

DOI 10.52368/2078-0109-2024-60-2-86-94

УДК 579.222

АНАЛИЗ ГЕНОВ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПУТЕЙ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ МОЛОКА КОРОВ, БОЛЬНЫХ МАСТИТОМ

*, **, ***Сыромятников М.Ю. ORCID ID 0000-0001-9028-0613, *Шабунин С.В. ORCID ID 0000-0002-2689-6998,
*Манжурина О.А. ORCID ID 0000-0003-0147-8965, **Буракова И.Ю. ORCID ID 0000-0002-5881-0845,
Смирнова Ю.Д. ORCID ID 0000-0002-5820-1804, **, *Морозова П.Д. ORCID ID 0009-0000-0075-9170,
**Грязнова М.В. ORCID ID 0000-0003-2076-3868, *Паршин П.А. ORCID ID 0000-0002-8790-0540,
**Корнеева О.С. ORCID ID 0000-0002-2863-0771

*ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии
и терапии», г. Воронеж, Российская Федерация

**ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет инженерных технологий»,
г. Воронеж, Российская Федерация

***ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»,
г. Воронеж, Российская Федерация

Известно, что бактерии рода *Staphylococcus* являются одними из наиболее распространенных бактериальных возбудителей в патогенезе мастита. Подробные и всесторонние знания о метаболизме *Staphylococcus* необходимы для понимания его патогенеза. Целью исследования было идентифицировать метаболические пути бактерий *S. aureus*, изолированных из молока коров, больных маститом. Для исследуемых *S. aureus* всего было идентифицировано 88 метаболических путей. В бактериях ярко выражено доминировали пути биосинтеза, наиболее распространенными из которых были: биосинтез 5-аминоимидазолрибонуклеотидов, биосинтез L-лизина, L-треонина и L-метионина II, биосинтез кофермента А, биосинтез L-изолейцина и биосинтез уридинмонофосфата. У бактерий *S. aureus* обнаружен путь синтеза N-ацетилглюкозамина. Этот путь может быть важен для вирулентности бактерий. Также был обнаружен путь биосинтеза пептидогликана III. Данный путь ранее был описан для *Mycobacteriaceae*. Кроме того, в клетках *S. aureus* обнаружены гены смешаннокислого брожения, которые более характерны для представителей *Enterobacteriaceae*. По результатам секвенирования было выявлено, что в клетках *S. aureus* широко представлены различные пути метаболизма фолата, подчеркивающее его очевидно большое значение для данного вида бактерий. **Ключевые слова:** *Staphylococcus aureus*, метаболические пути, мастит, метагеномика, секвенирование.

ANALYSIS OF METABOLIC PATHWAY GENES OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ISOLATED FROM THE MILK OF THE COWS WITH MASTITIS

*, **, ***Syromyatnikov M.Yu., *Shabunin S.V., *Manzhurina O.A., **Burakova I.Yu., **Smirnova Yu.D.,
, *Morozova P.D., **Gryaznova M.V., *Parshin P.A., **Korneeva O.S.

*FSBSI "All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy",
Voronezh, Russian Federation

**FSBEI HE "Voronezh State University of Engineering Technologies", Voronezh, Russian Federation

***FSBEI HE "Voronezh State University", Voronezh, Russian Federation

It is known that the bacteria of the genus *Staphylococcus* are among the most common bacterial pathogens in the pathogenesis of mastitis. Detailed and comprehensive knowledge of the metabolism of *Staphylococcus* is necessary to understand its pathogenesis. The aim of the study was to identify the metabolic pathways of *S. aureus* bacteria isolated from the milk of the cows with mastitis. A total of 88 metabolic pathways were identified for the studied *S. aureus*. Biosynthesis pathways were strongly dominated in bacteria, the most common of which were biosynthesis of 5-aminoimidazole ribonucleotides, biosynthesis of L-lysine, L-threonine and L-methionine II, biosynthesis of coenzyme A, biosynthesis of L-isoleucine and biosynthesis of uridine monophosphate. A pathway for the synthesis of N-acetylglucosamine has been found in *S. aureus* bacteria. This pathway may be important for bacterial virulence. The pathway of peptidoglycan III biosynthesis has been discovered. This pathway was previously described for *Mycobacteriaceae*. In addition, in the cells of *S. aureus* there have discovered mixed acid fermentation genes, which are more typical for representatives of *Enterobacteriaceae*. According to the sequencing results, it has been revealed that various folate metabolism pathways are widely represented in *S. aureus* cells, emphasizing its obvious great importance for this type of bacteria. **Keywords:** *Staphylococcus aureus*, metabolic pathways, mastitis, metagenomics, sequencing.

Введение. Мастит крупного рогатого скота – это многофакторное воспалительное заболевание, зависящее от сочетания нескольких факторов: животного происхождения, окружающей среды и патогенов [1]. Данное заболевание не только влияет на здоровье и благополучие животных, а также ставит под угрозу экономику молочных ферм. В свою очередь, отсутствие защиты от возбудителей может быть связано со множеством факторов: нецелевые мишени для вакцины; большое разнообразие штаммов, провоцирующих мастит; различия в иммунном ответе у животных и неспособность вызвать иммунный ответ, подходящий для защиты от очень сложного патогена [2].

Известно, что бактерии рода *Staphylococcus* (например, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*) являются одними из наиболее распространенных бактериальных возбудителей в патогенезе мастита. Ранее было показано, что бактериальный вид *S. aureus* является метаболически универсальным патогеном. Подробные и всесторонние знания о метаболизме *Staphylococcus* необходимы для понимания его патогенеза. Кроме того, полученные данные свидетельствуют о том, что *S. aureus* использует различные центральные метаболические пути для адаптации к различным источникам углерода или кислорода, которые доступны в системе органов или очаге инфекции [3]. Способность организма использовать множество метаболических субстратов является критическим компонентом патогенеза [4]. Ранее уже были выделены 101 негомологичный белок и 64 белка, уникальных в нескольких метаболических путях для *S. aureus*. Кроме того, в ходе исследования были получены 7 по существу уникальных ферментов и 15 негомологичных белков, участвующих в метаболических путях, которые способны стать потенциальной лекарственной мишенью [5].

Целью исследования было идентифицировать метаболические пути бактерий *S. aureus*, изолированных из молока коров, больных маститом.

Материалы и методы исследований. Объектом исследования служили культуры бактерий рода *Staphylococcus*, изолированные из молока коров с диагнозом «мастит» на территории Воронежской области. Всего анализу подвергалось 9 изолятов бактерий, выделенных из молока разных коров.

Из каждого полученного образца чистой культуры была получена тотальная ДНК с использованием коммерческого набора HiPure Microbiome DNA Kit (Magen, Китай). Экстракция проводилась согласно протоколу производителя. Количество тотальной ДНК, полученной из образцов, определяли с использованием флуорометра Qubit 2.0 (Thermo Fisher, США) и набора Qubit dsDNA HS Assay Kit (Invitrogen, США). Оценка качества ДНК производилась с помощью электрофореза в 2% агарозном геле.

Приготовление библиотек для секвенирования на платформе DNBSEQ-G50 (MGI, Китай) производилось согласно протоколу производителя MGIEasy Fast FS DNA Library Prep Set User Manual. На первом этапе полученную тотальную ДНК фрагментировали с использованием набора MGIEasy Fast FS Library Prep Module (MGI, Китай). На следующем этапе производили лигирование адаптеров. В дальнейшем к каждому образцу пришивали уникальный баркод. Затем для всех образцов проводили контроль выхода ПЦР продукта с помощью электрофореза в 2% агарозном геле. Измеряли концентрацию с помощью флуорометра. После определения длины продукта производили расчет массы ПЦР продукта. После производили пулирование образцов. Далее каждый пул денатурировали. В дальнейшем была произведена циркуляризация одноцепочечной ДНК, которую проводили с использованием набора MGIEasy Dual Barcode Circularization Module (MGI, Китай). Далее проводили контроль качества циркуляризации путем измерения концентрации ДНК с помощью флуорометра и набора QuDye ssDNA Assay Kit (Lumiprobe, Россия). После этого производили расчет количества каждого пула, которое необходимо внести при создании суперпула. Затем измеряли концентрацию полученного суперпула, и рассчитывали количество суперпула, соответствующее 60 фмоль для дальнейшего создания наночастиц ДНК. После этого производили загрузку картриджа для проведения секвенирования.

Качество необработанных метагеномных данных оценивали с помощью FastQC. Технические последовательности и некачественные базы ($Q < 30$) были обрезаны с помощью fastp. Последовательности «хозяина» из образцов были удалены путем картирования метагеномных прочтений с эталонными геномами с использованием инструмента Bowtie2. Таксономическое профилирование образцов было выполнено с использованием Metaphlan4 со стандартными базами данных бактерий, вирусов и эукариот. Функциональное профилирование метаболических путей проводили с использованием HUMAnN3.0.

Результаты исследований. Первоначально был проведен анализ бактериального состава исследуемых образцов культур с помощью высокопроизводительного секвенирования (рисунок 1).

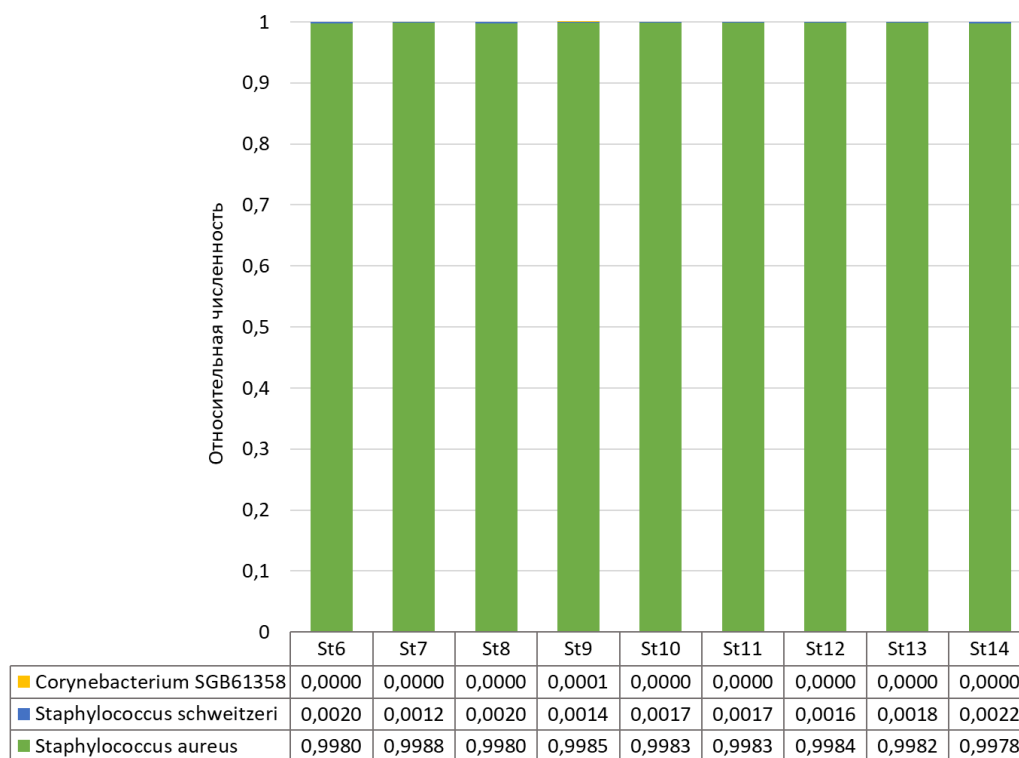


Рисунок 1 - Видовой состав исследуемых образцов бактериальных культур

Доминирующим бактериальным видом в каждом исследуемом образце был *S. aureus*, на который в каждом образце приходилось более 99,7% выявленных прочтений, также образцы содержали незначительную долю примеси *S. schweitzeri* и *Corynebacterium SGB61358*, общее содержание которых составило менее 0,03%.

Для исследуемых *S. aureus* всего было идентифицировано 88 метаболических путей. В бактериях ярко выражено доминировали пути биосинтеза, наиболее распространенными из которых были: биосинтез 5-аминоимдазолрибонуклеотидов, биосинтез L-лизина, L-треонина и L-метионина II, биосинтез кофермента А, биосинтез L-изолейцина и биосинтез уридинмонофосфата (УМФ) (таблица 1).

Таблица 1 – Относительное содержание генов метаболических путей биосинтеза, идентифицированных у *S. aureus*

Метаболический путь	St1	St2	St3	St4	St5	St6	St7	St8	St9
Биосинтез 2-карбоккси-1,4-нафтохинола	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Биосинтез 6-гидрокси-метилдигидроптериндифосфата I	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Биосинтез L-аргинина	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Биосинтез L-валина	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Биосинтез L-гистидина	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Биосинтез L-метионина	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Биосинтез L-орнитина I	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Биосинтез L-цистеина VI	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Биосинтез L-цитруллина	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Биосинтез аденозиндезоксирибонуклеотидов II (de novo)	0,01	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,01	0,01	0,00

Продолжение таблицы 1

Метаболический путь	St1	St2	St3	St4	St5	St6	St7	St8	St9
Биосинтез биотина II	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Биосинтез гондоата	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Биосинтез гуанозиндезоксирибонуклеотидов (de novo)	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Биосинтез изопрена II	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Биосинтез инозин-5'-фосфата	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Биосинтез квевозина I (de novo)	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Биосинтез молибдоптерина	0,00	0,01	0,01	0,00	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01
Биосинтез октаноил-[ацил-переносящего белка]	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Биосинтез пептидогликана	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Биосинтез полиизопреноидов	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Биосинтез селеноаминокислот	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Биосинтез тетрапиррола	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Биосинтез транс-фарнезолов	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Биосинтез УДФ-N-ацетил-D-глюкозамина I	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,01	0,02
Биосинтез УДФ-N-ацетилмурамоилпентапептида	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Биосинтез УМФ	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
Биосинтез флавина	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Биосинтез фосфопантотената I	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Биосинтез хоризматов	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Биосинтез ЦДФ-диацилглицерина	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Суперпуть биосинтеза (R,R)-бутандиола	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,01	0,02	0,02
Суперпуть биосинтеза 5-аминоимдазолрибонуклеотидов	0,04	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
Суперпуть биосинтеза L-изолейцина	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
Суперпуть биосинтеза L-лизина, L-треонина и L-метионина II	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
Суперпуть биосинтеза L-серина и глицина I	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Суперпуть биосинтеза L-тирозина	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Суперпуть биосинтеза L-треонина	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Суперпуть биосинтеза L-фенилаланина	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Суперпуть биосинтеза prcQ0	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01

Продолжение таблицы 1

Метаболический путь	St1	St2	St3	St4	St5	St6	St7	St8	St9
Суперпуть биосинтеза аденозиновых нуклеотидов (de novo)	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Суперпуть биосинтеза аминокислот с разветвленной цепью	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Суперпуть биосинтеза ароматических аминокислот	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Суперпуть биосинтеза гема-b	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Суперпуть биосинтеза геранилгеранилдифосфата I	0,00	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01
Суперпуть биосинтеза гуанозинового нуклеотидов (de novo)	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Суперпуть биосинтеза кофермента А	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
Суперпуть биосинтеза менахинола	0,03	0,02	0,02	0,03	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02
Суперпуть биосинтеза пиримидинрибонуклеотидов (de novo)	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Суперпуть биосинтеза пуриновых нуклеотидов I (de novo)	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Суперпуть биосинтеза тетрагидрофолата	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01

У бактерий *S. aureus* обнаружен путь синтеза N-ацетилглюкозамина. Ранее на мышиных моделях было показано, что этот путь важен для вирулентности бактерий [6]. Также были выявлены пути биосинтеза орнитина. Наличие внутриклеточных пулов орнитина регулирует биосинтез важнейшей аминокислоты аргинина у *S. aureus* в отсутствие глюкозы [7]. В клетках *S. aureus* выявлены гены биосинтеза пиримидина. Известно, что метаболические пути биосинтеза пиримидина могут выступать как потенциальная цель для новых антибактериальных препаратов [8].

Метаболический путь биосинтеза полиизопреноидов был обнаружен во всех образцах нашего исследования. Известно, что на этом пути несколько единиц изопентенилдифосфата подвергаются серии полимеризаций с образованием различных полиизопреноидов. Существует два разных пути биосинтеза изопентенилдифосфата. Бактерии, обладающие убихиноном, обычно используют метилэритритфосфатный путь I, тогда как эукариотические микроорганизмы используют мевалонатный путь I [9].

Биосинтез пептидогликана I (содержащий мезодиаминопимелат) обнаруживается у большинства грамотрицательных бактерий, а также у некоторых грамположительных бактерий. Показано, что клинические штаммы *S. aureus* с множественной лекарственной устойчивостью способны предотвращать биосинтез пептидогликана [10]. Было обнаружено присутствие пути биосинтеза пептидогликана III во всех образцах *S. aureus*. Данный путь был описан для *Mycobacteriaceae* [11]. Микобактериальный пептидогликан подобен пептидогликану, обнаруженному в *E. coli*, с одним основным отличием: мембранная акцепторная часть молекулы представляет собой необычный трансоктацис-декапренилфосфат вместо гораздо более распространенного транс-ундекапренилфосфата. Большинство межпептидных связей у микобактерий являются L,D-поперечными [12]. Преобладание перекрестных связей L,D позволяет бактериям противостоять β -лактамам антибиотикам.

Устойчивость к противомикробным препаратам является глобальной проблемой здравоохранения, требующей немедленного внимания с точки зрения новых антибиотиков и новых целей применения антибиотиков. Путь биосинтеза L-лизина является многообещающим направлением для открытия лекарств, поскольку он необходим для роста и выживания бактерий и не требуется человеку [13]. В нашем исследовании во всех образцах были обнаружены два пути биосинтеза L-лизина.

Кроме того, в клетках *S. aureus* были широко представлены пути деградации и реутилизации различных соединений (таблица 2).

Таблица 2 – Относительное содержание генов метаболических путей деградации и реутилизации, идентифицированных у *S. aureus*

Метаболический путь	St1	St2	St3	St4	St5	St6	St7	St8	St9
Деградация (S)-пропан-1,2-диола	0	0	0	0	0,0001	0	0	0	0
Деградация L-аргинина XIII	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Деградация L-гистидина I	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Деградация инозин-5'-фосфата	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Деградация лактозы и галактозы I	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Деградация пуриновых рибонуклеозидов	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Деградация сахарозы	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Деградация фитолов	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Реутилизация S-аденозил-L-метионина I	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Реутилизация аденина и аденозина III	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Реутилизация тиаминдифосфата	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Суперпуть анаэробной деградации сахарозы	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Суперпуть деградации N-ацетилглюкозамина, N-ацетилманнозамина и N-ацетилнейрамата	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Суперпуть деградации глюкозы и ксилозы	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Суперпуть деградации метилглиоксаля	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Суперпуть деградации пуриновых дезоксирибонуклеозидов	0,01	0,01	0,01	0	0,01	0,01	0	0	0,01
Суперпуть реутилизации пиримидиндезоксирибонуклеозидов	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Суперпуть реутилизации пиримидиновых азотистых оснований	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Суперпуть реутилизации пуриновых нуклеотидов	0,01	0,01	0,01	0	0,01	0,01	0	0	0,01

Интересно, что в клетках *S. aureus* обнаружены гены окисления октана. Суперпуть деградации пуриновых дезоксирибонуклеозидов, а также реутилизации пуриновых нуклеотидов, также известный как «запасной путь синтеза пуриновых нуклеотидов» не был обнаружен у трех образцов St4, St7, St8 в нашем исследовании. Пуриновые нуклеотиды участвуют во многих аспектах клеточного метаболизма, включая структуру ДНК и РНК, служат кофакторами ферментов, участвуют в клеточной передаче сигналов, действуют как доноры фосфатных групп и генерируют клеточную энергию, что играет важную роль в нормальном функционировании организма. Роль отсутствия этого пути у бактерий, а в частности у *S. Aureus*, еще предстоит выяснить. Установлено, что мастит может вызывать повреждения в ДНК микроорганизмов, в том числе генов, ответственных за метаболизм пуриновых дезоксирибонуклеозидов, а также подавлять энергетический обмен. При этом, суперпути реутилизации пиримидиновых дезоксирибонуклеозидов были обнаружены у всех исследуемых штаммов *S. aureus*. Известно, что цитотоксический дезоксирибонуклеозид, вырабатываемый *S. Aureus*, направлен на уничтожение макрофагов человеческого и животного происхождения, чтобы максимизировать выживаемость внутри хозяина и является одним из главных факторов вирулентности *S. aureus* [14].

Также были обнаружены различия в пути разложения L-1,2-пропандиола, его присутствие обнаружилось только в образце под номером St5, в то время как в остальных образцах, этот путь отсутствовал. В исследовании Bobik T.A. et al. (1999) было показано, что *Salmonella enterica* может использовать (S)-пропан-1,2-диол в качестве источника углерода, и ее метаболизм может быть фактором вирулентности [15]. Возможно, подобными свойствами могут обладать и другие бактерии, однако для однозначного утверждения необходимо провести больше исследований.

Другие выявленные метаболические пути *S. aureus* представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Относительное содержание генов других метаболических путей, идентифицированных у *S. aureus* (St)

Метаболический путь	St1	St2	St3	St4	St5	St6	St7	St8	St9
Аминоацилирование тРНК	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Ассимиляция формальдегида II	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Гликолиз	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
Инициация биосинтеза жирных кислот	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Малолактическая ферментация	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Мевалонатный путь I	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Образование тиаминфосфата из пиритинамина и окситиамина	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Окисление формальдегида I	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Октановое окисление	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Орнитинный цикл	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Пентозофосфатный путь	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
Пируватная ферментация до изобутанола	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Смешанное кислотное брожение	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Созревание пептидогликана	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Ферментация пирувата до ацетата и лактата	0,02	0,02	0,02	0,03	0,02	0,02	0,03	0,03	0,03
Фолатная трансформация	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Фосфорилирование пиримидиндезоксирибонуклеотидов	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Цикл Кальвина	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Элонгация насыщенных жирных кислот	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01

Во всех образцах бактерий *S. aureus* обнаружен путь гомолактической ферментации (окисление глюкозы с образованием двух молекул молочной кислоты) [16]. Выявлено наличие пути элонгации жирных кислот. Этот метаболический путь важен для построения мембран клеток у бактерий *S. aureus* и является одной из целей новых антимикробных препаратов [17]. Кроме того, в клетках *S. aureus* обнаружены гены смешаннокислого брожения. Этот путь превращает глюкозу в сложную и изменчивую смесь кислот и характерен для представителей *Enterobacteriaceae* [18].

Пути ассимиляции формальдегида также были обнаружены у бактерий, при этом эти метаболические пути более характерны для метанотрофных бактерий. По результатам секвенирования было выявлено, что в клетках *S. aureus* широко представлены различные пути метаболизма фолата (путь трансформации фолата II, путь трансформации фолата III, путь биосинтеза хоризмовых кис-

лот I, суперпуть биосинтеза тетрагидрофолата), подчеркивающее его очевидно большое значение для данного вида бактерий.

Центральный углеродный метаболизм является важным процессом, одним из элементов которого является пентозофосфатный путь [19]. В нашем исследовании это был один из наиболее обогащенных путей в *S. aureus* согласно данным высокопроизводительного секвенирования. Хотя наше понимание роли этих путей в метаболизме и того, как они могут способствовать патогенезу, ограничено. Исследование этих связей между метаболизмом и вирулентностью важно, поскольку пути, связанные с вирулентностью, являются потенциальными терапевтическими мишенями. Некоторые исследования демонстрируют, что пентозофосфатный путь *S. aureus* не только влияет на метаболизм, но и на многие аспекты вирулентности бактерий [20].

Еще один путь, который был идентифицирован для всех исследуемых *S. aureus* – мевалонатный путь I. Известно, что этот метаболический путь необходим для синтеза пептидогликана для роста клеток *S. aureus* [21].

Заключение. В клетках *S. aureus* с помощью высокопроизводительного секвенирования было идентифицировано 88 метаболических путей. Выявлено доминировали пути биосинтеза, наиболее распространенными из которых были: биосинтез 5-аминоимидазолрибонуклеотидов, биосинтез L-лизина, L-треонина и L-метионина II, биосинтез кофермента А, биосинтез L-изолейцина и биосинтез уридинмонофосфата. У бактерий *S. aureus* обнаружен путь синтеза N-ацетилглюкозамина. Ранее было показано, что этот путь важен для вирулентности бактерий. Также были выявлены пути биосинтеза орнитина. Наличие внутриклеточных пулов орнитина регулируют биосинтез важнейшей аминокислоты аргинина у *S. aureus* в отсутствие глюкозы. Выявлено наличие пути элонгации жирных кислот, который важен для построения мембран клеток у бактерий *S. aureus* и является одной из целей новых antimicrobных препаратов. Были обнаружены различия в пути разложения L-1,2-пропандиола, его присутствие обнаружилось только в одном образце. Возможно, метаболизм этого вещества может быть фактором вирулентности бактерий.

Центральный углеродный метаболизм является важным процессом, одним из элементов которого является пентозофосфатный путь. Это был один из наиболее обогащенных путей в *S. aureus*. Хотя наше понимание роли этих путей в метаболизме и того, как они могут способствовать патогенезу, ограничено, исследование этих связей между метаболизмом и вирулентностью важно, поскольку пути, связанные с вирулентностью, являются потенциальными терапевтическими мишенями.

Conclusion. 88 metabolic pathways have been identified in *S. aureus* cells using high-throughput sequencing. Biosynthesis pathways were strongly dominated, the most common of which were: biosynthesis of 5-aminoimidazole ribonucleotides, biosynthesis of L-lysine, L-threonine and L-methionine II, biosynthesis of coenzyme A, biosynthesis of L-isoleucine and biosynthesis of uridine monophosphate. A pathway for the synthesis of N-acetylglucosamine has been found in *S. aureus* bacteria. It has previously been shown that this pathway is important for bacterial virulence. Ornithine biosynthesis pathways have also been identified. The presence of intracellular pools of ornithine regulates the biosynthesis of the most important amino acid arginine in *S. aureus* in the absence of glucose. The presence of a fatty acid elongation pathway has been revealed, which is important for the construction of cell membranes in *S. aureus* bacteria and is one of the goals of new antimicrobial drugs. Differences in the decomposition pathway of L-1,2-propanediol were found, its presence was found in only one sample. Perhaps the metabolism of this substance may be a factor in the virulence of bacteria.

Central carbon metabolism is an important process, one of the elements of which is the pentose phosphate pathway. This was one of the most enriched pathways in *S. aureus*. Although our understanding of the role of these pathways in metabolism, and how they can contribute to pathogenesis, is limited investigating these links between metabolism and virulence is important because virulence-related pathways are potential therapeutic targets.

Список литературы. 1. Diversity and pathogenesis of *Staphylococcus aureus* from bovine mastitis: current understanding and future perspectives / B. Campos [et al] // *BMC Vet Res.* – 2022. – Vol. 18. – P. 115. 2. Côté-Gravel, J. Symposium review: Features of *Staphylococcus aureus* mastitis pathogenesis that guide vaccine development strategies / J. Côté-Gravel, F. Malouin // *J Dairy Sci.* – 2019. – Vol. 102 (5). – P. 4727–4740. 3. Amino Acid Catabolism in *Staphylococcus aureus* and the Function of Carbon Catabolite Repression / C.R. Halsey [et al] // *mBio.* – 2017. – Vol. 8 (1). – P. e01434-16. 4. Thomsen, I.P. Targeting fundamental pathways to disrupt *Staphylococcus aureus* survival: clinical implications of recent discoveries / I.P. Thomsen, G.Y. Liu // *JCI Insight.* – 2018. – Vol. 3 (5). – P. e98216, 98216. 5. Identification of potential targets in *Staphylococcus aureus* N315 using computer aided protein data analysis / M. Hossain [et al] // *Bioinformatics.* – 2013. – Vol. 9 (4). – P. 187-192. 6. Poly-N-acetylglucosamine production in *Staphylococcus aureus* is essential for virulence in murine models of systemic infection / A. Kropec [et al] // *Infect Immun.* – 2005. – Vol. 73 (10). – P. 6868-6876. 7. Catabolic Ornithine Carbamoyltransferase Activity Facilitates Growth of *Staphylococcus aureus* in Defined Medium Lacking Glucose and Arginine / I. Reslane [et al] // *mBio.* – 2022. – Vol. 13 (3). – P. e0039522. 8. Pyranocoumarin derivative LP4C targeting of pyrimidine de novo synthesis pathway inhibits MRSA biofilm and virulence / Y. Liu [et al] // *Front Pharmacol.* – 2022. – Vol. 13. – P.

959736. 9. The deoxyxylulose phosphate pathway of terpenoid biosynthesis in plants and microorganisms / W. Eisenreich [et al] // *Chemistry & Biology*. – 1998. – Vol. 5 (9). – P. R221-R233. 10. Nitroisobenzofuranone, a small molecule inhibitor of multidrug-resistant *Staphylococcus aureus*, targets peptidoglycan biosynthesis / V. Rawat [et al] // *Chem Commun (Camb)*. – 2022. – Vol. 58 (83). – P. 11669-11672. 11. From the regulation of peptidoglycan synthesis to bacterial growth and morphology / A. Typas [et al] // *Nat Rev Microbiol*. – 2011. – Vol. 10 (2). – P. 123-136. 12. Occurrence of *D*-alanyl-(*D*)-meso-diaminopimelic acid and meso-diaminopimelyl-meso-diaminopimelic acid interpeptide linkages in the peptidoglycan of *Mycobacteria* / J. Wietzerbin [et al] // *Biochemistry*. – 1974. – Vol. 13 (17). – P. 3471-3476. 13. Muduli, S. The coordinated action of the enzymes in the L-lysine biosynthetic pathway and how to inhibit it for antibiotic targets / S. Muduli, S. Karmakar, S. Mishra // *Biochim Biophys Acta Gen Subj*. – 2023. – Vol. 1867 (5). – P. 130320. 14. Targeting host deoxycytidine kinase mitigates *Staphylococcus aureus* abscess formation / V. Winstel [et al] // *bioRxiv*. – 2023. – P. 2023.08.18.553822. 15. The propanediol utilization (*pdu*) operon of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium LT2 includes genes necessary for formation of polyhedral organelles involved in coenzyme B(12)-dependent 1, 2-propanediol degradation / T.A. Bobik [et al] // *J Bacteriol*. – 1999. – Vol. 181 (19). – P. 5967–5975. 16. Hofvendahl, K. Factors affecting the fermentative lactic acid production from renewable resources / K. Hofvendahl, B. Hahn-Hägerdal // *Enzyme Microb Technol*. – 2000. – Vol. 26 (2-4). – P. 87-107. 17. Host Fatty Acid Utilization by *Staphylococcus aureus* at the Infection Site / M.W. Frank [et al] // *mBio*. – 2020. – Vol. 11 (3). – P. e00920-20. 18. Formate hydrogen lyase mediates stationary-phase deacidification and increases survival during sugar fermentation in acetoin-producing enterobacteria / B. Vivijis [et al] // *Front Microbiol*. – 2015. – Vol. 6. – P. 150. 19. Comparison of the regulation, metabolic functions, and roles in virulence of the glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase homologues *gapA* and *gapB* in *Staphylococcus aureus* / J. Purves [et al] // *Infect Immun*. – 2010. – Vol. 78 (12). – P. 5223-5232. 20. Impact of the pentose phosphate pathway on metabolism and pathogenesis of *Staphylococcus aureus* / J. Kim [et al] // *PLoS Pathog*. – 2023. – Vol. 19 (7). – P. e1011531. 21. A critical role of mevalonate for peptidoglycan synthesis in *Staphylococcus aureus* / Y. Matsumoto [et al] // *Sci Rep*. – 2016. – Vol. 6. – P. 22894.

References. 1. Diversity and pathogenesis of *Staphylococcus aureus* from bovine mastitis: current understanding and future perspectives / B. Campos [et al] // *BMC Vet Res*. – 2022. – Vol. 18. – P. 115. 2. Côté-Gravel, J. Symposium review: Features of *Staphylococcus aureus* mastitis pathogenesis that guide vaccine development strategies / J. Côté-Gravel, F. Malouin // *J Dairy Sci*. – 2019. – Vol. 102 (5). – P. 4727–4740. 3. Amino Acid Catabolism in *Staphylococcus aureus* and the Function of Carbon Catabolite Repression / C.R. Halsey [et al] // *mBio*. – 2017. – Vol. 8 (1). – P. e01434-16. 4. Thomsen, I.P. Targeting fundamental pathways to disrupt *Staphylococcus aureus* survival: clinical implications of recent discoveries / I.P. Thomsen, G.Y. Liu // *JCI Insight*. – 2018. – Vol. 3 (5). – P. e98216, 98216. 5. Identification of potential targets in *Staphylococcus aureus* N315 using computer aided protein data analysis / M. Hossain [et al] // *Bioinformation*. – 2013. – Vol. 9 (4). – P. 187-192. 6. Poly-N-acetylglucosamine production in *Staphylococcus aureus* is essential for virulence in murine models of systemic infection / A. Kropec [et al] // *Infect Immun*. – 2005. – Vol. 73 (10). – P. 6868-6876. 7. Catabolic Ornithine Carbamoyltransferase Activity Facilitates Growth of *Staphylococcus aureus* in Defined Medium Lacking Glucose and Arginine / I. Reslane [et al] // *mBio*. – 2022. – Vol. 13 (3). – P. e0039522. 8. Pyranocoumarin derivative LP4C targeting of pyrimidine de novo synthesis pathway inhibits MRSA biofilm and virulence / Y. Liu [et al] // *Front Pharmacol*. – 2022. – Vol. 13. – P. 959736. 9. The deoxyxylulose phosphate pathway of terpenoid biosynthesis in plants and microorganisms / W. Eisenreich [et al] // *Chemistry & Biology*. – 1998. – Vol. 5 (9). – P. R221-R233. 10. Nitroisobenzofuranone, a small molecule inhibitor of multidrug-resistant *Staphylococcus aureus*, targets peptidoglycan biosynthesis / V. Rawat [et al] // *Chem Commun (Camb)*. – 2022. – Vol. 58 (83). – P. 11669-11672. 11. From the regulation of peptidoglycan synthesis to bacterial growth and morphology / A. Typas [et al] // *Nat Rev Microbiol*. – 2011. – Vol. 10 (2). – P. 123-136. 12. Occurrence of *D*-alanyl-(*D*)-meso-diaminopimelic acid and meso-diaminopimelyl-meso-diaminopimelic acid interpeptide linkages in the peptidoglycan of *Mycobacteria* / J. Wietzerbin [et al] // *Biochemistry*. – 1974. – Vol. 13 (17). – P. 3471-3476. 13. Muduli, S. The coordinated action of the enzymes in the L-lysine biosynthetic pathway and how to inhibit it for antibiotic targets / S. Muduli, S. Karmakar, S. Mishra // *Biochim Biophys Acta Gen Subj*. – 2023. – Vol. 1867 (5). – P. 130320. 14. Targeting host deoxycytidine kinase mitigates *Staphylococcus aureus* abscess formation / V. Winstel [et al] // *bioRxiv*. – 2023. – P. 2023.08.18.553822. 15. The propanediol utilization (*pdu*) operon of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium LT2 includes genes necessary for formation of polyhedral organelles involved in coenzyme B(12)-dependent 1, 2-propanediol degradation / T.A. Bobik [et al] // *J Bacteriol*. – 1999. – Vol. 181 (19). – P. 5967–5975. 16. Hofvendahl, K. Factors affecting the fermentative lactic acid production from renewable resources / K. Hofvendahl, B. Hahn-Hägerdal // *Enzyme Microb Technol*. – 2000. – Vol. 26 (2-4). – P. 87-107. 17. Host Fatty Acid Utilization by *Staphylococcus aureus* at the Infection Site / M.W. Frank [et al] // *mBio*. – 2020. – Vol. 11 (3). – P. e00920-20. 18. Formate hydrogen lyase mediates stationary-phase deacidification and increases survival during sugar fermentation in acetoin-producing enterobacteria / B. Vivijis [et al] // *Front Microbiol*. – 2015. – Vol. 6. – P. 150. 19. Comparison of the regulation, metabolic functions, and roles in virulence of the glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase homologues *gapA* and *gapB* in *Staphylococcus aureus* / J. Purves [et al] // *Infect Immun*. – 2010. – Vol. 78 (12). – P. 5223-5232. 20. Impact of the pentose phosphate pathway on metabolism and pathogenesis of *Staphylococcus aureus* / J. Kim [et al] // *PLoS Pathog*. – 2023. – Vol. 19 (7). – P. e1011531. 21. A critical role of mevalonate for peptidoglycan synthesis in *Staphylococcus aureus* / Y. Matsumoto [et al] // *Sci Rep*. – 2016. – Vol. 6. – P. 22894.

Поступила в редакцию 13.02.2024.