

РЕГУЛЯЦИЯ ТРАНСКРИПЦИИ ГЕНОВ У СТРЕПТОКОККОВ ГРУПП А И В

ДМИТРИЕВ А. В.

ГУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины СЗО РАМН»,
Санкт-Петербург

Дмитриев А. В. Регуляция транскрипции генов у стрептококков групп А и В // Мед. академ. журн. 2010. Т. 10. № 4. С. 256–266. ГУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины СЗО РАМН», Санкт-Петербург, 197376, ул. Академика Павлова, 12.

Данный обзор посвящен вопросу регуляции транскрипции генов у патогенных стрептококков групп А и В. В работе описаны механизмы действия двухкомпонентных регуляторных систем и глобальных белков-регуляторов, их функции, особенности и влияние на метаболизм и вирулентные свойства стрептококков. В работе также представлены результаты исследований сотрудников отдела молекулярной микробиологии НИИЭМ СЗО РАМН в области изучения регуляции транскрипции генов.

Ключевые слова: патогенные стрептококки, регуляция транскрипции генов, двухкомпонентные системы, белки-регуляторы, вирулентность.

Dmitriev A. V. Regulation of gene transcription in group A and B streptococci // Med. Acad. Journ. 2010. Vol. 10. № 4. P. 256–266. Research Institute of Experimental Medicine of the North-West Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, St. Petersburg, 197376.

Present review describes gene transcriptional regulation in group A and B pathogenic streptococci. The functions, features, mechanisms of action of two-component regulatory systems and global transcriptional regulators, as well as their influence on metabolism and virulence of streptococci are shown. The data obtained by the researchers of Department of Molecular Microbiology, Institute of Experimental Medicine, are summarized.

Key words: pathogenic streptococci, regulation of gene transcription, two-component systems, regulatory proteins, virulence.

Для корреспонденции: Дмитриев Александр Валентинович, тел. (812) 234-05-42, факс (812) 234-94-77; e-mail: admistriev10@yandex.ru

Streptococcus pyogenes (стрептококк группы А, СГА) и *Streptococcus agalactiae* (стрептококк группы В, СГВ) являются возбудителями широкого спектра местных, генерализованных и системных заболеваний человека и обладают тропностью к большинству его органов и тканей [15]. СГА вызывают тонзиллофарингит, скарлатину, импетиго, флегмоны, артрит, постстрептококковые осложнения (ревматический эндокардит, гломерулонефрит), некротизирующий фасцит, синдром токсического шока и др. В частности, в США ежегодно до 1,8 млн человек переносят стрептококковый фарингит с социально-экономическим ущербом более 100 млн долларов в дополнение к трудовым потерям [50]. Во всем мире 700 тыс. человек ежегодно страдают от инвазивных форм стрептококковых заболеваний, и при этом смертность может достигать 50% [8]. СГВ вызывают мастит, абсцессы, офтальмит, пиелонефрит, эндокардит и др. При этом СГВ наиболее актуальны в патологии беременности и постнатальной инвазивной заболеваемости, такой, как сепсис, пневмония и менингит [51]. В отдельных регионах экономический ущерб от стрептококковых заболеваний превышает таковой от кишечных инфекций, вирусных гепатитов и вируса иммунодефицита человека, вместе взятых [4].

Взаимодействие стрептококков с организмом хозяина является сложным и многофакторным

процессом. Способность стрептококков вызывать инфекционные процессы и поражать практически любые органы и ткани человека во многом определяется наличием факторов патогенности, способствующих адгезии микроорганизма, его колонизации, проникновению в организм хозяина и уклонению от его иммунного ответа. Не менее важна способность патогенных стрептококков быстро адаптироваться к изменяющимся условиям окружающей среды и регулировать экспрессию генов, в том числе генов вирулентности. Такая регуляция может происходить на уровне транскрипции, трансляции или посттрансляционно.

Настоящая статья посвящена регуляции транскрипции генов, происходящей в клетках СГА и СГВ, а также вкладу сотрудников Отдела молекулярной микробиологии НИИЭМ СЗО РАМН в изучение этой проблемы.

ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ О РЕГУЛЯТОРАХ
ТРАНСКРИПЦИИ

Начиная с 1961 г., когда Jacob и Monod описали Lac оперон *Escherichia coli*, ставший классическим примером контроля транскрипции генов в биологических системах [38], начались интенсивные исследования регуляции экспрессии генов на уровне

транскрипции. В число генов, транскрипция которых подвержена регуляции, входят гены биосинтеза и утилизации субстратов, гены, участвующие в адаптации к неблагоприятным условиям окружающей среды, гены вирулентности и многие другие.

В течение последних десятилетий пристальное внимание было обращено на регуляцию транскрипции генов у патогенных стрептококков, таких, как *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus mutans*, *S. pyogenes*, *S. agalactiae* и др. Эти микроорганизмы воспринимают изменения в условиях окружающей среды как *in vitro*, так и *in vivo* и изменяют экспрессию собственных генов таким образом, чтобы адаптироваться и успешно переживать неблагоприятные условия. *In vivo* способность СГА и СГВ адаптироваться к изменяющимся условиям окружающей среды приводит к тому, что эти организмы способны колонизировать самые разные органы и ткани человека и вызывать многочисленные патологические процессы, от бессимптомного носительства до тяжелых инвазивных поражений.

Один из механизмов эффективной регуляции транскрипции генов реализуется за счет двухкомпонентных регуляторных систем, которые широко распространены среди бактерий [66]. Каждая из двухкомпонентных систем состоит из двух белков, сенсорной гистидинкиназы и ДНК-связывающего белка-регулятора ответа. Сенсорная гистидинкиназа обладает свойством воспринимать определенные сигналы из окружающей среды (изменения pH, температуры, концентрации субстратов и др.) и в ответ на эти сигналы приводит к фосфорилированию гистидина в молекуле гистидинкиназы. Следующим этапом в передаче сигнала является перенос фосфата к родственной молекуле ДНК-связывающего белка-регулятора ответа. Фосфорилирование белка-регулятора приводит к конформационным изменениям в его молекуле, к изменению его ДНК-связывающей активности и, как следствие, к активации или репрессии транскрипции определенных генов. Регуляция транскрипции генов обеспечивается за счет связывания промоторных областей генов участком белка-регулятора, называемого «спираль-поворот-спираль» (helix-turn-helix, НТН).

Другой механизм регуляции транскрипции обеспечивается белками-регуляторами, называемыми также транскрипционными факторами, которые не нуждаются в сенсорных гистидинкиназах. Тем не менее эти белки-регуляторы должны иметь соответствующие им сенсорные молекулы, многие из которых до сих пор остаются неизвестными. Обычно белки-регуляторы имеют 2 домена. Один из доменов ответственен за связывание с лигандом, например метаболитом. Другой домен представляет собой участок белка-регулятора, который непосредственно

связывается с промоторами генов, т. е. является НТН доменом [5]. В основном, такие белки-регуляторы образуют гомодимеры, тетрамеры или гексамеры [28] и часто функционируют в виде транскрипционных комплексов с небольшими молекулами или кофакторами.

Геномами СГА и СГВ кодируется большое количество двухкомпонентных регуляторных систем и белков-регуляторов. Так, к настоящему времени у СГА обнаружено 13 двухкомпонентных регуляторных систем и более 40 белков-регуляторов транскрипции, в том числе глобальные белки-регуляторы транскрипции (Mga, Rgg, белки семейства RALP) [25]. У СГВ выявлена 21 двухкомпонентная регуляторная система и несколько десятков белков-регуляторов транскрипции [27, 67, 68]. У обоих видов совместное действие регуляторных молекул приводит к образованию и функционированию так называемой «регуляторной сети». В данной работе представлены суммарные данные по регуляции транскрипции генов у СГА и СГВ посредством двухкомпонентных регуляторных систем и белков-регуляторов.

РЕГУЛЯЦИЯ ТРАНСКРИПЦИИ У СГА: БЕЛКИ-РЕГУЛЯТОРЫ ТРАНСКРИПЦИИ СГА

Анализ полногеномной последовательности СГА выявил несколько десятков белков-регуляторов транскрипции [25]. Из них к глобальным белкам-регуляторам транскрипции в настоящее время относятся белки Mga, Rgg и белки семейства RALP [35].

Ген *mga*, кодирующий белок-регулятор Mga, имел синонимичные названия *virR* и *mry*, что приводило к некоторой путанице в номенклатуре, и лишь в 1995 г. общепринятым стало обозначение *mga* (multiple gene regulator of GAS) [62]. Белок-регулятор Mga контролирует экспрессию поверхностных и секретрируемых белков, участвующих в колонизации тканей человека, а также белков, позволяющих избежать воздействия иммунной системы. Кроме того, белок Mga влияет на экспрессию более чем 10% стрептококкового генома, активируя или репрессируя гены, расположенные в различных участках генома СГА [57]. Многие из регулируемых белком Mga генов кодируют факторы патогенности СГА. В частности, Mga является активатором транскрипции гена *emm*, кодирующего М-белок (основного антифагоцитарный белок СГА), генов *mvp*, *agr* и *emm*, кодирующих М-подобные белки, способные связывать иммуноглобулины А и G человека (гены), гена *scpA*, кодирующего С5а пептидазу, гена ингибитора комплемента (ген *sic*), генов белков, связывающих фибриноген (гены *fba*, *sof/sfbX*), гена эритрогенного токсина В (ген *speB*) и других генов вирулентности. В то же время Mga

влияет на транскрипцию генов метаболизма, активируя опероны, участвующие в метаболизме железа и жирных кислот, репрессируя гены, участвующие в метаболизме маннозы, фруктозы, мальтозы и др. [34].

Максимальная экспрессия Mga-регулона (т. е. набора генов, регулируемых Mga) осуществляется во время логарифмической фазы роста СГА, и в течение этого времени происходит ускоренный синтез факторов патогенности. Экстраполируя эти данные на особенности взаимодействия СГА с организмом хозяина, становится понятным, почему данный микроорганизм способен колонизировать различные ткани и органы человека, успешно избегая воздействия иммунной системы.

Как и многие другие регуляторы транскрипции, белок Mga обладает штаммо-специфической активностью. Так, например, в штаммах GA40634, SF370, JRS4 Mga влияет на транскрипцию 204, 201 и 37 генов соответственно, однако лишь 3 гена (*emm*, *scpA* и *spy2036*) регулируются белком Mga во всех трех штаммах [57]. Очевидно, что Mga вовлечен в регуляторную сеть, характеризующую штаммовую специфичностью, в силу чего многие регулируемые белком Mga гены являются объектами опосредованного воздействия. Тем не менее, ряд генов являются объектами прямого воздействия белка Mga. Так, например, Mga связывается с промоторными областями генов *scpA*, *emm*, *sclA*, *sof/sfbX* и др. [37], несмотря на то, что промоторные области перечисленных генов не являются идентичными. Последнее объясняется наличием двух НТН доменов в N-терминальной области белка Mga (НТН-3 и НТН-4), обеспечивающих связывание ДНК и активацию транскрипции [36], и домена CMD-1, также участвующего в реализации процесса взаимодействия «ДНК-белок». На значимость домена CMD-1 для регуляторных функций Mga указывает тот факт, что мутации в области CMD-1 приводят к утрате способности белка Mga к связыванию ДНК [70]. Кроме того, с делецией размером 12 п.н. в промоторной области гена *tga* ассоциируются значительные различия в вирулентности штаммов СГА, выделенных от больных, по сравнению со штаммами, выделенными от носителей [7], а ряд аминокислотных замен в молекуле белка Mga приводит к утрате способности активировать транскрипцию генов вирулентности [69].

Другой глобальный белок-регулятор транскрипции, Rgg, относится к семейству TIGR01716, согласно базе данных www.jcvi.org, и имеет синонимичное название RopB (regulation of proteinase). Как и все ДНК-связывающие белки-регуляторы, Rgg имеет НТН домен. Белок Rgg является активатором экспрессии эритрогенного токсина В (SpeB) [9, 48], связываясь с промоторной областью гена *speB* [49].

Интересно, что во время экспоненциальной фазы роста СГА, белок Rgg связывается с белком LacD.1 [46] и, тем самым, оказывается неспособным активировать экспрессию SpeB. Именно по этой причине SpeB начинает экспрессироваться лишь во время постэкспоненциальной фазы роста, когда Rgg высвобождается из комплекса с LacD.1 [46].

Белок Rgg является глобальным регулятором, влияя на транскрипцию большого числа генов у СГА, что отражается на фенотипических свойствах микроорганизма. В штамме NZ131 инактивация гена *rgg* привела к изменениям в уровнях транскрипции более 700 генов. Эти изменения отразились на ряде фенотипических свойств СГА, в частности:

- 1) мутантный штамм был неспособен синтезировать SpeB [9];
- 2) у мутантного штамма изменилась экспрессия таких факторов патогенности, как стрептолизин О, стрептолизин S, стрептокиназа, белок Mac, НАД-гликогидролаза, М-белок, митогенный фактор MF-1 и др. [11, 12, 19];
- 3) инактивация гена *rgg* оказала влияние на адаптацию СГА к условиям стресса [10];
- 4) инактивация гена *rgg* повлияла на способность СГА использовать аминокислоты и углеводы для размножения и роста [10, 19];
- 5) инактивация гена *rgg* повлияла на частоту индукции профага NZ131.1 [19];
- 6) штамм, мутантный по гену *rgg*, стал более вирулентным по сравнению с исходным штаммом NZ131 [3, 54].

Сравнительный анализ полногеномных транскрипционных профилей штаммов MGAS5005, CS101, SF370, NZ131 и их *rgg* мутантов показал, что инактивация гена *rgg* приводит к изменению уровней транскрипции 3, 13, 45 и 706 генов соответственно [18]. При этом транскрипция лишь двух генов (*speB* и смежно-расположенного с ним гена *spy2040*), регулируется белком Rgg у всех четырех штаммов в одинаковой мере, а именно, активируется, доказывая существование у СГА «core» Rgg-регулона. Остальные гены регулируются белком Rgg штаммо-специфическим образом и представляют собой «sub» Rgg-регулоны, характерные для каждого конкретного штамма [18].

Некоторые аминокислоты в последовательности белка Rgg являются принципиально важными для проявления Rgg функциональных свойств. Так, например, замена серина на пролин в положении #103 приводит к неспособности модифицированного белка Rgg активировать транскрипцию *speB* [41], но, тем не менее, у этого белка сохраняется способность влиять на транскрипцию других генов СГА. Для активации транскрипции *speB* важны также аргинин в положении #11 и триптофан в положении #142 [47],

а делеция 110 аминокислот с С-терминального конца молекулы Rgg также приводит к неспособности активировать транскрипцию *speB* [33].

Белок MutR, так же как и белок Rgg, относится к семейству TIGR01716 и содержит НТН домен. С использованием микрочиповой технологии показано, что инактивация гена *mutR* значительно изменяет метаболизм, что, в частности, отражается на динамике роста микроорганизма [1]. MutR контролирует синтез ряда факторов патогенности, например, синтез белка Sic (белок ингибитора комплемента), синтез секретируемых ДНКаз и др., при этом регуляция характеризуется штаммовой специфичностью. Тем не менее все штаммы, мутантные по гену *mutR*, становятся или авирулентными или характеризуются значительно сниженными вирулентными свойствами, что показано на модели лабораторных животных и в прямом бактерицидном тесте по выживанию в цельной человеческой крови [1].

Семейство RALP (RofA-like protein) белков-регуляторов транскрипции представлено у СГА четырьмя белками, RofA (RALP1), Nra (RALP2), Ralp3 (RALP3) и RivR (RALP4) [35]. Последовательности этих белков характеризуются 29%-й гомологией, а молекулярные массы белков составляют примерно 58 кДа. К генам факторов патогенности, регулируемым белками семейства RALP, относятся гены MSCRAMMs (гены поверхностных компонентов микробной клетки, распознающих адгезивные молекулы клеточного матрикса), гены белков, связывающих фибронектин (SfbI и SfbII), и ген белка, связывающего коллаген (ген *spa*). Под контролем RALP также находится экспрессия стрептолизина S (ген *sagA*), эритрогенного токсина В (ген *speB*), эритрогенного токсина А (ген *speA*), глобального регулятора Mga (ген *mga*) и др. [35].

Белок RofA является активатором транскрипции гена *prtF*, кодирующего белок SfbI [26]. В то же время RofA является репрессором генов *sagA*, *speB*, *mga*, а штамм, мутантный по гену *rofA*, проявляет меньшие адгезивные свойства к эпителиальным клеткам HEp-2 [6]. Белок RofA имеет НТН домен и способен связываться с *rofA-prtF* межгенной областью. Предполагаемой консервативной областью ДНК, связываемой белком RofA, является 5'-TTTTCACCAAAAANCAT-3', однако эта последовательность не обнаружена в промоторных областях генов *sagA*, *speB*, *mga*, репрессируемых белком RofA, что свидетельствует о возможности опосредованного воздействия RofA на эти гены [30].

Белок Nra является репрессором гена *spa*, смежно-расположенного с геном *nra*, гена *prtF2*, кодирующего белок SfbII, генов *speB*, *speA*, *sagA* и *mga* [52]. Максимальная экспрессия гена *nra* происходит на фазе замедленного роста культуры, предшеству-

ющей ранней стационарной фазе. Белок Nra также является активатором многочисленных генов СГА, включая гены транспорта и метаболизма углеводов, а Nra-регулон охватывает 10% от общего числа генов СГА [43]. Nra является репрессором других глобальных регуляторов транскрипции СГА, таких, как Rgg, RALP3, RivR, оказываясь, тем самым, вовлеченным в разветвленную регуляторную сеть [43].

Аналогично другим белкам семейства RALP, белок RALP3 имеет НТН домен и его экспрессия максимальна во время фазы замедленного роста культуры. Аналогично глобальным белкам-регуляторам Rgg и Mga, активность белка RALP3 характеризуется штаммовой специфичностью. В зависимости от штамма, под контролем RALP3 находится транскрипция генов *slo*, *spa*, *speB*, оперона *has*, участвующего в синтезе капсулы, гена-регулятора *nra* и др. [43]. Мутантный по гену *ralp3* штамм проявлял 3-кратное увеличение в адгезивных свойствах и 12-кратное уменьшение инвазивности по отношению к эпителиальным клеткам легких человека A549. Кроме того, белок RALP3 существенно влияет на выживаемость СГА в цельной человеческой крови и их вирулентность при внутрибрюшинном заражении лабораторных животных *in vivo* [44].

Белок RivR, по-видимому, вовлечен в регуляторную сеть *S. pyogenes*, поскольку он репрессируется регуляторной двухкомпонентной системой CovR/S [58], активирует ген глобального регулятора Mga, а также играет важную роль в патогенезе инвазивных заболеваний на модели лабораторных животных [59].

ДВУХКОМПОНЕНТНЫЕ РЕГУЛЯТОРНЫЕ СИСТЕМЫ СГА

В геноме СГА обнаружено 13 двухкомпонентных регуляторных систем [25], но лишь некоторые из них (CovR/S (CsrRS), FasBCAX, Ihk/Irr, and Spy874, 1106, 1556 and 1062/YesN) изучены относительно подробно [24, 29, 42, 63, 71].

Наиболее изученной двухкомпонентной системой СГА является система CovR/S [14]. Эта двухкомпонентная система регулирует (напрямую или опосредованно) большое количество генов, составляющих примерно 15% генома СГА [29]. Среди генов вирулентности, напрямую регулируемых системой CovR/S, можно отметить *sagA*, *speB*, *rivR*, *ska* (ген стрептокиназы), *sda* (ген стрептодорназы), оперон *has* и другие [24, 29, 32, 58].

Двухкомпонентная система CovR/S играет значительную роль в формировании фенотипа СГА. Так, например, CovR/S важна для образования биопленок *in vitro* [13], а инактивация *covR* приводит к образованию мукоидных колоний [17]. Штаммы с инак-

тивированным геном *covR*, кодирующим ДНК-связывающий белок-регулятор ответа *CovR*, или геном *covS*, кодирующим сенсорную гистидинкиназу *CovS*, характеризуются существенными изменениями в вирулентных свойствах. При этом, в зависимости от штамма, вирулентность может как увеличиваться, так и уменьшаться [16, 23]. Последнее, по-видимому, подразумевает взаимодействие *CovR/S* с пока еще неизвестными и характерными для каждого штамма молекулами ДНК, РНК или белков, существенными для формирования вирулентного фенотипа. Безусловно заслуживает внимания тот факт, что спонтанные мутации в генах двухкомпонентной системы *CovR/S* ассоциируются с увеличением вирулентных свойств [22].

ДНК-связывающий белок-регулятор *CovR* является, в основном, репрессором генов. *In vitro* этот белок связывается с консервативной последовательностью 5'-АТТАРА-3', однако существуют и другие последовательности, которые могут взаимодействовать с *CovR*.

В зависимости от условий окружающей среды, сенсорная гистидинкиназа *CovS* может выполнять функции как киназы, так и фосфатазы. При нормальных условиях, гистидинкиназа *CovS* проявляет функции киназы и фосфорилирует ДНК-связывающий белок-регулятор *CovR* до *CovR-P*, который, в свою очередь, приводит к репрессии генов *sagA*, *has* и *riv*. При условиях, являющихся стрессорными для СГВ, *CovS* проявляет функции фосфатазы и дефосфорилирует *CovR-P* до *CovR*, активируя транскрипцию генов *sagA*, *has* и *riv* [17]. Кроме того, белок *CovR* способен приобретать фосфат не только от *CovS*, но и от других гистидинкиназ или низкомолекулярных фосфодоноров, что указывает на существование нескольких механизмов *CovR/S*-опосредованной регуляции транскрипции [17].

Многие из генов двухкомпонентных систем СГА пока не имеют названий и упоминаются в литературе, согласно порядковым номерам генов полногеномной последовательности штамма SF370 [25]. Так, были сконструированы изогенные мутанты штамма MGAS5005 по генам, кодирующим ДНК-связывающие белки-регуляторы двухкомпонентных систем, имеющие названия SPy874, SPy1106, SPy1556 и SPy1062/YesN [25]. Несмотря на то, что значительных различий в морфологии и ростовых характеристиках штамма MGAS5005 и его изогенных мутантов отмечено не было, использование микрочиповой технологии показало значительные изменения в уровнях транскрипции генов. Например, инактивация каждого из генов *spy874*, *spy1062*, *spy1106* привела к изменению уровней транскрипции большого числа генов, составляющих примерно 15% от всего генома СГА, а

инактивация *spy1556* – к изменению уровней транскрипции генов, составляющих 41% генома [63].

Исследование вирулентных свойств исходного штамма MGAS5005 и его изогенных мутантов не обнаружило значительных различий при внутрибрюшинном заражении лабораторных мышей, однако при моделировании инфекции мягких тканей штамм, мутантный по гену *spy874*, оказался гипервирулентным по сравнению со штаммом MGAS5005. Транскрипционный анализ выявил, что у данного мутантного штамма значительно повышены уровни экспрессии генов вирулентности, таких как *scpA*, *sic*, а также гена *priS*, кодирующего протеазу, способную расщеплять и инактивировать интерлейкин-8. По-видимому, этими изменениями и могут быть объяснены повышенные вирулентные свойства штамма, мутантного по гену *spy874* [63].

Анализ полногеномной последовательности штамма SF370 [25] выявил оперон, названный *fasBCA*, который содержит гены, гомологичные двум различным генам гистидинкиназ, и ген ДНК-связывающего белка-регулятора. Инактивация этого фрагмента ДНК привела к тому, что у мутантного штамма возросла способность связывать фибриноген и фибронектин. С другой стороны, у мутантного штамма значительно уменьшилась экспрессия стрептокиназы, и на 40% снизилась экспрессия стрептолизина S. Показано, что эти фенотипические свойства СГА контролируются на уровне транскрипции [42].

При исследовании уровней экспрессии генов СГА в результате инкубирования с полиморфноядерными лейкоцитами, а также при моделировании стрептококковой инфекции *in vivo* обнаружено, что экспрессия генов двухкомпонентной системы *Ihk/Irr* существенно повышена. В результате инактивации гена *irr* мутантный штамм оказался более подвержен фагоцитозу, указывая на существенную роль *Ihk/Irr* в противодействии полиморфноядерным лейкоцитам [71].

РЕГУЛЯЦИЯ ТРАНСКРИПЦИИ У СГВ: БЕЛКИ-РЕГУЛЯТОРЫ ТРАНСКРИПЦИИ СГВ

Полногеномное секвенирование штаммов СГВ позволило выявить несколько десятков белков-регуляторов транскрипции [27, 67, 68]. Как и у СГА, характерной особенностью белков-регуляторов транскрипции СГВ является наличие НТН домена, ответственного за связывание белка с промоторными областями регулируемых генов. К числу изученных белков-регуляторов транскрипции генов СГВ относятся белки *RogB* и *RovS* [31, 61].

Белок *RovS* СГВ относится к семейству TIGR01716 и обладает всеми свойствами белков-

регуляторов транскрипции, в частности наличием на N-терминальном участке молекулы НТН домена. Последовательность белка RovS на 28% гомологична белку RggD *S. pneumoniae*, на 25% – белку Rgg *Streptococcus gordonii* и на 21% – белку Rgg СГА [61]. Штамм СГВ, мутантный по гену *rovS*, на 35% лучше связывал иммобилизованный фибриноген и характеризовался увеличенной адгезивностью к клеткам перевиваемой клеточной линии клеток легких человека А549. Уровень транскрипции гена *pbsA* (ген рецептора фибриногена) был выше у *rovS* мутантного штамма, что соответствовало фенотипическим свойствам, а уровни транскрипции генов *sodA*, кодирующего супероксиддисмутазу, *gbs0230*, и *cyl* оперона – ниже у *rovS* мутантного штамма по сравнению со штаммом дикого типа. Соответственно, гемолитические свойства СГВ, обеспечиваемые *cyl* опероном, также оказались снижены у мутантного штамма. Компьютерный анализ промоторных областей генов *pbsA*, *sodA*, *gbs0230*, *cyl* выявил консервативную область, A(A/T)AA(A/T)(A/C/G)(A/C/T)T(G/A/T)A(A/T)-N₆₇-(A/T)T(G/T)(A/T)(A/T)A(A/C)(G/A/T)(T/A)A(T/G), с которой предположительно связывается белок RovS [61]. Последнее утверждение является достаточно спорным, и приведенная последовательность едва ли может расцениваться в качестве «консервативной», но тем не менее не вызывает сомнений, что белок RovS способен как активировать, так и репрессировать многие гены вирулентного фенотипа СГВ.

Последовательность белка RogB СГВ гомологична последовательностям белков-регуляторов семейства RALP, участвующих в регуляции вирулентных свойств у грамположительных кокков [31]. В частности, последовательность белка RogB СГВ оказалась на 50,2%, 49,9%, 36,2% и 24,8% гомологична последовательностям белков RofA, Nra, RALP3 и RALP4 СГА; на 25,0% и 24,9% – белкам RALP6 и RALP7 *Streptococcus equi*, и на 22,9% – RALP5 *S. pneumoniae* [31]. Инактивация гена *rogB* СГВ привела к значительному увеличению транскрипции гена *cpsA*, кодирующего регулятор транскрипции генов синтеза капсулы, а также к уменьшению транскрипции генов *pbsA* (ген рецептора фибриногена) и потенциальных генов вирулентности *gbs1477* и *gbs1478*, смежно-расположенных с *rogB*. Эти данные показывают, что белок RogB проявляет свойства как активатора, так и репрессора транскрипции генов, что характерно для белков-регуляторов у грамположительных кокков [18, 57]. На уровне фенотипа инактивация гена *rogB* приводит к значительному уменьшению связывания фибриногена и фибронектина крови человека и уменьшению адгезии СГВ к эпителиальным клеткам, что характерно для белков-регуляторов семейства RALP [31].

ДВУХКОМПОНЕНТНЫЕ РЕГУЛЯТОРНЫЕ СИСТЕМЫ СГВ

В геноме СГВ обнаружена 21 двухкомпонентная регуляторная система [27, 67, 68], но к настоящему времени лишь некоторые из них, такие, как CsrRS/CovR/S, DltR/DltS, RgfA/RgfC, BgrR/S, уже охарактеризованы [53, 64, 45, 39, 40, 60]. Так, двухкомпонентная система CovR/S, обнаруженная у СГВ, оказалась аналогична таковой у СГА. ДНК-связывающий белок-регулятор CovR СГВ продемонстрировал 83%-ую, а сенсорная гистидинкиназа CovS – 50%-ую гомологию с аналогичными белками СГА [39]. У штаммов СГВ инактивация гена *covR*, кодирующего белок-регулятор, привела к увеличению уровня транскрипции гена гемолизина *cylE* и к уменьшению уровня транскрипции гена САМР фактора *cfb*. Функциональная значимость этих изменений подтверждена и на уровне фенотипа – у *covR* мутантных штаммов гемолитические свойства были существенно выше, а продукция САМР фактора – существенно ниже, чем у штаммов дикого типа [39, 45]. Кроме того, у мутантных штаммов отмечено увеличение уровня транскрипции гена С5а пептидазы (ген *scpB*). Вирулентные свойства мутантных штаммов также затрагиваются в результате инактивации генов двухкомпонентной системы CovR/S – они оказываются в значительной мере снижены по сравнению со штаммами «дикого» типа [39, 45].

Влияние двухкомпонентной системы CovR/S на полногеномные транскрипционные профили было проанализировано у трех штаммов СГВ (2603 V/R, NEM316, 515) с использованием микрочиповой технологии [40, 45]. Оказалось, что система CovRS может как активировать, так и репрессировать транскрипцию генов. При этом количество регулируемых CovR/S генов оказалось различным у анализируемых штаммов: 134 – в штамме 2603 V/R, 139 – в штамме NEM316 и 80 генов – в штамме 515 [40, 45]. В число этих генов входят гены и опероны, обеспечивающие адаптацию к условиям стресса, гены, обеспечивающие адгезию клеток СГВ к клеткам организма-хозяина и многие другие. Сравнительный анализ полногеномных транскрипционных профилей выявил существование CovR/S «core»-регулона, состоящего из 39 генов, который присутствует у всех трех штаммов СГВ. При этом показано, что белок-регулятор CovR связывается с промоторными областями многих из регулируемых генов, и выявлен предполагаемый консервативный участок ДНК (5'-ТАТТТТААТ-3'), способный связываться с молекулой CovR [45]. Остальные гены расцениваются в качестве штаммоспецифических CovR/S «sub»-регулонов. Эти гены регулируются системой CovR/S в одном или в двух из трех проанализированных штаммов [40], что подразумевает опосредованное воздействие CovR/S на

эти гены, по-видимому, через другие, зависимые от CovR/S регуляторные механизмы. Штаммо-специфические отличия в регулонах не являются уникальными для двухкомпонентной системы CovR/S СГВ. Штаммовая специфичность была обнаружена и для других двухкомпонентных регуляторных систем и глобальных белков-регуляторов стрептококков, что приведено в соответствующих разделах настоящего обзора.

Двухкомпонентная система DltR/DltS СГВ кодируется генами *dltR* и *dltS* [53]. Эти гены смежно-расположены в направлении 5'-конца от *dlt* оперона, который состоит из генов *dltA*, *dltB*, *dltC* и *dltD*, необходимых для включения остатков D-аланина в состав липотейхоевых кислот. В отличие от других грамположительных микроорганизмов, содержащих *dlt* оперон (*Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *S. mutans*, *S. pyogenes* и др.), СГВ является единственным известным на сегодняшний день микроорганизмом, содержащим регуляторную систему рядом с *dlt* опероном [53]. У СГВ *dlt* оперон транскрибируется в основном с промотора P_{dltR} и в незначительной степени с промотора P_{dltA} , причем транскрипция активируется ДНК-связывающим белком DltR в присутствии гистидинкиназы DltS. Активность обоих промоторов увеличивается при уменьшении количества D-аланина в составе липотейхоевых кислот, что позволяет предположить необходимость DltR/DltS для поддержания концентрации D-аланина в составе липотейхоевых кислот. По-видимому, постоянство состава липотейхоевых кислот физиологически значимо для СГВ, так как штаммы, мутантные по генам *dltA* и *dltR*, становятся менее вирулентными при экспериментальной мышинной модели, а штаммы с уменьшенным содержанием D-аланина (мутанты по гену *dltA*) – более чувствительными к действию антимикробного полипептида колистина [53].

Двухкомпонентная система RgfA/RgfC контролирует уровни адгезии СГВ к эпителиальным клеткам, а инактивация гена гистидинкиназы *rgfC* приводит к увеличению уровня транскрипции гена *scpB*, кодирующего С5а пептидазу [64].

Гены двухкомпонентной системы BgrR/S были обнаружены в составе “островка” патогенности размером 8992 п.н., содержащего гены *bgrS* (*sak188*), *bgrR* (*sak189*), ген вирулентности *bac* и ряд других генов [21]. Предполагаемые последовательности гистидинкиназы BgrS и ДНК-связывающего белка-регулятора ответа BgrR на 78% и 83% гомологичны таковым НК06 и RR06 у *S. pneumoniae* [65]. Двухкомпонентная система BgrR/S присутствует только у штаммов, содержащих ген *bac*, кодирующий β антиген, и относящихся к отдельной генетической линии СГВ [20].

В результате инактивации гена *bgrR* в 17 раз уменьшается уровень транскрипции гена вирулентности *bac*, практически до нуля уменьшается экспрессия кодируемого им β антигена, но в то же время существенно увеличиваются вирулентные свойства мутантного штамма в экспериментах на лабораторных животных [60]. Не исключено, что ген *bac* – не единственный объект воздействия двухкомпонентной системы BgrR/S, и транскрипция других генов вирулентности может активироваться при инактивации гена *bgrR* и, как следствие, приводить к увеличению вирулентных свойств мутантного штамма. Инактивация гена гистидинкиназы *bgrS* не приводит к изменениям в метаболизме и вирулентности СГВ, свидетельствуя о том, что BgrR может задействовать другие сенсорные гистидинкиназы для регуляции транскрипции генов.

Недавно у СГВ была описана эукариотическая серин/треонин киназа Stk1 [55]. Эта киназа играет активную роль в защите СГВ от нейтрофилов и окислительного стресса. Экспрессия β -гемолизина оказалась существенно ниже у штамма, мутантного по гену *stk1*, а сам штамм – менее вирулентным, по сравнению со штаммом дикого типа [56]. Более того, серин/треонин киназа Stk1 влияла не только на синтез гемолизина СГВ, но и на экспрессию CAMP фактора, и, в свою очередь, зависела от экспрессии двухкомпонентной системы CovR/S [56], свидетельствуя в пользу комплексного действия протеинкиназ двух типов (эукариотической серин/треонин киназы и прокариотической гистидинкиназы в составе двухкомпонентной системы) у СГВ.

Ниже кратко суммированы основные результаты, полученные в отделе молекулярной микробиологии НИИЭМ СЗО РАМН в области изучения регуляции транскрипции генов у СГА и СГВ:

1) у семи штаммов СГА инактивирован ген *rgg*, проанализировано влияние белка Rgg на транскрипцию генов, определены регулоны, контролируемые белком Rgg, охарактеризовано влияние белка Rgg на метаболизм СГА, транскрипцию генов вирулентности и проявление патогенных свойств при моделировании инфекции на лабораторных животных *in vivo* [2, 3, 18, 19]. Показана функциональная значимость серина в положении #103 для способности Rgg активировать транскрипцию гена *speB*, кодирующего эритрогенный токсин В [41];

2) у трех штаммов СГА инактивирован ген *mutR*, проанализировано влияние белка MutR на метаболизм и экспрессию факторов патогенности. Показано, что регуляция транскрипции генов белком MutR характеризуется штаммовой специфичностью. Обнаружено, что ген *mutR* является критически важным для проявления штаммами СГА патогенных свойств *in vivo* и для устойчивости СГА к фагоцитозу [1];

3) у СГВ обнаружен «островок патогенности», содержащий, в частности, ген вирулентности *bac* и гены двухкомпонентной регуляторной системы Sak188/Sak189, которая впоследствии была аннотирована как BgrR/S [21, 60]. Установлено, что белок-регулятор BgrR необходим для транскрипции гена *bac* и экспрессии кодируемого им β антигена. Показано, что регуляция происходит на уровне транскрипции. Обнаружено, что штамм с инактивированной двухкомпонентной системой BgrR/S становится более вирулентным по сравнению с исходным штаммом [1, 60].

ОБЩЕЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

В заключение хотелось бы еще раз кратко остановиться на тех основных моментах, которые лежат в основе регуляции транскрипции генов у патогенных стрептококков.

Во-первых, регуляция на уровне транскрипции происходит, в основном, за счет двухкомпонентных регуляторных систем и белков-регуляторов, составляющих разветвленную регуляторную сеть, а запускающим фактором для регуляции являются изменения в окружающей среде.

Во-вторых, наличие НТН домена в ДНК-связывающих белках-регуляторах обеспечивает межмолекулярное взаимодействие «ДНК-белок» и приводит к активации или репрессии генов.

В-третьих, регуляция транскрипции генов, происходящая в стрептококковой клетке, затрагивает не только гены метаболизма, но и гены вирулентности, что часто приводит к изменению вирулентных свойств.

И, наконец, в-четвертых, даже единичные аминокислотные замены в молекулах регуляторных белков часто могут приводить к нарушениям в регуляторной сети микроорганизма.

При этом, несмотря на доказанное участие ряда двухкомпонентных регуляторных систем и глобальных белков-регуляторов в проявлении СГА и СГВ вирулентных свойств, еще большее их количество остается за пределами внимания исследователей. Исходя из этого, не вызывает сомнений необходимость их изучения с целью понимания регуляторных сетей СГА и СГВ, что может выявить или предсказать новые механизмы, лежащие в основе адаптации патогенных микроорганизмов к организму хозяина и способности формировать спектр вызываемых ими заболеваний.

К числу наиболее интересных перспектив в изучении регуляции транскрипции генов можно отнести поиск тех регуляторных молекул, без которых стреп-

тококки не способны размножаться и/или приводить к патологическим процессам. Как следствие, перспективной может явиться разработка селективных ингибиторов с целью воздействия как на белок-регулятор, так и на его ген (например, в виде антисмысловых РНК), что может послужить основой для поиска и разработки антибактериальных препаратов нового поколения. Кроме того, штаммы, ставшие авирулентными в результате направленного нарушения регуляторной сети, могут расцениваться в перспективе в качестве живых вакцинных штаммов.

Автор выражает благодарность академику РАМН Тотоляну А.А. за комментарии, советы и обсуждение при написании данной статьи

Литература

1. Дмитриев А.В., Рождественская А.С., Зуткис А.А., Тотолян А.А. Направленная регуляция патогенных свойств стрептококков // Мед. акад. журн. 2009. Т. 9. № 4. С. 50–58.
2. Дмитриев А.В., Рождественская А.С., Тотолян А.А. Использование микрочипов для изучения метаболизма и механизмов патогенности *Streptococcus pyogenes* // Сборник материалов XIX (82) сессии Общего собрания Российской академии медицинских наук. 2008. С. 250–266.
3. Рождественская А.С., Дмитриев А.В., Грабовская К.Б., Тотолян А.А. Инактивация гена регулятора транскрипции Rgg изменяет экспрессию секретрируемых факторов патогенности и вирулентность *Streptococcus pyogenes* // Мед. акад. журн. 2008. № 2. С. 21–27.
4. Филатов Н.Н., Брико Н.И., Шаханина И.Л. и др. Научно-организационные и методические основы эпидемиологического надзора за стрептококковой инфекцией группы А в условиях крупного города // Журн. Микробиол. 1998. Т. 1. С. 40–43.
5. Balleza E., López-Bojorquez L.N., Martínez-Antonio A. et al. Regulation by transcription factors in bacteria: beyond description // FEMS Microbiol. Rev. 2009. Vol. 33. № 1. P. 133–151.
6. Beckert S., Kreikemeyer B., Podbielski A. Group A streptococcal rofA gene is involved in the control of several virulence genes and eukaryotic cell attachment and internalization // Infect. Immunol. 2001. Vol. 69. № 1. P. 534–537.
7. Beres S.B., Richter E.W., Nagiec M.J. et al. Molecular genetic anatomy of inter- and intraserotype variation in the human bacterial pathogen group A *Streptococcus* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2006. Vol. 103. № 18. P. 7059–7064.
8. Carapetis J.R., Steer A.C., Mulholland E.K., Weber M. The global burden of group A streptococcal diseases // Lancet Infect. Dis. 2005. Vol. 5. № 11. P. 685–694.
9. Chaussee M.S., Ajdic D., Ferretti J.J. The rgg gene of *Streptococcus pyogenes* positively influences extra-

- cellular SPE B production // *Infect. Immunol.* 1999. Vol. 67. № 4. P. 1715–1722.
10. Chaussee M.A., Callegari E.A., Chaussee M.S. Rgg regulates growth phase-dependent expression of proteins associated with secondary metabolism and stress in *Streptococcus pyogenes* // *J. Bacteriol.* 2004. Vol. 186. № 21. P. 7091–7099.
 11. Chaussee M.S., Somerville G.A., Reitzer L. et al. Rgg coordinates virulence factor synthesis and metabolism in *Streptococcus pyogenes* // *J. Bacteriol.* 2003. Vol. 185. № 20. P. 6016–6024.
 12. Chaussee M.S., Watson R.O., Smoot J.C., Musser J.M. Identification of Rgg-regulated exoproteins of *Streptococcus pyogenes* // *Infect. Immunol.* 2001. Vol. 69. № 2. P. 822–831.
 13. Cho K.H., Caparon M.G. Patterns of virulence gene expression differ between biofilm and tissue communities of *Streptococcus pyogenes* // *Mol. Microbiol.* 2005. Vol. 57. № 6. P. 1545–1556.
 14. Churchward G. The two faces of Janus: virulence gene regulation by CovR/S in group A streptococci // *Mol. Microbiol.* 2007. Vol. 64. № 1. P. 34–41.
 15. Cunningham M.W. Pathogenesis of group A streptococcal infections // *Clin. Microbiol. Rev.* 2000. Vol. 13. № 3. P. 470–511.
 16. Dalton T.L., Hobb R.I., Scott J.R. Analysis of the role of CovR and CovS in the dissemination of *Streptococcus pyogenes* in invasive skin disease // *Microbiol. Pathog.* 2006. Vol. 40. № 5. P. 221–227.
 17. Dalton T.L., Scott J.R. CovS inactivates CovR and is required for growth under conditions of general stress in *Streptococcus pyogenes* // *J. Bacteriol.* 2004. Vol. 186. № 12. P. 3928–3937.
 18. Dmitriev A.V., McDowell E.J., Chaussee M.S. Inter- and intraserotypic variation in the *Streptococcus pyogenes* Rgg regulon // *FEMS Microbiol. Lett.* 2008. Vol. 284. № 1. P. 43–51.
 19. Dmitriev A.V., McDowell E.J., Kappeler K.V. et al. The Rgg regulator of *Streptococcus pyogenes* influences the utilization of nonglucose carbohydrates, prophage induction, and expression of the NAD-glycohydrolase virulence operon // *J. Bacteriol.* 2006. Vol. 188. № 20. P. 7230–7241.
 20. Dmitriev A., Hu Y.Y., Shen A.D. et al. Chromosomal analysis of group B streptococcal clinical strains; bac gene positive strains are genetically homogeneous // *FEMS Microbiol. Lett.* 2002. Vol. 208. № 1. P. 93–98.
 21. Dmitriev A., Yang Y.N., Shen A.D., Totolian A.A. Adjacent location of bac gene and two-component regulatory system genes within the putative *Streptococcus agalactiae* pathogenicity island // *Folia Microbiol.* 2006. Vol. 51. № 3. P. 229–235.
 22. Engleberg N.C., Heath A., Miller A. et al. Spontaneous mutations in the CsrRS two-component regulatory system of *Streptococcus pyogenes* result in enhanced virulence in a murine model of skin and soft tissue infection // *J. Infect. Dis.* 2001. Vol. 183. № 7. P. 1043–1054.
 23. Engleberg N.C., Heath A., Vardaman K., DiRita V.J. Contribution of CsrR-regulated virulence factors to the progress and outcome of murine skin infections by *Streptococcus pyogenes* // *Infect. Immunol.* 2004. Vol. 72. № 2. P. 623–628.
 24. Federle M.J., McIver K.S., Scott J.R. A response regulator that represses transcription of several virulence operons in the group A streptococcus // *J. Bacteriol.* 1999. Vol. 181. № 12. P. 3649–3657.
 25. Ferretti J.J., McShan W.M., Ajdic D. et al. Complete genome sequence of an M1 strain of *Streptococcus pyogenes* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2001. Vol. 98. № 8. P. 4658–4663.
 26. Fogg G.C., Gibson C.M., Caparon M.G. The identification of rofA, a positive-acting regulatory component of prtF expression: use of an m- γ - δ -based shuttle mutagenesis strategy in *Streptococcus pyogenes* // *Mol. Microbiol.* 1994. Vol. 11. № 4. P. 671–684.
 27. Glaser P., Rusniok C., Buchrieser C. et al. Genome sequence of *Streptococcus agalactiae*, a pathogen causing invasive neonatal disease // *Mol. Microbiol.* 2002. Vol. 45. № 6. P. 1499–1513.
 28. Goulian M. Robust control in bacterial regulatory circuits // *Curr. Opin. Microbiol.* 2004. Vol. 7. № 2. P. 198–202.
 29. Graham M.R., Smoot L.M., Migliaccio C.A. et al. Virulence control in group A streptococcus by a two-component gene regulatory system: global expression profiling and in vivo infection modeling // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2002. Vol. 99. № 21. P. 13855–13860.
 30. Granok A.B., Parsonage D., Ross R.P., Caparon M.G. The RofA binding site in *Streptococcus pyogenes* is utilized in multiple transcriptional pathways // *J. Bacteriol.* 2000. Vol. 182. № 6. P. 1529–1540.
 31. Gutekunst H., Eikmanns B.J., Reinscheid D.J. Analysis of RogB-controlled virulence mechanisms and gene repression in *Streptococcus agalactiae* // *Infect. Immunol.* 2003. Vol. 71. № 9. P. 5056–5064.
 32. Heath A., DiRita V.J., Barg N.L., Engleberg N.C. A two-component regulatory system, CsrR-CsrS, represses expression of three *Streptococcus pyogenes* virulence factors, hyaluronic acid capsule, streptolysin S, and pyrogenic exotoxin B // *Infect. Immunol.* 1999. Vol. 67. № 10. P. 5298–5305.
 33. Hollands A., Aziz R.K., Kansal R. et al. A naturally occurring mutation in ropB suppresses SpeB expression and reduces MIT1 group A streptococcal systemic virulence // *PLoS ONE.* 2008. Vol. 3. № 12. e4102.
 34. Hondorp E.R., McIver K.S. The Mga virulence regulon: infection where the grass is greener // *Mol. Microbiol.* 2007. Vol. 66. № 5. P. 1056–1065.
 35. McIver K.S. Stand-alone response regulators controlling global virulence networks in *Streptococcus pyogenes* // *Contrib. Microbiol.* 2009. Vol. 16. P. 1–17.

36. McIver K.S., Myles R.L. Two DNA-binding domains of Mga are required for virulence gene activation in the group A streptococcus // *Mol. Microbiol.* 2002. Vol. 43. № 6. P. 1591–1602.
37. McIver K.S., Thurman A.S., Scott J.R. Regulation of *mga* transcription in the group A streptococcus: specific binding of Mga within its own promoter and evidence for a negative regulator // *J. Bacteriol.* 1999. Vol. 181. № 17. P. 5373–5383.
38. Jacob F., Monod J. Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins // *J. Mol. Biol.* 1961. Vol. 3. P. 318–356.
39. Jiang S.M., Cieslewicz M.J., Kasper D.L., Wessels M.R. Regulation of virulence by a two-component system in group B Streptococcus // *J. Bacteriol.* 2005. Vol. 187. № 3. P. 1105–1113.
40. Jiang S.M., Ishmael N., Hotopp J.D. et al. Variation in the group B Streptococcus CsrRS regulon and effects on pathogenicity // *J. Bacteriol.* 2008. Vol. 190. № 6. P. 1956–1965.
41. Kappeler K.V., Anbalagan S., Dmitriev A.V. et al. A naturally occurring Rgg variant in serotype M3 Streptococcus pyogenes does not activate *speB* expression due to altered specificity of DNA binding // *Infect. Immunol.* 2009. Vol. 77. № 12. P. 5411–5417.
42. Kreikemeyer B., Boyle M.D., Buttaro B.A. et al. Group A streptococcal growth phase-associated virulence factor regulation by a novel operon (Fas) with homologies to two-component-type regulators requires a small RNA molecule // *Mol. Microbiol.* 2001. Vol. 39. № 2. P. 392–406.
43. Kreikemeyer B., Nakata M., Koller T. et al. The Streptococcus pyogenes serotype M49 *Nra-Ralp3* transcriptional regulatory network and its control of virulence factor expression from the novel *eno ralp3 epf sagA* pathogenicity region // *Infect. Immunol.* 2007. Vol. 75. № 12. P. 5698–5710.
44. Kwinn L.A., Khosravi A., Aziz R.K. et al. Genetic characterization and virulence role of the RALP3/LSA locus upstream of the streptolysin S operon in invasive MIT1 group A Streptococcus // *J. Bacteriol.* 2007. Vol. 189. № 4. P. 1322–1329.
45. Lamy M.C., Zouine M., Fert J. et al. *CovS/CovR* of group B streptococcus: a two-component global regulatory system involved in virulence // *Mol. Microbiol.* 2004. Vol. 54. № 5. P. 1250–1268.
46. Loughman J.A., Caparon M.G. A novel adaptation of aldolase regulates virulence in Streptococcus pyogenes // *EMBO J.* 2006. Vol. 25. № 22. P. 5414–5422.
47. Loughman J.A., Caparon M.G. Contribution of invariant residues to the function of Rgg family transcription regulators // *J. Bacteriol.* 2007. Vol. 189. № 2. P. 650–655.
48. Lyon W.R., Gibson C.M., Caparon M.G. A role for trigger factor and an rgg-like regulator in the transcription, secretion and processing of the cysteine proteinase of Streptococcus pyogenes // *EMBO J.* 1998. Vol. 17. № 21. P. 6263–6275.
49. Neely M.N., Lyon W.R., Runft D.L., Caparon M. Role of RopB in growth phase expression of the *SpeB* cysteine protease of Streptococcus pyogenes // *J. Bacteriol.* 2003. Vol. 185. № 17. P. 5166–5174.
50. Neuner J.M., Hamel M.B., Phillips R.S. et al. Diagnosis and management of adults with pharyngitis. A cost-effectiveness analysis // *Ann. Intern. Med.* 2003. Vol. 139. № 2. P. 113–122.
51. Nizet V., Rubens C.E. Pathogenic mechanisms and virulence factors of Group B streptococci // Gram-positive pathogens. Fischetti V.A., Novick R.P., Ferretti J.J., Portnoy D.A., Rood J.I. (eds). Washington, D.C: American Society for Microbiology Press, 2000. P. 125–136.
52. Podbielski A., Woischnik M., Leonard B.A., Schmidt K.H. Characterization of *nra*, a global negative regulator gene in group A streptococci // *Mol. Microbiol.* 1999. Vol. 31. № 4. P. 1051–1064.
53. Poyart C., Lamy M.C., Boumaila C. et al. Regulation of D-alanyl-lipoteichoic acid biosynthesis in Streptococcus agalactiae involves a novel two-component regulatory system // *J. Bacteriol.* 2001. Vol. 183. № 21. P. 6324–6334.
54. Pulliainen A.T., Hytönen J., Haataja S., Finne J. Deficiency of the Rgg regulator promotes H₂O₂ resistance, AhpCF-mediated H₂O₂ decomposition, and virulence in Streptococcus pyogenes // *J. Bacteriol.* 2008. Vol. 190. № 9. P. 3225–3235.
55. Rajagopal L., Clancy A., Rubens C.E. A eukaryotic type serine/threonine kinase and phosphatase in Streptococcus agalactiae reversibly phosphorylate an inorganic pyrophosphatase and affect growth, cell segregation, and virulence // *J. Biol. Chem.* 2003. Vol. 278. № 16. P. 14429–14441.
56. Rajagopal L., Vo A., Silvestroni A., Rubens C.E. Regulation of cytotoxin expression by converging eukaryotic-type and two-component signalling mechanisms in Streptococcus agalactiae // *Mol. Microbiol.* 2006. Vol. 62. № 4. P. 941–957.
57. Ribardo D.A., McIver K.S. Defining the Mga regulon: comparative transcriptome analysis reveals both direct and indirect regulation by Mga in the group A streptococcus // *Mol. Microbiol.* 2006. Vol. 62. № 2. P. 491–508.
58. Roberts S.A., Churchward G.G., Scott J.R. Unraveling the regulatory network in Streptococcus pyogenes: the global response regulator CovR represses *rivR* directly // *J. Bacteriol.* 2007. Vol. 189. № 4. P. 1459–1463.
59. Roberts S.A., Scott J.R. *RivR* and the small RNA *RivX*: the missing links between the CovR regulatory cascade and the Mga regulon // *Mol. Microbiol.* 2007. Vol. 66. № 6. P. 1506–1522.
60. Rozhdestvenskaya A.S., Totolian A.A., Dmitriev A.V. Inactivation of DNA-binding response regulator Sak189 abrogates β -antigen expression and affects virulence of Streptococcus agalactiae // *PLoS ONE.* 2010. Vol. 5. № 4. e10212.

61. Samen U.M., Eikmanns B.J., Reinscheid D.J. The transcriptional regulator RovS controls the attachment of *Streptococcus agalactiae* to human epithelial cells and the expression of virulence genes // *Infect. Immunol.* 2006. Vol. 74. № 10. P. 5625–5635.
62. Scott J.R., Cleary P., Caparon M.G. et al. New name for the positive regulator of the M protein of group A streptococcus // *Mol. Microbiol.* 1995. Vol. 17. № 4. P. 799.
63. Sitkiewicz I., Musser J.M. Expression microarray and mouse virulence analysis of four conserved two-component gene regulatory systems in group A streptococcus // *Infect. Immunol.* 2006. Vol. 74. № 2. P. 1339–1351.
64. Spellerberg B., Rozdzinski E., Martin S. et al. rgf encodes a novel two-component signal transduction system of *Streptococcus agalactiae* // *Infect. Immunol.* 2002. Vol. 70. № 5. P. 2434–2440.
65. Standish A.J., Stroehner U.H., Paton J.C. The two-component signal transduction system RR06/HK06 regulates expression of cbpA in *Streptococcus pneumoniae* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2005. Vol. 102. № 21. P. 7701–7706.
66. Stock A.M., Robinson V.L., Goudreau P.N. Two-component signal transduction // *Annu. Rev. Biochem.* 2000. Vol. 69. P. 183–215.
67. Tettelin H., Masignani V., Cieslewicz M.J. et al. Complete genome sequence and comparative genomic analysis of an emerging human pathogen, serotype V *Streptococcus agalactiae* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2002. Vol. 99. № 19. P. 12391–12396.
68. Tettelin H., Masignani V., Cieslewicz M.J. et al. Genome analysis of multiple pathogenic isolates of *Streptococcus agalactiae*: implications for the microbial pan-genome // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2005. Vol. 102. № 39. P. 13950–13955.
69. Vahling, C.M., McIver K.S. Identification of residues responsible for the defective virulence gene regulator Mga produced by a natural mutant of *Streptococcus pyogenes* // *J. Bacteriol.* 2005. Vol. 187. № 17. P. 5955–5966.
70. Vahling C.M., McIver K.S. Domains required for transcriptional activation show conservation in the Mga family of virulence gene regulators // *J. Bacteriol.* 2006. Vol. 188. № 3. P. 863–873.
71. Voyich J.M., Sturdevant D.E., Braughton K.R. et al. Genome-wide protective response used by group A streptococcus to evade destruction by human polymorphonuclear leukocytes // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003. Vol. 100. № 4. P. 1996–2001.