, 26]. В штаммах с КПС типов K5 и K46 ген ацилтрансферазы обнаружен в геноме лизогенного бактериофага, интегрированного в геном бактерии [21, 25]. Эти данные показывают, что некоторые гены, участвующие в биосинтезе КПС, могут передаваться между бактериями по механизму, отличному от гомологичной рекомбинации.

Как и другие специфические полисахариды бактерий, КПС *A. baumannii*, содержащие ДТНК, построены из повторяющихся олигосахаридов (К-звеньев), размер которых варьируется от трисахарида до пентасахарида (табл. 2). Большинство полисахаридов являются разветвленными с остатком ДТНК в боковой цепи, но нередки и линейные полимеры, такие как, например, КПС групп K6, K16, K33 (все включают Pse) [17–19] и K49 (включает 8eLeg) [29].

Наиболее типичным К-звеном является разветвленный тетрасахарид с одним моносахаридным или дисахаридным ответвлением (топология 3 + 1 или 2 + 2 соответственно). У многих разветвленных КПС, содержащих ДТНК в боковой цепи, основная цепь построена из дисахаридных повторяющихся звеньев, одним из компонентов которых является β-D-GalpNAc (табл. 2).

Остаток ДТНК может присоединяться α- или β-гликозидной связью. α-Аномеры Leg и эпимеров Leg имеют аксиальную карбоксильную группу, тогда как у α-аномеров Pse и Aci и их 8-эпимеров карбоксильная группа находится в экваториальном положении.

Таблица 2. Структуры капсульных полисахаридов *Acinetobacter baumannii*, содержащих 5,7-диамино-3,5,7,9-тетрадезоксинон-2-улозоновые кислоты

К-тип	Штамм	Структура капсульного полисахарида	Ссылка
Полисахариды, содержащие Pse или 8ePse			
K2	ACICU, A74, 54149	$\begin{array}{c} \rightarrow 3)-\beta-D-Galp-(1 \rightarrow 3)-\beta-D-GalpNAc-(1 \rightarrow \\ 6 \\ \uparrow \\ 1 \\ \alpha-Psep5Ac7Ac-(2 \rightarrow 6)-\beta-D-Glcp \end{array}$	[4, 15, 16]
K6	RBH4	$\rightarrow 4)-\beta-Psep5Ac7Ac-(2 \rightarrow 6)-\beta-D-Galp-(1 \rightarrow 6)-\beta-D-Galp-(1 \rightarrow 3)-\alpha-D-GalpNAc-(1 \rightarrow$	[17]
K16	D4, ST25	$\rightarrow 4)-\beta-Psep5Ac7Ac-(2 \rightarrow 4)-\beta-D-Galp-(1 \rightarrow 3)-\beta-D-GlcpNAc-(1 \rightarrow$	[18]
K33	NIPH67	$\rightarrow 4)-\alpha-Psep5Ac7Ac-(2 \rightarrow 6)-\beta-D-Galp-(1 \rightarrow 3)-\alpha-D-GalpNAc-(1 \rightarrow$	[19]
K42	LUH5550	$\begin{array}{c} \rightarrow 3)-\beta-D-Ribp-(1 \rightarrow 3)-\beta-D-GalpNAc-(1 \rightarrow \\ 4 \\ \uparrow \\ 2 \\ \alpha-Psep5Ac7R \\ R = Ac \text{ или } RHb (\sim 1 : 2.5) \end{array}$	[20]
K46	NIPH329	$\begin{array}{c} \rightarrow 3)-\alpha-D-Galp-(1 \rightarrow 6)-\alpha-D-GlcpNAc-(1 \rightarrow 3)-\beta-D-GalpNAc-(1 \rightarrow \\ 6 \\ \uparrow \\ 2 \\ \beta-Psep5Ac7Ac4Ac \end{array}$	[21]
K90	LUH5553	$\begin{array}{c} \rightarrow 3)-\alpha-D-GlcpNAc-(1 \rightarrow 3)-\beta-D-GlcpNAc-(1 \rightarrow \\ 6 \\ \uparrow \\ 1 \\ \beta-Psep5Ac7Ac-(2 \rightarrow 3)-\alpha-D-Galp \end{array}$	[22]
K218	52-249	$\begin{array}{c} \rightarrow 3)-\alpha-D-Galp-(1 \rightarrow 6)-\alpha-D-GlcpNAc-(1 \rightarrow 3)-\beta-D-GalpNAc-(1 \rightarrow \\ 6 \\ \uparrow \\ 2 \\ \alpha-Psep5Ac7Ac \end{array}$	[23]
K93	B11911	$\begin{array}{c} \rightarrow 3)-\beta-D-Galp-(1 \rightarrow 3)-\beta-D-GalpNAc-(1 \rightarrow \\ 6 \\ \uparrow \\ 1 \\ \beta-Psep5Ac7R-(2 \rightarrow 6)-\alpha-D-Galp \\ R = Ac \text{ или } RHb (\sim 1 : 2.5) \end{array}$	[24]
K135	RES-546	$\begin{array}{c} \rightarrow 3)-\alpha-D-GlcpNAc-(1 \rightarrow 3)-\beta-D-GlcpNAc-(1 \rightarrow \\ 6 \\ \uparrow \\ 1 \\ \beta-8ePsep5Ac7Ac-(2 \rightarrow 6)-\alpha-D-Galp \end{array}$	[14]
Полисахариды, содержащие Leg или 8eLeg			
K5	SDF	$\begin{array}{c} \rightarrow 3)-\alpha-D-Galp-(1 \rightarrow 6)-\alpha-D-GlcpNAc-(1 \rightarrow 3)-\beta-D-GalpNAc-(1 \rightarrow \\ 6 \\ \uparrow \\ 2 \\ \alpha-Legp5Ac7Ac4Ac \end{array}$	[21, 25]
K7	LUH5533	$\begin{array}{c} \rightarrow 3)-\alpha-D-GlcpNAc-(1 \rightarrow 3)-\beta-D-GalpNAc-(1 \rightarrow \\ 6 \\ \uparrow \\ 1 \\ \alpha-Legp5Ac7Ac-(2 \rightarrow 6)-\alpha-D-Galp \end{array}$	[26]

Распространенной структурной вариацией в КПС *A. baumannii* является изменение положения гликозидной связи между К-звеньями и, как следствие, их пространственной ориентации относительно друг друга. При этом топология полисахарида может также изменяться, как результат синхронного изменения размеров основной и боковой цепей К-звена ($3 + 1/2 + 2$ или $4 + 1/3 + 2$), но может и сохраняться, как например, в КПС пары K8 и K54, в которых при одинаковой топологии $3 + 1$ К-звенья соединены связью $1 \rightarrow 3$ или $1 \rightarrow 4$ между остатками β -D-GlcpNAc и D-GalpNAc [27].

Встречаются вариации и других типов. Например, в КПС типов K6 и K16 присутствует дисахаридный фрагмент β -Pse5Ac7Ac-($2 \rightarrow 4$)-Gal [17, 18], а в КПС типа K33 – изомерный фрагмент α -Pse5Ac7Ac-($2 \rightarrow 4$)-Gal [19]. Аналогично, аномерной конфигурацией остатка Pse отличаются друг от друга фрагменты Pse5Ac7Ac-($2 \rightarrow 6$)-Gal в КПС типов K46 и K218 [21, 23]. В КПС типов K46, K16 и K90 остаток β -Pse5Ac7Ac присоединяется к соседнему остатку галактозы связью ($2 \rightarrow 6$), ($2 \rightarrow 4$) или ($2 \rightarrow 3$) соответственно [18, 21, 22].

Один изомер ДТНК может заменяться другим: например, КПС типов K5 и K7 содержат α -Leg5Ac7Ac [25, 26], а в родственных по структуре КПС типов K46 и K90 в том же положении присутствует β -Pse5Ac7Ac [21, 22]. При этом КПС типов K5 и K46 имеют топологию $3 + 1$ с остатком ДТНК в боковой цепи и одинаковые основные цепи, тогда как КПС типов K7 и K90 при топологии $2 + 2$ отличаются друг от друга не только конфигурацией остатка ДТНК, находящегося в боковой цепи, но и местом его присоединения к остатку галактозы (в положение 6 или 3 соответственно). Кроме того, имеется отличие в моносахаридном составе основной цепи (К-звено типа K90 включает два остатка GlcNAc, а К-звено типа K7 – по одному остатку GlcNAc и GalNAc) [22, 26].

КАПСУЛЬНЫЕ ПОЛИСАХАРИДЫ, СОДЕРЖАЩИЕ ПСЕВДАМИНОВУЮ (Pse) И 8-ЭПИПСЕВДАМИНОВУЮ (8ePse) КИСЛОТЫ

В разветвленных тетрасахаридных К-звеньях всех изученных полисахаридов типа K2 [15, 16] и полисахаридов капсульных типов K90, K93 и K135 [14, 22, 24] остаток Pse5Ac7Ac терминирует боковой дисахаридный фрагмент (топология $2 + 2$), а в КПС типов K46 [9] и K218 [11] этот остаток присутствует в виде

бокового моносахаридного ответвления (топология $3 + 1$) (табл. 2). Отметим, что основная цепь КПС типов K135 [14] и K90 [22] является гомополимером D-GlcNAc, в котором регулярно чередуются α - и β -связанные 3-замещенные остатки этого моносахарида, образуя дисахаридное повторяющееся звено.

В К-локусе большинства штаммов с КПС, содержащими Pse5Ac7Ac, присутствует оперон *psaABCDEF*, но в штамме с КПС типа K218, в состав которого входит этот же моносахарид, обнаружен оперон *psaABCIF* [23]. Таким образом, замена генов *psaDE* генами *psaIJ* не меняет картину ацилирования псевдаминной кислоты. Гены *psaI* и *psaJ* присутствуют редко в штаммах *A. baumannii* [23]. Предположительно их приобретение является результатом эволюционного события в прошлом, заключавшегося в импорте этих генов в геном *A. baumannii* из генома одного из других видов *Acinetobacter* (*A. pittii*, *A. lactucae*, *A. calcoaceticus* или *A. oleivorans*), у которых обнаружены близкородственные гомологи генов *psaI* и *psaJ* (идентичность аминокислотной последовательности >95%).

За синтез другого производного псевдаминной кислоты Pse5Ac7RNb, которое присутствует в КПС типов K42 и K93, ответственен оперон *psaABCFGH* [20, 24].

Варьирующиеся гены *psa* кодируют ацилтрансферазы и нуклеотидазы пути синтеза производных Pse из UDP-D-GlcNAc через UDP-2-ацетамидо-4-амино-2,4,6-тридезоксил-альтрозу [20, 24]. Из них *psaE* (*psaJ*) и *psaH* – гены предполагаемых ацилтрансфераз, которые присоединяют ацетильную или (*R*)-3-гидроксипутаноильную группу к свободной аминогруппе в положении 4 субстрата, образуя уридиндифосфат (UDP)-предшественники Pse5Ac7Ac или Pse5Ac7RNb соответственно. 3-Гидроксипутаноильная и ацетильная группы чередуются в положении 7 ДТНК в КПС типов K42 и K93, что, как уже отмечалось, является результатом нестрогой неспецифичности ацилтрансферазы PsaH по отношению к донору ацильной группы. На следующей стадии биосинтеза нуклеотидазы *psaD* (*psaI*) и *psaG* превращают UDP-производные в свободные моносахариды, при конденсации которых с фосфоенолпируватом образуются соответствующие производные псевдаминной кислоты.

Генные кластеры KL2 и KL42 включают гомологичные гены *kpsS1* и *kpsS2*, кодирующие Pse5Ac7Ac-трансферазу и Pse5Ac7RNb-трансферазу соответственно (их идентичность 51%) [15, 20]. Обе гликозилтрансферазы используют сохраняющий механизм, перенося остаток

ДТНК из нуклеотидных (цитозинмонофосфатных) предшественников CMP- α -Pse5Ac7Ac или CMP- α -Pse5Ac7RHb на остаток D-Gal или D-Rib соответственно. Гены *kpsS1* и *kpsS2* являются далекими гомологами гена *kpsS*, кодирующего сохраняющую 3-дезоксид- β -D-манно-окт-2-улозонат (Kdo)-трансферазу, и существенно отличаются от генов гликозилтрансфераз, использующих инвертирующий механизм. Ген *kpsS3*, присутствующий в генном кластере KL218, выполняет ту же функцию, что и ген *kpsS1* [23].

Инвертирующие гликозилтрансферазы, кодируемые в генных кластерах KL46, KL16 и KL90, имеют различную специфичность в отношении образуемой ими связи, присоединяя остаток Pse5Ac7Ac в различные положения остатка галактозы [18, 21, 22].

В КПС типа K2 остаток Pse5Ac7Ac является сайтом узнавания хвостовым белком бактериофага ФАВ6 — гликозидазой, специфически расщепляющей этот полисахарид по сохраняющему механизму [5]. Образующиеся при этом олигосахариды, из которых основной соответствует димеру К-звена, могут использоваться для создания конъюгатных гликовакцин для борьбы с инфекциями, вызываемыми *A. baumannii*. Этой же цели могут служить олигосахариды, полученные мягким кислотным гидролизом КПС по кислотолабильной гликозидной связи остатков Pse5Ac7Ac и других 5,7-диамино-3,5,7,9-тетрадезоксинон-2-улозоновых кислот.

8-Эпимер псевдаминовой кислоты 8ePse5Ac7Ac, образующийся из Pse5Ac7Ac через промежуточное 8-кетопроизводное, встречается редко; он присутствует в КПС типа K135 (штамм Res546), который характеризуется топологией 2 + 2 [14].

КАПСУЛЬНЫЕ ПОЛИСАХАРИДЫ, СОДЕРЖАЩИЕ ЛЕГИОНАМИНОВУЮ (Leg) И 8-ЭПИЛЕГИОНАМИНОВУЮ (8eLeg) КИСЛОТЫ

Капсульные полисахариды типов K5 и K7, содержащие Leg5Ac7Ac, построены из разветвленных тетрасахаридных повторяющихся К-звеньев, имеющих одинаковый состав, но отличающихся друг от друга топологией (3 + 1 и 2 + 2 соответственно) [25, 26]. Такая вариация является результатом кодирования в генных кластерах биосинтеза КПС этих типов полимераз Wzy с различной специфичностью по отношению к образуемым ими связям, в то время как остальные гены в генных кластерах KL5 и KL7 одинаковые.

В КПС типов K8, K27, K44 и K54 также присутствует Leg5Ac7Ac, но в КПС типа K8, K27 и K44 это производное чередуется с Leg5Ac7SHb [27, 28]. Генные кластеры соответствующих штаммов отличаются двумя генами пути биосинтеза производного Leg (гены *lgaDE* в KL54 заменяются генами *lgaHI* в KL8). Генный кластер KL8 обнаружен в геномах 11 штаммов *A. baumannii*, включая штамм BAL 097, тогда как генный кластер KL54 до настоящего времени обнаружен только в двух штаммах, включая штамм RCH52 с известной структурой КПС [16], приведенной в табл. 2.

Без учета различия в ацилировании легионаминовой кислоты К-звенья групп K54 и K8 имеют одинаковую структуру, в том числе одинаковую топологию 3 + 1, но в КПС они связаны друг с другом различными связями между остатками GlcNAc и GalNAc (1→3 или 1→4 соответственно) [27].

Leg5Ac7Ac и Leg5Ac7SHb присутствуют также в КПС *A. baumannii* типов K27 и K44, К-звенья которых имеют топологию 3 + 2 и 4 + 1 соответственно [28]. В этих и во всех других полисахаридах, содержащих оба эти производных, Leg5Ac7SHb является доминирующим.

8-Эпилегионаминовая кислота в КПС *A. baumannii* встречается редко. К настоящему времени ее присутствие было подтверждено только для КПС типа K49 [29].

Синтез Leg5Ac7Ac осуществляется ферментами, кодируемыми модулем генов *lgaABCDEF*. Этот моносахарид активируется в виде цитозинмонофосфатного производного CMP-Leg5Ac7Ac, образующегося при действии на Leg5Ac7Ac цитидилтрансферазы LgaG или ElaB. Дегидрогеназа ElaA и редуктаза ElaC ответственны за превращение CMP-Leg5Ac7Ac в CMP-8eLeg5Ac7Ac путем эимеризации по C-8 через соответствующее 8-кетопроизводное. Гены для синтеза CMP-Leg5Ac7Ac найдены в генных кластерах 10 типов *A. baumannii*, и кластеры трех типов включают также дополнительные гены (*elaABC*) для превращения этого производного в CMP-8eLeg5Ac7Ac [29].

КАПСУЛЬНЫЕ ПОЛИСАХАРИДЫ, СОДЕРЖАЩИЕ АЦИНЕТАМИНОВУЮ (Aci) И 8-ЭПИАЦИНЕТАМИНОВУЮ (8eAci) КИСЛОТЫ

Ацинетаминовая кислота присутствует в КПС двух групп *A. baumannii* (K12 и K13), а КПС группы K73 является единственным известным полисахаридом, содержащим 8-эпиацинетаминовую кислоту [10–12].

За синтез изомеров CMP-Aci5Ac7Ac и CMP-8eAci5Ac7Ac из CMP-Leg5Ac7Ac ответственны модули генов *aciBCD* и *aciECD* соответственно. Они отличаются одним геном, кодирующим дегидрогеназу/редуктазу (в генных кластерах типов KL12 и KL13 присутствует ген *aciB*, а в генном кластере KL73 – ген *aciE*) [10–12].

При различных боковых моносахаридных заместителях (Aci5Ac7Ac или 8eAci5Ac7Ac) близкородственные по структуре КПС типов K12, K13 и K73 имеют не только одинаковую топологию (3 + 1) с боковым остатком ДТНК, но и сходные основные цепи с тем единственным исключением, что остаток GalNAc, присутствующий в КПС типа K12, заменен остатком Gal в КПС типов K13 и K73 [10–12]. В соответствии с этим ген полимеразы Wzy, участвующей в биосинтезе КПС типов K13 и K73 и ответственной за образование связи α -D-FucpNAc-(1→3)-D-Galp, отличается от гена *wzy*, присутствующего в генном кластере KL12 и кодирующего полимеразу Wzy, которая образует связь α -D-FucpNAc-(1→3)-D-GalpNAc.

Полимераза Wzy, кодируемая в генном кластере KL12, на 54% идентична ферменту Wzy штамма *A. baumannii* с генным кластером KL78 (структура КПС K78 остается неизвестной), в то время как гомологов полимеразы Wzy штаммов с генными кластерами KL13 и KL73 в других бактериях не обнаружено.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

5,7-Диамино-3,5,7,9-тетрадезоксинон-2-улозоновые кислоты являются широко распространенными компонентами КПС *A. baumannii*. За исключением 4-эпилегионаминовой кислоты, в них найдены все известные природные изомеры этих высших моносахаридов. Наряду с изомерами ДТНК, обнаруженными ранее в других бактериях (псевдаминовой и легионаминовой кислотами и 8-эпимера последней), в КПС *A. baumannii* идентифицированы новые

изомеры, включая ацинетаминовую кислоту и 8-эпимеры ацинетаминовой и псевдаминовой кислот.

Разнообразие компонентов КПС *A. baumannii* создается как различиями в конфигурации ДТНК, так и вариацией N-ацильных заместителей в положении 7 ДТНК, причем эти заместители (ацетильная или 3-гидроксibuтаноильная группа) могут быть различными в К-звеньях одного и того же полисахарида.

Высокая насыщенность КПС производными ДТНК, не отмеченная ни у одной другой бактерии, может указывать на важность этих высших моносахаридов для жизнедеятельности *A. baumannii*. Учитывая уникальность ДТНК, создание и применение препаратов, способных селективно регулировать их биосинтез, может стать новым перспективным подходом для терапии ацинетобактерных инфекций.

Вклад авторов. Ю.А. Книрель определил концепцию и дизайн исследования; А.С. Шашков и А.В. Перепелов снимали и интерпретировали спектры ЯМР; А.А. Касимова, Н.П. Арбатский, С.Н. Сенченкова и А.М. Шпирт выделяли КПС, проводили их расщепление химическими методами, идентифицировали продукты расщепления; А.В. Попова, Ф.А. Бровко и М.М. Шнейдер исследовали генетику биосинтеза КПС и рассматривали вместе строение и генетику биосинтеза КПС. Все авторы одобрили окончательную версию статьи перед ее подачей для публикации.

Благодарности. Авторы благодарят J.J. Kenyon и R.M. Hall за плодотворное обсуждение.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 19-14-00273).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kenyon, J. J., and Hall, R. M. (2013) Variation in the complex carbohydrate biosynthesis loci of *Acinetobacter baumannii* genomes, *PLoS One*, **8**, e62160, doi: 10.1371/journal.pone.0062160.
2. Giguere, D. (2015) Surface polysaccharides from *Acinetobacter baumannii*: Structures and syntheses, *Carbohydr. Res.*, **418**, 29–43, doi: 10.1016/j.carres.2015.10.001.
3. Singh, J. K., Adams, F. G., and Brown, M. H. (2019) Diversity and function of capsular polysaccharide in *Acinetobacter baumannii*, *Front. Microbiol.*, **9**, 3301, doi: 10.3389/fmicb.2018.03301.
4. Lee, I. M., Tu, I. F., Yang, F. L., Ko, T. P., Liao, J. H., Lin, N. T., Wu, C. Y., Ren, C. T., Wang, A. H., Chang, C. M., Huang, K. F., and Wu, S. H. (2017) Structural basis for fragmenting the exopolysaccharide of *Acineto-*

- bacter baumannii* by bacteriophage ФАВ6 tailspike protein, *Sci. Rep.*, **7**, 42711, doi: 10.1038/srep42711.
5. Zhang, S., and Seeberger, P. H. (2021) Total syntheses of conjugation-ready repeating units of *Acinetobacter baumannii* AB5075 for glycoconjugate vaccine development, *Chemistry*, **27**, 17444-17451, doi: 10.1002/chem.202103234.
 6. Zhang, Y., Lin, Y., Galgano, S., Houdijk, J., Xie, W., Jin, Y., Lin, J., Song, W., Fu, Y., Li, X., Chui, W., Kan, W., Jia, C., Hu, G., and Li, T. (2022) Recent progress in phage therapy to modulate multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*, including in human and poultry, *Antibiotics (Basel)*, **11**, 1406, doi: 10.3390/antibiotics11101406.
 7. Cahill, S. M., Hall, R. M., and Kenyon, J. J. (2022) An update to the database for *Acinetobacter baumannii* capsular polysaccharide locus typing extends the extensive and diverse repertoire of genes found at and outside the K locus, *Microb. Genom.*, **8**, mgen000878, doi: 10.1099/mgen.0.000878.
 8. Knirel, Y. A., Shevelev, S. D., and Perepelov, A. V. (2011) Higher aldulosonic acids: Components of bacterial glycans, *Mendeleev Commun.*, **21**, 173-182, doi: 10.1016/j.mencom.2011.07.001.
 9. Knirel, Y. A., Shashkov, A. S., Tsvetkov, Y. E., Jansson, P. E., and Zähringer, U. (2003) 5,7-Diamino-3,5,7,9-tetradexonon-2-ulosonic acids in bacterial glycopolymers: chemistry and biochemistry, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **58**, 371-417, doi: 10.1016/S0065-2318(03)58007-6.
 10. Kenyon, J. J., Marzaioli, A. M., Hall, R. M., and De Castro, C. (2015) Structure of the K12 capsule containing 5,7-di-N-acetylacetaminic acid from *Acinetobacter baumannii* isolate D36, *Glycobiology*, **25**, 881-887, doi: 10.1093/glycob/cwv028.
 11. Kenyon, J. J., Kasimova, A. A., Notaro, A., Arbatsky, N. P., Speciale, I., Shashkov, A. S., De Castro, C., Hall, R. M., and Knirel, Y. A. (2017) *Acinetobacter baumannii* K13 and K73 capsular polysaccharides differ only in K-unit side branches of novel non-2-ulosonic acids: di-N-acetylated forms of either acinetaminic acid or 8-epiacinetaminic acid, *Carbohydr. Res.*, **452**, 149-155, doi: 10.1016/j.carres.2017.10.005.
 12. Kenyon, J. J., Notaro, A., Hsu, L. Y., De Castro, C., and Hall, R. M. (2017) 5,7-Di-N-acetyl-8-epiacinetaminic acid: A new non-2-ulosonic acid found in the K73 capsule produced by an *Acinetobacter baumannii* isolate from Singapore, *Sci. Rep.*, **7**, 11357, doi: 10.1038/s41598-017-11166-4.
 13. Shashkov, A. S., Arbatsky, N. P., Senchenkova, S. N., Perepelov, A. V., Chizhov, A. O., Dmitrenok, A. S., Shneider, M. M., and Knirel, Y. A. (2022) Identification of 5,7-diacetamido-3,5,7,9-tetradexoxy-D-glycero-L-manno-non-2-ulosonic acid (di-N-acetyl-8-epipseudaminic acid) in the capsular polysaccharide of *Acinetobacter baumannii* Res546, *Carbohydr. Res.*, **513**, 108531, doi: 10.1016/j.carres.2022.108531.
 14. Shashkov, A. S., Kasimova, A. A., Arbatsky, N. P., Senchenkova, S. N., Perepelov, A. V., Dmitrenok, A. S., Chizhov, A. O., Knirel, Y. A., Shneider, M. M., Popova, A. V., and Kenyon, J. J. (2022) Complete chemical structure of the K135 capsular polysaccharide produced by *Acinetobacter baumannii* RES-546 that contains 5,7-di-N-acetyl-8-epipseudaminic acid, *Carbohydr. Res.*, **523**, 108726, doi: 10.1016/j.carres.2022.108726.
 15. Senchenkova, S. N., Shashkov, A. S., Shneider, M. M., Arbatsky, N. P., Popova, A. V., Miroshnikov, K. A., Volozhantsev, N. V., and Knirel, Y. A. (2014) Structure of the capsular polysaccharide of *Acinetobacter baumannii* ACICU containing di-N-acetyl-pseudaminic acid, *Carbohydr. Res.*, **391**, 89-92, doi: 10.1016/j.carres.2014.04.002.
 16. Kenyon, J. J., Marzaioli, A. M., Hall, R. M., and De Castro, C. (2014) Structure of the K2 capsule associated with the KL2 gene cluster of *Acinetobacter baumannii*, *Glycobiology*, **24**, 554-563, doi: 10.1093/glycob/cwu024.
 17. Kenyon, J. J., Marzaioli, A. M., Hall, R. M., and De Castro, C. (2015) Structure of the K6 capsular polysaccharide from *Acinetobacter baumannii* isolate RBH4, *Carbohydr. Res.*, **409**, 30-35, doi: 10.1016/j.carres.2015.03.016.
 18. Kenyon, J. J., Arbatsky, N. P., Sweeney, E. L., Shashkov, A. S., Shneider, M. M., Popova, A. V., Hall, R. M., and Knirel, Y. A. (2019) Production of the K16 capsular polysaccharide by *Acinetobacter baumannii* ST25 isolate D4 involves a novel glycosyltransferase encoded in the KL16 gene cluster, *Int. J. Biol. Macromol.*, **128**, 101-106, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.01.080.
 19. Арбатский Н. П., Шнейдер М. М., Шашков А. С., Попова А. В., Мирошников К. А., Воложанцев Н. В., Книрель Ю. А. (2016) Структура капсульного полисахарида, выделенного из *Acinetobacter baumannii* NIPH67, содержащего ди-N-ацетилпсевдаминную кислоту, *Изв. АН Сер. хим.*, **65**, 588-591.
 20. Senchenkova, S. N., Popova, A. V., Shashkov, A. S., Shneider, M. M., Mei, Z., Arbatsky, N. P., Liu, B., Miroshnikov, K. A., Volozhantsev, N. V., and Knirel, Y. A. (2015) Structure of a new pseudaminic acid-containing capsular polysaccharide of *Acinetobacter baumannii* LUH5550 having the KL42 capsule biosynthesis locus, *Carbohydr. Res.*, **407**, 154-157, doi: 10.1016/j.carres.2015.02.006.
 21. Kenyon, J. J., Arbatsky, N. P., Shneider, M. M., Popova, A. V., Dmitrenok, A. S., Kasimova, A. A., Shashkov, A. S., Hall, R. M., and Knirel, Y. A. (2019) The K46 and K5 capsular polysaccharides produced by *Acinetobacter baumannii* NIPH 329 and SDF have related structures and the side-chain nonulosonic acids are 4-O-acetylated by phage-encoded O-acetyltransferases, *PLoS One*, **14**, 0218461, doi: 10.1371/journal.pone.0218461.

22. Senchenkova, S., Kenyon, J., Jia, T., Popova, A., Kasimova, A., Shashkov, A., Liu, B., Hall, R., and Knirel, Y. (2019) The K90 capsular polysaccharide produced by *Acinetobacter baumannii* LUH5553 contains di-N-acetylpsseudaminic acid and is structurally related to the K7 polysaccharide from *A. baumannii* LUH5533, *Carbohydr. Res.*, **479**, 1-5, doi: 10.1016/j.carres.2019.04.008.
23. Kasimova, A. A., Dudnik, A. G., Shashkov, A. S., Shneider, M. M., Christofferson, A., Shelenkov, A. A., Mikhailova, Y. V., Kenyon, J. J., and Knirel, Y. A. (2022) The K218 capsular polysaccharide produced by *Acinetobacter baumannii* isolate 52-249 includes 5,7-di-N-acetylpsseudaminic acid linked by a KpsS3 glycosyltransferase, *Int. J. Biol. Macromol.*, **21**, 310-316, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2022.07.135.
24. Касимова А. А., Шнейдер М. М., Арбатский Н. П., Попова А. В., Шашков А. С., Мирошников К. А., Баладжи В., Бисвас И., Книрель Ю. А. (2017) Структура и генный кластер капсульного полисахарида K93 *Acinetobacter baumannii* B11911, содержащего 5-N-ацетил-7-N-[(R)-3-гидроксипутаноил] псевдаминовою кислоту, *Биохимия*, **82**, 655-663.
25. Арбатский Н. П., Кенион Дж. Дж., Шашков А. С., Шнейдер М. М., Попова А. В., Калинин Н. А., Хэлл Р. М., Книрель Ю. А. (2019) Капсульный полисахарид K5 бактерии *Acinetobacter baumannii* SDF, построенный из таких же K-звеньев с Leg5Ac7Ac, что и капсульный полисахарид K7, но с другой связью между K-звеньями, *Изв. АН Сер. хим.*, **68**, 163-167.
26. Шашков А. С., Сенченкова, С. Н., Попова А. В., Чжу Мэй, Шнайдер М. М., Лю Бинь, Мирошников К. А., Воложанцев Н. В., Книрель Ю. А. (2015) Пересмотр структуры капсульного полисахарида *Acinetobacter baumannii* LUH5533 (серогруппа O1), содержащего ди-N-ацетиллегионаминовую кислоту, *Изв. АН Сер. хим.*, **64**, 1196-1199.
27. Arbatsky, N. P., Kenyon, J. J., Kasimova, A. A., Shashkov, A. S., Shneider, M. M., Popova, A. V., Knirel, Y. A., and Hall, R. M. (2019) K units of the K8 and K54 capsular polysaccharides produced by *Acinetobacter baumannii* BAL 097 and RCH52 have the same structure but contain different di-N-acetyl derivatives of legionaminic acid and are linked differently, *Carbohydr. Res.*, **483**, 107745, doi: 10.1016/j.carres.2019.107745.
28. Shashkov, A. S., Kenyon, J. J., Senchenkova, S. N., Shneider, M. M., Popova, A. V., Arbatsky, N. P., Miroshnikov, K. A., Volozhantsev, N. V., Hall, R. M., and Knirel, Y. A. (2016) *Acinetobacter baumannii* K27 and K44 capsular polysaccharides have the same K unit but different structures due to the presence of distinct *wzy* genes in otherwise closely related K gene clusters, *Glycobiology*, **26**, 501-508, doi: 10.1093/glycob/cwv168.
29. Vinogradov, E., Maclean, L., Xu, H. H., and Chen, W. (2014) The structure of the polysaccharide isolated from *Acinetobacter baumannii* strain LAC-4, *Carbohydr. Res.*, **390**, 42-45, doi: 10.1016/j.carres.2014.03.001.

5,7-DIAMINO-3,5,7,9-TETRADEOXYNON-2-ULOSONIC ACIDS IN CAPSULAR POLYSACCHARIDES OF *Acinetobacter baumannii*

Review

Y. A. Knirel^{1*}, A. A. Kasimova¹, N. P. Arbatsky¹, M. M. Shneider², A. V. Popova³,
F. A. Brovko⁴, A. S. Shashkov¹, S. N. Senchenkova¹, A. V. Perepelov¹, and A. M. Shpirt¹

¹ N.D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences,
117913 Moscow, Russia; e-mail: yknirel@gmail.com

² Shemyakin—Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences,
117997 Moscow, Russia

³ State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology,
142279 Obolensk, Moscow Region, Russia

⁴ Pushchino Branch, Shemyakin—Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry,
Russian Academy of Sciences, 142290 Pushchino, Moscow Region, Russia

The polysaccharide capsule that surrounds the bacterial cell plays an important role in pathogenesis of infections caused by the opportunistic pathogen *Acinetobacter baumannii* by providing protection from external factors. Structures of the capsular polysaccharide (CPS) produced by individual *A. baumannii* isolates and the corresponding CPS biosynthesis gene clusters can be highly diverse but many from them are related. A large proportion of the *A. baumannii* CPS types contain an isomer of 5,7-diamino-3,5,7,9-tetraoxynon-2-ulosonic acid. Three of these isomers, namely acinetaminic acid (L-glycero-L-altro isomer), 8-epiacinetaminic acid (D-glycero-L-altro isomer), and 8-epipseudaminic acid (D-glycero-L-manno isomer), have not been found

so far in naturally-occurring carbohydrates from other species. In the CPSs of *A. baumannii*, the higher monosaccharides of this class carry N-acyl substituents at positions 5 and 7, and in some CPSs, the N-acetyl and N-(3-hydroxybutanoyl) groups are both present. The present review addresses the structures and genetics of biosynthesis of the CPSs of *A. baumannii* that contain di-N-acyl derivatives of 5,7-diamino-3,5,7,9-tetradexon-2-ulosonic acids.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*, capsular polysaccharide, bacterial polysaccharide, capsule, acyl group, higher monosaccharide, nonulosonic acid